

UNIVERSIDAD AUSTRAL

FACULTAD DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

**ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS HORMONALES,
INMUNOLÓGICOS Y ESTRUCTURALES DE LA ENFERMEDAD
RENOVASCULAR ATEROESCLERÓTICA**

Tesis presentada para optar al grado de Doctor en Ciencias Biomédicas por
la Universidad Austral

Doctorando

Magister Médica Carol Kotliar de Delía

Directores de tesis

Doctor en Medicina Alejandro Hita (Universidad Austral)

Doctor en Medicina Ramiro A. Sánchez (Universidad Favaloro)

Pilar, Argentina, Julio de 2012

UNIVERSIDAD AUSTRAL

FACULTAD DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

Tesis de Doctorado en Ciencias Biomédicas

Título

ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS HORMONALES, INMUNOLÓGICOS Y ESTRUCTURALES
DE LA ENFERMEDAD RENOVASCULAR ATEROESCLERÓTICA

Magíster

Médica Carol Kotliar de Delía

Directores de tesis

Doctor en Medicina Alejandro Hita (Universidad Austral)

Doctor en Medicina Ramiro A. Sánchez (Universidad Favaloro)

Lugar de realización

Facultad de Ciencias Biomédicas de la Universidad Austral, Centro de Hipertensión
Arterial del Instituto de Cardiología y Servicio de Anatomía Patológica del Hospital
Universitario Austral

Año de realización

2012

“El asombro y la admiración que suscita en el hombre la contemplación de la realidad son las más fuertes motivaciones para la búsqueda del conocimiento”.

Aristóteles¹ (p. 82)

“De las diferentes pandemias que a lo largo del tiempo han amenazado a la vida del ser humano, pocas han alcanzado las dimensiones de la enfermedad aterosclerótica, no sólo una de sus principales causas de muerte, sino también responsable de devastadoras consecuencias sobre la calidad de su vida”.

Carol Kotliar de Delía

Agradecimientos

Agradezco a Dios, a mi familia, a la Facultad de Ciencias Biomédicas de la Universidad Austral y al Hospital Universitario Austral.

A mis directores Ramiro Sánchez y Alejandro Hita.

A Marcelo Villar y a César Bergadá (*in memoriam*), que me animaron a encarar este desafío con sus palabras y ejemplo.

A cada uno de los coinvestigadores de los tres proyectos y anexos que integran esta tesis; especialmente, la guía, experiencia y perseverancia de Luis Juncos, Felipe Inserra, Jorge Aquino, Eduardo Chuluyan, Carlos Navari, Elena M. V. de Cavanagh, Alberto San Román, Julio Venditti y Coloma Parisi. A Rodolfo Martín, Raúl Valdez y Carina Salice por su colaboración desde la carrera de doctorado.

A mis amigos colegas del equipo del Centro de Hipertensión Arterial del Hospital Universitario Austral.

A Rodolfo Martín por su dedicación a A todos ellos y a cada una de las personas que colaboró de una u otra manera en el desarrollo de esta tesis, les queda mi admiración y reconocimiento ante la generosidad con la que ofrecieron su tiempo, su conocimiento, su amistad y su afecto para facilitar que este trabajo se concretara, buscando la mayor perfección posible dentro de las limitaciones de toda tarea humana.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi esposo, Gonzalo.

Publicaciones de los resultados del presente trabajo

Revistas científicas

- Ramos F, Kotliar C, Raffaele P, *et al.* Renal Function Outcome of PTRAs and Stenting for Atherosclerotic Renal Artery Stenosis. *Kidney International*. 2003;63:276-82.
- Kotliar C, Raffaele P, Baglivo H, *et al.* Characterization of Atherosclerotic Renal Arterial Disease by the Degree of the Stenosis. Annual Meeting of the European Society of Hypertension; 2003 Jun; Milán, Italia.
- Kotliar C. Enfermedad aterosclerótica de las arterias renales: La situación actual del conocimiento. *Boletín del CAHTA*. 2003;4(1):7-10.

Proyecto I

- Kotliar C, Inserra F, Forcada P, *et al.* Are plasma renin activity and aldosterone levels useful as screening test to differentiate between unilateral and bilateral renal artery stenosis in hypertensive patients? *J Hypertens*. 2010;28(3):594-601.

Proyecto II

- Kotliar C, Juncos L, Inserra F, *et al.* Local and systemic cellular immunity in early renal artery atherosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(2):224-30.

- Kotliar C, Cavanagh E, Forcada P, *et al.* Immunological activation in early phases of atherosclerotic renovascular disease: a new therapeutic target? *J Hypertens.* 2010;28:e7-e8.

Proyecto III

- Kotliar C, Navari C, Parisi C, *et al.* High grade adventitia neovascularization in early renal atherosclerosis Submitted to Pathology [En arbitraje].
- Kotliar C, Inserra F. Evolución alejada de la enfermedad vascular renal aterosclerótica en pacientes sometidos a angioplastia. *Rev Argent Cardiol.* 2011;79(2):193.

Capítulos de libros

- Kotliar C, Telayna JM. Dilatación Percutánea de las Arterias Renales. En: Sousa A, Buitrón F, Ban Hayashi E, Sousa JE, editores. *Intervenciones Cardiovasculares SOLACI.* San Pablo: Atheneu; 2005. p. 617-29.
- Alcázar JM, Rodicio JL, Kotliar C. Enfermedad renovascular aterosclerótica. En: Esper R, editor. *Tratado de Mecánica Vascular e Hipertensión Arterial.* Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 535-46.
- Kotliar C. Hipertensión y aterosclerosis: Inducción a la ateroprotección activa. En: Esper R, Vilariño J, editores. *Progresos en aterotrombosis: desde la genética*

aplicada a la medicina personalizada. Buenos Aires: Ediciones Médicas del Sur;
2011. p. 273-83.

Premios otorgados por comunicaciones del presente trabajo

Proyecto II

Premio Luis Moledo al Mejor Trabajo de Investigación Clínica. Kotliar C, San Roman A, Venditti J, *et al.* Detección de una respuesta inmunomodulatoria temprana en ateromatosis renal. XXIX Reunión Anual del Consejo Argentino de Hipertensión Arterial, Sociedad Argentina de Cardiología; 2008 Nov 1; Buenos Aires, Argentina; 2008.

Proyecto I

Nominado al Premio Braun Menéndez como Mejor Trabajo de Investigación Clínica. Sociedad Argentina de Cardiología; 2010.

Abreviaturas

- 5-HPETE.** Ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico.
8-iso-PG F2- α . 8-iso-prostaglandina F2-alfa.
11-dhTX B2. 11-deshidrotromboxano B2.
12-S-HETE. Ácido 12-S-hidroxeicosatetraenoico.
15-S-HETE. Ácido 15-S-hidroxeicosatetraenoico.
 β 2-GP. Beta 2-glicoproteína.
 β 2-GP 1. Beta 2-glicoproteína 1.
AA. Ácido araquidónico.
Ac. Anticuerpo.
AcM. Anticuerpo monoclonal.
ACTH. *Adrenocorticotropic Hormone* (Adrenocorticotrofina).
ADH. *Antidiuretic Hormone* (Hormona antidiurética).
ADN. Ácido desoxirribonucleico.
ADR- β . *Beta-Adrenergic Receptor* (Receptor beta-adrenérgico).
Ag. Antígeno.
AGT. Angiotensinógeno.
AHA. *American Heart Association* (Asociación Americana del Corazón).
Ald. Aldosterona.
AN. Arterias (renales) normales.
ANF. *Atrial Natriuretic Factor* (Factor natriurético atrial).
Ang. Angiotensina.
Ang I. Angiotensina I.
Ang II. Angiotensina II.
APA. *Aldosterone Producing Adenoma* (Adenomas productores de aldosterona).
APC. *Antigen Presenting Cell* (Célula presentadora de antígeno).
APN. *Aminopeptidase N* (Aminopeptidasa N).
ApoE. Apolipoproteína E.
APX. *AP Lesioned* (AP lesionada).
ARA II. Antagonistas de los receptores de la angiotensina II.
ARM. Angiorresonancia magnética.
ARM-G. Angiorresonancia magnética con gadolinio.
ARN. Ácido ribonucleico.
ARNm. Ácido ribonucleico mensajero.
ARP. Actividad renina plasmática.
ARR. *Aldosterone-Renine Ratio* (Proporción aldosterona/renina).
ASTRAL. (Estudio) Angioplasty and Stenting for Renal Artery Lesions.
ATCH. Angiotomografía computarizada helicoidal (ATCH).
AT1R. *Angiotensin Receptor Type 1* (Receptor tipo 1 de la angiotensina).
AT2R. *Angiotensin Receptor Type 2* (Receptor tipo 2 de la angiotensina).
AT3R. *Angiotensin Receptor Type 3* (Receptor tipo 3 de la angiotensina).

AT4R. *Angiotensin Receptor Type 4* (Receptor tipo 4 de la angiotensina).
AT(1-7)R. *Angiotensin Receptor Types 1-7* (Receptor tipos 1-7 de la angiotensina).
ATR. Angioplastia transluminal renal.
ATRP. Angioplastia transluminal renal percutánea.
ATRPE. Angioplastia transluminal renal percutánea con colocación de estent.
BDCA-2. *Blood Dendritic Cell Antigen-2* (Antígeno 2 de célula dendrítica de la sangre).
BK. Bradiquinina.
BOLD. *Blood Oxygen Level Dependent* (Dependiente del nivel de oxígeno sanguíneo).
Ca⁺⁺. Calcio (catión).
CAM. *Cellular Adhesion Molecule* (Molécula de adhesión celular).
cAMP. *Cyclic Adenosine Monophosphate* (Adenosín monofosfato cíclico).
CCL2. *CC Chemokine Ligand 2* (Ligando 2 de la quimioquina CC).
CCL5. *CC Chemokine Ligand 5* (Ligando 5 de la quimioquina CC).
CCL19. *CC Chemokine Ligand 19* (Ligando 19 de la quimioquina CC).
CCR2. *CC Chemokine Receptor 2* (Receptor 2 de la quimioquina CC).
CCR5. *CC Chemokine Receptor 5* (Receptor 5 de la quimioquina CC).
CCR7. *CC Chemokine Receptor 7* (Receptor 7 de la quimioquina CC).
CD. Célula dendrítica.
CD40L. *CD40 Ligand* (Ligando de la proteína CD40).
CDm. Célula dendrítica mieloide.
CDpl. Célula dendrítica plasmacitoide.
cGMP. *Cyclic Guanosine Monophosphate* (Guanosín monofosfato cíclico).
Cl⁻. Cloruro (anión).
c-LDL. *Low density lipoprotein cholesterol* (Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad).
CO₂. Dióxido de carbono.
CORAL. (Estudio) Cardiovascular Outcomes in Renal Atherosclerosis Lesions.
CPE. Células progenitoras endoteliales.
CPE. Células progenitoras endoteliales circulantes.
CPN. Carboxipeptidasa N.
Cr. Creatinina.
CrPI. Creatinina plasmática.
CrS. Creatinina sérica.
CTSA. Catepsina A.
CTSB. Catepsina B.
CTSG. Catepsina G.
CX3CL1. *CX3C Chemokine Ligand 1* (Ligando 1 de la quimioquina CX3C o Fractalquina).
CX3CR. *CX3C Chemokine Receptor* (Receptor de la quimioquina CX3C).
CX3CR1. *CX3C Chemokine Receptor 1* (Receptor 1 de la quimioquina CX3C).
CXCR1. *CXC Chemokine Receptor 1* (Receptor 1 de la quimioquina CXC).
CXCR2. *CXC Chemokine Receptor 2* (Receptor 2 de la quimioquina CXC).
DA. Dopamina.
DA-1. Dopamina-1.
DM. Diabetes mellitus.
DOCA-SAL. Acetato de desoxicorticosterona + solución salina + nefrectomía unilateral.
DR5. *Death Receptor 5* (Receptor de muerte -celular- 5).

DRASTIC. Dutch Renal Artery Stenosis Intervention Cooperative Study Group.

EAC. Enfermedad arterial coronaria.

EAP. Edema agudo de pulmón.

ECA. Enzima convertidora de la angiotensina.

ECA-2. Enzima convertidora de la angiotensina tipo 2.

ECC. Embolia por cristales de colesterol.

ECV. Enfermedad cardiovascular.

EE.UU. Estados Unidos de América.

EIMc. Espesor íntima-media carotídeo.

ELAM-1. *Endothelial-Leukocyte Adhesion Molecule-1* (Molécula de adhesión leucocitaria endotelial-1).

eNOS. *Endothelial Nitric Oxide Synthase* (Óxido nítrico sintasa endotelial).

ERV. Enfermedad renovascular.

ERVA. Enfermedad renovascular aterosclerótica.

ERVA-Uni. Enfermedad renovascular aterosclerótica unilateral.

ERVA-Bi. Enfermedad renovascular aterosclerótica bilateral.

ET. Endotelina.

FE. Fibras elásticas.

FG. Filtrado glomerular.

FoxP3. Forkhead Box Protein 3 (Proteína 3 de la “caja de la cabeza del tenedor”).

FR. Fibrosis reticulada.

GAG. Glicosaminoglicano.

GP. Glicoproteína.

GREAT. (Estudio) *Sirolimus-eluting versus bare-metal low-profile stent for renal artery treatment*.

GTP. Guanosine Triphosphate (Guanosín trifosfato).

H⁺. Hidrógeno (catión).

HbA1c. Hemoglobina glicosilada.

HCO₃⁻. Ácido carbónico (anión).

H&E. Hematoxilina-eosina.

HHA. Hipotálamo-hipófisis-adrenal.

HIP. Hemorragia intraplaca.

HLA. *Human Leukocyte Antigen* (Antígeno leucocitario humano).

HLA-DR. *Human Leukocyte Antigen-DR* (Antígeno leucocitario humano-DR).

HMG-CoA. Hidroximetilglutaril-coenzima A.

HOMA. *Homeostasis Model Assessment* (Evaluación del modelo de la homeostasis).

HSP. *Heat Shock Protein* (Proteína de estrés o choque térmico).

HTA. Hipertensión arterial.

HTA-Es. Hipertensión arterial esencial.

HTAR. Hipertensión arterial resistente.

HTARV. Hipertensión arterial renovascular.

IAM. Infarto agudo de miocardio.

IC. Insuficiencia cardíaca.

ICAM. *Intercellular Adhesion Molecule* (Molécula de adhesión intercelular).

ICAM-1. *Intercellular Adhesion Molecule-1* (Molécula de adhesión intercelular-1).

ICC. Insuficiencia cardíaca congestiva.

IECA. Inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina.

Ig. Inmunoglobulina.

IgM. Inmunoglobulina M.

IL. Interleuquina.

IL-1. Interleuquina-1.

IL-1 β . Interleuquina-1 beta.

IL-2R β . *Interleukin-2 Receptor Subunit Beta* (Subunidad beta del receptor de la interleuquina-2).

IL-3. Interleuquina-3.

IL-4. Interleuquina-4.

IL-6. Interleuquina-6.

IL-7. Interleuquina-7.

IL-8. Interleuquina-8.

IL-10. Interleuquina-10.

IL-12. Interleuquina-12.

IF-1. *Initiation Factor-1* (Factor de iniciación-1).

IFN- α . Interferón-alfa.

IFN- γ . Interferón-gamma.

IMC. Índice de masa corporal.

IP-10. *Interferon Gamma-induced Protein 10* (Proteína inducida por interferón-gamma 10).

IRI. Índice de resistencia intrarrenal.

I-TAC. *Interferon-inducible T-cell Alpha Chemoattractant* (Quimioatrayente de células T inducida por interferón).

JNC. *Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure.*

K⁺. Potasio (catión).

KKS. *Kalikrein-Kinin System* (Sistema calicreína-quinina).

L2. Vértebra lumbar 2.

LD. Linfocitos diseminados.

LDL. *Low Density Lipoprotein* (Lipoproteína de baja densidad).

LDLR. Low Density Lipoprotein Receptor (Receptor de lipoproteína de baja densidad).

LEI. Lámina elástica interna.

LF. Linfocitos en focos.

LO. Lipoxigenasas.

LOX-1. *Lectin-like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1* (Receptor de lipoproteínas de baja densidad oxidada ligado a lectina-1).

LPS. Lipopolisacárido.

LT. Leucotrieno.

LTA₄. Leucotrieno A₄.

LTB₄. Leucotrieno B₄.

LTC₄. Leucotrieno C₄.

LTD₄. Leucotrieno D₄.

LTE₄. Leucotrieno E₄.

LTh1. Linfocito T *helper* o auxiliador tipo 1.

LTh2. Linfocito T *helper* o auxiliador tipo 2.

LTh17. Linfocito T *helper* o auxiliador tipo 17.

LTr. Linfocito o célula T reguladora.

LTr1. Linfocito o célula T reguladora 1.

MC. *Mononuclear Cell* (Célula mononuclear).

MCP-1. *Monocyte Chemotactic Protein-1* (Proteína quimioatrayente de monocitos-1).

MDRD. *Modification of Diet in Renal Disease* (Modificación de la dieta en la enfermedad renal).

MHC-1. *Major Histocompatibility Complex Class 1* (Complejo mayor de histocompatibilidad clase 1).

MIG. *Monokine Induced by Interferon-gamma* (Monoquina inducida por interferón-gamma).

MMP. *Matrix Metalloproteinase* (Metaloproteinasa de la matriz extracelular).

MMP-9. *Matrix Metalloproteinase 9* (Metaloproteinasa de la matriz extracelular 9 o gelatinasa B).

MRP. *Multiple Drug Resistance protein* (Proteína de resistencia múltiple a drogas).

Na⁺. Sodio (catión).

NADPH. *Nicotinamide Adenosine Dinucleotide Phosphate* (Nicotinamina adenina dinucleótido fosfato).

NADP⁺. Forma oxidada de la nicotinamina adenina dinucleótido fosfato.

NADPH⁺. Forma reducida de la nicotinamina adenina dinucleótido fosfato.

NaHCO₃. Bicarbonato de sodio (sal).

NAP-2. *Neutrophil Activating Peptide 2* (Péptido activador de neutrófilo 2).

NEP. *Neutral Endopeptidase* (Endopeptidasa neutra)

NK. *Natural Killer Cells* (Células naturales asesinas).

NKT. *Natural Killer T Cells* (Células T naturales asesinas).

NKT α/β. *Natural Killer T Cells alfa/beta* (Células T naturales asesinas alfa/beta).

NO. *Nitric Oxide* (Óxido nítrico).

NOS. *Nitric Oxide Synthase* (Óxido nítrico sintasa).

NT. Normotensión.

N-terminal. Amino-terminal.

O₂⁻. Anión superóxido.

OH⁻. Radical hidroxilo.

ONOO⁻. **Peroxinitrito.**

OxLDL. *Oxidized Low Density Lipoprotein* (Lipoproteína de baja densidad oxidada).

PA. Presión arterial.

PAD. Presión arterial diastólica.

PAM. Presión arterial media.

PAMP. *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (Patrones moleculares asociados a patógenos).

P.A.S. *Periodic acid-Schiff* (Ácido peryódico de Schiff).

PAS. Presión arterial sistólica.

PBMC. *Peripheral Blood Mononuclear Cell* (Célula mononuclear de sangre periférica).

PC-1. Proconvertasa-1.

PCR. Proteína C reactiva.

PDAY. (Estudio) *Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth*.

PDGF. *Platelet-Derived Growth Factor* (Factor de crecimiento plaquetario).

PEP. *Propyl Endopeptidase* (Propil Endopeptidasa).

PG. Prostaglandina.

PGE₂. Prostaglandina E₂.

PGF. Prostaglandina F.

PGI₂. Prostaglandina I₂.

PKA. *Protein Kinase A* (Proteínquinasa A)

PLA₂. *Phospholipase A2* (Fosfolipasa A2).

PP. Presión de pulso.

RAG-1. *Recombination Activation Gene-1* (Gen de activación de recombinación-1).

RAG-2. *Recombination Activation Gene-2* (Gen de activación de recombinación-2).

RANTES. *Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted* (Regulador de la activación de las células T normalmente secretadas y expresadas).

RD. Arteria renal derecha.

REM. *Rapid Eye Movements* (Movimientos oculares rápidos).

RENALDO. (Estudio) *Renin-Aldosterone*.

RER. Retículo endoplásmico rugoso.

RESIST. (Estudio) *Embollic Protection and Platelet Inhibition during Renal Artery Stenting*.

RI. Arteria renal izquierda.

RM. Resonancia magnética.

RNS. *Reactive Nitrogen Species* (Especies reactivas de nitrógeno).

ROC. Receiver Operating Characteristic.

ROS. *Reactive Oxygen Species* (Especies reactivas de oxígeno).

RTM. *Regression to the Mean* (Regresión a la media).

SCA. Síndrome coronario agudo.

SCID. *Severe Combined Immune Deficient* (Inmunodeficiencia combinada severa).

SHR. *Spontaneously Hypertensive Rat* (Rata espontáneamente hipertensiva).

SM. Síndrome metabólico.

SNA. Sistema nervioso autónomo.

SNC. Sistema nervioso central.

SNP. Sistema nervioso periférico.

SNS. Sistema nervioso simpático.

SR. *Scavenger Receptor* (Receptor carroñero).

SR-A. *Scavenger Receptor Type A* (Receptor carroñero tipo A).

SRAA. Sistema renina angiotensina aldosterona.

SR-B. *Scavenger Receptor Type B* (Receptor carroñero tipo B).

STAR. *Study of Trandolapril/Verapamil-SR and Insulin Resistance*.

TCR. *T Cell Receptor* (Receptor de célula T).

TGF-β. *Transforming Growth Factor-beta* (Factor transformador de crecimiento-beta).

TLR. *Toll-like Receptors* (Receptores tipo Toll).

TLR2. *Toll-like Receptors 2* (Receptores tipo Toll 2).

TLR4. *Toll-like Receptors 4* (Receptores tipo Toll 4).

TLR7. *Toll-like Receptors 7* (Receptores tipo Toll 7).

TLR8. *Toll-like Receptors 8* (Receptores tipo Toll 8).

TLR9. *Toll-like Receptors 9* (Receptores tipo Toll 9).

TNF. *Tumor Necrosis Factor* (Factor de necrosis tumoral).

TNF- α . *Tumor Necrosis Factor-alfa* (Factor de necrosis tumoral-alfa).
tPA. *Tissue Plasminogen Activator* (Activador del plasminógeno tisular).
TRAIL. *Tumor Necrosis-Related Apoptosis-Inducing Ligand* (Ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral).
VA-I. Vascularización adventicial intensa.
VA-L. Vascularización adventicial leve.
VA-M. Vascularización adventicial moderada.
VALT. *Vascular-Associated Lymphoid Tissue* (Tejido linfoide asociado a los vasos).
VCAM-1. *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (Molécula de adhesión vascular-1).
VDMF. Respuesta vasodilatadora mediada por flujo.
VEGF. *Vascular endothelial growth factor* (Factor de crecimiento endotelial vascular).
VLA4. *Very Late Antigen 4* (Antígeno muy tardío 4).
VOP. Velocidad de onda de pulso.
WKY. *Wistar-Kyoto*.

Unidades de medida y misceláneas

°C. Grado centígrado.
 μm . Micra o micrómetro.
a.m. Antes del mediodía.
ANOVA. *Analysis of Variance* (Análisis de varianza).
cm. Centímetro.
Da. Dalton.
dl. Decilitro.
DS. Desviación estándar.
h. Hora.
HUA. Hospital Universitario Austral.
kDa. Kilodalton.
kg. Kilogramo.
l. Litro.
M. Muestra (de arterias renales).
m². Metro cuadrado.
mEq. Miliequivalente.
mg. Miligramos.
min. Minuto.
ml. Mililitro.
mm Hg. Milímetros de mercurio.
mmol. Milimol.
n. Recuento.
ng. Nanogramo.
N.N. *Non Nominatum, Nomen Nescio* (Ningún nombre).
ns. No significativo.
p. Significancia (estadística).
Pg. Picogramo.
vs. Versus.

Resumen

INTRODUCCIÓN

La enfermedad arterioesclerótica se define **actualmente** en relación a un origen multifactorial **y a**, un compromiso sistémico, **y se caracteriza** por **alteraciones** alteración funcionales **y/o** estructurales de la pared vascular y una activación **anormal de tipo** inflamatoria, inmunológica y neurogénica. La presencia de dichas alteraciones es manifestación, causa y consecuencia de una compleja interacción de fenómenos biomoleculares, biomecánicos, neurohumorales y hemorreológicos que se expande intracelular e intercelularmente a través de mecanismos de angiogénesis y neovascularización. **Además**, emulando procesos metastáticos neoplásicos, puede generar siembras a distancia en lechos vasculares vulnerables.

Si bien en las últimas décadas de investigación se han desarrollado estrategias de prevención del desarrollo de la enfermedad arterioesclerótica y sus complicaciones, no se han producido avances **similares en los procesos** diagnósticos y terapéuticos del compromiso aterosclerótico de **las** arterias renales. **La** enfermedad renovascular aterosclerótica (ERVA) **constituye** un desafío para los investigadores, **debido al proceso particular** de homeostasis hormonal, neurogénica e inmunoinflamatoria que podría **estar presente** en esta entidad de curso insidioso, progresivo y silencioso durante la mayor parte de su evolución.

No es frecuente hallar descripciones anatomohistológicas e inmunoinflamatorias de estadios tempranos de **la ERVA en humanos** , siendo necesario recurrir a modelos

experimentales. Basado en este contexto, el presente trabajo se estructuró en tres proyectos de investigación clínica , **sobre** mecanismos específicos hormonales, inmunoinflamatorios y anatomohistológicos involucrados en la ERVA.

PROYECTO I. MECANISMOS HORMONALES

Objetivos. Evaluar el **patrón** de activación del sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) en individuos con enfermedad renovascular aterosclerótica unilateral (ERVA-Uni) y bilateral (ERVA-Bi).

Métodos. Se estudió una muestra de 708 **pacientes** hipertensos **y** se determinó el riesgo *pretest* de presentar ERVA. **Se** identificaron 66 **casos** con riesgo moderado a severo, indicándose un estudio de arterias renales con angiorresonancia magnética nuclear con gadolinio (ARM-G) y arteriografía renal de sustracción digital. Luego de aplicar los criterios de exclusión, la muestra estuvo constituida por 51 individuos (16 con ERVA-Uni, 16 con ERVA-Bi y 19 con arterias renales normales –AN, grupo control). Fueron incluidos también 19 individuos **normotensos** (NT) **con** AN como grupo control. Se determinaron: actividad de renina **plasmática** (ARP), **niveles** plasmáticos y urinarios de aldosterona (Ald), ionograma y función renal. En los sujetos con ERVA la determinación se efectuó antes y después de la resolución de la estenosis con angioplastia con balón e implante de stent **Los casos** controles **fueron estudiados** al ingreso en el estudio y luego de un período de seguimiento.

Resultados. **El cociente** Ald/ARP (ARR) fue marcadamente **elevado** en el grupo con ERVA-Bi ($5,92 \pm 2,30$, $p < 0,001$) y significativamente **disminuido** en el grupo con ERVA-Uni ($0,38 \pm 0,17$, $p < 0,001$), en comparación con el grupo de hipertensos esenciales

(1,52 ± 2,02). El análisis por curvas *Receiver Operating Characteristic* (ROC) identificó que la ARR **presentaba** sensibilidad y especificidad **óptimas** para detectar ERVA-Uni y ERVA-Bi, siendo < 0,5 para la primera y > 3,7 para la segunda. El análisis **post-intervención** de la activación del sistema mostró que la ARP fue significativamente menor que la basal sólo en la ERVA-Uni. En esta, la Ald fue 30% menor que la basal, mientras que se redujo 3 veces en la evolución de la ERVA-Bi **post-intervención de revascularización hemodinámica**. En los hipertensos esenciales no se observaron modificaciones en el perfil de ARP y Ald en relación al seguimiento y en comparación con los valores basales.

Conclusiones. La expresión de la activación del SRAA en la ERVA-Uni y la ERVA-Bi puede ser detectada a través de la interpretación del análisis de sangre y orina en el contexto clínico. De acuerdo con los datos presentados en los pacientes con ERVA-Bi, los niveles de Ald son aproximadamente 2 veces mayores que en la ERVA-Uni, no siendo consistentes con la ARP. Estos individuos también presentarían ARR que **se asemejan a la** observada en el hiperaldosteronismo primario y que puede ser parcialmente corregida con la revascularización. El perfil de ARP sería coincidente con el mecanismo isquémico vasoconstrictor descrito en **las publicaciones** originales de la enfermedad. Por su parte, el perfil de la Ald aporta datos coherentes con las observaciones de un mecanismo volumen- dependiente de la HTA y la nefropatía en los modelos de compromiso bilateral. Si bien el comportamiento de la ARP hallado **coincide** con lo observado en otros estudios de la ERVA-Uni, nuestros resultados en el compromiso bilateral aportan nuevos datos para la comprensión de la enfermedad, mientras su utilidad clínica requiere de otros estudios.

PROYECTO II. MECANISMOS INMUNOLÓGICOS

Objetivos. Analizar e identificar la presencia de marcadores de activación celular inmune en la ERVA en sus fases tempranas subclínicas y sin reducción significativa de la luz del vaso.

Métodos. Se evaluaron los marcadores de inmunidad celular en sangre periférica de 2 grupos de pacientes hipertensos con arterias coronarias y carotídeas normales angiográficamente. En el primer grupo se incluyeron 28 pacientes con ERVA en estadios iniciales de su desarrollo y sin manifestaciones clínicas, detectada incidentalmente durante el estudio de los otros territorios vasculares mencionados; en el segundo, 22 pacientes hipertensos con AN. Los hallazgos de estas evaluaciones se compararon a partir del estudio tisular de 21 arterias renales con evidencia de ERVA obtenidas de la autopsia de individuos con historia de hipertensión arterial (HTA) que habían fallecido por causas no relacionadas. A su vez, se obtuvieron 21 muestras de arterias renales sanas de individuos apareados según características basales con los primeros (grupo control). Se analizaron células T CD3+ y CD4+ y subpoblaciones con citometría de flujo en sangre periférica y conteo celular directo, respectivamente.

Resultados. En la sangre periférica de pacientes con ERVA se halló un incremento **significativo** de células expresando CD3, CD4, CD83 y CD86. La proporción CD4/CD8 fue marcadamente mayor en los pacientes con ERVA ($8,36 \pm 1,4$), en comparación con los controles ($3,46 \pm 0,9$). No se hallaron diferencias en la expresión de CD25, CD8 ni S-100 entre estos grupos. El estudio de las placas procedentes de las arterias *post-mortem* con ERVA mostró un incremento de células CD3+, CD4+, CD86+ y S-100+, mientras que las células CD25+ y CD8+ permanecieron sin modificaciones entre los grupos (ERVA vs

AN). La proporción CD4+/CD8+ fue mayor en el análisis del tejido de las placas (ERVA vs AN).

Conclusiones. Los resultados del análisis de mecanismos inmunológicos fueron consistentes con la presencia en sangre periférica de una expresión **incrementada** de marcadores de inmunidad celular en ERVA temprana, comparable a lo encontrado durante el análisis tisular de muestras *post-mortem* de placas arteriales en el órgano afectado. **Estos hallazgos** permiten **sugerir** que dichos marcadores representan la manifestación sistémica de la activación tisular de la enfermedad.

PROYECTO III. ANÁLISIS ESTRUCTURAL

Objetivos. Determinar las características anatomohistológicas de la ERVA en fases tempranas.

Métodos. Se evaluaron 42 muestras de arterias renales provenientes de la misma muestra de estudios de autopsias descrita en el Proyecto II. Se tomaron tacos representativos fijados en la solución de hidroxido de zinc, descrita en el Proyecto II, y se efectuaron cortes de 8 µm, obteniendo 500 cortes montados en portas silanizados. En todos los casos, los cortes resultantes fueron teñidos con técnicas de hematoxilina-eosina (H&E), ácido peryódico de Schiff (P.A.S.) y tricrómico de Masson. Cuando la evaluación de la patología detectada así lo requirió se emplearon técnicas de tinción alternativas y específicas, tales como para fibras elásticas (FE), Sudan, Perls, etc. Para realizar la caracterización de las muestras se empleó la clasificación de la Asociación Americana del Corazón (AHA); también a través de aquella propuesta por Virmani *et al.* La evaluación fue realizada por 2 observadores con el método ciego, recurriendo a un tercero ante el disenso en la caracterización histológica de alguna de las muestras.

Resultados. Las lesiones analizadas se correspondieron en un 78% con el tipo IV-V, placas mixtas, complicadas e inestables, predominando el componente descrito como fibrosis reticulada (FR). Además, se detectó predominio de crecimiento excéntrico con alargamiento compensatorio de la pared (remodelamiento) y extensas áreas de neovascularización (*vasa vasorum*), coincidiendo con la casi generalizada incidencia de hemorragia intraplaca (HIP), áreas de calcificaciones y metaplasias óseas (> 55%).

Conclusiones. La evolución silente de la ERVA se acompaña de lesiones avanzadas, según la clasificación anatomohistológica de la AHA. La intensa neovascularización observada constituye también un elemento sugestivo de evolución del proceso aterosclerótico y podría considerarse un facilitador de la diseminación de las lesiones y de la activación inmunoinflamatoria. El análisis de estas características es susceptible de proveer de datos para el estudio de nuevos objetivos terapéuticos de la aterosclerosis en fases tempranas.

**Índices de contenidos,
tablas y figuras**

Agradecimientos	ix
Dedicatoria	iv
Publicaciones de los resultados del presente trabajo	vi
Revistas científicas	vi
Capítulos de libros	vii
Comunicaciones en congresos y reuniones científicas	¡Error! Marcador no definido.
Premios otorgados por comunicaciones del presente trabajo	viii
Abreviaturas	ix
Unidades de medida y misceláneas	xv
Resumen	
Índice de tablas	XI
Índice de figuras	XIII
1. PRÓLOGO	1
BREVE INTRODUCCIÓN A LAS PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	1
1.1. Limitaciones de los modelos de estudio de la aterosclerosis	2
1.2. Razones que justifican el estudio de mecanismos ateroscleróticos en la enfermedad renovascular	5
1.3. Preguntas de la presente investigación.	8
2. INTRODUCCIÓN GENERAL	11
2.1. Aspectos generales del desarrollo de la aterosclerosis con énfasis en la aterosclerosis renal	12
2.1.1. Definiciones	12

2.1.1.1. Ateroesclerosis _____	12
2.1.1.2. Ateroesclerosis de Mönckeberg o esclerosis cálcica de la media _____	13
2.1.1.3. Arterioesclerosis _____	13
2.1.2. Desarrollo de la ateroesclerosis _____	14
2.1.2.1. Desarrollo inicial _____	17
2.1.2.2. Rol del colágeno _____	22
2.1.2.3. Rol del factor tisular _____	23
2.1.2.4. Crecimiento _____	24
2.1.2.5. Apoptosis _____	26
2.2. Aspectos mecanicistas _____	27
2.2.1. Radio del vaso _____	27
2.2.2. Fluidos _____	28
2.2.3. Componentes hemodinámicos de la PA y del flujo sanguíneo. Flujo pulsátil y flujo continuo _____	30
2.2.3.1. La arteria como amortiguador inteligente _____	31
2.2.3.2. Reclutamiento de colágeno _____	32
2.2.3.3. Componentes hemodinámicos de la PA _____	32
2.2.4. Distensibilidad y complacencia arterial _____	34
2.2.5. Comportamiento del flujo y la presión en presencia de estenosis _____	35
2.3. Aspectos inflamatorios y neuroendocrinos _____	38
2.3.1. Principales mediadores de la activación inflamatoria relacionada a la ateroesclerosis _____	39
2.3.2. Mecanismos neuroendocrinos _____	47

2.4. Aspectos clínicos de la ERVA _____	51
2.4.1. Prevalencia _____	51
2.4.2. Clasificación clínica _____	52
2.4.3. Diagnóstico _____	53
2.5. Aspectos terapéuticos de la ERVA _____	59
2.5.1. Tratamiento precoz vs tratamiento tardío _____	59
2.5.2. Opciones de tratamiento farmacológico o de revascularización _____	60
2.5.3. Tratamiento farmacológico _____	61
2.5.3.1. Tratamiento con ATR _____	63
2.5.3.2. Ensayos clínicos _____	64
2.5.3.3. Tratamiento quirúrgico _____	70
3. INTRODUCCIÓN ESPECÍFICA _____	72
3.1. Proyecto I. Mecanismo hormonal _____	73
3.1.1. El modelo de Goldblatt como paradigma de activación del SRAA y de la ERV _____	73
3.1.2. Renina _____	75
3.1.2.1. Síntesis _____	76
3.1.2.2. Regulación _____	77
3.1.2.3. Acciones _____	78
3.1.3. Ang _____	79
3.1.3.1. Síntesis _____	79
3.1.3.2. Regulación _____	81
3.1.3.3. Receptores de Ang _____	82

3.1.3.4. Acciones	83
3.1.4. Ald	84
3.1.4.1. Síntesis	84
3.1.4.2. Regulación	85
3.1.5. SRAA y aterosclerosis	86
3.1.5.1. Estrés mecánico y AT1R	86
3.1.5.2. Rol del SRAA en el riñón	89
3.1.5.3. Ang 1-7 y aterosclerosis	90
3.1.6. Estudio clínico de la ARP, la Ald y la relación Ald/ARP	91
3.1.6.1. ARR	93
3.2. Proyecto II. Mecanismo inmunoinflamatorio	94
3.2.1. Inmunopatología de la aterosclerosis	99
3.2.1.1. Autoinmunidad	100
3.2.1.2. CD	105
3.2.1.2.1. Fenotipos	106
3.2.1.2.2. Desarrollo	107
3.2.1.2.3. Reclutamiento en la aterosclerosis	108
3.2.1.2.4. Activación	110
3.2.1.2.5. Acciones	111
3.2.1.3. Monocitos y macrófagos	116
3.2.1.4. Linfocitos T	117
3.2.1.4.1. Linfocitos T y SRAA	121

3.3. Proyecto III. Mecanismo estructural _____	122
3.3.1. Clasificación según su histopatología _____	123
3.3.1.1. Estría grasa _____	124
3.3.1.2. Hiperplasia de la íntima _____	125
3.3.1.3. Hipertrofia de la capa muscular _____	125
3.3.1.4. Alteraciones en la túnica media y adventicia _____	125
3.3.1.5. Placa lipídica, placa fibrosa y placa fibrolipídica _____	126
3.3.2. Clasificación de las placas de ateroma según su vulnerabilidad a las complicaciones _____	127
3.3.2.1. Placa vulnerable, inestable o de alto riesgo _____	128
3.3.2.2. Placa estable _____	129
3.3.2.3. Placas con complicaciones _____	129
3.3.2.4. Rotura focal _____	131
3.3.2.5. Trombosis _____	131
3.3.2.6. Ulceración _____	131
3.3.2.7. Hemorragia _____	132
3.3.2.8. Calcificación _____	132
3.3.2.9. Dilatación aneurismática _____	133
3.3.3. Resumen de los sistemas taxonómicos de la placa aterosclerótica _____	133
3.3.4. Anatomohistología renal en la aterosclerosis _____	135
4. HIPÓTESIS DE TRABAJO _____	138
4.1. Hipótesis general _____	139
4.2. Hipótesis específicas _____	139

4.2.1. Proyecto I. Hipótesis hormonal _____	139
4.2.2. Proyecto II. Hipótesis inmunológica _____	140
4.2.3. Proyecto III. Hipótesis anatómica _____	141
5. OBJETIVOS _____	142
5.1. Objetivos generales _____	143
5.2. Objetivos específicos _____	143
5.2.1. Proyecto I _____	143
5.2.2. Proyecto II _____	143
5.2.3. Proyecto III _____	144
6. MATERIALES Y MÉTODOS _____	145
6.1. Proyecto I _____	146
6.1.1. Diseño _____	146
6.1.2. Población, unidad de análisis, muestra y criterios de selección _____	146
6.1.3. Recolección de datos _____	149
6.1.3.1. Grados de sospecha de la ERVA _____	149
6.1.3.2. Diagnóstico de ERVA _____	150
6.1.3.3. Determinaciones _____	151
6.1.3.3.1. Preparación del paciente _____	151
6.1.3.3.2. Método de determinación del estado del SRAA en sangre periférica _____	151
6.1.3.3.3. Otras mediciones _____	152
6.1.4. Análisis estadístico _____	152
6.2. Proyecto II _____	153

6.2.1. Diseño general _____	153
6.2.2. Estudio de pacientes _____	155
6.2.2.1. Población, unidad de análisis, muestra y criterios de selección ____	155
6.2.2.2. Recolección de datos _____	158
6.2.2.2.1. Drogas aceptadas y período libre de drogas _____	158
6.2.2.2.2. Extracción y preparación de las muestras de sangre periférica_	158
6.2.2.2.3. Inmunofenotipificación _____	159
6.2.3. Estudio de arterias <i>post mórtem</i> _____	159
6.2.3.1. Población, unidad de análisis, muestra y criterios de selección ____	159
6.2.3.2. Recolección de datos _____	161
6.2.3.2.1. Procedimiento de autopsia y obtención de las muestras ____	161
6.2.3.2.2. Preparación e inmunofenotipificación _____	161
6.2.4. Análisis estadístico _____	162
6.3. Proyecto III _____	162
6.3.1. Diseño _____	162
6.3.2. Población, unidad de análisis, muestra y criterios de selección ____	163
6.3.3. Recolección de datos _____	164
6.3.3.1. Metodología de la autopsia _____	164
6.3.3.1.1. Técnica _____	164
6.3.3.1.2. Datos obtenidos _____	165
6.3.3.2. Estudio de anatomía patológica _____	165
6.3.3.3. Caracterización histológica _____	166

7. RESULTADOS	167
7.1. Proyecto I	168
7.1.1. Características de la población	168
7.1.1.1. Pacientes excluidos	169
7.1.1.2. Estudio de las arterias renales	169
7.1.1.3. Características basales	170
7.1.1.4. Requerimiento de tratamiento antihipertensivo de rescate	171
7.1.2. Determinaciones bioquímicas del SRAA	171
7.1.2.1. ARR	174
7.1.3. Efectos de la resolución de la estenosis	176
7.2. Proyecto II	180
7.2.1. Estudio de pacientes	180
7.2.1.1. Características de la población	180
7.2.1.2. Análisis de linfocitos T y de CD	181
7.2.2. Estudio de arterias <i>post mórtem</i>	183
7.2.2.1 Características de la población	184
7.2.2.2. Análisis de marcadores de inmunidad	186
7.3. Proyecto III	189
7.3.1. Población	189
7.3.2. Anatomía macroscópica renal	189
7.3.3. Descripción anatomohistológica de las placas de ateroma	190
8. DISCUSIÓN	197
8.1. Proyecto I	198

8.2. Proyecto II _____	204
8.3. Proyecto III _____	210
8.4. Discusión integradora de los Proyectos I, II y III _____	215
9. CONCLUSIONES _____	224
9.1. Comentario 1 _____	227
9.2. Comentario 2 _____	227
9.3. Propuesta de un algoritmo para el conocimiento y la detección de la ERVA en estadios tempranos _____	228
10. PERSPECTIVAS Y SUGERENCIAS PARA FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN ¡Error! Marcador no definido.	
10.1. Estudio del valor predictivo de los niveles de Ald, ARP y ARR, y del perfil de activación celular inmune sobre la evolución de la ERVA ¡Error! Marcador no definido.	
10.2. Intervención inmunomoduladora antiateroesclerótica ¡Error! Marcador no definido.	
11. LIMITACIONES _____ ¡Error! Marcador no definido.	
12. BIBLIOGRAFÍA _____	232

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación clínica de la ERV según la AHA. _____	53
Tabla 2. Comparación de resultados de estudios clínicos sobre la evolución de la PA posrevascularización en pacientes tratados con angioplastia y estent. _____	65
Tabla 3. Evolución de la PA y de la función renal en pacientes tratados con dilatación con balón e implante de estent. _____	67
Tabla 4. Estudios paradigmáticos, su diseño y resultados/conclusiones. _____	70
Tabla 5. Recomendaciones para la determinación de ARP y Ald en la práctica clínica. _____	91
Tabla 6. Listado parcial de células inmunológicas que han sido identificadas en la aterogénesis. _____	102
Tabla 7. Clasificaciones vigentes de placa aterosclerótica. _____	134
Tabla 8. Pacientes del Proyecto I según criterios de sospecha. _____	168
Tabla 9. Características basales de la muestra analizada en el Proyecto I. _____	170
Tabla 10. Actividad basal de la renina y la Ald en individuos hipertensos con ERVA-Uni y ERVA-Bi, y en aquellos normotensos y los que manifestaron HTA-Es. _____	174
Tabla 11. Estatus basal y posintervención de parámetros clínicos y bioquímicos en pacientes hipertensos. _____	177

Tabla 12. Características basales de la muestra analizada en el Estudio de pacientes del Proyecto II.	181
Tabla 13. Distribución de células inmunológicas según clúster de diferenciación en sangre periférica de pacientes con ERVA y pacientes con arterias renales normales.	181
Tabla 14. Características basales de la muestra analizada en el Estudio de arterias <i>post mórtem</i> del Proyecto II.	185
Tabla 15. Distribución de los marcadores de inmunidad evaluados en las muestras tisulares.	186
Tabla 16. Caracterización de los ateromas renales analizados usando la clasificación propuesta por la AHA.	191

Índice de figuras

Figura 1. Estructura del diseño general de la investigación. _____	10
Figura 2. Adaptación de la hipótesis de incrustación lipídica al conocimiento acerca de las interacciones inflamatorias y celulares que gatillan el inicio de la aterogénesis. _____	19
Figura 3. Esquema representativo de los mediadores de inflamación liberados en el proceso inicial aterogénico y asociados a la disfunción endotelial. _____	21
Figura 4. El crecimiento de la placa aterosclerótica. _____	25
Figura 5. Estrés de rozamiento. _____	38
Figura 6. Rol de las CPE en el proceso aterogénico. _____	47
Figura 7. Concepción actual del SRAA y sus interacciones. _____	88
Figura 8. Elementos principales del mecanismo de inmunidad innata. _____	95
Figura 9. Elementos principales del mecanismo de inmunidad adquirida en la aterosclerosis. _____	97
Figura 10. Esquema descriptivo del rol pivotal de las CD en la regulación de la respuesta inmune. _____	104
Figura 11. Reclutamiento de las CD en la placa aterosclerótica. _____	109
Figura 12. Esquemmatización del rol de las CDm y las CDpl. _____	114
Figura 13. Interacción Ag-CD-célula T. _____	116

Figura 14. Esquema del rol de los LTr en el proceso aterosclerótico.	_____	119
Figura 15. Correlación entre los procesos inmunoinflamatorios y los estadios de la aterosclerosis definidos por la AHA.	_____	123
Figura 16. Diseño poblacional y muestral del estudio hormonal de la ERV (Proyecto I).	_____	148
Figura 17. Diseño poblacional y muestral del Estudio de pacientes (Proyecto II).	_	156
Figura 18. Diseño poblacional y muestral del Estudio de arterias <i>post mórtem</i> (Proyecto II).	_____	160
Figura 19. Diseño poblacional y muestral del estudio anatomohistológico de la ERVA (Proyecto III).	_____	163
Figura 20. Lesión aterosclerótica ostial severa.	_____	170
Figura 21. Distribución de la Ald y de la ARP en muestras obtenidas de pacientes con estenosis unilateral o bilateral y de HTA-Es.	_____	173
Figura 22. Distribución de los coeficientes de Ald/ARP en pacientes con ERVA-Uni, ERVA-Bi, HTA-Es y NT.	_____	175
Figura 23. ARP, valores Ald sérica y ARR posintervención.	_____	179
Figura 24. Marcadores de inmunidad celular.	_____	182
Figura 25. Ejemplos de algunas de las muestras de arterias renales analizadas con ateromas y diferentes técnicas de marcación inmunológica.	_____	188
Figura 26. Ejemplos de algunas de las características histológicas observadas en los ateromas analizados.	_____	195
Figura 27. Propuesta de un algoritmo para la detección de la ERVA en estadios tempranos.	_____	229

1. PRÓLOGO

**BREVE INTRODUCCIÓN A LAS PREGUNTAS DE
INVESTIGACIÓN**

1.1. Limitaciones de los modelos de estudio de la aterosclerosis

Los aportes científicos acerca de la patogénesis de la arterioesclerosis han sido constantes desde su identificación inicial. Aproximadamente hace 2 siglos se conocían sus primeras descripciones; en 1820 Rokitansky adjudicó el engrosamiento observado en algunas paredes endoteliales a la aposición de fibrina, su organización con depósito de fibroblastos de la misma pared e infiltrado de lípidos de la circulación; Virchow sugirió que el ateroma era resultado de la formación de complejos insolubles entre mucopolisacáridos de la pared arterial y lípidos del torrente circulatorio^{2,3}.

Los primeros estudios que describieron las características morfológicas de la arteria comprometida por aterosclerosis fueron publicados entre 1913 y 1960, caracterizando lesiones provocadas a conejos alimentados con dietas ricas en colesterol. Chalatov y Anitschkov fueron los primeros en demostrar una asociación entre la aterosclerosis, la ingesta de grasa y el metabolismo^{4,5}. Su hipótesis proponiendo al colesterol como agente etiológico de la aterosclerosis marcó un hito en la conceptualización de la enfermedad vascular.

Si bien tiempo antes también Virchow había señalado que en la placa existían células inflamatorias además de los lípidos, es Anitschkov quien recién expande este concepto y las identifica como células musculares lisas, macrófagos y linfocitos⁶⁻⁹. Sin embargo, el rol del sistema inmunoinflamatorio quedó por largo tiempo relegado de protagonismo, mientras se multiplicaban los estudios que consideraban al proceso

ateroesclerótico como consecuencia de una lesión endotelial seguida por la aposición de células musculares lisas que, en un intento de reparación fibroproliferativo, generaban una placa de mayor tamaño y riesgo de complicaciones. La mayor parte de estos estudios experimentales se realizaban en conejos y ratas cuyas arterias eran desendotelizadas con catéteres⁵.

Una década después vuelve a centrarse la mirada del investigador en el rol de los distintos tipos celulares en la placa, en especial el de los macrófagos: rápidamente, la identificación de receptores carroñeros (SR) en la lesiones causa un giro importante en el conocimiento y las líneas de investigación, proponiéndose un mecanismo intrínseco de formación de células espumosas¹⁰⁻¹². En años más recientes, el advenimiento de las técnicas de inmunohistoquímica permitió a los investigadores utilizar anticuerpos monoclonales (AcM) dirigidos a leucocitos humanos para identificar y caracterizar muchos de los componentes celulares de las lesiones.

En la actualidad, la arterioesclerosis es considerada una enfermedad multifactorial, de compromiso sistémico, con múltiples etiologías que convergen sinérgicamente y en la que existe alteración funcional y/o estructural de la pared vascular, coexistiendo con una anormal activación inflamatoria, inmunológica y neurogénica⁷.

En un breve período de tiempo (al menos en comparación con el requerido en otros campos de la ciencia) se ha abandonado el concepto territorial que localizaba la enfermedad al área de lesión y se ha encarado una tarea interdisciplinaria de vastísimo alcance, la placa solo representando la punta del *iceberg* que identifica una enmarañada e intrincada red de fenómenos biomoleculares, biomecánicos,

neurohumorales y hemorreológicos que se expande por todas las vías de comunicación de células y fluidos; por su parte, emulando procesos metastáticos neoplásicos, genera siembras a distancia en todos los lechos vasculares susceptibles.

El desafío continúa vigente en la búsqueda del motor etiopatogénico íntimamente ligado a todos los factores reportados, aquel que actuaría como la causa última de la aparición de la enfermedad.

Debe recordarse que la investigación aplicada es considerada en parte como la expresión de los objetivos de la medicina traslacional que busca la interpretación clínica de los conocimientos resultantes de la investigación básica. En este contexto, en el estudio de la aterosclerosis la medicina traslacional es de vital importancia dado que el origen del conocimiento, de manera similar a otras disciplinas, proviene en un 60% de publicaciones de trabajos de investigación básica, mientras que el 40% restante son originados en investigación clínica. La medicina basada en la evidencia requerirá de ambos y el desafío actual parece residir en la identificación de modelos clínicos de fases tempranas y silentes de la enfermedad¹³.

Históricamente, la enfermedad aterosclerótica se consideró como un desafío para la investigación básica por la dificultad para reproducirla en modelos animales, especialmente debido a su origen multifactorial, la diversidad de los tipos de lesiones, su composición y su evolución¹⁴. Uno de los animales más frecuentemente utilizados, el ratón con deficiencia de apolipoproteína E (ApoE) $-/-$, justamente ha aportado con mayor detalle el rol del sistema inmune en el desarrollo de la aterosclerosis.

1.2. Razones que justifican el estudio de mecanismos ateroscleróticos en la enfermedad renovascular

Durante la década pasada, significativos avances en las técnicas de imágenes y de revascularización, y en el tratamiento médico han cambiado los paradigmas acerca del manejo de la enfermedad renovascular aterosclerótica (ERVA)¹⁵. Clásicamente, se ha considerado que la HTA y la insuficiencia renal secundarias a esta enfermedad son situaciones que podrían prevenirse con un tratamiento adecuado. Sin embargo, aún no existe consenso acerca de cuál es este tratamiento ni cuándo indicarlo y, todavía menos, de cuándo están justificadas las estrategias de diagnóstico para detectar la enfermedad por análisis siempre poco beneficiosos en función a los parámetros de riesgo y/o costo-beneficio.

Los resultados de metaanálisis recientes (2010-2012) han sugerido que las alternativas de tratamiento evaluadas (fármacos vs revascularización hemodinámica) fallan en alcanzar la cura de la HTA y de la insuficiencia renal. Sin embargo, estas intervenciones han sido siempre indicadas en individuos con estadios avanzados de la patología y reducción del flujo sanguíneo renal. Por esto, la perspectiva de evaluar la enfermedad en sus fases más tempranas constituye aún un terreno no suficientemente explorado. En consecuencia, y a diferencia de otros territorios involucrados en la aterosclerosis, su localización renal implica un verdadero desafío para los investigadores teniendo en cuenta su curso insidioso, progresivo y silencioso durante la mayor parte de su evolución.

El estudio de la ERVA emerge como una posibilidad atractiva e interesante en la que se reúne, naturalmente, la HTA con la aterosclerosis, especialmente a través de la interacción entre los mecanismos inmunoinflamatorios y el sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA).

Por otra parte, no es frecuente hallar descripciones anatomohistológicas e inmunoinflamatorias de los estadios tempranos de la patología, siendo necesario recurrir a modelos experimentales. Estos modelos presentan limitaciones ya que no han logrado abarcar todos los factores involucrados en la HTA humana. Además, no es común el desarrollo de aterosclerosis a partir del aumento de la presión arterial (PA) como único factor, debiéndose agregar un factor proateroesclerótico como la dieta rica en grasas, siendo esto un significativo limitante de la reproducibilidad de los modelos comentados.

Son ejemplos de ello el modelo de Rata espontáneamente hipertensiva (SHR), referente a ratas genéticamente hipertensas, caracterizado por ser una cepa de endocrías no transgénicas y sin deficiencia génica (*knock-out*), originario de Japón y cuyo control es el modelo de ratas *Wistar-Kyoto* (WKY). En la génesis de los elevados valores de PA que estos animales presentan estarían involucrados mecanismos de hiperactividad del sistema renina angiotensina central y, secundariamente, del sistema nervioso simpático (SNS), así como alteraciones del metabolismo del óxido nítrico (NO).

Otro modelo de uso frecuente es el de ratas transgénicas en las que se les ha insertado el gen REN-2 de ratón en su genoma (transfección) y que, por la sobreexpresión del mismo en la pared arterial y la corteza adrenal, desarrollan

rápida hipertrofia vasculocardiaca. Los investigadores señalan a este modelo como al paradigma de la hipertensión arterial esencial (HTA-Es) dependiente de la angiotensina II (Ang II). Uno de los modelos más usados para el estudio del equilibrio del sodio (Na^+) es el de ratas acetato de desoxicorticosterona + solución salina + nefrectomía unilateral (DOCA-SAL)¹⁶⁻¹⁸. Los mecanismos son más representativos de la multifactorialidad mencionada previamente, mostrando el rol de la HTA dependiente de volumen con nefrosclerosis e hipertrofia miovascular, incremento de la actividad del SNS, de la vasopresina y de las endotelinas (ET).

En el modelo de las ratas obesas de Zucker se presenta una alteración genética recesiva asociada a un defecto en su receptor cerebral OB-R por el que estos animales desarrollan hiperinsulinemia, hiperfagia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia e intolerancia al frío¹⁹.

Hasta aquí se ha señalado que la enfermedad aterosclerótica es sistémica y que se caracteriza por presentar significativa activación inmunoinflamatoria inferida a través de las descripciones de las células halladas en las lesiones estudiadas, y que su origen es multifactorial. También se mencionó que su estudio en modelos animales es dificultoso debido a estas características y a las posibles diferencias entre los mecanismos etiopatogénicos de los modelos animales y de los humanos. Mayor dificultad se hallará si se desea obtener la descripción de la enfermedad proveniente de modelos clínicos en fases tempranas de su desarrollo, ya que la mayoría de los reportes se obtuvieron del análisis de lesiones avanzadas en arterias carótidas y coronarias.

La oclusión de las arterias renales en modelos experimentales intenta simular la caída del flujo sanguíneo renal secundaria al proceso aterosclerótico estenótico de esos vasos. Sin embargo, en estos modelos la oclusión es aguda, mientras que en la clínica real, crónicamente progresiva. Justamente, una de sus características (la evolución subclínica y lenta durante largos períodos), podría favorecer su estudio como modelo precoz de aterosclerosis. Otras características relevantes radican en el rol de la activación del SRAA, cuyos principales mecanismos de regulación se hallan en el mismo sistema renovascular y en aspectos mecanicistas de la anatomía arterial en la que los vasos involucrados son de mediano calibre, de conducción y terminales.

El análisis de algunos de sus mecanismos podría aportar datos para el desarrollo de estrategias clínicas, además de aquellos que se corresponden con el manejo de la aterosclerosis en su aspecto sistémico u otras localizaciones¹⁵.

El estudio de la aterosclerosis centrado en la situación actual del conocimiento supone, más allá de la descripción de las características histológicas de una placa, el análisis de la activación inmunoinflamatoria y hormonal, verdaderas manifestaciones del carácter sistémico de la enfermedad.

1.3. Preguntas de la presente investigación.

A manera de introducción y fundamento de las hipótesis formuladas más adelante, a continuación se enumeran las preguntas iniciales que señalaron el

derrotero de la presente investigación. Las mismas se centran en el análisis de los mecanismos hormonales, inmunológicos y estructurales de la ERVA, bajo una perspectiva de aplicación clínica de los potenciales resultados en el manejo diagnóstico y terapéutico de la condición.

1. ¿Puede caracterizarse la activación del SRAA en el compromiso unilateral y bilateral y considerando un modelo clínico de la ERVA?
2. ¿Cuáles son las características del proceso de activación inmunológica vinculadas a la ERVA en sus fases tempranas subclínicas?
3. ¿Cuáles son las características estructurales de la placa ateromatosa renal, en especial aquellas relacionadas con los procesos de vascularización adventicial y estadios de severidad de la aterosclerosis en fases subclínicas y silentes?

Para responder a estas preguntas, el presente estudio se ha estructurado en tres proyectos, según se representa en la **Figura 1**.

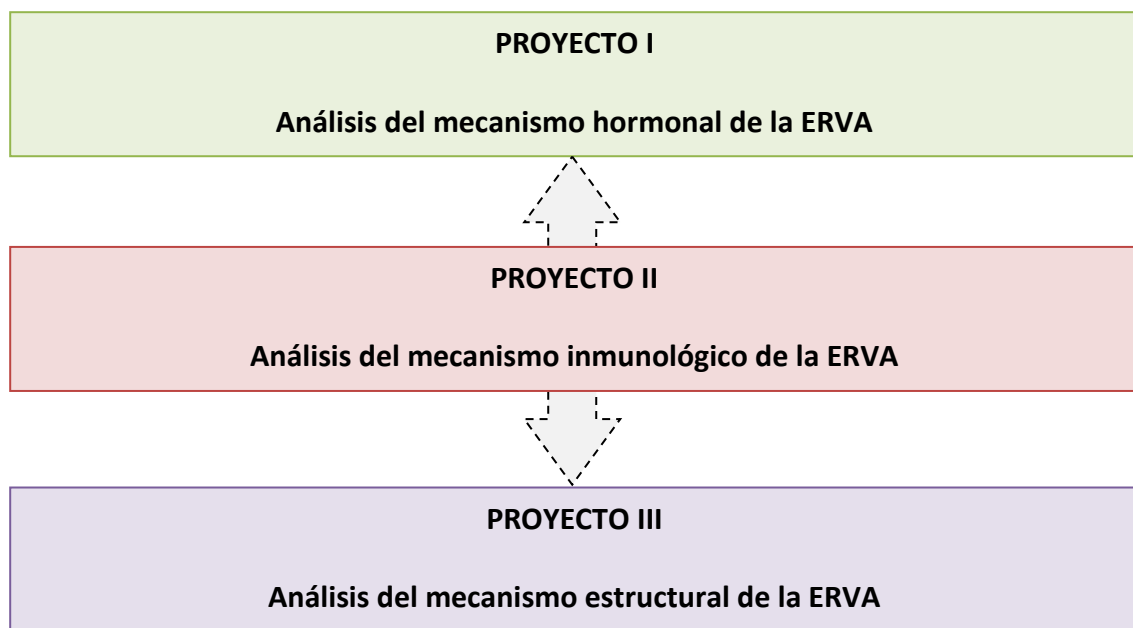


Figura 1. Estructura del diseño general de la investigación.

Fuente: Elaboración propia.

2. INTRODUCCIÓN GENERAL

2.1. Aspectos generales del desarrollo de la aterosclerosis con énfasis en la aterosclerosis renal

2.1.1. Definiciones

Se conoce como arteriosclerosis a toda patología de la pared vascular en la que existe endurecimiento y/o engrosamiento de la misma. Se pueden considerar tres diferentes cuadros anatomopatológicos de la enfermedad: la aterosclerosis, la aterosclerosis de Mönckeberg y la arterioloesclerosis. El término que identifica a la primera fue utilizado primeramente por Marchant (1904), aunque **previamente** patólogos como Virchow (1850) y Rokitansky (1821) habían descrito la presencia de lípidos en el desarrollo de placas arteriales. Su carácter específico **radica en** la presencia de ateromas en la íntima de las arterias elásticas y musculares de mediano calibre.

2.1.1.1. Aterosclerosis

Actualmente es considerada como una enfermedad vascular inflamatoria de origen multifactorial **y** que compromete todas las capas de la pared arterial, caracterizada por la pérdida de **su** elasticidad normal y/o la presencia de placas de ateroma, **definidas** en base al depósito predominante de lípidos, células sanguíneas, carbohidratos y calcio (Ca^{++}), además de otros factores **de** distribución variable²⁰.

2.1.1.2. Ateroesclerosis de **Monckeberg** o esclerosis cálcica de la media

Se caracteriza, a diferencia de la anterior, por la presencia de calcificaciones anulares en la túnica media de las arterias pequeñas o medianas de tipo muscular, sin células inflamatorias ni compromiso de la capa íntima o adventicia. No suele presentar complicaciones ni manifestaciones clínicas y puede coexistir con la ateroesclerosis. Las arterias se palpan induradas y nodulares, afectándose con más frecuencia las arterias femorales, tibiales, radiales, cubitales y genitales.

El origen de esta manifestación de ateroesclerosis no está dilucidado, aunque se ha **comunicado** su asociación con estímulos vasotónicos prolongados²¹.

2.1.1.3. Arterioloesclerosis

Esta forma de **arterioloesclerosis** se halla íntimamente vinculada a la HTA y se presenta en dos formas: la arterioloesclerosis hialina y la **arterioloesclerosis** hiperplásica.

La arterioloesclerosis hialina consiste en un engrosamiento hialino y homogéneo de la pared de arteriolas, con pérdida de su estructura normal y estenosis del lumen. Es aceptada la hipótesis que postula el origen de la lesión en el tránsito de componentes plasmáticos a través de la barrera endotelial dañada, resultando en rarefacción de la íntima y del subendotelio, a lo que se suma un aumento de la producción de matriz extracelular por parte de las células musculares lisas. Clínicamente, la arterioloesclerosis hialina se manifiesta en estadios avanzados por las

consecuencias de la estenosis de los lúmenes arteriolares afectados, causando déficit progresivo de la perfusión, insuficiencia metabólica y atrofia del órgano. Respecto de esto último, la condición afecta a múltiples órganos, pero se ha descrito clásicamente en los riñones, donde la arterioesclerosis hialina es la principal característica morfológica de la nefroesclerosis benigna. También se describió en la microangiopatía diabética y en el envejecimiento arterial.

Por su parte, la arterioesclerosis hiperplásica se asocia a HTA severa y ha sido descrita en la HTA maligna. Se caracteriza por la proliferación de células musculares lisas, aumento y engrosamiento de las membranas basales, y la presencia de engrosamiento laminar concéntrico (en catáfila de cebolla) de las paredes arteriolares, progresando a la estenosis de los lúmenes. Se han descrito focos de necrosis fibrinoide en la pared de las arteriolas de individuos afectados, alteración denominada arteriolitis necrotizante. Esta forma de arterioesclerosis afecta a todos los tejidos, pero se observa más frecuentemente en arteriolas renales, del tejido adiposo que rodea a las glándulas suprarrenales y al páncreas, y en arteriolas de la vesícula biliar e intestino²².

2.1.2. Desarrollo de la aterosclerosis

Los factores determinantes de la caracterización anatomohistológica de la lesión aterosclerótica son principalmente la inflamación y la trombosis.

Históricamente, ambos factores han sido los pilares de las dos hipótesis principales que explicaron de manera aproximada la formación de la placa de ateroma

durante las décadas de 1970-1990^{2,23}. La hipótesis de infiltración lipídica ha sido apoyada por la mayor parte de los estudios experimentales que desarrollaron modelos de aterosclerosis a partir del incremento del colesterol y las grasas en la sangre. Los *vasa vasorum* responsables de la irrigación de la misma pared vascular atraviesan la adventicia hasta la túnica media sin llegar al endotelio, por lo que la nutrición de este último depende de las moléculas plasmáticas que incluyen proteínas y lipoproteínas. La alteración del equilibrio de la concentración de lípidos sanguíneos se asocia a su depósito en el subendotelio, aunque no se ha definido si se trata solo de un aumento de su influjo o también de una reducción de su metabolismo. Una vez dentro de la pared vascular acontecen modificaciones en su estructura, como la producción de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (OxLDL), generándose así moléculas proaterogénicas.

La hipótesis de incrustación o trombógena explica la generación de la placa como consecuencia de repetidos episodios de trombosis y de organización mural, considerando a los lípidos y componentes de la lesión como productos de degradación de las células invasoras de la sangre en la pared. Sin embargo, esta propuesta se aplicaría más a las placas complicadas que al proceso inicial de su desarrollo²⁴.

Una tercera teoría, conocida como monoclonal, fue descrita y fundamentada también en la década de 1970. La misma describía una mutación monoclonal atribuida a mutágenos químicos o virósicos de las células de la túnica media y de la capa endotelial, en respuesta a la agresión de esta última. Por dicha mutación las células del músculo liso incrementan su tasa de mitosis en el subendotelio, produciendo un acúmulo sobre el que se depositan macrófagos y lípidos.

Desde la década de 1990 hasta la actualidad, se han producido enormes avances en el conocimiento del desarrollo anatomohistológico de la enfermedad, identificándose lesiones patognomónicas, como las estrías grasas, que pueden estar presentes ya en la vida intrauterina. Entre 1990 y 1998, las hipótesis originales se interrelacionaron, enriqueciéndose progresivamente con los aportes de perspectivas fisiopatológicas, y conformando una teoría multifactorial basada en el concepto de lesión y reparación, reconociendo la disfunción del endotelio como un factor integrador².

Esencialmente, este enfoque multifactorial propone que, luego de un factor de agresión endotelial, la célula del endotelio es activada con disfunción, exponiéndose al medio y favoreciendo tanto la agregación de plaquetas y de células de la progenie blanca, proteínas y lipoproteínas como la apoptosis de macrófagos, que se suman a la lesión²⁵. Esta teoría propone tres acontecimientos básicos que explican el desarrollo y composición de la placa:

1. Migración y proliferación de células musculares lisas desde la túnica media hacia la túnica íntima o el endotelio vascular.
2. Producción, por estas células, de músculo liso de abundante tejido conectivo con fibras colágenas, elásticas, matriz mesangial y proteoglicanos.
3. Depósito de células y detritus o detritos lipídicos intracelulares y extracelulares.

Esta teoría multifactorial constituyó una verdadera integración del conocimiento ampliamente aceptado pero que, sin embargo, no ha dejado de mostrar la paradoja que sitúa al sistema vascular simultáneamente como víctima y victimario, ya que es al mismo tiempo productor y blanco de la acción de los mediadores de lesión

y de aterosclerosis. Un ejemplo de esto se halla en las reacciones favorecidas por la lesión endotelial mediadas por citoquinas, moléculas que promueven intensas respuestas inflamatorias, contribuyendo significativamente al proceso de ateromatosis²⁶⁻²⁹.

El nuevo milenio se caracterizó por la perspectiva sistémica de definición de la aterosclerosis, considerándose como una enfermedad inflamatoria e inmunológica (ver más adelante, **Introducción específica**).

2.1.2.1. Desarrollo inicial

Diversos autores coinciden en identificar la activación disfuncionante de las células endoteliales como el primer factor **posible** de ser reconocido histopatológicamente en el proceso de aterogénesis. No obstante, también es cierto que el origen multifactorial de la enfermedad presentaría otras opciones de diagnóstico desde etapas previas a su manifestación tisular, como las ofrecidas, entre otros, por los estudios genómicos, proteómicos y neuroendocrinos.

La activación de las células endoteliales se produce, según la teoría lipídica previamente descrita, de manera simultánea con el depósito de moléculas de lipoproteínas en el espacio subendotelial, facilitándose el reclutamiento de monocitos que se diferencian de macrófagos, **todos** componentes **primarios** abundantes **en** la lesión en sus fases incipientes. La atracción y adhesión de monocitos, células T y lipoproteínas son favorecidas por la expresión de moléculas de adhesión celular (CAM), del tipo de las selectinas P, y de adhesión vascular-1 (VCAM-1) en el endotelio activado³⁰. La inclusión por diapédesis de los monocitos es regulada por factores

quimioatrayentes, como la proteína quimioatrayente-1 (MCP-1). A su vez, los mismos monocitos incrementan la producción de metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP) en el endotelio y en la capa media, favoreciendo la infiltración de leucocitos a través de la barrera endotelial **y** estimulando la expresión de SR en la superficie del endotelio ³¹. Estos receptores mediarán gran parte de la endocitosis de las lipoproteínas que son requeridas en el proceso de generación de las células espumosas a partir del macrófago activado. El número de macrófagos subendoteliales comienza a incrementarse sin necesidad de aporte circulatorio, debido a su propia duplicación mitótica estimulada por secreción autocrina y de factores de crecimiento, interleuquinas (IL), factor de necrosis tumoral (TNF) y citoquinas proinflamatorias, **todas** moléculas producidas por el endotelio disfuncionante³¹⁻³⁶. En la **Figura 2** se representa el proceso descrito, en función a los aportes de Lewis *et al*³⁷.

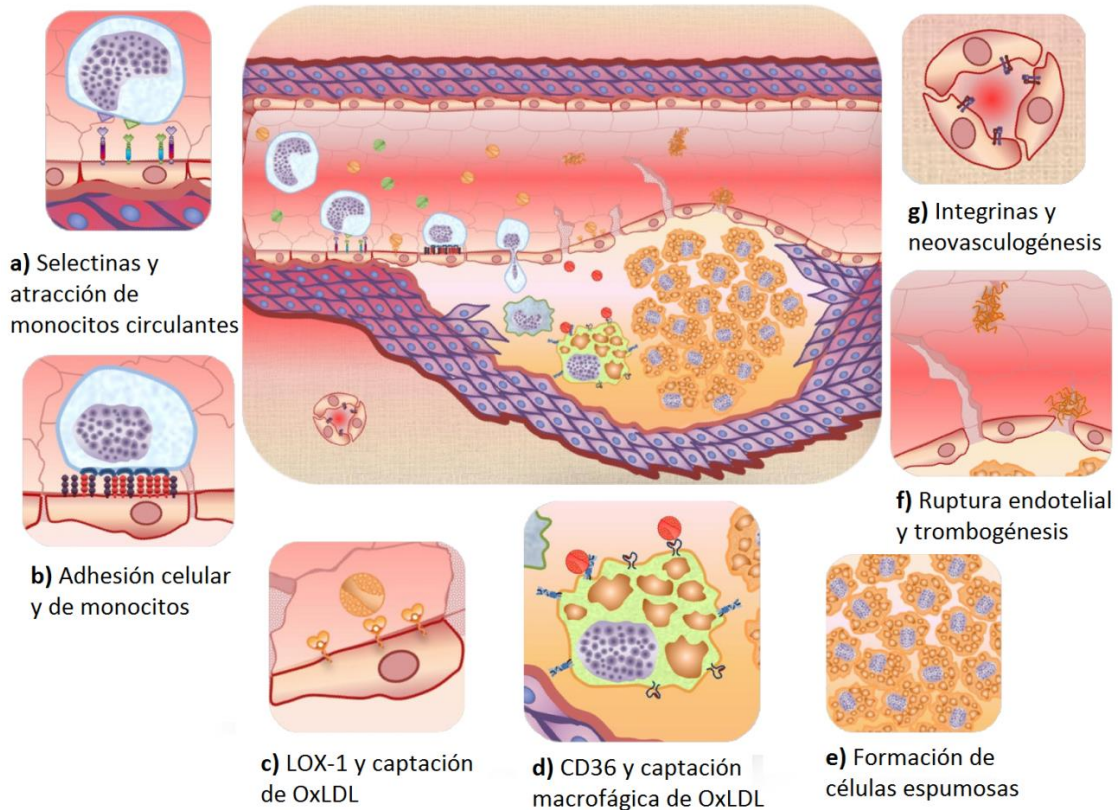


Figura 2. Adaptación de la hipótesis de incrustación lipídica al conocimiento de las interacciones inflamatorias y celulares que gatillan el inicio de la aterogénesis.

Se muestra la secuencia de eventos de a) a g) que describen la hipótesis de incrustación lipídica. La invasión de la lipoproteína de baja densidad (LDL) en el subendotelio inicia la cascada de eventos que la oxidan y que activan la respuesta inflamatoria. La adhesión de monocitos es estimulada por las selectinas (un tipo de CAM) y se extiende la lesión endotelial, que favorece el ingreso de monolitos **adicionales**. Estos se diferencian en macrófagos y se estimula la expresión de SR, resultando en la formación de células espumosas. La reacción inflamatoria promueve la migración de las células musculares lisas y de neovasos adventiciales, que profundizarán la placa, convirtiendo la lesión en una masa activa que **invade** hacia la luz y facilita la respuesta inflamatoria sistémica.

Fuente: Modificado de Lewis DR, Kamisoglu K, York AW, *et al.* Polymer-based therapeutics: nanoassemblies and nanoparticles for management of atherosclerosis. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2011;3(4):400-20.

Nota: LOX-1, Receptor de lipoproteínas de baja densidad oxidada ligado a lectina-1; OxLDL, lipoproteínas de baja densidad oxidada

La teoría de incrustación lipídica afirma que, junto a la activación endotelial, se produciría la migración de células del músculo liso vascular hacia la capa íntima, donde liberarían citoquinas, factores activadores de esas citoquinas y de macrófagos, que son activados y fagocitan a las LDL atraídas por el endotelio activado, generando así células espumosas ricas en lípidos. Además, las células del músculo liso sintetizarían proteínas de matriz y tejido conectivo, rico en proteoglicanos y que contribuirían a retener las LDL al actuar como una malla en la capa íntima.

El ciclo de las células espumosas incluye una rápida apoptosis proveedora de material necrótico que, junto a depósitos lipídicos, crea un núcleo central de la lesión ateromatosa de tamaño creciente. Las células musculares lisas que continúan afluyendo a la neo-lesión se sitúan alrededor del núcleo central lipídico, formando una cápsula fibrosa, por la síntesis activa de colágeno. Clásicamente, este proceso fue descrito como el de un depósito de lípidos, siendo interpretado en la actualidad como una compleja red de reacciones inmunoinflamatorias, que se manifiestan histológicamente.

Si el primer evento fuera la lesión del endotelio, el mismo se tornaría disfuncionante y activado; sin embargo, dicha activación o disfunción podría eventualmente preceder a la lesión. La célula endotelial activada o disfuncionante puede reconocerse por la expresión de selectinas en su membrana celular, especialmente de tipo E y P (glicoproteínas -GP- de adhesión), moléculas de adhesión plaquetaria, moléculas de adhesión intercelular (ICAM) y VCAM-1. Por su parte, las integrinas expresadas en la superficie de monocitos y de células T reconocen a las

selectinas de la superficie endotelial y la interacción con ellas promueve la adhesión de los leucocitos al endotelio³⁸⁻⁴⁰.

En la **Figura 3** se representa el proceso asociado a los mediadores de inflamación en la instancia inicial aterogénica y a la disfunción endotelial, en función a los desarrollos de Aukrust *et al*⁴¹.

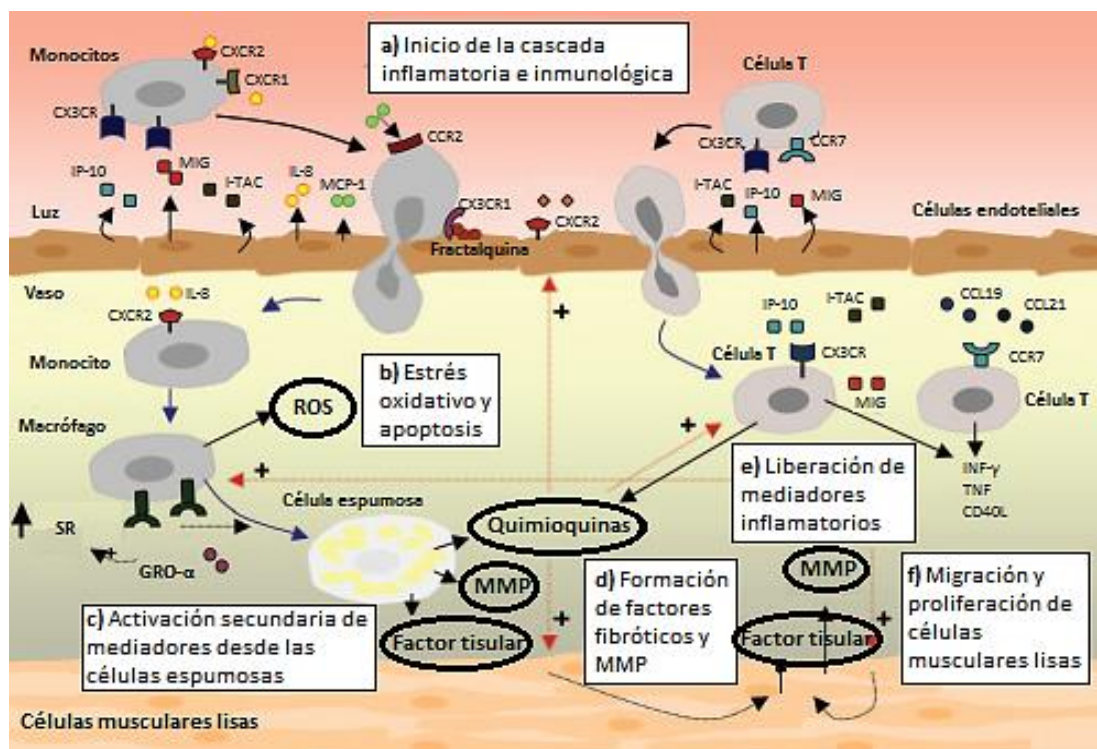


Figura 3. Esquema representativo de los mediadores de inflamación liberados en el proceso inicial aterogénico y asociados a la disfunción endotelial.

Esquemáticamente se enumeran fases de la a) a la f) en las que se señalan los eventos relacionados con activación inflamatoria y los receptores celulares involucrados durante el proceso de disfunción endotelial. Cada fase se asocia con mediadores de inflamación, en especial citoquinas. Se Durante este proceso las citoquinas **juegan** un rol muy importante en las diferentes fases, siendo liberadas por el endotelio y **por** los mismos macrófagos. Los mediadores de formación de matriz también cumplen funciones relevantes, **como** la formación del anclaje de la placa y la inducción de la neovascularización. El microambiente que se genera promueve la retroalimentación e interacción de los múltiples factores, favoreciendo el crecimiento

y la nutrición local de la placa. El carácter sistémico del proceso podría estar vinculado a la presencia de estos factores de inflamación en el torrente sanguíneo y a la afluencia de nuevos mediadores **sistémicos**. Fuente: Modificado de Aukrust P, Halvorsen B, Yndestad A, *et al.* Chemokines and cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(11):1909-19.

Nota: CCL19, Ligando 19 de la quimioquina CC; CCL21, Ligando 21 de la quimioquina CC; CCR2, Receptor 2 de la quimioquina CC; CCR7, Receptor 7 de la quimioquina CC; CD40L, Ligando de la proteína CD40; CX3CR, Receptor de la quimioquina CX3C; CX3CR1, Receptor 1 de la quimioquina CX3C; CXCR1, Receptor 1 de la quimioquina CXC; CXCR2, Receptor 2 de la quimioquina CXC; IFN- γ , Interferón-gamma; IL-8, Interleuquina-8; IP-10, Proteína inducida por interferón-gamma 10; I-TAC, Quimioatrayente de células T inducida por interferón; MIG, Monoquina inducida por interferón-gamma; NAP-2, Péptido activador de neutrófilo 2;

2.1.2.2. Rol del colágeno

El colágeno tiene roles específicos **en la homeostasis de la placa**, que se manifiestan en diferentes magnitudes y funciones regulatorias, en comparación con la situación de normalidad vascular. El colágeno intraplaca participa en eventos celulares, como la diferenciación, adhesión, migración, proliferación y apoptosis⁹. Probablemente, estas propiedades y **los** mecanismos asociados a un proceso de cicatrización posterior a la lesión vascular, sean los que expliquen **porqué el** colágeno **es** un constituyente habitual e importante de la placa ateromatosa.

El contenido de los diferentes tipos de colágeno se incrementa en relación directamente proporcional a la progresión de la placa. El colágeno de tipo I es rígido y constituye el 70% del contenido total de colágeno, **especialmente** en **placas** de localización coronaria. El colágeno de tipo I y tipo III, este último más elástico, se distribuyen juntos en todas las placas, mientras que el tipo V forma finas fibras, que se encuentran en las placas más evolucionadas y antiguas^{27,42-43}. La proporción entre los diferentes tipos de colágeno señala las características de la placa. Por su parte, las

células musculares lisas de la túnica media y aquellas de las lesiones tempranas están asociadas a delgadas fibras, acumulaciones, de colágeno de tipo IV.

A su vez, los distintos tipos de colágeno presentan diferentes afinidades por las lipoproteínas; por ejemplo, el colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) se une, en orden decreciente, al colágeno de tipos I, V, III y IV. La c-LDL juega un papel esencial en la estabilidad de la placa ya que, si bien es degradada por la elastasa de los neutrófilos, es resistente a varias enzimas que degradan la matriz y que son secretadas por células musculares lisas y macrófagos. El colágeno de tipo VIII incrementa la estabilidad a través del aumento de su elasticidad, asumiendo una estructura elástica hexagonal y uniéndose a fibras elásticas (FE).

El metabolismo de las fibras de colágeno es regulado especialmente por citoquinas y factores de crecimiento. El factor transformador de crecimiento-beta (TGF- β) estimula la síntesis de colágeno tipos I, III, IV y V, mientras que es suprimida por la interleuquina-1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) y el IFN- γ . Se acepta que la síntesis de cada tipo de colágeno se incrementa en paralelo al crecimiento de la lesión y, al mismo tiempo, que en el interior del núcleo lipídico aumenta su degradación. El resultado de la progresión será la fragilidad de la placa gracias a la apoptosis celular y la degradación de la elastina junto al depósito de lípidos en su núcleo^{42,43}.

2.1.2.3. Rol del factor tisular

El factor tisular es un fuerte activador del sistema inflamatorio protrombótico. Su identificación directa, así como la de su ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y sus

antígenos (Ag) específicos en células del ateroma y su entorno, ha constituido un hito **importante** en la comprensión fisiopatológica de la enfermedad. Este factor se encuentra desde las fases iniciales de la aterosclerosis en células endoteliales, musculares lisas y espumosas, siendo más abundante en el núcleo lipídico, facilitando un contexto rico en fosfolípidos. En estas áreas se identificó el factor tisular en el interior de macromoléculas procoagulantes que provienen del metabolismo y de la apoptosis de células espumosas ricas **en** OxLDL⁴⁴⁻⁴⁶.

2.1.2.4. Crecimiento

El crecimiento de la placa desde los estadios iniciales descritos se produce por un aumento de los monocitos infiltrados, de las células T, de los macrófagos que **provienen** del torrente circulatorio y de su duplicación intraplaca, y de la matriz. Las células se localizan, preferentemente, en los “hombros” del núcleo lipídico, región que dirige el crecimiento del ateroma.

Existen placas que pueden ser silentes durante largos períodos desde una perspectiva clínica. En **su** curso evolutivo, su ruptura, exponiendo factores trombogénicos, puede formar un trombo con obliteración progresiva de la luz del vaso. El crecimiento progresivo contribuye también a la transformación de placas lipídicas en fibrosas; asimismo, podría favorecer que estas últimas se calcifiquen en lugar de inactivarse, aumentando **así** su volumen **y** el riesgo implícito de estenosis. El proceso fibroso puede terminar en la remodelación constrictiva que causa estenosis o, si el éxito de las colagenasas es mayor, provocar remodelación positiva. En la **Figura 4**

se representa el proceso de crecimiento de la placa aterosclerótica, en función a los desarrollos de Virmani *et al*^{47,48}.

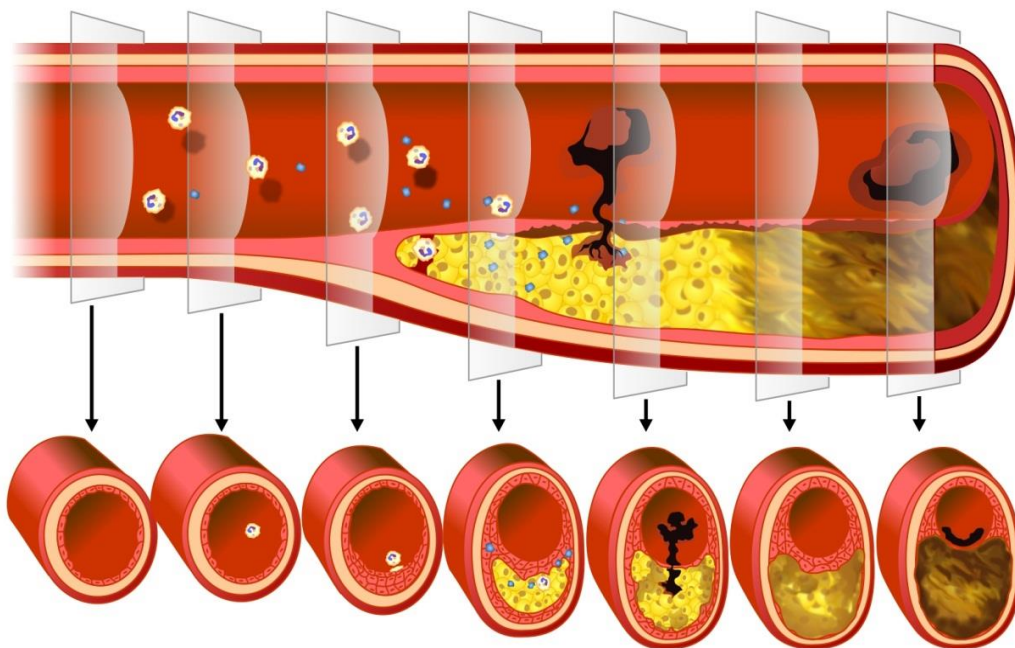


Figura 4. El crecimiento de la placa aterosclerótica.

Desde la perspectiva clínica se ha dado mayor relevancia al estudio de los mecanismos de aparición de las complicaciones de la placa, especialmente en relación con su ruptura y la trombosis. Clásicamente, se ha considerado que la ruptura de la cápsula fibrosa permite a las plaquetas y a las células inflamatorias tomar contacto con el sustrato trombogénico que caracteriza al núcleo necrótico. Actualmente, se acepta que el núcleo no es el principal proveedor del factor tisular y de otros mediadores

inflamatorios, sino que estos serían producidos por los monocitos circulantes, coincidiendo así con una perspectiva sistémica de la enfermedad. La luz del vaso puede permanecer indemne durante largos períodos de la evolución de la placa, **siendo** esta etapa clave para las intervenciones preventivas de complicaciones y la regresión de la enfermedad. **El potencial de activación inflamatoria lleva a inestabilidad de la placa y a ruptura, u otras complicaciones.**

Fuente: Modificado de Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, *et al.* Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(5):1262-75; Virmani R, Burke AP, Farb A, *et al.* Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(8 Suppl):C13-8.

2.1.2.5. Apoptosis

En la enfermedad aterosclerótica se produce una intensa apoptosis que es estimulada **tanto a nivel intraplaca como** de manera sistémica. La apoptosis intraplaca puede generar detritus celulares que, por hallarse en un entorno anormal, no son fagocitados adecuadamente, promoviendo así la complicación de la lesión y el envejecimiento vascular prematuro. La coexistencia de células inflamatorias y apoptóticas en una placa complicada puede exponer moléculas de alta trombogenicidad al torrente circulatorio⁴⁹⁻⁵¹.

Las concentraciones **elevadas** del factor tisular también se **asocian** con una mayor activación de apoptosis intraplaca, probablemente vinculada a un incremento de material fosfolipídico, producto de la degradación celular que favorece el medio de activación del factor **tisular**. A nivel sistémico, en análisis de muestras sanguíneas de individuos con SCA, se ha descrito la presencia de restos de membranas endoteliales de células apoptóticas.

2.2. Aspectos mecanicistas

Desde una perspectiva mecanicista basada en la bioingeniería, entendiéndose **ésta** como el estudio de los aspectos físicos de los sistemas vivos, el eje sobre el que se centran las manifestaciones e implicancias de la ERVA es la restricción del flujo sanguíneo renal efectivo.

A continuación se describen los factores asociados determinantes sobre la magnitud de la caída del flujo y algunas de sus implicancias que, a criterio del autor, podrían **presentar** mayor relevancia en el desarrollo de los tres proyectos incluidos en esta tesis.

2.2.1. Radio del vaso

Pueden distinguirse efectos estructurales iniciales de la lesión aterosclerótica que **están** localizados como engrosamiento de la capa íntima-endotelial, aumento de la rigidez de la pared vascular y formación de la placa. Estos cambios modifican progresivamente el diámetro del vaso, utilizándose la medida de su radio como marcador del efecto sobre el flujo.

La ecuación de Hagen-Poiseuille permite enumerar los factores a tener en cuenta para estimar el impacto sobre el flujo de una lesión **determinada** ⁵²⁻⁵⁴. De esta manera, la resistencia al flujo se incrementará a la cuarta potencia del cambio del radio

y mientras que este último y la presión diferencial entre 2 puntos afectan directamente al flujo, la viscosidad y la longitud lo harán de manera inversa. Esto queda expresado en la **Ecuación 1**¹.

$$Q = \frac{(P_1 - P_2) \pi R^4}{8L\mu} \quad (1)$$

Donde:

- Q=Flujo.
- P=Presión.
- π =Constante.
- R=Radio.
- L=Longitud.
- μ =Viscosidad.

2.2.2. Fluidos

Las lesiones aterosclerótica y arterioesclerótica influirán en el comportamiento del líquido intravascular y en sus elementos formes, **que** a su vez afectan la pared vascular. **El** movimiento del flujo sanguíneo **es** heterogéneo en la luz

¹ Las nomenclaturas utilizadas en las ecuaciones no se disponen en el listado de abreviaturas generales de la tesis, hecho justificado ante su sola aplicabilidad en las mismas.

del vaso, siendo más veloz y lineal en el centro que en la periferia. La presencia de alteraciones de la pared puede generar áreas de turbulencia, de predicción y caracterización complejas, debido a que se trata de un líquido heterogéneo compuesto por elementos con velocidad y movimiento determinados por la fuerza de contracción cardíaca y la movilización de la pared vascular, dependiente de su grado de elasticidad.

Si bien se considera que se podría caracterizar al flujo sanguíneo como un movimiento de tipo esencialmente lineal, debe tenerse en cuenta que la presencia de puntos de reflexión y zonas de aceleración y desaceleración modifican de forma crítica esta propiedad. El líquido sanguíneo no es uniforme, sino que está constituido por elementos formes de diferentes propiedades y plasma. Su viscosidad es menor a mayor velocidad de flujo y a menor número de elementos formes, en especial de eritrocitos. Por su parte, la viscosidad es mayor en el centro del vaso, característica asociada a una menor velocidad en la periferia sobre la pared de la arteria, fenómeno que favorecerá la formación de trombos con la consiguiente activación de mecanismos antitrombóticos y fibrinolíticos que previenen la trombogénesis. Sin embargo, la lesión endotelial, la aterosclerosis y la arterioesclerosis son algunas condiciones que acrecentarán esta vulnerabilidad.

Se acepta que existe un punto en el cual la velocidad del flujo se vuelve crítica, a partir del cual el flujo deja de ser lineal y se torna turbulento. Los factores que contribuyen a la aparición del punto de velocidad crítica (VC) son expresados en la **Ecuación 2**, en función al diámetro del cilindro (d), la densidad de la pared (δ), la viscosidad de la sangre (μ) y un factor de corrección (número de Reynolds -Re).

$$VC = \frac{Re\mu}{\delta d} \quad (2)$$

Aplicando los conceptos enunciados, una reducción del 50% del radio incrementará 16 veces la resistencia y reducirá, en la misma medida, el flujo. El impacto podría ser mayor si se modificaran las condiciones hidrodinámicas del flujo laminar y el gradiente de presión. Por su parte, ante la consideración que la arteria afectada se encuentra en un circuito de vasos en serie y en paralelo, se requerirá que el radio del vaso se reduzca en más de 60% para causar una disminución significativa del flujo sanguíneo efectivo.

En el caso de las arterias renales, su disposición presenta particularidades interindividuales, siendo frecuentes las arterias polares y los dobles sistemas circulatorios que se suman a la compleja red de vasos intrarenales y glomerulares. La caída del flujo dependerá, además, de las características hemorreológicas locales, así como de la turbulencia y del gradiente de la presión transtenótica⁵⁵⁻⁶⁰.

2.2.3. Componentes hemodinámicos de la PA y del flujo sanguíneo. Flujo pulsátil y flujo continuo

La pulsatilidad de la contracción cardíaca otorga características especiales al sistema vascular, que **tendrán influencia** en la estimación del impacto de la lesión aterosclerótica sobre el flujo. Dado que el corazón entrega a los vasos, de manera

pulsátil-fásica, un volumen determinado de sangre a gran presión en cada latido, **son los vasos los que** deberán transformar **ese flujo** en uno tónico-continuo y de menor presión para permitir la perfusión adecuada de los tejidos.

2.2.3.1. La arteria como amortiguador inteligente

El efecto de amortiguación inteligente (*smart damping*), atribuido fundamentalmente al músculo liso vascular, es considerado **frecuentemente** como el principal elemento en el mantenimiento del flujo estable, pero deben destacarse los roles de las arteriolas como sistema disipador de energía y del sistema venoso como reservorio de capacitancia⁶¹⁻⁶³.

El efecto de amortiguación actúa restituyendo el equilibrio a través de la reducción del impacto de la perturbación recibida, en este caso la pulsatilidad del latido cardíaco. La pared arterial es pasivamente expandida durante la sístole cardíaca, recibiendo una carga de aceleración que es transmitida en la pared del músculo liso como una fuerte deformación-vibración. El músculo liso, al ser un elemento de características viscosas, disipa la energía, a diferencia de los otros componentes de la pared, como las fibras de elastina, el colágeno y la matriz extracelular.

En presencia de pérdida de elasticidad de la pared, la función de amortiguación se altera y se incrementa el impacto de la pulsatilidad del flujo sanguíneo. Estas situaciones favorecen el daño de áreas lesionadas o vulnerables del endotelio, a través de los mecanismos descritos en un círculo de lesión autoperpetuable.

2.2.3.2. Reclutamiento de colágeno

Los principales componentes de la capa media de la pared arterial, primordial responsable de la propiedad de distensibilidad y de la función de amortiguamiento, son las FE, las fibras colágeno y las fibras musculares lisas. Las primeras soportan las variaciones de presión de baja carga (< 80 mm Hg). Por su parte, mientras las segundas permanecen replegadas, son progresivamente reclutadas a medida que la carga se incrementa, favoreciendo así una mayor rigidez que puede afrontar cargas > 200 mm Hg; esta función de reclutamiento evita la sobredistensión del vaso. Si la rigidez de la pared es permanente debido a enfermedad arterioesclerótica, la presión del vaso aumentará perpetuándose -ya no por la distensión pasiva-, sino también por un aumento compensador y sostenido de las fibras de colágeno.

En el caso particular de las arterias renales, la modificación de la distensibilidad o relación tensión-deformación tiene lugar de manera no lineal y se ha descrito que la distensibilidad puede llegar hasta un 100% dentro de un rango de presión arterial media (PAM) de 60-180 mm Hg. Es probable que esta propiedad se asocie con el largo período subclínico que precede a la manifestación de las complicaciones de la enfermedad renovascular (ERV) y a la lenta e insidiosa aparición de nefropatía isquémica.

2.2.3.3. Componentes hemodinámicos de la PA

Considerado lo expuesto acerca de la función de amortiguación, se entiende que el sistema vascular arterial y venoso se ocupa no solo de la conducción sino

también de la adecuación del flujo para su transporte y perfusión tisular a través de redes de sistemas físicos^{57,64}.

Bajo esta perspectiva puede considerarse que la PA será la resultante del equilibrio entre los fluidos y las fuerzas involucradas tanto en el acoplamiento ventriculoarterial como a lo largo de todo el sistema vascular. Se distinguen dos componentes hemodinámicos de la PA que contribuyen a determinar el flujo sanguíneo: uno estable y uno pulsátil.

El componente estable es el resultante de la relación entre el gasto cardíaco y la resistencia vascular, y es expresado como PAM. Por su parte, el componente pulsátil se calcula como la diferencia entre la presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD), y se expresa como presión de pulso (PP). La PP guarda una relación directamente proporcional a la descarga sistólica cardíaca e inversamente proporcional a la distensibilidad arterial, según se expresa en la **Ecuación 3**.

$$PP = \frac{\text{Descarga sistólica}}{\text{Distensibilidad arterial}} \quad (3)$$

Si bien la PP periférica es la que se mide con mayor frecuencia en la práctica médica (probablemente por la facilidad del método), debe tenerse en cuenta que es la PP central la que refleja la verdadera carga de presión y pulsatilidad a la que se hallan sometidos los órganos vitales como el corazón y el cerebro. La PP central se encuentra determinada directamente por el volumen sistólico, la onda de reflexión vascular y la rigidez vascular⁶⁴⁻⁷³.

2.2.4. Distensibilidad y complacencia arterial

La distensibilidad es definida como la capacidad intrínseca de un material para resistir la distensión (ausencia de deformación) al aplicársele una fuerza. Al considerarse en el contexto de un vaso arterial, la distensibilidad indica la relación entre un cambio de volumen y otro de presión. La distensibilidad dependerá de la rigidez que presente el vaso dado, debiéndose distinguir entre la rigidez funcional o específica (propia de los componentes de la pared, como la elastina, el colágeno y las fibras musculares) y la rigidez eficaz o mensurable (como expresión de la rigidez). El principal determinante de la distensibilidad es la rigidez, distinguiéndose la rigidez específica y la relación entre el espesor de la pared y el diámetro de la luz.

Por otra parte, la complacencia arterial se define como la inversa de la rigidez efectiva. De esta manera, si se comparan arterias de igual material constitutivo (rigidez específica o funcional), su grado de distensibilidad en respuesta a una presión **determinada** dependerá del grosor de su pared, siendo más distensible la arteria de paredes más finas y menos distensible aquella de paredes engrosadas (distensibilidad efectiva). La capacidad de amortiguamiento del flujo pulsátil depende de la distensibilidad efectiva arterial a través del efecto Windkessel, basado en las propiedades elásticas de la pared. Durante el proceso aterosclerótico se altera la homeostasis vascular, aumentan la resistencia y la rigidez, y disminuyen la complacencia y la distensibilidad. La reducción de la distensibilidad y de la complacencia puede asociarse con aumentos en la PAS, la PP y la velocidad de

reflexión de las ondas de pulso (VOP). Sus efectos hemodinámicos incluyen el aumento del estrés parietal (rango de estrés, estrés pico).

La reducción de la distensibilidad también desencadena el fenómeno de desacoplamiento ventriculoarterial o discordancia entre la impedancia aórtica y la eyección ventricular, aumento del consumo de oxígeno del ventrículo izquierdo, aumento de la poscarga, hipertrofia del ventrículo izquierdo y compromiso de la perfusión miocárdica^{72,73}.

2.2.5. Comportamiento del flujo y la presión en presencia de estenosis

La ecuación de Bernoulli es aplicable al estudio de los fluidos en movimiento y permite analizar las modificaciones de la presión y del flujo cuando existen cambios en el diámetro de un vaso entre una y otra sección o en presencia de estenosis. Siendo la presión hidrodinámica la suma de la presión hidrostática (P) y la presión cinética, se propone que a medida que la sección del vaso disminuye, la velocidad (V) aumenta, siendo válida la proposición inversa. En la sección posterior a la reducción del radio, la P es menor, dada la disipación de energía transestenótica. En la **Ecuación 4** se representan las anteriores afirmaciones:

$$\frac{P + \frac{1}{2}\rho V^2}{\rho} = \text{constante} \quad (4)$$

Expresado en términos de flujo y presión, a mayor velocidad de flujo, menor presión, siendo válida la proposición inversa. Asociado a esto, debe considerarse que la relación entre el componente hidrostático y el componente cinético es una constante.

El siguiente factor a tener en cuenta, a fin de estimar adecuadamente el comportamiento mecánico del sistema cardiovascular, es la disposición en serie y en paralelo de los vasos sanguíneos, para lo cual se considerará lo enunciado en la ecuación de Poiseuille (**Ecuación 5**).

$$\Phi_V = \frac{dV}{dt} = v_{media} \pi r^2 = \frac{\pi r^2}{8\eta} \left(\frac{dP}{dz} \right) = \frac{\pi r^2 \Delta P}{8\eta L} \quad (5)$$

Donde:

- V=Volumen del líquido que circula en la unidad de tiempo t.
- v_{media} =Velocidad media del fluido a lo largo del eje z del sistema de coordenadas cilíndrico.
- r=Radio interno del tubo.
- ΔP =Caída de presión entre los dos extremos.
- η =Viscosidad dinámica.
- L=Longitud característica a lo largo del eje z.

Así, se obtiene un valor resistivo, en tanto la expresión del flujo como dependiente de la diferencia de presión hidrostática por el radio elevado a la cuarta potencia, sobre la longitud del tubo por la viscosidad del fluido. En general, las arterias

tienen diámetros tales que les confieren bajas resistencias, facilitando así su función de conducción. Esto mismo es compartido por los pequeños capilares, dada su disposición en paralelo. Por su parte, las arteriolas tienen alta resistencia, entorpeciendo la funcionalidad **descrita arriba**.

El radio vascular es uno de los protagonistas pivotaes en este enunciado, comprendiéndose el rol de la lesión aterosclerótica en la regulación del flujo y de las resistencias vasculares. Las características de modificación del tono vascular a través de propiedades mecanicistas y neuroendocrinas son, ante todo, elementos de equilibrio asociados al objetivo de evitar la caída de la perfusión normal de los tejidos en estas situaciones.

Desde esta perspectiva, son múltiples las consecuencias observadas en una placa, incluyendo, por ejemplo, la modificación de la tensión de cizallamiento dada por el bajo flujo que favorece una mayor viscosidad a través de un aumento de la agrupación de glóbulos rojos⁶⁴⁻⁷³. En la **Figura 5** se esquematiza el mecanismo inmanente al estrés de rozamiento (*shear stress*) en función a los desarrollos de Ciancaglini⁷⁴.

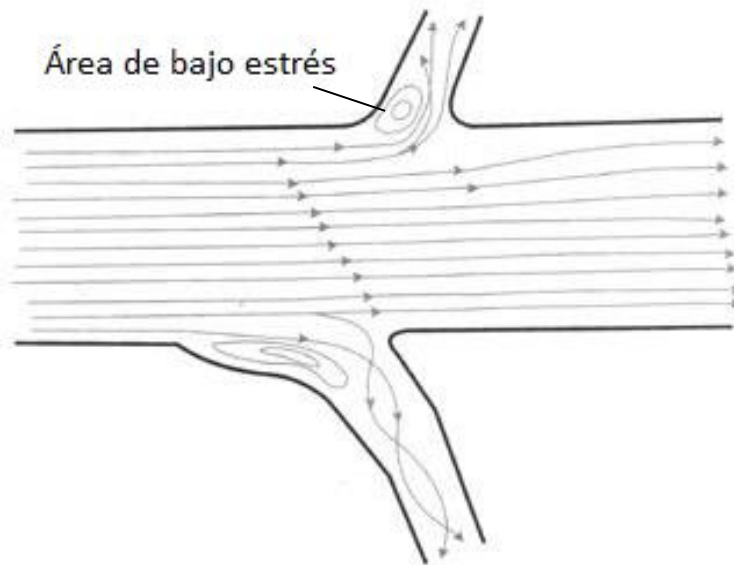


Figura 5. Estrés de rozamiento.

El flujo sanguíneo no sigue los principios de los líquidos homogéneos debido **tanto** a su composición de elementos formes **como a sus** diferentes características de los fluidos. En especial a esta singular situación se agrega la variación del continente conforme a las áreas de circulación de los fluidos a lo largo de todo el territorio arterial. Las zonas de bifurcación favorecen la rémora sanguínea y la interacción de los componentes, **y** en situaciones proateroescleróticas representa un importante riesgo para el desarrollo y crecimiento de la placa. En la figura se muestra la pérdida de la linealidad del flujo sanguíneo asociada al bajo estrés de rozamiento presente en las áreas de bifurcación, tales como las carótidas y las renales. En estas últimas, a nivel de los **ostia**, se da un ángulo de casi 90°, por lo que se espera un riesgo elevado de desarrollo de placas **ante** condiciones predisponentes.

Fuente: Modificado de Ciancaglini C. Hidrodinamia de la circulación vascular periférica normal y patológica. Rev Costarric Cardiol. 2004;6(2):43-61.

2.3. Aspectos inflamatorios y neuroendocrinos

2.3.1. Principales mediadores de la activación inflamatoria relacionada a la aterosclerosis

El NO participa en la regulación del flujo sanguíneo sobre la mayoría de las áreas vasculares, incluyendo la del sistema renovascular. Es difícil identificar una única acción del NO que caracterice este rol, por lo que se preferirá mencionar una taxonomía de tres tipos de efectos sobre la homeostasis del sistema vascular:

1. Efectos moduladores.
2. Efectos protectores.
3. Efectos perjudiciales.

Entre los primeros se destaca el efecto sobre el tono del músculo liso vascular, la adhesión celular y plaquetaria, el sistema inmunoinflamatorio y la función renal; entre los segundos, **el** efecto inhibitorio de la adhesión plaquetaria y sus acciones antioxidante y anti-inflamatoria; finalmente, entre los efectos perjudiciales, **los** relacionados con la producción de especies reactivas de nitrógeno (RNS), la peroxidación lipídica y la depleción de las reservas de agentes antioxidantes.

Otra aproximación a la categorización de sus acciones se alcanza en relación a su rol sobre la regulación humoral del equilibrio hemodinámico, en el que participa como sistema vasodilatador, interactuando con los péptidos natriuréticos, las bradiquininas (BK), las prostaglandinas (PG) y la adenosina, todo ello en equilibrio con los mediadores de vasoconstricción como la ouabaína endógena, la ET, la Ang II, las catecolaminas y la vasopresina⁷⁵⁻⁷⁷.

En el proceso de aterosclerosis, el sistema del NO es activado por diferentes mediadores en etapas progresivas. El aumento del tono vasodilatador NO dependiente intenta restablece los efectos causados por la pérdida de elasticidad arterial. El aumento de la presión de rozamiento (estrés de rozamiento), como fuerza tangencialmente aplicada a la pared vascular por la alteración del flujo, en el caso de aterosclerosis es un factor activador de importancia para el NO. A partir de este estímulo se favorece el influjo de Ca^{++} a la célula afectada, mediado por la óxido nítrico sintasa (NOS).

La indemnidad del endotelio permitirá, inicialmente, el desarrollo de una respuesta vasodilatadora mediada por flujo (VDMF) y dependiente del NO, cuya intensidad será proporcional a la liberación de NO por el endotelio. La anatomía del árbol arterial es un factor importante en el mantenimiento de la vasodilatación mediada por NO. Existen áreas en las que, por su configuración anatómica, los valores de presión de rozamiento son habitualmente $< 6 \text{ dinas/cm}^2$, independientemente de las lesiones desarrolladas, por lo que el tono vasodilatador dependiente de este estímulo será menor y se favorecerá la vulnerabilidad a la inflamación aterosclerótica. El extremo opuesto se presenta en áreas de alta presión de rozamiento con valores $> 70 \text{ dinas/cm}^2$, en las que la vulnerabilidad tiene lugar hacia la lesión mecánica de la íntima y el subsiguiente aumento de la trombogenicidad^{36,78,79}.

El aumento de la concentración de radicales libres del oxígeno, debido al incremento en su formación y/o la reducción de su eliminación, genera la situación conocida como estrés oxidativo. Si se considera que la HTA asociada a hiperactivación del SRAA favorece el aumento del estrés oxidativo por un balance alterado de la

nicotinamina adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa (considerando la proporción entre las formas oxidada y reducida $-NADP^+/NADPH^-$ para dicha enzima) y la formación del radical hidroxilo (OH^\cdot) y del anión superóxido (O_2^-) (predominante), se comprenderá que la ERVA es una situación de elevado estrés oxidativo vascular. La Ang II también aumenta el estrés oxidativo, directamente a partir de la disfunción endotelial y los efectos proinflamatorios⁸⁰⁻⁸².

El NO se inactiva en presencia de O_2^- y facilita la generación de peroxinitrito ($ONOO^-$), por lo que se pierde su efecto vasodilatador y vasculoprotector. Además, la reacción promueve la síntesis de especies nitrosantes, incluyendo el ya mencionado $ONOO^-$, que es altamente reactivo⁸³⁻⁸⁶.

Otros mediadores descritos en el proceso inflamatorio asociado a la aterogénesis son las lipooxigenasas (LO), especialmente los ácidos 12-S-hidroxiicosatetraenoico (12-S-HETE) y 15-S-hidroxiicosatetraenoico (15-S-HETE), y sus productos. Si bien las LO están presentes en numerosos tejidos, en el endotelio y en los elementos formes de la sangre, también se expresan en las células glomerulares de la corteza renal, siendo su velocidad de reacción estimulada por la Ang II; esta situación vincula al SRAA con el sistema inflamatorio en el mismo contexto del sistema vasculorenal, más allá de su interacción sistémica.

Entre las acciones atribuidas a las LO, en relación con el proceso de aterosclerosis, se hallan su participación (especialmente la 5-LO) en la formación de leucotrienos a partir del metabolismo del ácido araquidónico (AA), la inducción de la expresión de citoquinas inflamatorias en los macrófagos, la inhibición de la síntesis de

prostaciclina, el incremento del tono vasoconstrictor mediando acciones de la Ang II y la oxidación de la LDL⁸⁷⁻⁸⁹.

La 5-LO está presente tanto en células inflamatorias como en neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, mastocitos y células dendríticas (CD) ubicadas en la íntima arterial, gatillando un proceso que se inicia con la conversión de AA en ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico (5-HPETE), que a su vez genera leucotrieno A₄ (LTA₄), siendo este último precursor del leucotrieno B₄ (LTB₄). A razón de ello, es importante indicar que el LTB₄ origina tres fuertes vasoconstrictores proinflamatorios: leucotrieno C₄ (LTC₄), leucotrieno D₄ (LTD₄) y leucotrieno E₄ (LTE₄). Además, estas sustancias presentan efectos quimiotácticos y profibróticos. Otros leucotrienos se han hallado directamente en las lesiones ateroscleróticas junto a los macrófagos⁸⁷⁻⁸⁹.

El rol de las PG en la ERV ha sido evaluado en el año 2002 por un grupo de investigadores incluyendo 25 pacientes con HTA-Es, 25 hipertensos con ERVA y 25 individuos sanos. **Se midieron** la excreción urinaria **de** la 8-iso-prostaglandina F2-alfa (8-iso-PG F2- α) y la 11-deshidrotromboxano B2 (11-dhTX B2), antes y 6 meses posangioplastia transluminal periférica con implante de **stent** exitosa, e índices de peroxidación *in vivo* y de activación plaquetaria⁹⁰. También se midió la actividad de renina plasmática (ARP). Se encontró que la excreción de 8-iso-PG F2- α y de 11-dhTX-B2 era significativamente mayor en los pacientes con ERVA y que los niveles de la 8-iso-PG F2- α se correlacionaban positivamente con aquellos de la 11-dhTX B2 y con la ARP. Además, se evidenció que todas las variables se reducían significativamente después de la corrección de la estenosis. Los autores concluyeron que la peroxidación lipídica **estaba** marcadamente elevada en pacientes hipertensos con ERVA y que se

relacionaba con la activación del SRAA, mientras que la activación plaquetaria persistente, desencadenada o amplificada por isoprostanos bioactivos (como la prostaglandina F₂-PGF), podría ser responsable de la progresión de la enfermedad cardiovascular (ECV) y del daño renal. Otros autores se han adherido a esta hipótesis, atribuyendo al estrés oxidativo y a la activación plaquetaria la progresión de la enfermedad endotelial glomerular y tubular renal que deriva en la insuficiencia renal terminal⁹¹⁻⁹³.

El sistema calicreína-quinina (KKS) se **halla fuertemente involucrado en la fisiopatología de la aterosclerosis** por presentar una gran variedad de acciones farmacológicas **vinculadas a sus** efectos proinflamatorios **asociados a** situaciones de inflamación y dolor. Los principales protagonistas del KKS son las proteasas calicreínas que hidrolizan a los quininógenos (moléculas precursoras), generando quininas (o péptidos relacionados con la BK), quininasas (enzimas que inactivan las quininas), entre las cuales **se destacan** la quininasa II o enzima convertidora de la angiotensina (ECA), las aminopeptidasas y la quininasa I o carboxipeptidasa N (CPN). Sus acciones más conocidas son la modulación del tono vasomotor que favorecen la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular, la activación de macrófagos y el aumento de la síntesis y liberación de NO, leucotrienos, citoquinas y PG. Sin embargo, también **presentan** efectos antiagregantes y fibrinolíticos.

El sistema se regula a través de las serpinas y por interrelación con el SRAA, el sistema de coagulación y de complemento. En los neutrófilos se ha identificado un sistema completo de síntesis y liberación de quininas, lo cual reviste gran relevancia si se considera que en los leucocitos se hallan presentes receptores de quininas, en un

circuito cercano ¿cercano a qué? lográndose la rápida interacción de los integrantes del KKS para ejercer sus efectos, particularmente en los sitios de inflamación.

Se ha atribuido a las quininas una acción mediadora de muchos de los efectos de los leucocitos, incluyendo la liberación de células de la cascada de inflamación, citoquinas, PG, leucotrienos y especies reactivas de oxígeno (ROS)^{94,95}. Las células de los túbulos colectores renales sintetizan calicreína renal, que actúa sobre el quininógeno hepático para liberar lisil-BK o calidina.

Por su parte, a nivel renovascular se identificaron autacoides glomerulares que, al ser estimulados por BK, regulan el tono de la arteriola eferente⁹⁶. Los autacoides presentan efectos directos sobre la regulación de la microcirculación renal, natriuréticos y diuréticos mediados, en parte, por la liberación de prostaglandina E2 (PGE₂), pero debiendo destacar que estos efectos no modifican la tasa de filtración glomerular. Las quininas estimulan la liberación de NO de las células endoteliales y, dado que el NO activa la enzima guanilato ciclasa, subsecuentemente se genera guanosín monofosfato cíclico (cGMP) que inhibe el transporte de Na⁺ cortical en las células del túbulo colector.

Los receptores B₁ y B₂ de las quininas son los mediadores de sus efectos, los segundos ejerciendo mayor acción, en especial los que responden a la BK o la calidina.

Otro efecto atribuido al KKS, relacionado con el proceso aterosclerótico, se halla en su interacción con el sistema hemostático en tanto participa en las vías intrínsecas de la coagulación sanguínea y de la fibrinólisis. Las quininas inhiben la agregación plaquetaria a través de la estimulación de la formación de NO y de prostaglandina I₂ (PGI₂), y también son potentes estimuladores de la liberación del

activador del plasminógeno tisular (tPA), resultando en un efecto favorecedor de la fibrinólisis⁹⁶.

El beneficio del uso terapéutico de fármacos que inhiben la ECA en distintas situaciones de ECV podría hallar alguno de sus fundamentos en la inhibición de la degradación de las quininas por esta enzima, aumentándose así su vida media.

Finalmente, si bien los anteriores no pueden describirse como mediadores de inflamación, es interesante enunciar el rol atribuido por algunos autores a las células progenitoras endoteliales (CPE) en el desarrollo de aterosclerosis y en la vulnerabilidad o protección ante la lesión endotelial o isquemia.

Durante el desarrollo del proceso de aterosclerosis, la aparición de lesión en los vasos, así como el requerimiento de perfusión de las capas íntima y media hipertrofiadas, originan estímulos para la movilización de las CPE cuya función, en este caso, es la de reparación del endotelio y de mediación de la neovascularización y la angiogénesis. Las CPE se movilizan desde la médula ósea siendo sus principales reguladores ciertos factores con efecto quimioatrayente, liberados por el tejido isquémico e inflamado; por ejemplo, eritropoyetina, angiopoyetinas, citoquinas de movilización como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor derivado de células del estroma y el factor regulador de células madre. Los mismos activan proteinasas que actúan en las uniones entre las células del estroma y las integrinas de las células progenitoras hematopoyéticas, permitiendo que estas abandonen la médula ósea por migración transendotelial. Los pasos para la incorporación de las CPE circulantes al tejido dañado son similares a los descritos para

otros mediadores que intervienen en el proceso de aterosclerosis: quimioatracción, adhesión, transmigración, proliferación y maduración.

En condiciones normales, las CPE circulantes representan entre el 0,01-0,0001% de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC). El número de CPEC se encuentra reducido en sujetos con múltiples factores de riesgo coronario, en pacientes con diabetes mellitus (DM) y en aquellos con enfermedad arterial coronaria (EAC), y se ha propuesto una relación inversa entre su concentración plasmática y el riesgo cardiovascular^{97,98}.

Estas células no solo son capaces de reparar el endotelio dañado sino que también ejercen un sistema de monitoreo activo sobre los sitios de lesión e inflamación vascular. Se han identificado dos poblaciones de CPE circulantes según su origen: una **compuesta por** células movilizadas de la médula ósea y las otra, no derivada de la médula ósea **y que** surgirían de células madre residentes en los tejidos o derivadas de la pared de los vasos. Las CPE circulantes también regenerarían el daño endotelial leve que resulta de la inducción de apoptosis de células endoteliales a causa de factores de riesgo de la EAC. Trabajos recientes también indican que la reparación del endotelio dañado prevendría las complicaciones trombóticas y la lesión aterosclerótica^{97,98}. En la **Figura 6** se representa la función de las CPE en el proceso aterogénico, considerando los desarrollos de Fuster y Sanz⁹⁹.

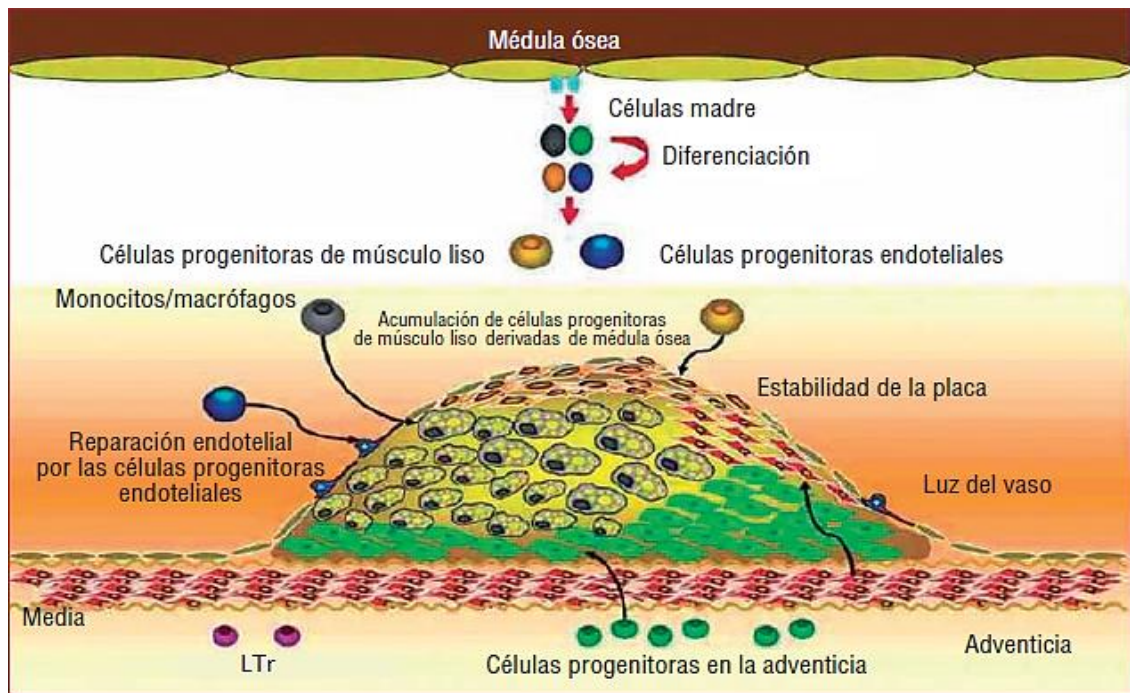


Figura 6. Rol de las CPE en el proceso aterogénico

Las CPE han demostrado cumplir un rol esencial en la estabilización de la placa y, recientemente, se ha postulado que su acción es determinante del grado de vulnerabilidad de una placa. Se han encontrado valores reducidos de estas células en individuos con eventos cardiovasculares, por lo que se infiere que tendrían una función activa en su prevención. Su análisis permitiría identificar a aquellos sujetos con mayor riesgo de eventos.

Fuente: Modificado de Fuster V, Sanz J. Visualización de la guerra macrofágica arterial con resonancia magnética nuclear, tomografía de emisión de positrones y tomografía computarizada. Rev Esp Cardiol. 2009;62 Suppl 2:2-8.

Nota: LTr, Linfocitos o células T reguladoras.

2.3.2. Mecanismos neuroendocrinos

Los mecanismos neurales y endocrinos de la regulación hemodinámica se interrelacionan ampliamente. El sistema nervioso autónomo (SNA) afecta directa o indirectamente a los factores que determinan el volumen minuto y la resistencia periférica. Las principales hormonas que participan en este mecanismo son la Ang II, el péptido o factor natriurético atrial (ANF) y la hormona antidiurética (ADH), sumándose sustancias vasoactivas y/o tróficas a modo de mediadores⁸⁷.

El SNS regula y posibilita respuestas homeostáticas ejecutando, en general, acciones catabólicas a través de receptores neurales y hormonales. Son ejemplos de esta función sus efectos sobre las células cromafines o feocromocitos de la médula adrenal, modulando la síntesis de adrenalina, y sobre diferentes pasos de regulación del SRAA, especialmente la secreción de renina en las células de la mácula densa renal.

La carga alostática creciente es un concepto que explica, en parte, las profundas modificaciones del organismo en respuesta a los cambios en las costumbres alimenticias, el medio ambiente y la actividad física que se suceden en la cultura de la mayoría de los pueblos. Los estímulos alostáticos que influyen sobre el desarrollo de arterioesclerosis son, por ejemplo, las dietas hipercalórica, hipergrasa o hiperhidrocarbonada, el sedentarismo, la alteración del ritmo circadiano y del sueño de movimientos oculares rápidos (REM), el estrés, y los desórdenes del ánimo (depresión mayor, trastornos fóbicos y de pánico).

Si bien la vulnerabilidad individual es un factor determinante en la respuesta, en general el resultado de la carga alostática crónica es el incremento de la actividad del SNS y de la secreción de glucocorticoides como producto de la estimulación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA)¹⁰⁰⁻¹⁰². Estos estados de hipertensión simpática se han

asociado a complacencia (está bien este término complacencia?) alterada de las grandes arterias, así como a lesión no denudante del endotelio que progresivamente desarrolla injurias denudantes por aumento secundario de la PA, descarga sistólica, hiperinsulinemia e incremento de las resistencias y los estímulos profibróticos del SRAA¹⁰³. Los adrenorreceptores α_{1d} aórticos y mesentéricos son activados en condiciones de aumento de carga alostática, favoreciendo así la vasoconstricción (no es vasoconstricción?) como terreno proaterogénico¹⁰⁴. Los cambios hemodinámicos mencionados (como el aumento de la frecuencia cardíaca, del tono vasomotor y de la PA, y la reducción de la complacencia-distensibilidad arterial) estarían asociados directamente con la progresión de aterosclerosis¹⁰⁵. La activación neuroendocrina es característica de los estados de mayor carga alostática, como ser el síndrome metabólico (SM). En estas situaciones, la conjunción de los efectos hemodinámicos y metabólicos afecta directamente la pulsatilidad del flujo sanguíneo, reduciendo el amortiguamiento y generando un aumento del estrés de rozamiento oscilatorio y, consecuentemente, siendo factibles los fenómenos proinflamatorios¹⁰⁵.

Se ha demostrado en estudios en personas sometidas a estimulación del SNS un aumento de los niveles plasmáticos de la proteína C reactiva (PCR), el TNF- α , la interleuquina-6 (IL-6), la renina, la aldosteronemia, la insulinemia, el índice de evaluación del modelo de la homeostasis (HOMA) y la trigliceridemia¹⁰⁶.

El riñón es innervado por fibras simpáticas posganglionares en los segmentos medulares T1 a L3¹⁰⁷. La regulación simpática es relevante en la modulación de las resistencias vasculares de las arteriolas glomerulares aferentes y eferentes, en relación a la determinación del flujo plasmático renal y del filtrado glomerular (FG). En

situaciones proaterogénicas **y en** presencia de estresores endoteliales se puede producir disfunción de los barorreceptores del seno carotídeo y del arco aórtico, lo que estimularía la activación del SNS a través de información que estos receptores envían a estructuras del tallo cerebral (como ser, los núcleos comisural, dorsolateral y medial del tracto solitario)¹⁰⁸.

Estímulos hipóxicos de diversos orígenes también pueden aumentar la actividad del SNS sobre el sistema renal. Según **algunos** estudios, la estimulación de los adrenorreceptores α en el riñón es un requisito para el desarrollo de HTA en animales sometidos a diferentes metodologías hipertensógenas, como la infusión de Ang II o la carga de $\text{Na}^{+109,110}$. Es decir que, además del conocido vínculo entre el SNS y la síntesis de renina, existirían otros efectos de suma de sistemas que requieren de la facilitación de uno para la activación del otro. La Ang II puede constituirse en un mecanismo retroalimentador del SNS a diferentes niveles incluyendo, por ejemplo, la inducción de la síntesis hipotalámica de noradrenalina, la producción de catecolaminas adrenales y el aumento de los niveles de noradrenalina en terminales presinápticas¹¹¹⁻¹¹³.

El incremento en la actividad del SRAA en respuesta a la hipertonía simpática, junto con el efecto retroalimentador de la Ang II, **constituyen** un círculo vicioso cuyas consecuencias finales derivan en el desarrollo de daño vascular.

2.4. Aspectos clínicos de la ERVA

Previamente al abordaje de estos aspectos resulta ineludible realizar ciertas consideraciones sobre las situaciones clínico-fisiológicas de la ERVA, dado que existe confusión en la acepción de los nombres que se **usan** en la literatura. Se considera como ERVA a la presencia de engrosamiento miointimal de la pared vascular de arterias renales concomitante a la acumulación de macrófagos, células T, matriz inflamatoria y tejido conectivo; en otras palabras, se hace referencia a manifestaciones de la enfermedad arterioesclerótica en las arterias renales y/o polares de mediano y gran calibre que perfunden **el** órgano.

La presencia de ERVA puede o no hallarse asociada a HTA. En la primera situación debe distinguirse, a su vez, entre la entidad nosológica conocida como hipertensión arterial renovascular (HTARV) y la HTA-Es asociada a ERVA. En la HTARV el mecanismo último de aumento de la PA es generado por la misma enfermedad de la arteria renal cuya resolución constituye su cura. A la activación del SRAA por reducción del flujo sanguíneo efectivo renal se le ha atribuido un rol predominante en el efecto presor de la ERVA con HTARV. Por su parte, la nefropatía isquémica puede desarrollarse en ambas situaciones, siendo desencadenada por la insuficiencia de perfusión del órgano¹⁵.

2.4.1. Prevalencia

El advenimiento de las técnicas de diagnóstico por imágenes no invasivas en las últimas dos décadas ha contribuido a la comunicación de una mayor prevalencia de la ERVA en comparación con datos previos. Así, en el período 1992-2004 se incrementó en 4 veces el valor asignado a su prevalencia, aunque su relación con la verdadera HTARV no se halla adecuadamente establecida. Se ha descrito que el 5-10% de la población general puede presentar lesiones ateroscleróticas en las arterias renales, que reducen en más del 60% la luz del vaso en el 6,8% de los individuos > 65 años, mientras que su prevalencia es del 18% en aquellos de 64-75 años, con incrementos de hasta 15-42% a partir de una relación directa con el aumento del riesgo cardiovascular^{15,114-116}. Finalmente, en Estados Unidos de América (EE.UU.) se estima que el 12-14% de los individuos que ingresan a diálisis crónica presentan ERVA¹¹⁷.

2.4.2. Clasificación clínica

La Asociación Americana del Corazón (AHA) ha propuesto una clasificación clínica de la ERVA según los pacientes sean asintomáticos o sintomáticos¹¹⁸, la cual se acepta en este estudio. Se define como asintomático al paciente en quien la presencia de ERVA no se acompaña de HTA marcada (entendida como refractaria, maligna o de difícil tratamiento) ni de deterioro de la función renal (caída del FG, aumento de creatinina -Cr- y microalbuminuria, en forma aislada o en cualquier combinación). Por el contrario, se considera sintomático a un individuo que presenta ERVA con HTA grave

o deterioro de la función renal (o ambas condiciones). En la **Tabla 1** se resumen las afirmaciones **anteriores**.

Asintomáticos	Sintomáticos
Función renal conservada	Deterioro de la función renal y/o microalbuminuria
PA controlada	HTA severa, de control difícil , refractaria

Tabla 1. Clasificación clínica de ERVA según la AHA.

Fuente: Rundback JH, Sacks D, Kent KC, et al; AHA Councils on Cardiovascular Radiology, High Blood Pressure Research, Kidney in Cardiovascular Disease, Cardio-Thoracic and Vascular Surgery, and Clinical Cardiology, and the Society of Interventional Radiology FDA Device Forum Committee. American Heart Association. Guidelines for the reporting of renal artery revascularization in clinical trials. American Heart Association. Circulation. 2002;106(12):1572-85.

Nota: PA, presión arterial

2.4.3. Diagnóstico

El diagnóstico de la ERVA **se basa en** datos de la caracterización anatómica, funcional y clínica, considerados de gran utilidad para la decisión del tratamiento médico o intervencionista^{15,116}. A continuación se **reseñan** los datos que ofrecen los estudios diagnósticos para cada caracterización mencionada:

- Caracterización anatómica: unilateralidad o bilateralidad de la lesión, grado de estenosis, gradiente trans-estenótico, descripción de la superficie e identificación del carácter fibrolipídico, lipídico, fibroso, calcificado y composición de la placa.

- Caracterización funcional: perfil de activación del SRAA, asociación de la lesión con hipoflujo renal, resistencia intravascular renovascular, viabilidad renal y respuesta dinámica a cambios del estado de activación del SRAA o de la hemodinamia renal.
- Caracterización clínica: determinación de la situación sintomática o asintomática del paciente según la clasificación de la AHA¹¹⁸.

Con el objetivo de estratificar el riesgo de presentar HTARV se han propuesto diferentes escalas para la valoración cuantitativa.

Los signos y síntomas que sugieren la ERVA son¹¹⁹:

- Rápido comienzo de HTA.
- HTA marcada en varones > 60 años con signos de aterosclerosis en otros territorios vasculares.
- HTA y soplo abdominal.
- Retinopatía grado III en el 25-40% de los casos.
- Elevación de la creatinina sérica (CrS) tras el inicio del **tratamiento** con inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) o antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARA II).
- Episodios de insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) y edema agudo de pulmón (EAP).

La arteriografía renal se considera como estándar de oro para el diagnóstico de la estenosis de la arteria renal¹⁵. Las exploraciones menos invasivas con propósitos de selección **presentan** el inconveniente de una inadecuada tasa de falsos negativos (baja sensibilidad). En contraposición, la arteriografía por sustracción digital permite el

diagnóstico del compromiso aterosclerótico de las arterias polares, accesorias y ramas principales, facilitando la interpretación hemodinámica con la determinación del gradiente de presión **trans-estenótico**. Esta técnica también identifica la presencia de aneurismas asociados.

La principal desventaja de la arteriografía es que no aporta datos del impacto funcional de la estenosis ya que, por ejemplo, un ateroma que causa restricción **severa** de la luz del vaso puede no inducir un aumento igualmente severo del gradiente de presión transluminal. El uso de contrastes radiológicos isosmolares o hiposmolares no iónicos es cada vez más frecuente dado que reduce el riesgo de nefrotoxicidad, especialmente en pacientes diabéticos con creatinina plasmática (CrPl) > 1,5 mg/dl. También se ha propuesto el uso de fármacos agonistas de los receptores de la dopamina-1 (DA-1), como el fenoldopam, que produce dilatación de los vasos renales y periféricos, provocando un descenso de la PA y un aumento del flujo sanguíneo renal.

La angiografía automatizada con dióxido de carbono (CO₂) no se asocia a nefrotoxicidad ni a reacciones alérgicas. Este método diagnóstico puede emplearse en pacientes que **presentan** contraindicaciones para el contraste yodado y en aquellos con contraindicaciones relativas como el asma o el deterioro de **la** función renal¹²⁰⁻¹²⁶.

Por su parte, si bien el ultrasonido Doppler es operador dependiente, aporta datos relevantes, no solo acerca de la severidad de la restricción de la luz de vasos sino también sobre los índices resistivos, **que evalúan el** estado del parénquima renal. Asociado a esto, el índice de resistencia intrarrenal (IRI) se considera como una medida de la integridad de la circulación de vasos pequeños y de lesión intraparenquimatosa.

Los valores de IRI > 0,8 en el riñón contralateral a una estenosis indican enfermedad parenquimatosa marcada y revela una baja probabilidad de normalizar la PA y de recuperar la función renal luego de una revascularización. Por otro lado, un IRI homolateral a la lesión > 0,8 indica una grave afectación del parénquima renal y pronostica una mala respuesta a la revascularización. Se ha comunicado que tanto la sensibilidad como la especificidad de esta prueba se asocian con valores > 96% cuando se estudian los componentes arteriales intrarrenales y extrarrenales de forma conjunta. No obstante, su mayor limitación se basa en la localización de las arterias renales, que depende del grado de obesidad abdominal, del contenido de gas intestinal, de la experiencia y la paciencia del observador y del tiempo empleado para la realización de la prueba¹²⁷⁻¹³².

El estudio de radiorrenograma o gammagrafía renal, en sus variantes basal y con captopril o IECA, aporta información más funcional que anatómica, ya que determina el compromiso renal, y permite así inferir tanto la presencia de estenosis arterial como determinar la funcionalidad renal en presencia de estenosis severa. Un radiorrenograma con captopril positivo en un paciente hipertenso con función renal conservada tiene un valor predictivo elevado de ERV, y se asocia a una sensibilidad del 90% y una especificidad del 91%, además de una elevada tasa de reproducibilidad intra-observador e inter-observador. La sensibilidad es mayor cuanto más elevado es el riesgo previo del paciente. Es importante tener en cuenta que se reducen significativamente los falsos negativos si se incluye en el análisis el criterio de análisis visual de la curva y el cálculo de picos máximos, siendo la enfermedad bilateral arterial y la insuficiencia renal las causas más frecuentes de falsos negativos¹³³⁻¹³⁶.

La angiorresonancia magnética (ARM) es altamente específica en la descripción anatómica de la presencia de estenosis, aunque se conocen algunos escollos para su uso generalizado. Entre estas dificultades, el uso de gadolinio como contraste se ha asociado a nefrotoxicidad y fibrosis sistémica, especialmente en pacientes con $FG < 30$ ml/min; además, **muestra una reproducibilidad** reducida y se ha **comunicado** una tendencia a la sobreestimación de la severidad de la estenosis y la falta de precisión para cuantificar el porcentaje de la reducción luminal, atribuida a la pulsatilidad del latido cardíaco y al movimiento respiratorio. No obstante, la especificidad de la prueba aumenta con el uso de la angiorresonancia magnética tridimensional con gadolinio (ARM-G); para el diagnóstico de estenosis que afectan más de 50% de la luz del vaso, la sensibilidad y la especificidad de la técnica son del 97% y del 93%, respectivamente. En caso contrario (no utilización del contraste), dichos indicadores son del 94% y del 85%, respectivamente^{120,137,138}.

Más recientemente, se **han evaluado** los resultados de la exploración con angiotomografía computarizada helicoidal (ATCH), **comunicándose una** sensibilidad **del 67 al 92%** y **una** especificidad **de hasta el 84%**. Sin embargo, la ventaja de su metodología no invasiva, en comparación con la arteriografía, se reduce por la necesidad de administrar 100-150 ml de contraste yodado en individuos con frecuente deterioro de la función renal, **que lo contraindica** en pacientes con insuficiencia renal¹²⁰.

Es importante **enfaticar** que las técnicas topográficas no son solamente de carácter anatómico, ya que **también** ofrecen información funcional respecto de la reserva de la función renal y de la función tubular y endotelial.

Una técnica emergente es la resonancia magnética (RM) dependiente del nivel de oxígeno sanguíneo (BOLD), caracterizada por evaluar los niveles renales de desoxihemoglobina y permitir la inferencia indirecta del contenido renal de oxígeno⁷⁸. Si bien la ATCH y la ARM-G son consideradas como los métodos diagnósticos anatómicos de mayor rendimiento, las técnicas angiográficas continúan siendo necesarias para la confirmación del diagnóstico y el posterior **tratamiento** terapéutico de la ERVA¹²⁰.

En este sentido, la información que proveen los métodos anatómicos debe ser evaluada en conjunto con **la información** funcional. Los métodos de caracterización funcional más directos se orientan más a identificar la caída del flujo sanguíneo renal que la estenosis. Para que la caída del flujo sanguíneo renal constituya un estímulo suficientemente eficaz para la liberación de renina, el gradiente transtenótico deberá ser, al menos, de 10-20 mm Hg, lo cual en general se observa ante lesiones con reducciones del 70-80 % del área seccional total. Para su determinación más específica se requieren muestras de renina de ambas venas renales siendo su lateralización hacia el riñón estenótico altamente sugestiva de una estenosis hemodinámicamente significativa.

Los métodos que contribuyen a esta interpretación incluyen el ionograma plasmático y urinario, la renina bilateral de venas renales y la renina plasmática basal y **post-administración** de captopril. Sin embargo, estos estudios no son frecuentemente utilizados dada la dificultad que refieren la mayoría de los profesionales sobre su interpretación, **dada** la presencia de múltiples factores confundidores y la coexistencia, en muchos casos, de HTA-Es. El desarrollo de HTARV requeriría de un

gradiente suficientemente severo entre la aorta y las arteriolas aferentes como para estimular la secreción de renina (> 20 mm Hg)¹³⁹. Por esto se acepta que una relación de 0,9 entre el gradiente aorta/arteria renal se corresponde con un gradiente sistólico semejante a 25 mm Hg, valor que en la mayoría de las situaciones se asocia con un suficiente estímulo del SRAA **y apoya** la necesidad de intervenir terapéuticamente¹⁴⁰. Sin embargo, si bien en esta situación la revascularización de la lesión colaboraría en la restitución del equilibrio del SRAA y sus efectos, aún no se ha demostrado su ventaja ante el tratamiento medicamentoso en estudios clínicos.

2.5. Aspectos terapéuticos de la ERVA

2.5.1. Tratamiento precoz vs tratamiento tardío

El análisis de los estudios que se describirán a continuación ha sugerido que la revascularización no mejoraría significativamente la evolución de la ERVA, al menos en comparación con el tratamiento farmacológico. Sin embargo, los criterios de inclusión con los que se han reclutado los pacientes han sido siempre de severidad del compromiso, asociado a grados **elevados** de estenosis y a reducción del flujo sanguíneo renal. Es por esto que puede afirmarse que aún no existen respuestas certeras acerca del beneficio de tratar la enfermedad en sus manifestaciones más tempranas, **en relación** a regresión de su evolución y **a** complicaciones. Pueden

hallarse algunas evidencias, aunque escasas, que sugieren que el riesgo de agravar la ECV en un paciente con eventos previos (infarto agudo de miocardio , insuficiencia cardíaca accidente cerebrovascular) se asocia con ERVA desde **un** estadio temprano y no anatómicamente significativo¹⁴¹⁻¹⁴³.

En contraste, la consideración de los datos sobre la evolución de la patología en ausencia de intervención terapéutica será de gran importancia ante el análisis de la estrategia a implementar, en especial cuando se cuente con información sobre la caracterización anatómica, más que la funcional. Al respecto, en casos de estenosis \geq 60% se halló un 7% de pacientes con progresión hacia la oclusión total al año. Por su parte, el riesgo de evolucionar a atrofia renal alcanza el 21% cuando la lesión es severa ($> 80\%$), el 11,5% ante una lesión moderada (60-79%) y el 5,5% si la lesión es leve (40-59%)^{144,145}.

Respecto de la evolución de los pacientes que reciben tratamiento con drogas inhibidoras del SRAA, se comunicó que el 16% de los mismos progresó hacia oclusión de la arteria afectada **luego de un año de observación**.

La disparidad entre los datos sobre la evolución, junto con la dificultad para la evaluación de la repercusión funcional de la ateromatosis, **constituyen** el principal escollo para la determinación de un tratamiento más eficaz. Como se verá más adelante, existe disenso y ausencia de alternativas sistemáticas para el **enfoque terapéutico** de la enfermedad, tanto en sus fases subclínicas como avanzadas^{144,145}.

2.5.2. Opciones de tratamiento farmacológico o de revascularización

La toma de decisión entre revascularización y tratamiento farmacológico es asimétrica, citándose como ejemplo un estudio en el que se interrogó a numerosos especialistas cardiólogos de EE.UU. A estos profesionales se les presentó un caso en el que la luz de la arteria renal unilateral se hallaba reducida en un 70%, solicitándoles la resolución de una encuesta cerrada en la que optasen por la indicación de un tratamiento farmacológico o de una dilatación con angioplastia transluminal renal (ATR) e implante de endoprótesis vascular. Las respuestas obtenidas fueron muy dispersas, calculándose una variabilidad del 86%¹⁴⁶.

Los criterios de tratamiento derivados de la caracterización funcional de la aterosclerosis son los más aceptados en la actualidad. Un gradiente de PAM transtenótico > 20 mm Hg y una tasa de gradiente aórtico/renal ≥ 25 son datos altamente sugestivos de la presencia de isquemia renal .

Los criterios derivados de las caracterizaciones clínica y anatómica se basan, principalmente, en su valor **predictivo** del compromiso funcional, aunque también tienen en cuenta los datos sobre la evolución de la lesión. Por otro lado, se acepta **en general** que la resolución de la estenosis a través de procedimientos invasivos estaría indicada en los pacientes sintomáticos, mientras que en los pacientes asintomáticos, aún con grados severos de estenosis, no existiría consenso acerca del beneficio del tratamiento invasivo vs el tratamiento médico farmacológico¹⁴⁷⁻¹⁵⁰.

2.5.3. Tratamiento farmacológico

La indicación de drogas inhibidoras del SRAA es la alternativa más generalizada para el manejo de la HTARV ante la coherencia de su mecanismo de acción con el principal sustrato fisiopatológico. Sin embargo, muchos pacientes con ERVA hemodinámicamente significativa toleran con dificultad el bloqueo del SRAA. Por ejemplo, los IECA pueden reducir la presión glomerular capilar hidrostática y, consecuentemente, disminuir el FG e incrementar la CrPI. Esta situación es más frecuente en individuos con deterioro previo de la función renal, uso concomitante de diuréticos e IC. Se considera que una caída del 30% del FG basal o un ascenso de CrPI > 0,5 mg/dl, es indicación de revascularización de la arteria.

Por su parte, la indicación de revascularización arterial en el caso de lesiones bilaterales con compromiso funcional isquémico de ambos parénquimas renales no se asociaría a beneficios demostrados, sino a un potencial incremento del riesgo de nefropatía isquémica, atribuido a la reducción del estímulo compensador sobre el flujo renal de la renina¹⁴⁷⁻¹⁵⁰.

En los últimos años se han propuesto nuevas estrategias farmacológicas, incluyendo estatinas, antioxidantes, CPE y donantes de NO como el bloqueador adrenérgico nevivolo¹⁵¹⁻¹⁵³.

Las drogas estimulantes de las CPE favorecen la reparación del endotelio, asociándose con efectos favorables (cita?). La modulación farmacológica de las CPE circulantes puede efectuarse a través del uso de los inhibidores de la hidroximetilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa o las estatinas, que activan la neovascularización inducida por hipoxia mediada por CPE circulantes y aumentan su

número en la médula ósea y su movilización tanto *in vitro* como *in vivo*, mejorando así la función endotelial independientemente de la reducción del c-LDL. (cita?)

2.5.3.1. Tratamiento con ATR

La angioplastia transluminal renal percutánea con colocación de *stent* (ATRPE) ha demostrado una curva *óptima* de mejora a lo largo del tiempo, reduciéndose a niveles bajos la morbimortalidad asociada al procedimiento^{154,155}.

El compromiso severo del *ostium* es una de las variables que redujo la eficacia de la dilatación con balón, adjudicándole un 50% de resolución satisfactoria y un 5-40% de reestenosis, aunque sucediendo de manera distinta ante el implante del *stent*. La introducción de *stents expandibles* con balón ha mejorado los resultados y las complicaciones inmediatas de la angioplastia aislada. Leertouwer *et al*¹⁵⁶ compararon estudios que incluyeron tratamiento con angioplastia transluminal renal percutánea (ATRP) (10 artículos, 664 pacientes) y ATRPE (14 artículos, 678 pacientes); *tras* comprobar que las muestras analizadas presentaron características basales comparables (insuficiencia renal leve o moderada y edad entre 60-75 años), los autores pudieron *comprobar* una mejor tasa inicial de éxito y un menor índice de reestenosis para la ATRPE. En comparación con los pacientes sin revascularización de la arteria, la colocación del *stent* se asoció significativamente con una mejora en la función renal. Este metaanálisis menciona, además, que el 65-70% de los pacientes mejoró o mantuvo estable la función renal tras el tratamiento con ATRP/ATRPE.

Las tasas más recientemente publicadas acerca del éxito de las técnicas con implante de *stent* son del 94-100% con un diámetro de estenosis residual < 10% y una

tasa de reestenosis de 11-23% al año. La CrPI es el mayor predictor de complicaciones tempranas y, especialmente, tardías¹⁵⁷.

Por su parte, suele recomendarse el tratamiento con aspirina previamente al procedimiento, así como el uso de contrastes isosmolares o hiposmolares.

2.5.3.2. Ensayos clínicos

Los ensayos han sido diseñados en este contexto para comparar, en primer lugar, la eficacia y seguridad de la intervención farmacológica a partir de la dilatación hemodinámica con balón de la lesión. Si bien los primeros estudios, como el *Dutch Renal Artery Stenosis Intervention Cooperative Study Group* (DRASTIC)¹⁵⁵, fueron diseñados cuando aún no se había generalizado el uso de *stents*, la mayoría de ellos evalúa esta alternativa de intervención.

Pueden enumerarse tres limitaciones principales de estos ensayos:

1. La falta de seguimiento en el largo plazo, por lo que los resultados evolutivos asociados son poco claros.
2. La limitación en la selección de la muestra a pacientes más sintomáticos, dada la alternativa invasiva de la terapéutica a evaluar.
3. La falta de aleatorización en los primeros estudios, solo pudiéndose considerar 6-8 de ellos por presentar un diseño metodológico más adecuado para la extrapolación a la conducta clínica.

El estudio DRASTIC¹⁵⁵ comparó la evolución de la función renal y de la PA en pacientes con 50% de reducción de la luz del vaso, **en** sujetos asignados aleatoriamente a 2 alternativas terapéuticas: tratamiento médico con un IECA **o**

dilatación con balón de la lesión. Se observó que no existían diferencias significativas entre ambos grupos intervenidos. Sin embargo, en este estudio no se implantó ningún *stent* porque su diseño original fue previo a la generalización del uso. Esta es una de las principales críticas a la metodología aplicada, ya que actualmente se reconoce que el implante de *stent* es más efectivo para evitar la reestenosis y que se asocia con mayores beneficios sobre los objetivos mencionados.

Para esquematizar lo anteriormente mencionado, en la **Tabla 2** se presentan los resultados de diversos estudios clínicos sobre la evolución de la PA posterior a la revascularización en sujetos tratados con angioplastia y *stent*, en función a los aportes del metaanálisis de Bloch y Basile¹⁵⁸.

Autor	Año	Muestra (n)	Seguimiento (meses)	Cura (%)*	Mejoría (%)†	Estables (%)	Empeoran (%)
Rees <i>et al</i>	1991	28	6,0	10,7	53,5	35,7	-
Hennequin <i>et al</i>	1994	21	32,3	14,2	85,0	0,0	0,0
Raynaud <i>et al</i>	1994	17	6,0	5,9	47,1	47,1	0,0
Van de Ven <i>et al</i>	1995	22	9,0	0,0	72,7	22,7	4,5
Iannone <i>et al</i>	1996	63	10,2	3,0	35,2	53,7	7,4
Dorros <i>et al</i>	1998	106	24,0	1,0	52,0	47,0	-

Tabla 2. Comparación de resultados de estudios clínicos sobre la evolución de la PA posrevascularización en pacientes tratados con angioplastia y *stent*.

Fuente: Bloch MJ, Basile J. The diagnosis and management of renovascular disease: a primary care perspective. Part II. Issues in management. *J Clin Hypertens* (Greenwich). 2003;5(4):261-8.

Nota: * Normalización de la PA sin drogas. † Reducción del número de drogas o de su dosis. En ambos casos, los resultados varían entre el 50-90%, asociándose a un promedio del 70% en la mayor parte de las series de datos.

En un estudio aleatorizado, Plouin *et al*¹⁵⁹ compararon los efectos del tratamiento con angioplastia vs. tratamiento médico en pacientes con ERV. Al cabo de 6 meses de seguimiento la PA fue estadísticamente equivalente, aunque el número de drogas y sus dosis fueron menores en el grupo posangioplastia.

Una de las series con mayor seguimiento (2 años) fue la publicada por Dorros *et al*¹⁵⁷, en la que se incluyeron 145 pacientes con ERVA intervenidos con ATR y con *stent*. La intervención fue considerada simple y segura, describiéndose un efecto beneficioso sobre la PA en el 50% de los pacientes. Por su parte, la presencia de deterioro de la función renal se asoció con peor sobrevida y pronóstico.

En un estudio realizado por Ramos *et al*¹²⁸ se evaluaron la PA y la función renal al año postratamiento con *stent*. Se incluyeron 105 pacientes hipertensos con estenosis aterosclerótica significativa de las arterias renales, definida por una reducción de la luz > 70% y un gradiente transestenótico de la PAM > 30 mm Hg. El control de la PA mejoró en el 60% de los pacientes, aunque solo el 17% logró la normotensión (NT) sin medicamentos. Por su parte, en el resto de los casos se redujo la cantidad de antihipertensivos requeridos o de sus dosis. En aquellos pacientes con Cr inicial > 1,7 mg/dl la función renal mejoró significativamente (medida a través del FG con la ecuación de Cockroftt y Gault), aunque la PA no disminuyó. Asimismo, se halló una correlación significativa entre la Cr inicial y la PA en el seguimiento, sugiriendo que una concentración elevada de la primera puede predecir una menor respuesta de la segunda. Según estos resultados, el tratamiento precoz de la ERVA

mejora la HTA pero solo **optimizando** la insuficiencia renal cuando es concomitante **con la HTA**.

En la **Tabla 3** se presentan los resultados hallados en el estudio de Ramos *et al*¹²⁸, **donde se evalúan** las mediciones evolutivas de los distintos indicadores y la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas entre las instancias temporales.

Subgrupo de pacientes/Indicadores	Basal	Post-stent (371 días; 100-700)	Test-t de Wilcoxon* (p)
Con función renal normal (n=55)			
PAS (mm Hg)	161 ± 27	137 ± 14	< 0,001
PAD (mm Hg)	92 ± 12	80 ± 9	< 0,001
CrPI (mg/dl)	0,99 ± 0,19	1,21 ± 0,55	ns*
FG (Cockroft-Gault) (ml/min)	72 ± 22	66 ± 30	ns*
Con función renal deteriorada (n=50)			
PAS (mm Hg)	159 ± 25	153 ± 22	ns
PAD (mm Hg)	89 ± 11	87 ± 11	ns
CrPI (mg/dl)	2,41 ± 0,74	1,58 ± 0,75	< 0,001*
FG (Cockroft-Gault) (ml/min)	34 ± 11	58 ± 26	< 0,001*

Tabla 3. Evolución de la PA y de la función renal en pacientes tratados con dilatación con balón e implante de **stent.**

Fuente: Ramos F, Kotliar C, Alvarez D, *et al*. Renal function and outcome of PTRAs and stenting for atherosclerotic renal artery stenosis. *Kidney Int.* 2003;63(1):276-82.

Nota: * Datos corregidos por regresión a la media (RTM) con fórmula Shepard-Finison.

El estudio *Angioplasty and Stenting for Renal Artery Lesions (ASTRAL)*¹⁶⁰ incluyó 806 pacientes y un seguimiento de 5 años. Del total de los casos, 403 (50%) fueron tratados con angioplastia, con o sin **stent**, y tratamiento farmacológico

(antihipertensivos, antiagregantes y estatinas), mientras que el resto de los pacientes recibió tratamiento médico. Se comunicó una leve, pero no significativa, reducción del FG en el grupo de pacientes con ATRPE, mientras que se observó un mayor requerimiento de antihipertensivos en el grupo que recibió solamente tratamiento médico. Las limitaciones del estudio esencialmente se relacionaron con el diseño en sí, ya que? la decisión de tratamiento era admitida según criterio del médico interviniente y no aleatorizada; además, la metodología del estudio hemodinámico no fue uniforme, sino que se permitía la técnica usual de cada centro participante, no existiendo un laboratorio de hemodinamia centralizado que evaluara la similitud de los criterios de diagnóstico de las lesiones.

El estudio *Cardiovascular Outcomes in Renal Atherosclerosis Lesions (CORAL)*¹⁶¹ incluyó pacientes con ERVA con lesiones que redujesen la luz > 60% y con el gradiente trans-lesión > 20 mm Hg. Los sujetos se distribuyeron entre ATRPE más terapia médica óptima y tratamiento médico solamente. Los IECA no se excluyeron por considerarse el tratamiento de elección en la población aterosclerótica. El objetivo principal fue evaluar la combinación de mortalidad cardiovascular y renal, accidente cerebrovascular, IAM, hospitalización por ICC, aumento de 2 veces en la cifra de CrS y necesidad de tratamiento renal sustitutivo. Los resultados del estudio también demostraron ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos.

El *Study of Trandolapril/Verapamil-SR and Insulin Resistance (STAR)*¹⁶² evaluó solo pacientes con lesiones ostiales, con el objetivo de detectar reducciones $\geq 20\%$ de la Cr. Las mismas se observaron en el 16% de los pacientes que conformaron el grupo tratado con ATRPE y en el 22% de aquellos con tratamiento farmacológico.

Más recientemente, los estudios *Sirolimus-eluting versus bare-metal low-profile stent for renal artery treatment (GREAT)*¹⁶³ y *Embolic Protection and Platelet Inhibition during Renal Artery Stenting (RESIST)*^{164,165} evaluaron la eficacia del *stent* liberador de drogas (*sirolimus*) de similar fundamento a los utilizados para el *tratamiento* de lesiones coronarias y con el objetivo de reducir el riesgo de reestenosis y de complicaciones embólicas. Como resultados principales, no se observaron beneficios que justificasen su indicación generalizada.

En conclusión, podría resumirse que los mayores estudios aleatorizados que compararon la ATRP con el tratamiento farmacológico durante un seguimiento ≥ 6 meses se asociaron con un reducido nivel de evidencia y un bajo poder para predecir eventos clínicos, incluyendo la mortalidad y los incidentes cardiovasculares y renales. Por su parte, al considerar los ensayos clínicos que evaluaron la ATRPE desde el año 2007 hasta la actualidad pueden citarse aproximadamente 21 de ellos que no han logrado mostrar un patrón uniforme de resultados respecto de la mortalidad, incluyendo *alguna comunicación* que atribuyó una mayor prevalencia del indicador a la intervención^{15,159,166}.

En función a estas interpretaciones, en la **Tabla 4** se presentan los principales estudios, su diseño y conclusiones, que *fundamentan* las discordancias comentadas.

Autor/Estudio	N	Diseño	Resultados
Webster <i>(Scottish and Newcastle Renal Artery Stenosis Collaborative</i>	55	Angioplastia con balón (sin <i>stent</i>) vs tratamiento médico	Sin beneficios diferentes entre los grupos. Tasa de complicaciones del 20% en el grupo de angioplastia

Autor/Estudio	N	Diseño	Resultados
<i>Group)</i>			
Plouin <i>Multicentrique Medicaments Angioplastie [EMMA] Study Group)</i>	(Essai 49 vs	Angioplastia con balón (<i>stent</i> solo en 2 pacientes) vs tratamiento médico	Sin beneficios diferentes entre los 2 grupos
Van Jaarsveld <i>(Dutch Renal Artery Stenosis Intervention Cooperative [DRASTIC] Study)</i>	106	Angioplastia con balón (se usaba <i>stents</i> solo si el procedimiento inicial no era exitoso) vs tratamiento médico	<ul style="list-style-type: none"> • Oclusión de la arteria renal en el 16% de los pacientes con tratamiento médico y en ninguno de los tratados con angioplastia. • A los 3 meses se indicó angioplastia al 44% de los pacientes del grupo de tratamiento médico por mal control de la PA (<i>crossover</i>).
ASTRAL	806	Angioplastia con y sin <i>stent</i> más tratamiento farmacológico (estatinas, antiplaquetarios, antihipertensivos) vs tratamiento farmacológico.	La función renal fue mejor en el primer grupo, aunque sin significancia estadística. No hubo diferencias en las cifras de PA ni en las complicaciones cardiovasculares

Tabla 4. Estudios paradigmáticos, su diseño y resultados/conclusiones.

Fuente: Reproducido con permiso de Alcázar JM, Rodicio JL, Kotliar C. Enfermedad renovascular aterosclerótica. En: Esper R, editor. Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial. Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 535-47.

2.5.3.3. Tratamiento quirúrgico

Actualmente, la principal indicación del tratamiento quirúrgico deriva de la afectación marcada del eje aortoilíaco, estenosis grave ostial y trombosis completa de

la arteria renal. En el 71-92% de los pacientes intervenidos, la función renal mejora o se estabiliza, si se acepta como criterio una reducción del 20% de la CrS¹⁶⁷⁻¹⁷⁰.

En un análisis retrospectivo de 61 pacientes con nefropatía isquémica, van Rooden *et al*¹⁷¹ determinaron la evolución en el largo plazo de la función renal (pendiente del FG antes y después de la cirugía). Siendo la pendiente de disminución de la función renal estimada (antes de la cirugía) de $-2,51 + 0,2 \text{ ml/min/1,72 m}^2$, la misma pasó a $-1 + 0,43 \text{ ml/min/1,72 m}^2$; es decir, se halló una ligera mejoría en la **funcionalidad** analizada.

- Algunos investigadores^{172,173} publicaron la recuperación poscirugía de la función renal en pacientes con riñones no funcionales. No obstante, resulta importante aclarar **los criterios utilizados**: Tamaño del riñón isquémico > 8 cm.
- Existencia de circulación colateral, evidenciada con técnicas angiográficas.
- Existencia de un segmento permeable de la arteria renal para poder realizar la anastomosis.
- Mínima esclerosis glomerular en la biopsia renal.

3. INTRODUCCIÓN ESPECÍFICA

3.1. Proyecto I. Mecanismo hormonal

Actualmente, el SRAA es considerado como un mecanismo que permite recuperar la carga de Na^+ filtrado, al mismo tiempo que preserva la homeostasis corporal hemodinámica a través de la regulación del flujo circulatorio, del tono vascular y del balance de electrolitos.

Los efectos y las funciones del SRAA son materia de un intenso y continuo estudio en la comunidad de investigadores científicos de todo el mundo, atribuyéndoles roles en la mayoría de las situaciones de salud y enfermedad, inclusive en el desarrollo de neoplasias y en la capacidad de respuesta ante procesos infecciosos.

3.1.1. El modelo de Goldblatt como paradigma de activación del SRAA y de la ERV

A la sazón del siglo XIX, el científico de origen finlandés Robert A. Tigerstedt, junto a Per Gustav Bergman descubren en el Instituto Karolinska de Stockholm una sustancia que denominaron renina, que producía una elevación de la PA luego de la inyección de extractos de riñón en conejos.

Aproximadamente tres décadas después, Harry Goldblatt desarrolló el modelo experimental para el estudio de la HTA, basado en la manipulación de la perfusión renal a través de la colocación de un clip en las arterias de riñones de perros

anestesiados. Aunque su objetivo era hallar una sustancia presora proveniente de los riñones que permitiese comprender la causa de la HTA, este investigador desarrolló el primer modelo de enfermedad oclusiva de las arterias renales.

No obstante, la noción de la actividad enzimática de la renina fue alcanzada posteriormente a los reportes de Tigerstedt, Bergman y Goldblatt. Simultáneamente, hacia el año 1958, investigadores de Argentina y EE.UU., liderados por Braun-Menéndez y Page, respectivamente, **comunicaron** que la verdadera sustancia presora del modelo de Goldblatt se originaría tras la acción de la renina, **y a través de una sustancia que ambos grupos coincidieron en denominar** angiotensina (Ang). En los años subsiguientes se logró identificar la mayor parte de los otros péptidos y enzimas del sistema, siendo necesario **enfatizar** que la visión clásica del funcionamiento del modelo **fue** modificándose **en el** tiempo, conforme aumentaba **su** conocimiento.^{174,175}

La descripción fisiopatológica del modelo de Goldblatt incluye un incremento inicial de la secreción de renina desde el riñón una vez aplicado el clip, que se asocia con un incremento de la Ang II circulante que, secundariamente, **inhibiría** la secreción de la renina desde el riñón sano; por lo tanto, ello resulta en un valor de renina inadecuadamente normalizado durante la evolución de la enfermedad.

Sin embargo, otros investigadores, a partir de ensayos clínicos, han señalado – **en gran parte de los pacientes con nefropatía isquémica-** que los valores de renina en la circulación sistémica reflejan un estado hiperreninémico, atribuyéndose a la hipoperfusión un mayor **(mayor que qué?)** efecto sobre el equilibrio de la activación neurohumoral¹⁷⁶.

Por otra parte, no queda claro el origen del daño renal contralateral, ya que no podría justificarse solamente por la nefroesclerosis, como clásicamente se explica. Por tal razón, este tema ha sido objeto de estudio y de reevaluación en trabajos recientes, **considerándose** que pese al mantenimiento de los niveles sistémicos de Ang II dentro del rango de normalidad, sus efectos se manifiestan sobre el riñón contralateral^{177,178}.

Algunos autores han atribuido este hecho a una disociación entre los niveles sistémicos y los intrarrenales de Ang II. A razón de ello, se sugiere que la depleción de los niveles de renina en el riñón sano se asociaría con un incremento de Ang II y de la actividad de la ECA local. Estos niveles elevados de Ang II serían, finalmente, los verdaderos responsables de la alteración en las funciones hemodinámicas y de absorción de ese riñón. Además, esto podría asociarse con la **activación** de la reabsorción tubular proximal a través de la estimulación de las bombas Na⁺/hidrógeno (H⁺) y Na⁺/ácido carbónico (HCO₃⁻). Una prueba de ello es que la administración de IECA se asocia con una disminución de la reabsorción proximal en el riñón contralateral a la estenosis¹⁷⁷⁻¹⁷⁹.

Otras hipótesis recientes han señalado que los individuos con ERVA estarían expuestos a un incremento significativo del estrés oxidativo, probablemente relacionado con la activación del SRAA⁹⁰⁻⁹³.

3.1.2. Renina

3.1.2.1. Síntesis

La renina es una enzima proteica que pertenece a la subfamilia de las aspartil proteasas. Se activa por el clivaje consecutivo de dos formas hasta hace poco consideradas inactivas : la preprorenina (de 401 residuos de aminoácidos) y la prorenina. Enzimas como la proconvertasa-1 (PC-1) y la catepsina B (CTSB) actúan sobre el extremo amino-terminal (N-terminal) habitualmente plegado sobre sí mismo de la prorenina y, a través del adenosín monofosfato cíclico (cAMP), causan la escisión exocítica de 43 aminoácidos, produciendo así la renina^{180,181}.

Estudios recientes han develado que la prorenina se encuentra en concentraciones muy superiores a las de la renina, pudiendo formar angiotensina I (Ang I) al interactuar directamente ~~–y sin la mediación de la renina–~~ con el angiotensinógeno (AGT)¹⁸²⁻¹⁸⁴; no obstante, debe enfatizarse que su significación fisiológica se halla en investigación.

La renina es sintetizada, en primer lugar, en las células musculares lisas modificadas del aparato yuxtaglomerular, formado por la arteriola aferente, seguida en menor cantidad por las glándulas suprarrenales, los ovarios, los testículos, el cerebro y las glándulas submandibulares^{185,186}. Es importante destacar que hasta el momento se considera que la renina es sintetizada en tejidos y no en sangre circulante. Sin embargo, existe la posibilidad de que la Ang se genere independientemente de la renina, como previamente se ha mencionado, ya que, por ejemplo, en individuos anéfricos se ha hallado Ang en sangre circulante, producto probable de una vía metabólica dependiente de la prorenina activada de manera no proteolítica y por unión directa en el retículo endoplásmico rugoso (RER). Es decir, se

plantea la posibilidad de una formación extrarrenal de la renina como responsable de la activación **continua** del SRAA.

3.1.2.2. Regulación

La liberación de la renina desde la célula hacia la circulación es un mecanismo dependiente de las isoformas V y VI del cAMP y del cGMP, variantes ligadas a: el aumento del Ca^{++} intracelular, la activación de la fosfolipasa A2 (PLA2), la liberación de PG, la activación del receptor beta-adrenérgico (ADR- β), la activación del **glucagon, y de la dopamina (DA)**¹⁸⁷⁻¹⁹⁰.

La regulación de la liberación de la renina es compleja, **pivotal** en la activación de todo el SRAA, **y está** relacionada con las siguientes funciones:

- Mantener un estado óptimo del tono vascular para la preservación del volumen circulatorio.
- **Facilitar** la perfusión tisular adecuada.
- **Regular la homeostasis del balance de Na^+ /agua.**

Los estímulos principales para la activación del sistema **son** el volumen de fluidos (y a su el equilibrio Na^+ /agua) y el estado del tono vascular (vasoconstricción). La liberación de la renina almacenada en las células yuxttaglomerulares se incrementa ante la reducción de la carga de Na^+ a nivel de la mácula densa y por su parte, la caída de la presión de perfusión aumentará la síntesis de renina, principalmente a través de la mediación de las PG. Cuando se comienzan a agotar las reservas de renina se estimulará su síntesis para adecuar su provisión y mantener la homeostasis¹⁹¹.

Los siguientes pueden considerarse como los principales receptores con capacidad de respuesta a los estímulos regulatorios, con la consiguiente liberación de renina a la circulación¹⁹²⁻¹⁹⁴:

1. La mácula densa: responde a modificaciones de la carga de cloro tubular (en relación al anión cloruro, Cl⁻).
2. El aparato yuxtaglomerular: responde principalmente a la carga de Na⁺.
3. Los barorreceptores y mecanorreceptores renales y torácicos: responden a estímulos β adrenérgicos y al estiramiento de la célula, inhibiendo la síntesis de renina.

Si el volumen circulatorio se expande, se reabsorbería menos Cl⁻ en el túbulo contorneado proximal, aumentándose así la carga de este anión a nivel de la mácula densa, situación que inhibirá la liberación de la renina a la circulación, efecto potenciado, simultáneamente, por el aumento del estiramiento de las células vasculares de la arteriola aferente. Por el contrario, en situaciones de deshidratación, pérdida de volemia e hipotensión arterial se reduce la carga de Cl⁻ expuesta a la mácula densa, con el consiguiente incremento de la renina y de la reabsorción de Na⁺ y agua.

3.1.2.3. Acciones

Se reconocen acciones profibróticas y antiapoptóticas para la renina, más allá de su efecto catalizador de la producción de Ang a partir del AGT. Estas acciones se desarrollarían directamente, considerando que la renina puede unirse

independientemente a receptores específicos, actuando así como factor endocrino y no enzimático¹⁹⁵.

3.1.3. Ang

3.1.3.1. Síntesis

El proceso de producción de Ang se inicia con la síntesis de preprorenina, que una vez clivada se transforma en prorenina, esta última, como precursora de la renina. La renina origina la Ang I al actuar sobre el AGT .

La Ang I, con una vida media muy reducida (< 1 min), al ser clivada produce la Ang II (Ang 1-8), la que, a su vez, origina la Ang III (Ang 2-8) y la Ang 1-9. Asimismo, tienen lugar otras formas de Ang, como son la Ang 2-10 , la Ang 3-10 y la Ang 4-10 .

Según el estado actual del conocimiento, se considera que la Ang I es el producto activo más relevante del sistema y, aunque la ECA es la enzima más conocida, existen otras de tipo tisular que también metabolizan la conversión de Ang I en Ang II, como las endopeptidasas y las exopeptidasas. Entre éstas se ha **comunicado** que la catepsina G (CTSG), la quimasa, la tonina y la tripsina participan activamente en la formación de la Ang II a nivel cardíaco y que podrían **jugar** un rol específico durante la inhibición farmacológica de la ECA. Es probable que **el rol de** la ECA **sea más notorio** debido a su capacidad para inactivar la BK **y generar** BK 1-7, estado en que pierde su acción natriurética y vasodilatadora. Por lo anterior, la inhibición de esta enzima representa una alternativa farmacológica antihipertensiva **actual y atractiva**, al **hacer**

posible la reducción de la actividad de la Ang II y, simultáneamente, incrementar la vida media de la BK. La vida media de este péptido es también muy reducida y su catabolismo genera otras moléculas que frecuentemente no poseen actividad biológica relevante, como ser la Ang 1-7 (de 7 residuos de aminoácidos), la Ang III y la Ang IV (Ang 3-8, de 6 residuos de aminoácidos)¹⁷⁶.

La Ang 1-7 es formada especialmente en el riñón y se le atribuyen efectos vasodilatadores, natriuréticos y antiproliferativos^{196,197}.

La Ang III presenta aproximadamente **un tercio** de la potencia vasoconstrictora de la Ang II, aunque **con** un efecto similar en la activación de la aldosterona (Ald). No obstante, su relevancia biológica **real** es menor debido a su muy corta vida media, **ya que es rápidamente degradada** por acción de la aminopeptidasa neutra. Por su parte, la Ang III también podría participar en la regulación neuroendocrina de la PA. La complejidad del sistema se evidencia al considerar que la degradación de la Ang III genera, a su vez, Ang IV, variante que aumenta la acción vasodilatadora a través de la activación de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS).

La Ang IV, como una forma no tan conocida de las Ang **-al menos en comparación con la Ang II-** posee interés investigativo por su especial afinidad por el receptor tipo 4 de la angiotensina (AT4R), detectado en el endotelio vascular, el músculo liso cardíaco, el riñón, las glándulas adrenales y el pulmón. Sus principales efectos se asocian con la vasodilatación mediada por aumento de la liberación del NO (especialmente a nivel pulmonar), la participación en mecanismos nerviosos de regulación y mantenimiento de funciones cognitivas a nivel del sistema nervioso central (SNC) y **las acciones** potenciales en la regulación del equilibrio hidrosalino

debido a la alta concentración de AT4R en el tubo colector renal. Todos los péptidos que componen el SRAA actúan sobre receptores diferentes, **y es intensa la** actividad investigativa **sobre** la integración de todas las respuestas que generan, para lograr **así** una interpretación más completa de su fisiología y de sus acciones.

3.1.3.2. Regulación

El principal mecanismo regulador de la Ang se halla a nivel de su formación, estando representado por la ECA. La misma es un polipéptido de elevado peso molecular, 150.000 Da., **y bioquímicamente** es una dipeptidil carboxipeptidasa o quininasa II estructurada en dos regiones, cada una de ellas con la propiedad de escisión de la Ang I, función que se presenta independientemente en ambas regiones. Se sintetiza en el endotelio vascular a nivel sistémico y presenta, además, expresión tisular en el tejido cerebral y renal, así como en adipocitos, monocitos y estructuras similares. La acción de la enzima es altamente inespecífica, siendo sus sustratos más conocidos la Ang I, la BK, la **calidina** y las encefalinas^{198,199}.

A pesar de la heterogeneidad de las funciones de la ECA, el resultante es un aumento del tono de la vasoconstricción a través de la generación de Ang II y de la inactivación de BK y **calidina**. La presencia abundante de enzimas convertidoras de la angiotensina y no convertidoras en el tejido cardíaco permite que la síntesis de Ang II no dependa solo de la ECA. Las **quininas generan** Ang II a partir de Ang I pero se diferencian de la ECA en **que** no degradan la BK y su regulación está influenciada **tanto** por hormonas como los estrógenos, los corticoides, el ANF, la hormona tiroidea **como por** el estiramiento de las células del miocardio²⁰⁰⁻²⁰³.

3.1.3.3. Receptores de Ang

Actualmente, se consideran cuatro receptores de la Ang con mayor especificidad²⁰⁴:

1. Receptor tipo 1 de la angiotensina (AT1R): bioquímicamente es una GP de 7 segmentos transmembrana acoplada positivamente con proteínquinasa A (PKA) y negativamente con adenilciclasa, modificándose su unión conformacional con guanosín trifosfato (GTP) en la subunidad asociada a la proteína G, tras la activación por la Ang. Los efectos son principalmente mediados por la tirosina y otros aminoácidos, inositol fosfatos y fosfolipasas^{205,206}. Por otro lado, su ubicación es muy generalizada.
2. Receptor tipo 2 de la angiotensina (AT2R): bioquímicamente es bastante similar al AT1R, diferenciándose en especial por su expresión predominante en el feto y reducida en el adulto, y siendo detectable en la médula adrenal, el tejido nervioso central, el útero, los ovarios y en neoíntimas de endotelios lesionados²⁰⁷⁻²⁰⁹. Por otro lado, todavía no se conoce claramente cuáles son los mediadores de su activación. Finalmente, en su mayoría, los efectos son opuestos a los del AT1R.
3. Receptor tipo 3 de la angiotensina (AT3R): su principal activador sería la Ang 1-7, atribuyéndosele efectos antiproliferativos, vasodilatadores y natriuréticos, según se comentara previamente. Hasta el momento no se han descrito con exactitud sus características bioquímicas, aunque se propone que se trata de un receptor MAS sin afinidad por la Ang II²⁰⁷.

4. AT4R: es activado por la Ang II, la Ang III y la Ang IV, siendo **sus efectos** similares a los del AT1R, además de la acción estimuladora de la liberación del tPA.

3.1.3.4. Acciones

Las acciones atribuidas actualmente a las Ang han sido anticipadas en los temas precedentes. La estimulación del AT1R es el mecanismo efector de las principales acciones del sistema relacionadas con la aterosclerosis, aunque también **son relevantes las acciones** asociadas a la activación del AT2R, identificadas en algunas situaciones clínicas en el adulto. Las acciones de la Ang II a nivel renal han sido descritas como de naturaleza regulatoria. Resulta de gran interés la posibilidad de síntesis local de todos los componentes del SRAA a nivel del sistema renovascular, donde se hallan las concentraciones más elevadas de Ang, específicamente a nivel del túbulo proximal. A continuación se listan las consecuencias de la activación de los receptores mencionados:

1. Mediadas por la estimulación del AT1R:
 - Vasoconstricción.
 - Reducción del flujo plasmático renal.
 - Síntesis y secreción de Ald.
 - Aumento de la reabsorción tubular de Na⁺.
 - Secreción de vasopresina.
 - Control central de la osmolalidad.

- Aumento de la contractilidad cardíaca.
- Hipertrofia vascular.
- Hipertrofia miocárdica.
- Inhibición de la renina.
- Aumento y regulación de la actividad del sistema nervioso periférico (SNP).
- Proliferación del músculo liso vascular.
- Proliferación de la matriz mesangial.

2. Mediadas por la estimulación del AT2R:

- Vasodilatación.
- Activación de la apoptosis.
- Inhibición de la proliferación celular.
- Regeneración neuronal.
- Regulación del tejido extracelular.

3.1.4. Aldosterona

3.1.4.1. Síntesis

La Ald es un esteroide de 4 anillos con un grupo aldehído en el carbono 18 y un OH⁻ en el carbono 11. Es sintetizada aproximadamente en un 90% en la zona glomerulosa y el resto, en la zona fasciculada, en la zona reticular y en la médula adrenal²¹⁰. Se caracteriza por presentar una estructura cíclica conocida como forma lactona, confiriéndole afinidad para los receptores de mineralocorticoides.

La síntesis de la molécula es compleja y presenta varios pasos limitantes. Se reconocen dos vías asociadas, una temprana y otra tardía. La primera se inicia con la conversión de colesterol en pregnenolona, **que genera** rápidamente progesterona, que **luego** se hidroxila a 11-desoxicorticosterona por acción de la enzima CYP21A2. La enzima aldosterona sintasa (CYP11B2) cataliza la reacción siguiente, dando origen a la vía tardía, con la formación de corticosterona y, posteriormente, Ald.

3.1.4.2. Regulación

La Ang II, el potasio (K⁺) y la adrenocorticotrofina (ACTH) son los principales reguladores de la Ald. **Su** síntesis es inducida por la Ang II, existiendo un circuito de producción de Ang II directamente en la misma glándula adrenal, cuya corteza produce renina y Ang capaces de activar receptores en la zona glomerulosa. Sin embargo, la acción de estos componentes del SRAA no es independiente de la producción y regulación renal, por **lo que** sus efectos todavía no están claramente dilucidados²¹¹⁻²¹³.

Por su parte, el K⁺ estimula la secreción de Ald por parte de las células de la zona glomerulosa, **proceso** significativamente sensible a variaciones **en su** concentración; por ejemplo, reducciones de 0,1 mEq/L de K⁺ pueden incrementar hasta en un 25% la síntesis, liberación y concentración plasmática de Ald. El mecanismo de retroalimentación se genera a modo de respuesta rápida entre el K⁺ y la Ald.

La síntesis de Ald puede ser regulada por intervención sobre la vía temprana o sobre la vía tardía. En el primer caso, los estímulos agudos y de corta duración (a partir de la Ang II, el K⁺ o la ACTH **v.g.**) producen un cambio en la esteroidogénesis, mientras

que la intervención sobre la vía tardía está regulada por factores del entorno y del estilo de vida, **entre otros** el aumento de la ingesta de K^+ y la restricción de Na^+ , que estimulan a la Ald sintasa. Este aumento de la síntesis se acompaña sinérgicamente de un incremento de la sensibilidad de los receptores tubulares a la Ang II.

3.1.5. SRAA y aterosclerosis

En estudios experimentales se ha descrito la presencia de ARNm de proteínas específicas de componentes del SRAA en cultivos de macrófagos provenientes de lesiones ateromatosas, hecho sustancial ante el reconocimiento de ciertas relaciones entre **el SRAA** y la aterosclerosis.

3.1.5.1. Estrés mecánico y AT1R

El estiramiento de la pared arterial es un potente estímulo para la activación del SRAA a través de sus receptores AT1R. Esta activación se produce independientemente de la PA y de la Ang. De esta manera, situaciones de aumento del estrés parietal se asocian con la activación del sistema^{214,215}. En la **Figura 7** se esquematiza la concepción moderna del SRAA y de sus interacciones, **según Juncos et al**¹⁷⁶.

Figura 7. Concepción actual del SRAA y sus interacciones.

El conocimiento de los componentes y formas de acción del sistema se encuentra en continua evolución.

Fuente: Modificado de Juncos L **et al.** Sistema renina-angiotensina en hipertensión arterial. En: Esper R, editor. Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial. Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 225-47.

Nota: APA, Adenomas productores de aldosterona; APN, Aminopeptidasa N; APX, AP lesionada; ECA-2, Enzima convertidora de la angiotensina tipo 2; CTSA, Catepsina A; NEP, Endopeptidasa neutral; PEP, Propil endopeptidasa.

3.1.5.2. Rol del SRAA en el riñón

El SRAA **cumple** un rol esencial en el control de la hemodinamia renal. Las variables que participan en este proceso son muchas y la plasticidad del sistema es también importante, adecuándose a las situaciones mediante la modificación de sus funciones, según el requerimiento homeostático circunstancial. Los efectos sobre la filtración renal son resultantes de la integración de múltiples mecanismos, pudiendo aumentar, disminuir o no presentar cambios. Respecto del efecto de la Ang II sobre las arteriolas aferentes y eferentes, los conceptos actuales sostienen que, a diferencia de lo clásicamente considerado, la Ang II contrae ambos tipos de arteriolas², sin afectar la filtración de proteínas, el NO actuando como balance contrarregulador natural de este efecto. Sin embargo, la administración crónica **y** en bolo de elevadas concentraciones de Ang II **general** nefropatía (qué tipo?) y proteinuria.

La sumatoria de los efectos de la Ang sobre los vasos renales **resulta en** vasoconstricción, aunque el efecto sobre el filtrado terminará siendo modulado por el sistema del NO a través de los efectos vasodilatadores de las PG (cuya síntesis es estimulada por la propia Ang II) y del eje regulatorio de retroalimentación túbuloglomerular o túbulomacular sensibilizado por la Ang I²¹⁶⁻²²⁴. Es decir, en condiciones normales el SRAA asegura el filtrado a pesar de las disminuciones de la carga de líquido **ofrecido** al túbulo y de la excreción urinaria de Na⁺. Sin embargo, en

² La tendencia conceptual previa se asociaba con el reconocimiento de la sola contracción de la arteriola aferente.

condiciones tanto experimentales como patológicas de hiperactividad sostenida del SRAA, el mecanismo de autorregulación se ve alterado.

Entre los efectos enumerados de la Ang II, la reducción de la excreción urinaria de Na⁺ (mediada por la Ald en el túbulo proximal y distal) puede considerarse como uno de los más trascendentes ante la necesidad de mantener un adecuado balance hidrosalino. Además, se atribuye un rol directo a la Ang II sintetizada en el riñón, **mientras que** la alteración de **la AngII** circulante afecta la regulación del balance agua/reabsorción de Na⁺ y la formación de bicarbonato de sodio (NaHCO₃), **en el primer caso por intercambio** por H⁺ en el túbulo proximal y **en el segundo caso por???** la reabsorción en el tubo distal a través de la acción sobre canales dependientes de amilorida^{225,226}.

3.1.5.3. Ang 1-7 y aterosclerosis

Se ha **comunicado** la existencia de desequilibrios en la activación del SRAA asociados a la reducción de la generación de Ang 1-7 y a un aumento secundario de la Ang II intrarrenal. La activación del AT1R por estiramiento mecánico de la pared vascular, tal como acontece en la aterosclerosis, puede desencadenar **una** alteración del balance Ang II/ECA y Ang 1-7/ECA en modelos de HTA dependiente de Ang II. Por su parte, en un modelo de estenosis renal unilateral en ratas se describió que el incremento de la PA e hiperreninemia se acompañó de incrementos en los niveles de Ang II medidos en la médula renal, junto a reducción de los niveles de Ang 1-7. Además, es **interesante mencionar** que los niveles de ARNm correspondientes a la ECA

y la ECA-2 fueron diferentes ante la evolución de la patología, señalando una regulación diferencial más allá de la presión de perfusión renal.

3.1.6. Estudio clínico de la ARP, la Ald y la relación Ald/ARP

La utilidad clínica de la determinación del estado de activación del SRAA ha sido limitada a investigaciones o centros de especialización, posiblemente debido a la existencia de múltiples variables que podrían actuar como factores confundidores. La sistemática para su determinación debe ser consensuada en cada laboratorio, siendo necesaria una metodología adecuada no solo para los procedimientos del proceso de análisis de la muestra sino también, y especialmente, para protocolizar la preparación de los pacientes y poder así efectuar análisis poblacionales comparativos de los diferentes estados de activación del SRAA y establecer los rangos normales y patológicos^{227,228}. En la **Tabla 5** se sistematizan distintas recomendaciones clínicas para la determinación de las anteriores variables (ARP y Ald), discriminando según clase de evaluación.

Tabla 5. Recomendaciones para la determinación de ARP y Ald en la práctica clínica.

Tipo de determinación	Indicadores a evaluar
Determinaciones en sangre periférica	1. ARP. 2. Ald. 3. Proporción Ald/ARP (ARR). 4. Na ⁺ . 5. K ⁺ . 6. Cr. 7. pH.

Tipo de determinación	Indicadores a evaluar
Determinaciones urinarias	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ald. 2. Na⁺ de 24 hs. 3. K⁺ de 24 hs. 4. pH.
Condiciones	<ul style="list-style-type: none"> • Suspensión de fármacos con efecto sobre el SRAA 2,5 vidas medias antes (recomendación para el análisis individual de los componentes del SRAA pero no necesaria para la interpretación de la ARR). • Dieta normosódica 5-7 días previos. • Primera hora de la mañana. • Posición en decúbito. • Al menos 30 min de reposo previo.
Condiciones que invalidan total o parcialmente la interpretación del examen	<ul style="list-style-type: none"> • Hipovolemia. • Deshidratación. • Hipotensión arterial. • Alteraciones del metabolismo del K⁺. • Restricción de la ingesta de Na⁺. • Insuficiencia renal.
Rango de valores de la ARP (ng/ml/h)	<ul style="list-style-type: none"> • Renina baja: ARP < 0,65 ng/ml/h. • Renina normal: ARP=0,65-6,5 ng/ml/h. • Renina alta: ARP > 6,5 ng/ml/h.

Fuente: Alcázar JM, Rodicio JL, Kotliar C. Enfermedad renovascular aterosclerótica. En: Esper R, editor. Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial. Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 535-47.

La eficacia de estas determinaciones se incrementa de manera significativa si la muestra se obtiene directamente de venas renales y si se considera su lateralización más allá de su valor absoluto.

La ARR, más allá de su determinación por separado, permite una mayor aproximación al estado de activación del SRAA. Esta relación se ha utilizado históricamente para el diagnóstico de sospecha de hiperaldosteronismo primario, a partir de sus primeras descripciones en los estudios de Conn **de los años noventa** ²²⁹.

Estudios recientes han demostrado la utilidad de estimar la ARR también en sujetos no hipertensos y en hipertensos esenciales. En los primeros, de acuerdo con Blumenfeld y Laragh²³⁰ en relación al estudio de Framingham, se halló un mayor riesgo de HTA ante valores incrementados de la Ald. Por su parte, en los hipertensos esenciales, varios estudios han mostrado valores de la ARR, en algunos buscándose evaluar la eficacia de drogas que inhiben la Ald con el objetivo de reducir eventos en la evolución de los sujetos con hiperaldosteronismo bioquímico y en otros, para analizar la eficacia de la asociación de bloqueos sinérgicos de la renina y la Ald.

3.1.6.1. ARR

La ARR suele ser un parámetro más representativo que sus componentes por separado (Ald y ARP), observándose a su vez menos alteración por los factores que pueden modificar la concentración individual de Ald o de renina^{231,232}. En el estudio *Renin-Aldosterone* (RENALDO) se ha propuesto el uso de la ARR para predecir la respuesta antihipertensiva a la espironolactona²³³. Lo más interesante de esta propuesta es que no se limita a pacientes con HTA refractaria, sino también a aquellos con HTA-Es no tratados previamente.

Por otra parte, la reproducibilidad intraindividual de la ARR es muy elevada cuando se efectúa en condiciones adecuadas y suele no estar influenciada por los tratamientos, a diferencia de los valores individuales de sus componentes. En relación a esto, una cantidad relativa e inadecuadamente elevada de Ald podría señalar un predominio de sus efectos hipertensógenos y proliferativos, lo cual requeriría de una intervención más específica.

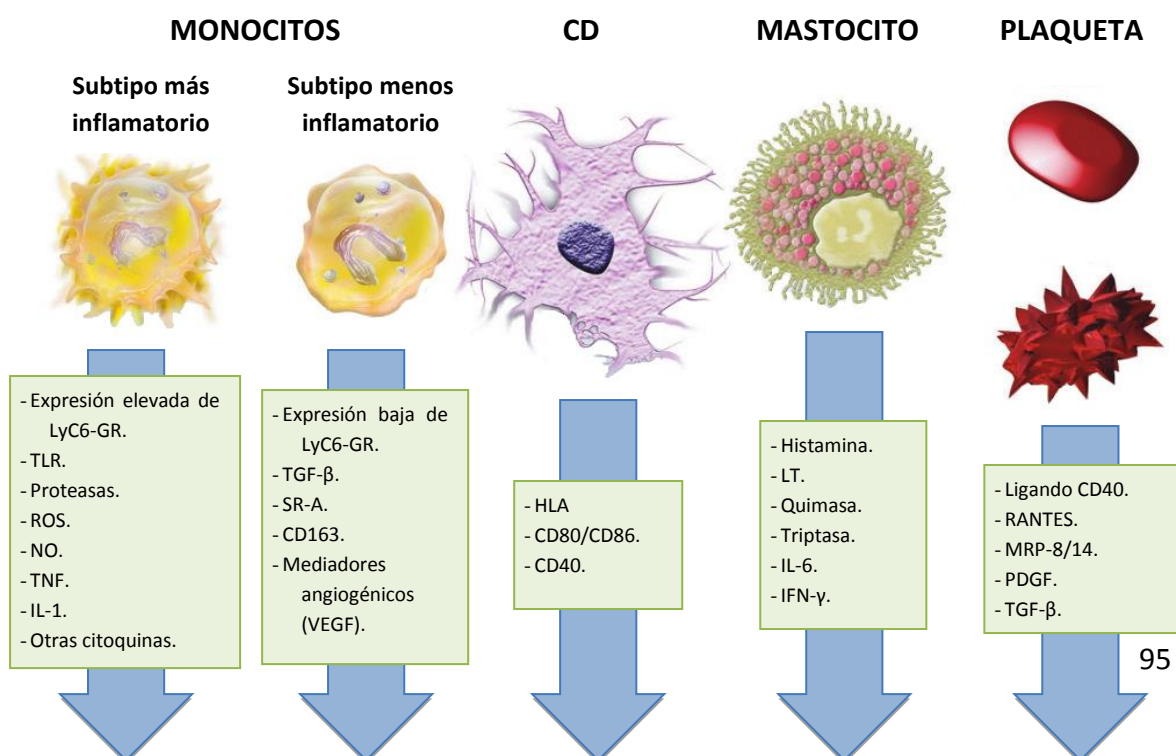
3.2. Proyecto II. Mecanismo inmunoinflamatorio

El proceso fisiopatológico subyacente al desarrollo de la aterosclerosis incluye la entrada de lipoproteínas aterogénicas a la pared vascular, seguida de su retención subendotelial y oxidación, siendo este proceso influido por factores genéticos y hemodinámicos-mecanicistas que modulan la susceptibilidad individual para padecer la enfermedad. Por su parte, también son partícipes de este proceso las respuestas inmunes innatas y adaptativas ante los Ag alergénicos (no sé si va esta palabra, quizá pueda sacarse, y dejar ...ante los antígenos a secas), con la consecuente activación de la cascada inflamatoria en su continuamente explorado rol de causa o efecto, desencadenando nuevos cambios en la pared arterial, proceso complejo y multifactorial.

Los componentes de la placa son los linfocitos B, las inmunoglobulinas (Ig), las citoquinas inflamatorias y el sistema del complemento. Varios componentes del sistema inmune han sido estudiados para determinar su participación en el desarrollo de la aterosclerosis²³⁴⁻²³⁷. En la **Figura 8** se esquematizan los principales componentes del mecanismo de inmunidad innata y sus relaciones funcionales, considerando los desarrollos de Libby *et al*²³⁸.

Figura 8. Elementos principales del mecanismo de inmunidad innata. (como siempre leyenda de la figura abajo)

Las células monocíticas fagocíticas representan el paradigma de este mecanismo en los mamíferos. Los monocitos dan origen a los macrófagos que, dentro de la íntima arterial, generan las células espumosas, signo de la estría grasa. Podrían reconocerse diversos tipos de monocitos según su actividad proinflamatoria, identificados en la actualidad como una población heterogénea. El subtipo inflamatorio expresa niveles más elevados de Ly6C en su superficie, así como concentraciones mayores de los receptores tipo Toll (TLR) e incrementos en la producción de citoquinas, de TNF e IL-1. El subtipo menos inflamatorio expresa niveles elevados del TGF- β , del receptor carroñero tipo B (SR-B) CD36 y de aquellos tipo A (SR-A), y de los mediadores angiogénicos como el VEGF. Las CD expresan moléculas del antígeno leucocitario humano (HLA) y exponen los Ag a otros tipos celulares, en especial las células T, relacionando la inmunidad innata y la adaptativa. Por su parte, los mastocitos elaboran mediadores a los que se les ha atribuido un rol en la aterosclerosis en ratones. Cuando las plaquetas son activadas exteriorizan las proteínas CD40 o CD154 y liberan mediadores, tales como el regulador de la activación de las células T normalmente secretadas y expresadas (RANTES), las proteínas mieloides, el factor de crecimiento plaquetario (PDGF) y el TGF- β .



Inflamación **Reparación de tejidos metabólicos** **Presentación de Ag** **Inflamación** **Hemostasia**

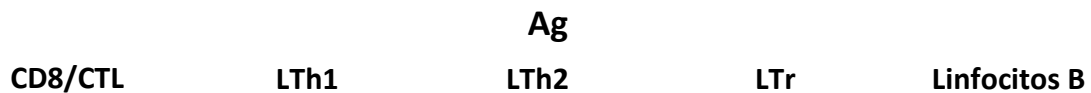
Fuente: Modificado de Libby P, Kierker PM, Hansson GK; Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(23):2129-38.

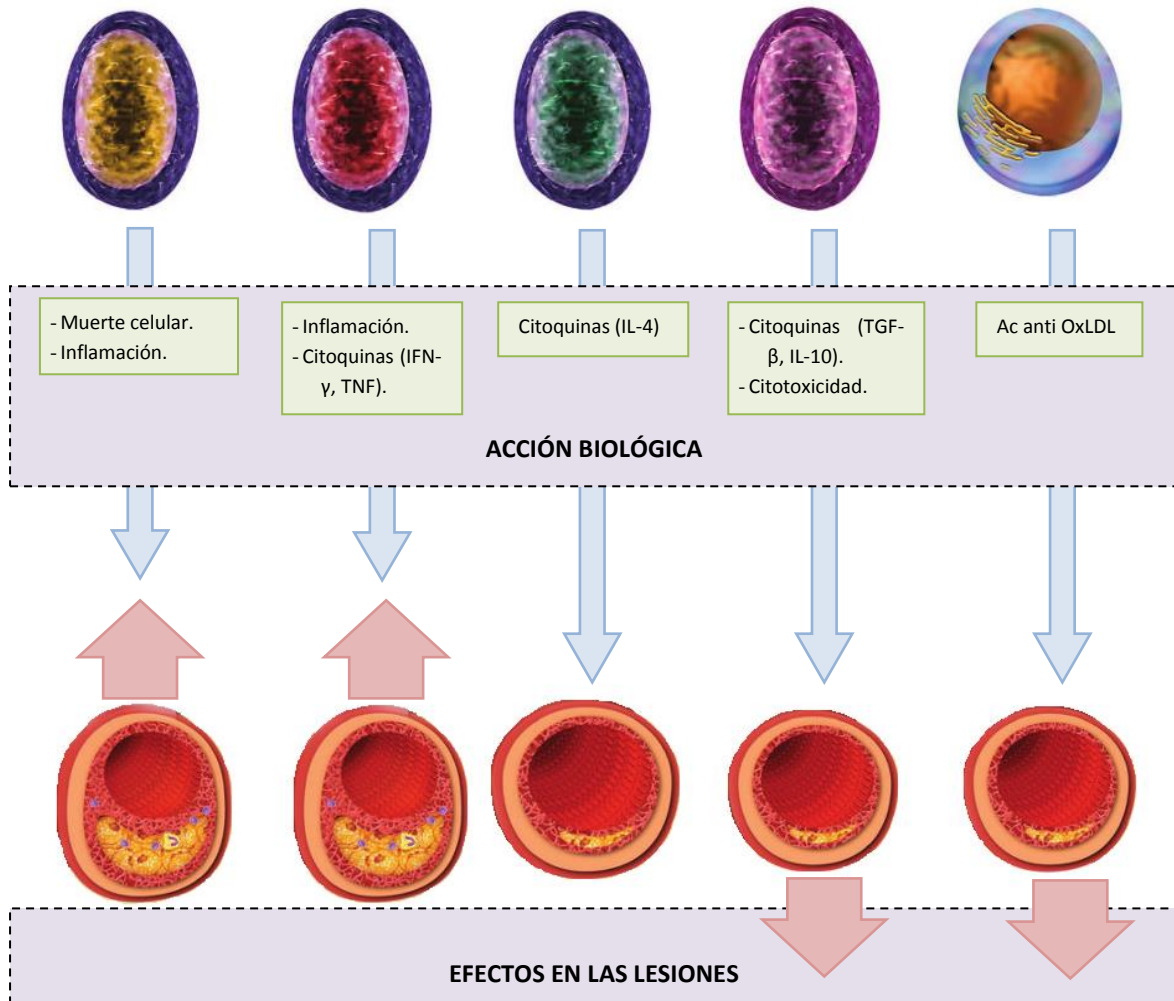
Nota: LT, Leucotrienos; MRP, Proteína de resistencia múltiple a drogas. **No faltan otras abreviaturas?**

Por su parte, respecto de los componentes del sistema inmune adquirido, en la **Figura 9** se esquematizan sus principales componentes y relaciones funcionales, también a partir de los desarrollos de Libby *et al*²³⁸.

Figura 9. Elementos principales del mecanismo de inmunidad adquirida en la aterosclerosis.

Se considera que al menos cinco clases de linfocitos poseen un rol pivotal en el proceso de aterogénesis. Las células B elaboran anticuerpos (Ac), siendo el subtipo B1 el responsable de elaborar, primordialmente, Ac inmunoglobulina M (IgM) que reconoce los constituyentes de la molécula de OxLDL. En esta figura las flechas ascendentes señalan que el rol de un determinado tipo celular es de agravamiento de las lesiones, mientras que las flechas descendentes indican la reducción de las mismas. Es importante aclarar que se simplificaron los efectos con fines esquemáticos dado que es importante tener en consideración que, por ejemplo, no todos los linfocitos T auxiliares tipo 2 (LTh2) ni todos los Ac elaborados por las células B reducirán la aterogénesis.





Fuente: Modificado de Libby P, Ridker PM, Hansson GK; Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. J Am Coll Cardiol. 2009;54(23):2129-38.

Nota: LTh1, Linfocitos T *helper* o auxiliares tipo 1; IL-4, Interleuquina-4; IL-10, Interleuquina-10. **No faltan abreviaturas aquí ?**

La mayor parte del conocimiento acerca del proceso inmune en la aterosclerosis surgió a partir del estudio de pacientes con lesiones carotídeas o coronarias en fases avanzadas y manifestaciones clínicas de complicaciones²³⁹⁻²⁴¹. No es tan vasto el conocimiento acerca de los marcadores de respuesta inmune durante las fases tempranas y clínicamente silentes de la aterosclerosis. Tampoco se hallan datos en la literatura acerca de la activación inmune en la ERVA, cuyo curso es

mayormente silente hasta etapas tardías, **cuando se asocia a** una caída **severa** del flujo sanguíneo renal.

La existencia de **una** respuesta inmune en fases tempranas de esta enfermedad podría **servir de base a futuras** intervenciones tempranas **para reducir** la inflamación y beneficiar **así** la evolución del paciente.

3.2.1. Inmunopatología de la aterosclerosis

La evolución del conocimiento sobre la activación inmunológica en la arterioesclerosis ha devengado en su consideración actual como enfermedad inmunoinflamatoria, aunque en la comunidad científica existen **divergencias** en lo que respecta a los mecanismos desencadenantes de esta activación, así como de si su rol es el de iniciación o de propagación, o ambos.

En un intento de simplificación pueden reconocerse al menos tres teorías que convergen en señalar que la aterosclerosis **presenta** un componente autoinmune en sus estadios avanzados: la primera sugiere que la respuesta inmunoinflamatoria es secundaria al ingreso de lipoproteínas al espacio subendotelial; la segunda atribuye el gatillado de la respuesta a agentes infecciosos; finalmente, la tercera sostiene que el sistema inmune tiene un rol esencial en el inicio y en la cronicidad del proceso de arterioesclerosis, de manera similar a la de una enfermedad autoinmune²⁴². La respuesta autoinmune se desencadenaría por la activación del tejido linfoide asociado a los vasos (VALT) a partir de auto-Ag derivados de la lesión endotelial, los cuales podrían activar las CD que iniciarían el proceso.

3.2.1.1. Autoinmunidad

En la aterosclerosis se han descrito auto-Ag primarios, -como la OxLDL y las proteínas de estrés o choque térmico (HSP)-, y secundarios, -como la beta 2-glicoproteína (β 2-GP)- y los componentes estructurales de algunos microorganismos. De estos auto-Ag, los más estudiados han sido la OxLDL y las HSP²⁴³. Estas últimas están presentes en todos los organismos vivos y su función biológica responde a la necesidad de autoprotección celular. Las HSP se localizan en diferentes compartimentos celulares, como la mitocondria, el núcleo, el retículo endoplasmático y el citoplasma. Estas proteínas han sido conservadas a través del proceso evolutivo y participan en el recambio, la reparación y **la degradación** de proteínas que han sido dañadas o inactivadas; de ahí que se sintetizan en altas concentraciones cerca de regiones donde se produce estrés celular, como en el endotelio vascular y en los procesos inflamatorios. Las HSP protegen a las células endoteliales del estrés hemodinámico, el cual afecta la homeostasis vascular. Sin embargo, la presencia en la superficie celular de HSP60/65 constituye una señal para que el sistema inmunitario las reconozca, se active y la célula sea destruida^{244,245}. Por otra parte, se ha comprobado que la presencia de Ac anti-HSP60 en personas jóvenes posee un valor predictivo sobre la presencia de un desarrollo aterogénico temprano y **la presentación** de eventos cardiovasculares adversos²⁴⁶.

Durante la oxidación de las LDL se producen cambios estructurales en las proteínas que las conforman, tales como aldehídos reactivos que poseen un elevado poder inmunogénico, observándose una interrelación entre las OxLDL y las HSP. Esto

se justifica en tanto las primeras pueden, por sí mismas, desencadenar un aumento de la expresión de HSP en las células endoteliales. Por otra parte, las OxLDL pueden interactuar con proteínas plasmáticas como la beta 2-glicoproteína 1 (β 2-GP 1) y favorecer la formación de complejos. La unión de auto-Ac a estos complejos antigénicos provoca, a nivel vascular, la activación del endotelio y una respuesta inmunológica de tipo inflamatoria.

Las OxLDL y las HSP forman parte de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) que son reconocidos por células de la respuesta inmunológica innata y que pueden activar las primeras líneas de defensa inmunológica²³⁸. Estos PAMP pueden ser reconocidos por receptores celulares como los TLR, presentes en la superficie de células presentadoras de antígeno (APC), tales como los macrófagos, las CD y las células endoteliales. Estas **última** presentan el Ag a las células T efectoras y estimulan la producción de Ac por parte de linfocitos B.

Las evidencias brevemente enumeradas en la descripción previa constituyeron el fundamento para que la aterosclerosis comience a ser considerada como una enfermedad con un componente autoinmune. Los criterios asociados que se suponen presentes son los siguientes:

1. Descripción de auto-Ag, como es el caso del Ag de las OxLDL.
2. Existencia de auto-Ac en animales contra dicho Ag.
3. **Desarrollo de** la enfermedad en animales vírgenes a través de **la** transferencia pasiva de linfocitos T provenientes de animales enfermos.

4. **Demostración** en animales con placas de aterosclerosis que la administración de inmunomoduladores o **inmunosupresores** se asocia a regresión de la extensión y **d**el volumen de la placa.

En la **Tabla 6** se presentan los aportes de distintos estudios **sobre** los componentes inmunológicos en la aterosclerosis, así como **sus** efectos asociados. Esta breve revisión se fundamentó en los desarrollos de Chyu *et al*²⁴⁷.

Tabla 6. Listado parcial de células inmunológicas asociadas? a aterogénesis.

Estudio	Modelo	Componente inmunológico	Efecto sobre la aterosclerosis
Dansky <i>et al</i> (1997)	ApoE/gen de activación de recombinación-1 (RAG-1)	Deficiencia de células T y B	Disminución; sin efectos en ratones con dieta alta en grasas
Daugherty <i>et al</i> (1997)	ApoE/gen de activación de recombinación-2 (RAG-2)	Deficiencia de células T y B	Sin efectos
Song <i>et al</i> (2001)	LDLR/RAG-1	Deficiencia de células T y B	Retardo
Zhou <i>et al</i> (2000)	ApoE/inmunodeficiencia combinada severa (SCID)	Deficiencia de células T y B	Disminución
Tupin <i>et al</i> (2004)	ApoE/gen CD1d	Deficiencia de células T asesinas naturales (NKT)	Disminución
Major <i>et al</i> (2004)	ApoE/gen CD1d	Deficiencia de NKT	Disminución
Buono <i>et al</i> (2002)	Receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR)/componente 3 del complemento	Defectos en mecanismos clásicos y alternativos	Aumento

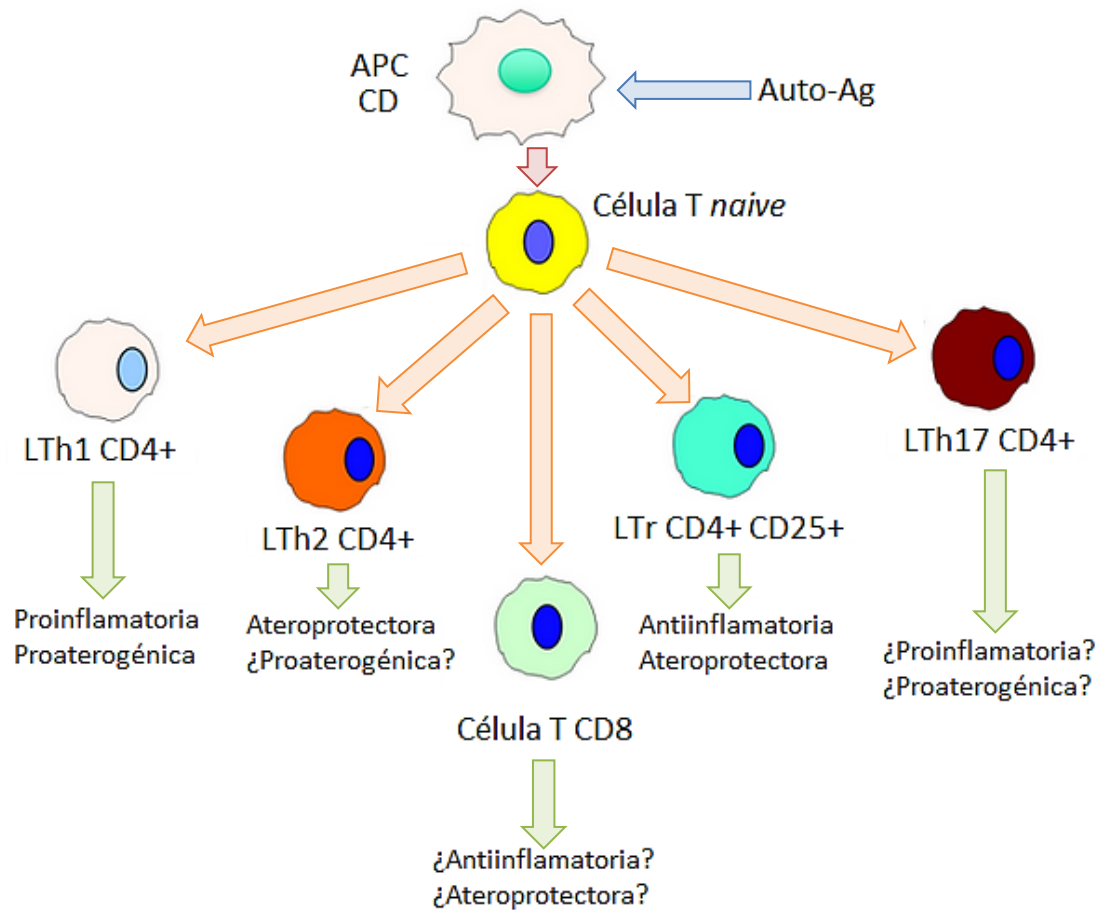
Estudio	Modelo	Componente inmunológico	Efecto sobre la aterosclerosis
Patel <i>et al</i> (2001)	ApoE/componente 5 del complemento	Defectos en el complejo terminal del complemento	Sin efectos
Michelsen <i>et al</i> (2004)	ApoE/gen Myd-88 o ApoE/receptor tipo Toll 4 (TLR4)	Defectos en la inmunidad innata	Disminución
Björkbacka <i>et al</i> (2004)	ApoE/gen Myd-88	Defectos en la inmunidad innata	Disminución
Caligiuri <i>et al</i> (2002)	Esplenectomía en ratones ApoE (-/-)	Defectos en la inmunidad adquirida	Aumento
Major <i>et al</i> (2002)	Deficiencia de células B en ratones LDLR (-/-)	Defectos en la inmunidad adquirida	Aumento
Ait-Oufella <i>et al</i> (2010), Kyaw <i>et al</i> (2010)	Depleción de células B por parte del Ac CD20	Deficiencia de células B	Disminución
Liu <i>et al</i> (2008)	Deficiencia del CX3CR1	Disminución de la acumulación de CD	Disminución
Ait-Oufella <i>et al</i> (2006), Takeda <i>et al</i> (2010), van Es <i>et al</i> (2010)	Células T CD4+, CD25+	LTr	Disminución
Fyfe <i>et al</i> (1994)	Deficiencia del complejo mayor de histocompatibilidad clase 1 (MHC-1)	Defectos en las células T CD8	Aumento

Fuente: Chyu KY, Nilsson J, Shah PK. Immune mechanisms in atherosclerosis and potential for an atherosclerosis vaccine. *Discov Med*. 2011;11(60):403-12.

En la **Figura 10** se esquematizan las funciones de las CD y de los linfocitos T en el proceso aterogénico, representando lo anteriormente descrito en relación a la autoinmunidad en la aterosclerosis. En este caso también se consideraron los aportes de Chyu *et al*²⁴⁷.

Figura 10. Esquema descriptivo del rol pivotal de las CD en la regulación de la respuesta inmune.

Durante el proceso de aterosclerosis estas células influyen sobre los principales mediadores de la respuesta inmune y potencialmente autoinmune. El reconocimiento de Ag de la enfermedad vascular es comandado por las CD. La homeostasis y el balance de las células T definirían la magnitud y la perpetuación de esta respuesta, así como su estado tolerogénico.



Fuente: Modificado de Chyu KY, Nilsson J, Shah PK. Immune mechanisms in atherosclerosis and potential for an atherosclerosis vaccine. *Discov Med.* 2011;11(60):403-12.

Nota: LTh17, Linfocito T *helper* o auxiliador tipo 17.

3.2.1.2. CD

Aproximadamente el 0,3% de las células mononucleares (MC) circulantes está compuesto por CD²⁴⁸. Descritas originalmente en la piel hacia el año 1973, las CD son consideradas como las más potentes APC de todo el organismo. Desde la década de 1990 comenzó a estudiarse su localización en el espacio subendotelial, así como en la unión entre la túnica media y la adventicia arteriales^{249,250}. Su ubicación adyacente a

los *vasa vasorum* les confiere una ventaja estratégica para monitorear rápidamente la aparición de **fenómenos de stress endotelial**.

Las características y acciones de las CD las sitúan en una interfase entre las células del sistema inmune innato y **las** del sistema inmune adquirido.

Actualmente, se acepta que cuando las CD son activadas de manera eficaz y suficiente actúan presentando a las células T Ag/auto-Ag propios de la lesión endotelial y del ateroma, para así activar la respuesta inmunoinflamatoria²⁵¹. Esta activación no sería dependiente del contacto **antigénico per se**, sino que se produciría a través de la vía de los SR, **al reconocer** patrones típicos de moléculas dañadas de la superficie endotelial.

3.2.1.2.1. Fenotipos

Morfológicamente las CD se caracterizan por presentar numerosas dendritas, definidas como finas ramificaciones citoplasmáticas que se extienden y retraen. En su superficie, las CD pueden mostrar las moléculas necesarias para su interacción con células T o, en fases menos avanzadas de su desarrollo, presentarían las moléculas necesarias para la captura de los Ag. Las CD de la epidermis o células de Langerhans se distinguen por presentar **sus** característicos gránulos de Birbeck. **(es importante decir esto último de estos granulos?=-**

Como sucede con la mayoría de las progenies celulares, se han identificado ciertas Ig que contribuyen a la caracterización de las CD. Por ejemplo, se citará la CD83 y la CD1 (tipos CD1a, CD1b, CD1c y CD1d), que están restringidas a las CD. También los S-100 (S-100A1, S-100B) se hallan expresados de manera muy intensa tanto en las CD inmaduras como en las maduras^{251,252}.

3.2.1.2.2. Desarrollo

Desde su origen en la médula ósea, las CD son clasificadas según su localización en circulatorias y tisulares, y según su estado de maduración, en precursoras, inmaduras y maduras. El balance entre unas formas y otras es un proceso interactivo acerca del cual se especula que se trata de un tráfico de células entre su sitio de producción (médula ósea), su lugar de monitorización o vigilancia (torrente circulatorio) y el sitio en estado de riesgo (tejido inflamado). De esta manera, si existiera un aumento de su requerimiento por una lesión tisular, se podría observar una menor concentración sanguínea debido a una mayor afluencia simultánea hacia el tejido afectado, adonde fueron atraídas por factores quimiotácticos; además, se activaría su reclutamiento en el tejido linfoide junto a los linfocitos.

Las CD precursoras circulan por el torrente sanguíneo identificando sus áreas tisulares de asentamiento, muchas de ellas en la epidermis y en las cavidades, sitios reconocidos, en general, como de mayor exposición a Ag²⁵³.

Las CD toman muestras de cada Ag a través de un contacto directo con las células necróticas, apoptóticas o infectadas por virus, o a través de fagocitosis, micropinocitosis o endocitosis mediada por receptor.

De esta manera, el Ag es internalizado y degradado en pequeños péptidos que finalmente constituirán las moléculas del sistema mayor I, II o CD1 de histocompatibilidad. En esta etapa, la célula es conocida como CD inmadura (*processing* o procesando)^{254,255}, moléculas todavía incapaces de estimular a las células T y que abandonan los tejidos no linfoides para migrar a los linfoides (nódulos linfáticos, bazo) a través de los vasos aferentes linfáticos. En estas localizaciones las CD

inmaduras completan su maduración a partir de la reducción de su actividad de endocitosis y del aumento de la activación de moléculas de adhesión (sean CAM, ICAM, VCAM-1) identificándose en este estadio a expresión de CD11, CD50, CD54 y CD58, y de varias moléculas coestimuladoras (CD40, CD80/B7-1, CD86/B7-1).

De esta manera, las CD maduras se encuentran aptas para contactar y activar a las células T. Al respecto, debe enfatizarse el hecho de que la maduración de las CD puede llevarse a cabo aun en tejidos periféricos no linfoides, **siendo** su tráfico regulado por la acción de quimioquinas.

Finalmente, en una pared arterial sana se acumulan las CD en la forma de redes de protección para identificar Ag proateroescleróticos, estructuras conocidas como VALT.

3.2.1.2.3. Reclutamiento en la aterosclerosis

Las CD han sido identificadas en el área subendotelial de vasos con engrosamiento de la túnica íntima y media, en zonas de la pared expuestas a condiciones de flujo turbulento y en el interior del ateroma²⁵⁶. La mayor parte de las descripciones han coincidido en asociar su presencia con una mayor inestabilidad de la placa, tanto histopatológica como clínica.^{256,257}.

Un gran espectro de factores promueve el reclutamiento de las CD del torrente sanguíneo para su adhesión al endotelio disfuncionante, entre ellos²⁵⁸:

- Selectinas E.
- Selectinas P.
- VCAM-1.
- OxLDL.

- Inhibición de la eNOS.
- TNF- α .
- Plaquetas.
- Factores de adhesión plaquetaria.

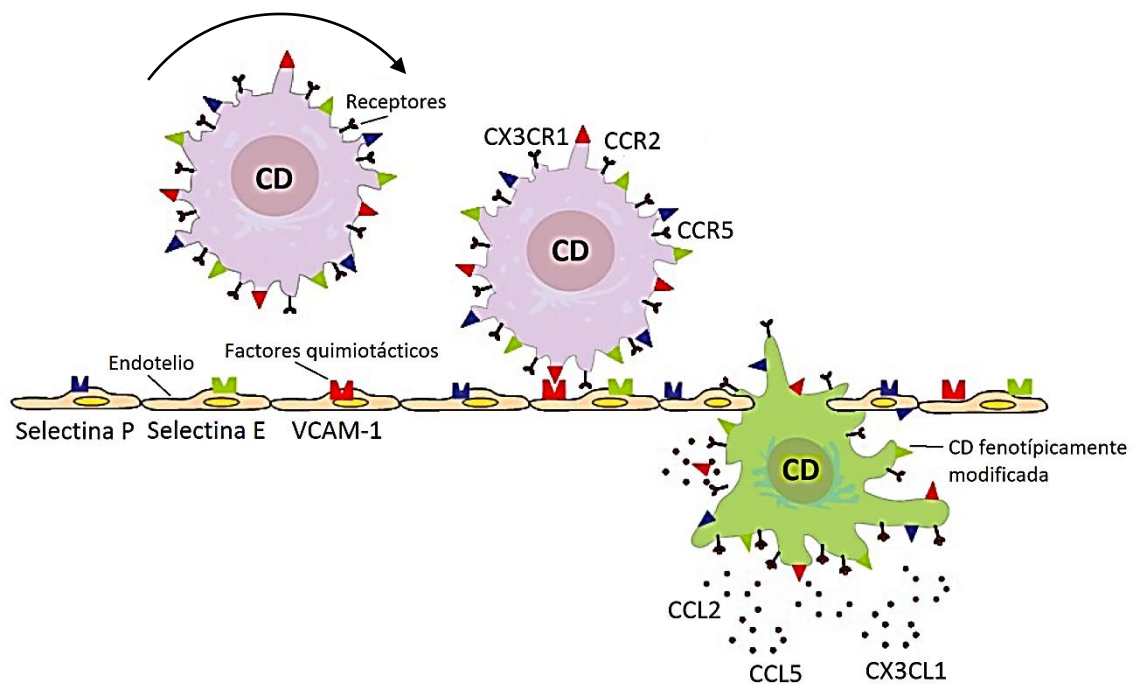
Otros factores quimiotácticos, como los ligandos 2 y 5 de la quimioquina CC (CCL2 y CCL5, respectivamente), y la fractalquina (CX3CL1), son expresados en el ateroma inflamado y se reconocen como responsables de la unión a receptores específicos de las CD acoplados a la proteína G; esta última activándolas y favoreciendo su entrada con gradiente favorable hacia el tejido inflamado²⁵⁹.

Una segunda vía de reclutamiento de las CD consiste en la llegada de monocitos circulantes mediante la acción del factor estimulante de la formación de colonias de granulocitos/macrófagos.

En la **Figura 11** se esquematiza el proceso de reclutamiento de las CD en la placa aterosclerótica, en función a los desarrollos de Niessner y Weyand²⁵¹.

Figura 11. Reclutamiento de las CD en la placa aterosclerótica.

La aparición de un estado activado del endotelio en el contexto de su lesión, tanto denudante como no denudante, desencadenará la activación de mecanismos de atracción de CD que participarán en el proceso de formación de la placa. Se distinguen dos pasos esenciales para la incorporación de las CD en la lesión. En primer lugar, la expresión de factores en la lesión que, por su poder quimiotáctico, determinará qué células entrarán en la placa. Las quimioquinas CCL2, CCL5 y CX3CL1 generan un gradiente al igual que las moléculas de adhesión expresadas en la superficie endotelial, en especial la selectina P, la selectina E y la VCAM-1. En las CD se expresan simultáneamente los correspondientes receptores CX3CR1, CCR2 y 5 de la quimioquina CC (CCR5), siguiendo el gradiente hacia el ateroma. En la figura se muestra que la trans migración a través del endotelio se asocia con cambios fenotípicos de la CD.



Fuente: Modificado de Niessner A, Weyand CM. Dendritic cells in atherosclerotic disease. Clin Immunol. 2010;134(1):25-32.

3.2.1.2.4. Activación

La CD activada podría ser caracterizada como aquella que, ante el reconocimiento de patrones de agresión e inflamación endotelial, produce mediadores del sistema inmune innato, expresando moléculas coestimuladoras como la CD40, la

CD80 y la CD86. Esta reacción inicial será precursora de la inducción de respuestas del sistema inmune adaptativo.

Diferentes receptores de las CD han sido involucrados en el proceso de reconocimiento del Ag durante la lesión vascular. Entre ellos, la familia de los TLR es la más frecuentemente descrita como asociada a la complicación de placas en síndromes coronarios agudos (SCA). Se ha descrito también que la activación de TLR es producida por auto-Ag originados en la placa y su entorno formado por fragmentos de lipopolisacáridos (LPS), HSP y *Chlamydia pneumoniae*. Sin embargo, las descripciones de la expresión de los TLR en las CD activadas mediante estudios del SCA y placas complicadas no son suficientes para aseverar su rol patogénico, dado que existen descripciones de efectos antagónicos^{251,260}. Por ejemplo, ciertos estudios atribuyen a las moléculas de OxLDL un efecto estimulador de la activación del TLR4 mientras que otros aducen un efecto contrario.

Otros agresores del endotelio, como la hipoxia, la nicotina y la hiperglucemia, también han sido vinculados a efectos antagónicos similares. Tal vez existan diferentes patrones de expresión y activación de los receptores, situación determinada por la vulnerabilidad de cada huésped y del entorno en que se manifiesta el factor agresor endotelial.

3.2.1.2.5. Acciones

Las acciones atribuidas a las CD en el contexto del proceso de la aterosclerosis pueden agruparse en dos grandes tipos:

1. La identificación y presentación del o los Ag del ateroma para desencadenar la respuesta inmune/autoinmune a través de la activación de linfocitos T citotóxicos.
2. La secreción de mediadores de debilitamiento y destrucción de la cubierta protectora del ateroma e inestabilización de la placa.

Ambas actividades se hallan interrelacionadas en una intrincada red de procesos biomoleculares y regulatorios.

La CD produce mediadores que actuarán activando la célula T inmadura o *naive*, siendo los más relevantes en el proceso aterosclerótico las citoquinas IFN- γ y la interleucina-12 (IL-12). El primero, además de participar en la maduración de los linfocitos T, estaría implicado en la estimulación directa de las MMP que digieren la matriz extracelular, favoreciendo así la ruptura de la cápsula del ateroma.

Además de este tipo de intervenciones directas que llevan a la desestabilización del ateroma, es de gran impacto en el mismo proceso la acción citotóxica de las células T CD4 y CD8, las que intentarán eliminar los componentes de la placa así como su cubierta protectora.

La producción del ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL) se halla estimulada por las células dendríticas plasmacitoides (CDpl). La expresión de este ligando identifica linfocitos con marcada efectividad para eliminar los componentes celulares de la placa. Su síntesis se favorece por la liberación del factor de iniciación tipo 1 (IF-1).

Aproximadamente 1/3 de las CD circulantes son del tipo plasmocitoide, que pueden ser evidenciadas por su unión a los AcM identificados a su vez con los grupos

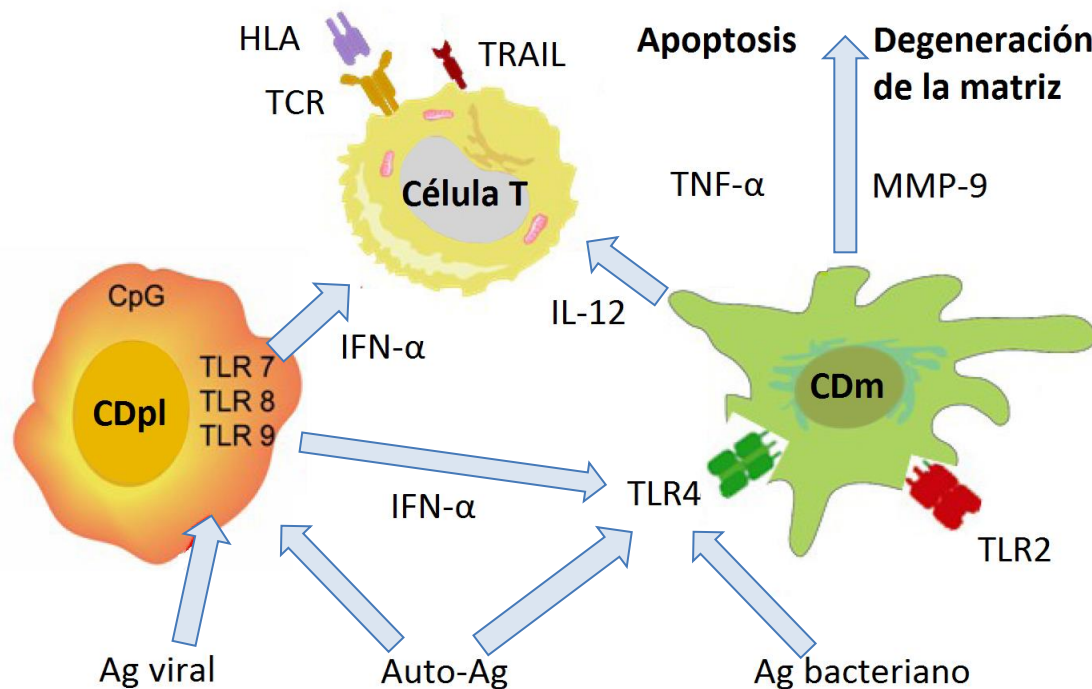
de diferenciación 123, el receptor para la interleuquina-3 (IL-3) y el antígeno 2 de célula dendrítica de la sangre (BDCA-2), con una reducida expresión de CD11^{261,262}. Estas células expresan abundantemente los receptores tipo Toll 7, 8 y 9 (TLR7, TLR8 y TLR9, respectivamente), confiriéndoles la propiedad de identificar ácido ribonucleico (ARN) y ácido desoxirribonucleico (ADN) de virus y de células apoptóticas. En cambio, las células dendríticas mieloides (CDm) reconocen más sensiblemente partículas de origen bacteriano.

La producción de IF-1 actúa también como señal de amplificación de la respuesta inmune dado que estimula la expresión de receptores de la familia TLR en las CDm, en especial el TLR4.

En la **Figura 12** se representa esquemáticamente las funciones de las CDm y CDpl, de acuerdo a los desarrollos de Niessner y Weyand²⁵¹.

Figura 12. Esquematación del rol de las CDm y las CDpl.

Clásica y simplificada las CDm son activadas por señales de daño percibidas por sus receptores, en especial aquellos tipo Toll 2 (TLR2) y TLR4. Al activarse estas células se producen moléculas efectoras como las MMP, las que participarán del proceso degradando la matriz extracelular. Los pasos siguientes se concentrarán en el reclutamiento de células T citotóxicas a través de la producción de la IL-12. De manera diferente, las CDpl son activadas principalmente por Ag unidos a receptores intracelulares, como los TLR9. Estas células producen importantes grandes cantidades de interferón-alfa (IFN- α), que incrementa la sensibilidad de otras APC a través de la regulación del TLR4, así como de la molécula proapoptótica TRAIL en las células T, multiplicando así su potencial citotóxico. Las células T que expresan el TRAIL adquieren la habilidad de eliminar células residentes de la placa, como las células del músculo liso vascular y las células endoteliales que expresan el receptor de muerte (celular) 5 (DR5).



Fuente: Modificado de Niessner A, Weyand CM. Dendritic cells in atherosclerotic disease. Clin Immunol. 2010;134(1):25-32.

Nota: MMP-9, Metaloproteinasas de la matriz extracelular 9 o gelatinasa B; TCR, Receptor de célula T
 *(me pregunto si las siglas en la figura deben ir en la leyenda de la figura o repetir siempre en ir a la PP de Abreviaturas?) de la placa de la placa de la placa

Las acciones de las CD son complejas y también contradictorias, al menos desde la perspectiva del conocimiento actual, ya que, como se mencionara, en algunas

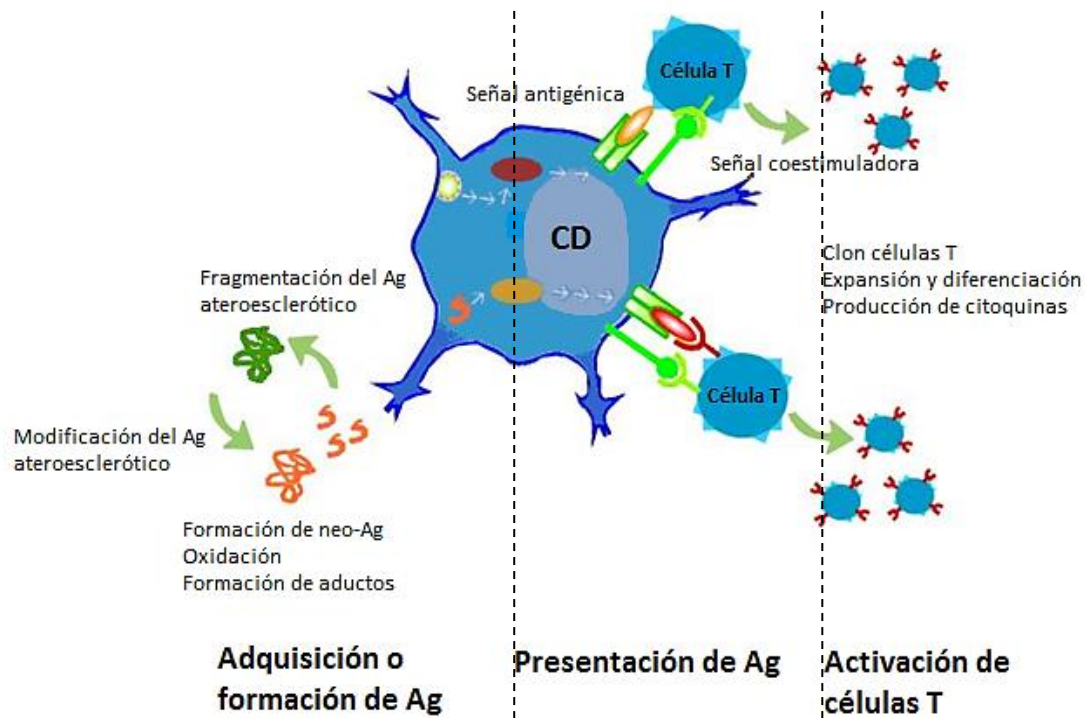
situaciones participan en la tolerancia inmunológica ante los Ag del huésped, mientras que en otras favorecen la respuesta eliminadora de los mismos.

Particularmente, las CD favorecen la activación de los LTr que suprimen o reducen la respuesta inmune de otras células del sistema con el probable objetivo de prevenir excesivas reacciones o autoinmunidad. El fenotipo más reconocido de los LTr se identifica por la expresión de CD4, CD25 y la proteína 3 de la “caja de la cabeza del tenedor” (FoxP3), cuya acción es mediada por la secreción del TGF- β y de la IL-10²⁶³.

En la **Figura 13** se esquematiza la interacción entre los Ag, las CD y las células T, considerando los aportes de Harrison *et al*²⁶⁴.

Figura 13. Interacción Ag-CD-célula T.

La CD identifica Ag durante el proceso de aterogénesis desde sus fases tempranas y los prepara para ser presentados. La activación de las células T implica la expansión de su número (a manera de clon), su diferenciación y la producción de factores que median la reacción inflamatoria y potencian la respuesta inmune.



Fuente: Modificado de Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, *et al.* Inflammation, immunity, and hypertension. *Hypertension*. 2011;57(2):132-40.

3.2.1.3. Monocitos y macrófagos

Los monocitos son elementos cruciales en el desarrollo de la placa. Se adhieren al endotelio denudado con lipoproteínas oxidadas cuando son atraídos por factores quimiotácticos como la MCP-1, la molécula de adhesión leucocitaria endotelial-1 (ELAM-1), la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y la VCAM-1, que son secretadas por citoquinas, sobre todo la IL-6, el TNF- α y anafilotoxinas^{265,266}.

Por su parte, los receptores de diferenciación de la membrana del monocito atraído son activados uniéndose a estos mediadores e identificándose

predominantemente con CD11, CD18 y las integrinas $\beta 2$ y $\alpha 4$ - $\beta 1$, esta última también conocida como el antígeno muy tardío 4 (VLA4). Luego de la adherencia del monocito a la pared vascular, el mismo libera y expresa sustancias que potencian la acción inmunoinflamatoria, expandiéndola a otras células del endotelio y de la túnica media no lesionadas. Los principales mediadores secretados por esta célula son la interleuquina-1 beta (IL-1 β), el TNF- α , el PDGF, la MCP-1, la PGE₂ y enzimas de la familia de proteasas y colagenasas.

3.2.1.4. Linfocitos T

Las células T CD4 se hallan presentes en la lesión aterosclerótica, principalmente expresando marcadores de activación como las CD25. En estudios en ratones, la depleción de estas células con Ac específicos resultó en un menor desarrollo de las lesiones²⁶⁷.

Las mismas (cuáles células?) son activadas y reguladas por las CD, que estimulan mecanismos dirigidos a eliminar las células residentes de la placa, como a aquellas endoteliales y musculares lisas que forman la cubierta interna protectora. Este objetivo es llevado a cabo, predominantemente, a través de la secreción de los gránulos citoplasmáticos del linfocito citotóxico que contienen perforina y granzima B. La primera genera poros por los cuales pasará la granzima hacia la célula, activando enzimas proteolíticas (especialmente la caspasa) en células dentro del ateroma o de una región inflamada. Por su parte, las caspasas son potentes inductores de la apoptosis. La digestión de la cubierta protectora se completa a partir de la acción de

las MMP secretadas por los macrófagos tras la inducción de citoquinas (como ser el IFN- γ) producidas por los mismos linfocitos.

Descripciones recientes han señalado que el fenotipo de los linfocitos que migran y residen en la placa de ateroma es diferente al de las células que se localizan en el torrente circulatorio²⁶⁸. En placas de lesiones coronarias avanzadas se identificaron células CD4 y CD8+ que co-expresan CD25 y el antígeno leucocitario humano DR (HLA-DR), cuya concentración fue al menos 10 veces mayor que en la sangre. Estos datos sugieren la existencia de un compartimiento inmunológico separado del torrente sanguíneo que se caracterizaría por la presencia de células T altamente activadas. La identificación de dichas células inmersas en el microambiente de la placa permitiría expandir el conocimiento acerca de los Ag más específicos en el proceso aterogénico.

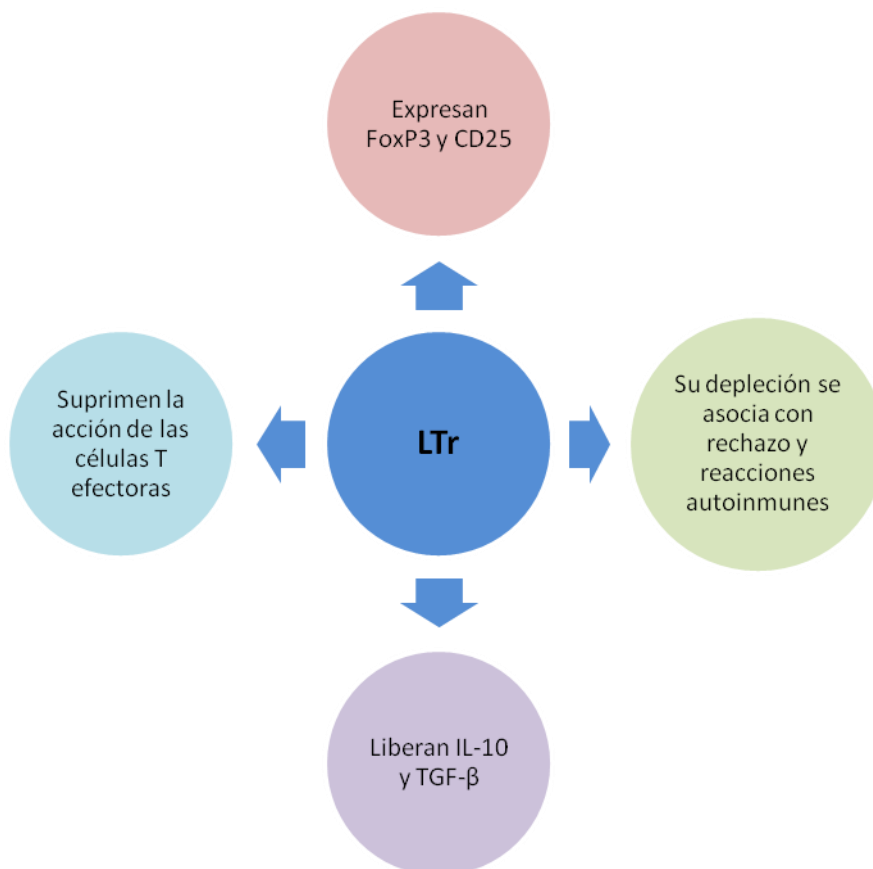
Los LTh1 y los LTh2 tienen funciones específicas en el proceso aterosclerótico. **Los primeros** son más prevalentes y poseen características altamente proinflamatorias, induciendo la activación macrofágica a través de la secreción del IFN- γ . Por el contrario, los LTh2 reducen la activación macrofágica y suprimen la inflamación a través de la secreción de citoquinas antiinflamatorias, como la IL-4, la IL-10 y el TGF- β ^{29,234,237}.

Otra subpoblación linfocitaria involucrada en la regulación de la respuesta inmune es la representada por los LTr, cuyo subtipo de linfocito T regulador 1 (LTr1) inhibe la respuesta inflamatoria a través de la secreción de la IL-10 y el TGF- β .

En la **Figura 14** se esquematizan las funciones de los LTr en el proceso de la aterosclerosis.

Figura 14. Esquema del rol de los LTr en el proceso aterosclerótico.

La regulación de la respuesta inmune del proceso aterosclerótico parecía estar limitada, hasta hace unos años, al balance entre los LTh1 (proaterogénicos) y los LTh2 (antiaterogénicos) a través de la producción del IFN- γ y la IL-10, respectivamente. Esta simplificación del conocimiento no fue suficiente para explicar la producción de factores proaterogénicos atribuida a los LTh2 y viceversa. La identificación de los LTr producidos predominantemente en el timo se asoció con el control de las funciones previas, en especial a través de la producción de mediadores antiinflamatorios, tales como la IL-10 y el TGF- β . Estas células expresan CD25 y altos niveles de FoxP3 (un factor de transcripción específico), suprimiendo la proliferación de las células T efectoras principalmente a través del contacto intercelular, de la IL-10 y del TGF- β . El mecanismo de acción del LTr no estaría totalmente dilucidado, pero se acepta que ejercen una acción reguladora de la respuesta inmune en balance con otros moduladores, como el LTh1. Su efecto de modulación equilibraría la respuesta inmunológica ante los posibles Ag de la aterosclerosis, moderando la intensidad de la reacción.



Fuente: Elaboración propia.

Las células T CD4+ y CD25+ han sido ampliamente estudiadas en el campo de la biología vascular. Cuando la célula T CD4+ expresa CD25 produce la IL-10 o el TGF- β para inhibir la activación de otras células y así modular el proceso de la aterosclerosis²⁶⁹. Es decir, que esta subpoblación, junto con los LTr, sería la responsable de moderar la respuesta inmune, siendo objeto de estudio de intervenciones **potenciales** para estimular su actividad y reducir la aterosclerosis.

Las células T CD8+ también han sido descritas en las **placas**, aunque su rol todavía no es claro. Los ratones inmunodeficientes (MHC-1) para CD8, alimentados con una dieta rica en grasa aterogénica, desarrollan mayores lesiones que el tipo salvaje de la misma cepa animal, sugiriendo un rol protector de la inmunosupresión y de las células T CD8+. Recientemente se **halló** en animales que la activación de estas últimas ocurre de forma temprana en el proceso de la aterosclerosis inducida por hipercolesterolemia.

Otra línea de células linfáticas de relevancia en el proceso aterosclerótico es la correspondiente a las células asesinas naturales (NK) que, identificadas por su expresión de CD161, CD122 o subunidad beta del receptor de la interleuquina-2 (IL-2R β) y CD56 y células T asesinas naturales alfa/beta (NKT α/β), representan un producto de la maduración del linfocito T, cuya acción específica se relaciona con la inmunosupresión e inmunoagresión²⁷⁰⁻²⁷². La coexistencia de concentraciones **elevadas** de las NKT y las células T activadas se ha descrito en las paredes de aneurismas complicados de la aorta abdominal.

El hecho de haberse comprobado que los macrófagos y las células T son los componentes más frecuentes y abundantes de los infiltrados ateroscleróticos ha

estimulado el desarrollo de modelos animales con compromiso inmune para su estudio. En esos modelos, la depleción de las células CD4+ y CD8+ se ha asociado con una reducción de la placa lipídica grasa, infiriéndose que la activación de estos tipos celulares favorece su formación.

3.2.1.4.1. Linfocitos T y SRAA

Ciertos estudios recientes han mostrado la presencia de linfocitos T en el microambiente de la lesión aterosclerótica en etapas subclínicas de la enfermedad, células asociadas a la activación inflamatoria mediada por el SRAA. El aumento de la PA u otros factores, como el estiramiento mecánico de la pared vascular, activan al AT1R, el cual también **está** normalmente expresado en la superficie de las células T. A su vez, la activación linfocitaria del AT1R estimularía la liberación de quimioquinas vía SNS, reclutándose linfocitos T activados por ellas en la periferia del tejido endotelial.

Por su parte, la HTA se halla íntimamente asociada con la lesión denudante y no denudante endotelial, por lo que la afluencia de linfocitos T activados también gatillarían el desarrollo de las fases inmunológicas del proceso de la aterosclerosis²⁷³.

Los mediadores proinflamatorios de varios estresores plasmáticos (como la HTA, la hiperglucemia y la dislipidemia) se asocian con el estrés oxidativo.

3.3. Proyecto III. Mecanismo estructural

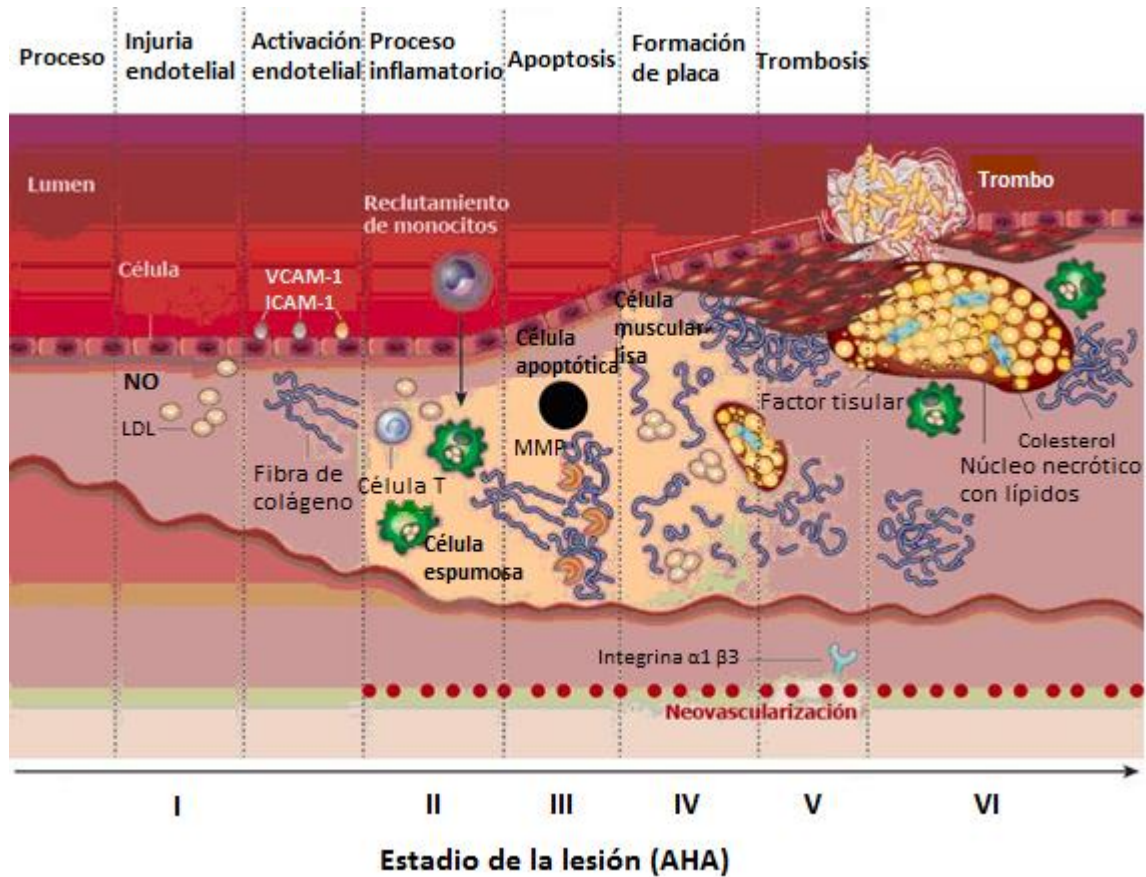
En la **Introducción general** se han descrito los principales aspectos anatómo-histológicos de la aterosclerosis. Las placas resultantes de este proceso suelen manifestarse clínicamente cuando acontecen complicaciones en su evolución o cuando su desarrollo ocluye de manera significativa la luz del vaso, generando así caída del flujo sanguíneo, isquemia y manifestaciones asociadas a fenómenos tromboembólicos.

Existen descripciones *in vivo* y *post-mortem* de las características anatómo-histológicas de los ateromas provenientes del estudio de modelos experimentales de aterosclerosis, así como de muestras **humanas** resultantes de exéresis quirúrgicas. En general, las fuentes clínicas *in vivo* proceden de endarterectomías carotídeas y cirugías de revascularización miocárdica o periférica. En estos casos, el criterio de intervención se corresponde con **la indicación terapéutica** de eventos isquémicos o **su** prevención en individuos de alto riesgo. **, los ateromas en etapas avanzadas de evolución o complicados siendo el objeto de estudio.** No entiendo lo que he tachado en amarillo, ¿quieres decir que el objeto de este estudio son los ateromas en etapas avanzadas o que uno está forzado a estudiar solamente material de etapas avanzadas en humanos porque la indicación clínica se origina en un momento “tardío”? Respecto de las fuentes *post-mortem*, **ellas** han aportado datos que permiten conocer la anatomohistología de las placas y de la enfermedad arterial en sus diferentes momentos evolutivos, en ocasiones como consecuencia de hallazgos concomitantes a causas de deceso **no asociadas a la severidad o a las complicaciones del ateroma**. En la **Figura 15** se correlacionan conceptualmente los procesos

inmunoinflamatorios y los estadios de la enfermedad aterosclerótica, según indicaciones de la AHA, en base a los aportes de Sanz y Fayad²⁷⁴.

Figura 15. Correlación entre los procesos inmunoinflamatorios y los estadios de la aterosclerosis definidos por la AHA.

Carol, me parece que la leyenda –que como en toda la Tesis tiene que ir debajo de la figura–, no acompaña al lector en lo que él “tiene que ver” en la figura.



Fuente: Modificado de Sanz J, Fayad ZA. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. Nature. 2008;451(7181):953-7.

3.3.1. Clasificación según su histopatología

3.3.1.1. Estría grasa

Es una lesión poco elevada, producida por la acumulación de lípidos intracelulares y extracelulares en la capa íntima, con la presencia de células espumosas. En sus fases tempranas comienzan como minúsculos puntos amarillos (puntos grasos) < 1 mm de diámetro que, al confluir, forman estrías alargadas ≥ 1 cm. Las estrías avanzadas contienen células espumosas llenas de lípidos, linfocitos T y lípidos extracelulares, pero en menor cantidad que las placas.

La relación de estas lesiones con el desarrollo de placas ateromatosas no es clara; algunos autores describen a las estrías como precursoras, aunque otros señalan que pueden desaparecer independientemente de la carga aterosclerótica del individuo. Por su parte, también se ha señalado la identificación frecuente de estas lesiones en el extremo opuesto de la placa^{275,276}. **Cuál es el extremo opuesto de la placa, cuando hay trombos, por ejemplo?**

Las estrías grasas pueden detectarse en los primeros años de vida en infantes de 1-2 años, aceptándose que están presentes en la mayoría o en la totalidad de los niños > 10 años. Por su parte, las estrías grasas son menos frecuentes en arterias coronarias que en la aorta y pueden señalar los sitios con predisposición a desarrollar placas. Su número disminuye en relación inversa al número de placas. La asociación entre estrías y placas es compleja, ya que si bien se asocian a factores de riesgo comunes, se postula que las estrías evolucionan a placas. Sin embargo, algunos estudios señalan que es frecuente que las estrías grasas aparezcan en zonas de los vasos que no son proclives a desarrollar placas y en lugares geográficos donde es poco

frecuente la aterosclerosis. Por lo tanto, podría concluirse que, aunque las estrías grasas pueden transformarse en placas, no todas ellas lo harán^{275,276}.

3.3.1.2. Hiperplasia de la íntima

La hiperplasia de la íntima es un engrosamiento difuso, sin lípidos, de la capa íntima, con un espesor aproximadamente igual al de la capa media. Es una respuesta normal de la pared vascular a los estímulos hemodinámicos, no considerándose una lesión aterosclerótica.

3.3.1.3. Hipertrofia de la capa muscular

La hipertrofia de la capa muscular es un aumento del tamaño en altura de la capa muscular, a partir del predominio de células musculares lisas, macrófagos y fibras de colágeno.

3.3.1.4. Alteraciones en la túnica media y adventicia

A medida que avanza y crece la placa aterosclerótica la túnica elástica sufre fragmentación, atrofia con adelgazamiento y disminución de la resistencia, pudiendo – eventualmente- provocar la dilatación del lumen vascular, causando un aneurisma. La fibrosis de la adventicia con infiltrado linfocitario se presenta frecuentemente en las áreas adyacentes a la placa.

3.3.1.5. Placa lipídica, placa fibrosa y placa fibrolipídica

La designación de un ateroma con estas denominaciones describe los elementos que predominan en su composición. Las placas fibrosas son muy frecuentes y, durante un tiempo, fueron consideradas como características de la aterosclerosis; macroscópicamente son lesiones levantadas (o elevadas?) amarillentas o grisáceas, de superficie lisa, de algunos a varios cm (son centímetro o milímetros?, en cualquier caso, escribir la palabra entera, es decir, centímetros). Generalmente, son elongadas, con un eje paralelo al lumen aórtico, y se ubican con predominio en la íntima, aunque pueden comprometer la túnica media o crecer hacia el lumen, obstruyéndolo. Al corte, esta placa es blanda, con una zona de reblandecimiento central amarillenta y material grumoso, rodeado de tejido fibromuscular y conjuntivo denso.

No todas las placas poseen un centro lipídico, sino que pueden ser exclusivamente fibrosas. Estas placas se ubican con frecuencia en la aorta abdominal, en las arterias de las extremidades, en las carótidas y en los segmentos proximales de las arterias coronarias y del polígono de Willis. Querés indicar aquí que las placas se asientan también en los segmento proximales del polígono de Willis o que lo que se refiere como segmento proximal se aplica sólo a las arterias coronarias. En este último caso, yo pondría ...en los segmentos proximales de las arterias coronarias y en el polígono de Willis.

Desde lo microscópico, se observa un centro acelular o granular de material electrónicamente denso, que contiene lípidos -sobre todo cristales de colesterol-, restos celulares, proteoglicanos, fibrina y proteínas plasmáticas. La placa fibrosa presenta tejido conjuntivo avascular, con células musculares lisas y elongadas. Este

tejido contiene glicosaminoglicanos (GAG; mucopolisacáridos ácidos), FE y fibras colágenas sintetizadas por las células musculares lisas. En ellas se describe un menor contenido de células inflamatorias que en las placas lipídicas, cuya principal característica es el alto contenido de células grasas y de lipoproteínas.

3.3.2. Clasificación de las placas de ateroma según su vulnerabilidad a las complicaciones

En la clasificación de las placas según su comportamiento clínico se ha distinguido entre las lesiones de tipo estable y aquellas de tipo inestable. Su caracterización histopatológica también difiere, así como los determinantes individuales genómicos y proteómicos que pueden favorecer su vulnerabilidad ante el medio ambiente y sus factores agresores²⁷⁷.

La cápsula fibrosa que recubre al núcleo lipídico determina la vulnerabilidad, dado que en el mismo existe un gran número de factores trombogénicos que no deben ser expuestos a la circulación. Por esto, a mayor grosor de la cápsula, mayor es la protección conferida **y mayor es** la estabilidad. Según se mencionara, la cápsula es generada por las células del músculo liso vascular, **y su** presencia **se relaciona** inversamente con la vulnerabilidad o el riesgo de un evento trombótico. La presencia de un mayor número de macrófagos se asocia de igual modo con una mayor vulnerabilidad, **debido** a que sintetizan metaloproteasas que digieren la matriz extracelular de la cápsula. **No sé por qué decís inversamente, porque entiendo que a**

más macrófagos, mayor síntesis de metaloproteasas, mayor digestión de la matriz extracelular y mayor vulnerabilidad. Es así?

3.3.2.1. Placa vulnerable, inestable o de alto riesgo

El grosor de la cápsula de la placa vulnerable es $< 65 \mu\text{m}$, presentándose **usualmente** un amplio núcleo lipídico excéntrico, con elevada densidad de células T y de macrófagos y abundantes restos apoptóticos ricos en factor tisular proaterotrombótico. Estas placas son blandas en su macroconsistencia, fáciles de romper y poco estables³¹. El núcleo **descrito** suele estar rodeado de una fina capa de células de músculo liso vascular, de colágeno y de fibras, constituyendo una delicada cubierta fibrosa que en los hombros (**esto de los hombros no lo entiendo**) de la placa se continúa con el endotelio sano. Este lugar de discontinuidad, donde la cubierta de la placa es más delgada y desprotegida, es el sitio donde con mayor frecuencia se produce la ruptura de la cubierta.

Este tipo de lesión suele engrosar la pared del vaso y crecer excéntricamente, causando remodelación positiva y presentándose con frecuencia una estenosis significativa. Las placas vulnerables son prevalentes en las arterias coronarias, en comparación con las **placas** carotídeas, en las que suelen ser de tipo más fibroso y de mayor tamaño, con las complicaciones del crecimiento heterogéneo, el hematoma intramural y/o la disección por elevaciones de la PP. No obstante, debe **enfatizarse** que estas complicaciones tienden a **no ser causadas por la evolución de la lesión**. **Carol, no entiendo esta frase última...**

3.3.2.2. Placa estable

Son placas **caracterizadas** por presentar cubiertas **protectoras** muy gruesas y fibróticas, que dificultan su ruptura. En su interior **presentan** núcleos lipídicos pequeños, concéntricos, compuestos de pocas células inflamatorias y abundantes cristales de colesterol, enraizados en una red de matriz intercelular.

3.3.2.3. Placas con complicaciones

En general, se acepta que el riesgo de ruptura o complicación de un ateroma **es estimado** en función de su constitución, de su vulnerabilidad intrínseca y del estrés mecánico al que es sometido. Las placas o ateromas inestables se asocian con un mayor riesgo de eventos clínicos desfavorables, situaciones en las que la presencia de hemorragia, ruptura o tromboembolismos se corresponden, por ejemplo, con IAM, angina inestable y ACV.

Anatómicamente, estas placas se hallan cubiertas por una fina capa fibrosa, **que predispone** a la ruptura. Por su parte, están compuestas por un gran núcleo lipídico avascular, que contrasta con una cantidad **numerosa** de células dispuestas en sus márgenes, **que** se halla **desprovisto** (estás haciendo referencia al núcleo lipídico avascular, no?) de soporte de colágeno y **es** rico en ésteres de colesterol, con alta densidad de células espumosas y **un número reducido** de células musculares lisas^{31,276}.

Los accidentes de placa (hemorragia, ruptura y tromboembolismo) son las complicaciones que se suceden con mayor frecuencia en este tipo de ateromas, en la mayoría de las situaciones acompañadas de eventos clínicos desfavorables.

La ruptura suele producirse en el área más fina de la cubierta fibrosa y, a su vez, en aquella más infiltrada por células espumosas. Luego de la ruptura aumenta la trombogenicidad, debida a la exposición del factor tisular contenido en el núcleo lipídico que, en contacto con la sangre intravascular, puede favorecer la activación neurohumoral local y sistémica, con el potencial desarrollo acelerado de un trombo obstructivo.

La evolución de estas lesiones no es lineal ni predecible, ya que existen estudios que han demostrado que en el 70% de las muertes por EAC se encontraron lesiones leves, con una reducción de la luz del vaso < 50%.

Los factores extrínsecos que influyen la inestabilidad del ateroma se hallan principalmente en conexión con su localización: estrés de tensión-flexión circunferencial, estrés de flexión longitudinal y estrés hemodinámico laminar vs oscilante. Por su parte, los factores anatómicos intrínsecos más importantes en la estabilidad de la placa son los siguientes:

- Tamaño y consistencia del núcleo ateromatoso, reconociéndose que a mayor tamaño, mayor será el riesgo de ruptura y de complicaciones.
- Estructura y firmeza de la capa fibrosa, siendo sus variaciones en grosor, contenido celular, firmeza y rigidez; todas características determinantes de su vulnerabilidad.

La zona más sensible es conocida como los “hombros” de la lesión, que suele estar extensamente infiltrada por células espumosas y en contacto con el endotelio periférico sano. En esta área, cuando la placa inicia su desarrollo, es frecuente el

hallazgo de una mayor estabilidad, debido a la presencia de células musculares lisas, que mueren por apoptosis a medida que progresa el proceso.

Finalmente, la placa más vulnerable se caracteriza por una mayor densidad de lípidos extracelulares y de macrófagos, y menores concentraciones de GAG, colágeno y células musculares lisas^{278,279}.

3.3.2.4. Rotura focal

La rotura (*ruptura?*) focal refiere a una ulceración macroscópica de las áreas de la placa que, al exponerla a la superficie luminal, pueden dejar al descubierto sustancias trombogénicas favorecedoras de la formación de coágulos y de émbolos de colesterol.

3.3.2.5. Trombosis

Las trombosis se relacionan con la alteración del endotelio, que provoca agregación plaquetaria y el inicio de la coagulación. Generalmente, estas trombosis son parte del lumen arterial y solo ocasionalmente lo ocluyen.

3.3.2.6. Ulceración

El reblandecimiento excesivo de la placa, junto a las lesiones del endotelio, puede provocar la ulceración con expulsión del material lipídico y los cristales, **con la potencialidad de** embolización a territorios distales.

3.3.2.7. Hemorragia

Las hemorragias se caracterizan por la presencia de células hematopoyéticas en diferentes estadios y estados de integridad. En caso de que **se presente** hemólisis en el interior de la placa, se hace referencia a la hemorragia intraplaca (HIP); en caso que suceda externamente, extravasación.

Habitualmente, la hemorragia es causada por la rotura (**ojo, colocar siempre ruptura o rotura en todo el texto, para que la terminología sea homogénea**) de la envoltura fibrosa o de los capilares de las **delgadas** paredes que irrigan la placa. La sangre retenida en el hematoma puede provocar la rotura de la placa. Los *vasa vasorum* contribuyen a la progresión de la HIP con aporte de trombina, **que** activa las células endoteliales, los monocitos/macrófagos, las células musculares lisas y las plaquetas; este hecho es frecuente en las placas viejas, con especificidad en las arterias coronarias³⁸.

La sangre puede provenir del lumen vascular por o a través de **una** solución de continuidad, o bien de los vasos que rodean la placa. La presencia de hemosiderina en las placas ateromatosas **es** un indicio de microfocos hemorrágicos antiguos.

3.3.2.8. Calcificación

La calcificación refiere a la detección de cristales o de elementos cálcicos focales o masivos, en general en ateromas avanzados. En consecuencia, las paredes se vuelven más rígidas y frágiles. Habitualmente, el estudio anatómico de un ateroma muestra la presencia de áreas de calcificación, cuyo mecanismo fisiopatogénico es complejo: el depósito de Ca^{++} en el ateroma es un proceso metabólico activo que

recuerda **al** de la formación del hueso. Se requiere la participación de células musculares lisas y de pericitos que, al estar en contacto con una noxa como el c-LDL oxidado, pierden su fenotipo natural y se transforman en células tipo osteoclastos activados.

Así, el depósito de Ca^{++} se conceptualiza como resultado de la síntesis y remoción, funciones atribuidas a los osteoclastos normales, en este punto del proceso, células vasculares transformadas. El Ca^{++} vascular es un excelente marcador de aterosclerosis y se correlaciona muy bien con la carga total de la enfermedad.

3.3.2.9. Dilatación aneurismática

Si bien la aterosclerosis es una enfermedad propia de la íntima, **en ocasiones** la capa media sufre una atrofia **considerable**, acompañada de pérdida de tejido elástico, provocando así una debilidad suficiente para que se forme una dilatación aneurismática.

3.3.3. Resumen de los sistemas taxonómicos de la placa aterosclerótica

En correspondencia con los desarrollos **presentados** en relación al Proyecto III, en la **Tabla 7** se resumen comparativamente las taxonomías contemporáneas de la placa aterosclerótica, haciendo mención de los enfoques tradicional, de la AHA y de Virmani *et al*⁴⁷. Este resumen se fundamentó en los aportes de Burke *et al*²⁸⁰.

Tabla 7. Clasificaciones vigentes de placa aterosclerótica.

Tipo de placa	Clasificaciones			
	Tradicional	AHA	Virmani <i>et al</i> ⁴⁷	
			Inicial	Progresión
Placa temprana	Estría grasa	Tipo I: vesículas lipídicas microscópicas en la íntima y pequeños grupos de células espumosas	Engrosamiento intimal	Ninguna
		Tipo II: estrías grasas macroscópicas, células espumosas en capas con linfocitos y mastocitos	Xantoma intimal	Ninguna
		Tipo III (intermedia): depósitos extracelulares de lípidos entre capas del músculo liso	Engrosamiento intimal patológico	Trombos (erosión)
Placa intermedia (lesión tardía)	Ateroma	Tipo IV: núcleo lipídico definido, asociado con probabilidad de disrupción superficial	Ateroma con capa fibrosa	Trombos (erosión)
	Placa fibrosa	Tipo Va: tejido fibroso que recubre al núcleo lipídico	Ateroma con capa fibrosa delgada	Trombos (ruptura), hemorragia/fibrina
		Tipo Vb:	Placa rota	Nueva erosión o

Tipo de placa	Clasificaciones					
	Tradicional	AHA	Virmani <i>et al</i> ⁴⁷			
			Inicial	Progresión		
		calcificación		cicatrizada, erosión	ruptura con o sin oclusión total	
		Tipo Vc: lesión fibrótica con escasos lípidos, aunque pudiendo resultar de un trombo generalizado		Placa fibrocálcica con o sin núcleo necrótico		
Complicaciones	Placa complicada	Tipo disrupción superficial	Vla:	Nódulo calcificado	Trombos oclusivos	no
		Tipo VIb: HIP				
		Tipo trombosis	Vlc:			

Fuente: Burke AP, Virmani R, Galis Z, *et al*. 34th Bethesda Conference: Task force #2-- What is the pathologic basis for new atherosclerosis imaging techniques? J Am Coll Cardiol. 2003;41(11):1874-86.

3.3.4. Anatomohistología renal en la aterosclerosis

La insuficiencia renal terminal es considerada una complicación de la ERVA, aunque el mecanismo fisiopatológico involucrado en su desarrollo no se encuentra claramente descrito, pese a lo cual se lo reconoce, muy posiblemente, de origen multifactorial. Se ha descrito que los requerimientos metabólicos del riñón pueden ser satisfechos en situaciones de reducción del 90% de la luz vascular o del 10% del flujo sanguíneo preservado. El aumento del estrés oxidativo a grados severos, los

mediadores de inflamación (en especial el TGF- β) y la apoptosis parecen ser responsables de la nefrotoxicidad más que de la hipoperfusión en sí.

Una descripción reciente de los hallazgos histopatológicos renales asociados a la ERVA mostró la presencia de atrofia túbulointersticial en el 93,6% de los casos, enfermedad medular moderada a severa (túbulos atróficos con cristales proteiformes) en el 85,5%, glomeruloesclerosis en el 23,0% y lesión ateroembólica en el 40,0%; es decir, el patrón más frecuente es el de atrofia túbulointersticial con glomeruloesclerosis. Por su parte, el tamaño del riñón afectado se asoció inversamente con la severidad de la glomeruloesclerosis y con la atrofia túbulointersticial.

Algunos estudios previos en animales señalaron que la mayor vulnerabilidad renal a la hipoperfusión se hallaba en la médula. La alteración de la estructura normal tubular e intersticial ha sido el hallazgo histopatológico más relevante, desplazando el conocimiento tradicional que atribuía a la glomeruloesclerosis el rol principal en la isquemia renal secundaria a estenosis arterial. En relación a esto, estudios en humanos han sugerido, a diferencia de los modelos animales, que la ERV evoluciona durante largos períodos de tiempo dando lugar a afectaciones glomerulares y del flujo sanguíneo renal. Los cambios proliferativos y el estímulo del TGF- β podrían, de esta manera, ser atribuidos al aumento de la activación del SRAA, como componentes secundarios a la estenosis²⁸¹.

Por otra parte, la hipoperfusión podría activar mecanismos de incremento de radicales libres del oxígeno, de activación de la ET y de reducción del NO, resultando

en vasoconstricción y fibrosis intersticial secundarias a los mediadores inflamatorios y a las citoquinas liberadas.

Una forma menos frecuente de lesión isquémica renal se origina **en** la embolia por cristales de colesterol (ECC), **que** se produce por la exposición del núcleo lipídico de una placa de ateroma a la circulación sistémica. Esto puede generarse, a su vez, por rotura de la lesión arterioesclerótica, con el consecuente vaciamiento del contenido lipídico. Por su parte, también puede ser secundaria a su calcificación o consecutiva a una hemorragia repentina en su parte central.

Las placas ateromatosas > 4 mm de espesor, ulceradas o con proyecciones móviles hacia la luz vascular, presentan mayor riesgo de complicaciones embólicas sistémicas. La ECC puede ocurrir tras una cirugía vascular, cateterismo cardíaco, aortografía y/o angioplastia coronaria. Algunos autores han **comunicado** una asociación significativa entre estos fenómenos y el uso de drogas trombolíticas, dicumarínicos y heparina.

4. HIPÓTESIS DE TRABAJO

4.1. Hipótesis general

La identificación de mecanismos específicos endocrinos, inmunoinflamatorios y anatomohistológicos involucrados en la ERVA puede facilitar las bases para propuestas de su diagnóstico y tratamiento. Asimismo, los resultados del estudio de un modelo de ERVA en etapas tempranas, sin manifestaciones clínicas ni complicaciones, pueden contribuir al desarrollo de estrategias de diagnóstico y tratamiento de la aterosclerosis.

En este sentido, se postula la siguiente hipótesis de trabajo general.

H1. *“El estudio de los mecanismos endocrinos, inmunoinflamatorios y anatomohistológicos de la ERVA de etapas tempranas puede derivar en estrategias diagnósticas y terapéuticas de la patología”.*

4.2. Hipótesis específicas

4.2.1. Proyecto I. Hipótesis hormonal

Se parte del hecho de que existiría una activación diferencial del SRAA en la estenosis unilateral vs. la bilateral, cuya evaluación permitiría identificar dos modelos fisiopatológicos basados en el perfil de la ARR. Por un lado, la elevación de la ARR caracterizaría a la estenosis bilateral, con aumento inadecuado de Ald, comportándose como un modelo de hiperaldosteronismo de acuerdo con la propuesta de HTA volumen dependiente del modelo de Goldblatt; por otro lado, la disminución de la ARR caracterizaría a la estenosis unilateral, en la cual también se espera que los valores de Ald sean mayores que en la HTA-Es.

De esta manera, se postulan las siguientes hipótesis de trabajo específicas del Proyecto I.

H2. *“La elevación de la ARR es característica de la estenosis bilateral, representando uno de los modelos de activación del SRAA”.*

H3. *“La disminución de la ARR es característica de la estenosis unilateral, representando otro de los modelos de activación del SRAA”.*

4.2.2. Proyecto II. Hipótesis inmunológica

Considerando la aterosclerosis como una enfermedad autoinmune podría comprobarse una intensa activación inmunológica en fases tempranas de su desarrollo. Este enunciado podría verificarse a través de la identificación de

marcadores **inmunológicos** en individuos con ERVA subclínica, asintomática y asociada a una reducción muy leve y no significativa del lumen del vaso.

En base a estos **enunciados** se postula la siguiente hipótesis de trabajo específica, relacionada con el Proyecto II de la tesis.

H4. *“Los mecanismos de activación inmunoinflamatoria que subyacen a la ERVA subclínica, asintomática y con reducción muy leve y no significativa del lumen del vaso son susceptibles de verificarse a partir del estudio de marcadores inmunes en las fases tempranas de la enfermedad”.*

4.2.3. Proyecto III. Hipótesis anatómica

Las características anátomo-histológicas de la ERVA en fases clínicamente tempranas y asintomáticas se corresponderían con lesiones asociadas a complicaciones, presentando signos de neovascularización adventicial intensa.

De este modo, se postula la siguiente y última hipótesis de trabajo específica, asociada al Proyecto III de la investigación.

H5. *“La ERVA se caracteriza, anatomohistológicamente, por lesiones asociadas a complicaciones, con signos de neovascularización adventicial intensa”.*

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivos generales

A continuación se listan los objetivos generales del estudio, abarcando de manera conjunta los propósitos de los tres proyectos de investigación.

1. Identificar mecanismos específicos endocrinos, inmunoinflamatorios y anatomohistológicos involucrados en la ERVA.
2. Determinar la posible utilidad de estos mecanismos para el diagnóstico y el tratamiento de la ERVA y de la aterosclerosis.

5.2. Objetivos específicos

5.2.1. Proyecto I

1. Analizar la existencia de una activación diferencial (o diferente?) del SRAA en la estenosis unilateral vs la bilateral.

5.2.2. Proyecto II

2. Identificar la respuesta celular inmunológica e inflamatoria? en individuos con ERVA subclínica, asintomática y asociada a reducción muy leve y no significativa del lumen del vaso.

5.2.3. Proyecto III

3. Determinar las características anatomohistológicas de la ERVA en fases tempranas, con énfasis en aquellas asociadas a los procesos de neovascularización.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Proyecto I

6.1.1. Diseño

El estudio se desarrolló siguiendo un diseño prospectivo, descriptivo, de intervención clínica y controlado^{282,283}. Se incluyeron 4 grupos paralelos, considerándose 2 grupos activos y 2 grupos controles. Los primeros estuvieron conformados por los siguientes sujetos:

1. Individuos hipertensos con enfermedad renovascular aterosclerótica unilateral (ERVA-Uni).
2. Individuos hipertensos con enfermedad renovascular aterosclerótica bilateral (ERVA-Bi).

Por su parte, los 2 grupos controles se constituyeron de sujetos con las siguientes características:

1. Individuos con HTA-Es.
2. Individuos con NT.

(EN ESTOS DOS GRUPOS ULTIMOS, ¿SE DESCARTÓ ESTENOSIS RENAL?)

6.1.2. Población, unidad de análisis, muestra y criterios de selección

Se incluyó una población basal de 708 hipertensos sobre la cual se estratificó el riesgo de la ERVA según los grados de sospecha definidos por Mann y Pickering¹¹⁹. De acuerdo a como se detallará más adelante en **Resultados**, se identificaron 66 individuos con riesgo intermedio (o moderado) y riesgo elevado (o alto) de la enfermedad.

Esta población de mayor sospecha fue estudiada con ARM de arterias renales y arteriografía por sustracción digital, identificándose 3 grupos, considerando sus tamaños muestrales³:

1. Hipertensos con ERVA-Uni: 16 sujetos.
2. Hipertensos con ERVA-Bi: 16 sujetos
3. Hipertensos sin ERVA: 19 sujetos.

Además, se incluyó un grupo control de hipertensos esenciales (19 sujetos), cada grupo representando una unidad de análisis. Y el grupo normotenso, no se menciona aquí?

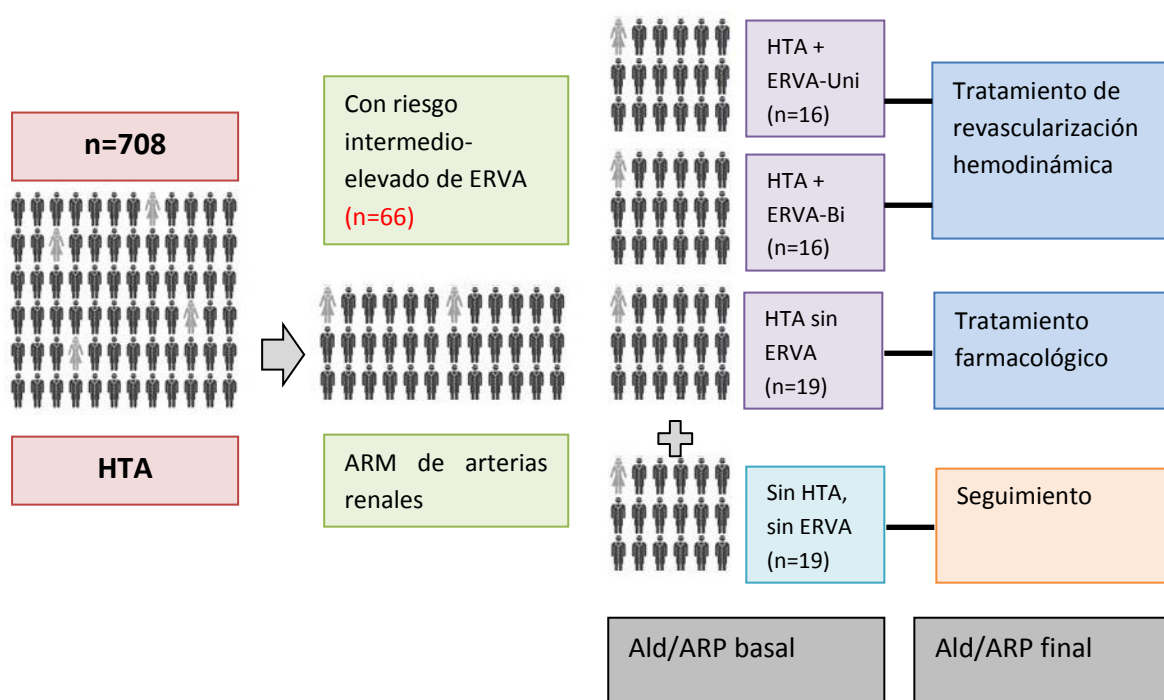
Las determinaciones del estado de activación del SRAA fueron realizadas basalmente, antes del estudio de las arterias renales, y post-tratamiento (a qué se refiere post-tratamiento? a la intervención endo-arterial?). Los pacientes con ERVA fueron tratados mediante una terapéutica intervencionista de dilatación con balón e implante de *stent* o tratamiento farmacológico (según indicación del profesional médico), comparándose la respuesta del SRAA antes y después del mismo, y con aquella correspondiente al grupo de hipertensos sin ERVA basalmente y respecto del

³ Según se verá más adelante en este mismo subapartado, el total de la sumatoria de estos grupos no se corresponde con el total mencionado de 66 sujetos, aspecto asociado a la exclusión de ciertos individuos dados los criterios de selección empleados.

seguimiento con tratamiento antihipertensivo. Además, las comparaciones también se efectuaron con controles sanos (sin ERVA y sin HTA). [Cómo se descartó la ERVA en los individuos sanos?](#)

En la **Figura 16** se representa el diseño poblacional y muestral del estudio atinente al Proyecto I.

Figura 16. Diseño poblacional y muestral del estudio hormonal de la ERV (Proyecto I).



Fuente: Elaboración propia.

Respecto de los criterios de selección de los sujetos participantes del estudio, valen los siguientes.

Criterios de inclusión

Individuos hipertensos con sospecha intermedia o elevada de la ERV.

Criterios de exclusión

- Factores concomitantes que pudiesen afectar las determinaciones del estado de activación del SRAA.
- Hipocalemia < 3,5 mEq.
- Imposibilidad de suspender drogas que afecten el SRAA.
- Deterioro de la función renal (FG < 60 ml/min/1,73 m², estimado según la ecuación Modificación de la Dieta en la Enfermedad Renal –MDRD-, y microalbuminuria > 16 mg/24 hs).
- DM.

Debido a estos criterios fueron excluidos 15 pacientes: 5 por DM y 10 por alteración de la función renal.

6.1.3. Recolección de datos

6.1.3.1. Grados de sospecha de la ERVA

Para la determinación de los grados de sospecha de la ERVA se utilizó la clasificación de sospecha de la HTARV propuesta en las recomendaciones de uso generalizado y conocidas con el nombre de familia de sus autores Mann y Pickering¹¹⁹.

6.1.3.2. Diagnóstico de ERVA

La ERVA se diagnosticó con el estudio de la ARM con gadolinio (ARM-G), considerando como método de certeza la confirmación con arteriografía por sustracción digital.

Para clasificar a los sujetos en los 4 grupos ya mencionados se definieron los conceptos de lesión unilateral, lesión bilateral, arteria normal, HTA y NT arterial, según se indica a continuación ([estos criterios surgen de algún otro trabajo publicado?](#)):

- ERVA-Uni: reducción de al menos el 70% de la luz de una arteria renal polar o principal.
- ERVA-Bi: combinación de una reducción unilateral de al menos el 70% de la luz de una arteria con una reducción de al menos el 50% de la luz de la arteria contralateral.
- Arterias renales normales (AN): se consideraron así a aquellas sin reducción aterosclerótica de la luz o con una reducción < 30%.
- HTA: PAS/PAD \geq 140/90 mm Hg y/o diagnóstico documentado en la historia clínica del paciente, según recomendaciones de la Sociedad Europea de Hipertensión Arterial²⁸⁴, y/o uso de fármacos antihipertensivos (por indicación médica) de manera estable durante los 6 meses previos a la inclusión en el estudio.

La PA se midió en posición de sentado, en 2 ocasiones diferentes, siguiendo la técnica adecuada en el brazo de mayor valor con tensiómetro semiautomático (OMRON 708). Se consideró representativo al valor promedio de las 2 últimas mediciones de cada visita.

- NT arterial: refirió a la ausencia de los criterios enumerados para la definición de la HTA.

6.1.3.3. Determinaciones

6.1.3.3.1. Preparación del paciente

Todos los individuos recibieron instrucciones escritas indicativas de una dieta conteniendo 120 mmol de sal/día para evitar el estímulo del SRAA **por las dietas restrictivas en sal, habituales** en pacientes con HTA. La evaluación de la adherencia a esta indicación se efectuó a través de la determinación del Na⁺ urinario en recolecciones de orina **de 24 hs**, previas a la obtención de las muestras de sangre.

En el instructivo también se le indicó al paciente presentarse a las 07:00 a.m. del día siguiente al inicio del ayuno de 12 hs. No debieron realizar actividades físicas ni esfuerzos de ninguna índole durante dicho período y al arribar al laboratorio del Hospital Universitario Austral (HUA) se les asignó un área específicamente preparada para su descanso durante 30 min en posición supina. Luego de ese lapso se procedió a la extracción de la muestra sanguínea.

6.1.3.3.2. Método de determinación del estado del SRAA en sangre periférica

El plasma y las células sanguíneas se separaron por centrifugación. La ARP fue determinada **por** la **medida** de la síntesis de Ang II catalizada por la renina. Las mediciones se expresaron en ng de Ang II/ml de plasma/h.

El rango de valores normales aceptados fue de 0,15-2,33 ng/ml/h. El coeficiente de variación intraensayo fue de 5,4% y el coeficiente de variación interensayo de 9,1%.

Los valores de Ald se estimaron en ng/ml, siendo el valor normal de 1,2-15,0 ng/ml. Estos valores fueron ajustados (qué quiere decir ajustados?, tienen un factor de conversión en relación a la natriuresis?) según la natriuresis siguiendo el nomograma de McKenna²⁸⁵.

La ARR (concentración de Ald en plasma/ARP) se utiliza como test de *screening* del hiperaldosteronismo. Una ARR > 30 y una Ald plasmática > 20 ng/ml se asocian con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 91% para el diagnóstico de hiperaldosteronismo. (no se sobreentiende?)

6.1.3.3.3. Otras mediciones

La función renal se determinó mediante la estimación del FG con la ecuación de MDRD. Se midieron también la proporción albuminuria/creatininuria, el Na⁺ plasmático y urinario (24 hs) y el K⁺ plasmático y urinario (24 hs). Todas las determinaciones se realizaron al menos 2 veces. (Acá no entiendo bien; la única que mide la función renal es la MDRD; las otras pueden indicar enfermedad renal solamente o medir la ingesta de sodio y potasio, etc.)

6.1.4. Análisis estadístico

(corrijo abajo todo a renglón seguido y no separado en párrafos “punto aparte” como lo tenés en el original)

Los datos se analizaron usando el test de análisis de varianza (ANOVA) para modelos cruzados (*crossover-design*). Se verificó la homogeneidad de la varianza y la normalidad para cada variable considerada a través del test de Barlett. La hipótesis de nulidad se evaluó con la prueba *post-hoc* de Tukey. Las diferencias por individuo entre los datos de las variables bioquímicas antes y después de la revascularización fueron analizadas con el test T para datos apareados. Los datos se expresaron como medias \pm desviación estándar (DS) y los valores de significancia (p) $< 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Se utilizaron curvas *Receiver Operating Characteristic* (ROC)⁴ para evaluar la eficacia de la ARR ante la discriminación entre los grupos estudiados, especialmente entre la ERVA-Uni y la ERVA-Bi, considerándose a la arteriografía como el método estándar de oro.

6.2. Proyecto II

6.2.1. Diseño general

⁴ Se define como un ploteo gráfico de la fracción de verdaderos positivos (o sensibilidad del test) contra la fracción de falsos positivos (o 1-especificidad del test) para diferentes posibles puntos de corte de un test diagnóstico dado. Es una herramienta de análisis que permite evaluar la capacidad de un test para clasificar correctamente a los individuos en categorías o estados de enfermedad.

Se diseñó un estudio prospectivo, original, descriptivo, clínico y controlado^{282,283}. Debido a que la ERVA a menudo se asocia a lesiones ateroscleróticas en otros territorios vasculares, se consideró que la presencia de lesiones no detectadas podría hacer incierto el origen de las células inmunes halladas sistémicamente (¿) en la sangre periférica. Por esto, se decidió estudiar la presencia de células similares directamente en las placas de arterias renales.

Así, el proyecto se estructuró a partir de la investigación de la inmunidad celular en la aterosclerosis temprana en dos poblaciones independientes: pacientes vivos y muestras de arterias *post-mórtem* y ambas con sus correspondientes controles. Estas poblaciones se identificaron con la denominación de “Estudio de pacientes” en el primer caso y “Estudio de arterias *post-mórtem*” en el segundo.

El proyecto fue aprobado por el Comité Institucional de Estudios Clínicos. Los pacientes firmaron un consentimiento válidamente informado para el procedimiento y fueron instruidos acerca del mismo.

Por su parte, la autorización para las autopsias (muestras *post-mórtem*) fue otorgada siguiendo las normativas de estudio de las causas de fallecimiento en caso de muerte de tipo violenta (suicidio, homicidio culposo o doloso, accidente, lesiones seguidas de muerte y en situaciones de muerte por causas dudosas de criminalidad o sospechadas de criminalidad). En estos casos, según el Código Procesal Penal de la Nación, el juez dispone su realización por lo preceptuado en el artículo 264 sobre la “autopsia necesaria” o necesidad de autopsia. También el Ministerio Público Fiscal puede ordenarla si la investigación criminal le fuera delegada por el artículo 196 bis o bien, a partir de mayo del 2001, por lo dispuesto en la Ley 25.409, la cual estipula que

los agentes fiscales investiguen los delitos imputados a personas de ningún nombre (N.N.). Para este estudio no fue necesaria la autorización ni ninguna forma de consentimiento de personas (familiar o deudos), siendo realizadas las autopsias por los médicos forenses en la morgue judicial.

6.2.2. Estudio de pacientes

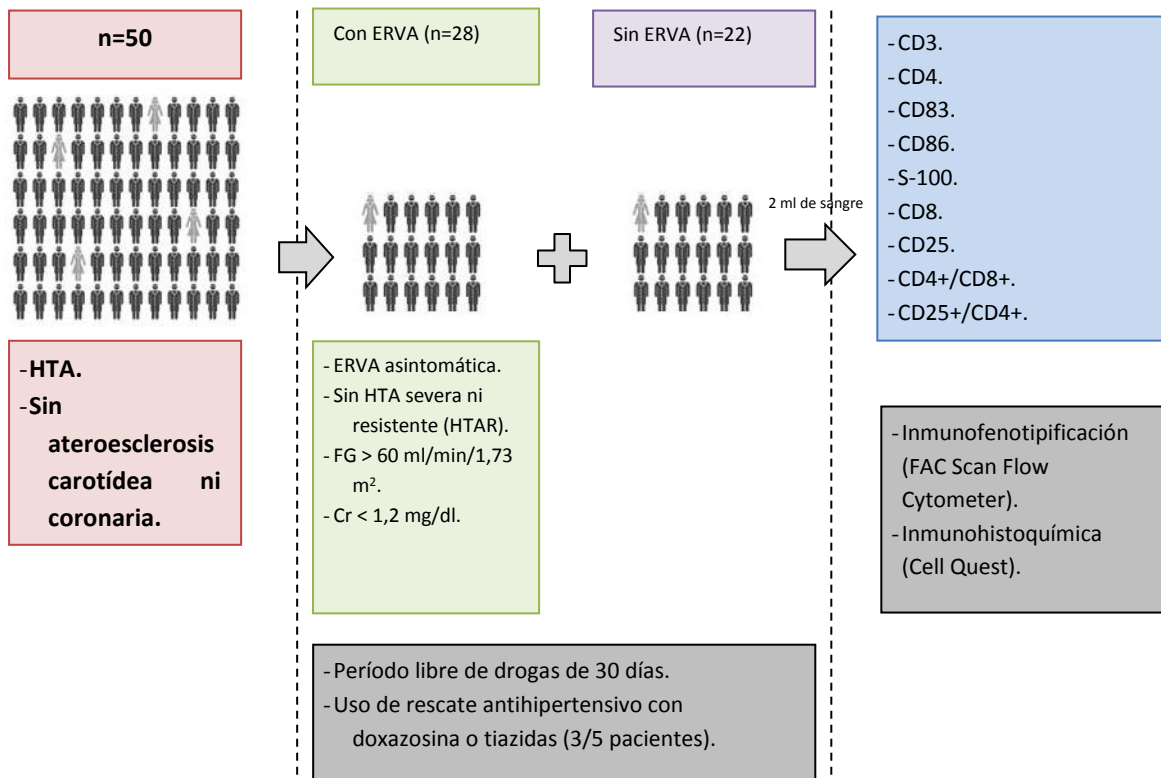
6.2.2.1. Población, unidad de análisis, muestra y criterios de selección

1. Se incluyó una población de 50 hipertensos controlados con función renal normal, evaluados con estudio angiográfico de las arterias coronarias y carotíneas, programado según criterio clínico. Ambas arterias estaban libres de lesiones ateroscleróticas angiográficas. A todos ellos se les efectuó un estudio angiográfico de arterias renales y se los clasificó en 2 grupos según su resultado. Hipertensos con ERVA, con presión arterial controlada: 28 sujetos.
2. Hipertensos sin ERVA, con presión arterial controlada: 22 sujetos.

Partiendo del reconocimiento que cada grupo representó una unidad de análisis, se obtuvo una muestra de sangre periférica y se evaluó la activación inmunológica celular a través de la inmunotipificación con AcM.

En la **Figura 17** se representa el diseño poblacional y muestral del Estudio de pacientes del Proyecto II.

Figura 17. Diseño poblacional y muestral del Estudio de pacientes (Proyecto II).



Fuente: Elaboración propia.

La selección de los sujetos participantes del estudio se efectuó a partir de los siguientes criterios de selección.

Criterios de inclusión

Se consideraron candidatos a participar a aquellos pacientes que, siendo hipertensos leves ($\geq 140/90$ mm Hg y $< 159/99$ mm Hg) y asintomáticos para la ERVA

(ver **Clasificación clínica** en **Aspectos clínicos de la ERVA, Introducción general**),

cumplieron con los siguientes requisitos:

- Indicación previa de un estudio invasivo hemodinámico de arteriografía carotídea y coronaria a ser realizado de manera programada.
- Evaluación hemodinámica completada con la exploración de las arterias renales por decisión del médico de cabecera.
- Ausencia de lesiones arterioescleróticas, tanto en los vasos carotídeos como coronarios a través del estudio angiográfico.
- Satisfacción del consentimiento válidamente informado para permitir el estudio de una muestra de sangre periférica.

Criterios de exclusión

- HTA severa y/o maligna y/o refractaria al tratamiento con 4 drogas antihipertensivas a dosis plenas e incluyendo un diurético.
- Antecedentes de HTA severa o de estados hipertensivos de urgencia o emergencia.
- Deterioro de la función renal ($FG > 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, estimado según la ecuación MDRD, y microalbuminuria $< \text{(no es acá >?) } 30 \text{ mg/24 h}$).
- Enfermedad aterosclerótica carotídea detectada por arteriografía.
- Enfermedad aterosclerótica coronaria detectada por arteriografía.
- Antecedentes de eventos cardiovasculares (EAP, IAM, IC).
- Antecedentes **clínicos** de enfermedad inmunológica o autoinmune.
- Uso de agentes inmunomoduladores directos o corticoides.

- Enfermedades infecciosas agudas o crónicas.
- Displasia fibromuscular de la arteria renal.

6.2.2.2. Recolección de datos

6.2.2.2.1. Drogas aceptadas y período libre de drogas

Diversas moléculas con actividad farmacológica podrían interferir con las determinaciones de la inmunidad celular. Para evitar su acción como confundidores de los resultados, y como parte de la evaluación del estado hormonal del paciente, todos los medicamentos antihipertensivos fueron suspendidos durante un período de 21 días antes de la extracción de sangre periférica. Se permitió el uso de doxazosina y/o diuréticos tiazídicos y/o diltiazem como medicamentos de rescate para el control de la PA, en caso de ser necesario en ese lapso (según criterio médico).

6.2.2.2.2. Extracción y preparación de las muestras de sangre periférica

Se extrajeron 2 ml de sangre entera de cada participante en tubos tratados con heparina. Las PBMC se aislaron por centrifugación con gradiente de densidad según el método de Ficoll-Hypaque, que básicamente consiste en la separación de una suspensión celular a través de un medio de alta densidad por centrifugación a baja velocidad²⁸⁶.

(Carol, lo dejo a tu criterio, pero este método es muy conocido y no necesita explicación bioquímica de su fundamento).

Por su parte, los glóbulos rojos residuales fueron retirados por lisis con agua Milli-Q a 4 °C.

6.2.2.2.3. Inmunofenotipificación

El análisis de muestras se realizó mediante técnicas de inmunohistoquímica (tinción simple y doble) y mediante citometría de flujo (FACScan-Becton Dickinson, Los Ángeles, California), usando el programa Quest™ celular (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, Los Ángeles, California).

Se analizó la presencia de marcadores inmunes celulares utilizando los siguientes AcM: anti-CD4 (CD4 FLTM, Serotec), anti-CD3 (FLTM CD3, Serotec), anti-CD83 (1:50; Serotec MCA1582), anti-CD86 (1:100; MS296, Nemarkers), anti-S-100 (MCA2769, Serotec), anti-CD8 (1:50; DK25, Dako) y anti-CD25 (1:50, MCA2127, Serotec). Cada análisis con los marcadores mencionados se efectuó con los correspondientes controles de isotipo, siguiendo los protocolos de los fabricantes.

6.2.3. Estudio de arterias *post-mórtem*

6.2.3.1. Población, unidad de análisis, muestras y criterios de selección

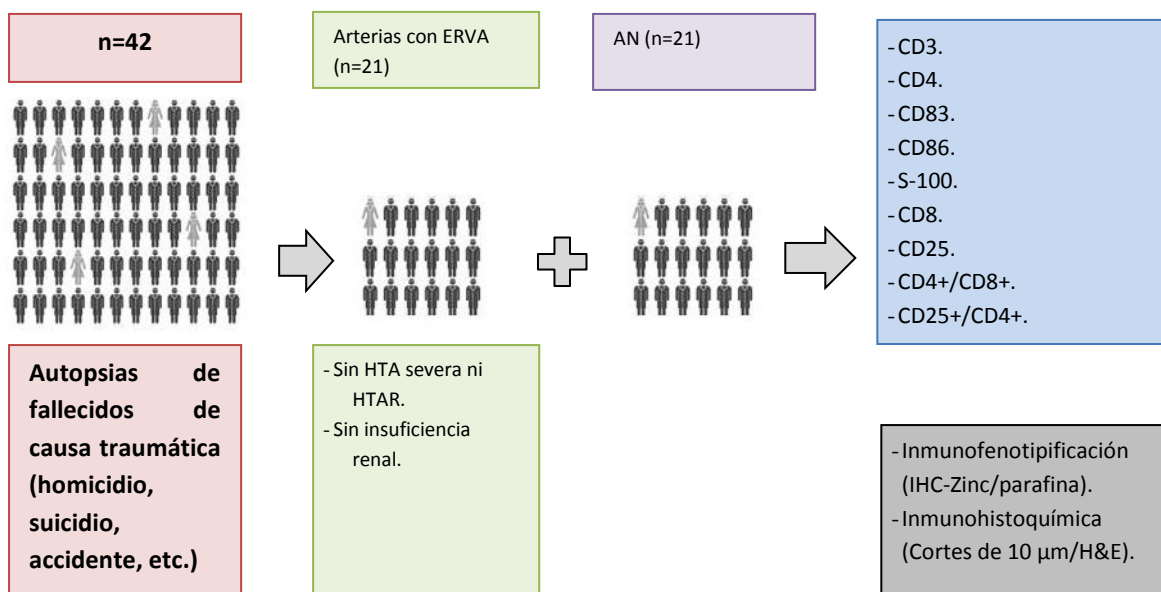
Fueron evaluadas más de 60 arterias renales (yo pondría el número exacto si es que está disponible) procedentes de autopsias, identificándose placas de ateromatosis en 21 de ellas, las que luego fueron comparadas con 21 arterias incluidas como controles y apareadas según sexo y edad (cada grupo de arterias representó una unidad de análisis).

Por esto, se considera que la población evaluada fue de 42 individuos que fallecieron por causa no cardiovascular, cuya autopsia obedeció a los procedimientos habituales de la morgue judicial.

Se evaluaron las arterias renales a través de inmunotipificación con similares AcM a los utilizados en el estudio de pacientes hipertensos, según ya se ha descrito.

En la **Figura 18** se representa el diseño poblacional y muestral del Estudio de arterias *post mórtem* del Proyecto II.

Figura 18. Diseño poblacional y muestral del Estudio de arterias *post mórtem* (Proyecto II).



Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a los criterios de selección, se correspondieron con aquellos propios de las autorizaciones para la obtención de las muestras arteriales, según ya se ha comentado en el **Diseño general** del Proyecto II. Además, y como podría estipularse, se

incluyeron arterias renales con placas de ateroma y aquellas normales, y se excluyeron las que no se presentaron biológicamente viables para el análisis requerido.

6.2.3.2. Recolección de datos

6.2.3.2.1. Procedimiento de autopsia y obtención de las muestras

Este procedimiento se describe en **Proyecto III**.

6.2.3.2.2. Preparación e inmunofenotipificación (Carol, el texto original correspondiente a este título estaba fragmentado en 4 párrafos; yo los unifiqué en un solo párrafo).

Después de la disección de las arterias renales las muestras fueron fijadas por inmersión en una solución fijadora de IHC-Zinc (BD Biosciences Pharmingen) a temperatura ambiente durante 24-48 hs, previamente a su inclusión en parafina. Se decidió no usar formaldehído debido a su posible interferencia con las técnicas inmunohistoquímicas utilizadas posteriormente. Todas las muestras fueron cortadas en secciones de 10 μm y teñidas con hematoxilina-eosina (H&E). La presencia de marcadores inmunes celulares se analizó utilizando los AcM y controles de isotopo descritos en **Inmunofenotipificación, Proyecto II**.

6.2.4. Análisis estadístico

Se utilizó el test T de Student de 2 colas para las comparaciones estadísticas de datos no apareados y el test de Fischer para las comparaciones de datos categóricos. Todos los valores se expresaron como media \pm DS. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Se utilizaron tablas y ploteo de datos para la presentación de resultados.

6.3. Proyecto III

6.3.1. Diseño

(Carol, lo mismo acá abajo, el texto original correspondiente a este título estaba fragmentado en muchos párrafos; yo los unifiqué en un solo párrafo).

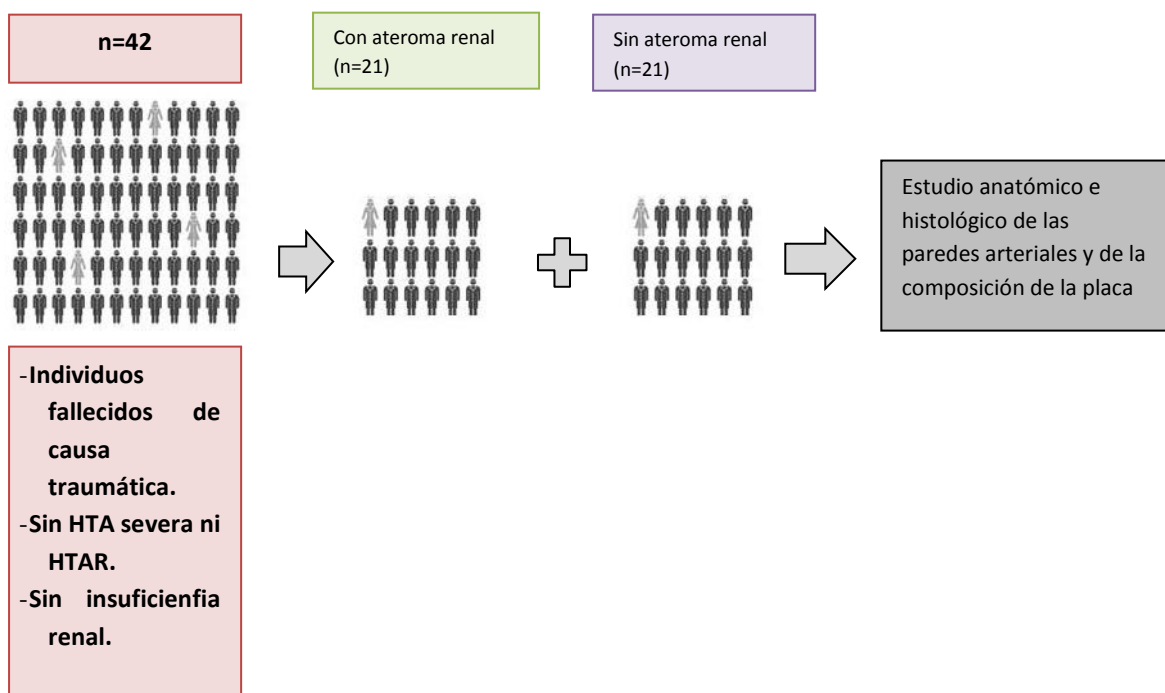
Se diseñó un estudio prospectivo, descriptivo, de grupos paralelos y controlado^{282,283}, orientado al análisis anatomohistológico de las arterias renales con y sin lesión aterosclerótica. El presente estudio se desarrolló complementariamente al Estudio de arterias *post-mortem* del Proyecto II, aclaración necesaria para el entendimiento de los aspectos poblacionales y de muestreo.

6.3.2. Población, unidad de análisis, muestra y criterios de selección

(Carol, lo mismo acá abajo, unifiqué en 2 párrafos)

Los aspectos poblacionales y de muestreo del presente estudio se corresponden con los descritos en **Población, unidad de análisis, muestra y criterios de selección** del **Estudio de arterias *post-mortem*, Proyecto II**. Pese a esta aclaración, en la **Figura 19** se representa el diseño poblacional y de muestreo del estudio del (¿) Proyecto III.

Figura 19. Diseño poblacional y de muestreo del estudio anatomohistológico de la ERVA (Proyecto III).



Fuente: Elaboración propia.

6.3.3. Recolección de datos

6.3.3.1. Metodología de la autopsia

Todas las autopsias que se realizan en la Morgue Judicial de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, dependiente del Cuerpo Médico Forense de la Justicia Nacional, se efectúan en forma completa, sistemática e ilustrada. A razón de ello, a continuación se describen puntualizadamente estas características procesales:

- Completa: consiste en efectuar la apertura de todas las cavidades, realizando a continuación el examen sucesivo de los órganos *in situ*, conservando sus relaciones anatómicas y, en caso de ser necesario, extrayendo aquellos y evaluándolos de manera individualizada.
- Sistemática: se debe seguir un orden reglado, salvo indicaciones especiales, a los efectos de evitar errores, imprecisiones u omisiones. Se obtuvieron muestras de los tejidos para realizar diferentes tipos de investigaciones, de carácter químico, bacteriológico, toxicológico y/o anatomopatológico.
- Ilustrada: de acuerdo a las características de cada caso, se realizaron tomas fotográficas, gráficos o esquemas, con el objeto de documentar los hechos.

6.3.3.1.1. Técnica

El estudio necrótico fue realizado en 2 tiempos, según la secuencia indicada a continuación:

1. Examen externo del cadáver.
2. Examen interno del cadáver (obducción).

Para el propósito de esta tesis, y en particular del estudio del Proyecto III, importó el examen interno del abdomen y los vasos.

6.3.3.1.2. Datos obtenidos

En relación con la obtención de datos generales, en el estudio se empleó la siguiente información, tomada de la causa abierta por la Justicia: Carol, creo que la enumeración que sigue se puede poner a espacio simple; es lo que hice)

- Fecha de muerte.
- Edad.
- Sexo.
- Circunstancia de la muerte.
- Lugar del hecho que provocó la muerte.
- Alcoholemia.
- Presencia de tóxicos tisulares.
- Causa externa de la muerte.
- Enfermedades preexistentes.
- Hábitos tabáquicos.
- Antecedentes de enfermedad renal.
- Antecedentes de HTA.
- Antecedentes de dislipidemia. (o dislipemia, hay que unificar este nombre en todo el texto)
- Antecedentes de DM.
- Factores socioeconómicos y culturales.
- Signos de enfermedades que preceden a la muerte.

6.3.3.2. Estudio de anatomía patológica

Se aislaron las arterias renales y se identificó **macroscópicamente** la presencia de placas de ateroma, **y se clasificaron** las muestras como arterias con ERVA o arterias sanas. El diagnóstico se corroboró posteriormente a través del estudio histológico.

Para esto último, se prepararon tacos a partir de las muestras correspondientes a regiones representativas; el material **se fijó** en solución de IHC-Zinc (BD Biosciences Pharmingen) a temperatura ambiente durante 24-48 hs, previamente a su inclusión en parafina. Se efectuaron cortes de 8 μm , obteniéndose 500 cortes montados en portas silanizados (**está bien esta última palabra, no es siliconados?**). Se armaron tacos de 1 cm x 1 cm que fueron incluidos en parafina para **posteriores secciones** de 4 μm de espesor.

En todos los casos, se realizaron tinciones con técnicas de H&E, ácido peryódico de Schiff (P.A.S.) y tricrómico de Masson. Cuando la patología detectada así lo requirió, se aplicaron tinciones alternativas y específicas, tales como para FE, Sudan, Perls, etc.

6.3.3.3. Caracterización histológica

Para realizar la caracterización de las muestras se empleó la clasificación de la AHA¹¹⁸ **y la** propuesta por Virmani *et al*^{47,48}. La evaluación fue **a doble ciego**, realizada por 2 observadores. Ante la existencia **de** disenso en la caracterización histológica de alguna de las muestras, se recurrió a un tercer observador. **Las muestras** fueron conservadas para análisis **posteriores de reproducibilidad**.

7. RESULTADOS

7.1. Proyecto I

7.1.1. Características de la población

Fueron evaluados 708 individuos hipertensos que asistieron espontáneamente o que fueron derivados por su médico de cabecera al Centro de Hipertensión Arterial del HUA en el período mayo de 2008-mayo de 2009.

De esta población inicial se identificaron 66 (9,3%) pacientes con criterios de sospecha intermedia y elevada de ERVA, cuya distribución se presenta en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Pacientes del Proyecto I según criterios de sospecha.

Nivel de sospecha	Características	n=708
Bajo (< 1%)	HTA limítrofe, leve o moderada	642
Intermedio (5-15%)	HTA severa o refractaria	48
	Inicio abrupto de HTA moderada en individuos < 30 años y > 50 años	
	HTA moderada en un tabaquista con compromiso aterosclerótico de algún territorio	
	Elevación inexplicada de la Crpl o deterioro de la función renal	
	HTA moderada o severa en (en o con?) respuesta al tratamiento con IECA	
Elevado (> 25%)	Soplo abdominal	18
	Aumento de la Crpl secundario a IECA	
	Asimetría renal > 15 mm (esto está bien, 1.5 cm es “muy poquito”, me parece)	
	HTA severa con insuficiencia renal progresiva	
	HTA maligna	

Fuente: Elaboración propia.

7.1.1.1. Pacientes excluidos

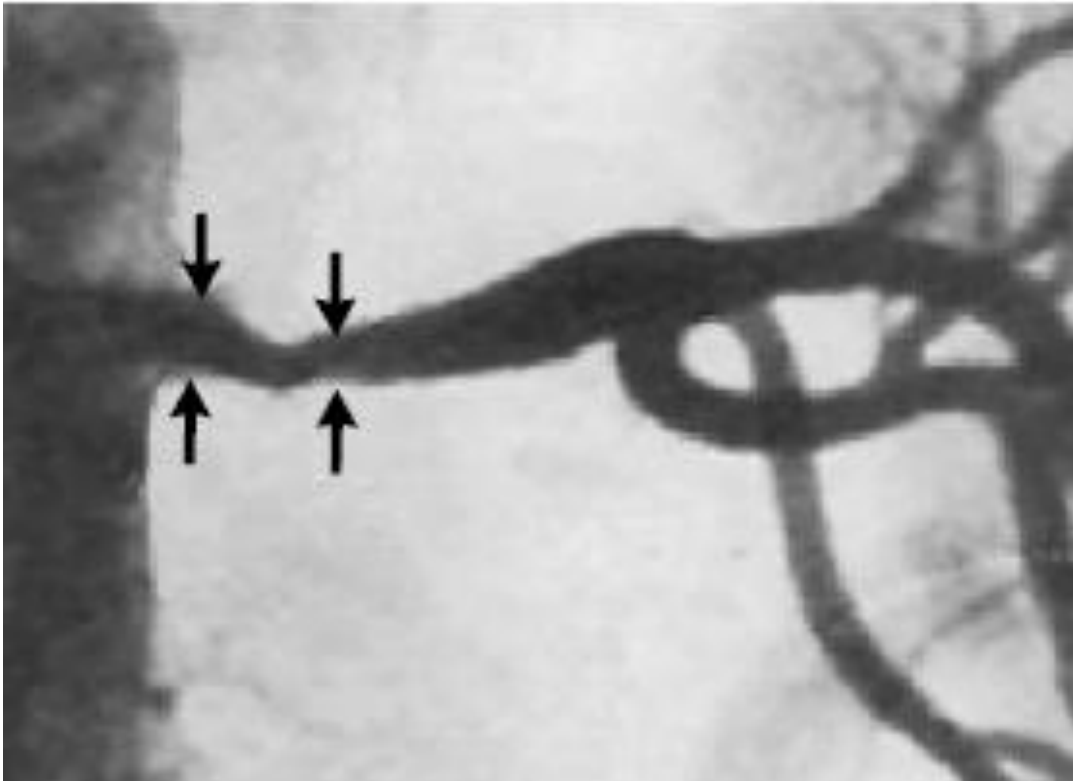
- Se **excluyeron** 15 pacientes **por las siguientes causas**: Presencia de DM en 5 pacientes: 2 en el grupo de ERVA-Uni, 1 en el de ERVA-Bi y 2 en el de hipertensos esenciales con AN.
- Deterioro del FG renal en 10 pacientes: 2 en el grupo de ERVA-Uni, 4 en el de ERVA-Bi y 4 en el de hipertensos esenciales con AN.

7.1.1.2. Estudio de las arterias renales

La aplicación de la metodología descrita para el estudio de las arterias renales en la población final de hipertensos con sospecha moderada a severa de ERVA (n=51) **(no se habla en otro lugar del texto que fueron 66 los que estaban en riesgo de tener ERVA?)** permitió identificar lesiones unilaterales en 16 pacientes, bilaterales en 16 pacientes y AN en 19 pacientes. Se incluyó un grupo control de 19 individuos voluntarios con NT.

En la **Figura 20** se presenta un ejemplo de lesión aterosclerótica severa en las arterias renales que representa un caso de los correspondientes a los dos primeros grupos de pacientes mencionados.

Figura 20. Lesión aterosclerótica ostial severa.



Fuente: Gentiliza del Dr. Juan Manuel Telaya.

7.1.1.3. Características basales

Las características basales de la población incluida (n=70), factores demográficos y clínicos discriminados por grupo, se muestran en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Características basales de la muestra analizada en el Proyecto I.

Indicador	NT (n=19)	HTA-Es (n=19)	ERVA-Uni (n=16)	ERVA-Bi (n=16)	p
Femenino [n (%)]	5 (26,3)	5 (26,3)	4 (25,0)	5 (26,3)	1,000
Edad (años)	48 ± 8	48 ± 5	47 ± 11	48 ± 9	0,900
PAS/PAD (mm Hg)	117,8 ± 5,7/76,9 ± 4,3	150,0 ± 12,0/100,0 ± 9,0	160,0 ± 16,0/98,0 ± 12,0	160,0 ± 14,0/100,0 ± 14,0	< 0,01 vs NT

Indicador		NT (n=19)	HTA-Es (n=19)	ERVA-Uni (n=16)	ERVA-Bi (n=16)	p
Antigüedad (años)	HTA	0,0	7,0 ± 2,9	9,0 ± 6,5	11,1 ± 3,2	0,800
Número de drogas antihipertensivas*		0,0	4,0 ± 1,5	3,1 ± 1,8	4,5 ± 1,6	0,900

OJO!! Todas las tablas y figuras de la Tesis deben ser explicativas por sí mismas, sin tener que ir a leer el texto. Por lo tanto deben tener debajo de las mismas la explicación de las abreviaturas correspondientes.

Fuente: Elaboración propia.

Nota: *La distribución de diferentes tipos de fármacos no mostró diferencias significativas entre los grupos.

En el grupo de NT la PA fue significativamente menor que en los hipertensos con estenosis arterial renal unilateral, bilateral y que en los hipertensos esenciales. Por su parte, la PA no se presentó estadísticamente diferente entre los 3 grupos de hipertensos.

7.1.1.4. Requerimiento de tratamiento antihipertensivo de rescate ([este término rescate está definido en otro lugar del texto?](#))

Se indicó prazosín o doxazosina (2 mg/día vía oral) en 9 pacientes del grupo con ERVA-Uni, 9 pacientes con ERVA-Bi y en 10 pacientes con HTA-Es. La distribución porcentual de los individuos que requirieron control farmacológico fue de 56,2% en el primer grupo, 56,2% en el segundo y 52,62% en el tercero.

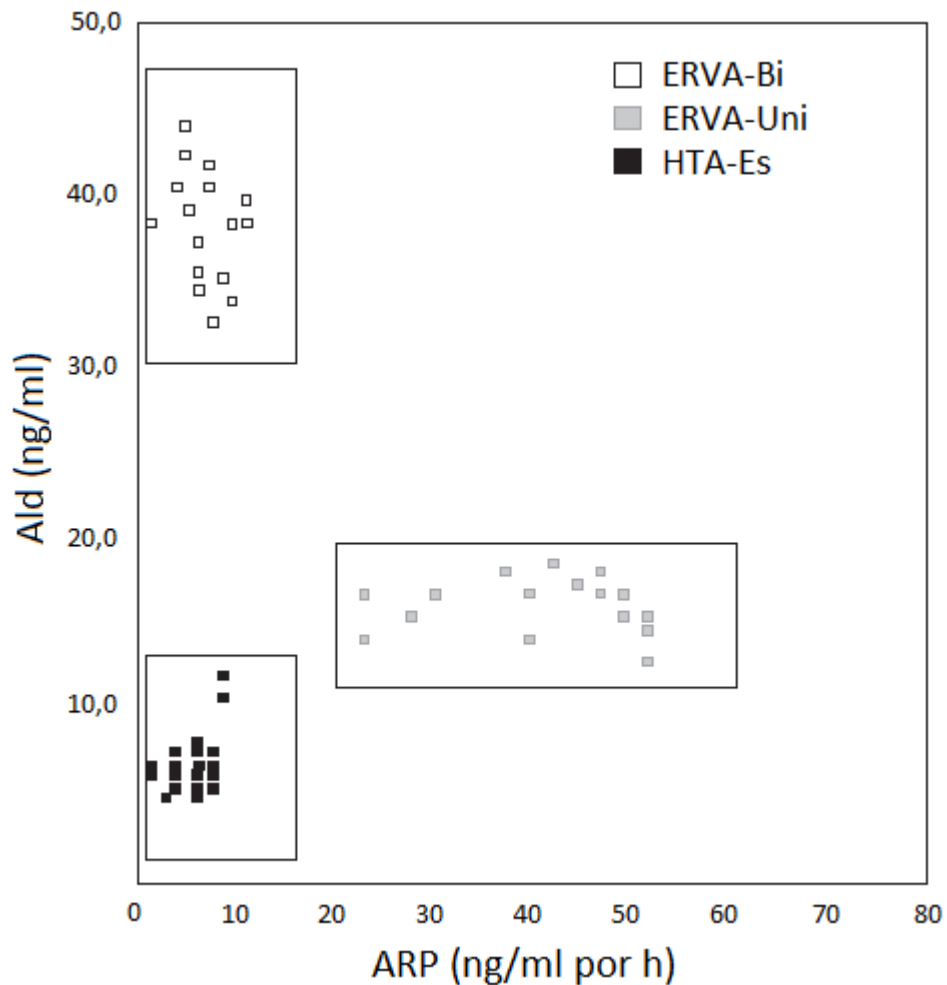
7.1.2. Determinaciones bioquímicas del SRAA

La ARP fue significativamente mayor en el grupo con ERVA-Uni en comparación con los otros 3 grupos (ERVA-Bi, HTA-Es con AN y NT), mientras que la Ald se halló en el rango normal aunque con una relación inadecuada para el valor de ARP (Ald normal-ARP alta). Por su parte, en el grupo con ERVA-Bi la ARP fue mayor que en el rango normal, pero menor que la observada en los pacientes con ERVA-Uni. (cuando hablás de estas últimas diferencias, ¿son significativas?).

La ARP también fue significativamente mayor en los pacientes con HTA-Es, ERVA-Uni y ERVA-Bi respecto del grupo de NT.

En la **Figura 21** se presentan los resultados de distribución anteriores, considerando los grupos de ERVA-Uni, ERVA-Bi y HTA-Es, en función a los datos ya publicados por Kotliar *et al*²⁸⁷.

Figura 21. Distribución de la Ald y de la ARP en muestras obtenidas de pacientes con estenosis unilateral o bilateral y de HTA-Es.



Fuente: Kotliar C, Inserra F, Forcada P, *et al.* Are plasma renin activity and aldosterone levels useful as a screening test to differentiate between unilateral and bilateral renal artery stenosis in hypertensive patients? *J Hypertens.* 2010;28(3):594-601.

Vale lo dicho para lo dicho en otro lado, deben ser aclaradas las siglas para que sean self-explaining. No hace falta poner el título del trabajo, sólo autores y la referencia y entre paréntesis el número de la cita que tiene en las referencias de esta Tesis.

Por su parte, la Ald fue significativamente mayor en los individuos con ERVA-Bi en comparación con los otros grupos, según se presentan los resultados en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Actividad basal de la renina y la Ald en individuos hipertensos con ERVA-Uni y ERVA-Bi, y en aquellos normotensos y los que manifestaron HTA-Es.

Indicador	NT (n=19)	HTA-Es (n=19)	ERVA-Uni (n=16)	ERVA-Bi (n=16)	p
ARP (ng/ml/h)	1,60 ± 0,31 ^a	5,10 ± 1,92 ^a	30,93 ± 12,10 ^a	6,70 ± 5,01 ^a	0,001 vs ERVA-Bi, HTA-Es, NT ^a 0,001 vs NT ^a
Ald (ng/ml)	4,11 ± 0,51	7,62 ± 1,12 ^a	15,1 ± 1,81 ^a	39,7 ± 5,25 ^a	0,001 vs ERVA-Bi, HTA-Es, NT ^a 0,001 vs NT ^a
ARR (ng/ml por ng/ml/h) ⁵	2,50 ± 0,60	1,52 ± 0,98	0,38 ± 0,17 ^a	5,92 ± 2,30 ^a	0,001 vs HTA-Es ^a 0,001 vs NT ^a
Calemia (mEq/l)	4,10 ± 0,81	4,44 ± 0,31	3,70 ± 0,43	3,92 ± 0,61	ns

Fuente: Kotliar C, Inserra F, Forcada P, *et al.* Are plasma renin activity and aldosterone levels useful as a screening test to differentiate between unilateral and bilateral renal artery stenosis in hypertensive patients? *J Hypertens.* 2010;28(3):594-601.

Nota: Valores están expresados en media y DS; ^a ANOVA univariado con prueba post-hoc de Tukey. [\(igual al caso anterior en relación a la cita del trabajo\)](#)

7.1.2.1. Cociente aldosterona/renina (ARR)

A partir de los datos anteriores, se encontró que la ARR fue un 289% mayor en el grupo ERVA-Bi ($p < 0,01$) y un 74% menor en el grupo ERVA-Uni, en comparación con los valores hallados en el grupo HTA-Es.

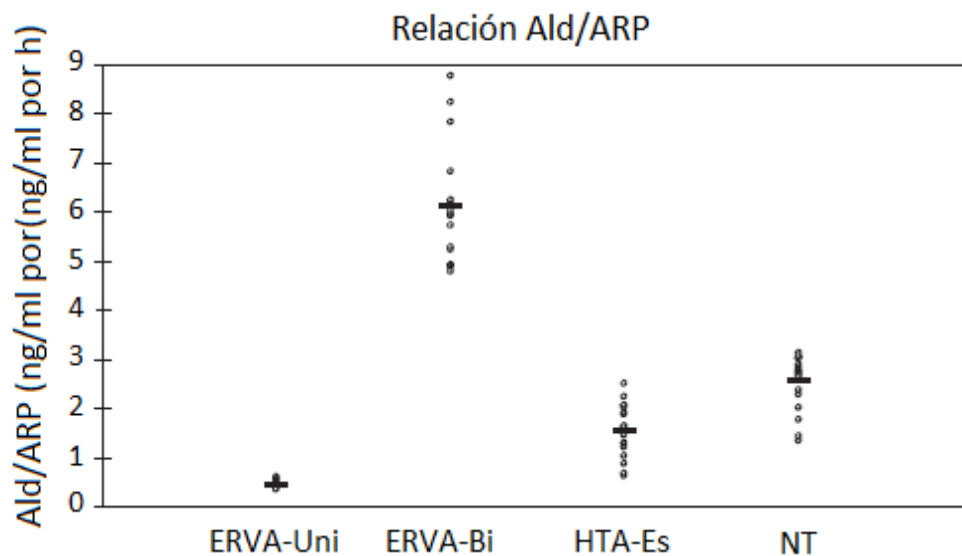
⁵ Dadas las magnitudes consideradas para su cálculo, la ARR se informa sin unidades. La medida de la ARP es en ng/ml por h.

Por su parte, al efectuar las comparaciones con el grupo NT se halló que en el grupo ERVA-Bi la ARR fue un 137% mayor ($p < 0,001$), en el grupo ERVA-Uni un 85% menor ($p < 0,001$) y en el grupo HTA-Es un 39% menor (NS)

Las proporciones de probabilidad multinivel en el grupo ERVA-Bi fueron positivas para la ARR $> 3,6$, negativas para la ARR $< 0,2$ y neutrales para la ARR $\leq 3,6$ y $\geq 0,2$.

En la **Figura 22** se representan las anteriores proporciones de manera comparativa.

Figura 22. Distribución de los coeficientes de Ald/ARP en pacientes con ERVA-Uni, ERVA-Bi, HTA-Es y NT.



Fuente: Kotliar C, Inserra F, Forcada P, *et al.* Are plasma renin activity and aldosterone levels useful as a screening test to differentiate between unilateral and bilateral renal artery stenosis in hypertensive patients? *J Hypertens.* 2010;28(3):594-601.

7.1.3. Efectos de la resolución de la estenosis

Se efectuó un procedimiento intervencionista hemodinámico de dilatación con balón e implante de *stent* en 6 pacientes con ERVA-Uni y en 7 pacientes con ERVA-Bi. El rango de la estenosis residual en los 13 casos, como medida del éxito del procedimiento, fue de 0-8%.

La determinación de las variables bioquímicas de la activación del SRAA *post-revascularización* se realizó 21 ± 9 días después de la intervención. Comparativamente, se extrajeron muestras plasmáticas de los hipertensos esenciales con AN al cabo de un seguimiento promedio de 5 meses (rango de 4-6 meses).

Los valores obtenidos para la *kalemia* y el FG no fueron estadísticamente diferentes entre los grupos estudiados. En la instancia *post-intervención*, los valores de PAS y PAD fueron significativamente menores que los correspondientes basales, *fenómeno* más marcado en el grupo ERVA-Bi.

Por su parte, la ARP *post-intervención* fue significativamente menor que la basal; no se observaron cambios significativos en el grupo ERVA-Bi ni en el HTA-Es.

En la **Tabla 11** se presentan los datos estadísticos asociados a las interpretaciones *anteriores*, considerando los distintos indicadores según grupo de estudio e instancia temporal de medición.

Tabla 11. Estado y posintervención de parámetros clínicos y bioquímicos en pacientes hipertensos.

Indicador	HTA-Es			ERVA-Uni			ERVA-Bi		
	Basal ^a	Seguimiento	p	Basal ^a	Posintervención (n=6)	p	Basal	Post-intervención (n=7)	p
Natriuresis (mEq/24 h)	84,4 ± 1,5	91,9 ± 4,9	ns	83,6 ± 1,3	78,2 ± 5,7	ns	72,9 ± 1,4	92,4 ± 5,9	0,01
Kalemia (mEq/l)	4,4 ± 0,3	4,1 ± 0,7	ns	3,9 ± 0,4	4,1 ± 0,3	ns	3,7 ± 0,5	3,9 ± 0,2	ns
FG-MDRD (ml/min)	78,7 ± 8,2	81,0 ± 6,1	ns	67,7 ± 5,8	71,0 ± 4,0	ns	65,4 ± 4,9	69,7 ± 3,7	ns
PAS (mm Hg)	159,0 ± 12,0	139,0 ± 21,0	0,001	160,0 ± 16,0	141,0 ± 7,6	0,001	163,0 ± 14,0	151,0 ± 8,1	0,01
PAD mm Hg)	100,0 ± 9,0	78,0 ± 11,0	0,01	98,0 ± 12,0	90,9 ± 7,0	ns	101,0 ± 14,0	91,0 ± 4,0	0,01

Fuente: Kotliar C, Inserra F, Forcada P, *et al.* Are plasma renin activity and aldosterone levels useful as a screening test to differentiate between unilateral and bilateral renal artery stenosis in hypertensive patients? *J Hypertens.* 2010;28(3):594-601.

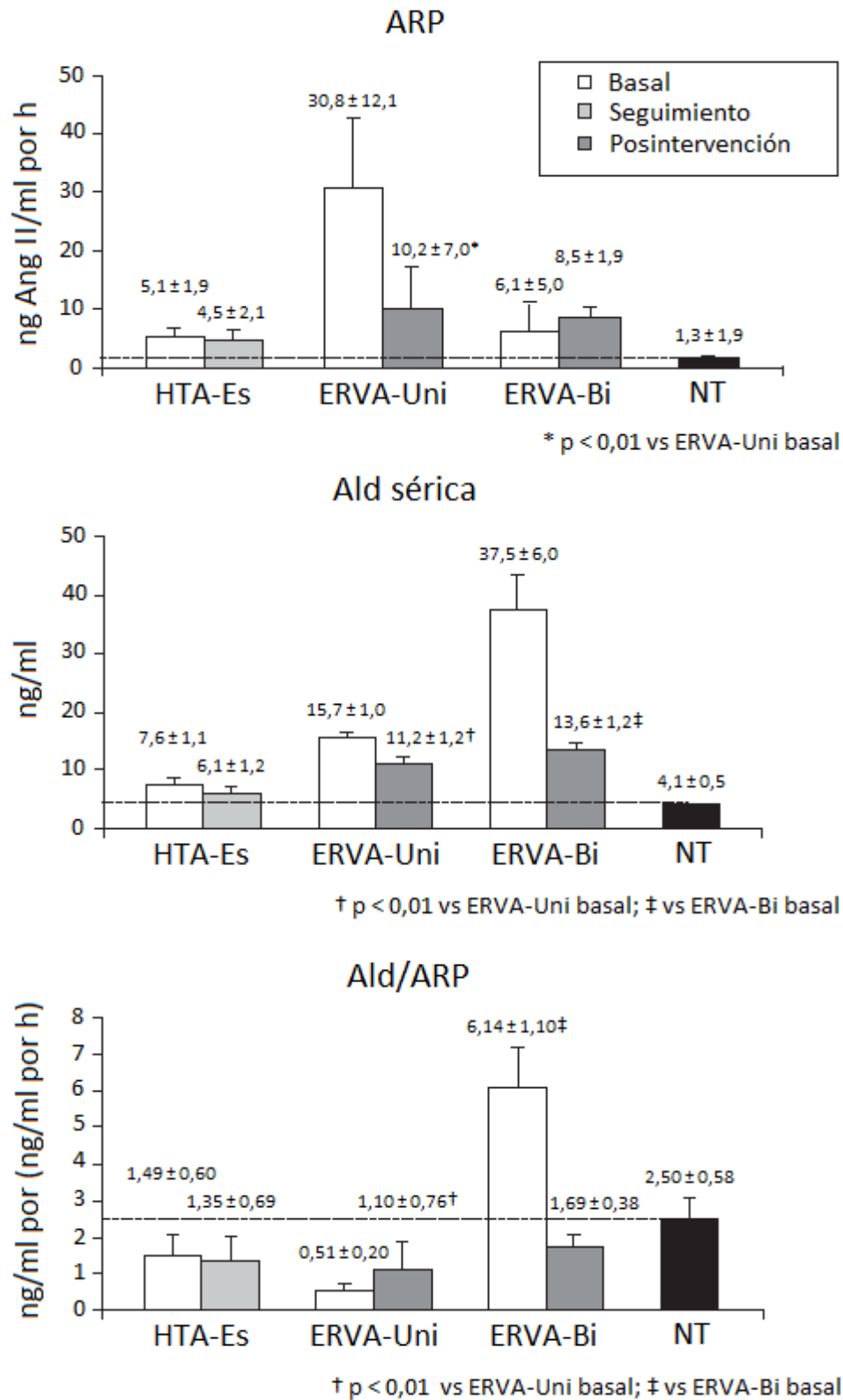
Nota: Valores expresados en media y DS; ^a ANOVA univariado; Los valores basales corresponden solo a los pacientes que se sometieron a angioplastia e implante de estent; El FG se calculó como tasa de FG estimada.

En los pacientes con ERVA-Bi la Ald fue 3 veces menor que su valor basal ($p < 0,001$), mientras que en los individuos con ERVA-Uni la reducción fue menos marcada ($\sim 30\%$, $p < 0,001$).

Por su parte, en el grupo HTA-Es la ARP y los valores de Ald no mostraron cambios significativos en el mismo período.

Finalmente, la ARR **post-intervención** fue significativamente mayor en el grupo ERVA-Uni y significativamente menor en el grupo ERVA-Bi, en comparación con los datos basales.

En la **Figura 23** se **representan** los anteriores resultados, considerando la ARP, la Ald sérica y la ARR **post-intervención**.

Figura 23. ARP, valores Ald sérica y ARR **post-intervención**.

Fuente: Kotliar C, Inserra F, Forcada P, *et al.* Are plasma renin activity and aldosterone levels useful as a screening test to differentiate between unilateral and bilateral renal artery stenosis in hypertensive patients? *J Hypertens.* 2010;28(3):594-601.

7.2. Proyecto II

7.2.1. Estudio de pacientes

7.2.1.1. Características de la población

Se **estudió** una población inicial de 147 individuos hipertensos que asistieron a una evaluación hemodinámica programada **por** sospecha de enfermedad aterosclerótica en territorios carotídeos y/o coronarios.

Luego de aplicar los criterios de selección (exclusión de 8 pacientes) fueron incluidos sucesivamente 28 individuos hipertensos asintomáticos para la ERVA. La prevalencia de ERVA en esta población fue del 24%, aunque esto no representó un valor de HTARV, sino un impacto no significativo de la aterosclerosis, **al tratarse** de lesiones < 40% de reducción de la luz, cuya prevalencia no **ha sido** documentada **previamente**. A continuación se incluyó un grupo de 22 pacientes hipertensos cuyas arterias no presentaron lesiones, siendo sus características basales similares a las del grupo con ERVA. Entre estas características se incluyeron el género, la edad, la PA, los factores de riesgo cardiovascular (como tabaquismo, dislipidemia e índice de masa corporal -IMC) y el tratamiento antihipertensivo, según se muestra en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Características basales de la muestra analizada en el Estudio de pacientes del Proyecto II.

Característica basal	Pacientes		
	ERVA (n=28)	AN (n=22)	p
Femenino [n (%)]	13 (46,4)	11 (52,0)	1,000
Edad (años)	55,0 ± 9,0	54,0 ± 8,0	0,680
PAS/PAD (mm Hg)	145,5 ± 6,4/93,0 ± 4,6	144,2 ± 4,8/93,6 ± 3,0	0,430/0,590
Tabaquistas [n (%)]	10 (35,0)	8 (32,0)	1,000
Dislipidemia [n (%)]	7 (25,0)	6 (27,7)	1,000
(IMC (kg/m ²))	28,0 ± 7,0	28,5 ± 5,2	0,780
Número de drogas antihipertensivas*	2,5 ± 1,5	2,0 ± 1,0	0,180

Fuente: Elaboración propia.

Nota: *La distribución de diferentes tipos de fármacos no mostró diferencias significativas entre los grupos.

7.2.1.2. Análisis de linfocitos T y de CD

Las MC fueron aisladas de sangre periférica de pacientes con ERVA y con AN.

En la **Tabla 13** se muestran los resultados obtenidos, describiendo su distribución, en función a los datos ya publicados por Kotliar *et al*²⁸⁸.

Tabla 13. Distribución de células inmunológicas según *cluster* de diferenciación en sangre periférica de pacientes con ERVA y pacientes con arterias renales normales.

Marcador inmunológico	ERVA (n=28, x 10 ⁶ células/l)	AN (n=22, x 10 ⁶ células/l)	p
CD3	1317,90 ± 29,20	599,20 ± 11,80	< 0,001
CD4	911,60 ± 77,60	309,70 ± 28,90	< 0,001
CD83	131,40 ± 12,80	79,20 ± 10,40	< 0,001
CD86	401,70 ± 47,10	78,00 ± 9,80	< 0,001
S-100	102,30 ± 17,90	109,40 ± 16,30	0,150
CD8	109,00 ± 37,90	119,30 ± 13,00	0,220
CD25	86,90 ± 5,40	90,20 ± 9,60	0,130
CD4+/CD8+	8,30 ± 1,40	3,40 ± 0,90	< 0,001
CD25+/CD4+	0,09 ± 0,02	0,29 ± 0,09	< 0,001

Fuente: Kotliar C, Juncos L, Inserra F, *et al.* Local and systemic cellular immunity in early renal artery atherosclerosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(2):224-30.

El número de células CD3+, población total de células T, fue 2,2 veces mayor en el grupo con ERVA respecto del grupo con AN ($p < 0,001$). De manera similar, las células CD4+, células T maduras, se hallaron significativamente incrementadas, cerca de 2,9 veces en el grupo con ERVA respecto de los pacientes con AN ($p < 0,001$). Las células CD86+, marcadores de APC maduras, fueron 5,1 veces más elevadas en los pacientes con ERVA, en comparación con el grupo de arterias renales normales ($p < 0,001$). Consistentemente con estos hallazgos, el número de células CD83, marcador de CD activadas, fue 1,4 veces mayor en los pacientes con ERVA, comparados con aquellos con AN ($p < 0,001$).

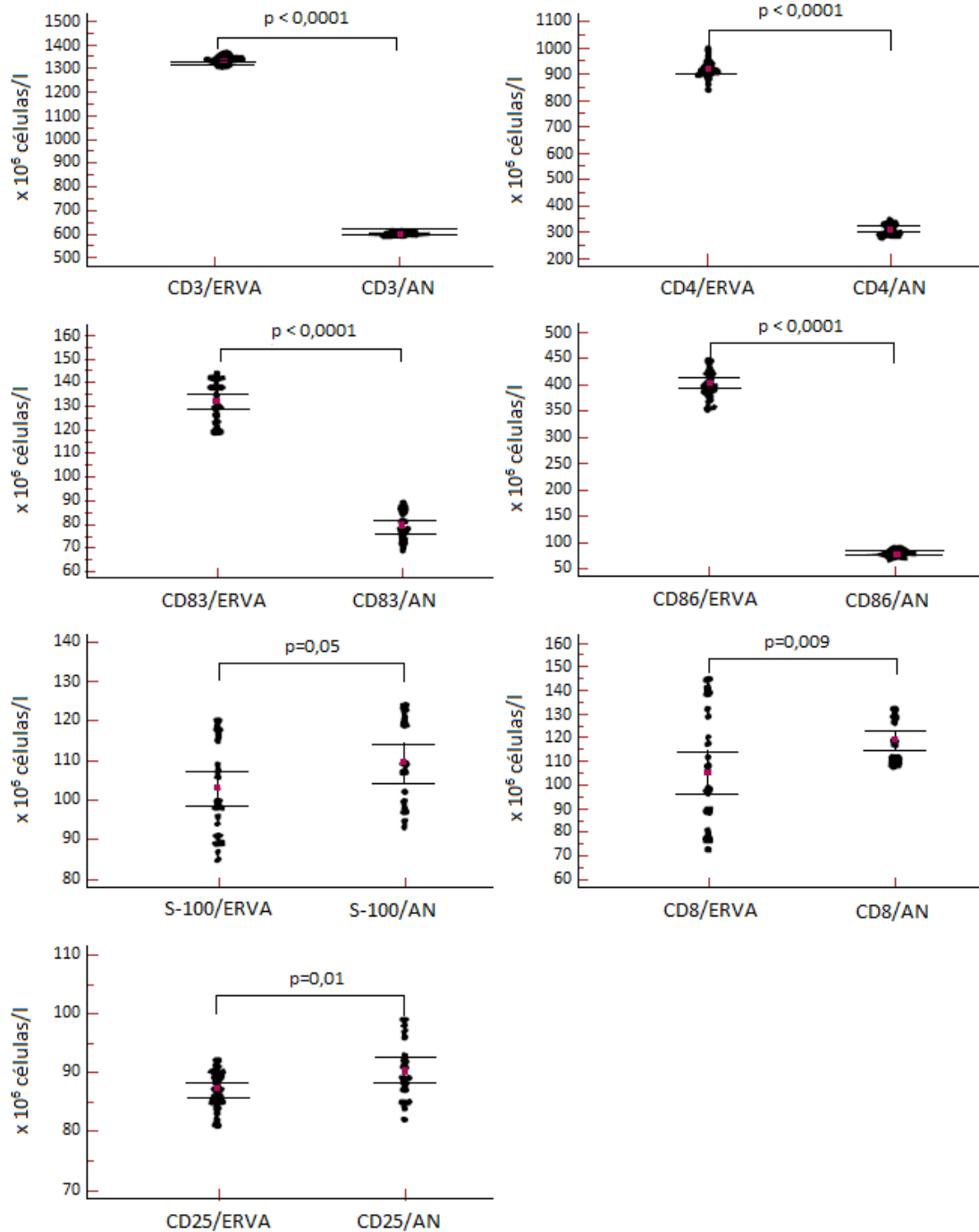
Por su parte, la relación CD4+/CD8+ fue 2,4 veces mayor en el primer grupo respecto del segundo ($p < 0,001$), debido al número aumentado de linfocitos CD4+ ($p < 0,001$) y a la ausencia de diferencia en el número de células CD8+ ($p > 0,05$).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el número de células CD25+, un marcador de los LTr, así como tampoco en el número de células S-100+ ($p > 0,05$), un marcador de CD y de macrófagos, aunque también descrito en algunas células endoteliales y gliales.

Los resultados de los marcadores enumerados se muestran individual y comparativamente en la **Figura 24**.

Figura 24. Marcadores de inmunidad celular.

Representación de cada marcador inmunológico evaluado en las muestras de sangre periférica de pacientes con ERVA y en aquellos con AN.



Fuente: Kotliar C, Juncos L, Inserra F, *et al.* Local and systemic cellular immunity in early renal artery atherosclerosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(2):224-30.

Nota: Los valores medios se muestran como puntos rojos.

7.2.2. Estudio de arterias *post mórtem*

7.2.2.1 Características de la población

Para el estudio se incluyeron 21 muestras de arterias con ERVA a partir de tejidos provenientes de individuos seleccionados, según similar distribución de características basales correspondientes al Estudio de pacientes (género, edad, antecedentes de HTA y de evolución asintomática para la ERVA). Los datos recogidos para estas muestras se compararon con los de otros provenientes de 21 individuos con AN, también apareados según sexo, edad y antecedentes de HTA y de evolución asintomática para la ERVA.

A continuación se puntualizan las acepciones conceptuales para la definición de algunas de las características basales consideradas:

- HTA: según lineamientos del *Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC) VII*²⁸⁹ y/o tratamiento actual con fármacos antihipertensivos.
- Fumadores: personas con antecedentes de tabaquismo ≥ 5 paquetes/año.
- Dislipidemia: c-LDL > 160 mg/dl y/o triglicéridos en ayunas > 200 mg/dl en pacientes no tratados y en hipertensos con niveles normales de las arterias renales. **(no se entiende aquí, son niveles normales de qué? de lípidos?)**

En la **Tabla 14** se muestran las características basales de las muestras arteriales incluidas en el Estudio de arterias *post mortem*, en comparación con los pacientes incluidos en el Estudio de pacientes del mismo proyecto. Se observó similitud entre estos grupos según su discriminación entre la ERVA y las AN.

Tabla 14. Características basales de la muestra analizada en el Estudio de arterias *post-mortem* del Proyecto II.

Característica basal	Pacientes			Grupo <i>post-mortem</i>			p Pacientes vs <i>post mortem</i>
	ERVA (n=28)	AN (n=22)	p	ERVA (n=21)	AN (n=21)	p	
Femenino [n (%)]	13 (46,4)	11 (52,0)	1,000	9 (42,8)	11 (47,6)	0,750	ERVA=1,000; AN=0,410
Edad (años)	55,0 ± 9,0	54,0 ± 8,0	0,680	56,0 ± 7,2	55,5 ± 6,8	0,810	ERVA=0,210; AN=0,510
PAS/PAD (mm Hg)	145,5 ± 6,4/93,0 ± 4,6	144,2 ± 4,8/93,6 ± 3,0	0,430/0,590	144,0 ± 3,2/95,0 ± 5,1	145,0 ± 3,8/95,0 ± 4,4	0,360/1,000	ERVA=0,330/0,150; AN=0,540/0,220
Tabaquistas [n (%)]	10 (35,0)	8 (32,0)	1,000	7 (30,0)	7 (30,0)	1,000	ERVA=1,000; AN=1,000
Dislipidemia [n (%)]	7 (25,0)	6 (27,7)	1,000	7 (33,3%)	7 (33,3)	1,000	ERVA=0,540; AN=0,740
IMC (kg/m ²)	28,0 ± 7,0	28,5 ± 5,2	0,780	27,8 ± 4,9	28,2 ± 5,0	0,790	ERVA=0,910; AN=0,840
Número de drogas antihipertensivas*	2,5 ± 1,5	2,0 ± 1,0	0,180	2,0 ± 1,0	1,5 ± 1,0	0,110	ERVA=0,190; AN=0,110

Fuente: Kotliar C, Juncos L, Inserra F, *et al.* Local and systemic cellular immunity in early renal artery atherosclerosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(2):224-30.

Nota: *La distribución de diferentes tipos de fármacos no mostró diferencias significativas entre los grupos.

7.2.2.2. Análisis de marcadores de inmunidad

En la **Tabla 15** se muestra la distribución de los marcadores de inmunidad evaluados en las muestras tisulares.

Tabla 15. Distribución de los marcadores de inmunidad evaluados en las muestras tisulares.

Marcador inmunológico	ERVA (n=21, x 10 ⁶ células/l)	AN (n=21, x 10 ⁶ células/l)	p
CD3	91,80 ± 10,20	18,90 ± 2,60	< 0,001
CD4	81,40 ± 8,60	19,10 ± 2,80	< 0,001
CD83	34,20 ± 6,30	6,10 ± 2,10	< 0,01
CD86	11,50 ± 3,70	1,20 ± 0,50	< 0,001
S-100	7,90 ± 1,20	1,70 ± 0,40	< 0,001
CD8	16,60 ± 3,40	15,50 ± 5,70	0,450
CD25	12,70 ± 4,50	11,70 ± 6,00	0,540
CD4+/CD8+	3,60 ± 0,70	1,50 ± 0,30	< 0,001
CD25+/CD4+	0,15 ± 0,08	0,61 ± 0,02	< 0,001

Fuente: Kotliar C, Juncos L, Inserra F, *et al.* Local and systemic cellular immunity in early renal artery atherosclerosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(2):224-30.

La densidad de células CD3+ fue 5 veces mayor en las muestras con ERVA respecto de aquellas sin ateromatosis ($p < 0,001$). Asimismo, el contenido de células CD4+ en placas renales fue 4 veces mayor que en las AN ($p < 0,001$).

El número de células T CD8+ fue moderadamente mayor en las arterias con ERVA, aunque siendo estadísticamente equivalente ($p > 0,05$) al de las AN. Por lo anterior, se encontró que la relación CD4+/CD8+ dentro de las arterias con placas fue 2,4 veces mayor que en las AN ($p < 0,001$).

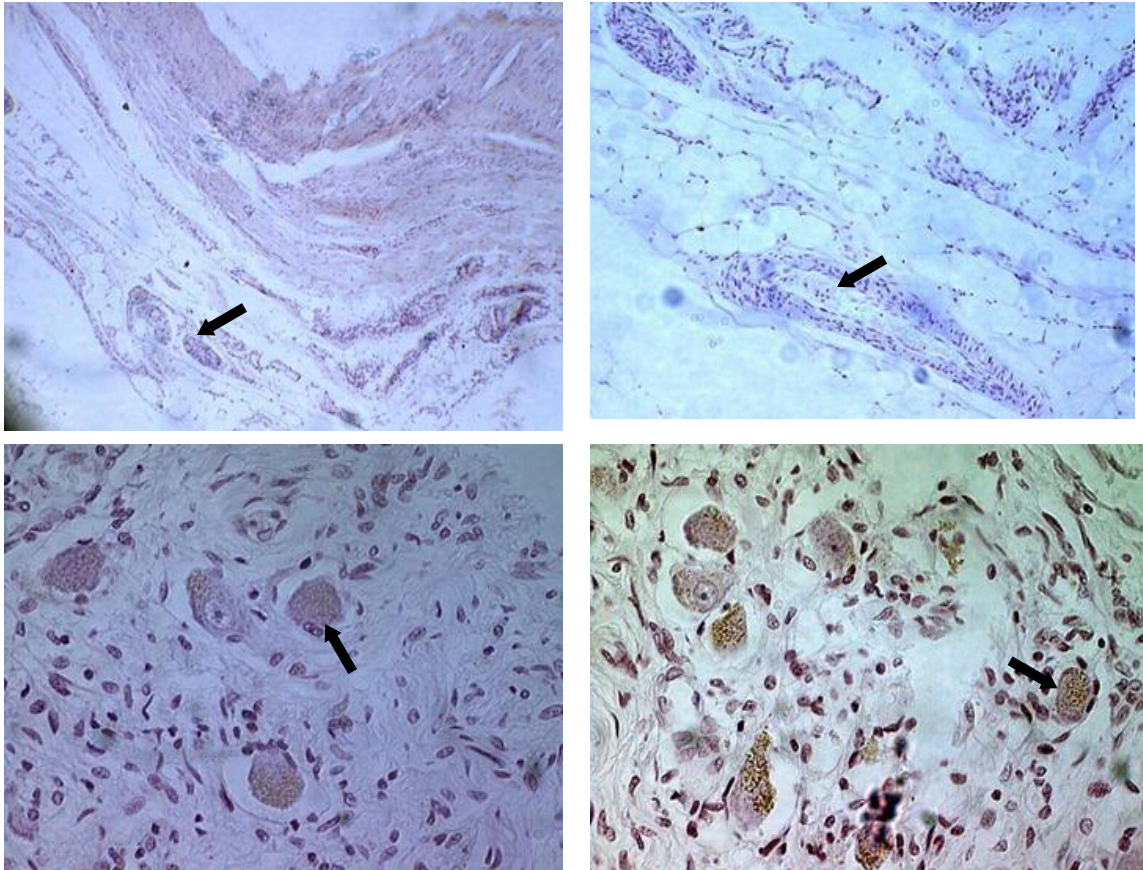
Por su parte, no se hallaron diferencias significativas en la expresión de CD25+ entre ambos grupos ($p > 0,05$). El contenido intraplaca de células S-100+ fue 4,6 veces mayor comparado con el de las AN ($p < 0,001$), sugiriendo que la presencia de CD sería marcadamente más abundante en el primer grupo. Consistentemente, en las muestras de lesiones arteriales el número de células CD86+ fue 9,6 veces mayor ($p < 0,001$) y el de células CD83+, 5,6 veces mayor ($p < 0,001$), ambas comparadas con el encontrado en las muestras de AN.

En la **Figura 25** se presentan, a modo de ejemplo, algunas fotografías representativas de los análisis tisulares.

Figura 25. Ejemplos de algunas de las muestras de arterias renales analizadas con ateromas y diferentes técnicas de marcación inmunológica.

(Arriba izquierda). Muestra (M) 1. Arteria renal derecha (RD); CD4+. (Arriba derecha). M9. RD; CD4+. (Abajo izquierda). M9. RD; CD86+. (Abajo derecha). M11. Arteria renal izquierda (RI); CD86+.

(Carol, no sé qué indican las flechas. Creo que la leyenda debería decir "...en la fig...la flecha indica tal o cual cosa, etc.)



Fuente: Fotografías tomadas como parte del trabajo empírico de Kotliar C, Juncos L, Inserra F, *et al.* Local and systemic cellular immunity in early renal artery atherosclerosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(2):224-30.

Nota: Las flechas negras indican las células correspondientes a cada muestra de arterias renales presentada.

7.3. Proyecto III

7.3.1. Población

Las características de la muestra han sido descritas en el Proyecto II (correspondiente al Estudio de arterias *post mórtem*). Se evaluaron 21 arterias renales con placas de ateroma provenientes de individuos con las características citadas, comparándose con un grupo control de 21 arterias renales sanas, provenientes de individuos de similares características basales y clínicas.

7.3.2. Anatomía macroscópica renal

Cada riñón estudiado disponía de una arteria renal única (con 2 arterias polares) y una única vena renal, emergentes de la aorta abdominal y de la vena cava inferior, respectivamente. En su mayoría, las arterias se originaron a la altura de la vértebra lumbar 2 (L2), encima del nacimiento de la arteria mesentérica superior con la vena anterior a la arteria, siguiendo ambos vasos un curso anterior a la pelvis renal antes de penetrar en el hilio renal.

Se observó que ambas arterias renales se dividieron en un promedio de $5 \pm 2,1$ arterias segmentarias justo antes del hilio. El 60% de los ateromas **estaban situados** en el *ostium* o **presentaban una** localización periostial.

Los análisis histológicos del parénquima renal se desarrollaron en el contexto del procedimiento de las autopsias, pero no se incorporaron al análisis de este proyecto por no **estar** en el contexto de la hipótesis de trabajo.

7.3.3. Descripción anatomohistológica de las placas de ateroma

Se observaron lesiones ateroescleróticas predominantemente de tipo V, fibrosas, con gran componente de fibrosis reticulada (FR). Los ateromas observados no se presentaron obstructivos *in situ*, encontrándose que 18 de 20 placas analizadas fueron mixtas, complicadas e inestables. Se observó un marcado predominio de composición fibrosa en las placas.

En 2 ateromas se **identificaron** estrías grasas, con predominio de crecimiento excéntrico, alargamiento compensatorio de la pared (remodelamiento) y extensas áreas de neovascularización (*vasa vasorum*), coincidiendo con una incidencia **casi generalizada** (este término de “casi generalizada” no me gusta, yo pondría una **incidencia muy marcada**) de HIP, áreas de calcificaciones y metaplasias óseas (> 55%).

Si bien se observó la presencia de núcleo lipídico avascular en algunas placas (40%), predominaron las áreas de calcificaciones y las HIP, las que se asociaron a la rotura de la envoltura fibrosa o de los capilares con desarraigo del núcleo y abundantes células espumosas desordenadas. Estas **(quiénes son estas...)** se hallaron

incluso en los hombros de las placas donde el contenido en Ca⁺⁺ se encontró elevado, también con zonas de hemorragias y necrosis.

En la **Tabla 16** se describen y clasifican (según la AHA¹¹⁸) los ateromas renales de cada una de las muestras evaluadas en este proyecto.

Tabla 16. Caracterización de los ateromas renales analizados usando la clasificación propuesta por la AHA.

Identificación	Descripción	Clasificación AHA (Tipo)
M1.RD	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis moderada de la media. - FR. - Lámina elástica interna (LEI) duplicada en sectores. - Linfocitos en focos (LF) ++. - Vascularización adventicial intensa (VA-I). 	Vc
M2.RI	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis moderada con calcificaciones. - Núcleo necrótico. - Fibrosis marcada de la media. - FR. - LEI duplicada y fragmentada. - FE fragmentadas y disgregadas por fibrosis. - LF++. - VA-I. 	Vc
M3.RI	<ul style="list-style-type: none"> - HIP. - Placa fibrolipídica. - Disrupción superficial del endotelio. - Linfocitos diseminados (LD)+++. - VA-I. 	IV
M4.RI	<ul style="list-style-type: none"> - HIP. - Placa fibrolipídica. - Hiperplasia marcada en el músculo liso y el subendotelio. - LF+++. - VA-I. 	VIb
M5.RD	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis moderada con calcificaciones. - Núcleo necrótico. 	Vc

Identificación	Descripción	Clasificación AHA (Tipo)
	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis marcada de la media. - FR. - LEI duplicada y fragmentada. - FE fragmentadas y disgregadas por fibrosis. - LF+++. - VA-I. 	
M6.RI	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis marcada. - FR. - Escasos lípidos. - LF++. - Vascularización adventicial moderada (VA-M). 	Vc
M7.RD	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis con núcleo lipídico prominente. - VA-I. 	IV
M8.RI	<ul style="list-style-type: none"> - FR. - Núcleo lipídico pequeño. - Escasos lípidos. - LF. 	Vc
M9.RD	<ul style="list-style-type: none"> - FR. - Escasos lípidos. - LF. - LEI fragmentada. - VA-I. 	Vc
M10.RD	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis moderada con calcificaciones. - FR. - Fibrosis marcada de la media. - LEI duplicada y fragmentada. - LF++. - VA-I. 	Vc
M11.RI	<ul style="list-style-type: none"> - FR intensa con disrupción superficial del endotelio. - LD+++. - VA-I. 	Vc
M12.RD	<ul style="list-style-type: none"> - HIP. - Placa fibrolipídica. - LF++. - VA-I. 	IV

Identificación	Descripción	Clasificación AHA (Tipo)
M13.RD	<ul style="list-style-type: none"> - FR. - Calcificaciones. - Lesión muy fibrosa. - LD+. - VA-M. 	Vc
M14.RI	<ul style="list-style-type: none"> - Placa cicatrizal predominante. - Fibrosis y calcificaciones. - Disrupción del endotelio. - LF+. - Vascularización adventicial leve (VA-L). 	Vc
M15.RD	<ul style="list-style-type: none"> - FR. - Placa fibrolipídica. - LEI duplicada y fragmentada. - LF+++. - VA-I. 	Vc
M16.RI	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis moderada con núcleo necrótico. - Fibrosis marcada de la media. - FR. - LEI duplicada y fragmentada. - FE fragmentadas y disgregadas por fibrosis. - LF++. - VA-I. 	Vc
M17.RD	<ul style="list-style-type: none"> - FR generalizada. - LEI fragmentada. - FE disgregadas por fibrosis. - LF+. - LD+++. 	Vc
M18.RI	<ul style="list-style-type: none"> - Fibrosis intensa con hemorragias en la IV adventicia. - Núcleo lipídico con hemorragias. - VA-I. 	
M19.RI	<ul style="list-style-type: none"> - Placa fibrótica con núcleo necrótico. - FR. - LF+++. - FE disgregadas por fibrosis. - VA-I. 	Vc
M20.RD	<ul style="list-style-type: none"> - Placa complicada con áreas de trombosos. 	Vc

Identificación	Descripción	Clasificación AHA (Tipo)
	<ul style="list-style-type: none"> - Disrupción de la cápsula. - LD+. - LEI fragmentada. - VA-L. 	
M21.RI	<ul style="list-style-type: none"> - FR intensa. - Escasos lípidos. - LF+++. - Hemorragias en la adventicia. - VA-I. 	IV

Fuente: Elaboración propia.

De esta manera, las características más importantes de las lesiones evaluadas

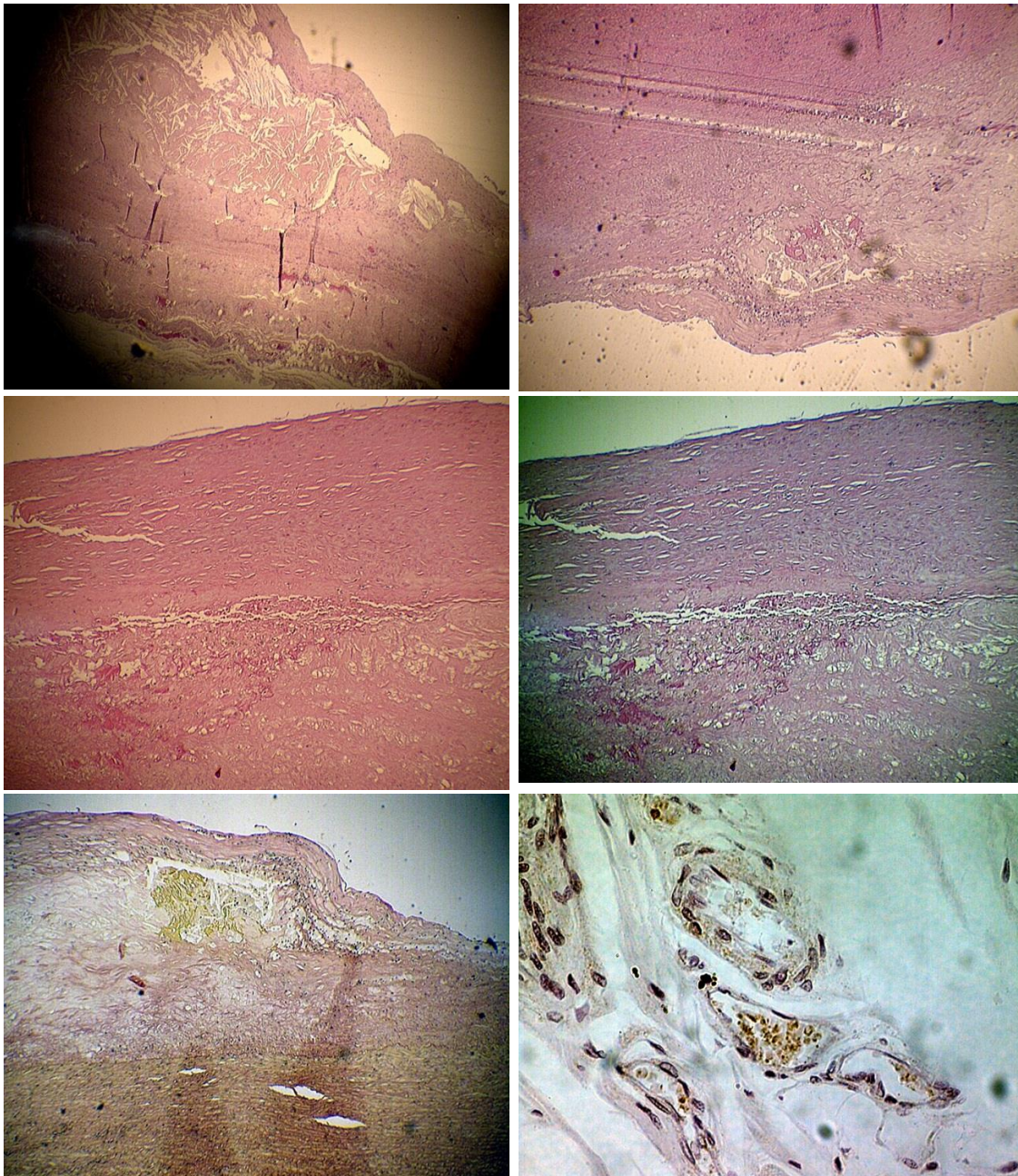
son:

1. Predominio de lesiones fibróticas en un patrón definido como FR por la intensa trama observada.
2. Aterotrombosis avanzada caracterizada por placas de crecimiento excéntrico con alargamiento compensatorio de la pared (remodelamiento) y extensas áreas de neovascularización (*vasa vasorum*), coincidiendo con abundante incidencia de HIP.
3. Ausencia de estrías grasas **-en 2 de los 21 ateromas estudiados-** y escaso **número** de núcleos lipídicos, **con predominio de** lesiones fibrosas.
4. Abundancia de infiltrados linfocíticos dispuestos en focos (LF).

En la **Figura 26** se presentan, a modo de ejemplo, **imágenes de** los análisis tisulares.

Figura 26. Ejemplos de algunas de las características histológicas observadas en los ateromas analizados. **(no sería conveniente colocar algunas flechas en las fotos e indicar al lector abajo lo que uno quiere mostrar?)**

(Arriba izquierda). M1. RD. H&E. (Arriba derecha). M10. RD. H&E. (Medio izquierda). M15. RI. H&E. (Medio derecha). M21. RI. H&E. (Abajo izquierda). M5. RI. Orceína. (Abajo derecha).



Fuente: Fotografías tomadas como parte del trabajo empírico de Kotliar C, Juncos L, Inserra F, *et al.* Local and systemic cellular immunity in early renal artery atherosclerosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(2):224-30.

8. DISCUSIÓN

8.1. Proyecto I

Los resultados de este estudio permitieron identificar diferencias significativas en los niveles plasmáticos de Ald y ARP entre individuos con HTA-Es y con ERVA-Uni y ERVA-Bi. Los pacientes con ERVA-Uni mostraron una marcada elevación de la ARP con un inadecuado valor normal de Ald, mientras que aquellos con ERVA-Bi presentaron un valor inesperadamente elevado de Ald acompañado de valores normales-elevados de ARP, aunque significativamente menores que en el grupo con enfermedad unilateral. En los hipertensos esenciales sin ERVA los valores de Ald y de ARP fueron menores que en los que presentaban ERVA, pero mayores que los correspondientes a los controles normotensos. En consecuencia, la valoración de la ARR en este estudio fue capaz de diferenciar entre hipertensos esenciales sin ERVA, hipertensos con ERVA-Uni, hipertensos con ERVA-Bi y normotensos.

Las observaciones clásicas acerca del modelo de Golblatt de 2 riñones-1 clip, que clínicamente se correspondería con la HTARV con estenosis unilateral, sostenían que la HTA era iniciada por la activación del SRAA en el riñón con el clip y que la remoción de este último se asociaba con la rápida normalización de la PA²⁹⁰. Sin embargo, Wilson y Byrom²⁹¹ demostraron que si se desarrolla daño tisular y vascular en el riñón contralateral, subsecuente al estímulo del SRAA u otros mecanismos, la remoción del clip no era suficiente para lograr la normalización de la PA.

De la misma manera, en la descripción original del modelo de Golblatt de 2 riñones-2 clips se atribuye la elevación de la PA a la retención de volumen y, en consecuencia, a la expansión de fluidos. Esta situación activaría un mecanismo de retroalimentación negativo sobre el SRAA, resultando en la expresión de valores normales de ARP, aunque mayores a los esperados en condiciones de sobrecarga de volumen. En el modelo de estenosis unilateral de Golblatt la elevación de la PA es el resultado del mecanismo vasoconstrictor mediado por el estímulo hiperreninémico asociado a la reducción de la PA renal posestenótica^{179,290}.

Observaciones recientes mostraron que, en ciertas condiciones, la Ald activaría mecanismos no genómicos, especialmente el de la movilización de Ca^{++} . Algunas de las características que se han vinculado a este hecho son el *stress* oxidativo, la ingesta aumentada de sal, una elevada ARP y condiciones vasculares patológicas preexistentes. Este efecto novel de la Ald podría representar un mecanismo relevante en la comprensión de la fisiopatología del SRAA en la ERVA-Bi.

El mecanismo de presión/natriuresis también parece estar activo en la ERVA-Uni pero no en el compromiso bilateral. En el primer caso, este mecanismo estaría involucrado en la eliminación del exceso del Na^+ retenido por el riñón con el clip. Esta eliminación favorecería la regresión del exceso de volumen, manteniéndose el volumen de fluido extracelular dentro del rango normal y desactivando el mecanismo de retroalimentación negativa sobre el SRAA²⁹².

De esta manera, en la ERVA-Uni los niveles marcadamente elevados de Ang II circulante estimularían la liberación de Ald. En contraste, en la ERVA-Bi la presión *post-*

estenótica se hallaría reducida en ambos riñones, siendo incapaces de revertir el exceso de Na^+ y de volumen con la consecuente inhibición de la secreción de renina²⁹².

En el presente estudio, los datos acerca de los pacientes con ERVA-Uni sugieren que la HTA resultaría de un mecanismo similar al descrito por Goldblatt en el modelo de 2 riñones-1 clip. El incremento **significativo** de los valores de la ARP asociado a la Ald normal-alta y una ARR < 0,5 **sugieren una forma de** diferenciar el compromiso unilateral del bilateral. En los pacientes con ERVA-Bi la ARP fue normal, mientras que los niveles de Ald fueron al menos 2 veces mayores a los hallados en la ERVA-Uni y la ARR > 3,7, con un valor promedio 10 veces mayor que en aquellos con enfermedad unilateral. En los pacientes con HTA-Es la ARP y la Ald fueron 3 y 2 veces mayores, respectivamente, que en la NT, mientras que la ARR mostró valores intermedios entre 0,5-3,7.

Por su parte, los resultados del análisis con curvas ROC demostraron claramente que la ARR permite discriminar con alta sensibilidad y especificidad (> 95%) entre pacientes con ERVA-Uni, ERVA-Bi, HTA-Es y aquellos con NT. Si bien en estudios previos se reconoció a la ARR como un efectivo método de detección de hiperaldosteronismo primario en pacientes con hipokalemia o HTAR²⁹³⁻²⁹⁵, no ha sido considerada como una prueba útil para diferenciar la ERVA-Uni de la ERVA-Bi o la ERVA de la HTA-Es.

Pese a que el objetivo de este estudio fue analizar las condiciones fisiopatológicas asociadas a la activación diferencial del SRAA, se considera que el principal hallazgo se relaciona con la demostración de que la ARR puede constituir una alternativa útil de diagnóstico para discriminar entre las condiciones mencionadas. Los

valores elevados de la ARR hallados en este estudio no han sido descritos previamente en la ERVA-Bi, aunque sí en situaciones de enfermedad renal crónica²⁹⁵. El análisis de los factores responsables de la elevación de la Ald asociada a una renina muy disminuida en la enfermedad bilateral **necesita** un mayor desarrollo. Los candidatos potenciales para explicar estas observaciones podrían ser los niveles de ACTH, la activación del SRAA y el nivel de K⁺ plasmático, todos ellos reguladores de la secreción de Ald ²⁹⁶⁻²⁹⁸.

En primer lugar, y aunque es clínicamente poco probable, no puede excluirse la participación de la ACTH. En segundo término, como es sugerido a partir de los valores de la ARP obtenidos, la actividad del SRAA se hallaría parcialmente reducida, corroborándose esto en la ERVA-Bi, por lo que quedaría invalidada la posibilidad de atribuir el incremento de la Ald a una hiperactivación del sistema. Sin embargo, es probable una discrepancia **sustancial** entre la ARP y la actividad local suprarrenal de la renina, según su descripción en estudios en riñones y miocardio^{299,300}. El tercer factor potencial, el nivel de **kalemia** en las condiciones analizadas depende en esencia de la excreción de K⁺, ya que su ingesta fue similar en los pacientes con ERVA-Uni y ERVA-Bi.

Los niveles marcadamente elevados de Ald en la la ERVA-Bi podrían asimismo estar relacionados con un estado de acidosis **metabólica, no infrecuente** en estas condiciones. En individuos normales, incluso una muy modesta acidosis metabólica resulta en incrementos **marcados** de la Ald, que no son acompañados de elevaciones de la ARP y se presentan independientes del K⁺ plasmático³⁰⁰, perfil similar al descrito en nuestros pacientes con ERVA-Bi. Pese a ello, el estudio en sí no permitió dilucidar entre los mecanismos involucrados en el aumento de los niveles de Ald.

En concordancia con una comunicación previa¹²⁸, en los grupos con ERVA-Uni y en aquellos con ERVA-Bi la corrección de la estenosis redujo dramáticamente la PA, aunque sin alcanzar valores normales. Esto sucedió de manera concomitante a una reducción del número de drogas antihipertensivas. Posteriormente a la resolución de la estenosis, los niveles de la Ald y de la ARP se redujeron significativamente en ambas patologías, aunque permanecieron por encima de los valores observados en el grupo de HTA-Es. Estos hallazgos sugieren que la restauración del flujo sanguíneo normal al riñón facilitarían la excreción de Na⁺ y la reducción consecuente del volumen extracelular que se hallaba incrementado, corrigiéndose de forma parcial el valor de la ARP.

Respecto de las limitaciones del presente estudio, debe considerarse el efecto potencial del tratamiento farmacológico antihipertensivo de rescate. Al respecto, aunque dependiendo del nivel preexistente de activación del SNS, el uso de α -bloqueantes adrenérgicos podría influir sobre la relación entre la PAM, la liberación de renina y la relación natriuresis-presión. Asimismo, esta interferencia medicamentosa podría alterar la interpretación y los resultados de este estudio en el caso de aquellos individuos que debieron recibir drogas durante el período de lavado de fármacos. Sin embargo, como hecho atenuante a este potencial factor confundidor, se observó una distribución similar de drogas α -bloqueantes en ambos grupos del estudio (aproximadamente 55% en cada uno).

Tampoco no puede descartarse una posible influencia de la actividad simpática renal sobre los parámetros evaluados. En este contexto, la evidencia publicada ha señalado la presencia de un incremento de la activación simpática central, mediada

por señales aferentes originadas en el riñón isquémico³⁰¹. Además, ciertos estudios experimentales **han demostrado** que la Ang II endógena actúa en los AT1R del SNC, estimulando tónicamente la actividad de los nervios simpáticos renales e influenciando el control del barorreflejo arterial. El resultado de la activación final de los nervios simpáticos renales dependería del nivel de activación del SRAA, lo que representa un claro ejemplo del concepto de sumatoria de sistemas^{107,302}.

El análisis de los datos provistos en el presente estudio permitire sugerir tres escenarios basados en la fisiopatología de la enfermedad y en los niveles de ARR:

1. $ARR < 0,5$ para la ERVA-Uni.
2. $ARR > 3,7$ para la ERVA-Bi.
3. $0,5 < ARR < 3,7$.

Esta última representa una situación que no podría diferenciarse claramente de las anteriores, pudiendo corresponderse, en su mayoría, a hipertensos esenciales sin ERVA. En el caso de la ERVA-Bi, podrían indicarse estudios angiográficos, incluyendo la posibilidad de ATRP, considerando a estos individuos en riesgo de progresar a falla renal. En el extremo opuesto, ante una posible HTA-Es sin ERVA se sugeriría una evaluación mediante otros métodos no invasivos a fin de evitar posibles efectos colaterales o riesgos innecesarios atribuibles a la evaluación arteriográfica.

En conclusión, la activación del SRAA parece manifestarse diversamente, según **sea unilateral o bilateral** el compromiso aterosclerótico renal. De acuerdo a los presentes datos, los pacientes con ERVA-Bi se asociarían con valores de Ald aproximadamente 2 veces mayores que aquellos pacientes con ERVA-Uni, aunque dichos valores no serían consistentes con los niveles de la ARP. Estos pacientes

también presentarían elevaciones significativas de la ARR similares a las observadas en los estados de hiperaldosteronismo, que pueden ser parcialmente corregidas mediante estrategias de revascularización.

Se requerirá de nuevas evaluaciones para confirmar la implicancia de estos hallazgos sobre las estrategias de intervención farmacológica a partir del bloqueo de mineralocorticoides. Las mismas estarían respaldadas por fundamentos fisiopatológicos y serían consistentes con los postulados originales de Goldblatt que atribuían la HTA a un mecanismo volumen dependiente en el modelo de enfermedad bilateral.

8.2. Proyecto II

Los resultados de investigaciones recientes avalan el rol de los eventos inmunológicos en el desarrollo de la enfermedad arterioesclerótica³⁰³⁻³⁰⁷. En consistencia con dicha premisa, los resultados presentados en el Proyecto II permiten sugerir la existencia de mecanismos inmunológicos celulares en fases tempranas de la ERVA asintomática. Estos datos podrían fundamentar ciertas estrategias inmunomoduladoras como intervención terapéutica para evitar el progreso de esta patología.

En este estudio, la expresión de los marcadores de inmunidad celular en la sangre periférica de pacientes hipertensos con ERVA temprana fue comparada con la de aquellos hipertensos con AN.

Debido a que los resultados podrían mostrar evidencias de actividad celular inmune que reflejasen procesos originados en otros territorios vasculares (extrarrenales), también en una etapa temprana de su desarrollo se analizó la presencia de marcadores de inmunidad celular en ateromas renales obtenidos de necropsias de cadáveres con ERVA, comparándolos con muestras de AN obtenidas de similar manera (necropsias de individuos sin ERVA).

Los niveles de linfocitos T CD4+ y de CD maduras se hallaron significativamente incrementados en la sangre periférica de los individuos con ERVA temprana subclínica, sugiriéndose la participación de mecanismos inmunes y de inflamación. Estos hallazgos fueron consistentes con un aumento en los niveles de células S-100+, un marcador de CD, de aproximadamente 5 veces mayor en las placas de ateroma en comparación con muestras de individuos sin ERVA, en los análisis realizado con especímenes procedentes de necropsias. Asimismo, el análisis de la sangre periférica de los pacientes con ERVA temprana mostró un incremento significativo en células CD83+, marcador de CD maduras, **incremento** previamente descrito en fases avanzadas y sintomáticas de la aterosclerosis³⁰⁷.

El incremento observado en el número de células CD4+ en este estudio podría explicarse mejor a partir del análisis del microambiente de la lesión aterosclerótica, fuente de quimioquinas capaces de estimular su reclutamiento, diferenciación y expansión^{257,308}. Las células CD4+ identificadas, tanto en la sangre periférica como en

las placas procedentes de necropsias, no expresaron CD25, un marcador de activación celular y de los LTr. En relación con estos últimos, los resultados observados sugerirían una posible respuesta de tipo proinmunogénica.

El reconocimiento de LTr ha marcado una nueva etapa en la investigación **sobre** la generación y regulación de una respuesta inmune. Las subpoblaciones de linfocitos T CD4+ se caracterizan por la coexpresión de CD25 y FoxP3. Este último marcador consiste en un factor de transcripción clave en la regulación del perfil de expresión y el comportamiento de los LTr. Hubiera sido necesario el empleo de este marcador en nuestro estudio para concluir fehacientemente **en** una reducción en el porcentaje de LTr en muestras de pacientes con ERVA temprana y avanzada, refiriéndose en términos de probabilidad al ser indicados como CD4+ y CD25. **(Carol, me es confusa esta parte subrayada; entiendo que vos no mediste LTr y que hubiera sido necesario como “indicador de CD4+ y CD25”; qué habría indicado eso,....)**

Cabe añadir que en el análisis de las muestras de placas de ateroma la relación observada de CD25/CD4 fue 4 veces menor en comparación con muestras obtenidas de AN, lo cual sustentaría la idea de un estado proinflamatorio más avanzado. Consistentemente, el aumento observado en la expresión de CD86 (ligandos coestimuladores) en las placas sugiere un estímulo importante inmunogénico para las células T, aparentemente favorecido por el microambiente de la placa.

Los hallazgos en pacientes con y sin ERVA fueron confirmados por los resultados del estudio de las arterias renales. Especialmente, la asociación de los incrementos de las células CD4+ y CD83+ sugiere la presencia de células T y de CD maduras en estadios tempranos del desarrollo de la ERVA. De nuevo, en este caso el

gran número de CD maduras y de células T CD4+ no estuvo acompañado por el incremento de la expresión de las células T CD25+, sugiriendo que las mismas no estarían activadas en estas fases tempranas de la aterosclerosis (de localización renal), a diferencia de lo **comunicado** por otros autores respecto de las fases avanzadas de la enfermedad ^{259,304}.

Ciertas evidencias han demostrado ampliamente que las células T son las células inmunológicas predominantes en las lesiones ateroscleróticas humanas³⁰⁹. También se han identificado incrementos de la presencia de las CD en las regiones más vulnerables de la aterosclerosis³¹⁰. Por el contrario, la reducción de la acumulación de las CD ha sido descrita dentro de la capa íntima, sugiriéndose un efecto protector del desarrollo de la aterosclerosis³¹¹.

Algunos autores consideran que estas células podrían madurar solamente cuando se alojan en el interior de la placa. Según estos conceptos, la interpretación de los resultados de este proyecto podría sugerir que el incremento y posible reclutamiento de las CD cumpliría un rol importante en los estadios iniciales del desarrollo de la ERVA. Los resultados son coincidentes con la presencia de un sistema de interrelaciones de los mediadores inmunoinflamatorios que favorecerían la acción local y sistémica de las CD en la liberación de citoquinas y quimioquinas atrayentes de células T.

En su estudio sobre las arterias de individuos jóvenes y **sano**, Millonig *et al*³¹² describieron una mayor densidad de CD en las áreas de flujo turbulento, especialmente en zonas de bifurcaciones vasculares. Los aspectos mecanicistas descritos previamente en este trabajo **están en consonancia con ese** hallazgo debido a

que el flujo turbulento podría incrementar el tiempo de contacto entre los leucocitos y la pared endotelial lesionada, resultando en el reclutamiento y la transmigración de las células del torrente sanguíneo a través de la pared endotelial.

Por su parte, Weiss *et al*²⁵⁸ describieron factores endoteliales que influyen sobre la adhesión y la migración de las CD dentro de la pared vascular en el inicio del desarrollo de la placa. Estos autores sugirieron que la activación endotelial sería un fuerte promotor de la activación inmune mediada por estas células. Pese a que la identificación de las CD no fue un objetivo específico de este estudio, el análisis de los datos obtenidos indicó que las mismas se hallarían involucradas en la generación de placas renales y en la promoción de una respuesta inflamatoria.

Los cambios inflamatorios son predecibles en el proceso aterosclerótico, incluso en los estadios iniciales de las lesiones denudantes con incremento del espesor de la capa íntima vascular. La respuesta inmune acompañaría, o determinaría quizá, su progresión hacia el desarrollo de una placa de ateroma³¹³.

Más allá del aumento encontrado en la mayoría de los marcadores de inmunidad celular evaluados, es de interés el análisis de un segundo marcador que no mostró incrementos en las poblaciones de ERVA analizadas. Las células T CD8+ no se hallaron aumentadas en las determinaciones de sangre periférica de pacientes con ERVA asintomática ni en los ejemplares de arterias *post-mortem* con ateromatosis. Este resultado permitiría inferir la presencia de una respuesta inmune específica en fases iniciales de esta enfermedad. No obstante, la correspondencia de esta aseveración con el diagnóstico de una etiología autoinmune no pudo evaluarse en este

trabajo, situación que se presenta como objeto de controversia en **otras publicaciones** 314-316.

El incremento de la relación CD4/CD8 parece ser similar al descrito en otras condiciones de fuerte arraigo autoinmune, como en la esclerosis múltiple³¹⁷. Es probable que este resultado se presente vinculado a un mecanismo de diseminación del epítipo desencadenado por la exposición limitada al o a los Ag específicos que inicialmente causarían una respuesta inmune moderada. Dicha respuesta estaría seguida por una mayor exposición antigénica que expandiría el efecto. Estos mecanismos serían compatibles con el desarrollo de eventos locales que acontecerían en áreas discretas sin un compromiso sistémico^{317,318}.

Sin embargo, otra limitación de este estudio residiría en que no se incluyó una metodología específica para la identificación de posibles Ag que desencadenarían la reacción inmune descrita. Este aspecto es de especial interés, dado que actualmente no existe consenso acerca de **la estrategia terapéutica** de la ERVA en estas fases, siendo muy atractivas las posibilidades de intervención para prevenir la evolución de la enfermedad. A tal efecto, son necesarios estudios similares en otros territorios vasculares como el de las arterias coronarias y de las carótidas, con el objetivo de evaluar si existen diferencias en la respuesta inmunológica en fases subclínicas y si pueden identificarse asimismo Ag específicos de esos territorios.

En síntesis, este estudio mostró evidencias de la presencia de mecanismos de inmunidad celular adaptativa en pacientes hipertensos con ERVA temprana, cuyo diagnóstico y evolución podrían eventualmente ser monitoreados a través del análisis de marcadores de inmunidad celular en muestras de sangre periférica. A su vez, estos

resultados podrían fundamentar el desarrollo de investigaciones futuras que **examinen** las intervenciones potencialmente diagnósticas y preventivas en el desarrollo de la ERVA temprana. La relevancia de esta posibilidad clínica podría considerarse acrecentada ante la perspectiva de la falta de consenso respecto del manejo en estadios más avanzados de estas patologías.

8.3. Proyecto III

Los resultados del estudio anatomohistológico de los ateromas renales permitió identificar dos tipos de lesiones en la mayoría de los especímenes, según se puntualizan a continuación:

- FR. **(Un consejo general: siglas que no son “universales” no convendría ponerlas en los títulos- A mi parecer tendría que ir el nombre completo. Distinto es en el texto, donde el lector tiene que tener la hoja de abreviaturas permanentemente al lado)**
- Neovascularización y hemorragias adventiciales.

La intensidad de la fibrosis observada fue descrita por los anatomopatólogos como FR debido a la trama sobrepuesta entre unas fibras y otras, entrelazándose en una enmarañada red en la mayor parte de los tejidos examinados. Asimismo, fue notoria la asociación entre este tipo de ateromas y la presencia de hemorragias especialmente adventiciales, correspondiéndose, en su mayoría, con hemorragias en el

área de la adventicia junto a intensa neovascularización e infiltración linfocítica. **Es conocido que ambas son** consideradas como factores inestabilizadores de la placa.

La neovascularización es la principal herramienta de la placa aterosclerótica para asegurar su crecimiento a través de la provisión de nutrientes, **actuando** los nuevos vasos como vías de distribución de factores proinflamatorios. De hecho, las HIP podrían haber sido facilitadas por la fragilidad de los vasos neoformados y por la abundancia de los factores de inflamación. A su vez, la HIP favorece la perpetuación de la lesión endotelial no denudante a través del incremento del estrés oxidativo.

La caracterización de estas placas como tipo IV y V, según la AHA¹¹⁸, podría aportar datos acerca de las vías de trombogenicidad y embolismo distal hacia los pequeños vasos glomerulares y el subsecuente incremento del riesgo de infarto y de nefropatía isquémica renal. **No** existen descripciones científicas al respecto, **pero esta información permitiría** esbozar nuevas hipótesis acerca de la fisiopatogenia de la insuficiencia renal, complicación de la evolución natural de estos pacientes.

Ciertos aspectos mecanicistas también pueden ser considerados a la vista de los resultados obtenidos. En su nacimiento, las arterias renales describen un ángulo de 75-90° respecto de la aorta, característica de índole **geométrica** que tiene impacto hemodinámico si se considera que es altamente susceptible al desarrollo de ateromas **tanto** ante un bajo estrés de rozamiento **como a** la presencia de un flujo oscilatorio o turbulento. En general, estas características pertenecen a vasos de zonas de ramificaciones o grandes curvaturas; sin embargo, se ha descrito que el desarrollo de la placa, incluso en individuos con esta vulnerabilidad topográfica, estaría influenciado

por condiciones genéticas y aspectos no dilucidados que se interrelacionan en un balance entre factores protectores y promotores de la aterogénesis.

Por ejemplo, el estudio *Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth* (PDAY)³¹⁹⁻³²³ ha demostrado esta variabilidad de la respuesta topográfica y hemodinámica entre los jóvenes evaluados. Este estudio, de carácter multicéntrico, consistió en el análisis de arterias provenientes de autopsias de jóvenes de 15-34 años que, al igual que en nuestro estudio, habían fallecido de causa violenta no cardiovascular (por ejemplo, suicidio, asesinato o accidente). Se evaluaron los factores de riesgo cardiovascular históricos y se estimó su efecto sobre la arteria coronaria derecha, la aorta torácica y la aorta abdominal. En áreas vasculares comparables el tabaquismo incrementó 3 veces el riesgo de lesiones aórticas pero no afectó el de las arterias coronarias. A la inversa, los valores elevados de la hemoglobina glicosilada (HbA1c) no mostraron ningún impacto en las lesiones de la aorta abdominal pero se asociaron con un mayor riesgo de lesiones en las coronarias. Respecto de las diferencias por sexo, los autores hallaron una mayor prevalencia de estrías grasas en aortas en las mujeres, mientras que los hombres las presentaron con mayor frecuencia en la arteria coronaria derecha.

Estos datos sugieren la existencia de factores que permitirían predecir el daño vascular, considerando la topografía y tipo, aunque hasta el momento no habría sido dilucidado el origen de este sitio de susceptibilidad.

En el año 1969, Caro *et al*³²⁴ señalaron la importante correlación entre el stress de rozamiento y la aterosclerosis en la vasculatura. Este concepto fue profundamente elaborado por Zarins *et al*³²⁵ y Ku *et al*³²⁶, quienes reprodujeron las condiciones de flujo

a escala humana en modelos de bifurcación carotídea estudiando muestras de autopsias. Estos autores demostraron que su localización se correlacionaba con áreas de disrupción de flujo, rémoras, que incrementan el tiempo de residencia de las partículas en contacto con la pared del vaso. Un modelo similar, pero en la aorta abdominal -donde son característicos el flujo oscilante y el bajo estrés de rozamiento-, mostró un aumento en la **asociación** con el desarrollo de placas en la pared posterior del vaso³²⁷. **(De todos modos, no me queda claro, la correlación o la asociación, es entre qué y qué)**

En nuestra investigación, las placas observadas presentaron un extenso desarrollo fibroso y neovascularización, a pesar de hallarse en estadios no sintomáticos **y evolutivamente tempranos** de la enfermedad. Sus características se presentaron similares a las descritas en las placas de mayor antigüedad y de otras localizaciones, como las arterias carotídeas o coronarias. Por esto, es razonable considerar que la vulnerabilidad topográfica asociada al **stress** de rozamiento, a la rémora y a la oscilación del flujo sanguíneo se comporta como acelerador del proceso aterogénico.

El rol de la túnica adventicia y de la irrigación por los *vasa vasorum* ha sido históricamente subestimado, aunque en la última década se actualizó el interés de muchos investigadores sobre sus características y funciones. Estos vasos son responsables de la perfusión y la diseminación de sustancias entre los vasos en general, tanto en enfermedades neoplásicas como ateroscleróticas, **y** por esta razón se han convertido en objetivos terapéuticos.

Por otra parte, la integridad de las funciones de esta capa es importante para la amortiguación de la pulsatilidad cardíaca sobre otros órganos vecinos al vaso.

Asimismo, en la evolución del proceso aterosclerótico humano la adventicia continúa teniendo importancia, ya que la neovascularización ha sido relacionada con la rotura de placa. (ojo, no sé si la corrección de arriba dice lo que vos querés decir)

La neovascularización adventicial ha sido considerada como parte del proceso fisiopatológico que envuelve a la pared arterial en la hipercolesterolemia experimental. Quizá lo más interesante de estos estudios realizados en humanos con aterosclerosis sintomática sea el carácter panarterial del mayor desarrollo de los *vasa vasorum*. Finalmente, es preciso señalar que en la etapa de remodelación arterial se ha involucrado la producción de factores de crecimiento, la proliferación celular y la proteólisis extracelular, aspectos concomitantes al incremento de la vascularización adventicial.

Los resultados descritos en nuestro estudio han evidenciado, con énfasis, la presencia de una intensa e inusual red de nuevos vasos sanguíneos en la túnica adventicia. Esto no debería sorprender si se tiene en cuenta que una reacción fisiológica esperable es la generación de nuevos *vasa vasorum* ante un aumento del espesor parietal.

El análisis del rol de la adventicia ha llevado a investigadores como Fuster y Corti⁶ a señalar que es probable que la regresión del proceso aterosclerótico se produzca desde la adventicia hacia el interior de la arteria. El conocimiento acerca del rol fundamental de la neovascularización en la patofisiología de la aterosclerosis data de, al menos, un siglo, lo que se enriqueció más recientemente con la descripción de los vasos neointimales que acompañarían al proceso adventicial. Se han propuesto

⁶ Se hace referencia a conferencias dadas por los autores mencionados a las cuales asistió la tesista.

diferentes roles para los vasos neointimales y los adventiciales, a los primeros atribuyéndole el transporte de sustancias nutritivas para la misma placa y a los segundos, la diseminación de los factores proaterogénicos hacia otras localizaciones vasculares.

Finalmente, la HIP ha sido otro hallazgo frecuente en la mayoría de las placas. Sin embargo, este factor se asocia con estadios evolutivos más tardíos que se correlacionan con la inestabilidad de la lesión. Tanto la diseminación vía vasos adventiciales como la hemorragia **pro-inestable** se han convertido en atractivos objetivos terapéuticos a ser alcanzados con estrategias **inhibitorias** de la angiogénesis. Las marcaciones efectuadas para detectar la presencia del factor proangiogénico VEGF mostraron un aumento de sus niveles en los vasos con placas, en comparación con vasos normales.

8.4. Discusión integradora de los Proyectos I, II y III

En este trabajo de tesis se han analizado secuencialmente, durante el desarrollo de tres proyectos, algunos de los mecanismos hormonales, inmunoinflamatorios y anatomohistológicos posiblemente involucrados en la ERVA. Ciertas peculiaridades atribuibles **a la función y estructura del** sistema renovascular, **hacen de éste un campo fértil para ser extrapolado a otros territorios vasculares. (no entiendo qué favorece a qué; la peculiaridades de la función y estructura del sistema**

renovascular favorece el hallazgo de cosas que son más difíciles de explorar en otros territorios? OJO QUE LAS CONCLUSIONES TIENEN QUE SER MUY CLARAS PORQUE SI LAS ORQUESTAS PIFIAN EN EL ÚLTIMO ACORDE TODOS QUEDAN TRISTES)

1. La activación del SRAA ante la caída del flujo sanguíneo con influencia a nivel local y sistémico.
2. Los aspectos mecanicistas relacionados con las características anatómicas del origen y el trayecto de las arterias renales.
3. Los mecanismos nefroprotectores de autoregulación del flujo sanguíneo y del FG permiten largos períodos de evolución clínicamente silente de la ERV, manteniendo la eficacia renal en el rango adecuado.

Vinculado a estas condiciones, el mismo Goldblatt, al presentar sus primeras descripciones de la ERV, centró su interés en la identificación de la sustancia hipertensógena de origen renal más que en la entidad en sí misma¹⁷⁴, **y varios interrogantes específicos han permanecido sin dilucidar**. En base a las evidencias de estudios clínicos, el conocimiento actual parecería avalar que solo estaría indicada la intervención para revascularizar un riñón viable con ERVA cuando el paciente presenta HTA severa o **refractaria**, deterioro o insuficiencia renal progresiva o EAP recurrente. Sin cuestionamiento alguno, estas manifestaciones representan estadios avanzados de la enfermedad, que se asocian con la caída del flujo sanguíneo renal. En estas situaciones, la intervención puede proveer regresiones del deterioro renal o mejorías del control de la PA, aunque el riesgo residual persistiría probablemente elevado. A la sazón, todavía no ha sido analizada la posibilidad de intervenir farmacológica o

invasivamente en estadios tempranos, cuando todavía no existe compromiso funcional.

En este trabajo de tesis se comunican cambios significativos relacionados con una activación hormonal del SRAA y una activación celular inmune, y se describen las características estructurales de las placas de individuos con ERVA en estadios asintomáticos de la patología. La integración natural descrita como sumatoria de los sistemas del organismo parece estar representada en los resultados, especialmente a través de la interrelación de los ejes endocrinos e inmunoinflamatorios en esta enfermedad. Según los datos del estudio, la ERVA en fases tempranas estaría asociada con la activación del SRAA y con la activación celular inmunológica. La activación del SRAA es mediadora de inflamación, habiéndose descrito receptores de Ang II en el linfocito T y una capacidad quimiotáctica de la Ang II para las células inflamatorias. Al respecto, Guzik *et al*³²⁸ evaluaron el efecto de la supresión alternativa de la Ang II y de la activación inmune de células B y T; se demostró que la Ang II induce un incremento en el número de células T en la adventicia de la pared aórtica y que estas mostraron altos niveles del CCR5, mientras eran negativas para CD4 y CD8. La infusión de Ang II incrementó la expresión de la NADPH oxidasa, aumentando así la habilidad de las células T para producir oxígeno e inducir la producción de TNF- α e IFN- γ .

Por otra parte, la intervención sobre el sistema inmune en modelos animales con, v.g., timectomía, ha sido asociada a la prevención de la HTA, aun cuando se infundiese Ang II en el huésped³²⁹. A la inversa, la infusión de células T para el manejo de algunas neoplasias ha demostrado causar aumento de la PA en humanos³³⁰.

Las características histológicas descritas en el estudio anatómico de las placas también pudieron vincularse con la intensa activación inmunoinflamatoria observada.

El impacto de la vasoconstricción inducida por el SRAA y de la expresión de mediadores de inflamación en las fases iniciales de la enfermedad podrían **jugar** un rol en la alteración de la oxigenación de la capa media vascular, siendo **ésta** dependiente de los nutrientes aportados por la microvasculatura de las capas media y adventicia; por el contrario, en el endotelio arterial la nutrición acontece directamente desde el lumen.

Cuando deviene un aumento del grosor de la íntima, la difusión de oxígeno desde el lumen decae y se incrementa su aflujo desde la microvasculatura. Se considera que los vasos adventiciales también son fuente de células inflamatorias hacia la lesión aterosclerótica en un inicio, estando luego involucrados en las HIP, la expansión del núcleo lipídico y la ruptura de las placas. Su estudio se ha intensificado en las últimas décadas debido a que se ha reconocido su rol en la reestenosis **post-stent** y en la regresión de la placa. Por esto, se acepta que la detección de la neovascularización en la lesión ateromatosa representa un índice de riesgo cardiovascular, dado su potencial de progresión y complicaciones.

El hallazgo de una intensa neored de vasos en estadios tempranos aporta datos relevantes, pudiendo especularse acerca de un mecanismo trombogénico y ateroembólico que, impactando sobre el glomérulo, **exacerbe** la caída de flujo, cuya única existencia ha sido insuficiente para explicar la severidad de la insuficiencia renal terminal de muchos pacientes. Este hallazgo, junto **a la frecuente e** intensa fibrosis

intraplaca, podría señalar que en la ateromatosis renal asintomática la aterosclerosis es un proceso en sí ya avanzado.

Los posibles mediadores de la angiogénesis podrían inducir cambios en la síntesis y actividad del VEGF, representando fisiopatológicamente un vínculo **probable** entre la activación endocrino-inmunoinflamatoria y la neovascularización, aspectos observados en estos estudios. De esta manera, los cambios descritos en la estructura vascular en pacientes con ERVA temprana, en comparación con los controles normales, serían parte de un complejo proceso de interacción que, correspondiendo a un mecanismo de reparación de la lesión endotelial, se perpetúa en una cadena de sucesos fibroproliferativos e inmunoinflamatorios. Si bien pareciera tratarse de mecanismos compensatorios, su prolongación en el tiempo desencadena las alteraciones características de esta enfermedad.

El hallazgo de la existencia de mecanismos de activación inmune y los resultados obtenidos en la caracterización estructural anatomohistológica lleva al siguiente interrogante: ¿es posible establecer diferencias entre los mecanismos descritos en la ERVA efectuando comparaciones con otras localizaciones de la aterosclerosis, como ser las arterias carotídeas y las coronarias?

Si se analizan datos **publicados**, puede considerarse probable que la activación de las células T CD4+ y CD3+ sea tan intensa en las arterias renales como en las carotídeas y las coronarias. Sin embargo, en este trabajo se ha observado una menor presencia del fenotipo CD25+/CD4+, algo no descrito tanto en muestras de pacientes como de placas sin ERVA. Esta situación podría sugerir la existencia de un estado

proinflamatorio o facilitador de la respuesta autoinmune **más significativo. (creo que no entendí bien este párrafo)**

Existen pocos estudios en seres humanos que hayan descrito presencia de LTr circulantes, definidos básicamente por el fenotipo CD4+/CD25+/FoxP3. Algunos análisis de este tipo fueron conducidos en la EAC con resultados contradictorios³³¹. Esta subpoblación de células CD4+/CD25+ es altamente eficiente en términos de supresión de la respuesta inmune o de su regulación. Algunos estudios recientes demostraron que la hiporregulación del receptor de la interleuquina-7 (IL-7), CD127, podría distinguir los LTr de aquellas células T CD25+ activadas pero no reguladoras, facilitando la identificación de mecanismos de inmunidad natural (FoxP3+) y adaptativa³³².

En su estudio, Ammirati *et al*³³³ evaluaron 113 sujetos con aumento del espesor íntima-media carotídeo (EIMc) y 125 individuos con EAC (angiográfica y clínica), comparándolos con 75 controles sin lesiones ni alteraciones en las arterias carotídeas y coronarias. Por citometría de flujo se determinaron los niveles de los LTr, identificados como CD3+, CD4+, CD25+ y CD127-, y por su expresión de FoxP3 (ARNm) o los LTr asociados a la producción de IL-10. En concordancia con los datos publicados, los autores hallaron que en los controles los LTr conformaron entre 5-6% del total de las células CD3+ y CD4+. Los resultados principales demostraron que no existió asociación entre los niveles de los LTr y el desarrollo de la aterosclerosis carotídea ni coronaria. Finalmente, los investigadores concluyeron que la determinación de estas células no sería de utilidad para el diagnóstico de la severidad o de la extensión de la enfermedad aterosclerótica o que tal vez las mismas deberían evaluarse en un estadio previo,

etapa en la que probablemente **puedan señalar** un estado proinflamatorio y/o tolerogénico.

De Palma *et al*³³⁴ realizaron un estudio que, al igual que el presente, incluyó determinaciones en sangre de pacientes y el análisis de similares marcadores en muestras tisulares vasculares. El objetivo del estudio fue la evaluación del reclutamiento de las células T CD3+ en la angina inestable, para lo cual sobre 11 individuos con SCA evaluaron simultáneamente placas coronarias obtenidas con aterectomía direccional y muestras de sangre. Los investigadores hallaron un incremento del orden de 10 veces del valor de células T CD3+ en las placas inestables y valores aumentados de manera similar en las muestras plasmáticas.

Al menos dos de los resultados del presente trabajo de tesis son **noveles** en comparación con las descripciones **de** estudios realizados en aterosclerosis coronaria o carotídea. Por un lado, aportó la caracterización hormonal, inmunológica y anatómica de un modelo clínico espontáneo de ERVA; por otro, se destacó que la caracterización mencionada se correspondió con estadios tempranos de la enfermedad.

La demostración de cambios en el perfil de inmunidad celular sistémico asociado a un patrón similar local es un dato original que permite, al menos, considerar la extrapolación de los resultados sobre la evaluación de la ERVA a la enfermedad aterosclerótica de otros territorios. **Yo no me aventuraría a hacer tan taxativo en hacer una extrapolación de tus resultados renales a otros territorios.** Si bien desde una perspectiva fisiopatológica la ERV es considerada como el paradigma de una causa curable de HTA y de insuficiencia renal (teniendo en cuenta que la

resolución de la estenosis debería asociarse a la regresión de sus manifestaciones clínicas), en las publicaciones actuales no se hallan datos que fundamenten esta evolución y, como podría estipularse, esto explica, al menos en parte, el disenso sobre la estrategia terapéutica de la enfermedad.

La indicación de intervenciones con drogas o la revascularización en sus fases clínicamente tempranas o asintomáticas (en especial cuando se detecta de manera incidental) no han sido exploradas. Existe un criterio bastante generalizado que inclina a no decidir acciones hasta que los signos o síntomas de sus complicaciones estén presentes. A la sazón, al intentar integrar esta situación del conocimiento con los datos de este estudio de tesis podría considerarse que los resultados de los Proyectos I y II sugieren un nuevo rol, no propuesto previamente, de la evaluación hormonal e inmune en la estrategia diagnóstica. En otras palabras, la determinación del estado de activación del SRAA a través del análisis de la ARR y el análisis de los marcadores de activación inmune celular podrían facilitar una aproximación diagnóstica a la enfermedad en fases más tempranas de su evolución.

Más allá de evaluar la contribución de estos marcadores al diagnóstico de la ERVA, su utilidad podría residir en su capacidad para distinguir el nivel de activación inmunoinflamatoria y endocrina, importantes mediadores de la aterosclerosis. Su identificación permitiría inferir, en el individuo, el compromiso sistémico propio del proceso aterosclerótico, el que ya está activado, en fases en las cuales actualmente no habría consenso ni recomendaciones de tratamiento.

Si se dudara sobre la relevancia que pudiera tener el estudio de la intervención en las fases tempranas de la ERVA, las descripciones de la neovascularización de la

adventicia podrían contribuir a la valoración del estado evolutivo. Se ha propuesto un mecanismo de siembras a distancia o de diseminación de la aterosclerosis facilitado por la angiogénesis mediada a partir de incrementos del VEGF. En este estudio se mostró la coincidencia de la intensa neovascularización, la activación hormonal y la activación inmunológica en individuos con lesiones ateroscleróticas de baja significancia clínica. Esta descripción parece corresponderse con las manifestaciones en etapas tempranas, que podrían preceder temporal y evolutivamente a las complicaciones sintomáticas de la enfermedad.

Por el momento no es posible realizar una interpretación última de los mecanismos causales de la enfermedad, debiendo básicamente diferenciar entre el desarrollo de un eventual proceso autoinmune de la aterosclerosis o una activación inmune secundaria a esta última. Es probable que la misma surja de la asociación de efectos mediados por el SRAA y la actividad inmune.

La ERVA involucra diversos factores asociados a su desarrollo que parecen **mimetizar (¿?)** a aquellos propios de la HTA, siendo justificado el énfasis puesto por los investigadores pioneros sobre el estudio - **conjunto o alternativo**- de la renina, la PA y la isquemia renal .

9. CONCLUSIONES

Sobre la base de los resultados previamente mostrados y discutidos en esta tesis doctoral se establecen las siguientes conclusiones relacionadas con los mecanismos hormonales, inmunológicos y estructurales de la ERVA:

1. Los pacientes con ERVA-Uni presentan una marcada elevación de la ARP con un valor normal e inesperado de Ald. Por su parte, en los pacientes con ERVA-Bi se encuentran valores elevados de Ald acompañados de niveles normales a elevados de ARP, aunque significativamente menores a los del primer grupo. En los pacientes con HTA-Es sin aterosclerosis renal, tanto los niveles de Ald como de ARP son menores a los que se presentan en pacientes con ERVA, aunque mayores que los correspondientes a los controles con NT. En consecuencia, se deduce que la valoración de la ARR es capaz de diferenciar entre la HTA-Es sin ERVA, los hipertensos con ERVA-Uni, los hipertensos con ERVA-Bi y la NT.
 - 1.1. Un valor de corte de la ARR $< 3,6$ identificaría el riesgo de compromiso unilateral.
 - 1.2. Un valor de corte de la ARR $> 3,6$ identificaría el riesgo de compromiso bilateral.
2. En muestras de sangre periférica y placas obtenidas de hipertensos con ERVA subclínica asintomática se observa un aumento significativo de las subpoblaciones celulares CD4+, CD3+, CD83+ y CD86+, en comparación con hipertensos sin ERVA. Se postula la posibilidad de diagnosticar el proceso de ERVA en estadios más tempranos mediante aplicación de técnicas no invasivas.

- 2.1. En las placas aisladas de pacientes, a diferencia de lo que ocurre en sangre periférica, existe un aumento significativo en el número de células S-100+, en comparación con pacientes hipertensos con AN.
3. Se encuentra una baja relación CD25/CD4 en hipertensos con ERVA temprana en comparación con hipertensos con AN. Esto sugiere la presencia de un estado proinmunogénico de mayor vulnerabilidad a la respuesta inmune o no supresivo en pacientes hipertensos con ERVA subclínica.
4. En las fases tempranas de la enfermedad la formación de la placa y su microambiente inducirían el reclutamiento de CD, favoreciendo la generación posterior de una respuesta inmune.
5. La baja relación CD8/CD4 sugiere la presencia de una respuesta inmunitaria específica, tal vez de tipo autoinmune.
6. Los estadios clínicamente asintomáticos de la ERVA corresponderían a placas predominantemente fibrosas, cuya clasificación histológica sería de grado Vc (de acuerdo con la AHA).
7. Un estado de intensa neovascularización en la capa adventicia caracteriza a estas placas, con frecuente presencia de complicaciones relacionadas, como micro-HIP.

9.1. Comentario 1

Por las características expuestas en relación con los mecanismos hormonales, inmunológicos y estructurales de la ERVA en sus fases tempranas (subclínica y asintomática), la aterosclerosis se trata de una condición de activación precozmente diferente del SRAA, según el compromiso sea unilateral o bilateral. **Se proponen** nuevas estrategias diagnósticas **para** la determinación de la ARR y el análisis de marcadores del sistema inmune en sangre periférica.

Además, en los estadios analizados de esta enfermedad ya se encuentran las alteraciones estructurales que definen a las placas de la aterosclerosis avanzada, aun sin que las mismas sean acompañadas de manifestaciones clínicas.

9.2. Comentario 2

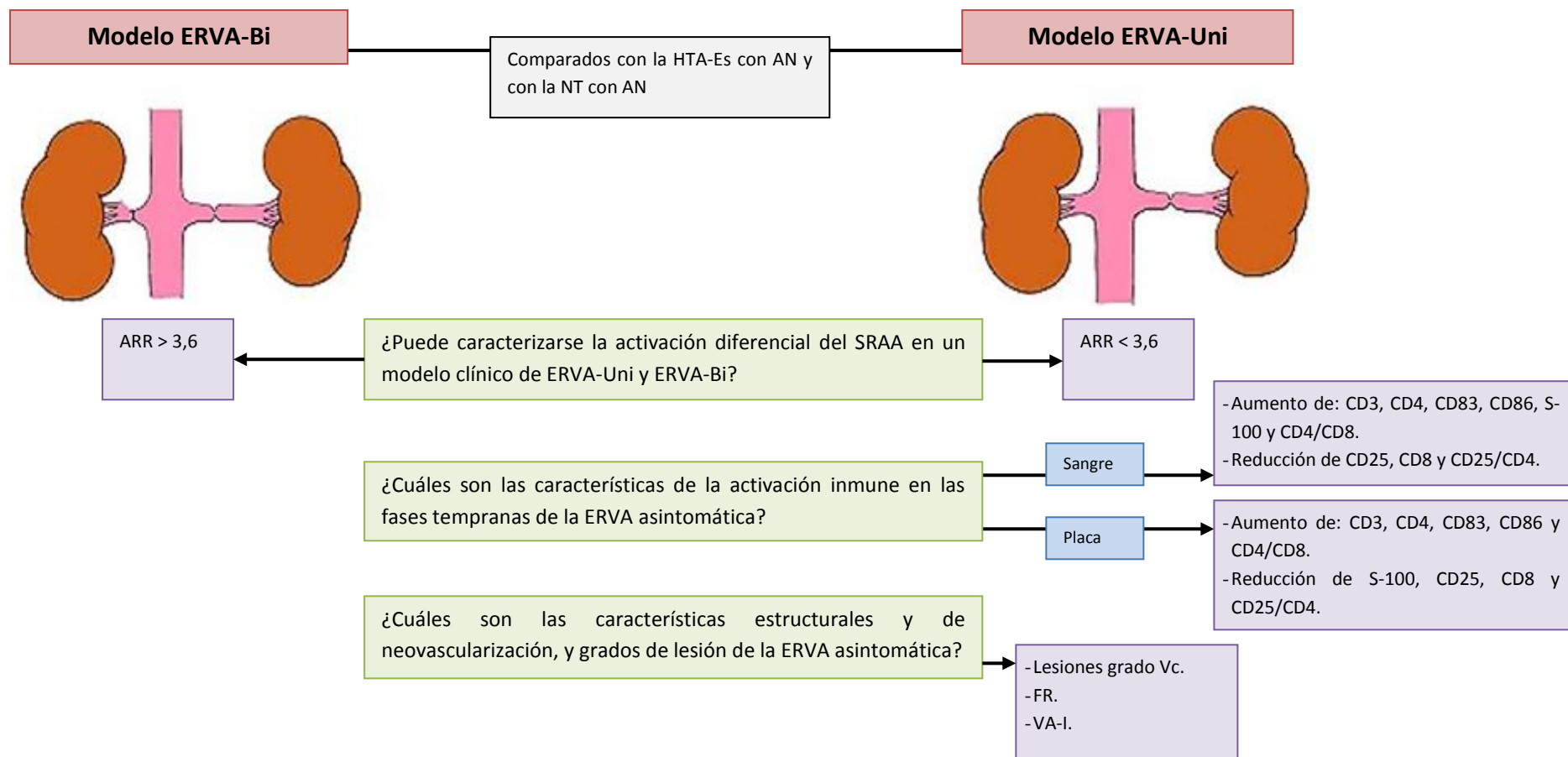
Especulativamente, las conclusiones enunciadas podrían ser la base para interpretar que la ERVA es un modelo de aterosclerosis temprana en el que se constata el perfil sistémico, crónico e inmunoinflamatorio de la enfermedad, y cuya elucidación sugiere la existencia de fenómenos de una respuesta inmune específica, previsiblemente del tipo autoinmune, de activación neuroendocrina y de posibles siembras a distancia de la enfermedad a través de un proceso de neovascularización. **Este último fenómeno** posiblemente sea mediado por un aumento en los niveles

locales del VEGF, la angiogénesis y una potencial tromboembolia glomerular como explicación fisiopatológica de la insuficiencia renal que complica la evolución de esta condición.

9.3. Propuesta de un algoritmo para el conocimiento y la detección de la ERVA en estadios tempranos

En función a todas las conclusiones enunciadas, en la **Figura 27** se presenta la propuesta de un algoritmo de estudio y relevamiento para la detección de la ERVA en fases tempranas (subclínica y asintomática), considerando que sus resultados aportarían nuevos conocimientos para favorecer, al menos desde la ciencia básica, la prevención y el tratamiento tempranos de la enfermedad.

Figura 27. Propuesta de un algoritmo para la detección de la ERVA en estadios tempranos.



Fuente: Elaboración propia.

Carol, esta sección con todas las sugerencias no las pondría en la Tesis por dos razones: 1) Los dejás a los árbitros sin comentarios y preguntas de cómo seguir, y corrés el riesgo de que te hagan otras preguntas más sofisticadas y 2) Les dejás ideas para que ellos emprendan en el futuro cosas que las tenés que hacer vos y tu grupo.

12. BIBLIOGRAFÍA

- (1). Aubenque P. El problema del ser en Aristóteles. Madrid: Taurus; 1974.
- (2). Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). N Engl J Med. 1976;295(7):369-77.
- (3). Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, *et al.* The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). N Engl J Med. 1992;326(4):242-50.
- (4). Liotta D, Cooley DA, del Río M, *et al.* A practical textbook of congenital and acquired diseases of the aorta. 2^a ed. Buenos Aires: Universidad de Morón; 2003.
- (5). Ohashi R, Mu H, Yao Q, *et al.* Cellular and molecular mechanisms of atherosclerosis with mouse models. Trends Cardiovasc Med. 2004;14(5):187-90.
- (6). Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. Circulation. 1995;91(11):2844-50.
- (7). Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature. 1993;362(6423):801-9.
- (8). Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction and atherosclerosis. Eur Heart J. 1997;18 Suppl E:E19-29.
- (9). Fuster V. Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. Circulation. 1994;90(4):2126-46.

- (10). Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-26.
- (11). Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002;105(9):1135-43.
- (12). Fernández-Ortiz A, Badimon JJ, Falk E, *et al.* Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol.* 1994;23(7):1562-9.
- (13). González Martínez C. La investigación básica. La investigación en ciencias fisiológicas: bioquímica, biología molecular y fisiología. *Cuestiones previas. Educ Méd.* 2004;7(2):41-50.
- (14). Matthews RA. Medical progress depends on animal models - doesn't it? *J R Soc Med.* 2008;101(2):95-8.
- (15). Alcázar JM, Rodicio JL, Kotliar C. Enfermedad renovascular aterosclerótica. En: Esper R, editor. *Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial.* Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 535-47.
- (16). Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc Res.* 1998;39(1):77-88.
- (17). Doggrell SA, Brown L. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res.* 1998;39(1):89-105.
- (18). Zicha J, Kunes J. Ontogenetic aspects of hypertension development: analysis in the rat. *Physiol Rev.* 1999;79(4):1227-82.

- (19). Balaszczuk AM. Control de la presión arterial. Implicancia clínica de los modelos experimentales. En: Esper R, editor. Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial. Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 345-51.
- (20). Viles-González JF, Fuster V, Esper RJ, *et al.* Enfermedad aterotrombótica. En: Esper RJ, editor. Aterotrombosis en el tercer milenio. Barcelona: Prous Science; 2004. p. 1-22.
- (21). Sanguinetti CA. Semiología, semiotecnia y medicina interna. 7ª ed. Buenos Aires: López Libreros Editores; 1998.
- (22). Fuster V, Ross R, Topol EJ. Aterosclerosis y enfermedad arterial coronaria. Barcelona: Springer-Verlag Ibérica; 1997.
- (23). Constantinides P. The morphological basis for altered endothelial permeability in arteriosclerosis. *Adv Exp Med Biol.* 1977;82:969-74.
- (24). McMillan GC. Atherogenesis: the process from normal to lesion. *Adv Exp Med Biol.* 1978;104:3-10.
- (25). Pearson TA, Wang BA, Solez K, *et al.* Clonal characteristics of fibrous plaques and fatty streaks from human aortas. *Am J Pathol.* 1975;81(2):379-87.
- (26). Hansson G, Yokota T. Cytokines and the cardiovascular system. En: Remick DG, Friedland JS, editores. Cytokines. Nueva York: Marcel Decker Inc.; 1997. p. 507-18.
- (27). Katsuda S, Okada Y, Minamoto T, *et al.* Collagens in human atherosclerosis. Immunohistochemical analysis using collagen type-specific antibodies. *Arterioscler Thromb.* 1992;12(4):494-502.

- (28). Plenz GA, Deng MC, Robenek H, *et al.* Vascular collagens: spotlight on the role of type VIII collagen in atherogenesis. *Atherosclerosis*. 2003;166(1):1-11.
- (29). Schwartz SM, deBlois D, O'Brien ER. The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ Res*. 1995;77(3):445-65.
- (30). Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem*. 2008;54(1):24-38.
- (31). Esper R. Atherosclerosis. En: Esper R, editor. *Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial*. Buenos Aires: Intermédica; 2010. p 9-23.
- (32). Gerdes N, Sukhova GK, Libby P, *et al.* Expression of interleukin (IL)-18 and functional IL-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for atherogenesis. *J Exp Med*. 2002;195(2):245-57.
- (33). Libby P, Ridker PM. Inflammation and atherothrombosis. From population biology and bench research to clinical practice. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(9):A33-A46.
- (34). Kruth HS. Sequestration of aggregated low-density lipoproteins by macrophages. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13(5):483-8.
- (35). Miller YI, Chang MK, Binder CJ, *et al.* Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptors. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14(5):437-45.
- (36). Amorino GP, Hoover RL. Interactions of monocytic cells with human endothelial cells stimulate monocytic metalloproteinase production. *Am J Pathol*. 1998;152(1):199-207.

- (37). Lewis DR, Kamisoglu K, York AW, *et al.* Polymer-based therapeutics: nanoassemblies and nanoparticles for management of atherosclerosis. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2011;3(4):400-20.
- (38). Miura H, Wachtel RE, Liu Y, *et al.* Flow-induced dilation of human coronary arterioles: important role of Ca(2+)-activated K(+) channels. Circulation. 2001;103(15):1992-8.
- (39). Libby P, Simon DI. Inflammation and thrombosis: the clot thickens. Circulation. 2001;103(13):1718-20.
- (40). Feldman CL, Stone PH. Intravascular hemodynamic factors responsible for progression of coronary atherosclerosis and development of vulnerable plaque. Curr Opin Cardiol. 2000;15(6):430-40.
- (41). Aukrust P, Halvorsen B, Yndestad A, *et al.* Chemokines and cardiovascular risk. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008;28(11):1909-19.
- (42). Falk E. Why do plaques rupture? Circulation. 1992;86(6 Suppl):III30-42.
- (43). Katsuda S, Kaji T. Atherosclerosis and extracellular matrix. J Atheroscler Thromb. 2003;10(5):267-74.
- (44). Staels B, Koenig W, Habib A, *et al.* Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPARalpha but not by PPARgamma activators. Nature. 1998;393(6687):790-3.
- (45). Fisman EZ, Benderly M, Esper RJ, *et al.* Interleukin-6 and the risk of future cardiovascular events in patients with angina pectoris and/or healed myocardial infarction. Am J Cardiol. 2006;98(1):14-8.

- (46). Rauch U, Osende JI, Fuster V, *et al.* Thrombus formation on atherosclerotic plaques: pathogenesis and clinical consequences. *Ann Intern Med.* 2001;134(3):224-38.
- (47). Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, *et al.* Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(5):1262-75.
- (48). Virmani R, Burke AP, Farb A, *et al.* Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(8 Suppl):C13-8.
- (49). Toschi V, Gallo R, Lettino M, *et al.* Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation.* 1997;95(3):594-9.
- (50). Moons AH, Levi M, Peters RJ. Tissue factor and coronary artery disease. *Cardiovasc Res.* 2002;53(2):313-25.
- (51). Mallat Z, Tedgui A. Current perspective on the role of apoptosis in atherothrombotic disease. *Circ Res.* 2001;88(10):998-1003.
- (52). O'Rourke MF. Arterial function in health and disease. Edimburgo: Churchill Livingstone; 1982.
- (53). Simon A, Levenson J. La compliance arterielle joue-t-elle un rôle dans la physiopathologie de l'hypertension artérielle. *Presse Med.* 1986;15(45):2243-6.
- (54). Klabunde RE. *Cardiovascular Physiology Concepts.* 2^a ed. Filadelfia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
- (55). Fung YC. *Introduction to Bioengineering.* Danvers (MA): World Scientific Publishing; 2002.

- (56). Izzo J, Black H. Hypertension primer: The essentials of high blood pressure. From the Council for High Blood pressure Research, American Heart Association. 3^a ed. Filadelfia (PA): Lipincott, Williams and Wilkins; 2003.
- (57). Nichols WW, O'Rourke MF. McDonald's Blood Flow in Arteries. 5^a ed. Londres: Hodder Arnold; 2005.
- (58). Cecelja M, Jiang B, Bevan L, *et al.* Arterial stiffening relates to arterial calcification but not to noncalcified atheroma in women. A twin study. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(13):1480-6.
- (59). Wilkinson IB, McEnery CM, Cockcroft JR. Arteriosclerosis and atherosclerosis: guilty by association. *Hypertension.* 2009;54(6):1213-5.
- (60). Cecelja M, Jiang B, McNeill K, *et al.* Increased wave reflection rather than central arterial stiffness is the main determinant of raised pulse pressure in women and relates to mismatch in arterial dimensions: a twin study. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(8):695-703.
- (61). Lawton RW. Measurements on the elasticity and damping of isolated aortic strips of the dog. *Circ Res.* 1955;3(4):403-8.
- (62). Bergel DH. The dynamic elastic properties of the arterial wall. *J Physiol.* 1961;156(3):458-69.
- (63). Lo CS, Relf IR, Myers KA, *et al.* Doppler ultrasound recognition of preclinical changes in arterial wall in diabetic subjects: compliance and pulse-wave damping. *Diabetes Care.* 1986;9(1):27-31.

- (64). Ventura HO, Taler SJ, Strobeck JE. Hypertension as a hemodynamic disease: the role of impedance cardiography in diagnostic, prognostic, and therapeutic decision making. *Am J Hypertens*. 2005;18(2 Pt 2):26S-43S.
- (65). del Río M, Romero JC. Función cardiovascular. Conceptos de fisiología y fisiopatología. Aplicaciones clínicas y terapéuticas. Buenos Aires: Propulsora Literaria; 1992.
- (66). Safar ME, Levy BI, Struijker-Boudier H. Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular diseases. *Circulation*. 2003;107(22):2864-9.
- (67). Darne B, Girerd X, Safar M, *et al*. Pulsatile versus steady component of blood pressure: a cross-sectional analysis and a prospective analysis on cardiovascular mortality. *Hypertension*. 1989;13(4):392-400.
- (68). Simon AC, Laurent S, Levenson JA, *et al*. Estimation of forearm arterial compliance in normal and hypertensive men from simultaneous pressure and flow measurements in the brachial artery, using a pulsed Doppler device and a first-order arterial model during diastole. *Cardiovasc Res*. 1983;17(6):331-8.
- (69). Madhavan S, Ooi WL, Cohen H, *et al*. Relation of pulse pressure and blood pressure reduction to the incidence of myocardial infarction. *Hypertension*. 1994;23(3):395-401.
- (70). Franklin SS, Gustin W 4th, Wong ND, *et al*. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1997;96(1):308-15.

- (71). Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *JAMA*. 1999;282(21):2035-42.
- (72). Traub O, Berk BC. Laminar shear stress: mechanisms by which endothelial cells transduce an atheroprotective force. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(5):677-85.
- (73). Gimbrone MA Jr, Topper JN, Nagel T, *et al*. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;902:230-9; discusión 239-40.
- (74). Ciancaglini C. Hidrodinamia de la circulación vascular periférica normal y patológica. *Rev Costarric Cardiol*. 2004;6(2):43-61.
- (75). Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991;43(2):109-42.
- (76). Förstermann U, Boissel JP, Kleinert H. Expressional control of the 'constitutive' isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS III). *FASEB J*. 1998;12(10):773-90.
- (77). Bredt DS. Nitric oxide signaling specificity--the heart of the problem. *J Cell Sci*. 2003;116(Pt 1):9-15.
- (78). Textor SC, Glockner JF, Lerman LO, *et al*. The use of magnetic resonance to evaluate tissue oxygenation in renal artery stenosis. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19(4):780-8.
- (79). Rabelink TJ, Luscher TF. Endothelial nitric oxide synthase: host defense enzyme of the endothelium? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(2):267-71.

- (80). Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, *et al.* Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest.* 1996;97(8):1916-23.
- (81). Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature.* 1986;320(6061):454-6.
- (82). Kojda G, Harrison D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res.* 1999;43(3):562-71.
- (83). Villa LM, Salas E, Darley-Usmar VM, *et al.* Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(26):12383-7.
- (84). Ullrich V, Bachschmid M. Superoxide as a messenger of endothelial function. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;278(1):1-8.
- (85). Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;289(4):R913-35.
- (86). Lüscher TF. Endothelial dysfunction: the role and impact of the renin-angiotensin system. *Heart.* 2000;84 Suppl 1:i20-2; discusión i50.
- (87). de Cavanagh EMV. Regulación normal de la presión arterial. En: Esper R, editor. *Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial.* Buenos Aires: Intermédica; 2010. p 145-81.

- (88). De Caterina R, Zampolli A. From asthma to atherosclerosis--5-lipoxygenase, leukotrienes, and inflammation. *N Engl J Med*. 2004;350(1):4-7.
- (89). Zhao L, Funk CD. Lipoxygenase pathways in atherogenesis. *Trends Cardiovasc Med*. 2004;14(5):191-5.
- (90). Minuz P, Patrignani P, Gaino S, *et al*. Increased oxidative stress and platelet activation in patients with hypertension and renovascular disease. *Circulation*. 2002;106(22):2800-5.
- (91). Lerman LO, Nath KA, Rodriguez-Porcel M, *et al*. Increased oxidative stress in experimental renovascular hypertension. *Hypertension*. 2001;37(2 Part 2):541-6.
- (92). Minuz P, Andrioli G, Degan M, *et al*. The F2-isoprostanone 8-epiprostaglandin F2alpha increases platelet adhesion and reduces the antiadhesive and antiaggregatory effects of NO. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(8):1248-56.
- (93). Audoly LP, Rocca B, Fabre JE, *et al*. Cardiovascular responses to the isoprostanones iPF(2alpha)-III and iPE(2)-III are mediated via the thromboxane A(2) receptor in vivo. *Circulation*. 2000;101(24):2833-40.
- (94). Moreau ME, Garbacki N, Molinaro G, *et al*. The kallikrein-kinin system: current and future pharmacological targets. *J Pharmacol Sci*. 2005;99(1):6-38.
- (95). Böckmann S, Paegelow I. Kinins and kinin receptors: importance for the activation of leukocytes. *J Leukoc Biol*. 2000;68(5):587-92.

- (96). Ren Y, Garvin JL, Falck JR, *et al.* Glomerular autacoids stimulated by bradykinin regulate efferent arteriole tone. *Kidney Int.* 2003;63(3):987-93.
- (97). Asahara T, Masuda H, Takahashi T, *et al.* Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res.* 1999;85(3):221-8.
- (98). Werner N, Priller J, Laufs U, *et al.* Bone marrow-derived progenitor cells modulate vascular reendothelialization and neointimal formation: effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(10):1567-72.
- (99). Fuster V, Sanz J. Visualización de la guerra macrofágica arterial con resonancia magnética nuclear, tomografía de emisión de positrones y tomografía computarizada. *Rev Esp Cardiol.* 2009;62 Suppl 2:2-8.
- (100). González S. Hiperactividad simpática: sus causas y su relación con desequilibrios hemodinámicos y metabólicos en la HTA. En: Esper R, editor. *Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial.* Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 245-287.
- (101). Manuck SB, Marsland AL, Kaplan JR, *et al.* The pathogenicity of behavior and its neuroendocrine mediation: an example from coronary artery disease. *Psychosom Med.* 1995;57(3):275-83.
- (102). Somers VK, Dyken ME, Clary MP, *et al.* Sympathetic neural mechanisms in obstructive sleep apnea. *J Clin Invest.* 1995;96(4):1897-904.

- (103). Palatini P, Longo D, Zaetta V, *et al.* Evolution of blood pressure and cholesterol in stage 1 hypertension: role of autonomic nervous system activity. *J Hypertens.* 2006;24(7):1375-81.
- (104). Luo M, Hess MC, Fink GD, *et al.* Differential alterations in sympathetic neurotransmission in mesenteric arteries and veins in DOCA-salt hypertensive rats. *Auton Neurosci.* 2003;104(1):47-57.
- (105). Fox K, Borer JS, Camm AJ, *et al*; Heart Rate Working Group. Resting heart rate in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50(9):823-30.
- (106). Nakandakare ER, Charf AM, Santos FC, *et al.* Dietary salt restriction increases plasma lipoprotein and inflammatory marker concentrations in hypertensive patients. *Atherosclerosis.* 2008;200(2):410-6.
- (107). DiBona GF. Neural control of the kidney: past, present, and future. *Hypertension.* 2003;41(3 Pt 2):621-4.
- (108). Robertson D, Hollister AS, Biaggioni I, *et al.* The diagnosis and treatment of baroreflex failure. *N Engl J Med.* 1993;329(20):1449-55.
- (109). Tanoue A, Koba M, Miyawaki S, *et al.* Role of the alpha1D-adrenergic receptor in the development of salt-induced hypertension. *Hypertension.* 2002;40(1):101-6.
- (110). Hosoda C, Koshimizu TA, Tanoue A, *et al.* Two alpha1-adrenergic receptor subtypes regulating the vasopressor response have differential roles in blood pressure regulation. *Mol Pharmacol.* 2005;67(3):912-22.

- (111). Qadri F, Badoer E, Stadler T, *et al.* Angiotensin II-induced noradrenaline release from anterior hypothalamus in conscious rats: a brain microdialysis study. *Brain Res.* 1991;563(1-2):137-41.
- (112). Peach MJ. Adrenal medullary stimulation induced by angiotensin I, angiotensin II, and analogues. *Circ Res.* 1971;28(5):Suppl 2:107-17.
- (113). Costa M, Majewski H. Facilitation of noradrenaline release from sympathetic nerves through activation of ACTH receptors, beta-adrenoceptors and angiotensin II receptors. *Br J Pharmacol.* 1988;95(3):993-1001.
- (114). Mailloux LU, Napolitano B, Bellucci AG, *et al.* Renal vascular disease causing end-stage renal disease, incidence, clinical correlates, and outcomes: a 20-year clinical experience. *Am J Kidney Dis.* 1994;24(4):622-9.
- (115). Textor SC, Wilcox CS. Renal artery stenosis: a common, treatable cause of renal failure? *Annu Rev Med.* 2001;52:421-42.
- (116). Baumgartner I, Lerman LO. Renovascular hypertension: screening and modern management. *Eur Heart J.* 2011;32(13):1590-8.
- (117). United States Renal Data System. TheUSRDS 1997 Annual Data Report. Bethesda, MD: US Department of Health and Human Services/National Institutes of Health/National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 1997.
- (118). Rundback JH, Sacks D, Kent KC, *et al.*; AHA Councils on Cardiovascular Radiology, High Blood Pressure Research, Kidney in Cardiovascular Disease, Cardio-Thoracic and Vascular Surgery, and Clinical Cardiology, and the Society of Interventional Radiology FDA Device Forum Committee. American

- Heart Association. Guidelines for the reporting of renal artery revascularization in clinical trials. American Heart Association. *Circulation*. 2002;106(12):1572-85.
- (119). Mann SJ, Pickering TG. Detection of renovascular hypertension. State of the art: 1992. *Ann Intern Med*. 1992;117(10):845-53.
- (120). Schoenberg SO, Rieger J, Nittka M, *et al*. Renal MR angiography: current debates and developments in imaging of renal artery stenosis. *Semin Ultrasound CT MR*. 2003;24(4):255-67.
- (121). Vasbinder GB, Nelemans PJ, Kessels AG, *et al*. Diagnostic tests for renal artery stenosis in patients suspected of having renovascular hypertension: a meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2001;135(6):401-11.
- (122). Rudnick MR, Berns JS, Cohen RM, *et al*. Nephrotoxic risks of renal angiography: contrast media-associated nephrotoxicity and atheroembolism--a critical review. *Am J Kidney Dis*. 1994;24(4):713-27.
- (123). Asif A, Epstein M. Prevention of radiocontrast-induced nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2004;44(1):12-24.
- (124). Fishbane S, Durham JH, Marzo K, *et al*. N-acetylcysteine in the prevention of radiocontrast-induced nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(2):251-60.
- (125). Hunter DW, Chamsuddin A, Bjarnason H, *et al*. Preventing contrast-induced nephropathy with fenoldopam. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2001;4(1):53-6.
- (126). Cronin P, Patel JV, Kessel DO, *et al*. Carbon dioxide angiography: a simple and safe system of delivery. *Clin Radiol*. 2005;60(1):123-5.

- (127). Radermacher J, Chavan A, Bleck J, *et al.* Use of Doppler ultrasonography to predict the outcome of therapy for renal-artery stenosis. *N Engl J Med.* 2001;344(6):410-7.
- (128). Ramos F, Kotliar C, Alvarez D, *et al.* Renal function and outcome of PTRAs and stenting for atherosclerotic renal artery stenosis. *Kidney Int.* 2003;63(1):276-82.
- (129). Heine GH, Reichart B, Ulrich C, *et al.* Do ultrasound renal resistance indices reflect systemic rather than renal vascular damage in chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(1):163-70.
- (130). Bude RO, Rubin JM. Relationship between the resistive index and vascular compliance and resistance. *Radiology.* 1999;211(2):411-7.
- (131). Kim SH. The usefulness of pulsatile flow detection in measuring resistive index in renal Doppler US. *Korean J Radiol.* 2002;3(1):45-8.
- (132). Lin GS, Spratt RS. Hemodynamic imaging with pulsatility-index and resistive-index color Doppler US. *Radiology.* 1997;204(3):870-3.
- (133). Nally JV, Barton DP. Contemporary approach to diagnosis and evaluation of renovascular hypertension. *Urol Clin North Am.* 2001;28(4):781-91.
- (134). Taylor A. Functional testing: ACEI renography. *Semin Nephrol.* 2000;20(5):437-44.
- (135). Ramsay D, Belton I, Finlay D. A review of captopril renal scintigraphy and its effect on patient management. *Nucl Med Commun.* 1997;18(7):631-3.
- (136). Harward TR, Poindexter B, Huber TS, *et al.* Selection of patients for renal artery repair using captopril testing. *Am J Surg.* 1995;170(2):183-7.

- (137). Akgun H, Gonlusen G, Cartwright J Jr, *et al.* Are gadolinium-based contrast media nephrotoxic? A renal biopsy study. *Arch Pathol Lab Med.* 2006;130(9):1354-7.
- (138). Buhaescu I, Izzedine H. Gadolinium-induced nephrotoxicity. *Int J Clin Pract.* 2008;62(7):1113-8.
- (139). Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzler NR, *et al.*; American Association for Vascular Surgery; Society for Vascular Surgery; Society for Cardiovascular Angiography and Interventions; Society for Vascular Medicine and Biology; Society of Interventional Radiology; ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease; American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; Vascular Disease Foundation. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease): endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society

- for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation. *Circulation*. 2006;113(11):e463-654.
- (140). Zhang HL, Sos TA, Winchester PA, *et al*. Renal artery stenosis: imaging options, pitfalls, and concerns. *Prog Cardiovasc Dis*. 2009;52(3):209-19.
- (141). Mui KW, Sleeswijk M, van den Hout H, *et al*. Incidental renal artery stenosis is an independent predictor of mortality in patients with peripheral vascular disease. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(7):2069-74.
- (142). Go AS, Chertow GM, Fan D, *et al*. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004;351(13):1296-305.
- (143). Hostetter TH. Chronic kidney disease predicts cardiovascular disease [fe de erratas en *N Engl J Med*. 2010;363(12):1190]. *N Engl J Med*. 2004;351(13):1344-6.
- (144). Jacobson HR. Ischemic renal disease: an overlooked clinical entity? *Kidney Int*. 1988;34(5):729-43.
- (145). Zierler RE, Bergelin RO, Davidson RC, *et al*. A prospective study of disease progression in patients with atherosclerotic renal artery stenosis. *Am J Hypertens*. 1996;9(11):1055-61.
- (146). Alcázar JM, Marín R, Gómez-Campderá F, *et al*; Spanish Group of Ischaemic Nephrology (GEDENI). Clinical characteristics of ischaemic renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16 Suppl 1:74-7.
- (147). Alcázar JM, Rodicio JL. Ischemic nephropathy: clinical characteristics and treatment. *Am J Kidney Dis*. 2000;36(5):883-93.

- (148). Plouin PF. Stable patients with atherosclerotic renal artery stenosis should be treated first with medical management. *Am J Kidney Dis.* 2003;42(5):851-7.
- (149). Zalunardo N, Tuttle KR. Atherosclerotic renal artery stenosis: current status and future directions. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2004;13(6):613-21.
- (150). Rognant N, Rouvière O, Janier M, *et al.* Hemodynamic responses to acute and gradual renal artery stenosis in pigs. *Am J Hypertens.* 2010;23(11):1216-9.
- (151). Chade AR, Zhu XY, Krier JD, *et al.* Endothelial progenitor cells homing and renal repair in experimental renovascular disease. *Stem Cells.* 2010;28(6):1039-47.
- (152). Chade AR, Zhu XY, Grande JP, *et al.* Simvastatin abates development of renal fibrosis in experimental renovascular disease. *J Hypertens.* 2008;26(8):1651-60.
- (153). Chade AR, Zhu X, Lavi R, *et al.* Endothelial progenitor cells restore renal function in chronic experimental renovascular disease. *Circulation.* 2009;119(4):547-57.
- (154). Harden PN, MacLeod MJ, Rodger RS, *et al.* Effect of renal-artery stenting on progression of renovascular renal failure. *Lancet.* 1997;349(9059):1133-6.
- (155). van Jaarsveld BC, Krijnen P, Pieterman H, *et al.* The effect of balloon angioplasty on hypertension in atherosclerotic renal-artery stenosis. Dutch Renal Artery Stenosis Intervention Cooperative Study Group. *N Engl J Med.* 2000;342(14):1007-14.

- (156). Leertouwer TC, Gussenhoven EJ, Bosch JL, *et al.* Stent placement for renal arterial stenosis: where do we stand? A meta-analysis. *Radiology*. 2000;216(1):78-85.
- (157). Dorros G, Jaff M, Mathiak L, *et al.* Four-year follow-up of Palmaz-Schatz stent revascularization as treatment for atherosclerotic renal artery stenosis. *Circulation*. 1998;98(7):642-7.
- (158). Bloch MJ, Basile J. The diagnosis and management of renovascular disease: a primary care perspective. Part II. Issues in management. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2003;5(4):261-8.
- (159). Plouin PF, Chatellier G, Darné B, *et al.* Blood pressure outcome of angioplasty in atherosclerotic renal artery stenosis: a randomized trial. *Essai Multicentrique Medicaments vs Angioplastie (EMMA) Study Group. Hypertension*. 1998;31(3):823-9.
- (160). ASTRAL Investigators, Wheatley K, Ives N, Gray R, *et al.* Revascularization versus medical therapy for renal-artery stenosis. *N Engl J Med*. 2009;361(20):1953-62.
- (161). Cooper CJ, Murphy TP, Matsumoto A, *et al.* Stent revascularization for the prevention of cardiovascular and renal events among patients with renal artery stenosis and systolic hypertension: rationale and design of the CORAL trial. *Am Heart J*. 2006;152(1):59-66.
- (162). Bax L, Woittiez AJ, Kouwenberg HJ, *et al.* Stent placement in patients with atherosclerotic renal artery stenosis and impaired renal function: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2009;150(12):840-8, W150-1.

- (163). Zähringer M, Sapoval M, Pattynama PM, *et al.* Sirolimus-eluting versus bare-metal low-profile stent for renal artery treatment (GREAT Trial): angiographic follow-up after 6 months and clinical outcome up to 2 years. *J Endovasc Ther.* 2007;14(4):460-8.
- (164). Cooper CJ, Haller ST, Colyer W, *et al.* Embolic protection and platelet inhibition during renal artery stenting. *Circulation.* 2008;117(21):2752-60.
- (165). Kanjwal K, Cooper CJ, Virmani R, *et al.* Predictors of embolization during protected renal artery angioplasty and stenting: Role of antiplatelet therapy. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2010;76(1):16-23.
- (166). Gonçalves JA, Amorim JE, Soares Neto MM, *et al.* Clinical efficacy of percutaneous renal revascularization with stent placement in atherosclerotic renovascular disease. *Arq Bras Cardiol.* 2007;88(1):85-90.
- (167). Novick AC, Ziegelbaum M, Vidt DG, *et al.* Trends in surgical revascularization for renal artery disease. Ten years' experience. *JAMA.* 1987;257(4):498-501.
- (168). Hansen KJ, Starr SM, Sands RE, *et al.* Contemporary surgical management of renovascular disease. *J Vasc Surg.* 1992;16(3):319-30; discusión 330-1.
- (169). Chaikof EL, Smith RB 3rd, Salam AA, *et al.* Ischemic nephropathy and concomitant aortic disease: a ten-year experience. *J Vasc Surg.* 1994;19(1):135-46; discusión 146-8.
- (170). Steinbach F, Novick AC, Campbell S, *et al.* Long-term survival after surgical revascularization for atherosclerotic renal artery disease. *J Urol.* 1997;158(1):38-41.

- (171). van Rooden CJ, van Bockel JH, De Backer GG, *et al.* Long-term outcome of surgical revascularization in ischemic nephropathy: normalization of average decline in renal function. *J Vasc Surg.* 1999;29(6):1037-49.
- (172). Libertino JA, Bosco PJ, Ying CY, *et al.* Renal revascularization to preserve and restore renal function. *J Urol.* 1992;147(6):1485-7.
- (173). Cherr GS, Hansen KJ, Craven TE, *et al.* Surgical management of atherosclerotic renovascular disease. *J Vasc Surg.* 2002;35(2):236-45.
- (174). Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, *et al.* Studies on experimental hipertensiones: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med.* 1934;59(3):347-79.
- (175). Braun-Menéndez E, Page IH. Suggested Revision of Nomenclature-- Angiotensin. *Science.* 1958;127(3292):242.
- (176). Juncos L. Sistema renina-angiotensina en hipertensión arterial. En: Esper R, editor. *Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial.* Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 225-47.
- (177). Goldblatt PJ. The Golblatt: a conceptual paradigm. En: Laragh JH, Brenner BM, editores. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management.* Nueva York: Raven; 1995. p. 23-25.
- (178). Navar LG, Zou L, Von Thun A, *et al.* Unraveling the Mystery of Goldblatt Hypertension. *News Physiol Sci.* 1998;13:170-176.
- (179). Guan S, Fox J, Mitchell KD, *et al.* Angiotensin and angiotensin converting enzyme tissue levels in two-kidney, one clip hypertensive rats. *Hypertension.* 1992;20(6):763-7.

- (180). Reudelhuber TL, Ramla D, Chiu L, *et al.* Proteolytic processing of human prorenin in renal and non-renal tissues. *Kidney Int.* 1994;46(6):1522-4.
- (181). Neves FA, Duncan KG, Baxter JD. Cathepsin B is a prorenin processing enzyme. *Hypertension.* 1996;27(3 Pt 2):514-7.
- (182). Sealey JE, Glorioso N, Itskovitz J, *et al.* Prorenin as a reproductive hormone. New form of the renin system. *Am J Med.* 1986;81(6):1041-6.
- (183). Inagami T. Purification of renin and prorenin. *Hypertension.* 1991;18(3):241-51.
- (184). Heinrikson RL, Hui J, Zürcher-Neely H, *et al.* A structural model to explain the partial catalytic activity of human prorenin. *Am J Hypertens.* 1989;2(5 Pt 1):367-80.
- (185). Standley PR, Bakir MH, Sowers JR. Vascular insulin abnormalities, hypertension, and accelerated atherosclerosis. *Am J Kidney Dis.* 1993;21(6 Suppl 3):39-46.
- (186). Perlstein TS, Gerhard-Herman M, Hollenberg NK, *et al.* Insulin induces renal vasodilation, increases plasma renin activity, and sensitizes the renal vasculature to angiotensin receptor blockade in healthy subjects. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(3):944-51.
- (187). Rebolledo A, Milesi V, Rinaldi G, *et al.* Insulina, reactividad vascular e hipertensión arterial. *Medicina (B Aires).* 1996;56(5 Pt 1):518-26.
- (188). Lightman SL. The neuroendocrinology of stress: a never ending story. *J Neuroendocrinol.* 2008;20(6):880-4.

- (189). Frey FJ, Odermatt A, Frey BM. Glucocorticoid-mediated mineralocorticoid receptor activation and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2004;13(4):451-8.
- (190). Ferrari P, Krozowski Z. Role of the 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in blood pressure regulation. *Kidney Int.* 2000;57(4):1374-81.
- (191). Toffelmire EB, Slater K, Corvol P, *et al.* Response of plasma prorenin and active renin to chronic and acute alterations of renin secretion in normal humans. Studies using a direct immunoradiometric assay. *J Clin Invest.* 1989;83(2):679-87.
- (192). Bock HA, Hermle M, Brunner FP, *et al.* Pressure dependent modulation of renin release in isolated perfused glomeruli. *Kidney Int.* 1992;41(2):275-80.
- (193). Kopp U, DiBona GF. Interaction of renal beta 1-adrenoceptors and prostaglandins in reflex renin release. *Am J Physiol.* 1983;244(4):F418-24.
- (194). Jones-Dombi T, Churchill P. The baroreceptor mechanism for controlling renin secretion: effect of calcium channel blockers. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;266(1):274-8.
- (195). Randin D, Vollenweider P, Tappy L, *et al.* Suppression of alcohol-induced hypertension by dexamethasone. *N Engl J Med.* 1995;332(26):1733-7.
- (196). Chappell MC, Diz DI, Yunis C, *et al.* Differential actions of angiotensin-(1-7) in the kidney. *Kidney Int Suppl.* 1998;68:S3-6.
- (197). Handa RK, Ferrario CM, Strandhoy JW. Renal actions of angiotensin-(1-7): in vivo and in vitro studies. *Am J Physiol.* 1996;270(1 Pt 2):F141-7.

- (198). Walker BR, Connacher AA, Webb DJ, *et al.* Glucocorticoids and blood pressure: a role for the cortisol/cortisone shuttle in the control of vascular tone in man. *Clin Sci (Lond)*. 1992;83(2):171-8.
- (199). Hatakeyama H, Inaba S, Takeda R, *et al.* 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in human vascular cells. *Kidney Int*. 2000;57(4):1352-7.
- (200). Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system: conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res*. 1999;85(7):643-50.
- (201). Henrich WL, McAllister EA, Eskue A, *et al.* Renin regulation in cultured proximal tubular cells. *Hypertension*. 1996;27(6):1337-40.
- (202). Barlucchi L, Leri A, Dostal DE, *et al.* Canine ventricular myocytes possess a renin-angiotensin system that is upregulated with heart failure. *Circ Res*. 2001;88(3):298-304.
- (203). Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, *et al.* Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell*. 1993;75(5):977-84.
- (204). Stanton A. Therapeutic potential of renin inhibitors in the management of cardiovascular disorders. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2003;3(6):389-94.
- (205). Leduc I, Haddad P, Giasson E, *et al.* Involvement of a tyrosine kinase pathway in the growth-promoting effects of angiotensin II on aortic smooth muscle cells. *Mol Pharmacol*. 1995;48(4):582-92.
- (206). Godeny MD, Sayyah J, VonDerLinden D, *et al.* The N-terminal SH2 domain of the tyrosine phosphatase, SHP-2, is essential for Jak2-dependent signaling via the angiotensin II type AT1 receptor. *Cell Signal*. 2007;19(3):600-9.

- (207). de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, *et al.* International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev.* 2000;52(3):415-72.
- (208). Carey RM, Siragy HM. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev.* 2003;24(3):261-71.
- (209). Matsubara H. Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases. *Circ Res.* 1998;83(12):1182-91.
- (210). Doi Y, Atarashi K, Franco-Saenz R, *et al.* Effect of changes in sodium or potassium balance, and nephrectomy, on adrenal renin and aldosterone concentrations. *Hypertension.* 1984;6(2 Pt 2):1124-9.
- (211). Baba K, Doi Y, Franco-Saenz R, *et al.* Mechanisms by which nephrectomy stimulates adrenal renin. *Hypertension.* 1986;8(11):997-1002.
- (212). Rubattu S, Enea I, Ganten D, *et al.* Enhanced adrenal renin and aldosterone biosynthesis during sodium restriction in TGR (mREN2)27. *Am J Physiol.* 1994;267(4 Pt 1):E515-20.
- (213). Horiba N, Nomura K, Shizume K. Exogenous and locally synthesized angiotensin II and glomerulosa cell functions. *Hypertension.* 1990;15(2):190-7.
- (214). Yasuda N, Akazawa H, Qin Y, *et al.* A novel mechanism of mechanical stress-induced angiotensin II type 1-receptor activation without the involvement of angiotensin II. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2008 Jun;377(4-6):393-9.

- (215). Mederos y Schnitzler M, Storch U, Meibers S, *et al.* Gq-coupled receptors as mechanosensors mediating myogenic vasoconstriction. *EMBO J.* 2008;27(23):3092-103.
- (216). Rosivall L, Navar LG. Effects on renal hemodynamics of intra-arterial infusions of angiotensins I and II. *Am J Physiol.* 1983;245(2):F181-7.
- (217). Mitchell KD, Navar LG. Enhanced tubuloglomerular feedback during peritubular infusions of angiotensins I and II. *Am J Physiol.* 1988;255(3 Pt 2):F383-90.
- (218). Loon N, Shemesh O, Morelli E, *et al.* Effect of angiotensin II infusion on the human glomerular filtration barrier. *Am J Physiol.* 1989;257(4 Pt 2):F608-14.
- (219). Loutzenhiser R, Epstein M, Hayashi K, *et al.* Characterization of the renal microvascular effects of angiotensin II antagonist, DuP 753: studies in isolated perfused hydronephrotic kidneys. *Am J Hypertens.* 1991;4(4 Pt 2):309S-314S.
- (220). Ito S, Arima S, Ren YL, *et al.* Endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide modulates angiotensin II action in the isolated microperfused rabbit afferent but not efferent arteriole. *J Clin Invest.* 1993;91(5):2012-9.
- (221). Pagtalunan ME, Rasch R, Rennke HG, *et al.* Morphometric analysis of effects of angiotensin II on glomerular structure in rats. *Am J Physiol.* 1995;268(1 Pt 2):F82-8.
- (222). Schnermann JB, Traynor T, Yang T, *et al.* Absence of tubuloglomerular feedback responses in AT1A receptor-deficient mice. *Am J Physiol.* 1997;273(2 Pt 2):F315-20.

- (223). Schnermann J, Briggs J. Role of the renin-angiotensin system in tubuloglomerular feedback. *Fed Proc.* 1986;45(5):1426-30.
- (224). Kovács G, Peti-Peterdi J, Rosivall L, *et al.* Angiotensin II directly stimulates macula densa Na-2Cl-K cotransport via apical AT(1) receptors. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002;282(2):F301-6.
- (225). Kimbrough HM Jr, Vaughan ED Jr, Carey RM, *et al.* Effect of intrarenal angiotensin II blockade on renal function in conscious dogs. *Circ Res.* 1977;40(2):174-8.
- (226). Klag MJ, Whelton PK, Randall BL, *et al.* Blood pressure and end-stage renal disease in men. *N Engl J Med.* 1996;334(1):13-8.
- (227). Brunner HR, Gavras H. Clinical implications of renin in the hypertensive patient. *JAMA.* 1975;233(10):1091-3.
- (228). Laragh JH. Laragh's lessons in renin system pathophysiology for treating hypertension and its fatal cardiovascular consequences. Nueva York: Elsevier Science; 2002.
- (229). Newton-Cheh C, Guo CY, Gona P, *et al.* Clinical and genetic correlates of aldosterone-to-renin ratio and relations to blood pressure in a community sample. *Hypertension.* 2007;49(4):846-56.
- (230). Blumenfeld JD, Laragh JH. Renin system analysis: a rational method for the diagnosis and treatment of the individual patient with hypertension. *Am J Hypertens.* 1998;11(7):894-6.

- (231). Mahmud A, Feely J. Aldosterone-to-renin ratio, arterial stiffness, and the response to aldosterone antagonism in essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2005;18(1):50-5.
- (232). Rossi GP, Seccia TM, Palumbo G, *et al*; Primary Aldosteronism in the Prevalence in hYpertension (PAPY) Study Investigators. Within-patient reproducibility of the aldosterone: renin ratio in primary aldosteronism. *Hypertension*. 2010;55(1):83-9.
- (233). Parthasarathy HK, Alhashmi K, McMahon AD, *et al*. Does the ratio of serum aldosterone to plasma renin activity predict the efficacy of diuretics in hypertension? Results of RENALDO. *J Hypertens*. 2010;28(1):170-7.
- (234). Hansson GK, Libby P, Schönbeck U, *et al*. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res*. 2002;91(4):281-91.
- (235). Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(12):1876-90.
- (236). Yamashita H, Shimada K, Seki E, *et al*. Concentrations of interleukins, interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 2003;91(2):133-6.
- (237). Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, *et al*. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J*. 1993;69(5):377-81.
- (238). Libby P, Ridker PM, Hansson GK; Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(23):2129-38.

- (239). Nakajima T, Goek O, Zhang X, *et al.* De novo expression of killer immunoglobulin-like receptors and signaling proteins regulates the cytotoxic function of CD4 T cells in acute coronary syndromes. *Circ Res.* 2003;93(2):106-13.
- (240). Liuzzo G, Kopecky SL, Frye RL, *et al.* Perturbation of the T-cell repertoire in patients with unstable angina. *Circulation.* 1999;100(21):2135-9.
- (241). Yilmaz A, Lipfert B, Cicha I, *et al.* Accumulation of immune cells and high expression of chemokines/chemokine receptors in the upstream shoulder of atherosclerotic carotid plaques. *Exp Mol Pathol.* 2007;82(3):245-55.
- (242). Wick G, Perschinka H, Millonig G. Atherosclerosis as an autoimmune disease: an update. *Trends Immunol.* 2001;22(12):665-9.
- (243). Pockley AG. Heat shock proteins as regulators of the immune response. *Lancet.* 2003;362(9382):469-76.
- (244). Multhoff G, Hightower LE. Cell surface expression of heat shock proteins and the immune response. *Cell Stress Chaperones.* 1996;1(3):167-76.
- (245). Van Eden W, Wick G, Albani S, *et al.* Stress, heat shock proteins, and autoimmunity: how immune responses to heat shock proteins are to be used for the control of chronic inflammatory diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1113:217-37.
- (246). Prohászka Z, Duba J, Lakos G, *et al.* Antibodies against human heat-shock protein (hsp) 60 and mycobacterial hsp65 differ in their antigen specificity and complement-activating ability. *Int Immunol.* 1999;11(9):1363-70.

- (247). Chyu KY, Nilsson J, Shah PK. Immune mechanisms in atherosclerosis and potential for an atherosclerosis vaccine. *Discov Med*. 2011;11(60):403-12.
- (248). Yilmaz A, Weber J, Cicha I, *et al*. Decrease in circulating myeloid dendritic cell precursors in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(1):70-80.
- (249). Ma-Krupa W, Jeon MS, Spoerl S, *et al*. Activation of arterial wall dendritic cells and breakdown of self-tolerance in giant cell arteritis. *J Exp Med*. 2004;199(2):173-83.
- (250). Pryshchep O, Ma-Krupa W, Younge BR, *et al*. Vessel-specific Toll-like receptor profiles in human medium and large arteries. *Circulation*. 2008;118(12):1276-84.
- (251). Niessner A, Weyand CM. Dendritic cells in atherosclerotic disease. *Clin Immunol*. 2010;134(1):25-32.
- (252). Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392(6673):245-52.
- (253). Angeli V, Llodrá J, Rong JX, *et al*. Dyslipidemia associated with atherosclerotic disease systemically alters dendritic cell mobilization. *Immunity*. 2004;21(4):561-74.
- (254). Lotze MT, Thomson AW, editores. *Dendritic cells. Biology and clinical applications*. 2^a ed. San Diego, CA: Academic Press; 2001.
- (255). Lipscomb MF, Masten BJ. Dendritic cells: immune regulators in health and disease. *Physiol Rev*. 2002;82(1):97-130.
- (256). Bobryshev YV, Lord RS. S-100 positive cells in human arterial intima and in atherosclerotic lesions. *Cardiovasc Res*. 1995;29(5):689-96.

- (257). Yilmaz A, Lochno M, Traeg F, *et al.* Emergence of dendritic cells in rupture-prone regions of vulnerable carotid plaques. *Atherosclerosis*. 2004;176(1):101-10.
- (258). Weis M, Schlichting CL, Engleman EG, *et al.* Endothelial determinants of dendritic cell adhesion and migration: new implications for vascular diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(11):1817-23.
- (259). Zhang X, Niessner A, Nakajima T, *et al.* Interleukin 12 induces T-cell recruitment into the atherosclerotic plaque. *Circ Res*. 2006;98(4):524-31.
- (260). Wang L, Li D, Yang K, *et al.* Toll-like receptor-4 and mitogen-activated protein kinase signal system are involved in activation of dendritic cells in patients with acute coronary syndrome. *Immunology*. 2008;125(1):122-30.
- (261). Asselin-Paturel C, Trinchieri G. Production of type I interferons: plasmacytoid dendritic cells and beyond. *J Exp Med*. 2005;202(4):461-5.
- (262). Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, *et al.* BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J Immunol*. 2000;165(11):6037-46.
- (263). Lan YY, Wang Z, Raimondi G, *et al.* "Alternatively activated" dendritic cells preferentially secrete IL-10, expand Foxp3+CD4+ T cells, and induce long-term organ allograft survival in combination with CTLA4-Ig. *J Immunol*. 2006;177(9):5868-77.
- (264). Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, *et al.* Inflammation, immunity, and hypertension. *Hypertension*. 2011;57(2):132-40.

- (265). Cerilli J, Brasile L, Sosa J, *et al.* The role of autoantibody to vascular endothelial cell antigens in atherosclerosis and vascular disease. *Transplant Proc.* 1987;19(4 Suppl 5):47-9.
- (266). Frostegård J, Haegerstrand A, Gidlund M, *et al.* Biologically modified LDL increases the adhesive properties of endothelial cells. *Atherosclerosis.* 1991;90(2-3):119-26.
- (267). Plump AS, Smith JD, Hayek T, *et al.* Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell.* 1992;71(2):343-53.
- (268). Grivel JC, Ivanova O, Pinegina N, *et al.* Activation of T lymphocytes in atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(12):2929-37.
- (269). He S, Li M, Ma X, *et al.* CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells protect the proinflammatory activation of human umbilical vein endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(12):2621-30.
- (270). Rekhter MD, Gordon D. Active proliferation of different cell types, including lymphocytes, in human atherosclerotic plaques. *Am J Pathol.* 1995;147(3):668-77.
- (271). van der Wal AC, Becker AE, Das PK. Medial thinning and atherosclerosis--evidence for involvement of a local inflammatory effect. *Atherosclerosis.* 1993;103(1):55-64.
- (272). MacDonald HR. Development and selection of NKT cells. *Curr Opin Immunol.* 2002;14(2):250-4.

- (273). Hirono Y, Yoshimoto T, Suzuki N, *et al.* Angiotensin II receptor type 1-mediated vascular oxidative stress and proinflammatory gene expression in aldosterone-induced hypertension: the possible role of local renin-angiotensin system. *Endocrinology*. 2007;148(4):1688-96.
- (274). Sanz J, Fayad ZA. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature*. 2008;451(7181):953-7.
- (275). Levy D, Larson MG, Vasan RS, *et al.* The progression from hypertension to congestive heart failure. *JAMA*. 1996;275(20):1557-62.
- (276). Parisi C. Anatomía cardiovascular normal y patológica. En: Esper R, editor. Tratado de mecánica vascular e hipertensión arterial. Buenos Aires: Intermédica; 2010. p. 29-67.
- (277). Libby P, Zhao DX. Allograft arteriosclerosis and immune-driven angiogenesis. *Circulation*. 2003;107(9):1237-9.
- (278). Haust MD. The morphogenesis and fate of potential and early atherosclerotic lesions in man. *Hum Pathol*. 1971;2(1):1-29.
- (279). Stary HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis*. 1989;9(1 Suppl):119-32.
- (280). Burke AP, Virmani R, Galis Z, *et al.* 34th Bethesda Conference: Task force #2-- What is the pathologic basis for new atherosclerosis imaging techniques? *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(11):1874-86.

- (281). Jones JA, Spinale FG, Ikonomidis JS. Transforming growth factor-beta signaling in thoracic aortic aneurysm development: a paradox in pathogenesis. *J Vasc Res.* 2009;46(2):119-37.
- (282). Díaz Narváez VP. Metodología de la investigación científica y bioestadística. Para profesionales y estudiantes de Ciencias de la Salud. 2ª ed. Santiago de Chile: RIL; 2009.
- (283). Borda Pérez M, Tuesca Molina R, Navarro Lechuga E. Métodos cuantitativos. Herramientas para la investigación en salud. 2ª ed. Barranquilla, Colombia: Ediciones Uninorte; 2009.
- (284). Mancia G, Laurent S, Agabiti-Rosei E, *et al*; European Society of Hypertension. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *J Hypertens.* 2009;27(11):2121-58.
- (285). McKenna TJ, Sequeira SJ, Heffernan A, *et al*. Diagnosis under random conditions of all disorders of the renin-angiotensin-aldosterone axis, including primary hyperaldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73(5):952-7.
- (286). Prescott DM, editor. *Methods in Cell Biology.* Volume XV. Nueva York: Academic Press; 1977.
- (287). Kotliar C, Inserra F, Forcada P, *et al*. Are plasma renin activity and aldosterone levels useful as a screening test to differentiate between unilateral and bilateral renal artery stenosis in hypertensive patients? *J Hypertens.* 2010;28(3):594-601.

- (288). Kotliar C, Juncos L, Inserra F, *et al.* Local and systemic cellular immunity in early renal artery atherosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(2):224-30.
- (289). Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, *et al.*; National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 2003;289(19):2560-72.
- (290). Goldblatt PJ. The Goldblatt experiment: a conceptual paradigm. En: Laragh JH, Brenner BM, editores. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management.* 2ª ed. Nueva York: Raven; 1995. p. 23-35.
- (291). Wilson C, Byrom FB. The vicious circle in chronic Bright's disease: experimental evidence from the hypertensive rat. *Q J Med.* 1940;10:65-96.
- (292). Pickering TG. Renovascular hypertension: etiology and pathophysiology. *Semin Nucl Med.* 1989;19(2):79-88.
- (293). Martínez-Maldonado M. Pathophysiology of renovascular hypertension. *Hypertension.* 1991;17(5):707-19.
- (294). Trenkel S, Seifarth C, Schobel H, *et al.* Ratio of serum aldosterone to plasma renin concentration in essential hypertension and primary aldosteronism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2002;110(2):80-5.
- (295). Tiu SC, Choi CH, Shek CC, *et al.* The use of aldosterone-renin ratio as a diagnostic test for primary hyperaldosteronism and its test characteristics

- under different conditions of blood sampling. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(1):72-8.
- (296). Funder JW, Carey RM, Fardella C, *et al*; Endocrine Society. Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(9):3266-81.
- (297). Yamaguchi T, Naito Z, Stoner GD, *et al*. Role of the adrenal renin-angiotensin system on adrenocorticotrophic hormone- and potassium-stimulated aldosterone production by rat adrenal glomerulosa cells in monolayer culture. *Hypertension.* 1990;16(6):635-41.
- (298). Williams GH. Aldosterone biosynthesis, regulation, and classical mechanism of action. *Heart Fail Rev.* 2005;10(1):7-13.
- (299). Navar LG, Nishiyama A. Why are angiotensin concentrations so high in the kidney? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2004;13(1):107-15.
- (300). Rocha R, Funder JW. The pathophysiology of aldosterone in the cardiovascular system. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;970:89-100.
- (301). Johansson M, Elam M, Rundqvist B, *et al*. Increased sympathetic nerve activity in renovascular hypertension. *Circulation.* 1999;99(19):2537-42.
- (302). DiBona GF. Central angiotensin modulation of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in the rat: influence of dietary sodium. *Acta Physiol Scand.* 2003;177(3):285-9.
- (303). Shi C, Lee WS, He Q, *et al*. Immunologic basis of transplant-associated arteriosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(9):4051-6.

- (304). Zhou X, Nicoletti A, Elhage R, *et al.* Transfer of CD4(+) T cells aggravates atherosclerosis in immunodeficient apolipoprotein E knockout mice. *Circulation*. 2000;102(24):2919-22.
- (305). George J, Afek A, Gilburd B, *et al.* Cellular and humoral immune responses to heat shock protein 65 are both involved in promoting fatty-streak formation in LDL-receptor deficient mice. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(3):900-5.
- (306). Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:531-62.
- (307). O'Garra A, Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nat Med*. 2004;10(8):801-5.
- (308). Liuzzo G, Goronzy JJ, Yang H, *et al.* Monoclonal T-cell proliferation and plaque instability in acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000;101(25):2883-8.
- (309). Moos MP, John N, Gräbner R, *et al.* The lamina adventitia is the major site of immune cell accumulation in standard chow-fed apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(11):2386-91.
- (310). Xu QB, Oberhuber G, Gruschwitz M, *et al.* Immunology of atherosclerosis: cellular composition and major histocompatibility complex class II antigen expression in aortic intima, fatty streaks, and atherosclerotic plaques in young and aged human specimens. *Clin Immunol Immunopathol*. 1990;56(3):344-59.

- (311). Jongstra-Bilen J, Haidari M, Zhu SN, *et al.* Low-grade chronic inflammation in regions of the normal mouse arterial intima predisposed to atherosclerosis. *J Exp Med.* 2006;203(9):2073-83.
- (312). Millonig G, Niederegger H, Rabl W, *et al.* Network of vascular-associated dendritic cells in intima of healthy young individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(4):503-8.
- (313). Liu P, Yu YR, Spencer JA, *et al.* CX3CR1 deficiency impairs dendritic cell accumulation in arterial intima and reduces atherosclerotic burden. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(2):243-50.
- (314). Ferencík M, Stvrtinová V, Hulín I. Defects in regulation of local immune responses resulting in atherosclerosis. *Clin Dev Immunol.* 2005;12(3):225-34.
- (315). Wick G, Romen M, Amberger A, *et al.* Atherosclerosis, autoimmunity, and vascular-associated lymphoid tissue. *FASEB J.* 1997;11(13):1199-207.
- (316). Stüve O, Marra CM, Bar-Or A, *et al.* Altered CD4+/CD8+ T-cell ratios in cerebrospinal fluid of natalizumab-treated patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2006;63(10):1383-7.
- (317). Artemiadis AK, Anagnostouli MC. Apoptosis of oligodendrocytes and post-translational modifications of myelin basic protein in multiple sclerosis: possible role for the early stages of multiple sclerosis. *Eur Neurol.* 2010;63(2):65-72.
- (318). Croxford JL, Olson JK, Miller SD. Epitope spreading and molecular mimicry as triggers of autoimmunity in the Theiler's virus-induced demyelinating disease model of multiple sclerosis. *Autoimmun Rev.* 2002;1(5):251-60.

- (319). Sternby NH, Fernandez-Britto JE, Nordet P. Pathobiological determinants of atherosclerosis in youth (PBDAY Study), 1986-96. Bull World Health Organ. 1999;77(3):250-7.
- (320). McGill HC Jr, McMahan CA. Determinants of atherosclerosis in the young. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Am J Cardiol. 1998;82(10B):30T-36T.
- (321). Homma S, Troxclair DA, Zieske AW, *et al*; Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Histological topographical comparisons of atherosclerosis progression in juveniles and young adults. Atherosclerosis. 2008;197(2):791-8.
- (322). McMahan CA, Gidding SS, Malcom GT, *et al*; Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Research Group. Pathobiological determinants of atherosclerosis in youth risk scores are associated with early and advanced atherosclerosis. Pediatrics. 2006;118(4):1447-55.
- (323). Zieske AW, Malcom GT, Strong JP. Pathobiological determinants of atherosclerosis in youth (PDAY) cardiovascular specimen and data library. J La State Med Soc. 2000;152(6):296-301.
- (324). Caro CG, Fitz-Gerald JM, Schroter RC. Arterial wall shear and distribution of early atheroma in man. Nature. 1969;223(5211):1159-60.
- (325). Zarins CK, Giddens DP, Bharadvaj BK, *et al*. Carotid bifurcation atherosclerosis. Quantitative correlation of plaque localization with flow velocity profiles and wall shear stress. Circ Res. 1983;53(4):502-14.

- (326). Ku DN, Giddens DP, Zarins CK, *et al.* Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. Positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress. *Arteriosclerosis*. 1985;5(3):293-302.
- (327). Moore JE Jr, Ku DN, Zarins CK, *et al.* Pulsatile flow visualization in the abdominal aorta under differing physiologic conditions: implications for increased susceptibility to atherosclerosis. *J Biomech Eng*. 1992;114(3):391-7.
- (328). Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, *et al.* Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med*. 2007;204(10):2449-60.
- (329). Bataillard A, Freiche JC, Vincent M, *et al.* Antihypertensive effect of neonatal thymectomy in the genetically hypertensive LH rat. *Thymus*. 1986;8(6):321-30.
- (330). Seaberg EC, Muñoz A, Lu M, *et al*; Multicenter AIDS Cohort Study. Association between highly active antiretroviral therapy and hypertension in a large cohort of men followed from 1984 to 2003. *AIDS*. 2005;19(9):953-60.
- (331). González Parias JL, Duque Giraldo VE, Velásquez-Lopera MM. FOXP3: Controlador maestro de la generación y función de las células reguladoras naturales. *Inmunología*. 2010;29(2):74-84.
- (332). Mor A, Luboshits G, Planer D, *et al.* Altered status of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in patients with acute coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2006;27(21):2530-7.

- (333). Ammirati E, Cianflone D, Banfi M, *et al.* Circulating CD4+CD25hiCD127lo regulatory T-Cell levels do not reflect the extent or severity of carotid and coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(9):1832-41.
- (334). De Palma R, Del Galdo F, Abbate G, *et al.* Patients with acute coronary syndrome show oligoclonal T-cell recruitment within unstable plaque: evidence for a local, intracoronary immunologic mechanism. *Circulation.* 2006;113(5):640-6.
- (335). Nilsson J, Hansson GK, Shah PK. Immunomodulation of atherosclerosis: implications for vaccine development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(1):18-28.
- (336). Textor SC, Lerman LO. Inflammatory cell markers as indicators of atherosclerotic renovascular disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(2):193-5.