

---

**UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA DE ALTA  
RESOLUCIÓN EN LA VALORACIÓN DE LA  
ATEROSCLEROSIS PRECLÍNICA, RIESGO  
CARDIOVASCULAR Y DIAGNÓSTICO DE LA  
HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR.**

**TESIS DOCTORAL**

**MIREIA JUNYENT PRIU**

---

*La presente tesis se la dedico a mi familia  
y amigos por su comprensión y apoyo incondicional.*

*La mayor razón para alcanzar una meta es lo que le supone a uno llegar a ella. Lo que le supone a uno constituirá siempre un valor mucho mayor que el que se obtenga.*

*Jim Rohn*

**ÍNDICE**

	Páginas
1. ABREVIATURAS	7
2. AGRADECIMIENTOS	8
3. INTRODUCCIÓN	11
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	18
4.1. Consideraciones generales sobre la ecografía carotídea	18
4.2. Correlación del grosor íntima-media (GIM) carotídeo con los factores de riesgo cardiovascular	24
4.3. GIM carotídeo como marcador de riesgo independiente de eventos coronarios	26
4.4. GIM carotídeo y eficacia del tratamiento hipolipemiente	29
4.5. Ecografía carotídea frente a otras técnicas de imagen para la valoración de la aterosclerosis preclínica	34
4.5.1. Detección de calcio coronario por tomografía computarizada	34
4.5.2. Resonancia magnética nuclear cardiovascular	36
4.5.3. Ecografía intravascular (IVUS)	37
4.6. La hipercolesterolemia familiar (HF): definición y criterios diagnósticos	38
4.6.1. La ecografía carotídea en la HF	41
4.6.2. La ecografía del tendón de Aquiles en la HF	42
5. HIPÓTESIS	47
6. OBJETIVOS	49

7. ESTUDIOS PUBLICADOS	51
7.1. Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española.	51
<b>Med Clin (Barc) 2005;125:770-774.</b> Comentario del Primer Estudio	57
7.2. Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease risk beyond the Framingham risk score.	59
<b>Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006 (submitted)</b> Comentario del Segundo Estudio	89
7.3. The influence of HDL cholesterol on preclinical carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia.	93
<b>Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26:1107-1113.</b> Comentario del Tercer Estudio	101
7.4. The use of Achilles tendon sonography to distinguish familial hypercholesterolemia from other genetic dyslipidemias.	103
<b>Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005;25:2203-2208.</b> Comentario del Cuarto Estudio	110
8. DISCUSIÓN	112
9. CONCLUSIONES	
9.1. Conclusiones del Primer Estudio	123
9.2. Conclusiones del Segundo Estudio	124
9.3. Conclusiones del Tercer Estudio	125
9.4. Conclusiones del Cuarto Estudio	126
9.5. Conclusiones globales	127
10. BIBLIOGRAFÍA	128
11. CURRÍCULUM VITAE	
11.1. Publicaciones	153
11.2. Comunicaciones a congresos nacionales	155
11.3. Comunicaciones a congresos internacionales	158

## TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Estudios clínicos aleatorizados y controlados con cambios del GIM carotídeo como variable sustitutiva principal	31
Tabla 2. Criterios clínicos diagnósticos de HF según la <i>Dutch Clinic Lipid Network criteria</i>	45
Figura 1. GIM carotídeo normal	20
Figura 2. GIM carotídeo patológico	20
Figura 3. Placas de ateroma en territorio carotídeo	20
Figura 4. Placa de ateroma en la pared anterior de la bifurcación con un core lipídico	21
Figura 5. Visualización de la placa de ateroma mediante la utilización de doppler-color	21
Figura 6. Tasas de progresión anual del GIM carotídeo en grandes estudios clínicos comparando fármacos hipolipidemiantes con placebo	33
Figura 7. TC multicorte de la arteria coronaria izquierda calcificada	35
Figura 8. Tendón de Aquiles con diámetro anteroposterior y ecoestructura normales en un adulto sano.	46
Figura 9. Tendón de Aquiles moderadamente engrosado con pérdida parcial de la ecoestructura normal en un adulto con HF.	46
Figura 10. Tendón de Aquiles muy engrosado mostrando pérdida difusa de la ecoestructura fibrilar y áreas hipoecoicas (xantoma) en un adulto con HF.	46

## 1. ABREVIATURAS

ABCA: *Adenosin triphosphate Binding Cassette transporters.*

AHA: *American Heart Association.*

ARIC: *Atherosclerosis Risk in Communities.*

ASAP: *Atorvastatin versus Simvastatin on Atherosclerosis Progress.*

CAC: calcio coronario.

CHS: *Cardiovascular Health Study.*

ECC: enfermedad cardiaca coronaria.

HDL: *high density lipoprotein.*

HF: hipercolesterolemia familiar.

GIM: grosor íntima-media.

IAM: infarto agudo de miocardio.

IVUS: Ecografía intravascular.

KIHD: *Kuopio Ischemic Heart Disease.*

LDL: *low density lipoprotein.*

NCEP ATP-III: National Cholesterol Education Panel *Adult Treatment Panel III.*

PCR: proteína C reactiva.

PCSK9: *proprotein convertase subtilisin/Kevin type 9 gene.*

PROCAM: Prospective Cardiovascular Münster Study.

REGICOR: Registre Glroní del Cor.

RLDL: receptor para las LDL.

RMN: resonancia magnética nuclear.

SCORE: Systematic COronary Risk Evaluation.

TC: tomografía computarizada.

VLDL: *very low density lipoprotein.*

## **2. AGRADECIMIENTOS**

Los trabajos que forman parte de esta tesis doctoral no se hubieran llevado a cabo sin la colaboración de muchas personas que de forma personal y profesional han participado en su realización. Entre ellas quiero mostrar mi agradecimiento especial:

Al Dr. Emilio Ros, director de esta tesis, por su espíritu crítico, rigor científico, apoyo constante y confianza depositada en mi para la realización de la presente tesis.

A la Dra. Rosa Gilabert, de la Sección de Ecografía del Servicio del Centro de Diagnóstico por la Imagen del Hospital Clínic y co-directora de la presente tesis, por su inestimable aportación en la realización de los estudios ecográficos y por enseñarme a interpretar las ecografías carotídeas y de los tendones de Aquiles.

Al Dr. Daniel Zambón por su constante estímulo en la investigación en el campo de la aterosclerosis.

Al Dr. Fernando Civeira, del Servicio de Medicina Interna del Hospital Miguel Servet de Zaragoza por su aportación, apoyo incondicional y colaboración en los trabajos de esta tesis, en relación con la ecografía del tendón de Aquiles.

Al Dr. Miguel Pocoví del Departamento de Bioquímica, Biología Celular y molecular, Universidad de Zaragoza por los estudios genéticos destinados a la



detección de mutaciones del gen receptor del LDL y mutaciones del gen de la apoB de los pacientes con sospecha clínica de Hipercolesterolemia Familiar y por su gran disponibilidad tanto a nivel personal como profesional.

Además, agradecer a todos los profesionales del Servicio de Medicina Interna del H. Miguel Servet de Zaragoza y del departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de la Universidad de Zaragoza y en especial, al Dr. Civeira y al Dr. Pocoví, por el trato recibido y constante disposición durante mi estancia en Zaragoza mientras realizaba la tesis doctoral.

Al Dr. Eric de Groot, del Department of Vascular Medicine, Academic Medical Center, Universidad de Amsterdam, Holanda por sus valiosas aportaciones en el campo de la ecografía carotídea.

A Emili Corbella, estadístico de la Unidad de Lípidos del Hospital Clínic de Barcelona por su inestimable ayuda en los cálculos estadísticos de todos los estudios de esta tesis, por su manera de hacer las cosas, por su paciencia y por su permanente disposición.

A la Dra. Montserrat Cofán de la Unidad de Lípidos y a los Dres. Elena Casals y Ramón Delofeu del Servicio de Bioquímica del Hospital Clínic de Barcelona por su inestimable colaboración en las determinaciones de las variables analíticas utilizadas en los estudios de esta tesis.

A todos los profesionales que componen la Sección de Ecografía del Centro de Diagnóstico por la Imagen del Hospital Clínic, en especial a la Dra. Isabel Núñez y a las ATS Eli Sánchez e Irene López por su constante dedicación, amabilidad y en especial, por el apoyo recibido desde los primeros días.

A todos los compañeros de la Unidad de Lípidos, en especial a Ana, Mercè, María, Montse, Melibea, Irene, Mónica y Vero por su desinteresado apoyo, su paciencia y por su amistad incondicional durante estos años.

Al Instituto de Salud Carlos III y Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS) por haberme concedido las ayudas que me han permitido llevar a cabo todos estos trabajos (becas FIS RTIC C03/01, G03/181, PI05/0134 y PI05/0075).

A todos los pacientes que constituyen el material humano de esta tesis, por su colaboración desinteresada.

### **3. INTRODUCCIÓN**

La aterosclerosis es un proceso patológico difuso del árbol vascular que afecta tanto a la circulación coronaria como a la cerebral y periférica. Este proceso se inicia por una lesión en el endotelio vascular, exponiendo las células del músculo liso subyacente a los lípidos séricos y a las plaquetas, permitiendo el depósito de lípidos, la proliferación celular del músculo liso y la formación de estrías grasas. Las estrías grasas pueden progresar hacia la formación de placas de ateroma y, en estadios avanzados, hacia la trombosis y oclusión arterial, que es la responsable de las manifestaciones clínicas de las enfermedades cardiovasculares (cardiopatía isquémica, accidente vascular cerebral, aneurisma aórtico e insuficiencia arterial de las extremidades) (1).

A pesar del desarrollo de nuevos fármacos y de la implementación de las guías clínicas en la práctica habitual para el cálculo del riesgo cardiovascular individual, las enfermedades cardiovasculares siguen siendo la primera causa de morbilidad en los países industrializados y su prevención es uno de los principales retos de la salud pública en el mundo (2).

Las normas preventivas de las enfermedades cardiovasculares en general y de la enfermedad cardíaca coronaria (ECC) en particular pretenden reducir la intensidad de los factores de riesgo tradicionales (tabaquismo, hipertensión arterial, dislipemia, diabetes y obesidad) en la población mediante consejos sobre estilos de vida saludables: disminución de grasa animal y azúcar refinado de la dieta, recuperación del peso ideal, abstenerse de fumar y evitar el sedentarismo (3). Sin embargo, aún cumpliendo con estas medidas higiénico-dietéticas recomendadas, suelen ser insuficientes para una prevención eficaz en la mayoría de los individuos de alto riesgo identificados dentro de la población

por los servicios de salud y con frecuencia es necesario complementar el consejo dietético con tratamiento farmacológico hipolipemiante.

En los últimos años se han definido nuevos factores de riesgo, denominados “emergentes”, como la combinación de factores de riesgo conocida como síndrome metabólico (4,5) y las concentraciones séricas de apolipoproteína B, lipoproteína(a), homocisteína, proteína C reactiva (PCR), fibrinógeno y otros factores de la coagulación (5-11). Junto con estos factores de riesgo, hay que considerar la carga genética de cada individuo y su interacción con el estilo de vida, que pueden ser protectores o favorecedores del riesgo (12).

En la práctica clínica habitual se utilizan diferentes algoritmos diagnósticos para la predicción del riesgo cardiovascular global, considerando como tal la probabilidad de padecer un episodio cardiovascular en el futuro próximo (habitualmente, 10 años) (13). Se trata de ecuaciones multifactoriales que proporcionan una puntuación basada en el sexo, la edad y la potencia de los factores de riesgo tradicionales (13-22). De los diferentes sistemas empleados, la ecuación de Framingham sigue siendo la más utilizada en la predicción del riesgo cardiovascular por ser el estudio poblacional de más años de seguimiento y que más información ha proporcionado sobre los factores de riesgo cardiovascular y su papel predictivo de episodios coronarios.

Desde la publicación inicial de Kannel et al (14) hasta la versión ampliamente difundida del *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP ATP-III) de los EEUU (15), la tabla ha tenido diversas actualizaciones (14-17). La versión actual de la ecuación de Framingham comprende 6 factores de riesgo: la edad, el sexo, el tabaquismo, la presión arterial sistólica (o existencia de hipertensión), el colesterol total y el colesterol

HDL. A cada factor de riesgo se le asigna una puntuación. La cifra resultante de sumar los puntos obtenidos para cada uno de los 6 factores de riesgo permite establecer el porcentaje de riesgo de sufrir un episodio de ECC en los 10 años siguientes. Con respecto a la primera versión (14), se han eliminado la diabetes mellitus (ahora se considera un equivalente de enfermedad coronaria en cuanto al riesgo cardiovascular) y la hipertrofia ventricular izquierda en el electrocardiograma.

Sin embargo, a pesar de su amplia difusión, diversos estudios han puesto de manifiesto que la ecuación de Framingham sobreestima el riesgo en poblaciones de bajo riesgo, con una baja incidencia de patología coronaria y una prevalencia de los factores de riesgo inferior a la observada en la población americana (23-28). De este modo, se han confeccionado otras tablas de riesgo para su utilización en Europa, como las derivadas del estudio Systematic COronary Risk Evaluation (SCORE) (19) o del estudio PROspective CArdiovascular Münster study (PROCAM) (20). En el estudio SCORE (19) se incluyeron datos de 12 cohortes europeas seguidas durante años y, dado el elevado número de participantes, permitió calcular de forma independiente el riesgo en poblaciones de alto riesgo (norte de Europa) y bajo riesgo (países mediterráneos). El principal inconveniente de este estudio es que se basa en mortalidad cardiovascular, sin tener en cuenta los eventos cardiovasculares no mortales. El estudio PROCAM (20), otro modelo de procedencia europea, es uno de los más completos en relación al número de variables contempladas (edad, presión sistólica, tabaco, diabetes, colesterol total, HDL, triglicéridos e historia familiar de enfermedad cardiovascular) pero sólo es aplicable a varones y se basa en el riesgo de IAM.

Sin embargo, mientras no existan unas tablas elaboradas a partir de datos epidemiológicos de países del sur de Europa o más cercanos al nuestro, se recomienda utilizar la tabla de Framingham para el cálculo del riesgo. Destacan 2 estudios que han calibrado la fórmula de Framingham con los valores de incidencia y prevalencia de las enfermedades cardiovasculares y sus factores de riesgo en España. El estudio REGICOR (28) (*REgistre Glroní del Cor*), que adjudica una categoría de riesgo inferior que la de Framingham original en más del 50% de las mujeres y en casi el 90% de los varones, y el estudio DORICA (22) cuyos resultados se acercan a los del REGICOR pero además incluyen la presencia del sobrepeso y la obesidad en la ecuación de cálculo, lo que representa una aportación novedosa.

Sin embargo, la aplicabilidad o transportabilidad de estas ecuaciones a poblaciones con riesgos cardiovasculares diferentes ha sido ampliamente cuestionada (29-31). Diferentes estudios encuentran que entre el 30% y el 70% de los episodios clínicos de ECC ocurren en personas clasificadas retrospectivamente como de bajo riesgo (26,32). Por lo tanto, la utilización de técnicas diagnósticas que visualizan directamente la aterosclerosis, como la ecografía carotídea, podría ser una herramienta útil en la detección de aquellos sujetos clasificados *a priori* como de bajo riesgo, pero susceptibles de padecer un evento coronario en los próximos años (33,34).

La estratificación del riesgo sugiere la conducta terapéutica a seguir. Con escasas diferencias, las guías sobre control de los lípidos en prevención cardiovascular (15,35,36) recomiendan reducir enérgicamente el colesterol LDL cuando el riesgo coronario a 10 años es  $\geq 20\%$ , categoría que comprende todos los pacientes en prevención secundaria tras un episodio isquémico en cualquier

territorio arterial y, según el documento del NCEP ATP-III (15), las situaciones de riesgo equivalente, que incluyen la diabetes mellitus, el síndrome metabólico florido, personas con múltiples factores de riesgo o con factores de riesgo especialmente potentes, como aquellas con hiperlipemias genéticas graves, aún en ausencia de otros factores de riesgo, como la hipercolesterolemia familiar (HF). En estos individuos deben tratarse con energía todos los factores de riesgo modificables y reducir el colesterol LDL a cifras inferiores a 100 mg/dL (15), sin necesidad de efectuar técnicas adicionales de evaluación del riesgo coronario.

En el otro extremo del espectro de riesgo se encuentran los individuos sin factores de riesgo o con uno sólo, con una puntuación de Framingham baja y un riesgo coronario a 10 años <10%. Estas personas tienen un riesgo de padecer ECC que es muy bajo, tanto a corto como a largo plazo (17,37) y no necesitan más evaluaciones, sobre todo si su riesgo coronario es <5-6% a 10 años (37). En general, a los individuos en esta categoría se les ofrecen las recomendaciones generales sobre estilo de vida y se les indica que no precisan de nuevas valoraciones del riesgo coronario hasta pasados 5 años (15,35,36).

La tercera categoría de riesgo global se encuentra en una situación intermedia entre las dos anteriores. Se trata de individuos en prevención primaria pero con más de un factor de riesgo coronario o con uno sólo pero suficiente como para tener puntuaciones altas en la ecuación multifactorial de Framingham, que se corresponde con un riesgo global a 10 años entre el 10 y el 20%. Estos individuos aún no son susceptibles de una intervención energética y, según sus cifras iniciales de colesterol LDL, pueden ya ser candidatos a fármacos hipolipemiantes una vez evaluado el efecto de la dieta y otras modificaciones del

estilo de vida. Esta categoría de riesgo intermedio incluye probablemente el segmento más amplio dentro de la población adulta del mundo occidental (40% de la población de EEUU) (38). Es bien sabido que existe una notable variabilidad individual en la susceptibilidad a los efectos aterogénicos de cada factor de riesgo, relacionada con factores genéticos y ambientales y su interacción, por lo que, dentro de un riesgo global intermedio extrapolado de estudios de población como el de Framingham (14,16,17), hay una inevitable incertidumbre sobre el verdadero riesgo individual. Por tanto, son precisamente las personas en esta situación las que pueden beneficiarse de una estratificación adicional del riesgo mediante el uso de técnicas incruentas de exploración de imagen de la propia aterosclerosis, como la ecografía carotídea (33,34).

La ecografía carotídea evalúa el resultado final de la exposición de las arterias a la carga total de factores de riesgo y nos proporciona una definición más precisa del riesgo, más allá de los factores tradicionales, que permite priorizar la intensidad de la intervención dirigida a reducirlo (34). Tan sólo 2 autores (39,40) han analizado la utilidad de la ecografía carotídea en dos pequeñas muestras de sujetos con riesgo inicial intermedio, reclasificándolos posteriormente como de bajo y alto riesgo en el  $\approx 25\%$  y el  $\approx 33\%$  de los casos, respectivamente. Se desconoce el efecto de la ecografía carotídea en la reestratificación de los sujetos considerados inicialmente de bajo o alto riesgo.

La aterosclerosis preclínica es el resultado final de la exposición de la pared arterial a los diferentes factores de riesgo, conocidos y por conocer, en ausencia de enfermedad isquémica previa, y su evaluación es útil para orientar la intensidad de la intervención. Como han indicado una conferencia de la *American Heart Association* (AHA) (15) y la *Task Force de Screening for Heart*



*Attack Prevention and Education* (SHAPE) (41), existen suficientes evidencias científicas del valor predictivo de los hallazgos de varias técnicas diagnósticas de aterosclerosis preclínica o isquemia silente como para recomendar su uso en pacientes seleccionados de riesgo global intermedio y, en caso de obtener una prueba patológica, considerar el individuo como de alto riesgo o equivalente a prevención secundaria. A la inversa, la demostración de ausencia de aterosclerosis preclínica debería mitigar la intensidad de la intervención, recalificando al individuo como de bajo riesgo. De todas las técnicas diagnósticas de valoración de arteriosclerosis preclínica, la única recomendada por la AHA y aprobada por la *Food and Drug Administration* de EEUU como variable sustitutiva de morbilidad cardiovascular en estudios clínicos de progresión o regresión de la arteriosclerosis es la ecografía carotídea (33), que es la técnica utilizada en todos los trabajos de la presente tesis.

En la primera parte de la tesis se realiza una revisión bibliográfica sobre la metodología de la ecografía carotídea y se describen los principales estudios transversales, prospectivos y longitudinales que han utilizado los resultados de esta técnica como variable principal. Asimismo, se compara la ecografía carotídea con otras técnicas diagnósticas de aterosclerosis preclínica, como la tomografía computarizada (TC), la resonancia magnética nuclear (RMN) y la ecografía intravascular (IVUS). En esta revisión bibliográfica también se describen la prevalencia y criterios diagnósticos de la HF, la dislipemia paradigmática evaluada en las Unidades de Lípidos, así como los principales trabajos relacionados con la ecografía carotídea y de los tendones de Aquiles en estos pacientes. A continuación se exponen las hipótesis de estudio y los objetivos planteados. Finalmente, se presentan los artículos publicados con un

breve comentario de cada uno de ellos y se exponen las conclusiones globales que de ellos se desprenden.

## **4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **4.1. Consideraciones generales de la ecografía carotídea**

La ecografía carotídea es un método sencillo, reproducible, de bajo coste y fiable que permite evaluar la magnitud anatómica de la aterosclerosis y el riesgo cardiovascular mediante el estudio morfológico del territorio carotídeo (carótida primitiva, bifurcación carotídea y carótida interna en su porción proximal, 1-2 cm distal a la bifurcación), de ambos lados (42).

En el estudio ecográfico de arterias de localización superficial como las carótidas, y por lo tanto, accesibles al estudio con transductores de alta frecuencia (7,5-10 MHz), la pared arterial normal explorada en sección longitudinal está formada por dos líneas paralelas ecogénicas separadas por un espacio anecoico. Esta imagen se observa siempre en la pared posterior del vaso (la más alejada del transductor) y de forma menos constante en la pared anterior (la más cercana al transductor) por problemas de reverberación.

En 1986, Pignoli et al (43) demostraron en piezas quirúrgicas de tejido arterial, que las dos líneas ecogénicas apreciables en los cortes longitudinales de la pared posterior carotídea, se originaban a partir de las interfases luz vascular-íntima y media-adventicia, respectivamente. Los autores propusieron la medida de la separación entre ambas líneas, que se denominó complejo íntima-media, como parámetro para cuantificar la aterosclerosis, basándose en la hipótesis de que el complejo íntima-media estaría engrosado debido al depósito de lípidos.

Debido a la accesibilidad de la carótida primitiva y al ser la evaluación de los segmentos pre-bifurcación reproducibles entre diferentes exploraciones, son estos los que se evalúan en la cuantificación del complejo íntima-media. Estas localizaciones también coinciden con la localización de las lesiones ateroscleróticas precoces con independencia de la existencia o no de la elevación de las fracciones lipídicas. Este hecho es indicativo de que las lesiones se desarrollan más frecuentemente en zonas que están sometidas a un proceso adaptativo hemodinámico: registro turbulento, diferencias de tensión parietal entre segmentos y/o estasis sanguíneo.

En la realización de la ecografía carotídea, para evaluar la carga aterosclerótica, se evalúan los siguientes parámetros:

1. Grosor íntima-media (GIM) de la carótida primitiva. Se define como la distancia existente entre la interfase luz carotídea-íntima y la interfase media-adventicia de la pared posterior. Se toman 4 medidas a intervalos regulares, 1 cm pre-bifurcación. El resultado será la media de las 4 determinaciones de cada lado (carótida derecha y carótida izquierda). (Figuras 1 y 2)

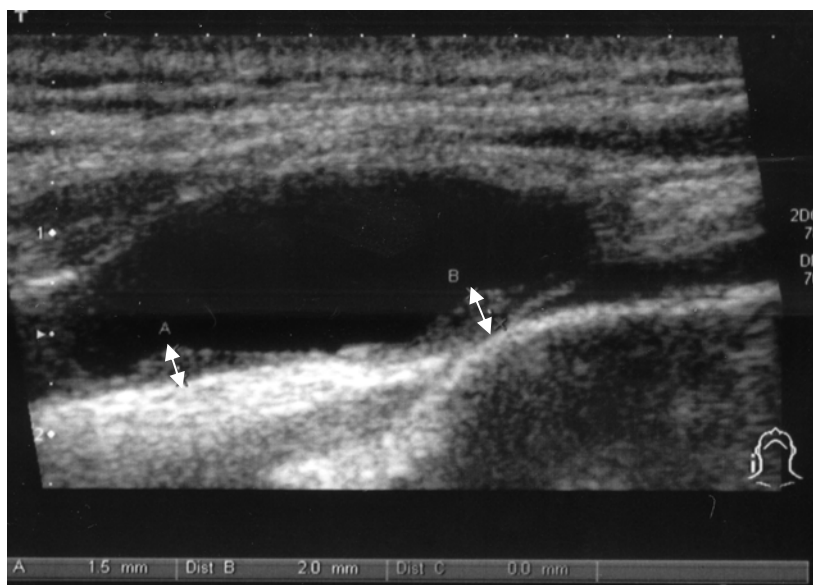
2. Grosor máximo del GIM de la carótida primitiva. Se define como la distancia máxima del GIM de las carótidas primitivas de cada lado.

3. Grosor máximo del GIM. Se define como la distancia máxima en cualquiera de los 3 segmentos carotídeos evaluados (carótida común, bifurcación y carótida interna) de cada lado. Cuando existen placas de ateroma, se considera como grosor máximo del GIM a la altura máxima de la placa.



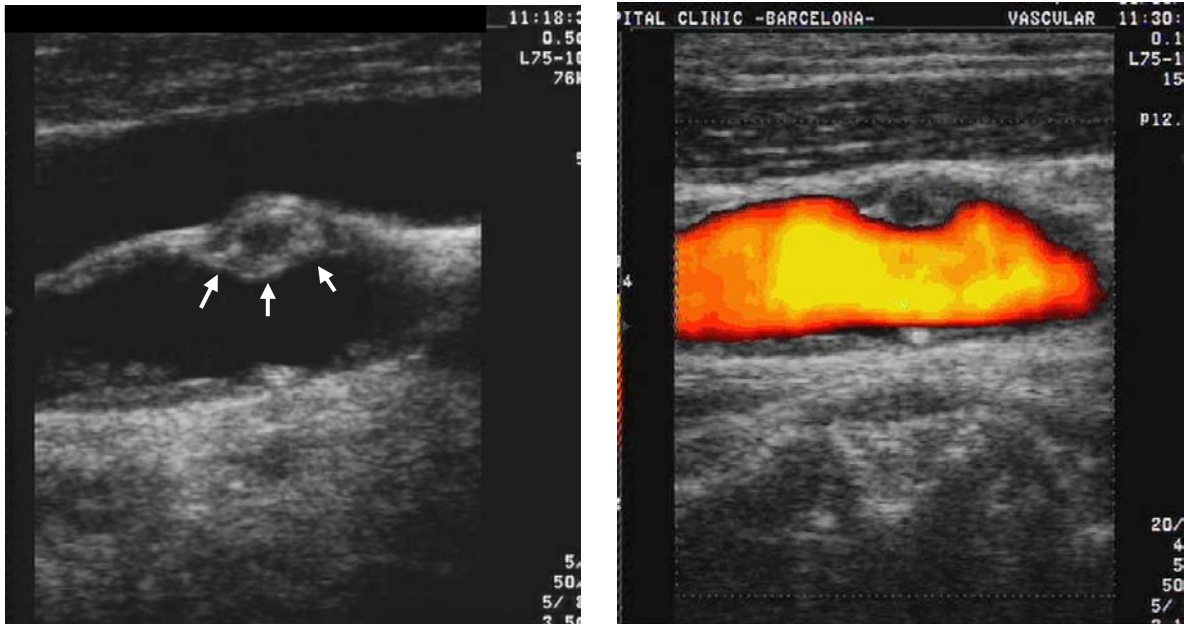
**Figuras 1 y 2. Grosor íntima-media (GIM) carotídeo (espacio delimitado entre las flechas) normal (1) y patológico (2) (engrosado), respectivamente.**

4. Placas de ateroma. Se definen como engrosamientos focales del GIM con una altura superior al 50% del GIM adyacente no engrosado o como engrosamientos difusos de 1,2 mm o más. Se analizan los siguientes parámetros: número de placas, localización, altura máxima de la placa carotídea y suma de las alturas máximas de las placas (Figura 3).



**Figura 3. Placas de ateroma (delimitadas entre las flechas) en territorio carotídeo.**

En los pacientes con placas muy calcificadas que impidan la evaluación de la luz permeable, el grado de estenosis se evaluará mediante la exploración con doppler pulsado, cuantificando las velocidades pre y post-placa.



Figuras 4 y 5. Placa de ateroma en la pared anterior de la bifurcación con un core lipídico y evaluación de la misma mediante la utilización de doppler-color.

La ecografía carotídea tiene escasamente 20 años de historia (43), por lo que aún no está suficientemente estandarizada y los distintos protocolos empleados dificultan la comparación de los resultados de los muchos estudios que utilizan esta técnica. Revisiones recientes (42,44,45,46) ilustran con claridad las virtudes y defectos de esta técnica. Para la interpretación de los resultados de la ecografía carotídea, deben destacarse los siguientes aspectos:

1. La pared posterior de la carótida común es la más estudiada por dos motivos: A) es la más fácil de visualizar y medir; B) se presta a la medición automatizada del grosor de la íntima-media (GIM), eliminando así el sesgo y variabilidad inherentes a la lectura manual. Sin embargo, los engrosamientos

focales del complejo íntima-media (placas de ateroma) son infrecuentes en la carótida común, por lo que las mediciones en este segmento del árbol carotídeo no se relacionan tan bien con los factores de riesgo o con la incidencia de episodios clínicos como las obtenidas en segmentos más distales.

2. Por la aceleración del flujo sanguíneo y aumento de las fuerzas de cizallamiento a partir de la bifurcación, el bulbo carotídeo y la carótida interna son lugares de predilección para la formación de placas. Sin embargo, la inclusión del GIM de estos segmentos como variable substitutiva presenta los siguientes problemas: A) es más difícil de visualizar que el GIM de la pared distal de la carótida común; B) existe un mayor potencial de datos “perdidos”; C) la variabilidad de las mediciones es de 2 a 3 veces mayor que en la carótida común; D) la medición automatizada no funciona ya que es más difícil obtener un ángulo de exploración de 90°.

Por estos motivos, la mayoría de estudios incluyen todos los segmentos visibles de ambas carótidas (carótida común, bulbo carotídeo, carótida interna) tanto en la pared posterior como en la pared anterior, produciendo un algoritmo compuesto de 12 mediciones (6 paredes de cada carótida), que suele expresarse como la media de todos los GIM medidos o la media de los GIM máximos (42). Otros estudios prestan atención sólo a la prevalencia, número, altura máxima, suma de alturas o suma de áreas de las placas como medidas de aterosclerosis avanzada, si bien la definición de placa (magnitud del GIM para decir que se trata de una placa) es muy variable entre diferentes estudios (de 0,8 a 2 mm). En realidad, cualquier método de medición del GIM carotídeo es útil y representativo de la carga aterosclerótica (45,47-50).

Un aspecto técnico importante es el que hace referencia al sistema de cuantificación del GIM. Se ha señalado que la utilización de un programa informático que mide el GIM de forma automática permite una precisión cuatro veces superior a la del sistema de medición manual con los calibradores electrónicos incorporados al equipo ecográfico (51). Si el empleo de un programa informático es importante para reducir sesgos en la determinación de progresión o regresión de lesiones en estudios secuenciales, la medición manual con calibradores electrónicos y en tiempo real es suficiente para determinar la existencia de aterosclerosis preclínica en un paciente individual (52).

Antes de tomar decisiones clínicas sobre la base de los hallazgos de la ecografía carotídea, es necesario disponer de unos valores de referencia, tanto del GIM como de la frecuencia y gravedad de las placas. Estos valores de referencia se desconocen en la población general española y sería importante definirlos para poder considerar a un sujeto como sano o patológico (afecto de aterosclerosis preclínica) en función de los valores obtenidos. El modo más lógico de hacerlo es el que han utilizado los estudios con mayor número de sujetos (53-55), que consiste en considerar el cuartil o quintil superior de la distribución del GIM de la población como el más anormal y, por tanto, el que sirve para determinar el riesgo relativo o la razón de riesgo de eventos cardiovasculares en comparación con los percentiles inferiores. Una revisión de estudios en individuos normales, procedentes de distintas poblaciones geográficas, encontró que la mayoría de GIM patológicos en la pared posterior de la carótida común se situaba por encima del percentil 75 de los valores de los controles (56). Los datos epidemiológicos existentes indican que el aumento del GIM carotídeo (a partir

de 0,8 mm o de 1 mm, según la edad y el riesgo poblacional) o la presencia de placas representan un aumento del riesgo cardiovascular (45,46,57) y permiten, en su caso, reclasificar un individuo de riesgo intermedio en la categoría de alto riesgo y así maximizar la intervención.

Desde el punto de vista puramente clínico, de detección de aterosclerosis preclínica y decisión de una intervención más o menos agresiva, basta echar un vistazo a las imágenes ecográficas para darse cuenta rápidamente del grado de afectación. En este sentido, un interesante estudio reciente utilizó con éxito el impacto de la percepción visual del estado de las propias arterias para conseguir que los fumadores dejaran de fumar (58). Este método ha sido utilizado con éxito en nuestra consulta.

El uso de la ecografía carotídea en la detección y seguimiento de la aterosclerosis preclínica está en plena expansión. A continuación se mencionan los principales estudios clínicos transversales, prospectivos y longitudinales que evalúan el GIM carotídeo como variable sustitutiva de aterosclerosis.

#### **4.2. Correlación del GIM carotídeo con los factores de riesgo cardiovascular**

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que el GIM de la carótida común medido por ecografía se relaciona con los factores de riesgo cardiovascular clásicos. El estudio ARIC (*Atherosclerosis Risk in Communities*) (54), un estudio de seguimiento de una gran cohorte poblacional en Estados Unidos con 12.841 sujetos con edades comprendidas entre los 45 y 64 años, confirmó que los factores de riesgo clásicos y un simple parámetro de



inflamación (el recuento de leucocitos) se relacionaban con la progresión del GIM carotídeo. Esto se comprobó de nuevo en otros dos grandes estudios poblacionales, el *Cardiovascular Health Study* (CHS) (53) y el estudio de Rotterdam (59) con más de 5.000 sujetos, con edades superiores a los 65 y 55 años, respectivamente. En ambos estudios, el GIM se correlacionaba con los factores clásicos de riesgo cardiovascular, con la presencia de diabetes en el CHS y con el índice de masa corporal en el estudio de Rotterdam. Otro gran estudio que confirmó la correlación del GIM con el índice de masa corporal aparte de los factores clásicos fue el Tromso Heart Study (60) (6408 hombres entre los 25 y 84 años). La asociación del GIM con la presencia de diabetes también se confirmó en el estudio EVA (*Vascular Aging Study*) (61), realizado en 1.271 sujetos con edades comprendidas entre los 59 y 71 años. En el *Edinburgh Artery Study* (62) con 1.156 sujetos entre 60 y 79 años, se le añadió el fibrinógeno y la viscosidad sanguínea a los factores de riesgo clásicos. Los estudios de Prati (63) (1.348 sujetos de edades entre los 18 y 99 años) y Suita (64) (1.445 sujetos con edades entre los 50 y 79 años) confirmaron la asociación del GIM con los factores clásicos. El estudio de Crouse et al (65), también demostró el potencial aterogénico de otros factores de riesgo de más reciente calificación, como los triglicéridos y el cociente cintura-cadera. Finalmente, el estudio *Kuopio Ischemic Heart Disease* (KIHD) (66) con 1.224 hombres entre los 42 y 60 años, asoció el GIM con la presencia de diabetes, la concentración de cobre en plasma y factores sociales, como la educación o el poder adquisitivo, además de los factores clásicos de riesgo cardiovascular. En cambio, en el *British Regional Heart Study* (67) con 800 sujetos entre los 56 y

77 años, los factores sociales y el estilo de vida no se relacionaban con el GIM de la carótida común, pero sí con los factores típicos de riesgo cardiovascular.

La correlación del GIM con los factores de riesgo cardiovascular clásicos también se ha estudiado en poblaciones jóvenes, como en la del *Bogalusa Heart Study* (68) (518 sujetos de entre 20 y 38 años), en el que la presión arterial sistólica, la raza, la edad, el colesterol LDL y el colesterol HDL, por este orden, explicaban el 17% de la variabilidad del GIM carotídeo.

#### **4.3. GIM carotídeo como marcador de riesgo independiente de eventos coronarios**

A continuación se describen los resultados de los 8 principales estudios prospectivos que evalúan el GIM carotídeo como marcador de riesgo independiente tanto de eventos cardiovasculares como cerebrovasculares.

En el estudio ARIC (54,55) de seguimiento de una gran cohorte poblacional en Estados Unidos, se evaluaron más de 15.000 sujetos de ambos sexos. En este estudio, por cada aumento anual de 0,19 mm del GIM carotídeo, aumentaba el riesgo de infarto agudo de miocardio (IAM) o de muerte coronaria en un 36% en los varones y en un 69% en las mujeres. Las diferencias obtenidas en función del sexo se debían al menor riesgo absoluto de eventos coronarios en las mujeres respecto a los varones con GIM carotídeos inferiores a 1 mm (1,1 % versus 3,1%,  $p < 0,05$ ), mientras que con GIM carotídeos superiores o iguales a 1 mm, los riesgos absolutos prácticamente eran iguales (12,9% en varones respecto 11,7% en mujeres).

En el KIID (69) se evaluó la relación entre el GIM máximo de la carótida común y el riesgo de IAM en 1257 hombres de edad media (40-60 años). En

este estudio, el riesgo de IAM aumentaba con la gravedad de la lesión aterosclerótica. Considerando el GIM como una variable continua, por cada aumento de 0,1 mm, el riesgo de IAM aumentaba un 11%. Asimismo, la existencia de una placa carotídea ( $GIM \geq 1$  mm) no calcificada duplicaba el riesgo de IAM, mientras que si la placa estaba calcificada, lo cuadruplicaba.

Otro gran estudio de base poblacional es el estudio de Rotterdam, que demostró que los individuos de 55 o más años de edad con placas carotídeas tenían alto riesgo de AVC (70). En este caso la ecografía sólo se hizo al inicio de un seguimiento medio de 5,2 años en 4.217 individuos sin enfermedad cerebrovascular previa; si la presencia de cualquier placa carotídea ya aumentaba el riesgo de ictus 1,5 veces independientemente de su localización, cuando existían 5 o 6 placas (sumando ambos territorios carotídeos) el riesgo de infarto lacunar aumentaba más de 10 veces. Otra importante conclusión de este estudio (70) es la probable etiología tromboembólica de los accidentes cerebrovasculares cuando habían placas carotídeas, ya que el riesgo de ictus no aumentó en las personas que tomaban regularmente aspirina (el 8% de la cohorte). Un trabajo adicional derivado del estudio de Rotterdam (71) confirmó el valor predictivo de la incidencia de infarto de miocardio que tenía el GIM (medio, máximo, global y de cada segmento del árbol carotídeo) al inicio de un seguimiento de 4,6 años. En este trabajo, por cada aumento anual del GIM de 0,16 mm, aumentaba el riesgo de IAM en un 43% y de AVC en un 41%.

En el CHS (53) también se analizó la asociación entre GIM carotídeo y el riesgo de IAM y AVC en  $\approx 5.000$  sujetos de ambos sexos con edades superiores a los 65 años. En este estudio, por cada aumento de la pared arterial de 0,2 mm, aumentaba el riesgo relativo de IAM en un 46% y de AVC en un 47%.

Asimismo, el riesgo relativo de padecer un evento cardiovascular para los sujetos con valores de GIM en el quintil superior (valores más elevados de la pared arterial), en comparación con los valores del quintil inferior (valores más bajos de la pared arterial), era de 3,87 (IC 95%: 2,72 – 5,51).

En el estudio de Salonen y Salonen (69) se evaluó la asociación entre el GIM máximo carotídeo y la incidencia de eventos cardiovasculares en más de 1.000 varones de mediana edad. En este estudio, valores de GIM carotídeo superiores a 1 mm eran predictores de un IAM (RR 2,2; IC 95%: 0,7 a 6,7).

Un estudio realizado en más de 1.000 varones japoneses de edad avanzada (60-74 años) analizó la incidencia de AVCs en función de los cuartiles del GIM carotídeo (72). Este estudio demostró que los sujetos en el cuartil superior del GIM (valores más elevados de la pared arterial) tenían hasta 4 veces (sin ajustar) y 3 veces (ajustado por los factores de riesgo tradicionales) más riesgo de tener un AVC que los sujetos en los cuartiles inferiores del GIM (valores más bajos de la pared arterial). Asimismo, es el primer estudio que demostró una asociación directa entre la superficie irregular de la placa de ateroma y el riesgo de AVC.

Recientemente se ha publicado el estudio prospectivo CAPS (73) (*Carotid Atherosclerosis Progression Study*) con más de 5.000 sujetos alemanes de ambos sexos, de edades comprendidas entre los 19 y 90 años. Este estudio demuestra que todos los segmentos carotídeos son altamente predictivos de eventos cardiovasculares (por cada aumento anual del GIM carotídeo de 0,1 mm, el riesgo de IAM aumenta el 14,3%, de AVC, el 14,7% y de cualquier evento cardiovascular, el 14,5%), sobre todo en el grupo de población más joven (< 50 años).

Finalmente, Hodis et al (74), con 146 varones de edades comprendidas entre los 40 y los 59 años y portadores de un pontaje aorto-coronario (prevención secundaria), analizaron si las variaciones del GIM a lo largo del tiempo y medidas con ecografía y angiografía carotídea, predecían futuros eventos coronarios. Los autores concluyeron que el GIM carotídeo se relacionaba con el riesgo de eventos clínicos coronarios. Asimismo, por cada aumento anual del GIM de 0,03 mm, el riesgo relativo de muerte coronaria o de IAM era de 2,2 (IC 95%: 1,4 - 3,6) y de 3,1 para cualquier evento coronario (IC 95%: 2,1 - 4,5). Este trabajo concluía que el GIM carotídeo predecía los futuros eventos cardiovasculares más allá de la determinación de los factores de riesgo tradicionales y mejor que la angiografía carotídea.

#### **4.4. GIM carotídeo y eficacia del tratamiento hipolipemiente**

En la Tabla 1 se resumen los resultados de los principales estudios clínicos con hipolipemiantes que han utilizado los cambios temporales del GIM como variable sustitutiva principal de la eficacia terapéutica. La Figura 4 muestra las diferencias medias en la progresión del GIM carotídeo observadas en cada una de las dos ramas de los estudios clínicos controlados con placebo.

El estudio ACAPS (*Asymptomatic Carotid Artery Prevention Study*) (75), el primero que utilizó la ecografía carotídea para valorar eficacia, se efectuó en individuos asintomáticos con hipercolesterolemia moderada y aterosclerosis carotídea; el tratamiento con lovastatina redujo el cLDL un 28% y se asoció a regresión del GIM carotídeo en comparación con el grupo placebo. El estudio PLAC II (*Pravastatin, Lipids, and Atherosclerosis in the Carotid arteries*) (76) evaluó la regresión de la aterosclerosis carotídea en varones con ECC,

hipercolesterolemia moderada y al menos una placa de ateroma en carótidas tratados con pravastatina, que indujo un descenso medio del cLDL del 28%, demostrando menor progresión del GIM frente al grupo que recibió placebo. El estudio KAPS (*Kuopio Atherosclerosis Prevention Study*) (77) seleccionó varones asintomáticos con hipercolesterolemia moderada y aterosclerosis carotídea para tratamiento con pravastatina o placebo, demostrando menor progresión de la aterosclerosis carotídea y ausencia de cambios en la ecografía femoral en el grupo tratado, que tuvo una reducción media del cLDL del 27%. El efecto beneficioso fue superior en los fumadores y en individuos con concentraciones séricas bajas de vitamina E. En el estudio CAIUS (*Carotid Atherosclerosis Italian Ultrasound Study*) (78) también se utilizó pravastatina en pacientes asintomáticos con hipercolesterolemia moderada y evidencia ecográfica de aterosclerosis carotídea, demostrándose regresión del GIM en el grupo tratado frente a progresión en el grupo placebo. De modo notable, el beneficio del tratamiento activo fue independiente de la reducción de cLDL (descenso medio del 22%), sugiriendo un efecto pleiotrópico de las estatina (79). El subestudio del MARS (*Monitored Atherosclerosis Regression Study*) (80) utilizó a la vez la angiografía coronaria y la ecografía carotídea en pacientes con ECC e hipercolesterolemia moderada tratados con lovastatina o placebo, objetivando una menor progresión del GIM carotídeo en el grupo de tratamiento activo (reducción media del cLDL 45%), mientras que los cambios angiográficos fueron poco llamativos. En este estudio las concentraciones de lipoproteínas ricas en triglicéridos tuvieron valor predictivo de una evolución desfavorable (81). En un subestudio del estudio de prevención secundaria LIPID (*Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease*) (82) con pravastatina, el

tratamiento activo redujo el cLDL un 28% y se asoció a regresión del GIM carotídeo. En otro subestudio del estudio angiográfico REGRESS (*REgression GRowth Evaluation Statin Study*) (83) en pacientes con ECC e hipercolesterolemia moderada tratados de nuevo con pravastatina (reducción del cLDL 29%), se objetivó regresión del GIM carotídeo y femoral. De nuevo, como en el estudio MARS, la angiografía coronaria secuencial demostró un beneficio menor que el objetivado en la ecografía carotídea. El estudio BCAPS (*Beta-blocker Cholesterol-lowering Asymptomatic Plaque Study*) (84) comparó el tratamiento combinado de metoprolol y fluvastatina con placebo en personas con hipercolesterolemia moderada y aterosclerosis carotídea asintomática, demostrando también regresión del GIM carotídeo. En este estudio el cLDL se redujo una media del 23% en el grupo de tratamiento activo.

Estudio y referencia bibliográfica	Población	N	Intervención (dosis)	Duración (años)	Variable final	Efecto sobre GIM*
ACAPS <sup>14</sup>	HC moderada y ateroma carotídeo	919	Lovastatina (20-40 mg) frente a placebo	3	GIM carotídeo	Regresión
PLAC II <sup>15</sup>	ECC	151	Pravastatina (10-40 mg) frente a placebo	3	GIM carotídeo	↓ progresión
KAPS <sup>16</sup>	HC moderada y ateroma carotídeo	447	Pravastatina (40 mg) frente a placebo	3	GIM carotídeo	↓ progresión
CAIUS <sup>17,18</sup>	HC moderada y ateroma carotídeo	305	Pravastatina (40 mg) frente a placebo	3	GIM femoral	Sin efecto
MARS <sup>19,20</sup>	ECC	188	Lovastatina (80 mg) 4 frente a placebo	GIM carotídeo	Regresión	Regresión
LIPID <sup>21</sup>	ECC	522	Pravastatina (40 mg) frente a placebo	4	GIM carotídeo	Regresión
REGRESS <sup>22</sup>	ECC	225	Pravastatina (40 mg) frente a placebo	2	GIM carotídeo	Regresión
BCAPS <sup>23</sup>	HC moderada y ateroma carotídeo	793	Fluvastatina (40 mg) y metoprolol vs placebo	3	GIM carotídeo	↓ progresión
ASAP <sup>24</sup>	HC familiar	325	Atorvastatina (80 mg) frente a simvastatina (40 mg)	2	GIM carotídeo	Regresión (A)
ARBITER <sup>25</sup>	HC moderada (con y sin ECC)	161	Atorvastatina (80 mg) frente a pravastatina (40 mg)	1	GIM carotídeo	Progresión (S) Regresión (A) Estable (P)
Kent et al <sup>26</sup>	HC moderada	161	Atorvastatina (80 mg) frente a pravastatina (40 mg)	1	GIM carotídeo	↑ regresión con ↓ cLDL

GIM: grosor íntima-media; HC: hipercolesterolemia; ECC: enfermedad cardíaca coronaria; (A): atorvastatina; (S): simvastatina; (P): pravastatina; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

\*Excepto cuando se indica específicamente, el efecto indica el del fármaco activo sobre el del placebo.

**Tabla 1. Estudios clínicos aleatorizados y controlados con cambios del GIM carotídeo como variable sustitutiva principal.**

Los 8 estudios comentados, muchos de ellos diseñados antes de disponer de la certeza del beneficio clínico de la reducción del colesterol LDL con estatinas, compararon la eficacia sobre la progresión del GIM carotídeo o femoral de una estatina con un placebo. Lógicamente, en los últimos años los estudios clínicos de progresión del GIM carotídeo ya no suelen comparar un fármaco activo con placebo, sino 2 fármacos con distinta potencia hipolipemiante, con el objetivo de comprobar la hipótesis de que “el colesterol LDL cuánto más bajo mejor” (Tabla 1). El estudio ASAP (*Atorvastatin versus Simvastatin on Atherosclerosis Progression*) (85) es paradigmático a este respecto, puesto que demostró regresión del GIM carotídeo con atorvastatina 80 mg, que redujo el colesterol LDL un 52%, frente a progresión con simvastatina 40 mg (reducción del colesterol LDL 42%), en pacientes con HF. Resultados similares se obtuvieron en el estudio ARBITER (*ARterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing cholesterol*) (86), que comparó atorvastatina 80 mg (reducción del colesterol LDL 49%) con pravastatina 40 mg (reducción del colesterol LDL 29%) en pacientes con hipercolesterolemia moderada con y sin ECC. Un estudio (87) que también comparó atorvastatina 80 mg con pravastatina 40 mg en pacientes con hipercolesterolemia moderada, confirmó las ventajas de la reducción agresiva del colesterol LDL sobre el tratamiento convencional con respecto a la progresión de la aterosclerosis carotídea.

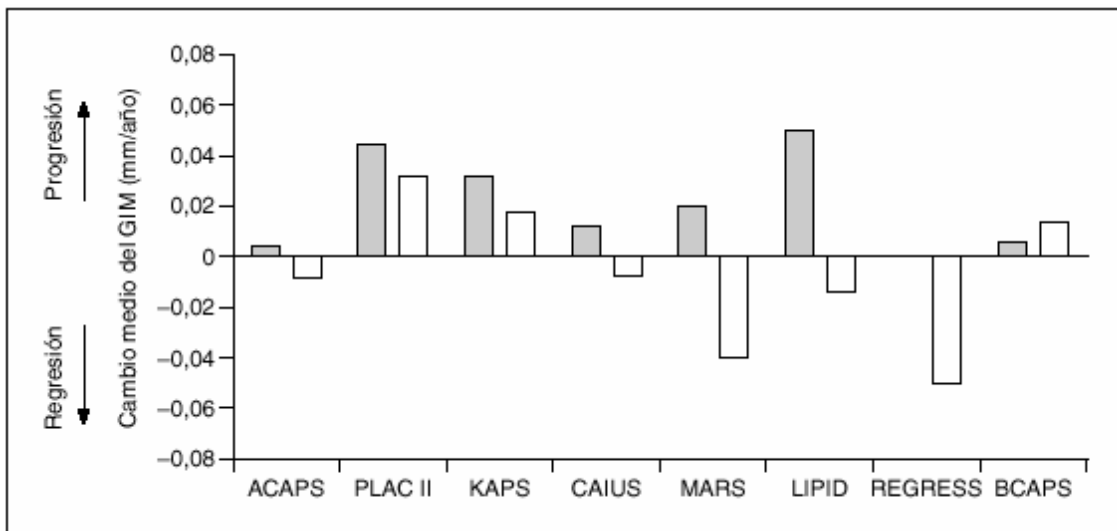
El efecto beneficioso del tratamiento con estatinas sobre la tasa de progresión del GIM carotídeo se asocia también a un mejor pronóstico clínico. Por ejemplo, en el estudio PLAC II se observó una reducción del 60% de los eventos coronarios en los pacientes tratados con pravastatina en comparación con los que recibieron placebo (76). De modo similar, en el subestudio de



evaluación de la aterosclerosis carotídea del REGRESS, 90% de los pacientes tratados con pravastatina permanecieron asintomáticos durante el período de 2 años del estudio, frente a 80% en el grupo placebo (P=0,02) (83).

La modificación del estilo de vida, sea con dieta mediante reducción del consumo de ácidos grasos saturados, como en el estudio MARGARIN (88) o con un enfoque más sistémico (89), también ha demostrado su potencial para detener la progresión o inducir regresión de la aterosclerosis carotídea evaluada por ecografía.

La utilidad del GIM carotídeo como variable sustitutiva de eventos cardiovasculares hace que se utilice cada vez más en la evaluación de la eficacia de nuevos fármacos hipolipemiantes o antiateroscleróticos.



**Figura 6. Tasas de progresión anual del GIM carotídeo, variable principal en 8 grandes estudios clínicos comparando fármacos hipolipemiantes con placebo en individuos de alto riesgo cardiovascular tratados durante 1-4 años. Columnas grises: placebo; columnas vacías, tratamiento activo. Es destacable que en todos los estudios el tratamiento activo fue más eficaz que el placebo en detener la progresión o inducir regresión de la aterosclerosis carotídea.**

## **4.5. Ecografía carotídea frente a otras técnicas de imagen para la valoración de la aterosclerosis preclínica**

### **4.5.1. Detección de calcio coronario por TC**

La detección de calcio coronario mediante TC de haz de electrones (57,90-92) requiere un equipamiento costoso y por ahora poco disponible en nuestro país. Se trata lógicamente de una técnica muy sensible (si se detecta calcio es porque hay placas; sensibilidad 95%), pero poco específica (muchas placas no están calcificadas; especificidad 45-50%), por lo que la *AHA* no la considera indicada por ahora para el cribado del riesgo o como variable sustitutiva de eficacia en estudios clínicos (90). Asimismo, dado que no se ha establecido una correlación entre la calcificación arterial y el riesgo de rotura de la placa y que la mayoría de placas que desarrollarán eventos cardiovasculares (placas vulnerables) no están calcificadas, esta técnica es poco útil en la detección del paciente “vulnerable”. Además, aunque varios estudios prospectivos señalan la puntuación del calcio coronario (CAC) como un buen predictor de enfermedad cardiovascular futura (32-34), se trata de un tema debatible (93). En todo caso, existe una buena correlación entre el volumen del CAC y el GIM carotídeo (94).

De lo anteriormente expuesto se intuye que, a pesar de los atractivos de ser una técnica incruenta que mide directamente la carga aterosclerótica coronaria, el volumen del CAC medido por TC sea aún un método emergente para determinar si su tasa de progresión puede utilizarse para evaluar la eficacia del tratamiento hipolipemiante. Callister et al (95) compararon la evolución del CAC en pacientes con hipercolesterolemia moderada tratados y no tratados con estatinas. Los pacientes tratados fueron divididos en 2 grupos, según alcanzaran cifras de cLDL menores o mayores de 120 mg/dl. En los primeros el CAC se

redujo un 7%, en los segundos aumentó un 25% y en los pacientes no tratados se incrementó un 52%, siendo todos los cambios significativos. También se ha demostrado una disminución significativa de la tasa de progresión del CAC en pacientes tratados con cerivastatina, en comparación con la progresión durante el año previo al inicio del tratamiento (9% frente a 25%) (96). En un estudio reciente con mayor número de participantes y a más largo plazo, Raggi et al (97) demuestran una progresión mayor del CAC en pacientes tratados con estatinas que sufrieron un infarto de miocardio durante el seguimiento que en aquellos que permanecieron asintomáticos, a pesar de un control similar del cLDL. Hay al menos un estudio clínico controlado en marcha comparando el efecto de dos estatinas de distinta potencia (pravastatina 40 mg y atorvastatina 80 mg) sobre la progresión del CAC medido por TC en 600 mujeres postmenopáusicas con HC moderada, el estudio BELLES (*Beyond Endorsed Lipid Lowering with EBT Scanning*) (98).



Figura 7. TC multicorte de la arteria coronaria izquierda. Se observan calcificaciones en la coronaria izquierda y en la descendente anterior (flechas).

En conclusión, la medición del CAC por TC de haz de electrones tiene una gran utilidad potencial, pero hay que esperar más información científica y una mayor disponibilidad y reducción de costes antes de considerar el uso de esta técnica para valorar la eficacia del tratamiento hipolipemiante. Es de esperar que los refinamientos de técnicas, como la angiografía coronaria incruenta mediante el más asequible TC multicorte (99), faciliten el uso de la TC para este propósito.

#### **4.5.2. RMN cardiovascular**

A diferencia de la ecografía arterial externa, técnica de imagen aplicable primariamente a las carótidas, y del TC de haz de electrones para determinar el CAC, que se usa prácticamente sólo en las arterias coronarias, la RMN de alta resolución permite visualizar de modo incruento la aterosclerosis en distintos lechos vasculares. La RMN tiene diversas aplicaciones en patología cardiovascular, la mayoría aún en fase experimental, que van desde la realización de una coronariografía incruenta para detectar lesiones oclusivas coronarias en pacientes sintomáticos al diagnóstico y, lo que es potencialmente más importante, la caracterización de la composición de las placas de ateroma en la aorta, las carótidas o las coronarias (100,101). La estructura de las placas determina su vulnerabilidad a romperse y causar episodios isquémicos, por lo que la RMN, que está en continuos refinamientos técnicos, tiene un futuro muy prometedor, probablemente más en el campo de la cardiología intervencionista que en la detección de aterosclerosis preclínica.

La experiencia con la RMN en el seguimiento de la progresión de la aterosclerosis con tratamiento hipolipidemiante es escasa y se limita a pequeños estudios no controlados. En un pequeño subestudio del estudio FATS (*Familial*

*Atherosclerosis Treatment Study*) en pacientes con ECC (102), se efectuó RMN de placas carotídeas en 8 pacientes que recibieron tratamiento hipolipemiante agresivo durante 10 años y en 8 pacientes control no tratados, demostrándose diferencias notables en el contenido lipídico de las placas. El grupo de Valentín Fuster, pionero en RMN vascular, ha objetivado regresión de ateroma aórtico y carotídeo en respuesta al tratamiento con simvastatina (103).

En resumen, la RMN es una técnica potencialmente muy útil porque permite evaluar no sólo el tamaño de las placas de ateroma, sino también su composición y el remodelado arterial en respuesta a la lesión aterosclerótica. La técnica es capaz de determinar cambios de morfología y composición de las placas carotídea y aórticas inducidos por el tratamiento hipolipemiante, pero por ahora su resolución deja mucho que desear a nivel de las arterias coronarias. De todos modos, no existen suficientes evidencias científicas sobre la capacidad predictiva del riesgo cardiovascular de los hallazgos de la RMN vascular, una técnica por otra parte costosa y poco disponible.

#### **4.5.3. Ecografía intravascular (IVUS)**

El IVUS es una técnica que ofrece imágenes precisas de la pared arterial y permite cuantificar el volumen de las placas de ateroma (104). Sin embargo, se trata de una técnica cruenta en la misma medida que la angiografía. Además, en su aplicación habitual para visualizar la pared de las arterias coronarias, presenta limitaciones por su pequeño diámetro (3-4 mm) y trayecto tortuoso, junto con una difícil interpretación visual de las lesiones. Por estos motivos, el IVUS se relega a pacientes con ECC atendidos en centros académicos de cardiología intervencionista.

Por sus características de visualización precisa de las placas, el IVUS es una técnica muy atractiva en la evaluación de la eficacia de tratamientos que pueden modificar la evolución de la aterosclerosis, obviamente en pacientes seleccionados con ECC. De los estudios clínicos que han usado el IVUS con este objetivo, el más importante, tanto por el elevado número de participantes como por sus resultados, que apoyan una vez más la noción de que “el colesterol LDL cuanto más bajo mejor”, es el estudio REVERSAL (105), que demostró regresión de ateroma coronario por ecografía en pacientes tratados con atorvastatina 80 mg durante 18 meses en comparación con progresión de lesiones en pacientes que recibieron pravastatina 40 mg.

Recientemente se ha publicado el estudio ASTEROID (106) que demuestra regresión de ateroma coronario mediante IVUS en pacientes tratados con rosuvastatina 40 mg durante 24 meses, obteniendo porcentajes de reducción de colesterol LDL del 53% y aumentos de colesterol HDL del 15%.

Sin duda, esta técnica se aplicará cada vez más en los próximos años como sustituto de la angiografía en estudios de progresión de la aterosclerosis en pacientes con ECC.

#### **4.6. Hipercolesterolemia familiar: definición y criterios diagnósticos**

La hipercolesterolemia familiar (HF) es una de las enfermedades hereditarias (autosómica dominante) monogénicas más frecuentes en la población general. Su prevalencia en heterocigosidad es de uno por cada 500 individuos, mientras que en la forma homocigota es de 1 por millón (107). Se ha estimado que hay 10 millones de personas afectas de HF en el mundo. De

todos ellos, menos del 10% están correctamente diagnosticados y menos del 25% reciben tratamiento efectivo con fármacos hipolipemiantes (108).

Generalmente, la HF es el resultado de defectos en el gen del receptor de LDL (RLDL), localizado en el cromosoma 19 (109) y, hasta la fecha, se han publicado más de 800 mutaciones que producen HF (<http://www.ucl.ac.uk/fh>; <http://www.necker.fr>). Se han identificado otros *loci* responsables de otras formas de hipercolesterolemia hereditaria con un fenotipo similar al de la HF (110-116), como el defecto familiar de apoB (110-113) (mutaciones de la apo B-100 que dificultan la unión de las LDL con sus receptores), algunas mutaciones del gen de la apoE, mutaciones ligadas al cromosoma 1p32 (110,114,115) y defectos del gen de la recientemente identificada proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) (110,116), que codifica una enzima que controla el número de RLDL en la membrana plasmática de los hepatocitos.

En España se ha desarrollado una técnica para el diagnóstico de certeza de la HF mediante la detección del defecto genético (117). El principio en que se basa el Lipochip® es la capacidad que tiene el ADN para reconocer su secuencia complementaria. Básicamente se trata de una superficie de vidrio modificada químicamente en la que están depositadas múltiples secuencias génicas complementarias a cada una de las mutaciones del gen del RLDL conocidas hasta el momento (n=210). Este test permite el análisis simultáneo de todas las mutaciones descritas de forma específica, rápida y fiable. No obstante, ésta es una herramienta de diagnóstico dinámica que permite ir incorporando nuevas mutaciones. En los casos en los que no se detecta la mutación por Lipochip®, se procede a la secuenciación del gen (118).

La HF es un problema de salud pública mundial debido a la elevada incidencia de enfermedad cardiovascular prematura (< 55 años en varones y < 65 años en mujeres) (119). Aproximadamente, el 85% de los varones y el 50% de las mujeres tendrán un episodio de ECC antes de los 60 años si no son tratados (120). Por estas razones, la identificación temprana de personas con HF y de sus familiares y el inicio cuanto antes del tratamiento hipolipemiante son aspectos muy importantes en la prevención de la enfermedad cardiovascular precoz y muerte en esta población.

Los criterios clínicos utilizados para la identificación de los pacientes con HF se basan principalmente en las concentraciones elevadas de colesterol total, a expensas del colesterol LDL (por encima del percentil 95 de los valores de la población de referencia), en la historia familiar de hipercolesterolemia grave y/o de ECC prematura y en los depósitos de colesterol en tejidos extravasculares (arco corneal y/o xantomas tendinosos) (109,121). Los xantomas tendinosos son característicos de la HF y su localización más habitual suelen ser los tendones de Aquiles (107,109,121). Su detección mediante la exploración física no siempre es fácil. La utilización de la ecografía de los tendones de Aquiles para la detección de engrosamientos y/o xantomas de los tendones podría ser una herramienta de gran ayuda para el diagnóstico de esta entidad. Asimismo, para poder evaluar los resultados de una ecografía de los tendones, es necesario obtener los valores de normalidad de los mismos, para poder adscribir a su medición en un paciente dado un valor normal o patológico (a partir del percentil 75 de los diámetros de los tendones obtenidos en la población de referencia y/o ecoestructura alterada).



#### **4.6.1. La ecografía carotídea en la HF**

En la HF, las cifras elevadas y mantenidas de colesterol LDL se asocian al engrosamiento de la pared arterial y a la formación de placas de ateroma, ya presentes desde edades tempranas de la vida. De este modo, Gidding et al (122) demostraron que el 66% de los adolescentes y adultos jóvenes (<24 años) con HF tenían depósitos de calcio en las arterias coronarias, lo que indicaba la presencia de placas establecidas desde edades jóvenes. De igual forma, Mabuchi et al (123) detectaron placas ateroscleróticas significativas mediante coronariografía en varones y en mujeres con HF, a partir de los 17 y 25 años, respectivamente. Estas observaciones sugieren la conveniencia de una búsqueda activa de la aterosclerosis subclínica en estos pacientes, mediante la utilización de técnicas de imagen como la ecografía carotídea, con el objetivo de adaptar la intensidad del tratamiento hipocolesteromiante a la gravedad de las lesiones vasculares detectadas.

Los factores de riesgo tradicionales se asocian a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular en los pacientes con HF (124). En un estudio retrospectivo con 2400 pacientes, el sexo masculino, el tabaco, la hipertensión, la diabetes, el colesterol HDL bajo y el aumento de la lipoproteína(a), por este orden, eran marcadores independientes del riesgo de enfermedad cardiovascular y explicaban el 18,7% de la variabilidad del riesgo (125).

Estudios previos han demostrado que los pacientes con HF tienen una pared arterial más engrosada que los sujetos normolipémicos (126,127) e incluso que los pacientes con dislipemia moderada (128,129). Asimismo, el GIM carotídeo en la HF se ha relacionado con los siguientes factores: la historia familiar de enfermedad cardiovascular (128), la presencia de

enfermedad cardiovascular (130,131), el sexo (127), las concentraciones de lipoproteínas (127,128,130), el tipo de defecto molecular del gen RLDL (129,132) y la presencia de mutaciones en otros genes (133).

El GIM carotídeo también se ha utilizado para valorar la eficacia del tratamiento hipolipemiante en pacientes con HF. Destaca el estudio ASAP (85), que demostró regresión del GIM carotídeo a los 2 años de tratamiento en el grupo de pacientes que recibieron atorvastatina 80 mg frente a progresión en el grupo tratado con simvastatina 40 mg.

#### **4.6.2. La ecografía del tendón de Aquiles en la HF**

En la HF, las cifras elevadas de colesterol LDL desde los primeros años de la vida también se asocian al depósito de colesterol en tejidos extravasculares (tendones), constituyendo una lesión tendinosa denominada “xantoma” (107,121). Los xantomas se producen por un depósito de lípidos muy semejante al que ocurre en la lesión vascular aterosclerótica, con proliferación de células espumosas (macrófagos cargados de lípidos) y acumulación extracelular de colesterol en el intersticio perivascular de las fibras tendinosas (134).

Los xantomas tendinosos son característicos de la HF heterocigota, pero también se pueden encontrar en otras alteraciones lipídicas, tanto primarias, como la xantomatosis cerebrotendinosa, la disbetalipoproteinemia y la fitosterolemia, como secundarias, como la hipercolesterolemia de la cirrosis biliar primaria.

La xantomatosis cerebrotendinosas es un trastorno hereditario excepcional producido por una mutación en el gen que codifica la enzima 21-

hidroxilasa (CYP27A1) (135). Se caracteriza clínicamente por la presencia de cataratas, retraso mental progresivo y xantomas tendinosos debido al depósito de colestanol en los diferentes tejidos.

La disbetalipoproteinemia es una hiperlipemia caracterizada por la acumulación plasmática de partículas residuales de los quilomicrones y de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (136). Su acumulación en el plasma incrementa simultáneamente el colesterol y los triglicéridos, dando lugar a una hiperlipemia mixta. La presencia de lesiones xantomatosas en los tendones extensores de las manos y de xantomas planos palmares es característica de esta entidad. También pueden presentar xantomas tuberoeruptivos que se localizan en codos, rodillas y tendones de Aquiles.

La fitosterolemia (beta-sitosterolemia) es una rara enfermedad autosómica recesiva caracterizada por hiperabsorción intestinal de esteroides causada por mutaciones en los genes ABCG5/8 (137,138) que cursa con xantomas tuberosos y tendinosos, enfermedad cardiovascular precoz y cifras elevadas de fitosteroides en plasma, con colesterolemia normal o discretamente elevada.

La cirrosis biliar primaria consiste en una inflamación y destrucción de los conductos biliares intrahepáticos que afecta preferentemente al sexo femenino y cursa con colestasis crónica (139). El aumento de colesterol es debido tanto a la colestasis como a un aumento de la síntesis. El desarrollo de los xantomas planos (sobre todo en palmas de las manos, cuello, tronco y surco inframamario) y tuberosos (sobre todo en codos, rodillas y tendón de Aquiles) tiene lugar en fases avanzadas de la enfermedad.

Los xantomas suelen localizarse en los tendones de Aquiles, aunque también se detectan en los codos y en los nudillos de las manos (107,109,121). Sin embargo, su identificación mediante el examen físico no siempre es fácil y se considera poco sensible como marcador diagnóstico. Los xantomas empiezan a aparecer a partir de los 20 años (121) y se encuentran entre el 20-50% de los casos (140-142). Se desconoce la razón por la que unos pacientes desarrollan xantomas y otros no, a pesar de tener cifras similares de colesterol LDL e incluso tener la misma mutación del gen RLDL (143). Una posible explicación sería que el diagnóstico de xantomas mediante el examen físico es subjetivo, ya que depende de la experiencia clínica del médico y en ocasiones, su detección puede estar dificultada por la existencia de irregularidades o nódulos en los tendones. Asimismo, pacientes que hayan practicado deporte durante muchos años o que hayan sufrido un traumatismo en los tendones (rupturas fibrilares, esguinces, etc) pueden tener un engrosamiento del tendón que puede hacer dudar a la hora de considerarlo como xantoma.

El diagnóstico genético, que sólo suele estar disponible en centros superespecializados, proporciona el diagnóstico de certeza de esta entidad (106,120). Generalmente, en la práctica clínica habitual se utilizan los criterios clínicos del *Dutch Lipid Clinic Network* (142) para el diagnóstico de la HF. Mediante la utilización de estos criterios clínicos, la mera detección de xantomas tendinosos proporciona un diagnóstico de probabilidad de HF (6 puntos) (142,144,145). Por este motivo, la identificación de los xantomas del tendón de Aquiles es crucial para el diagnóstico de esta entidad en la práctica clínica habitual.

<b>Historia Familiar:</b>	<b>Puntuación En caso afirmativo</b>		
I.- Familiar de primer grado con enfermedad coronaria y/o vascular precoz	SI	NO	1
II.- Familiar de primer grado con C-LDL $\geq$ 210 mg/dl y/o	SI	NO	1
III.- Familiar de primer grado con Xantomas y/o Arco Corneal	SI	NO	2
IV.- Niño menor de 18 años con C-LDL $\geq$ 150 mg/dl	SI	NO	2
<b>Historia Personal:</b>			
I.- Antecedentes enfermedad coronaria precoz	SI	NO	2
II.- Antecedentes de enfermedad vascular periférica o cerebral precoz (precoz= < 55 años en varones y < 60 años en mujeres)	SI	NO	1
<b>Examen Físico</b>			
I.- Xantomas tendinosos	SI	NO	6
II.- Arco Corneal antes de los 45 años	SI	NO	4
<b>Analítica en ayunas, con triglicéridos &lt; 200 mg/dl</b>			
I.- C-LDL $\geq$ 330 mg/dL	SI	NO	8
II.- C-LDL 250 - 329 mg/dL	SI	NO	5
III.-C-LDL 190 - 249 mg/dL	SI	NO	3
IV.-C-LDL 155 - 189 mg/dL	SI	NO	1
<b>TOTAL DE PUNTOS:</b>			
<b>Diagnóstico Clínico de Hipercolesterolemia Familiar:</b>			
Cierto: $\geq$ 8 puntos		Probable : 6 - 7 puntos	

Tabla 2. Dutch Lipid Clinic Network Criteria (142) para el diagnóstico de la HF.

Los tendones de Aquiles son fácilmente accesibles a la exploración mediante ecografía, permitiendo visualizar con claridad sus dimensiones (diámetros longitudinal y transversal del tendón) y su ecoestructura (presencia o no de xantomas del tendón de Aquiles). Esta técnica podría aumentar la sensibilidad de la detección de xantomas mediante palpación (146-151).

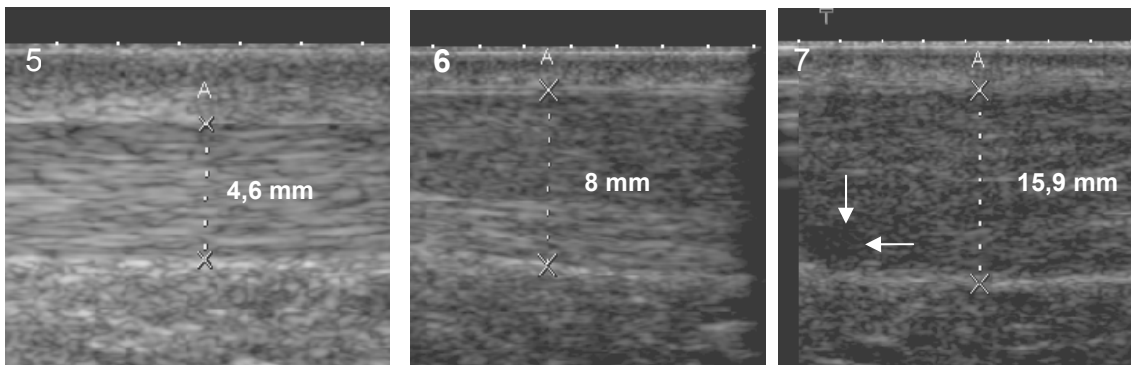


Figura 8. Tendón de Aquiles con diámetro anteroposterior y ecoestructura normales en un adulto sano. Figura 9. Tendón de Aquiles moderadamente engrosado con pérdida parcial de la ecoestructura normal en un adulto con HF. Figura 10. Tendón de Aquiles muy engrosado mostrando pérdida difusa de la ecoestructura fibrilar y áreas hipoecoicas (xantoma) (espacio delimitado entre las flechas) en un adulto con HF.

## **5.- HIPÓTESIS**

**Estudio 1. Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española. Med Clin (Barc) 2005;125:770-774.**

- La pared carotídea de la población española estará menos afectada por aterosclerosis preclínica que la de otras poblaciones con mayor riesgo cardiovascular, como las poblaciones del Norte de Europa y Estados Unidos.

**Estudio 2. Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease risk beyond the Framingham risk score. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006 (submitted)**

- En pacientes asintomáticos con hiperlipemia primaria, los hallazgos de la ecografía carotídea reclasificarán el riesgo cardiovascular mas allá de la puntuación obtenida por la ecuación de riesgo de Framingham.

**Estudio 3. The influence of HDL cholesterol on preclinical carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26:1107-1113.**

- En la HF, el cociente colesterol total/colesterol HDL <5 será un factor protector de aterosclerosis preclínica.

**Estudio 4. The use of Achilles tendon sonography to distinguish familial hypercholesterolemia from other genetic dyslipidemias. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005;25:2203-2208.**

- La detección de xantomas de los tendones de Aquiles por ecografía aumentará el rendimiento de la exploración física y facilitará el diagnóstico de la HF.



## 6. OBJETIVOS

**Estudio 1. Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española. Med Clin (Barc) 2005;125:770-774.**

- Obtener las cifras de normalidad del grosor íntima-media y la presencia de placas de ateroma en nuestra población para compararlas con las de otras poblaciones y utilizarlas como referencia.

**Estudio 2. Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease risk beyond the Framingham risk score. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006 (submitted)**

- En sujetos asintomáticos con dislipemia primaria:
  1. Calcular el riesgo de padecer un episodio de ECC a 10 años según la ecuación de riesgo de Framingham.
  2. Valorar la gravedad de la aterosclerosis preclínica mediante ecografía.
  3. Comparar ambos índices y, con ello, reestratificar el riesgo individual de cada sujeto.
  4. Ver si los factores de riesgo emergentes y otros factores no incluidos en la ecuación de riesgo de Framingham explican las discrepancias entre ambos índices.
  5. Calcular la edad vascular de cada individuo a partir de la edad cronológica y del GIM carotídeo para cada sexo.
  6. Evaluar la presencia de enfermedad coronaria mediante el seguimiento posterior de los sujetos. Analizar los hallazgos ecográficos de los pacientes que han sufrido un evento y compararlos con las puntuaciones obtenidas en la ecuación de Framingham.

**Estudio 3. The influence of HDL cholesterol on preclinical carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26:1107-1113.**

- Evaluar el poder predictivo de aterosclerosis preclínica carotídea de los diferentes factores de riesgo, tanto tradicionales como emergentes, y del cociente colesterol total/colesterol HDL en pacientes con HF en prevención primaria.

**Estudio 4. The use of Achilles tendon sonography to distinguish familial hypercholesterolemia from other genetic dyslipidemias. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005;25:2203-2208.**

- En pacientes con HF con y sin mutación detectada del gen LDLR o APOB, en pacientes con otras dislipemias y en controles:
  1. Efectuar una ecografía de los tendones de Aquiles.
  2. Determinar el tamaño de los tendones en la HF y en dislipemias no HF en comparación con los controles.
  3. Valorar el impacto en el diagnóstico de la HF de la detección ecográfica de los xantomas de los tendones de Aquiles en comparación con su detección mediante exploración física.
  4. Definir los valores de normalidad de los tendones de Aquiles.

## **7. ESTUDIOS PUBLICADOS**

**7.1. Estudio 1. Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española. Med Clin (Barc) 2005;125:770-774.**

## ORIGINALES

# Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española



Mireia Junyent<sup>a</sup>, Rosa Gilabert<sup>b</sup>, Isabel Núñez<sup>b</sup>, Emili Corbella<sup>a</sup>, María Vela<sup>a</sup>, Daniel Zambón<sup>a</sup> y Emilio Ros<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Lípidos. Servicio de Endocrinología y Nutrición. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Hospital Clínic.

<sup>b</sup>Unidad de Ecografía. Centre de Diagnòstic per l'Imatge. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Hospital Clínic. Barcelona. España.

**FUNDAMENTO Y OBJETIVO:** La ecografía carotídea en modo B de alta resolución permite valorar la aterosclerosis preclínica mediante la determinación del grosor íntima-media (GIM) y la presencia de placas. Se desconocen los valores normales en población española. Nuestro objetivo fue definir los parámetros de normalidad de la ecografía carotídea en función del sexo y la edad.

**SUJETOS Y MÉTODOS:** Se estudió a 250 sujetos sanos normolipémicos, 125 varones y 125 mujeres con una edad media de 49 años (extremos, 20-81). Se evaluaron los factores de riesgo cardiovascular clásicos y se efectuó una ecografía carotídea para medir el GIM medio y máximo en la pared posterior de la carótida común y determinar la presencia y altura máxima de las placas.

**RESULTADOS:** Se han obtenido los valores de referencia del GIM carotídeo, que se expresan como percentiles 25, 50 y 75 por sexo y grupo de edad. En los varones, los percentiles 50 del GIM medio variaron entre 0,50 y 0,74 mm en los grupos de edad igual o inferior a 35 años y 65 o más años, respectivamente. En las mujeres, las cifras correspondientes del GIM oscilaron entre 0,40 y 0,65 mm. El GIM se relacionó fuertemente con la edad, tanto en varones ( $r = 0,57$ ;  $p < 0,001$ ) como en mujeres ( $r = 0,61$ ;  $p < 0,001$ ). El incremento anual del GIM derivado de las ecuaciones de regresión fue de 0,005 y 0,007 mm por año en varones y mujeres, respectivamente.

Más de la mitad de los varones a partir de los 55 años y de las mujeres a partir de 65 años tenían placas de ateroma.

**CONCLUSIONES:** El GIM y la presencia de placas se asocian con la edad en ambos sexos. Los puntos de referencia de la ecografía carotídea en esta cohorte comunitaria española son inferiores a los descritos en poblaciones de mayor riesgo cardiovascular, como las del norte de Europa y EE.UU.

*Palabras clave:* Ecografía carotídea. Grosor íntima-media. Placa de ateroma. Aterosclerosis preclínica. Riesgo cardiovascular.

Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** High-resolution B-mode ultrasound measurements of carotid intima-media thickness (IMT) and determination of plaque presence are useful to assess preclinical atherosclerosis. Normal IMT values have not been reported in Spanish subjects. Our aim was to define normality data of carotid ultrasound by sex and age.

**SUBJECTS AND METHODS:** We studied 250 healthy, normolipidemic subjects, 125 men and 125 women, with mean age 49 years (range, 20-81). We assessed cardiovascular risk factors and performed ultrasound determination of mean and maximum IMT in the far wall of the common carotid artery, plaque occurrence, and maximum plaque height.

**RESULTS:** Reference values for carotid IMT, expressed as 25th, 50th, and 75th percentiles by sex and 5 age groups, have been obtained. The 50th percentiles of mean IMT ranged from 0.50 to 0.74 mm in men in the age groups 35 years or younger and 65 years or older, respectively. For women, corresponding IMT values ranged from 0.40 to 0.65 mm. IMT was strongly related ( $p < 0.001$ ) to age, both in men ( $r = 0.57$ ) and women ( $r = 0.61$ ). From the regression equations, the estimated yearly increase in IMT was 0.005 mm in men and 0.007 mm in women. More than 50% of men aged 55 years and older, and of women aged 65 years and older, had carotid plaques.

**CONCLUSIONS:** Both IMT and plaque frequency were associated with age in men and women. Carotid IMT values in a Spanish community cohort were lower than those reported for countries with higher cardiovascular risk, such as Northern European countries and the US.

*Key words:* Carotid ultrasound. Intima-media thickness. Atheroma plaques. Preclinical atherosclerosis. Cardiovascular risk.

Trabajo financiado en parte por becas FIS Red C03/01 y Red G03/181.

Correspondencia: Dr. E. Ros.  
Unidad de Lípidos. Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínic.  
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.  
Correo electrónico: eros@clinic.ub.es

Recibido el 29-3-2005; aceptado para su publicación el 2-6-2005.

La aterosclerosis, cuyas complicaciones clínicas causan cerca de la mitad de todas las muertes en el mundo, en general<sup>1</sup>, y en España, en particular<sup>2</sup>, es una enfermedad difusa, que afecta tanto al árbol vascular coronario como a la circulación arterial periférica. Numerosos estudios<sup>3-6</sup> han demostrado que el grado de aterosclerosis carotídea medido por ecografía se asocia con los factores de riesgo cardiovascular, con la existencia de cardiopatía isquémica y con la extensión del ateroma coronario medido por angiografía. Además, mediante estudios secuenciales puede valorarse la progresión de las lesiones carotídeas y constatar su relación con la potencia de los factores de riesgo en la población o tras su modificación en estudios de intervención<sup>7</sup>. Finalmente, lo que es más importante de cara a la idoneidad de la ecografía carotídea para mejorar la predicción del riesgo es que varios grandes estudios prospectivos en individuos asintomáticos de más de 45 años de edad han demostrado de modo concluyente que el grosor íntima-media (GIM) carotídeo es un factor de riesgo independiente de la incidencia de enfermedad cardíaca coronaria<sup>8-13</sup> y accidente vascular cerebral<sup>8,10,14,15</sup>. En estos estudios un GIM aumentado y/o la detección de placas incrementaron el riesgo relativo de complicaciones clínicas de la aterosclerosis hasta 5 veces más allá del valor predictivo de los factores de riesgo tradicionales. Este nivel de riesgo es similar al observado en prevención secundaria, por lo que una ecografía carotídea patológica predice un riesgo equivalente al del paciente con enfermedad cardiovascular previa.

Basándose en estas evidencias, la American Heart Association<sup>16</sup> recomienda efectuar una ecografía carotídea en pacientes seleccionados de riesgo global intermedio y propone que, en caso de obtener una prueba patológica, se considere al paciente de alto riesgo o equivalente a prevención secundaria. A la inversa, el hallazgo de una pared carotídea delgada y sin placas puede mitigar la intensidad de

TABLA 1

## Variables clínicas y analíticas en 250 individuos sanos en función del grupo de edad

Variables	Grupos de edad (años)					P <sup>b</sup>
	≤ 35	36-45	46-55	56-65	> 65	
Varones/mujeres	34/23	24/25	26/31	21/24	20/22	NS
Tabaquismo <sup>a</sup>	14 (24,6%)	19 (38,8%)	22 (39,3%)	9 (20,5%)	6 (15%)	0,025
Antecedentes familiares ECVF	6 (10,5%)	3 (6,1%)	7 (12,3%)	3 (6,7%)	4 (9,5%)	NS
PAS (mmHg)	112 (10)	117(14)	123 (17)	126 (13)	130 (13)	< 0,001
PAD (mmHg)	66 (9)	75 (12)	77 (11)	78 (9)	79 (9)	< 0,001
Peso (kg)	68 (11,6)	69 (12,8)	70 (11,1)	69 (11)	71 (10,6)	NS
Altura (cm)	171 (9,1)	165 (8,6)	166 (8,8)	162 (7,3)	160 (8,9)	< 0,001
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	23,3 (2,3)	25,3 (4,0)	25,2 (3,5)	26,4 (4,3)	27,9 (4,0)	< 0,001
Colesterol total (mg/dl)	188 (29)	196 (31)	210 (31)	215 (28)	210 (26)	< 0,001
cLDL (mg/dl)	116 (26)	125 (27)	136 (23)	137 (25)	134 (22)	< 0,001
cHDL (mg/dl)	56 (16)	55 (14)	57 (15)	59 (14)	58 (14)	NS
Triglicéridos (mg/dl)	85 (31)	90 (37)	87 (35)	95 (39)	99 (34)	NS
cLDL/cHDL	2,2 (0,8)	2,4 (0,8)	2,5 (0,8)	2,5 (0,7)	2,5 (0,9)	NS

Resultados expresados en número (porcentaje) o media (desviación estándar). ECVF: enfermedad cardiovascular prematura; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; IMC: índice de masa corporal; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; NS: no significativo. <sup>a</sup>Incluye tanto a fumadores activos como a ex fumadores. <sup>b</sup>ANOVA.

la intervención, al recalificar a un individuo supuestamente de riesgo intermedio como de bajo riesgo. Evidentemente, hay que definir el punto de corte del GIM para poder adscribir a su medición en un paciente dado un valor normal o patológico.

Antes de tomar decisiones clínicas sobre la base de los hallazgos de la ecografía carotídea, es necesario disponer de unos valores de referencia. Ya que éstos no se conocen en población española, diseñamos un estudio con el objetivo de definir los parámetros de normalidad de la ecografía carotídea en función del sexo y la edad en 250 individuos sanos residentes en Barcelona.

## Sujetos y métodos

### Sujetos de estudio

Entre julio de 2003 y febrero de 2005 se reclutó a 250 individuos aparentemente sanos a través de listas de exámenes de salud de empleados del hospital y registros del centro de atención primaria de referencia. Se aceptaron voluntarios de ambos sexos de entre 20 y 81 años de edad, siempre y cuando no tuvieran historia clínica de alcoholismo, obesidad mórbida, hipertensión arterial grave, dislipemia, diabetes u otra enfermedad crónica, incluyendo enfermedad cardiovascular previa. El protocolo de estudio fue aprobado por el comité ético del hospital.

Tras obtener el consentimiento informado, en todos los participantes se efectuó una historia clínica, que incluía antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular prematura (angina de pecho, infarto de miocardio, muerte súbita, accidente isquémico transitorio y/o accidente vascular cerebral antes de los 55 años en varones y de 65 años en mujeres); hábito tabáquico y consumo de alcohol en gramos/día; exploración física, que comprendía talla en centímetros y peso en kilogramos para determinar el índice de masa corporal (IMC, en kg/m<sup>2</sup>), y medida de la presión arterial sistólica y diastólica en milímetros de mercurio (media de 2 determinaciones con un intervalo de 5 min, con el sujeto en sedestación, mediante monitor automático OMRON); y extracción de sangre en ayunas para determinación de glucemia y perfil lipídico.

La ecografía carotídea se realizó una vez excluidos del estudio los individuos con ingesta excesiva de alcohol (30 g/día o más en varones y 20 g/día en mujeres), IMC mayor o igual a 35 kg/m<sup>2</sup>, presión arterial mayor o igual a 160/100 mmHg, dislipemia (colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad [colesterol LDL] superior a > 160 mg/dl, concentración de triglicéridos superior a 200 mg/dl, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad [colesterol HDL] de 35 mg/dl o menor) y diabetes (glucemia en ayunas mayor de 126 mg/dl).

Las determinaciones se efectuaron en suero obtenido a partir de muestras de sangre coagulada extraídas tras 10-12 h de ayuno. La glucemia se analizó con el método de la glucosa oxidada. Las concentraciones de colesterol y triglicéridos se determinaron mediante métodos enzimáticos automatizados en un autoanalizador Cobas Mira S 50/60 Hz (F. Hoffmann-La Roche, Basilea, Suiza). El colesterol se determinó con el método de la colesterol esterasa-colesterol oxidasa (Trinder, Bayer Diagnostics, Tarrytown, EE.UU.) y los triglicéridos, con el método de la glicerol fosfato oxidasa (Trinder, Bayer Diagnostics). El colesterol HDL se determinó por el método señalado tras precipitación de las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B con ácido fosfotúngstico. El colesterol LDL se calculó mediante la fórmula de Friedewald (colesterol total - triglicéridos/5 - colesterol HDL) en mg/dl.

### Análisis de laboratorio

La exploración ecográfica se realizó con equipos duplex-Doppler color (Powervision, Applio, Toshiba, Nasu, Japón). Se utilizó un transductor lineal de alta resolución de 7,5 MHz de frecuencia para la imagen en tiempo real y de 3,75 MHz para el estudio Doppler. La resolución axial fue de 0,1 mm para la imagen en tiempo real. El territorio carotídeo se evaluó con un protocolo previamente descrito<sup>17</sup>. Se examinaron 3 segmentos predeterminados de las arterias de ambos lados: carótida primitiva (1 cm proximal al bulbo carotídeo), bifurcación/bulbo (1-2 cm) y carótida interna (1 cm distal a la bifurcación). Los vasos se estudiaron con ecografía en tiempo real y Doppler color mediante secciones longitudinales y transversales, con rotación de la cabeza 45° hacia el lado contralateral al explorado y con el cuello en situación neutra y en dirección anteroposterior.

### Ecografía carotídea

En cada estudio se evaluaron el GIM y las placas de ateroma. El GIM, definido como la distancia existente entre la interfaz luz carotídea-intima y la interfaz media-adventicia de la pared distal, se determinó en la carótida primitiva prebifurcación explorada en sección longitudinal. Se cuantificó en 4 medidas a intervalos regulares en la pared posterior, 1 cm prebifurcación. Ya que las mediciones en la carótida común derecha y la izquierda proporcionaron cifras similares, los resultados se expresan como la media de 8 determinaciones, 4 en cada lado, y como GIM máximo en cualquier lado. Las placas se definieron como engrosamientos focales del GIM con una altura ≥ 1,2 mm o superior al 50% del GIM adyacente. Para identificarlas en todo el territorio carotídeo accesible (carótida común distal, bifurcación y carótida interna proximal) se realizaron secciones longitudinales y transversales en el estudio en modo B, y a continuación se efectuó la exploración con Doppler color ajustando los parámetros técnicos (ganancia, frecuencia de repetición de pulsos y rango de velocidades) a las velocidades existentes en el vaso. El objetivo del estudio Doppler color es identificar las placas anecoicas e hipoeoicas. El análisis de las placas incluyó su localización, número, altura máxima y características ecoestructurales.

En un estudio previo con medidas repetidas en 15 individuos para evaluar la variabilidad de la técnica, se encontraron coeficientes de correlación entre 2 observadores de 0,91 para el GIM medio y de 0,89 para el GIM máximo<sup>18</sup>.

Los factores de riesgo cardiovascular en distintos grupos de edad se expresan como porcentaje para variables cualitativas y media (desviación estándar) para variables continuas. Los valores del GIM carotídeo medio y máximo se expresan como media (desviación estándar) y percentiles 25, 50 y 75. Las placas de ateroma identificadas en todo el territorio carotídeo de ambos lados se expresan como porcentaje según sexo y grupo de edad y como altura máxima, significando el grosor de la placa mayor de cualquier lado. Las variables clínicas y lipídicas se compararon mediante un análisis de variancia (ANOVA). Las asociaciones entre variables ecográficas, clínicas y lipídicas se analizaron mediante coeficientes de correlación de Pearson. La significación estadística se consideró como riesgo alfa del 5% (p < 0,05). Los cálculos se efectuaron mediante el paquete estadístico SPSS, versión 11.0.

### Análisis estadístico

Los factores de riesgo cardiovascular en distintos grupos de edad se expresan como porcentaje para variables cualitativas y media (desviación estándar) para variables continuas. Los valores del GIM carotídeo medio y máximo se expresan como media (desviación estándar) y percentiles 25, 50 y 75. Las placas de ateroma identificadas en todo el territorio carotídeo de ambos lados se expresan como porcentaje según sexo y grupo de edad y como altura máxima, significando el grosor de la placa mayor de cualquier lado. Las variables clínicas y lipídicas se compararon mediante un análisis de variancia (ANOVA). Las asociaciones entre variables ecográficas, clínicas y lipídicas se analizaron mediante coeficientes de correlación de Pearson. La significación estadística se consideró como riesgo alfa del 5% (p < 0,05). Los cálculos se efectuaron mediante el paquete estadístico SPSS, versión 11.0.

## Resultados

De un total de 280 candidatos al estudio, 12 declinaron participar en él y se excluyó a 18 tras comprobar la existencia de enfermedad no conocida previamente en los exámenes complementarios (11 dislipemia, 4 diabetes, 3 hipertensión arterial grave). Ninguno de los participantes tuvo que ser excluido por mala visualización de las arterias en el estudio ecográfico. Se estudió a un total de 250 individuos, 125 varones y 125 mujeres, con una edad media de 49 años (extremos: 20-81). Los participantes se distribuyeron en los siguientes grupos de edad, con un número similar por grupo para ambos sexos: 35 años o menos, 36-45 años, 46-55 años, 56-65 años y más de 65 años. En la tabla 1 se recogen los datos clínicos y lipídicos de los sujetos estudiados por grupo de edad. La proporción de fuma-

JUNYENT M, ET AL. ECOGRAFÍA CAROTÍDEA EN LA EVALUACIÓN DE ATROSCLEROSIS PRECLÍNICA. DISTRIBUCIÓN DE VALORES DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA Y FRECUENCIA DE PLACAS DE ATEROMA EN UNA COHORTE COMUNITARIA ESPAÑOLA

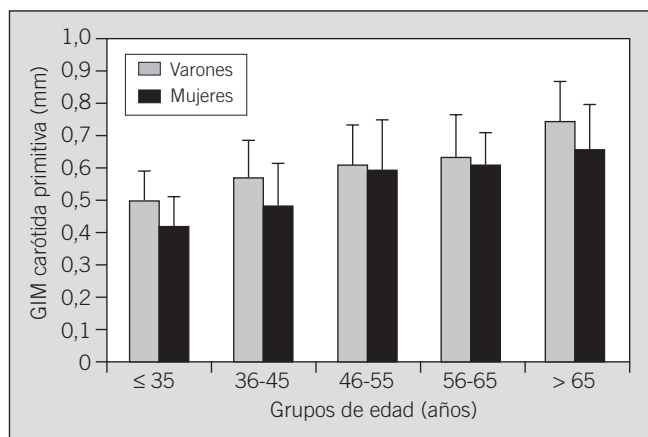


Fig. 1. Variación del grosor íntima-media (GIM) en la pared posterior de la carótida común en función del sexo y la edad en 250 individuos sanos.

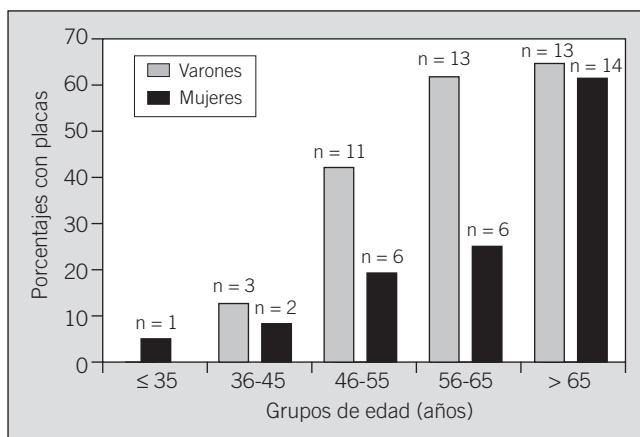


Fig. 2. Porcentaje de individuos con placas en función del sexo y la edad.

dores disminuía con la edad, mientras que las cifras de presión arterial, el IMC y las concentraciones de colesterol total y LDL aumentaban con la edad.

En general, para cada grupo de edad, los valores de referencia del GIM medio y máximo fueron mayores en los varones que en las mujeres (fig. 1, tablas 2 y 3). En los varones se encontraron placas en 40 casos (32%), y en las mujeres, en 29 (23%) ( $p = 0,16$ ). La proporción de placas varió por grupo de edad según el sexo (fig. 2, tabla 4). Los varones presentaban placas en edades más jóvenes que las mujeres, con una progresión gradual y afectación en más de la mitad de los grupos a partir de los 55 años. En cambio, en las mujeres la progresión de la frecuencia de placas fue más brusca, y se igualó a la de los varones a partir de los 65 años. En los varones, la presencia de placas en las décadas de 36-45 y 46-55 años estaba muy relacionada con el hábito tabáquico, presente en 12 de 14 sujetos con placas. En cambio, el hábito tabáquico no influyó en la presencia de placas en edades superiores en varones (7 fumadores entre 26 con placas) o en las mujeres a cualquier edad (3 fumadoras entre 29 con placas).

La distribución de las alturas máximas de las placas de ateroma fue desigual en función del grupo de edad, ya que las placas con mayor altura predominaban en la década de 46-55 años en ambos sexos (fig. 3).

El GIM carotídeo se correlacionó positivamente con la edad tanto en varones ( $r = 0,57$ ;  $p < 0,001$ ) como en mujeres ( $r = 0,61$ ;  $p < 0,001$ ). Según la ecuación de la recta de regresión (fig. 4), en los varones el GIM aumentaba 0,005 mm por año de edad, mientras que en las mujeres se incrementaba 0,007 mm por año, pero en ellas se parte de un valor menor en la extrapolación al eje de ordenadas. Los valores del GIM de ambos sexos convergían a la edad de 80 años. Las corre-

TABLA 2

Percentiles 25, 50 y 75 del grosor íntima-media (GIM) medio y máximo de la carótida común (en milímetros) en función del grupo de edad en varones

Variables	Grupos de edad (años)					Todos (n = 125)
	≤ 35 (n = 34)	36-45 (n = 24)	46-55 (n = 26)	56-65 (n = 21)	> 65 (n = 20)	
GIM medio						
Media (DE)	0,50 (0,09)	0,57 (0,11)	0,62 (0,12)	0,65 (0,13)	0,73 (0,13)	0,60 (0,14)
Percentil 25	0,43	0,48	0,55	0,56	0,64	0,50
Percentil 50	0,50	0,57	0,61	0,63	0,74	0,58
Percentil 75	0,55	0,68	0,74	0,73	0,89	0,68
GIM máximo						
Media (DE)	0,59 (0,13)	0,66 (0,14)	0,76 (0,20)	0,76 (0,17)	0,89 (0,19)	0,72 (0,19)
Percentil 25	0,50	0,53	0,60	0,63	0,70	0,60
Percentil 50	0,60	0,60	0,72	0,70	0,92	0,70
Percentil 75	0,70	0,81	0,93	0,90	1,10	0,80

DE: desviación estándar.

TABLA 3

Percentiles 25, 50 y 75 del grosor íntima-media GIM medio y máximo de la carótida común (en milímetros) en función del grupo de edad en mujeres

Variables	Grupos de edad (años)					Todos (n = 125)
	≤ 35 (n = 34)	36-45 (n = 24)	46-55 (n = 26)	56-65 (n = 21)	> 65 (n = 20)	
GIM medio						
Media (DE)	0,41 (0,10)	0,47 (0,13)	0,59 (0,15)	0,62 (0,11)	0,67 (0,14)	0,55 (0,16)
Percentil 25	0,34	0,38	0,47	0,54	0,59	0,45
Percentil 50	0,41	0,48	0,59	0,60	0,65	0,55
Percentil 75	0,53	0,58	0,70	0,69	0,82	0,64
GIM máximo						
Media (DE)	0,50 (0,11)	0,54 (0,14)	0,68 (0,18)	0,73 (0,14)	0,84 (0,17)	0,66 (0,19)
Percentil 25	0,40	0,40	0,52	0,63	0,70	0,50
Percentil 50	0,50	0,53	0,70	0,70	0,82	0,60
Percentil 75	0,60	0,60	0,80	0,84	1,02	0,80

DE: desviación estándar.

TABLA 4

Presencia de placas de ateroma y percentiles 50 y 75 de las alturas máximas de las placas en función del grupo de edad y del sexo

	Grupos de edad (años)				
	≤ 35	36-45	46-55	56-65	> 65
Presencia de placas					
Varones (n = 125)	0	3 (13%)	11 (42%)	13 (62%)	13 (65%)
Altura máxima de la placa (mm)					
Percentil 50	0	0	0	1,20	1,40
Percentil 75	0	0	2,10	2,10	1,90
Presencia de placas					
Mujeres (n = 125)	1 (4%)	2 (8%)	6 (19%)	6 (25%)	14 (64%)
Altura máxima de la placa (mm)					
Percentil 50	0	0	0	0	1,20
Percentil 75	0	0	0	0	1,60

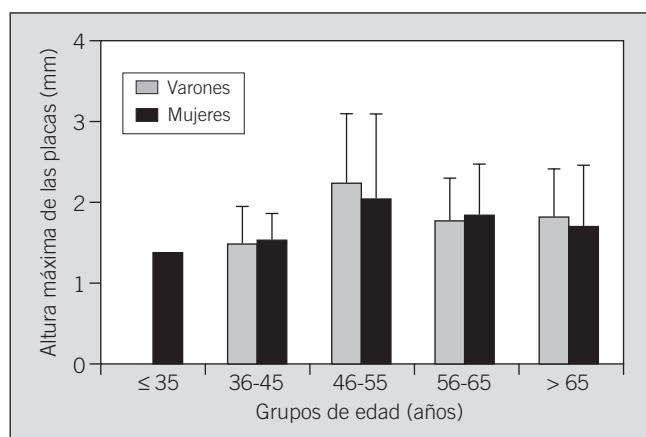


Fig. 3. Distribución de la media de las alturas máximas de las placas de ateroma en función del sexo y el grupo de edad.

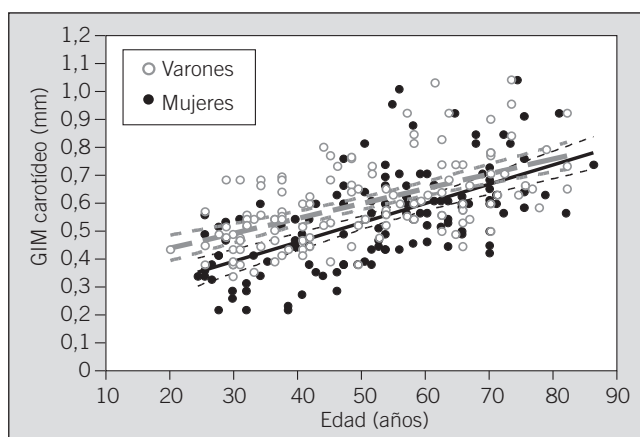


Fig. 4. Correlación entre el grosor íntima-media (GIM) medio y la edad en 250 individuos sanos en función del sexo. Los coeficientes de correlación de Pearson siguieron las siguientes ecuaciones: GIM (varones) = 0,348 + (0,005 × edad);  $r = 0,57$ ,  $p < 0,001$ ; GIM (mujeres) = 0,208 + (0,007 × edad);  $r = 0,61$ ,  $p < 0,001$ .

laciones entre el GIM y otros factores de riesgo cardiovascular también fueron positivas, aunque con menor potencia:  $r = 0,33$  para el IMC ( $p < 0,001$ );  $r = 0,33$  para la presión arterial sistólica ( $p < 0,001$ );  $r = 0,18$  para la presión arterial diastólica ( $p = 0,013$ ), y  $r = 0,29$  para el colesterol LDL ( $p < 0,001$ ).

### Discusión

En este estudio de individuos sanos de ambos sexos, con un intervalo de edades de 20 a 81 años, seleccionados por ser normolipémicos, hemos establecido los valores de referencia en una cohorte comunitaria de los parámetros relevantes de la ecografía carotídea: GIM medio y máximo en la pared posterior de la carótida común y frecuencia de placas en todo el territorio carotídeo.

Aunque todos los estudios de ecografía carotídea utilizan los mismos principios generales para la medición del GIM, el método muestra notables variaciones en cuanto a los segmentos explorados y los procedimientos de lectura<sup>3,4</sup>. Sin embargo, el hecho de que la técnica no sea invasiva, junto a su fiabilidad, reproducibilidad y bajo coste, hace que sea de elección para la detección de la aterosclerosis preclínica, lo cual permite una estratificación del riesgo cardiovascular más allá de los factores de riesgo convencionales<sup>3-6,16</sup>, y ya empieza a aplicarse en la práctica con este objetivo<sup>19</sup>.

Lo ideal sería evaluar por ecografía carotídea a un número suficiente de individuos para poder definir unos valores de referencia en cada población antes de que el clínico tome decisiones basándose en el valor del GIM o en la frecuencia y gravedad de las placas de ateroma. Una revisión de estudios en poblaciones de distintas áreas geográficas concluye que la mayoría de los valores patológicos del

GIM en la pared posterior de la carótida común están por encima del percentil 75<sup>20</sup>. En nuestro estudio hemos seguido este mismo criterio para definir los puntos de corte de los valores del GIM medio y máximo.

Con la salvedad de un distinto origen de los individuos estudiados, con frecuencia cohortes poblacionales, una selección heterogénea por sexo y edad, y diferentes maneras de medir el GIM, de definir las placas y de expresar los resultados, es instructivo comparar los valores de normalidad (percentiles 50) de nuestra serie con los de otras áreas geográficas. Tanto los valores del GIM medio como del máximo son netamente superiores en cohortes de EE.UU.<sup>8,11</sup>, centro de Europa<sup>21-23</sup> y países nórdicos<sup>24</sup>. Cuando se ha evaluado, la prevalencia de placas carotídeas también es superior en estos países<sup>22,23</sup>. En cambio, los valores del GIM de nuestra población son similares a los de Francia<sup>24,25</sup> y Japón<sup>26,27</sup>. Del mismo modo, las frecuencias de placas en Francia<sup>24</sup>, Japón<sup>27</sup> e Italia<sup>28,29</sup> son similares a la observada en nuestro estudio. En un estudio reciente en España<sup>30</sup>, los valores del GIM medio en 50 adultos sanos de ambos sexos fueron similares a los encontrados por nosotros. Estas observaciones concuerdan con el conocido gradiente nort-sur de riesgo cardiovascular<sup>1</sup> e indican que la aterosclerosis preclínica sigue un patrón similar al de la cardiopatía isquémica, es decir, menor afectación en los países mediterráneos y Japón que en EE.UU. y los países del norte de Europa. Como es lógico, la edad es el principal factor que condiciona la progresión del GIM y la aparición de placas de ateroma. Resulta notable, aun siendo una serie seleccionada por la ausencia de anomalía lipídica, que el GIM se correlacionara también con el colesterol LDL, además de con el IMC y la presión arterial. Estas

asociaciones confirman que la aterosclerosis preclínica evaluada en las carótidas refleja la carga de factores de riesgo cardiovascular<sup>3-6</sup>.

La utilización de las ecuaciones de regresión para varones y mujeres de la evolución del GIM carotídeo con la edad (fig. 4) sirve para determinar el GIM medio normal a cualquier edad. El hecho de que la progresión del GIM con la edad sea mayor en mujeres (0,007 mm por año) que en varones (0,005 mm por año) parece explicarse por una aceleración del crecimiento del GIM a partir de la edad media o la menopausia (tabla 3). En todo caso, la extrapolación de los valores al eje de ordenadas indica que el crecimiento del GIM en la mujer siempre es inferior al del varón, para converger ambos valores a la edad de 80 años. En estudios prospectivos de cohortes de EE.UU.<sup>8</sup>, el Reino Unido<sup>22</sup> y Francia<sup>24</sup> con medidas anuales del GIM, se ha estimado su progresión anual en unos 0,01 mm, mientras que en Japón<sup>26</sup> la progresión sería de 0,006 mm, similar a la estimada en nuestro estudio. De nuevo, las tasas de progresión del GIM con la edad se corresponden con las tasas de riesgo poblacional de enfermedad cardíaca coronaria.

Hemos definido los valores de referencia del GIM medio y máximo en la pared posterior de la carótida común en una cohorte comunitaria española. Los puntos de corte descritos pueden utilizarse en la práctica clínica habitual para maximizar la definición de riesgo cardiovascular más allá de los factores tradicionales. Por ejemplo, un varón de 57 años cuyo GIM carotídeo medio es de 0,75 mm está por encima del percentil 75 (tabla 2) y, por tanto, puede considerarse de alto riesgo, independientemente de los factores asociados. Si su GIM medio fuera de 0,54 mm, por debajo del percentil 25, este individuo podría considerarse de bajo



JUNYENT M, ET AL. ECOGRAFÍA CAROTÍDEA EN LA EVALUACIÓN DE ATEROSCLEROSIS PRECLÍNICA. DISTRIBUCIÓN DE VALORES DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA Y FRECUENCIA DE PLACAS DE ATEROMA EN UNA COHORTE COMUNITARIA ESPAÑOLA

riesgo y, en consecuencia, no susceptible de tratamiento intenso. En todo caso, la comparación de las cifras de GIM y frecuencia de placas en esta cohorte con otras series de distinta procedencia geográfica indica que existe una menor aterosclerosis preclínica carotídea en las poblaciones mediterráneas que en el norte de Europa y EE.UU.

**Agradecimientos**

Agradecemos la ayuda técnica experta de Eli Sánchez en la realización de las ecografías y la colaboración de los médicos de atención primaria del CAP de referencia (CAPSE): Joan Clos, Nuria Gimferrer, Pilar Navarrete, Higinio Calvillo, Valentí Aragunde, Marta Catalán, Susana Lasterra, Pere Escassany y Àngels Moreno.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Rukokoski E, Amouyel P, et al, for the WHO MONICA Project. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10 year-results from 37 WHO MONICA Project populations. *Lancet*. 1999;353:1547-57.
2. Marrugat J, Elosua R, Martí H. Epidemiología de la cardiopatía isquémica en España: estimaciones del número de casos y de las tendencias entre 1997 y 2005. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55:337-46.
3. O'Leary DH, Polak JF. Intima-media thickness: a tool for atherosclerosis imaging and event prediction. *Am J Cardiol*. 2002;90:18-21.
4. Bots ML, Grobbee DE. Intima media thickness as a surrogate marker for generalised atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2002;16:341-51.
5. Ros E, Zambón D, Gilabert R. Técnicas de diagnóstico de aterosclerosis preclínica y su utilización para mejorar la predicción del riesgo cardiovascular. *Clin Invest Arterioscler*. 2002;14:187-97.
6. Kastelein JJP, De Groot E, Sakatsing R. Atherosclerosis measured by B-mode ultrasonography: effects of statin therapy on disease progression. *Am J Med*. 2004;116 Suppl 6:31S-6S.
7. Junyent M, Ros E. ¿Son necesarios los estudios angiográficos para valorar la eficacia terapéutica del tratamiento hipolipemiante? *Clin Invest Arterioscler*. 2005;17 Supl 2:7-15.
8. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults: Cardiovascular Health Study. *N Engl J Med*. 1999;340:14-22.
9. Salonen JT, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:1245-9.
10. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997;96:1432-7.
11. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997;146:483-94.
12. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med*. 1998;128:262-9.
13. Iglesias del Sol A, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, Witteman JCM. Carotid intima-media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2002;23:934-40.
14. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 2000;151:478-87.
15. Hollander M, Bots ML, Iglesias del Sol A, Koudstaal PJ, Witteman JCM, Grobbee DE, et al. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly. The Rotterdam Study. *Circulation*. 2002;105:2872-7.
16. Greenland P, Abrams J, Aurigemma G, Bond M, Clark L, Criqui M, et al. AHA Conference Proceedings. Prevention conference V. Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention. *Circulation*. 2000;101:e16-e22.
17. Zambón D, Gilabert R, Ros E, Casals E, Sanhelly C, Rodríguez C, Bru C. Aterosclerosis carotídea evaluada por ecografía bidimensional en pacientes con hipercolesterolemia primaria. *Med Clin (Barc)*. 1995;105:761-7.
18. Zambón D, Gilabert R, Rodríguez C, Sanllehy C, Bru C, Casals E, et al. Evaluación de la arteriosclerosis extracoronaria mediante ecografía bidimensional en la hipercolesterolemia familiar. *Clin Invest Arterioscler*. 1995;7:1-11.
19. Bard R, Kalsi H, Rubenfire M, Wakefield T, Fex B, Rajagopalan S, et al. Effect of carotid atherosclerosis screening on risk stratification during primary cardiovascular disease prevention. *Am J Cardiol*. 2004;93:1030-2.
20. Aminbakhsh A, Mancini GB. Carotid intima-media thickness measurements: what defines an abnormality? A systematic review. *Clin Invest Med*. 1999;22:149-57.
21. Allan P, Mowbray P, Lee A, Fowkes G. Relationship between carotid intima-media thickness and symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease. The Edinburgh Artery Study. *Stroke*. 1997;28:348-53.
22. Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, Wannamethee G, Walker M, Nicolaides A, et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women. The British Regional Heart Study. *Stroke*. 1999;30:841-50.
23. Van der Meer I, Bots M, Hofman A, Iglesias del Sol A, Van der Kuip D, Witteman J. Predictive value of non-invasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction. The Rotterdam study. *Circulation*. 2004;109:1089-94.
24. Zureik M, Touboul P-J, Bonithon-Kopp C, Courbon D, Berr C, Leroux C, et al. Cross-sectional and 4-year longitudinal associations between brachial pulse pressure and common carotid intima-media thickness in a general population. The EVA study. *Stroke*. 1999;30:550-5.
25. Ferrieres J, Elias A, Ruidavets JB, Cantet C, Bongard V, Fauvel J, et al. Carotid intima-media thickness and coronary heart disease risk factors in a low-risk population. *J Hypertens*. 1999;17:743-8.
26. Ando F, Takekuma K, Niino N, Shimokata H. Ultrasonic evaluation of common carotid intima-media thickness (IMT). Influence of local plaque on the relationship between IMT and age. *J Epidemiol*. 2000;10 Suppl 1:10-7.
27. Homma M, Hirose N, Ishida H, Ishii T, Araki G. Carotid plaque and intima-media thickness assessed by B-Mode ultrasonography in subjects ranging from young adults to centenarians. *Stroke*. 2001;32:830-5.
28. Prati P, Vanuzzo D, Casaroli M, Di Chiara A, De Biasi F, Feruglio GA, et al. Prevalence and determinants of carotid atherosclerosis in a general population. *Stroke*. 1992;23:1705-11.
29. Fabris F, Zanicchi M, Bo M, Fonte G, Poli L, Bergoglio I, et al. Carotid plaque, aging, and risk factors. A study of 457 subjects. *Stroke*. 1994;25:1133-40.
30. Fernández-Miranda C, Aranda JL, Paz M, Núñez V, Gómez P, Díaz-Rubio P, et al. Atherosclerosis subclínica de la arteria carótida en pacientes con enfermedad coronaria. *Med Clin (Barc)*. 2001;116:441-6.



### **COMENTARIO (Estudio 1):**

En este primer estudio, hemos definido los parámetros de normalidad de la ecografía carotídea (GIM medio y máximo de la pared posterior de la CC y frecuencia de placas en todo el territorio carotídeo) en una cohorte comunitaria española de 250 sujetos sanos (125 mujeres y 125 varones) con un intervalo de edad de 20 a 81 años. En nuestro estudio hemos considerado como patológicos aquellos valores del GIM y/o alturas máximas de placas por encima del percentil 75, siguiendo los mismos criterios que una revisión de estudios realizada en poblaciones de distintas áreas geográficas. La importancia de este estudio radica en que es el primero que define los parámetros de referencia del GIM en nuestra población, en una muestra considerable de sujetos.

Al disponer de nuestros puntos de corte ya podemos tomar decisiones clínicas sobre la base de los hallazgos de la ecografía arterial en nuestra consulta y poder adscribir a su medición en un paciente dado un valor normal o patológico.

También hemos comparado nuestros valores con los obtenidos en otras poblaciones de referencia con mayor riesgo cardiovascular. Los valores del GIM (tanto medio como máximo) son netamente superiores en cohortes de Estados Unidos, centro de Europa y países nórdicos. La prevalencia de placas carotídeas también es superior en estos países. En cambio, los valores del GIM de nuestra población son similares a los de Francia y Japón. Del mismo modo, la frecuencia de placas en Francia, Japón e Italia es similar a la obtenida en nuestro estudio. Estas observaciones concuerdan con el conocido gradiente norte-sur de riesgo cardiovascular, es decir, menor afectación en los países mediterráneos y Japón que en Estados Unidos y los países del norte de Europa.

Como es lógico, la edad es el principal factor que condiciona la progresión del GIM carotídeo. En nuestro estudio, el GIM también se correlaciona con el índice de masa corporal, la presión arterial y las cifras de colesterol LDL. Estas asociaciones confirman que la aterosclerosis preclínica evaluada por ecografía refleja la carga de los factores de riesgo cardiovasculares.

Finalmente, hemos definido las ecuaciones de regresión de la evolución del GIM con la edad en varones y en mujeres. Estas ecuaciones sirven para determinar el valor del GIM medio normal a cualquier edad. Al igual que ocurría con los parámetros de normalidad del GIM, las tasas de progresión del GIM son superiores en cohortes de Estados Unidos, Reino Unido y Francia mientras que en Japón, se observan tasas de progresión similares a las obtenidas en nuestro estudio.

Por lo tanto, los puntos de corte descritos en el presente estudio pueden ser utilizados en la práctica clínica habitual para maximizar la definición de riesgo cardiovascular más allá de los factores tradicionales.

**7.2. Estudio 2. Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease risk beyond the Framingham risk score. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006 (submitted)**

## **Carotid Atherosclerosis and Vascular Age in the Assessment of Coronary Heart Disease Risk beyond the Framingham Risk Score**

Mireia Junyent, Daniel Zambón, Rosa Gilabert, Isabel Núñez, Montserrat Cofán, Emilio Ros.

**From:** Unitat de Lípids, Servei d'Endocrinologia i Nutrició (M.J., D.Z., M.C., E.R.) and Secció d'Ecografia, Centre de Diagnòstic per l'Imatge (R.G., I.N.), Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Hospital Clínic, Barcelona, Spain.

**Address for correspondence:** Dr. Emilio Ros, Unitat de Lípids, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. Tel. +34-93-2279383; Fax +34-93-4537829; E-mail [eros@clinic.ub.es](mailto:eros@clinic.ub.es)

**Short title:** Junyent—Carotid atherosclerosis in coronary heart risk assessment

*Word count for manuscript: 5429*

*6 Tables and Figures*

## ABSTRACT

**Objectives**—To assess how ultrasound measurements of carotid intima-media thickness (CIMT) and plaque burden compare with the Framingham Risk Score (FRS) and whether abnormal CIMT predicts coronary heart disease (CHD) beyond FRS in a clinical setting.

**Methods and Results**—We determined CIMT and plaque in 409 asymptomatic hyperlipidemic subjects (242 men, age  $49\pm 11$  yrs) who were assessed for risk factors and classified into FRS categories: 10-yr risk  $\leq 5\%$  ( $n=191$ ), 6-20% ( $n=176$ ), and  $>20\%$  ( $n=42$ ). Percentiles of CIMT and plaque height and regression equations of CIMT against age obtained in 250 controls subjects were used to define atherosclerosis and estimate vascular age, respectively. There was a wide dispersion of CIMT for each FRS category. CIMT values were discordant in 242 (59%) subjects, 80% of them showing more atherosclerosis than predicted. Mean vascular age was 14.5 yrs older than chronological age. During a median 61-month follow-up, 6 men with carotid atherosclerosis (5 with  $FRS < 20\%$ ), but none with normal arteries, developed CHD [odds ratio, 1.07 (95% CI, 1.01-1.14)].

**Conclusions**—Carotid atherosclerosis findings readjust FRS categories in many asymptomatic subjects and enhance the prediction of CHD. Both carotid atherosclerotic burden and vascular age may be used to refine CHD risk and tailor preventive treatment beyond the FRS.

*Words: 200*

**CONDENSED ABSTRACT**

We compared carotid intima-media thickness with Framingham Risk Scores (FRS) in 409 hyperlipidemic adults. There was discordance in 242 subjects (80% with more atherosclerosis than predicted). During follow-up, 6 men (5 with FRS<20%, all with carotid atherosclerosis) developed a coronary event. Carotid atherosclerotic burden refines coronary risk beyond the FRS.

*Word count: 50*

**Key Words**—Atherosclerosis, imaging of carotid arteries, Framingham Risk Score, coronary heart disease, hypercholesterolemia, risk factors.

Various multivariable mathematical functions that are based on classical risk factors have been developed for predicting coronary heart disease (CHD) risk (1). After endorsement by the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP-III) (2), the Framingham Risk Score (FRS) (3) charts have been widely used by clinicians to quantify an individual's absolute CHD risk. Although the FRS provides a logical approach to risk stratification, misclassification is frequent, as shown by the fact that up to 70% of patients with early-onset CHD did not meet criteria for cholesterol-lowering therapy and were retrospectively classified in low-risk categories in a recent study (4). To identify such individuals with a low FRS but at increased CHD risk before an acute coronary event occurs should be a priority of preventive cardiology. Therefore, as discussed by the American Heart Association's (AHA) Prevention V Conference (5) and Greenland et al (6), diagnostic tools capable of improving cardiovascular risk assessment beyond known risk factors are needed.

One such tool is B-mode ultrasound, a noninvasive, simple, and generally reproducible method to quantify carotid intima-media thickness (CIMT) (7). Prospective studies (8-11) in asymptomatic middle-aged and older adults demonstrated that an abnormal CIMT is associated with relative risks as high as 5.0, independently of traditional risk factors, for occurrence of future cardiovascular events. Although not as widely investigated as CIMT, carotid plaque burden has also been shown to be an independent predictor of future cardiovascular risk (12,13).

In clinical practice, risk factor assessment guides the therapeutic strategy (1-3). While conservative intervention is recommended for subjects at low risk and aggressive treatment for risk reduction is indicated in those at high risk, the management of subjects at intermediate risk (predicted 10-yr CHD risk 6-20%) is

uncertain. In them, the findings of carotid ultrasound may resolve whether they belong to low or high-risk categories, thus targeting intervention (5,6).

Two small studies (14,15) that used CIMT to reassess subjects in the intermediate category of FRS reported changes of risk strata in a sizeable proportion of them. Therefore, we evaluated CIMT and plaque burden to reassess CHD risk in a large sample of asymptomatic, well phenotyped hyperlipidemic subjects who had been categorized into the three FRS strata. Normative data from our vascular laboratory (16) was used for defining CIMT and plaque as normal or abnormal. We also assessed prospectively the occurrence of CHD events during follow-up in relation to initial FRS and carotid atherosclerosis findings.

## **METHODS**

### **Subjects**

This is a longitudinal observational study of 680 asymptomatic adults with primary lipid disorders consecutively evaluated at our Lipid Clinic from March 1998 to March 2006. During the same period, we also evaluated 250 normolipidemic control subjects (16) and 131 hyperlipidemic patients with prior CHD. Subjects were referred for diagnosis or because of refractoriness to treatment, and they had no effective lipid-regulating therapy before recruitment. Within 1-6 weeks of the first visit, all subjects underwent carotid sonography according to a protocol approved by the local review board and provided informed consent.

Secondary causes of dyslipidemia were excluded in all subjects by clinical history and blood tests. Since ATP III (2) considers diabetes as a CHD risk equivalent, we excluded individuals with self-reported diabetes. We did not consider for risk categorization persons with clinical diagnoses of familial hypercholesterolemia



(n=232) or dysbetalipoproteinemia (n=18) because of their inherent high risk of premature atherosclerosis. Thus, the target study sample was made up of the remaining 430 subjects.

### **Clinical and laboratory characteristics**

We assessed all subjects for family history of early-onset CHD (before 55 yrs in men and 65 yrs in women), clinical history, medication use, demographic characteristics, and risk factors. History of smoking was established if the subject reported smoking ever  $\geq 3$  cigarettes per day for at least 5 years. Anthropometric and adiposity data were obtained by standard methods. Blood pressure was measured in duplicate with a validated semi-automatic oscillometer (Omron HEM-705CP). Hypertension was defined as systolic blood pressure  $\geq 140$  mm Hg or diastolic pressure of  $\geq 90$  mm Hg or current use of antihypertensive medication.

Fasting blood for baseline glucose levels and lipid profile was drawn after at least 4 weeks without hypolipidemic drug treatment. Blood glucose was measured by the glucose-oxidase method. Cholesterol and triglycerides were determined by standard enzymatic methods. HDL cholesterol was measured by a precipitation technique. LDL cholesterol was estimated with the Friedewald equation (17), except in samples with triglycerides  $\geq 300$  mg/dL, when it was measured in the  $d=1.063$  g/mL fraction separated by density gradient ultracentrifugation. Apolipoproteins (apo) AI and B and lipoprotein(a) were determined by using immunoturbidimetry (Unimate 3, Roche, Basel, Switzerland). Leukocytes were counted with standard automated cell counters. Plasma total homocysteine was measured by a chemiluminescent assay on an ADVIA Centaur automated system (Bayer Advia 1650, Tarrytown, NY, USA).

Data on adiposity, blood pressure, blood glucose, and lipids were used to classify subjects as having the metabolic syndrome by NCEP-ATP III criteria (3).

### **Framingham risk scoring**

We used the ATP III charts (2) to calculate an FRS for each subject. The risk factors considered were gender, age, tobacco smoking, systolic blood pressure, history of treated hypertension, total cholesterol, and HDL cholesterol. From the Framingham charts, an estimated 10-yr CHD risk was assigned to each subject, who was classified in categories of low risk ( $\leq 5\%$ ), intermediate risk (6% to 20%), or high risk ( $>20\%$ ), as proposed by Greenland et al (6).

### **Ultrasonographic examination**

B-mode ultrasound imaging of the right and left carotid arteries was performed as described (18) by using SSA-140 Powervision and Applio instruments (Toshiba, Nasu, Japan) equipped with 7-10 MHz broadband linear array transducers. A standardized imaging protocol was used for the IMT measurements (18). Patients were examined in the supine position, with the head turned 45° contralateral to the side of scanning. The primary variables were mean common carotid artery IMT and the presence of plaque, maximum plaque height, and plaque score (sum of maximum heights of all plaques present) in 6 pre-specified carotid segments (right and left common carotid, bifurcation, and internal carotid). CIMT was defined as the average of 4 to 8 distances between the far wall lumen–intima and media-adventitia ultrasound interfaces taken bilaterally. Plaques were sought by using B-mode and color Doppler examinations in both longitudinal and transverse planes to take into consideration circumferential asymmetry (7) and were defined as focal intrusions into the lumen  $\geq 1.2$  mm thick. CIMT's and plaque heights were measured online with electronic calipers by two experienced sonographers (RG and IN). Interobserver variability was examined in 15 subjects. The CVs of paired readings of CIMT, maximum plaque height, and plaque score were 5.3%, 8.2%, and 9.3%, respectively.

Risk stratification was constructed by using the 25<sup>th</sup> and 75<sup>th</sup> gender-specific and age-specific percentiles of CIMT and plaque from a reference population studied in our laboratory by using the same imaging protocol (16). Subjects with CIMT <25<sup>th</sup> percentile and no plaques (low CIMT) were qualified as protected from atherosclerosis, while those with CIMT and/or plaque height >75<sup>th</sup> percentile (high CIMT) were considered to have preclinical atherosclerosis. Subjects whose CIMT and/or plaque height was between the 25<sup>th</sup> and 75<sup>th</sup> percentiles (intermediate CIMT) were initially considered to have normal arteries. To further examine these definitions of atherosclerosis, we estimated the “vascular age” for each subject by extrapolation from the sex-specific lineal regression equations of CIMT against age in our reference population (16). Then, vascular age was used to replace chronological age as a risk factor in the Framingham charts and risk scores were recalculated.

### **CHD events during follow-up**

All patients were recommended healthy lifestyle measures, treated with hypolipidemic drugs according to their individual risk, and monitored at the Lipid Clinic, with visits scheduled at least once a year. Intervention was upgraded when clear evidence of carotid atherosclerosis was present. Subjects with follow-up  $\geq 12$  months were assessed for CHD events (CHD death, myocardial infraction, and angina), which were ascertained according to European Society of Cardiology guidelines (19).

### **Statistical analyses**

Data are presented as mean ( $\pm$ SD) for continuous variables (median and interquartile range for variables with a skewed distribution) and as frequencies or percentages for categorical variables. Differences in mean values were assessed using analyses of variance and t-tests or the Mann Whitney U-test, as appropriate.

Categorical variables were compared using chi-square tests. Because waist circumference measurements were missing in 102 subjects evaluated early in the study, we considered abdominal obesity to be present when body mass index (BMI) was  $\geq 27.0$  kg/m<sup>2</sup>. This threshold had a sensitivity of 0.77 and a specificity of 0.80 for abdominal obesity and was based on receiver operator characteristics curves constructed by using the BMI of the 307 subjects with waist circumference measurements and a diagnosis of presence (n=109) or absence (n=198) of visceral obesity. The area under the curve of sensitivity vs 1-specificity was 0.873 (95% CI, 0.823 to 0.923). Linear regression analysis was used to determine relationships between continuous variables. Because predictably there were CIMT differences by gender and CIMT was strongly related to age, age- and gender-adjusted values were used when examining differences in CIMT across different FRS categories. We used ANOVA or chi-squares tests when appropriate to compare variables across levels of atherosclerosis severity in each FRS group. Chi-square tests and odd ratios (OR) were used to evaluate how carotid atherosclerosis predicted CHD occurrence. Two-sided  $P < 0.05$  was considered statistically significant. SPSS software (version 12.0) was used.

## **RESULTS**

From the 430 subjects targeted for FRS categorization and carotid sonography, 21 were excluded due to poor quality CIMT readings. Thus the final study population consisted of 409 asymptomatic subjects, 242 men and 167 women, age  $49 \pm 11$  yrs (range, 23-74). Three hundred-and-nine (76%) subjects were treatment-naive and 100 (24%) subjects had been treated previously with lipid-lowering drugs (61 statins, 22 fibrates, 4 resins, and 13 combined treatment) for a median period of 29 months

(range, 6-179). Those treated with statins had received an average daily dose with potency equivalent to 21 mg simvastatin (range, 10-40). Lipid phenotypes were hypercholesterolemia (n=222), mixed hyperlipidemia (n=143), and hypertriglyceridemia (n=44). The reference population consisted of 250 healthy men and women, with mean age 49 yrs (range, 20-81) (16). The 131 patients with CHD were 109 men and 22 women, age  $57\pm 9$  yrs (range, 30-78). Only carotid sonography data are presented for this group.

### **Characteristics of subjects by FRS**

**Table 1** shows clinical characteristics and risk factor levels according to FRS category. Predictably, the proportion of men increased and that of women decreased with increasing FRS. As expected, the FRS increased with the number and potency of the risk factors used to construct it. Notably, the FRS also increased with the magnitude of risk factors not considered in its definition, such as BMI, waist circumference, triglycerides, apoB, and the leukocyte count.

### **Carotid IMT and plaque burden**

Adjusted mean CIMT was  $0.66\pm 0.14$  mm in subjects who had received hypolipidemic drugs and  $0.65\pm 0.15$  mm in those who were treatment-naive ( $P>0.1$ ). CIMT and plaque score increased with increasing FRS (**Table 1**). The FRS explained only 12% of CIMT variability ( $r=0.351$ ,  $P<0.001$ ). Subjects with plaques (n=188) had a thicker CIMT than those without plaques (n=221), with values of  $0.73\pm 0.16$  and  $0.60\pm 0.12$  mm, respectively ( $P<0.001$ ). CIMT correlated strongly with age ( $r=0.469$ ,  $P<0.001$ ) and was thinner in women than in men after age adjustment ( $0.62\pm 0.14$  mm vs  $0.69\pm 0.16$  mm,  $P<0.001$ ). **Figure 1** shows age-adjusted and gender-adjusted CIMT values in the 250 reference subjects (16), the target population, and the 131 patients with CHD. Adjusted CIMT values increased linearly with increasing CHD risk

( $P < 0.001$  for trend), although they were similar in asymptomatic subjects in the highest FRS category and in CHD patients ( $0.71 \pm 0.13$  mm and  $0.72 \pm 0.11$  mm, respectively). Plaque prevalence also increased with increasing CHD risk ( $P < 0.001$  for trend) (**Figure 1**), and patients with CHD had plaque more frequently than those in the highest FRS level (80% vs 52%, respectively,  $P < 0.001$ ). Of note, plaque occurred in the presence of a normal CIMT in 47 (25%) of 188 subjects with plaques.

### **Comparison between the Framingham Risk Score and carotid atherosclerosis status**

When using gender-specific and age-specific cutoff values for CIMT and plaque presence and maximum height (16) in subjects in the 3 FRS categories, we found that carotid atherosclerosis severity was distributed similarly among the groups and high CIMT and/or plaque scores predominated over intermediate or low ones (**Table 2**). Considering subjects with high CIMT and plaque values in the low and intermediate FRS groups as having more atherosclerosis than expected and those with low CIMT and little plaque burden in the intermediate and high FRS categories as protected against atherosclerosis, there was concordance between the FRS and CIMT in 167 (41%) subjects and discordance in 242 (59%) subjects. Of these, 193 (80%) subjects had more atherosclerosis than predicted by the FRS.

To search for possible factors that could explain the discrepancies between the FRS classification and atherosclerosis severity, the variables in **Table 1** were compared across the 3 CIMT groups in each FRS category in **Table 2**. No differences were observed for any risk factor in the low FRS group. In people with an intermediate FRS, there were differences in the frequency of the metabolic syndrome and the proportion of smokers in the groups with low CIMT, intermediate CIMT, and high CIMT, which were 11%, 29%, and 32% ( $P = 0.047$ ) and 53%, 56%, and 77%

( $P=0.007$ ), respectively. In the high FRS category, no between-group differences existed for any risk factor.

### **Calculation of vascular age**

The vascular age for each subject was estimated by plotting actual CIMT against age in sex-specific regression equations derived from our reference population (16). The mean FRS of the study cohort increased from  $9.2\pm 8.3$  to  $9.8\pm 8.5$  ( $P=0.016$ ) when vascular age was used to replace chronological age as risk factor in the Framingham charts. **Table 2** shows how subjects in the 3 original FRS categories were reclassified when using vascular age in place of chronological age. Noticeably, CHD risk reassigned thus is closer to that obtained by the classical FRS definition than by carotid atherosclerosis categories.

The mean chronological age for the entire cohort was 48.9 (95% CI, 47.8 to 50) yrs, while the mean estimated vascular age was 63.4 (60.7 to 66.1) yrs. Thus, vascular age was on average 14.5 yrs older than chronological age. **Table 3** shows differences between chronological age and vascular age for each CIMT category in the 3 FRS groups. At each FRS level, subjects with low CIMT had  $\approx 10$ -yr younger arteries, while those with intermediate CIMT had  $\approx 10$ -yr older arteries. The substantial increases in vascular age above chronological age for persons in the high CIMT category should be taken as approximations because many values fell beyond the upper age limits of the regression lines from the reference group.

**Figure 2** shows scatterplots of CIMT against the FRS for all study subjects. It is apparent that, at every FRS level, there was a wide overlap of individual CIMT values. Within each FRS level, there were also some overlapping CIMTs among subjects with increased and decreased vascular age estimates. This is due to substantial divergences between chronological age and CIMT in a few subjects.

### **CHD incidence during follow-up**

Of the 409 patients originally examined, 28 patients were lost to follow-up, 74 patients had follow-up <1 yr, and 3 patients died from cancer during the observation period. The remaining 307 patients had follow-up for a median of 61 months (range, 12-97). During this period, 6 (2%) men with age  $47 \pm 11$  yrs had a CHD event (4 myocardial infarction, 2 angina). At the time of the event, all patients were treated with statins; 3 and 3 patients had LDL cholesterol levels <130 mg/dL and <160 mg/dL, respectively. The individual 10-yr CHD risk predicted by the FRS in these 6 patients was 2%, 12%, 16% (2 patients), 18% and 30%, and all had carotid atherosclerosis. By comparison with men with  $FRS < 20\%$  and normal carotids, those with  $FRS < 20\%$  and carotid atherosclerosis had an OR of 1.07 (95% CI, 1.01-1.14) for developing CHD during follow-up.

### **DISCUSSION**

In this prospective study of asymptomatic persons with primary hyperlipidemia, we evaluated carotid atherosclerosis by ultrasound to obtain incremental information to both traditional and novel risk factor assessment in a clinical setting. The main finding is that the usual tools for office prediction of absolute CHD risk in individual patients, the FRS charts, misclassify the risk level in comparison with the evaluation of atherosclerosis itself. Notably, the FRS underestimated the risk derived from carotid atherosclerosis measures in close to one-half of persons in both the intermediate and low risk categories, and subjects with carotid atherosclerosis had a higher risk of developing clinical CHD than those without. However, as judged by a thin CIMT and little plaque burden, the FRS also overestimated risk in  $\approx 1$  out of every 3 subjects in the high-risk group. Estimated vascular age substantially differed



from chronological age in most subjects. The individual changes in CHD risk prediction derived from CIMT assessment have important implications for targeted intervention aimed at CHD prevention.

Our study has the strengths of a strict definition of baseline risk levels and a rigorous scanning protocol assessing both CIMT and plaque burden in a large series of hyperlipidemic subjects not receiving effective lipid-lowering treatment that could have influenced the arterial wall. An added strength is that abnormal CIMT in the target population was defined by comparison with reference values obtained in community controls living in the same geographical area and evaluated with the same protocol. This study also has limitations. Our cohort is representative of asymptomatic, relatively young hyperlipidemic subjects as they present to a specialized clinic, but not of those older or with strong non-lipid risk factors within the general population. An additional limitation is that close to one out of every 4 subjects had received hypolipidemic drugs and thus had an uncertain FRS. However, their CIMT values did not differ from those of treatment-naive subjects, and a lower FRS because of prior treatment would not detract from the main findings.

There is a well-known overlap between cholesterol levels in patients with and without CHD (20). Most of our study subjects had hypercholesterolemia that was severe enough as to be considered a major risk factor that on its own significantly enhances lifetime risk for cardiovascular diseases (21). Also, the FRS appears to particularly underestimate both CHD risk (4) and the severity of coronary atherosclerosis (22) in the young. Therefore, relatively young hyperlipidemic persons like those herein studied appear particularly suitable for refined risk assessment by vascular imaging tools.

Our results confirm and extend those of recent studies using carotid sonography in subjects in the intermediate-risk (14,15) and low-intermediate and high-risk (23) categories of the FRS. We also studied subjects in low-risk and high-risk subsets of FRS and found that, similarly to those in the intermediate-risk one, a sizeable proportion of them could be reclassified by measurements of CIMT and plaque burden (**Table 2**). As a group, those with a high FRS had a similar CIMT but lesser plaque burden compared to patients with prior CHD (**Figure 1**). CIMT and plaque are complementary measures of carotid atherosclerosis. While landmark studies (8-11) demonstrating the predictive value of carotid wall abnormalities used CIMT as the main variable, there are compelling evidences showing that carotid plaque burden is an even stronger predictor of vascular events than CIMT (12,13).

There are several possible reasons for the discordance between the FRS and carotid sonography. One explanation might be that the FRS does not account for the metabolic syndrome, which is strongly associated with carotid atherosclerosis in young and middle-aged populations (24). In spite of a small representation of the metabolic syndrome in our cohort, its presence explained part of the discrepancies between the FRS and atherosclerosis severity in the intermediate-risk group. Another reason could be the plethora of risk factors linked to development of cardiovascular diseases prospectively and not considered in the FRS. Particularly important among them are triglycerides, lipoprotein(a) and homocysteine (25). These factors had no explanatory value of the differences between FRS and CIMT in our study, but the statistical power of the associations was diluted by group subdivisions and by missing values for homocysteine. Genetic factors unaccounted for in the FRS charts are another likely motive for their inaccuracy to predict atherosclerosis (26).

Probably, the most important reason for the poor association between the FRS and carotid atherosclerosis is that the latter reflects the overall impact on the artery wall not only of all risk factors, both known and yet-to-be discovered, but also of all protective factors, either well recognized, such as the HDL cholesterol level, or still unknown. In this sense, each person has a unique risk for developing atherosclerosis, depending on his or her levels of risk factors in close interplay with both lifestyle and genetic predisposition.

Recently, Grundy (27) suggested replacing the age points in the FRS charts for percentiles of coronary plaque burden, as detected by electron-beam or spiral CT, as a means of refining CHD risk. We used this approach and calculated the vascular age for each subject from regression equations of CIMT against age in our reference population. However, when plotting vascular age instead of chronological age, the overall CHD risk score changed little in comparison with the change derived from CIMT and plaque percentiles (**Table 2**). This is probably due to the constraints of the FRS charts, whereby the points ascribed to age increase little beyond a certain age. On the other hand, estimated vascular age substantially differed from chronological age (**Table 3**). In fact, the recognition that atherosclerosis imaging techniques provide such a comprehensive risk assessment has prompted the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force to strongly recommend this approach for all asymptomatic adults irrespective of the FRS, except for those at very low or very high risk (28).

In our cohort there were few CHD events during follow-up under risk-reducing intervention. Nevertheless, all patients who developed CHD during follow-up had carotid atherosclerosis and only 1 of 6 was in the high-risk category, supporting the enhanced risk prediction of carotid sonography findings beyond the FRS. In a recent

prospective study of hyperlipidemic subjects, Baldassarre et al (23) also concluded that the inclusion of CIMT measurements in clinical practice enhanced the predictability of cardiovascular events in those at intermediate-risk.

In conclusion, the direct assessment of carotid atherosclerosis by sonography in hyperlipidemic subjects revealed wide discrepancies with the FRS. Close to 60% of subjects were misclassified by FRS after individual CIMT and plaque burden imaging, and 4 out of 5 showed more atherosclerosis than expected (vulnerable patients). All patients who developed CVD during follow-up belonged to this group, but most of them were not at high-risk by FRS. Estimated vascular age was older than chronological age in two-thirds of the overall study subjects. The information thus gathered may be a useful guide for both patient feedback and tailoring treatment to new goals. Other atherosclerotic imaging modalities can be used to similar purposes (29). Finally, the ascertainment of subjects at the ends of the spectrum of protection and aggravation of atherosclerosis provides an excellent material for genetic studies.

### **Acknowledgements**

This work was supported by grants from the Spanish Ministry of Health (RT/C03-01 and RT/G03-181) and Fundació Privada Catalana de Nutrició i Lípids, Barcelona, Spain. Mireia Junyent is supported by grant RT/C03-01. We sincerely thank Emili Corbella for expert statistical advice.

## REFERENCES

1. Beswick A, Brindle P. Risk scoring in the assessment of cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol*. 2006;17:375-386.
2. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation*. 2002;106:3143–3421.
3. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998;97:1837-1847.
4. Akosah KO, Schaper A, Cogbill C, Schoenfeld P. Preventing myocardial infarction in the young adult in the first place: how do the National Cholesterol Education Panel III Guidelines perform? *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1475–1479.
5. Smith SC Jr, Greenland P, Grundy SM. AHA Conference Proceedings. Prevention Conference V: Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patients for primary prevention: executive summary. *Circulation*. 2000;101:111-116.
6. Greenland P, Smith SC Jr, Grundy SM. Improving coronary heart disease risk assessment in asymptomatic people. The role of traditional risk factors and non-invasive cardiovascular tests. *Circulation*. 2001;104:1863-1867.
7. Riley WA. Cardiovascular risk assessment in individual patients from carotid intimal-medial thickness measurements. *Curr Atheroscler Rep*. 2004;6:225-231.
8. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997;96:1432–1437.
9. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, Clegg LX. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and

major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997;146:483-494.

10. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, Azen SP. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med*. 1998;128:262-269.

11. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults: Cardiovascular Health Study. *N Engl J Med*. 1999;340:14-22.

12. Spence DJ. Ultrasound measurement of carotid plaque as a surrogate outcome for coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2002;89(suppl):10B-6B.

13. Störk S, van den Beld AW, von Schacky C, Angermann CE, Lamberts SW, Grobbee DE, Bots ML. Carotid artery plaque burden, stiffness, and mortality risk in elderly men. A prospective, population-based cohort study. *Circulation*. 2004;110:344-348.

14. Stein JH, Fraizer MC, Aeschlimann SE, Nelson-Worel J, McBride PE, Douglas PS. Vascular age: integrating carotid intima-media thickness measurements with global coronary risk assessment. *Clin Cardiol*. 2004;27:388-392.

15. Bard RL, Kalsi H, Rubenfire M, Wakefield T, Fex B, Rajagopalan S, Brook RD. Effect of carotid atherosclerosis screening on risk stratification during primary cardiovascular disease prevention. *Am J Cardiol*. 2004;93:1030-1032.

16. Junyent M, Gilabert R, Núñez I, Corbella E, Vela M, Zambón D, Ros E. Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:770-774.

17. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499-502.
18. Junyent M, Cofán M, Núñez I, Gilabert R, Zambón D, Ros E. Influence of the HDL cholesterol level on preclinical carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:1107-1113.
19. Bertrand ME, Simoons ML, Fox KA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, De Feyter PJ, Specchia G, Ruzylo W; Task Force on the Management of Acute Coronary Syndromes of the European Society of Cardiology. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2002;23:1809-1840.
20. Kannel WB. Range of serum cholesterol values in the population developing coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1995;76:69C-77C.
21. Lloyd-Jones DM, Leip EP, Larson MG, D'Agostino RB, Beiser A, Wilson PW, Wolf PA, Levy D. Prediction of lifetime risk for cardiovascular disease by risk factor burden at 50 years of age. *Circulation.* 2006;113:791-798.
22. Nasir K, Michos ED, Blumenthal RS, Raggi P. Detection of high-risk young adults and women by coronary calcium and National Cholesterol Education Program Panel III guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:1931-1936.
23. Baldassarre D, Amato M, Pustina L, Castelnuovo S, Sanvito S, Gerosa L, Veglia F, Keidar S, Tremoli E, Sirtori C. Measurement of carotid artery intima-media thickness in dyslipidemic patients increases the power of traditional risk factors to predict atherosclerotic events. *Atherosclerosis.* 2006 (Epub ahead of print).

24. Tzou W, Douglas P, Srinivasan S, Bond MG, Tang R, Chen W, Berenson GS, Stein JH. Increased subclinical atherosclerosis in young adults with metabolic syndrome. The Bogalusa Heart Study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:457-463.
25. Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ESG, Kastelein JJP, Duriez P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation*. 2004;109(suppl III):III-15–III-9.
26. Fox CS, Polak JF, Chazaro I, Cupples A, Wolf PA, D'Agostino RA, O'Donnell CJ. Genetic and environmental contributions to atherosclerosis phenotypes in men and women. Heritability of carotid intima-media thickness in the Framingham Heart Study. *Stroke*. 2003;34:397-401.
27. Grundy SM. Coronary plaque as a replacement for age as a risk factor in global risk assessment. *Am J Cardiol*. 2001;88(suppl):8E-11E.
28. Naghavi M, Falk E, Hecht HS, Jamieson MJ, Kaul S, Berman D, Fayad Z, Budoff MJ, Rumberger J, Naqvi TZ, Shaw LJ, Faergeman O, Cohn J, Bahr R, Koenig W, Demirovic J, Arking D, Herrera VL, Badimon J, Goldstein JA, Rudy Y, Airaksinen J, Schwartz RS, Riley WA, Mendes RA, Douglas P, Shah PK. From vulnerable plaque to vulnerable patient—Part III: Executive summary of the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force report. *Am J Cardiol*. 2006;98:2-15.
29. Raggi P, Taylor A, Fayad Z, O'Leary D, Nissen D, Rader D, Shaw LJ. Atherosclerotic plaque imaging. Contemporary role in preventive cardiology. *Arch Intern Med*. 2005;165:2345-2353.



## FIGURE LEGENDS

**Figure 1.** Mean adjusted CIMT (top) and frequency of plaques (bottom) in the study groups. Error bars are SEM. Abbreviations: CTRL, control (reference) group (data from ref. 15); FRS, Framingham Risk Score followed by 10-yr risk for coronary heart disease; CHD, patients with prior coronary heart disease.

**Figure 2.** Scatterplots of 10-yr CHD risk from Framingham Risk Scores against CIMT. Symbols: green triangles, subjects with estimated vascular age less than chronological age; orange circles, vascular age above chronological age up to 10 yrs; red squares, vascular age >10 yrs above chronological age.

**Table 1.** Characteristics of Asymptomatic Hyperlipidemic Subjects by Framingham Risk Scores.

Variable	10-year CHD Risk		
	≤5%	6-20%	>20%
Number	191	176	42
Age, yrs	47±12	51±10	49±11
Men/women, n/n	62/129	140/36	40/2
Family history of CHD, n (%)	69 (36)	55 (31)	21 (50)
Ever smoked, n (%)	65 (34)	118 (67)	42 (100)
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	25.7±3.7	26.6±3.5	27.1±3.5
Waist circumference*, cm	90.6±13.0	98.6±9.9	99.2±8.1
Systolic blood pressure, mmHg	126±15	133±18	134±18
Diastolic blood pressure, mmHg	78±10	83±11	82±12
Hypertension, n (%)	34 (18)	50 (28)	10 (24)
Glucose, mg/dL	93±11	97±17	96±12
Total cholesterol, mg/dL	279±44	288±48	296±46
LDL cholesterol, mg/dL	189±41	193±44	208±51
HDL cholesterol, mg/dL	59±20	48±14	39±6
Triglycerides, mg/dL	131 (87-204)	184 (122-300)	245 (172-312)
Apolipoprotein B, mg/dL	145±30	159±32	172±34
Apolipoprotein AI, mg/dL	155±35	140±23	132±18
Lipoprotein(a), mg/dL	20 (7-47)	21 (7-44)	19 (6-44)
Leukocytes, cells/nl	6.2±1.6	6.9±1.9	7.9±2.5
Homocysteine†, μmol/L	9.1±2.9	10.6±5.5	10.5±3.2
Metabolic syndrome, n (%)	42 (22)	48 (27)	11 (26)
Mean CIMT, mm	0.62±0.14	0.69±0.15	0.71±0.19
Presence of plaques, n (%)	71 (37)	95 (54)	22 (52)
Maximum plaque height, mm	1.14±0.67	1.42±0.79	1.45±0.84
Plaque score, mm	3.11±2.09	4.38±3.43	4.63±2.72

All values are mean±SD [median and interquartile range for tryglicerides and lipoprotein(a)].

\*Available in 307 subjects.

†Measured in 253 subjects.

**Table 2.** Concordance between the Framingham Risk Scores and Percentiles of CIMT and Plaque Burden and Risk Categories Obtained by Replacing Vascular Age for Chronological Age as a Risk Factor.\*

Carotid IMT and Plaque Burden	10-yr CHD Risk		
	≤5%	6-20%	>20%
		n (%)	
Low (< 25 <sup>th</sup> percentile)	53 (28)	36 (20.5)	13 (31)
Intermediate (25 <sup>th</sup> – 75 <sup>th</sup> percentile)	47 (25)	38 (21.5)	9 (21)
High (>75 <sup>th</sup> percentile)	91 (48)	102 (58)	20 (48)
<b>10-yr CHD Risk from Vascular Age</b>			
≤5%	148 (77.5)	27 (15)	0 (0)
6-20%	41 (21.5)	137 (78)	12 (29)
>20%	2 (1)	12 (7)	30 (71)
Total number	191	176	42

\*CIMT and plaque percentiles and vascular age based on normative data from a reference population (16).

**Table 3.** Differences between Chronological Age and Estimated Vascular Age in the Study Population According to Framingham Risk Scores and Percentiles of CIMT and Plaque Burden.\*

Carotid IMT and Plaque Burden	10-yr CHD Risk		
	≤5%	6-20%	>20%
	Yrs, mean (95% CI)		
Low (< 25 <sup>th</sup> percentile)	-8.5 (-13.5 to -3.5)	-11.5 (-17.6 to -5.5)	-9.4 (-19.5 to 0.6)
Intermediate (25 <sup>th</sup> – 75 <sup>th</sup> percentile)	9.0 (3.8 to 14.3)	9.9 (4.0 to 15.8)	13.7 (1.6 to 25.7)
High (>75 <sup>th</sup> percentile)	20.8 (17.0 to 24.6)	29.8 (26.3 to 33.4)	53.3 (45.2 to 61.4)

\*Legend as in Table 2.

Figure 1

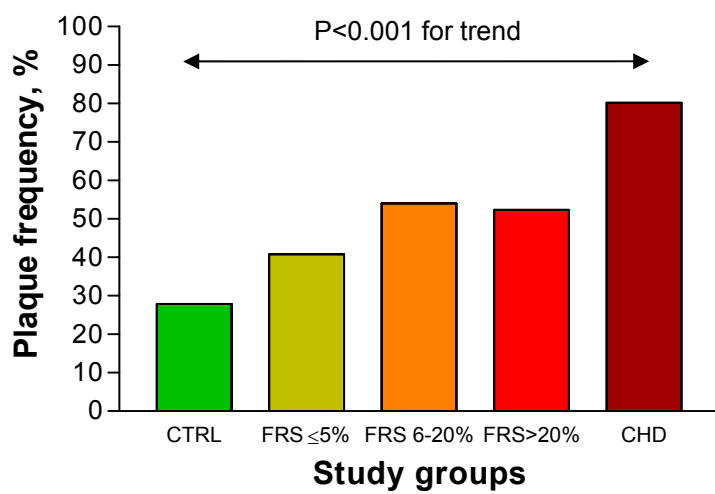
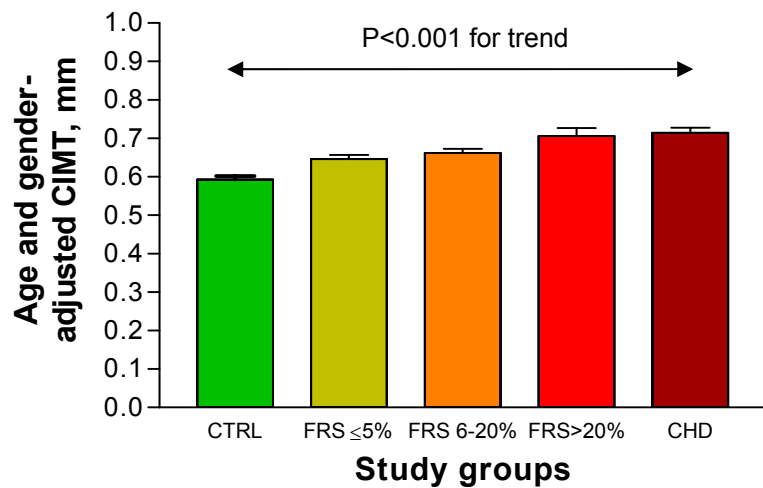
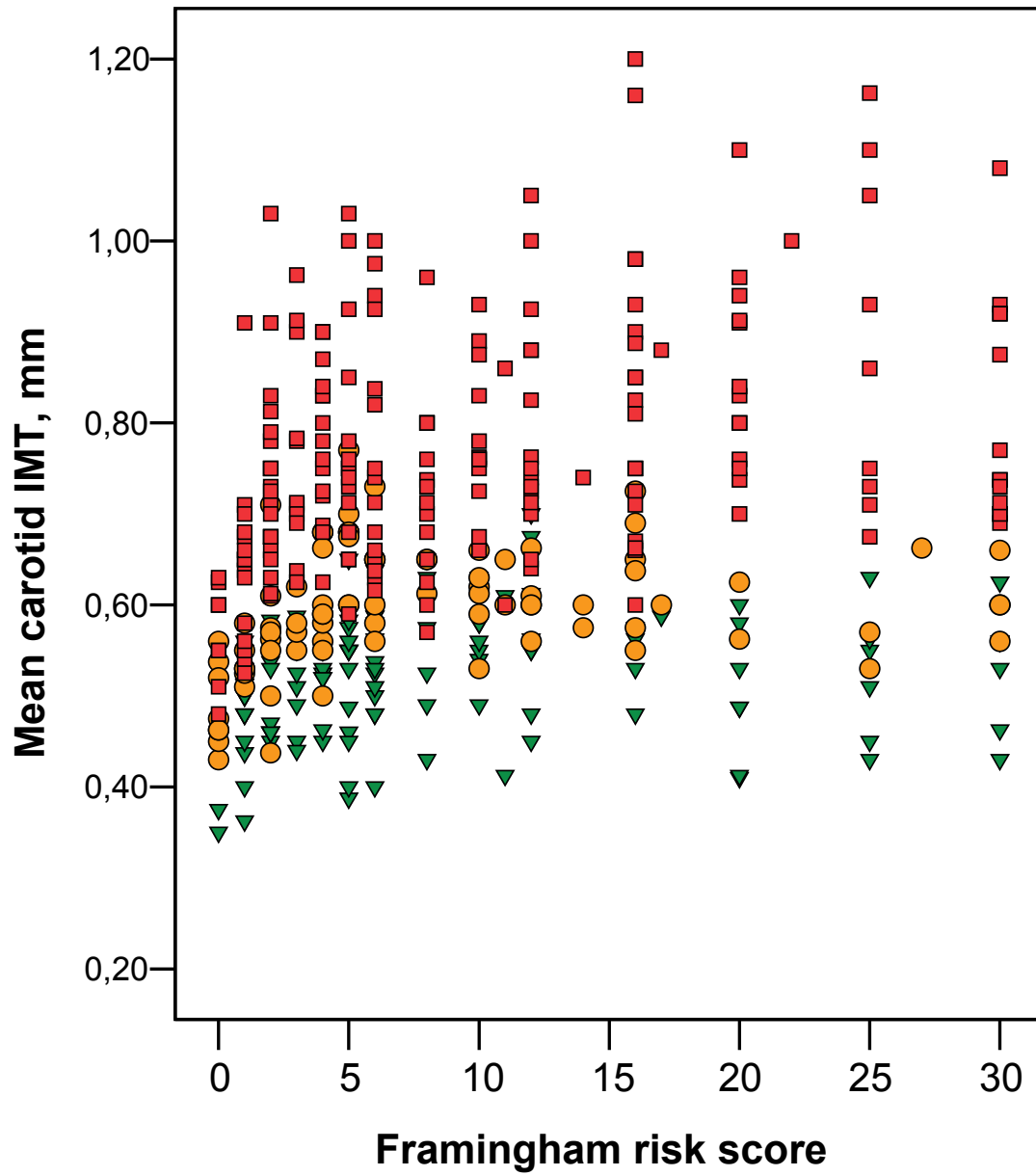


Figure 2



## **COMENTARIO (Estudio 2):**

En este estudio se comparan dos herramientas utilizadas en la predicción del riesgo cardiovascular, la ecuación de Framingham y la ecografía carotídea, en una muestra de 409 pacientes asintomáticos con dislipemia moderada evaluados de forma consecutiva en una Unidad de Lípidos.

Para el cálculo del riesgo cardiovascular se han utilizado varios sistemas de cálculo, siendo la ecuación de Framingham el más utilizado. A pesar de su amplia difusión, su utilidad ha sido ampliamente cuestionada, puesto que se ha descrito que hasta el 70% de los sujetos clasificados inicialmente como de bajo riesgo por la ecuación de Framingham han padecido una ECC. Dado el bajo valor predictivo individual de estos sistemas de ecuaciones, la ecografía carotídea puede ser de gran utilidad en la reestratificación del riesgo de un individuo dado para poder decidir la estrategia terapéutica a seguir en función de los resultados obtenidos.

Según la AHA, la detección de la aterosclerosis preclínica mediante la determinación del GIM tendría su máxima utilidad en la reestratificación de los individuos de riesgo intermedio (puntuación de la ecuación de Framingham entre 6 y 20%) (33), dado que son el grupo de población mayoritario (40% en cohortes poblacionales EEUU) (38). Tan sólo 2 estudios previos (39,40) han evaluado el efecto del GIM en la reestratificación del riesgo en dos muestras pequeñas de sujetos con riesgo inicial intermedio. Ambos autores concluyeron que el GIM ayudaba a la estratificación del riesgo en un porcentaje importante de sujetos, clasificando de alto riesgo al 36% y 35% de los sujetos y de bajo riesgo al 14% y 28%, respectivamente. Nuestros resultados confirman que la ecografía carotídea ayuda a reclasificar en más del 70% de los pacientes con

riesgo inicial intermedio a bajo riesgo (21%) y alto riesgo (58%), respectivamente. Sin embargo, hasta ahora ningún estudio ha evaluado cómo la determinación del GIM reclasifica a los sujetos considerados inicialmente como de bajo y alto riesgo por la ecuación de Framingham.

En contra de los resultados esperados, la mitad de los sujetos clasificados inicialmente como de bajo riesgo por la ecuación de Framingham fueron considerados de alto riesgo tras la evaluación ecográfica y, por lo tanto, tributarios de un tratamiento farmacológico enérgico (pacientes con aterosclerosis inexplicada o vulnerables). En cambio, más de un tercio de los sujetos clasificados inicialmente de alto riesgo por la ecuación de Framingham se consideraron de bajo riesgo tras la práctica ecográfica, no siendo tributarios de medidas farmacológicas agresivas (pacientes protegidos frente a la aterosclerosis). El resto de sujetos con concordancia entre ambos índices de evaluación del riesgo se consideraron pacientes con aterosclerosis explicada.

También analizamos si los factores de riesgo emergentes, como la homocisteína, la apo B y la lipoproteína(a), o factores de riesgo no considerados en la ecuación original de Framingham, como la circunferencia de cintura, el índice de masa corporal, los triglicéridos, la presencia de síndrome metabólico o el recuento de leucocitos (marcador de inflamación) explicaban las discrepancias entre ambos índices. Encontramos que tan sólo el tabaco y la presencia de síndrome metabólico explicaron parte de las discordancias detectadas en el grupo de pacientes de riesgo intermedio. Estas discrepancias también podían ser debidas a otros factores distintos a los analizados, como la carga genética de cada sujeto, el estilo de vida (dieta y ejercicio físico) o bien a la existencia de marcadores todavía por identificar.



Se analizó la validez interna del estudio, comparando los valores del GIM de los 409 sujetos dislipémicos estudiados con los de 131 pacientes con ECC previa y 250 controles. La pared arterial del grupo con ECC previa estaba más engrosada que la del grupo dislipémico, mientras que en el grupo control se obtuvieron unos valores de GIM inferiores al resto de grupos analizados.

Se calculó la edad vascular estimada de cada individuo a partir de la de las ecuaciones de regresión del GIM carotídeo en función de la edad y del sexo obtenidas en nuestra población de referencia. En promedio, la edad vascular fue 15 años mayor que la edad cronológica. Cuando la edad vascular se sustituyó por la edad cronológica y se calculó de nuevo la puntuación de riesgo de Framingham, las arterias de los sujetos con valores bajos de GIM eran 10 años más jóvenes que las arterias de los sujetos con valores intermedios o altos de GIM.

En el seguimiento posterior de los sujetos analizados previamente, 6 hombres sufrieron un evento coronario (4 infartos agudos de miocardio y 2 anginas). Todos ellos tenían una ecografía carotídea alterada (valores de GIM carotídeo superiores al percentil 75 y 5 de ellos con placas) mientras que tan sólo 1 de ellos fue clasificado previamente como de alto riesgo mediante la ecuación de Framingham. Asimismo, si comparamos los varones con un  $FRS < 20\%$  en función de sus hallazgos ecográficos, los que tenían aterosclerosis carotídea tenían más riesgo de padecer un evento que los que tenían una ecografía normal (OR 1,7; IC 95%, 1,01-1,14). Estos resultados apoyan la práctica de la ecografía carotídea para el refinamiento del riesgo cardiovascular de nuestros pacientes más allá de la puntuación obtenida mediante la ecuación de Framingham tradicional.

En resumen, nuestro trabajo demuestra que la ecografía carotídea mediante la determinación del GIM y la presencia de placas ayuda a la reestratificación del riesgo cardiovascular más allá de los factores de riesgo tradicionales. Tanto la valoración de la aterosclerosis preclínica mediante la ecografía carotídea como el concepto de edad vascular son útiles para el refinamiento de la estratificación del riesgo de cara al pronóstico e intensidad del tratamiento. Por ejemplo, mostrarle a un varón de 45 años las imágenes de placas carotídeas avanzadas y explicarle que tras la valoración ecográfica le corresponde una edad vascular de 60 años pueden ser herramientas muy útiles para asegurar un buen cumplimiento dietético y farmacológico o, en su caso, conseguir que deje de fumar, siempre con la certeza de que estas alteraciones son parcialmente reversibles si se controlan adecuadamente los factores de riesgo.

**7.3. Estudio 3. The influence of HDL cholesterol on preclinical carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26:1107-1113.**

# Influence of HDL Cholesterol on Preclinical Carotid Atherosclerosis in Familial Hypercholesterolemia

Mireia Junyent, Montserrat Cofán, Isabel Núñez, Rosa Gilabert, Daniel Zambón, Emilio Ros

**Objective**—The effect of risk factors on carotid atherosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolemia (FH) is unclear. We evaluated carotid intima-media thickness (IMT) by sonography in relation to classical and emergent risk factors in a large FH cohort.

**Methods and Results**—Risk factors and carotid IMT were assessed in 196 asymptomatic subjects aged  $\geq 25$  years fulfilling strict diagnostic criteria for clinical FH who were either undertreated or treatment-naive. Conventional risk factors, but not lipoprotein(a), homocysteine, or apolipoprotein E (apoE) genotypes were univariately related to IMT. Age-adjusted and gender-adjusted IMT increased with increasing low-density lipoprotein (LDL) cholesterol and decreased with increasing high-density lipoprotein (HDL) cholesterol. Compared with a total cholesterol/HDL ratio  $>5.0$ , a ratio  $\leq 5.0$  was associated with a lower adjusted IMT, with a mean difference of  $-0.09$  mm (95% confidence interval,  $-0.13$  to  $-0.04$ ). By multivariate analysis, age, HDL cholesterol (negatively), physical exercise, family history of early-onset coronary heart disease, LDL cholesterol, and leukocyte count, in this order, were independent associations of IMT ( $r^2=0.429$ ,  $P<0.001$ ).

**Conclusions**—Traditional risk factors account for a sizeable proportion of variation in carotid IMT in FH. Because the HDL cholesterol level and the total cholesterol/HDL ratio are strong predictors of preclinical carotid atherosclerosis, HDL cholesterol-raising strategies should have an important therapeutic role in FH. (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:1107-1113.)

**Key Words:** atherosclerosis ■ carotid intima-media thickness ■ cardiovascular risk factors ■ cholesterol ■ familial hypercholesterolemia ■ lipoprotein

Familial hypercholesterolemia (FH) is a common inherited disorder of lipid metabolism that is usually caused by defects in the low-density lipoprotein (LDL) receptor (LDLR) gene. FH is characterized by lifelong elevation of LDL cholesterol levels, tendon xanthomas, and early-onset coronary heart disease (CHD).<sup>1</sup> Despite its strong genetic background, FH shows a great variability in phenotypic expression in terms of the lipid profile, frequency of xanthomas, and onset and severity of CHD.<sup>1-3</sup> Specific *LDLR* mutations with a differential effect on residual receptor function affect both the lipid phenotype and CHD risk.<sup>2,3</sup> However, phenotypic variation also occurs in families or populations sharing the same *LDLR* defect,<sup>4-6</sup> suggesting the influence of additional genetic and/or environmental factors. Conventional cardiovascular risk factors are associated with an increased risk for CHD in FH subjects.<sup>3</sup> Thus, a recent report from a large retrospective cohort of 2400 individuals with FH showed male gender, smoking, hypertension, diabetes, low high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, and elevated lipoprotein(a) to be independent risk factors for cardiovascular disease, although they explained only 18.7% of the variation in its occurrence.<sup>7</sup>

Carotid intima-media thickness (IMT) is a recognized intermediate marker for cardiovascular risk that has also been

examined in FH. Previous studies showed that FH subjects have higher IMT than both age-matched and sex-matched normolipidemic<sup>8,9</sup> and hypercholesterolemic<sup>10,11</sup> controls. In FH, carotid IMT has been found to be associated with family history of early-onset CHD,<sup>10</sup> presence of CHD,<sup>12,13</sup> gender,<sup>9</sup> lipoprotein levels,<sup>9,10,12</sup> the type of *LDLR* defect,<sup>11,14</sup> and mutations in other genes.<sup>15</sup> However, most of these studies included selected Lipid Clinic patients receiving hypolipidemic treatment, which may variably influence IMT in FH.<sup>16</sup> This might explain why age-adjusted carotid IMT was not associated with CHD in a large cohort of the Utah MEDPED program,<sup>17</sup> in which a larger proportion of patients with than of those without CHD were using lipid-lowering drugs. Therefore, we evaluated with carotid sonography at the time of referral to our Lipid Clinic a large sample of well-phenotyped asymptomatic subjects with clinical FH who were either undertreated or treatment-naive.

## Methods

### Subjects

From March 1998 to April 2005, we assessed 196 consecutive asymptomatic adults (aged  $\geq 25$  years) with a clinical diagnosis of FH. They were referred by primary care physicians for diagnosis of

Original received November 11, 2005; final version accepted March 9, 2006.

From Unitat de Lípids, Servei d'Endocrinologia i Nutrició (M.J., M.C., D.Z., E.R.) and Secció d'Ecografia, Centre de Diagnòstic per l'Imatge (I.N., R.G.), Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Hospital Clínic, Barcelona, Spain.

Correspondence to Emilio Ros, Unitat de Lípids, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. E-mail eros@clinic.ub.es

© 2006 American Heart Association, Inc.

*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* is available at <http://www.atvbaha.org>

DOI: 10.1161/01.ATV.0000218507.95149.42

severe hypercholesterolemia or because of alleged refractoriness to treatment. Within 2 to 6 weeks of the first visit, subjects underwent sonographic assessment of preclinical carotid atherosclerosis according to a protocol approved by the local review board and provided informed consent. For the diagnosis of FH, we used Dutch Lipid Clinic Network criteria,<sup>18</sup> which are based on LDL cholesterol levels above the age-specific and gender-specific 95th percentiles of a Spanish reference population,<sup>19</sup> vertical transmission of hypercholesterolemia, early-onset CHD in the index case and/or first-degree relatives, and presence of tendon xanthomas. Each of these variables is scored, and an overall score is constructed to indicate the diagnostic probability of FH (possible 3 to 5, probable 6 to 7, and certain  $\geq 8$ ). Individuals with a FH score  $\geq 6$  were considered for study.

Subjects with clinical FH are recruited into the Spanish FH Register<sup>20</sup> and submitted to DNA testing for identification of *LDLR* mutations and the apoB R3500G mutation following a standard protocol.<sup>20,21</sup> Molecular screening is still in process and to date 42 different *LDLR* mutations have been identified in 72 of 110 subjects evaluated. Three additional subjects carried the R3500Q mutation in the APOB gene. No *LDLR* or *APOB* defects were found in 35 subjects.

### Clinical and Laboratory Characteristics

All subjects were assessed for family history of early CHD (before 55 years in men and 60 years in women), clinical history, medication use, demographic characteristics, physical activity, standard cardiovascular risk factors, and presence of tendon xanthomas. We evaluated leisure-time physical activity by questioning about the average daily time spent walking and the average weekly time spent in athletic and sporting events. Subjects were considered physically active when walking  $\geq 1$  hour daily and/or participating in sporting activities  $\geq 3$  hour per week. Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by the square of height in meters. Blood pressure was measured with a random-zero mercury sphygmomanometer. We used the mean of 2 measurements of systolic and diastolic blood pressure while subjects were sitting after resting for 5 and 10 minutes. To obtain a baseline lipid profile, fasting blood was drawn after at least 4 weeks without hypolipidemic drug treatment. Cholesterol and triglycerides were determined by standard enzymatic methods. We calculated the cholesterol-years score, an estimation of lifetime exposure to hypercholesterolemia, as the sum of average on-treatment and off-treatment cholesterol levels for the lifetime of each subject.<sup>22</sup> HDL cholesterol was measured by a precipitation method. LDL cholesterol was estimated with the Friedewald equation. Apolipoproteins (apo) AI and B and lipoprotein(a) were determined by using immunoturbidimetry (Unimate 3; Roche, Basel, Switzerland). Leukocytes were counted with standard automated cell counters. Plasma total homocysteine was measured by a chemiluminescent assay on an ADVIA Centaur automated system (Bayer Advia 1650, Tarrytown, NY). Apolipoprotein (apoE) genotyping was performed by using the method of Wenham et al.<sup>23</sup>

### Carotid Ultrasonography

B-mode ultrasound imaging of the right and left carotid arteries was performed using SSA 140 A Powervision and Applio instruments (Toshiba, Nasu, Japan) equipped with 7- to 10-MHz broadband linear array transducers. Patients were examined in the supine position with the head turned 45° contralateral to the side of scanning. Before obtaining images for IMT measurements, B-mode and color Doppler sonographic examinations were done in longitudinal and transverse planes to identify vascular stenoses. A standardized imaging protocol was used for the IMT measurements. With the carotid dilatation and flow dividers as anatomic landmarks, the sonographer obtained high-resolution images of the common carotid (1 cm proximal to the bifurcation), the bifurcation (between dilatation and flow divider), and the internal carotid (1 cm distal to the flow divider). A single lateral angle of insonation, optimizing the image for the arterial far wall, was used. The primary variable was mean common carotid IMT (mean CC-IMT), defined as the average of 4 to 8 distances between the far wall lumen-intima and media-

adventitia ultrasound interfaces taken bilaterally. Secondary variables were maximum CC-IMT, defined as the maximum distance in any of the specified segments of right and left common carotids, and maximum carotid IMT, defined as the maximum distance in any of the three available carotid segments of each side. When plaques were present, maximum carotid IMT equaled the highest plaque height. Two experienced sonographers (I.N. and R.G.) performed all examinations and IMTs were measured online. Interobserver variability was examined in 15 subjects. The CVs of paired readings of mean CC-IMT, maximum CC-IMT, and maximum carotid IMT were 5.3%, 6.8%, and 8.2%, respectively.

### Statistical Analyses

Data are presented as means  $\pm$  SD for continuous variables (medians and interquartile ranges for variables without a normal distribution) and as frequencies or percentages for categorical variables. Differences in mean values were assessed by using analysis of variance and *t* tests or the Mann Whitney *U* test, as appropriate. Categorical variables were compared by using the chi-square test. Pearson correlation coefficients were constructed to test for relationships between continuous variables. Because predictably CIMT was strongly related to age and showed gender differences, age-adjusted and gender-adjusted CIMT values were used when examining associations with other variables. We categorized subjects by tertiles of lipid variables and used ANOVA statistics to calculate tests for trend for CIMT. We used stepwise multiple regression analyses to test the influence of various cofactors on CIMT. Two-sided  $P < 0.05$  was considered statistically significant. SPSS software (version 11.0) was used.

## Results

### Clinical Features and Lipid Profiles

Table 1 shows the clinical characteristics of the study population; 110 (56%) subjects were treatment-naïve and 86 (44%) subjects had been treated previously with lipid-lowering drugs (66 statins, 7 fibrates, 3 resins, and 10 combined resins and statins) for a median period of 24 months (range, 6 to 252). Those treated with statins had received an average daily dose with potency equivalent to 24 mg simvastatin (range, 10 to 40 mg). Such small doses of statins (for FH) indicated ineffective cholesterol-lowering treatment rather than refractoriness to it. Thirteen of 18 subjects with a diagnosis of hypertension were treated with antihypertensive drugs. Hypertension (blood pressure  $\geq 140/90$  mm Hg) was newly diagnosed in 5 additional subjects. Mild diabetes (glycosylated hemoglobin  $\leq 6.5\%$ ) was present in 3 subjects, none of whom received hypoglycemic agents. Dutch FH criteria scores were similar in 75 subjects with an identified molecular defect ( $12.3 \pm 4.9$ ), 35 subjects without *LDLR* or *APOB* mutations ( $11.3 \pm 3.6$ ), and 86 subjects still pending DNA diagnosis ( $11.7 \pm 3.9$ ). Women predominated in this cohort, were older than men, and had a higher cholesterol-years score, but smoked less. The HDL cholesterol, apoAI, and lipoprotein(a) concentrations were higher and the cholesterol/HDL ratio was lower in women than men.

The overall distribution of apoE genotypes was: E2/E3 (E2) 6.1%, E3/E3 (E3) 74.0%, E4/E3 18.4%, E4/E4 0.5%, and E2/E4 1.0%, with no sex differences. To test associations with other covariates, E4/E3 and E4/E4 genotypes were grouped together (E4), whereas E2/E4 genotypes were excluded.

### Associations of Carotid IMT

Individuals with a family history of early-onset CHD had nonsignificantly higher adjusted IMT values than those with-

**TABLE 1. Clinical Characteristics, Biochemical and Lipid Profiles, and Carotid IMT in 196 Asymptomatic Subjects With Familial Hypercholesterolemia**

Variable	Men (n=89)	Women (n=107)	Total (n=196)
Age, years (range)†	42 (25–70)	51 (25–76)	47 (25–76)
Previous hypolipidemic drug treatment, n (%)	40 (45)	46 (43)	86 (44)
Family history of CHD, n (%)	48 (54)	64 (60)	112 (57)
Ever smoked, n (%)†	32 (36)	20 (19)	52 (27)
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	25.8±3.1	25.6±4.4	25.7±3.8
Physical exercise, n (%)	39 (44)	40 (37)	79 (40)
Tendon xanthomas, n (%)	29 (33)	36 (34)	65 (33)
Dutch Clinic Network criteria score	12.1±4.8	11.9±4.6	12.0±4.7
Hypertension, n (%)	5 (5.6)	18 (16.8)	23 (11.7)
Systolic blood pressure	126±13	127±18	126±16
Diastolic blood pressure	78±8	77±11	77±10
Diabetes mellitus, n (%)	0	3 (2.8)	3 (1.5)
Glucose, mg/dL	94±10	91±12	92±12
Total cholesterol, mg/dL	355±70	372±73	364±72
Cholesterol years score, years×mg/dL†	14 408±4758	17 900±6282	16 278±5878
LDL cholesterol, mg/dL	277±68	283±72	281±70
HDL cholesterol, mg/dL†	51±11	62±14	57±14
Total cholesterol/HDL ratio*	7.3±2.2	6.4±2.4	6.8±2.4
Triglycerides, mg/dL	118 (102–162)	109 (77–143)	114 (87–154)
Apolipoprotein B, g/L	1.94±0.45	1.88±0.51	1.90±0.48
Apolipoprotein AI, g/L†	1.40±0.24	1.61±0.29	1.51±0.29
Lipoprotein(a), g/L*	0.25 (0.10–0.48)	0.35 (0.10–0.65)	0.31 (0.10–0.55)
Leukocyte count, cells/nL	6.6±1.8	6.2±1.6	6.4±1.7
Homocysteine, μmol/L	9.6±3.1	8.4±3.1	8.9±3.1
Mean common carotid IMT, mm	0.63±0.16	0.66±0.17	0.64±0.17
Maximum common carotid IMT, mm	0.77±0.23	0.80±0.25	0.79±0.24
Maximum carotid IMT, mm	1.36±0.89	1.33±0.74	1.34±0.81

Values are mean±SD except for triglycerides and lipoprotein(a) (medians and interquartile ranges).

CHD indicates coronary heart disease.

\* $P<0.05$ , † $P<0.001$  between genders by unpaired  $t$  test.

out (data not shown). Adjusted mean CC-IMT was  $0.66\pm 0.18$  mm in subjects who had received hypolipidemic drugs and  $0.64\pm 0.10$  mm in those who were treatment-naive ( $P>0.1$ ). Paradoxically, physically active subjects showed greater adjusted mean CC-IMT than sedentary ones ( $0.67\pm 0.17$  mm versus  $0.63\pm 0.11$  mm, respectively;  $P=0.019$ ). IMT was similar in subjects with and without genetic defects identified and in those still pending molecular diagnosis (data not shown).

Table 2 shows that the 3 IMT measures correlated strongly with age. As expected, the cholesterol-years score was also associated with IMT. Unadjusted IMT values were similar across genders, but women were older (Table 1). When using age-adjusted IMT, values were nonsignificantly higher in men for both mean and maximum CC-IMT ( $P<0.14$ ) and significantly higher for maximum carotid IMT ( $P<0.001$ ). Consequently, age-adjusted and gender-adjusted IMT was used to assess relationships with other covariates. Smokers tended to have all IMT measures higher than nonsmokers ( $P<0.1$ ). The presence or absence of xanthoma did not influence IMT.

As shown in Table 2, most unadjusted IMT values correlated directly and significantly with conventional lipid and non-lipid risk factors. For some variables, the direct correlations were attenuated or no longer significant after IMT was corrected for age and gender. However, using adjusted IMT strengthened the correlations of HDL cholesterol, total cholesterol/HDL ratios, and leukocyte counts. Lipoprotein(a), homocysteine, or apoE genotypes were unrelated to IMT.

Because cholesterol fractions and systolic blood pressure showed the strongest correlations with adjusted IMT values (Table 2), we further explored these associations by plotting IMT measures against tertiles of these covariates. Age-adjusted and gender-adjusted mean and maximum CC-IMT, but not maximum carotid IMT, increased with increasing LDL cholesterol levels (Figure 1), whereas all measures of adjusted IMT decreased with increasing HDL cholesterol (Figure 2). Adjusted IMT values also increased with increasing systolic blood pressure ( $P<0.02$  for all).

We categorized FH subjects by total cholesterol/HDL ratios above or below 5.0, a risk function commonly used in clinical practice for improved CHD prediction.<sup>24</sup> Compared

**TABLE 2. Correlation Coefficients Between Cardiovascular Risk Factors and IMT (Unadjusted and Adjusted for Age and Gender)**

	Mean Common Carotid IMT		Maximum Common Carotid IMT		Maximum Carotid IMT	
	Unadjusted	Adjusted	Unadjusted	Adjusted	Unadjusted	Adjusted
Age	0.544‡		0.471‡		0.484‡	
Body mass index	0.232†	0.092	0.206*	0.079	0.185†	0.034
Systolic blood pressure	0.390‡	0.208†	0.370‡	0.209†	0.355‡	0.170*
Diastolic blood pressure	0.254‡	0.083	0.241*	0.089	0.305‡	0.141†
Glucose	0.307‡	0.156*	0.208†	0.061	0.023	0.013
Total cholesterol	0.274‡	0.199†	0.283‡	0.219†	0.137	0.052
Cholesterol-years score	0.471‡	0.111	0.417‡	0.108	0.342‡	0.037
LDL cholesterol	0.278‡	0.224†	0.298‡	0.250‡	0.142*	0.068
HDL cholesterol	-0.117	-0.268‡	-0.101	-0.214†	-0.067	-0.138
Total cholesterol/HDL ratio	0.241*	0.309‡	0.252‡	0.301‡	0.135	0.149*
Ln triglycerides	0.259‡	0.156*	0.217†	0.116	0.145*	0.002
Apolipoprotein B	0.273‡	0.212†	0.256‡	0.196†	0.227†	0.151*
Apolipoprotein AI	-0.059	-0.116	-0.048	-0.095	-0.124	-0.030
Ln lipoprotein(a)	0.042	0.030	0.028	0.046	0.057	0.022
Leukocyte count	0.190*	0.217†	0.137	0.146*	0.037	0.019
Homocysteine	0.055	0.018	0.011	-0.057	0.123	0.078

\* $P < 0.05$ ; † $P < 0.01$ ; ‡ $P < 0.001$ .

with a total cholesterol/HDL ratio  $>5.0$ , a ratio  $\leq 5.0$  was associated with lower mean and maximum adjusted CC-IMT (Figure 3). The between-group differences for mean CC-IMT and maximum CC-IMT were  $-0.09$  mm (95% confidence interval [CI],  $-0.13$  to  $-0.04$ ) and  $-0.10$  mm (CI,  $-0.18$  to  $-0.03$ ), respectively.

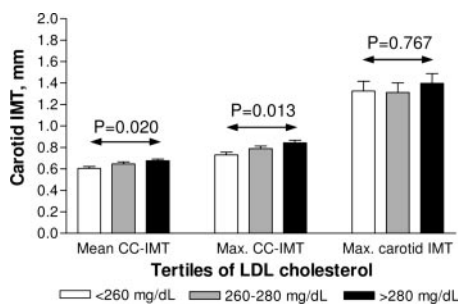
**Predictors of IMT by Multivariate Analyses**

After adjustment for the categorical variables listed in Table 1 and the risk factors listed in Table 2, independent associations of mean CC-IMT by stepwise multiple regression analysis were age, HDL cholesterol, physical exercise, family history of early-onset CHD, LDL cholesterol, and the leukocyte count, in this order (Table 3). Entering the cholesterol/HDL ratio into the regression analysis replaced HDL and LDL cholesterol in the model and showed a higher association than either cholesterol fractions ( $B=0.0165$ ,  $P < 0.001$ ), but added no more overall information (adjusted  $r^2=0.416$ ). When maximum CC-IMT was the dependent variable, the same factors entered the equation except for familial CHD

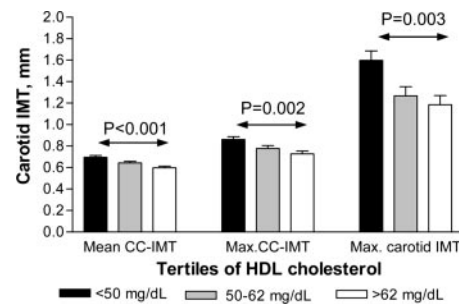
and leukocytes. Finally, age, gender, and systolic blood pressure were the sole independent associations of maximum carotid IMT.

**Discussion**

Carotid IMT is an accepted surrogate measure of CHD risk. No prospective studies of CHD incidence in relation to carotid atherosclerosis have been performed in FH. However, carotid IMT has been related to the presence of CHD in 2 cross-sectional studies of FH patients.<sup>12,13</sup> The present study showed that age, family history of early-onset CHD, physical exercise, LDL and HDL cholesterol, and the leukocyte count were independent associations of mean CC-IMT, a measure of early carotid atherosclerosis, together explaining  $\approx 43\%$  of its variability in asymptomatic subjects with clinical FH. The robustness of the associations of lipid fractions with IMT increased in the order of total cholesterol/HDL ratio  $>$  HDL cholesterol (negative)  $>$  LDL cholesterol. Advanced carotid atherosclerosis, as assessed by maximum carotid IMT, was associated with age, gender, and systolic blood pressure.

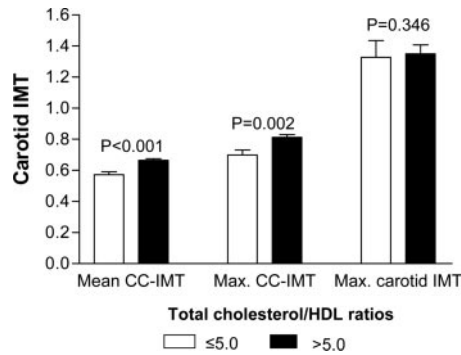


**Figure 1.** Age-adjusted and gender-adjusted carotid IMT by tertiles of LDL cholesterol. Error bars represent SEM.



**Figure 2.** Age-adjusted and gender-adjusted carotid IMT by tertiles of HDL cholesterol. Error bars represent SEM.





**Figure 3.** Age-adjusted and gender-adjusted carotid IMT according to total cholesterol/HDL ratios. Error bars represent SEM.

This study has the strengths of a cross-sectional design in a large series of FH subjects defined by strict clinical criteria and not receiving effective cholesterol-lowering treatment that could have influenced IMT. A molecular diagnosis was available in only a subset of subjects, but this had no effect on the clinical phenotype. In this sense, this cohort is representative of asymptomatic persons with FH as they present to a Lipid Clinic, but not of those still undiagnosed within the general population.

The strong association between age and IMT is not surprising because age is a critical predictor of both CHD risk<sup>1,3,4,17,25</sup> and carotid atherosclerosis<sup>8,10,12,13</sup> in FH as well as in non-FH populations. Gender and smoking were not independent risk factors for early carotid atherosclerosis in our study. The fact that only asymptomatic subjects were studied probably excluded many men with increased IMT, because men with FH characteristically develop CHD earlier than women.<sup>1,3</sup> Nevertheless, female gender was a protective factor for advanced carotid atherosclerosis, as assessed by maximum carotid IMT. There were few smokers in this cohort,

thus reducing statistical power. Smoking has been associated with increased CHD risk to a varying degree in FH.<sup>3,7,17</sup>

As shown by other authors,<sup>10</sup> family history of early-onset CHD was an independent association of IMT in our FH cohort. These findings support the heritability of ultrasound-determined carotid phenotypes.<sup>26</sup> Physical exercise was also independently associated with IMT. Given the recognized benefits of physical activity for cardiovascular risk, this observation seems counterintuitive and could be ascribed to unrecognized confounding factors. However, other workers reported similar findings in non-FH subjects and tentatively explained them as a consequence of intermittent exposure to increased systemic arterial pressures during exercise, resulting in periodic elevations in carotid wall tensile stress.<sup>27,28</sup>

An important finding was that HDL cholesterol had a stronger inverse association with IMT than LDL cholesterol a direct one (Figures 1 and 2). The model in Table 3 predicts that mean CC-IMT is  $\approx 0.03$  mm thinner for each 10-mg/dL increase in HDL cholesterol and  $\approx 0.01$  mm thicker for each 10-mg/dL increase in LDL cholesterol. When evaluated in relation to carotid IMT in smaller series of FH subjects, HDL cholesterol was either unrelated<sup>8</sup> or inversely related at univariate, but not multivariate analyses.<sup>9,10,12</sup> However, elevated HDL cholesterol was negatively associated with CHD risk in cross-sectional studies of large FH cohorts<sup>4,7,25</sup> and in a recent case-control study in molecularly defined patients.<sup>29</sup> Recently, conclusive evidence of the protective effect of raised HDL cholesterol levels against carotid atherosclerosis progression has been provided.<sup>30,31</sup> These findings are in line with the known antiatherogenic properties of HDL particles, which not only promote reverse cholesterol transport but also have anti-inflammatory properties and the ability to protect LDL against oxidation.<sup>32</sup>

In this FH cohort, HDL cholesterol levels were not reduced, because they were comparable with those of a Spanish

**TABLE 3. Independent Determinants of IMT by Stepwise Multiple Regression Analysis**

Dependent Variable	Independent Variables	B	SE (B)	$\beta$	P	Adjusted R <sup>2</sup>
Mean common carotid IMT	Constant	0.2333	0.089		0.010	0.429
	Age, years	0.0078	0.001	0.576	<0.001	
	HDL cholesterol, mg/dL	-0.0028	0.001	-0.229	0.002	
	Physical activity	0.0557	0.023	0.167	0.017	
	Family history of CHD	0.0566	0.023	0.171	0.014	
	LDL cholesterol, mg/dL	0.0009	0.001	0.173	0.014	
	Leukocytes, cells/nL	0.0177	0.001	0.152	0.029	
Maximum common carotid IMT	Constant	0.3071	0.116		0.009	0.319
	Age, years	0.0102	0.002	0.507	0.001	
	LDL cholesterol, mg/dL	0.0013	0.001	0.194	0.012	
	HDL cholesterol, mg/dL	-0.0041	0.001	-0.212	0.007	
	Physical activity	0.0937	0.037	0.188	0.014	
Maximum carotid IMT	Constant	-0.7081	0.509		0.167	0.281
	Age, years	0.0322	0.006	0.487	0.001	
	Gender (female)	-0.3086	0.127	-0.190	0.016	
	Systolic blood pressure, mm Hg	0.0072	0.004	0.160	0.046	

Variables entered into the models were: age, gender, previous cholesterol-lowering treatment, family history of early-onset CHD, smoking habit, physical activity, BMI, tendon xanthomas, cholesterol-years score, systolic and diastolic blood pressure, glucose, Ln triglycerides, LDL cholesterol, HDL cholesterol, apolipoprotein B, apolipoprotein AI, Ln lipoprotein(a), apoE4 genotype, leukocyte count, and homocysteine.



reference population<sup>19</sup> and also with those of Spanish community individuals who had lipid analyses performed in our laboratory and lived in the same geographic area.<sup>33</sup> Except for the effect of specific *LDLR* defects,<sup>2,3</sup> in genetically heterogeneous FH subjects like those herein described HDL cholesterol levels are probably modulated by genetic and environmental factors similar to those influencing HDL cholesterol in the general population. A plasma factor that plays an important role in determining the HDL cholesterol level is the activity of cholesteryl ester transfer protein (CETP). Low CETP activity was associated with raised HDL cholesterol levels and reduced carotid IMT progression after 2 years of statin therapy in a Dutch FH cohort.<sup>34</sup> This suggests that pharmacological CETP inhibition could impart an especial benefit in FH.

Interestingly, the leukocyte count, a nonspecific measure of inflammation, was an independent association of IMT in our study. This variable has been described in few studies in relation to the presence of CHD in FH, and found both to be<sup>17</sup> and not to be<sup>25</sup> an independent risk factor. The emerging risk factors lipoprotein(a) and homocysteine were not associated with IMT. The data on these novel risk factors and either IMT<sup>2,4,9,10</sup> or CHD risk<sup>2,7,17,25</sup> are FH is conflicting. Definitive evidence for their role in the accelerated atherosclerosis of FH should come from intervention studies relating outcomes to lowering of their serum concentrations. Thus far, there is evidence that moderately reducing lipoprotein(a) with statins does not relate to changes in carotid IMT.<sup>35</sup>

In conclusion, classical risk factors account for a sizeable part of the variation in preclinical carotid atherosclerosis in FH subjects. HDL cholesterol is a strong factor protecting from carotid IMT enlargement in FH and, similar to the situation in the general population,<sup>23</sup> a total cholesterol/HDL ratio <5 signals subjects with reduced cardiovascular risk, as assessed by IMT. Although not detracting from the pivotal importance of elevated LDL cholesterol levels in the accelerated atherosclerosis of FH, the strong protective role of high HDL cholesterol in these patients has clinical implications and points to the need for improving strategies aimed at raising HDL cholesterol levels.<sup>32</sup>

### Acknowledgments

This work was supported by grants from the Spanish Ministry of Health (FIS RT/C03-01 and RT/G03-181). Mireia Junyent is supported by grant RT/C03-01. We sincerely thank Emili Corbella for expert statistical advice and Eric de Groot for his insightful comments on the manuscript.

### References

- Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Baudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*. New York: McGraw-Hill; 2001: 2863–2913.
- Jansen AC, van Wissen S, Defesche JC, Kastelein JJ. Phenotypic variability in familial hypercholesterolaemia: an update. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13:165–171.
- Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Familial hypercholesterolemia and coronary heart disease: a HuGE association. *Am J Epidemiol*. 2004;160:421–429.
- Ferrières J, Lambert J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia patients with the same LDL receptor gene mutation. *Circulation*. 1995;92:290–295.
- Pimstone SN, Sun XM, du Souich C, Frohlich JJ, Hayden MR, Soutar AK. Phenotypic variation in heterozygous familial hypercholesterolemia. A comparison of Chinese patients with the same or similar mutations in the LDL receptor gene in China and Canada. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:309–315.
- Umans-Eckenhausen MAW, Sijbrands EJJ, Kastelein JJP, Defesche JC. Low density lipoprotein receptor gene mutations and cardiovascular risk in a large genetic cascade screening population. *Circulation*. 2002;106: 3031–3036.
- Jansen ACM, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, Trip MD, Lansberg PJ, Liem AH, Roeters van Lennep HWO, Sijbrands EJJ, Kastelein JJP. The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia: data in 2400 patients. *J Intern Med*. 2004;256: 482–490.
- Wendelhag I, Wiklund O, Wikstrands J. Arterial wall thickness in familial hypercholesterolemia. Ultrasound measurement of intima-media thickness in the common carotid artery. *Arterioscler Thromb*. 1992;12: 70–77.
- Tonstad S, Joakimsen O, Stensland-Bugge E, Ose L, Bonna KH, Leren TP. Carotid intima-media thickness and plaque in patients with familial hypercholesterolemia mutations and control subjects. *Eur J Clin Invest*. 1998;28:971–979.
- Taira K, Bujo H, Kobayashi J, Takahashi K, Miyazaki A, Saito Y. Positive family history for coronary heart disease and 'midband lipoproteins' are potential risk factors of carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2002;160:391–397.
- Descamps OS, Gilbeau JP, Laysen X, Van Leuven F, Heller FR. Impact of genetic defects on atherosclerosis in patients suspected of familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest*. 2001;31:958–965.
- Sidhu PS, Naoumova RP, Maher VM, MacSweeney JE, Neuwirth CK, Hollyer JS, Thompson GR. The extracranial carotid artery in familial hypercholesterolaemia: relationship of intimal-medial thickness and plaque morphology with plasma lipids and coronary heart disease. *J Cardiovasc Risk*. 1996;3:61–67.
- Wittekoek ME, de Groot E, Prins MH, Trip MD, Büller HR, Kastelein JJ. Differences in intima-media thickness in the carotid and femoral arteries in familial hypercholesterolemic heterozygotes with and without clinical manifestations of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 1999;146: 271–279.
- Pauciullo P, Giannino A, De Michele M, Gentile M, Liguori R, Argiriou A, Carlotta A, Faccenda F, Mancini M, Bond MG, De Simone V, Rubba P. Increased carotid artery intima-media thickness is associated with a novel mutation of low-density lipoprotein receptor independently of major cardiovascular risk factors. *Metabolism*. 2003;52:1433–1438.
- Leus FR, Wittekoek ME, Prins J, Kastelein JJ, Voorbij HA. Paraoxonase gene polymorphisms are associated with carotid arterial wall thickness in subjects with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2000;149: 371–377.
- Smilde TJ, Van Wissen S, Wollersheim H, Trip MD, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2001;357:577–581.
- Hopkins PN, Stephenson S, Wu LL, Riley WA, Xin Y, Hunt SC. Evaluation of coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2001;87:547–553.
- WHO-Human genetics DoNDP. *Familial hypercholesterolemia-Report of a second WHO consultation*. Geneva: WHO;1999.
- Gomez-Gerique JA, Gutierrez-Fuentes JA, Montoya MT, Porres A, Rueda A, Avellaneda A, Rubio MA. Lipid profile of the Spanish population: the DRECE (Diet and Risk of Cardiovascular Disease in Spain) study. DRECE Study Group. *Med Clin (Barc)*. 1999;113:730–735.
- Pocovi M, Civeira F, Alonso R, Mata P. Familial hypercholesterolemia in Spain: case-finding program, clinical and genetic aspects. *Semin Vasc Med*. 2004;4:67–74.
- Tejedor D, Castillo S, Mozas P, Jiménez E, López M, Tejedor MT, Artieda M, Alonso R, Mata P, Simón L, Martínez A, Pocovi M. Reliable low-density DNA array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clin Chem*. 2005; 51:1137–1144.
- Hoeg JM, Feuerstein IM, Tucker EE. Detection and quantitation of calcific atherosclerosis by ultrafast computed tomography in children and young adults with homozygous familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1066–1074.
- Wenham PR, Price WH, Blandell G. Apolipoprotein E genotyping by one-stage PCR. *Lancet*. 1991;337:1158–1159.

24. Gordon T, Kannel WB. Multiple risk functions for predicting coronary heart disease. The concept, accuracy, and application. *Am Heart J*. 1982; 103:1031–1039.
25. Neil HAW, Seagroatt V, Betteridge DJ, Cooper MB, Durrington PN, Miller JP, Seed M, Naoumova RP, Thompson GR, Huxley R, Humphries SE. Established and emerging coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Heart*. 2004;90:1431–1437.
26. Manolio TA, Boerwinkle E, O'Donnell CJ, Wilson AF. Genetics of ultrasonographic carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:1567–1577.
27. Casiglia E, Palatini P, Da Ros S, Pagliara V, Puato M, Dorigatti F, Pauletto P. Effect of blood pressure and physical activity on carotid artery intima-media thickness in stage 1 hypertensives and controls. *Am J Hypertens*. 2000;13:1256–1262.
28. Mayet J, Stanton AV, Chapman N, Foale RA, Hughes AD, Thom SA. Is carotid artery intima-media thickening a reliable marker of early atherosclerosis? *J Cardiovasc Risk*. 2002;9:77–81.
29. Real JT, Chaves FJ, Martínez-Usó I, García-García AB, Ascaso JF, Carmena R. Importance of HDL cholesterol levels and the total/HDL cholesterol ratio as a risk factor for coronary heart disease in molecularly defined heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J*. 2001; 22:465–471.
30. Wilt TJ, Rubins HB, Robins SJ, Riley WA, Collins D, Elam M, Rutan G, Anderson JW. Carotid atherosclerosis in men with low levels of HDL cholesterol. *Stroke*. 1997;28:1919–1925.
31. Taylor AJ, Sullenberger LE, Lee HJ, Lee JK, Grace KA. Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol (ARBITER) 2: a double-blind, placebo-controlled study of extended-release niacin on atherosclerosis progression in secondary prevention patients treated with statins. *Circulation*. 2004;110:3512–3517.
32. Assmann G, Gotto AM. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(suppl III):III-8–III-14.
33. Junyent M, Gilabert R, Núñez I, Corbella E, Vela M, Zambón D, Ros E. Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:170–174.
34. de Grooth GJ, Smilde TJ, Van Wissen S, Klerkx AH, Zwinderman AH, Fruchart JC, et al. Relationship between cholesteryl ester transfer protein levels and risk factor profile in patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;173:261–267.
35. van Wissen S, Smilde TJ, Trip MD, de Boo T, Kastelein JJP, Stalenhoef AFH. Long term statin treatment reduces lipoprotein(a) concentrations in heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Heart*. 2003;89:893–896.

### COMENTARIO (Estudio 3):

En este estudio, se analiza la influencia de los diferentes factores de riesgo, tanto tradicionales como emergentes, en la pared arterial de 196 pacientes asintomáticos con diagnóstico clínico de HF (puntuación de la *Dutch Lipid Clinic Network*  $\geq 6$ ). La pared arterial carotídea se evalúa mediante ecografía de alta resolución y se analizan 3 parámetros ecográficos: el GIM medio y máximo de la carótida común (cuyo engrosamiento revela la existencia de aterosclerosis incipiente) y el GIM máximo de cualquier territorio carotídeo (carótida común, bulbo carotídeo y carótida interna) o altura máxima de la placa (como marcador de aterosclerosis avanzada) en los pacientes con placas. En nuestro estudio, la edad, el colesterol HDL (de forma negativa), la práctica de ejercicio físico, la historia familiar de enfermedad cardiovascular prematura, el colesterol LDL y los leucocitos, por este orden, explicaron cerca de la mitad de la variabilidad del GIM de estos pacientes.

Destaca el papel de los leucocitos, como marcador inespecífico de inflamación y factor de riesgo independiente de aterosclerosis preclínica en los pacientes con HF. Dado su bajo coste y su gran disponibilidad, el recuento de leucocitos puede ser un marcador de riesgo prometedor y a tener en cuenta cuando no se dispone de otros marcadores de inflamación menos asequibles y estandarizados y más costosos, como la PCR ultrasensible. Paradójicamente, la práctica de ejercicio físico se asocia a una pared arterial más engrosada que el sedentarismo. Una posible explicación podría ser que, durante el ejercicio, las arterias están expuestas a elevaciones intermitentes de la presión arterial, lo que conllevaría a un mayor estrés de la pared, con un engrosamiento posterior de la misma.

La importancia de este estudio radica en que la mayoría de estudios ecográficos publicados en la HF se han efectuado en pacientes sometidos a tratamiento hipolipemiente, por lo que el impacto real de los factores de riesgo sobre la pared arterial puede estar sesgado por el efecto del mismo. En cambio, la mitad de nuestros pacientes nunca habían recibido tratamiento hipolipemiente y el resto estaba infratratado con dosis bajas de estatinas (24 mg/dL de simvastatina en promedio), por lo que podemos valorar el impacto real de los diferentes factores de riesgo en la pared arterial. Cabe destacar que no se objetivaron diferencias significativas en el GIM carotídeo entre el grupo no tratado respecto al grupo infratratado.

A pesar de que la HF se caracteriza por hipercolesterolemia grave, el efecto antiaterogénico del colesterol HDL fue superior al efecto proaterogénico del colesterol LDL. Por cada aumento del colesterol HDL de 10 unidades, la pared carotídea disminuía 0,03 mm, mientras que aumentaba 0,01 mm por cada aumento de 10 unidades del colesterol LDL.

En la práctica clínica es habitual utilizar cocientes entre parámetros lipídicos para optimizar la predicción del riesgo cardiovascular. En este estudio, tener un cociente colesterol total/HDL  $\leq 5$  era equivalente a tener las carótidas 10 años más jóvenes (diferencia de pared arterial  $\approx -0.10$  mm entre ambos cocientes, con una progresión anual del GIM de 0.01 mm) en comparación con un cociente  $> 5$ . Estos resultados apoyan el cálculo de dicho índice como marcador de riesgo cardiovascular.

A partir de los resultados del estudio, podemos concluir que nuevas terapias encaminadas a promover el aumento de las cifras de colesterol HDL podrían tener un importante papel en el tratamiento de la HF.

**7.4. Estudio 4. The use of Achilles tendon sonography to distinguish familial hypercholesterolemia from other genetic dyslipidemias. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005;25:2203-2208.**

# The Use of Achilles Tendon Sonography to Distinguish Familial Hypercholesterolemia from Other Genetic Dyslipidemias

Mireia Junyent, Rosa Gilabert, Daniel Zambón, Isabel Núñez, María Vela, Fernando Civeira, Miguel Pocoví, Emilio Ros

**Objective**—Achilles tendon (AT) xanthomas, specific for familial hypercholesterolemia (FH), may be clinically undetectable. We assessed the usefulness of AT sonography in the diagnosis of FH.

**Methods and Results**—Sonographic AT characteristics were evaluated in 127 subjects with FH (81 genetically ascertained), 84 familial combined hyperlipidemia, 79 polygenic hypercholesterolemia, and 88 normolipidemic controls. Abnormal echostructure (sonographic xanthoma) was noted only in FH. AT thickness was higher ( $P < 0.001$ ) in FH men and women compared with all of the other groups and, in FH mutation carriers but not in others, correlated positively with low-density lipoprotein cholesterol ( $r = 0.345$ ;  $P < 0.001$ ) and negatively with high-density lipoprotein cholesterol ( $r = -0.265$ ,  $P = 0.015$ ). Thickness thresholds for the diagnosis of FH with specificity  $> 80\%$ , as were derived from receiver operating curves, were 5.3 and 5.7 mm in men  $<$  and  $> 45$  years, and 4.8 and 4.9 mm in women  $<$  and  $> 50$  years, respectively. In FH mutation carriers, sonographic findings increased the clinical diagnosis of xanthomas from 35 (43%) to 55 (68%). Using thresholds in validation sets of 70 genetically identified FH and 54 dyslipidemic non-FH correctly classified 80% and 88%, respectively.

**Conclusion**—Sonographic AT characteristics are normal in non-FH dyslipidemias. Identification of suspected FH by ultrasound using sex- and age-specific AT thickness thresholds is recommended. (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:2203-2208.)

**Key Words:** Achilles tendon ■ xanthomas ■ familial hypercholesterolemia  
■ genetic dyslipidemias ■ ultrasonography

Heterozygous familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal-dominant inherited disorder of lipid metabolism characterized by lifelong elevation of serum cholesterol that is usually caused by defects in the low-density lipoprotein (LDL) receptor (LDLR) gene.<sup>1</sup> Clinical features include early coronary heart disease (CHD) and tendon xanthomas because of accelerated cholesterol deposition within both vascular and extravascular tissues. Tendon xanthomas are specific for FH, and the Achilles tendon (AT) is the usual location.<sup>1-3</sup>

Xanthomas are composed of monocyte-derived foam cells resulting from intracellular accumulation of lipids and connective tissue.<sup>4</sup> In genetically ascertained heterozygous FH, xanthomas diagnosed by physical examination begin to appear after the second decade of life<sup>2</sup> and are found in 20% to 50% of affected adults in unselected cohorts.<sup>5-7</sup> It is unknown why some FH subjects disclose xanthomas and others do not, even while having similar LDL cholesterol levels and sharing

the same *LDLR* defect.<sup>5</sup> One reason may be that physical examination has shortcomings because their clinical identification as diffuse enlargements or nodular deformities in the AT or other locations is not always easy.

When available, genetic testing may secure the etiologic diagnosis of FH.<sup>2,3</sup> Otherwise, objective sets of clinical criteria, as defined by the United Kingdom Simon Broome Register Group,<sup>8</sup> the United States Make Early Diagnosis to Prevent Early Death Program,<sup>9</sup> or the Dutch Lipid Clinic Network,<sup>10</sup> are used. These diagnostic criteria are based on pretreatment lipid values, family history, and clinical manifestations. The presence of tendon xanthomas weighs heavily in the United Kingdom and Dutch scoring systems, signifying a definite diagnosis,<sup>8,10</sup> a reason why their identification is crucial for diagnosing FH in clinical practice. Ultrasonography, a simple, affordable, and rapid imaging technique, has been used to reproducibly assess AT thickness and improve on the clinical diagnosis of xanthomas.<sup>11-16</sup> However, the

Received June 10, 2005; revision accepted July 26, 2005.

From the Unitat de Lípids, Servei d'Endocrinologia i Nutrició (M.J., D.Z., M.V., E.R.) and Secció d'Ecografia, Institut de Diagnòstic per l'Imatge (R.G., I.N.), Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Hospital Clínic, Barcelona; and Unidad de Lípidos, Hospital Universitario Miguel Servet (F.C.) and Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular, Universidad de Zaragoza (M.P.), Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, Spain.

Correspondence to Emilio Ros, Unitat de Lípids, Servei d'Endocrinologia i Nutrició, Hospital Clínic, C. Villarroel, 170, Barcelona, E-08036 Spain. E-mail eros@clinic.ub.es

© 2005 American Heart Association, Inc.

*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* is available at <http://www.atvbaha.org>

DOI: 10.1161/01.ATV.0000183888.48105.d1

TABLE 1. Characteristics of Study Groups

Characteristics	Normolipidemic Controls (n=88)	Molecularly Defined FH (n=81)	FH with No Genetic Defect (n=46)	Familial Combined Hyperlipidemia (n=84)	Polygenic Hypercholesterolemia (n=79)	FH Validation Set from Zaragoza (n=70)
Age, years (range)	48 (26–81)	45 (26–76)	51 (27–79)	48 (30–67)	51 (29–71)	47 (26–82)
Men/women, n/n	37/51	45/36	24/22	55/29	39/40	31/39
Family history of CHD, n (%)	11 (13)	41 (50)	21 (45)	53 (63)	23 (29)	39 (58)
Personal history of CHD, n (%)	0	19 (23)	10 (22)	16 (19)	12 (15)	9 (13)
Weight, kg	68.6±11.3	69.6±10.9	68.6±10.2	74.4±11.4	71.1±11.2	68.4±10.6
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	25.8±4.2	25.7±3.5	25.7±3.1	26.3±3.1	26.4±3.3	25.1±4.1
Ever smoked, n (%)	23 (26)	36 (44)	23 (50)	57 (68)	39 (49)	49 (70)
Arterial hypertension, n (%)	8 (9)	7 (9)	7 (15)	27 (32)	21 (27)	8 (11)
Diabetes mellitus, n (%)	0	0	1 (2)	8 (10)	7 (9)	0
Tendon xanthomas, n (%)	—	35 (43)*	10 (22)	—	—	33 (35)
Total cholesterol, mg/dL	196±25	392±83	345±57	307±54	286±34	397±64
LDL cholesterol, mg/dL	129±21	310±80	259±60	210±48	205±32	320±34
HDL cholesterol, mg/dL	55±15	55±19	55±14	43±12	53±14	54±15
Triglycerides, mg/dL	90 (68–120)	115 (84–166)	119 (92–167)	259 (198–338)	128 (95–176)	93 (68–121)
Apo B, g/L	1.04±0.25	2.11±0.54	2.00±0.39	1.80±0.35	1.61±0.27	—
Apo E genotypes, n (%)						
E2/E3		7 (8.6)	3 (6.5)	13 (15.5)		
E3/E3	—	59 (72.8)	33 (71.7)	57 (67.9)	—	—
E4/E3, E4/E4		14 (17.3)	8 (17.4)	13 (15.5)		
E2/E4		1 (1.2)	2 (4.3)	1 (1.2)		

Values are mean±SD except for triglycerides (median and interquartile ranges).

\*All subjects had Achilles tendon xanthomas; 7 had associated xanthomas in other locations (4 knuckles, 2 elbows, and 1 pretibial).

ultrasound characteristics of AT in other genetic dyslipidemias disclosing elevated blood cholesterol levels that might easily lead to a suspicion of FH have not been evaluated. The aim of this study was to assess the usefulness of AT sonography to distinguish genetically ascertained FH from clinical FH without a molecular diagnosis and other genetic dyslipidemias in comparison with normolipidemic subjects.

## Methods

### Subjects

From March 2000 to April 2005 we evaluated 290 consecutive adults with a diagnosis of primary hypercholesterolemia attending the Lipid Clinic of Hospital Clinic, Barcelona. Depending on family history, physical signs, and lipid levels, subjects were given a clinical diagnosis of FH, familial combined hyperlipidemia (FCH), or polygenic hypercholesterolemia (Table 1). Subjects were referred for diagnosis or because of refractoriness to treatment, and they had no effective cholesterol-lowering therapy before recruitment. None gave a history of AT tears or tendonitis.

For identifying FH in 127 subjects, we applied the Dutch criteria.<sup>10</sup> Individuals were recruited into the Spanish FH Register<sup>17</sup> and submitted to DNA testing for identification of *LDLR* mutations and the apolipoprotein (apo) B R3500Q gene mutation following a standard protocol.<sup>17–19</sup> Forty different *LDLR* mutations were identified in 75 subjects: 41 missense, 15 frameshift, 13 splicing, 5 nonsense, and 1 major rearrangement. Six additional subjects were carriers of the *APOB* R3500Q mutation. In 46 of the 127 subjects with clinical FH (36%), no *LDLR* or *APOB* defects were found.

The diagnosis of FCH was made as described<sup>20</sup> in subjects with mixed dyslipidemia associated with serum apo B >1.30 g/L, monogenic transmission of hyperlipidemia with variable lipoprotein phenotypes, absence of hypercholesterolemic children in the family,

family history of premature CHD, and absence of apo E 2/2 genotype.

Polygenic hypercholesterolemia was diagnosed in subjects with LDL cholesterol >160 mg/dL, triglycerides <200 mg/dL, and absence of elevated blood cholesterol in first-degree relatives. In addition, we examined a control group of 88 normolipidemic subjects recruited from hospital personnel and lists of primary health physicians.

### Clinical and Laboratory Characteristics

All of the subjects were assessed for standard cardiovascular risk factors (Table 1). Xanthomas were searched at the usual locations (dorsum of the hands, elbows, pretibial tuberosities, and AT) by the same physicians (D.Z. and E.R.) and were considered to be present if tendons appeared diffusely enlarged or had focal nodularities. When findings were equivocal, ATs were recorded as normal. To obtain a baseline lipid profile, fasting blood was drawn after at least 4 weeks off of hypolipidemic drug treatment. Cholesterol and triglycerides were determined by standard enzymatic methods. LDL cholesterol was estimated with the Friedewald equation except in subjects with triglycerides >300 mg/dL, when it was measured by ultracentrifugation techniques as described.<sup>20</sup> In those suspected of being FH or FCH carriers, apo E genotyping was performed using the method of Wenham et al.<sup>21</sup> All of the participants gave written informed consent to a protocol approved by the local review board.

### Ultrasonographic Examination

AT sonography was performed in all of the subjects at recruitment by trained sonographers (R.G. and I.N.) using Toshiba equipment (SSA 270A, SSA 140A, Powervision, Applio) and multifrequency (7–10 MHz) electronic linear array transducers. ATs were examined with the subjects lying prone, with ankles extended beyond the examination bed and feet at 90° flexion. Special attention was paid to holding the probe perpendicular to the tendon. Measurements of thickness



**TABLE 2. Sonographic Measures of AT Thickness and Breadth (mm) in Study Subjects**

Characteristics	Gender	Normolipidemic Controls	Molecularly Defined FH	FH with no Genetic Defect	FCH	Polygenic Hypercholesterolemia	P Value for Gender*	P Value for Group*
Thickness	Men	4.9 (4.2–5.5) <sup>a</sup>	7.2 (6.6–7.7) <sup>b</sup>	5.8 (5.1–6.5) <sup>a</sup>	4.8 (4.3–5.3) <sup>a</sup>	4.8 (4.3–5.4) <sup>a</sup>	<0.001	<0.001
	Women	4.4 (4.1–4.7) <sup>a</sup>	5.6 (5.2–6.0) <sup>b</sup>	5.4 (4.9–5.8) <sup>b</sup>	4.4 (3.9–4.8) <sup>a</sup>	4.5 (4.1–4.8) <sup>a</sup>		
Breadth	Men	13.7 (13.0–14.4) <sup>a</sup>	17.0 (16.4–17.7) <sup>b</sup>	15.0 (14.1–15.7) <sup>a</sup>	14.2 (13.7–14.8) <sup>a</sup>	14.4 (13.8–15.1) <sup>a</sup>	<0.001	
	Women	13.1 (12.6–13.5) <sup>a</sup>	14.5 (13.9–15.1) <sup>b</sup>	14.5 (13.8–15.1) <sup>b</sup>	12.9 (12.3–13.5) <sup>a</sup>	13.2 (12.8–13.8) <sup>a</sup>		

Values are means (95% CI).

\*ANCOVA statistics.

Values within a row with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ , Bonferroni post-hoc test).

(average of both feet) were made from both sagittal and transverse scans at the point of maximum thickness. Breadth measures were taken from transverse scans. In uniformly sized tendons, measurements were taken 2 cm proximally to insertion in the os calcis. We also classified AT echostructure into the following 2 categories: normal, when the fibrillar structure of the tendon was preserved; and xanthoma, when fibrillar structure was lost and/or single, or multiple echolucent areas were detected within<sup>12–15,22</sup> (see <http://atvb.ahajournals.org>). We evaluated the interobserver variation for thickness and breadth in 15 subjects and found correlation coefficients of 0.91 and 0.86, respectively.

**Statistical Analyses**

Numerical variables are expressed as mean ± SD. Quantitative AT variables were evaluated by sex with ANCOVA analyses, using post-hoc Bonferroni testing for assessment of group differences. Pearson’s correlation coefficients were constructed to test relationships between continuous variables. We determined sex- and age-specific AT thickness threshold values for diagnosing FH based on the analysis of receiver operator characteristics (ROC) curves. ROC curves were constructed by using FH mutation carriers as the disease group and the pooled non-FH subjects as the nondisease group. A  $P$  value  $< 0.05$  was conventionally used to indicate statistical significance. SPSS software (version 11.0) was used for statistical analyses.

**Validation Sets**

A series of 70 FH mutation carriers from Hospital Miguel Servet, Zaragoza (Table 1), who underwent sonographic evaluation of AT thickness with the same protocol, were used to validate the performance of thresholds obtained in Barcelona. The *LDLR* defects in this group, determined following the same Spanish FH Register protocol,<sup>17</sup> were from 36 different types and encompassed 31 missense, 14 nonsense, 13 splicing, and 12 frameshift mutations. A single subject carried the mutation R3500Q in *APOB*.

An additional group of 54 non-FH subjects (29 men and 25 women) from Hospital Miguel Servet with sonographic evaluation of AT thickness was used to identify the proportion of false positives obtained with the thresholds determined in the Barcelona study. They were 25 subjects with a clinical diagnosis of FCH and 29 with polygenic hypercholesterolemia, with an overall age of  $48 \pm 12$  years and mean levels of total, LDL, and HDL cholesterol of  $295 \pm 34$  mg/dL,  $223 \pm 36$  mg/dL, and  $46 \pm 16$  mg/dL, respectively, and triglycerides of  $186 \pm 134$  mg/dL. AT thickness measurements were performed with an ALOKA SSD-900 sonographer using a 7.5-MHz linear-array probe. Tendon echostructure was not evaluated in the Zaragoza subjects.

**Results**

**Clinical Features and Lipid Profiles**

Table 1 shows the demographic and clinical characteristics and lipid profiles of the study groups. FH mutation carriers were slightly younger than the other groups, and the sex distribution differed in normolipidemic subjects, where women predominated, and FCH, where there were more men.

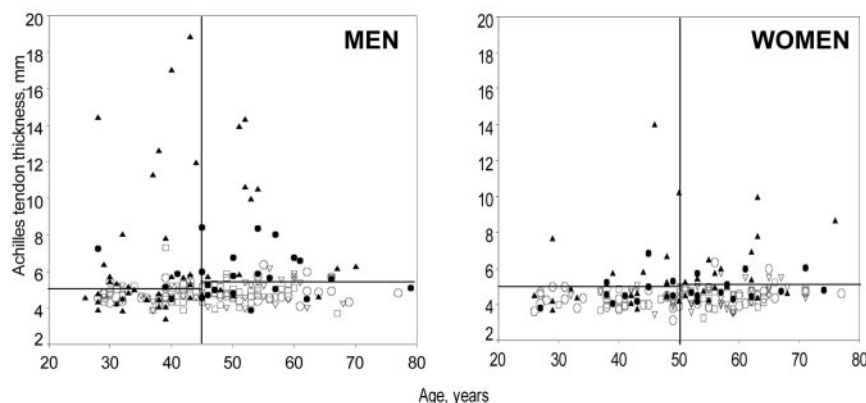
As expected, FH and FCH subjects frequently had a family history of premature CHD. Also, subjects with FCH and polygenic hypercholesterolemia were heavier than those of other groups. Tendon xanthomas were detected by physical examination only in FH. Lipid values were consistent with the clinical diagnoses, with markedly elevated total cholesterol, LDL cholesterol, and apo B in the FH groups; high cholesterol, triglycerides, and apo B together with low HDL cholesterol in FCH, and lesser cholesterol elevation in polygenic hypercholesterolemia. Apo E genotypes were determined in FH and FCH subjects from Barcelona but were not available in the FH validation group from Zaragoza. Except for an overrepresentation of E2 in FCH, the distribution of apo E genotypes was similar in the 3 groups. There were no E2/E2 genotypes in these series.

**Sonographic Findings**

Sonographic AT xanthomas were observed only in subjects with FH, being present in 32 mutation carriers (40%) and 11 without an identified *LDLR* or *APOB* defect (24%). Table 2 shows the unadjusted values of sonographic tendon thickness and breadth in the groups studied. Men had thicker and larger tendons than women, a difference that remained after the adjustment of values for age, weight, and LDL cholesterol (data not shown). For the 2 sexes, both tendon thickness and breadth were essentially similar in controls, FCH, and polygenic hypercholesterolemia, whereas unadjusted and age- and weight-adjusted AT thickness and breadth were significantly ( $P < 0.05$ ) higher in genetically ascertained FH subjects compared with all of the other groups. FH individuals with no genetic defect identified had measures in between. Additionally adjusting measurements for LDL cholesterol attenuated group differences, but FH men with an identified mutation still had thicker and larger ATs ( $P < 0.05$ ) than subjects with FCH or polygenic hypercholesterolemia (data not shown).

Tendon thickness and breadth were strongly correlated ( $r = 0.79$ ;  $P < 0.001$ ). As shown in the Figure, AT thickness was unrelated to age in all of the study groups. On the other hand, both AT thickness and breadth correlated significantly ( $P < 0.005$ ) to body weight in all of the groups ( $r = 0.301–0.475$ ). Whereas quantitative tendon measures were unrelated ( $P > 0.2$ ) to lipid values in non-FH groups, AT thickness and breadth showed positive correlations with LDL cholesterol ( $r = 0.345$  and  $0.279$ , respectively;  $P < 0.01$ ) and a negative correlation with HDL cholesterol ( $r = -0.265$  and  $-0.338$ , respectively;  $P < 0.02$ ) in FH mutation carriers. In FH without molecular diagnosis, AT thickness and breadth also corre-





Scatterplots of AT thickness in men and women against age. Horizontal and vertical lines represent the sex- and age-specific thickness thresholds and the median age of subjects with molecularly defined FH, respectively. ▲, FH with DNA diagnosis; ●, FH without identified genetic defect; ○, controls; □, FCH; and ▽, polygenic hypercholesterolemia.

lated with LDL cholesterol ( $r=0.368$  and  $0.583$ , respectively;  $P<0.02$ ) but not with HDL cholesterol. In either FH group or in FCH subjects, apo E genotypes were unrelated to AT variables.

AT thickness of the 29 FH subjects with a history of CHD ( $6.9\pm 3.2$  mm) was significantly ( $P=0.030$ ) higher than corresponding values of the 97 asymptomatic individuals ( $5.7\pm 2.4$  mm). These differences persisted ( $P=0.034$ ) after adjustment for sex, age, weight, and LDL cholesterol ( $7.0\pm 2.6$  versus  $5.7\pm 2.5$  mm, respectively).

### Tendon Thickness Thresholds for the Diagnosis of FH

As quantitative AT measures variably overlapped between FH and non-FH subjects (Table 2), ROC curves were used to determine sex- and age-specific threshold values for the diagnosis of FH. Because the ROC curves representing AT thickness and breadth were essentially superimposed, only the cutoff points of thickness are shown for both men and women above and below the median age of FH mutation carriers (Table 3). As seen by the areas under the curves, the ROC curves performed better in older individuals. Because the pretest probability in FH is generally low (1 in 500), cutoffs with high specificity were sought to avoid false-positive results, aggressive treatment of unaffected individuals, and undue concern for family members.<sup>23</sup> These thresholds correspond to percentiles 81 to 92 of the distribution of AT thickness in pooled non-FH subjects. Use of these cutoffs classified as FH 19 of the 46 subjects (41%) with a clinical diagnosis of FH but no identified genetic defect.

The Figure shows scatter plots of AT thickness in men and women of all of the study groups against age. The majority of non-FH subjects show values below threshold lines, indicating the high specificity of these cutoffs. The values of

younger FH subjects, both genetically confirmed and with no identified mutation, scatter widely above and below the threshold lines, whereas those of older subjects predominate above the lines, pointing to higher threshold sensitivity in the latter. In men, but not in women, the proportion of subjects with markedly enlarged tendons falls abruptly after age 60. A likely explanation is poor survival of FH men with more severe clinical phenotypes.

### Concordance between Clinical Examination and Sonography

Table 4 shows the concordance between clinical examination and sonography in the diagnosis of AT xanthomas. Whereas a small proportion of tendons felt to be enlarged by the clinicians were sonographically normal, an abnormal sonogram by any of the 2 criteria of thickness above cutoff values or abnormal echostructure was found in 68% of FH mutation carriers and 46% of FH subjects without DNA diagnosis, thus increasing the diagnostic rates of physical examination by  $\approx 25\%$  in both groups. Sonographic xanthomas in normal-sized ATs were found in 10 of the 127 FH subjects.

### Validation Sets for Thickness Thresholds

Application of cutoff values to a series of 70 FH mutation carriers from Zaragoza (Table 1) who were assessed for AT thickness with the same sonographic criteria correctly classified FH in 56 (80%) of them. When using these thresholds in another set of 58 dyslipidemic, non-FH subjects studied in the same way in Zaragoza, 53 (88%) were correctly classified as non-FH.

## Discussion

The results of this study show that sonographic AT features improve on the clinical diagnosis of xanthomas, are normal in

**TABLE 3. Results of ROC Curves and Threshold Values of Sonographic AT Thickness for Diagnosis of FH**

Subjects	Area Under the Curve	95% CI	Tendon Thickness Threshold, mm	Sensitivity	Specificity
Men $\leq 45$ years	0.65	0.51–0.78	5.3	49%	91%
Men $> 45$ years	0.84	0.70–0.98	5.7	75%	89%
Women $\leq 50$ years	0.76	0.62–0.89	4.8	50%	88%
Women $> 50$ years	0.79	0.67–0.91	4.9	67%	81%

**TABLE 4. Concordance between Physical Examination and Sonography in the Diagnosis of AT Xanthomas**

Subjects with FH	Physical Examination	Sonographic Findings		
		Normal	Xanthoma*	Total
Molecularly defined	Normal	23	23	46 (57%)
	Xanthoma	3	32	35 (43%)
	Total	26 (32%)	55 (68%)	81
No identified mutation	Normal	23	13	36 (78%)
	Xanthoma	2	8	10 (22%)
	Total	25 (54%)	21 (46%)	46

\*Defined as tendons with abnormal echostructure and/or thickness above threshold values for diagnosis of FH.

genetic dyslipidemias other than FH and similar to those of normolipidemic subjects, and provide thickness thresholds for diagnosing FH, which are validated in other sets of FH and non-FH subjects.

Although highly variable, the clinical prevalence of tendon xanthomas is <50% in unselected series of FH adults, whether diagnosed by DNA testing<sup>5,6,16,24</sup> or by clinical criteria alone.<sup>7,25</sup> Clinical detection in our FH subjects was within this range (Table 1). Tendon xanthomas are a key feature for the clinical diagnosis of FH,<sup>8,10</sup> but identification by physical examination is subjective and based on clinical experience, and may be difficult in borderline cases. Ultrasonography has been shown to accurately measure AT thickness, which is enlarged when xanthomas are present<sup>11–16</sup> and, using state-of-the-art musculoskeletal sonography and a careful technique, it also detects echostructural abnormalities that are diagnostic of xanthoma in tendons not injured previously.<sup>10–15,22</sup> By using this technique, we observed no sonographic AT xanthomas in either control or non-FH subjects, but detected them in a sizeable proportion of FH subjects (40% and 24% in those with and without DNA diagnosis, respectively). Importantly, xanthomas were detected by ultrasound also in subjects with normal-sized tendons by either clinical or sonographic criteria. These findings confirm the superiority of sonography over physical examination for revealing AT xanthomas.

No prior studies have described the sonographic features of AT in other genetic dyslipidemias that may disclose elevated blood cholesterol levels overlapping with those of FH. We found similar AT thickness and breadth in normolipidemic controls and subjects with FCH or polygenic hypercholesterolemia, which differed clearly from those of FH mutation carriers (Table 2), and these differences persisted after adjustment for age, body weight, and LDL cholesterol, indicating that enlarged ATs are specific for FH. Sonographic AT enlargement in FH compared with non-FH subjects has been found in other studies.<sup>13,16</sup> However, Ebeling et al<sup>13</sup> compared FH subjects with a pooled group of severe non-FH hypercholesterolemia, whereas Descamps et al<sup>16</sup> used a pool of control subjects and non-FH dyslipidemia as a comparator. Our findings have important implications for the use of AT sonography in the differential diagnosis of severe hypercholesterolemia when tendons are not unambiguously enlarged at physical examination.

Men had ATs that were thicker and larger than those of women in all of the groups. These gender differences have been observed in other studies<sup>11,14,16,26</sup> and may be explained by the usually higher musculoskeletal development in men. Supporting prior results in control subjects,<sup>26</sup> AT size was related to body weight, a plausible finding given the body support function that AT plays in skeletal physiology. In FH, but not in controls or non-FH subjects, AT size correlated positively with LDL cholesterol and negatively with HDL cholesterol. This indicates that the severity of the lipid phenotype influences extravascular cholesterol deposition only in FH. The presence of hypercholesterolemia during childhood,<sup>1–3</sup> when tendons are growing, is a unique feature of FH that may explain these findings.

The AT thickness thresholds for diagnosing FH that we derived from ROC curves are similar to those found by Descamps et al<sup>16</sup> in a like series of FH with DNA diagnosis from Belgium. These authors proposed a single cutoff point of 5.8 mm with 75% sensitivity and 85% specificity. To avoid false-positive results in a genetic disorder like FH with a low a priori probability in the population,<sup>23</sup> we sought sex- and age-specific discriminatory thresholds that are less sensitive in young subjects but more specific at all ages (Table 3). When available, DNA diagnosis is clearly more sensitive,<sup>1–3</sup> as shown in the present series, where 1 of every 3 FH mutation carriers had sonographically normal AT by any criteria (Table 4). The cutoff values performed well in validation sets of FH and non-FH individuals with genetic testing, clinical diagnoses, and AT sonograms obtained with a similar protocol, thus supporting their wider applicability, at least in a population like the Spanish one, where FH is genetically heterogeneous.<sup>17</sup>

Compared with molecularly defined FH subjects, those with clinical FH and no DNA diagnosis had a milder lipid phenotype but similar clinical severity. Application of AT thickness thresholds to these individuals classified 41% of them as FH, emphasizing the uncertainty of the group's categorization.<sup>24</sup> Future refinements of molecular testing should clarify diagnoses in this ill-defined group of clinically severe hypercholesterolemias.

As reviewed recently,<sup>27</sup> other imaging techniques may be used to accurately measure AT size, although none can depict xanthomas. Because sonography is a safe, low-cost, rapid, and reliable procedure, its use for the assessment of both AT size and echostructure represents a valid and practical alternative for uncovering both enlarged tendons and xanthomas that noticeably increase the yield of physical examination. The fact that the sonographic AT characteristics are normal in non-FH dyslipidemias is an added value when using this technique in the differential diagnosis of FH.

### Acknowledgments

This work was supported by grants from Fondo de Investigaciones Sanitarias, Spanish Ministry of Health (RT/C03-01 and RT/G03-181), and Fundació Privada Catalana de Nutrició i Lípids. Mireia Junyent is supported by grant RT/C03-01. We sincerely thank Eli Sánchez, RN, for excellent assistance with sonographic studies, and Emili Corbella for expert statistical advice.

## References

- Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*. New York: Mc Graw-Hill. 2001; 2863–2913.
- Marks D, Thorogood M, Andrew H, Neil W, Humphries S. A review of the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2003;168:1–14.
- Civeira F. International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;173:55–68.
- Kruth HS. Lipid deposition in human tendon xanthoma. *Am J Pathol*. 1985;121:311–315.
- Ferrieres J, Lambert J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia patients with the same LDL receptor gene mutation. *Circulation*. 1995;92:290–295.
- Bertolini S, Cantafora A, Averna M, Cortese C, Motti C, Martini S, Pes G, Postiglione A, Stefanutti C, Blotta I, Pisciotta L, Rolleri M, Langheim S, Ghisellini M, Rabbone I, Calandra S. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:E41–E52.
- Alonso R, Castillo S, Civeira F, Puzo J, La Cruz JJ, Pocovi M, Mata P. Heterozygous familial hypercholesterolemia in Spain. Description of 819 unrelated cases. *Med Clin (Barc)*. 2002;118:487–492.
- Scientific Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. *BMJ*. 1991;303:893–896.
- Williams RR, Hunt SC, Schumacher M, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, Hopkins PN. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993;72:171–176.
- WHO-Human genetics DoNDP. Familial hypercholesterolemia-Report of a second WHO consultation. Geneva: WHO;1999.
- Yuzawa K, Yamakawa K, Tohno E, Seki M, Akisada M, Yanagi H, Okafuji T, Yamanouchi Y, Hattori N, Kawai K. An ultrasonographic method for detection of Achilles tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 1989;75:211–218.
- Steinmetz A, Schmitt W, Schuler P, Kleinsorge F, Schneider J, Kaffarnik H. Ultrasonography of Achilles tendons in primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 1988;74:231–219.
- Ebeling T, Farin P, Pyorala K. Ultrasonography in the detection of Achilles tendon xanthomata in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 1992;97:217–228.
- Koivunen-Niemela T, Alanen A, Viikari J. Sonography of the Achilles tendon in hypercholesterolaemia. *J Intern Med*. 1993;234:401–405.
- Bureau NJ, Roederer G. Sonography of Achilles tendon xanthomas in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Roentgenol*. 1998;171:745–749.
- Descamps O, Leysen X, Van Leuven F, Heller F. The use of Achilles tendon ultrasonography for the diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2001;157:514–518.
- Pocovi M, Civeira F, Alonso R, Mata P. Familial hypercholesterolemia in Spain: case-finding program, clinical and genetic aspects. *Semin Vasc Med*. 2004;4:67–74.
- Mozas P, Castillo S, Tejedor D, Reyes G, Alonso R, Franco M, Saenz P, Fuentes F, Almagro F, Mata P, Pocovi M. Molecular characterization of familial hypercholesterolemia in Spain: identification of 39 novel and 77 recurrent mutations in LDLR. *Hum Mutat*. 2004;24:187.
- Castillo S, Tejedor D, Mozas P, Reyes G, Civeira F, Alonso R, Ros E, Pocovi M, Mata P. The apolipoprotein B r3500q gene mutation in Spanish subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2002;165:127–135.
- Zambón D, Ros E, Rodríguez-Villar C, Laguna JC, Vázquez M, Sanllehy C, Casals E, Sol JM, Hernández G. Randomized crossover study of gemfibrozil versus lovastatin in familial combined hyperlipidemia: Additive effects of combination treatment on lipid regulation. *Metabolism*. 1999;48:47–54.
- Wenham PR, Price WH, Blundell G. Apolipoprotein E genotyping by one-stage PCR. *Lancet*. 1991;337:1158–1159.
- Bude RO, Nesbitt SD, Adler RS, Rubenfire M. Sonographic detection of xanthomas in normal-sized Achilles' tendons of individuals with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Roentgenol*. 1998;170:621–625.
- Schuster H, Luft FC. Clinical criteria versus DNA diagnosis of heterozygous familial hypercholesterolemia. Is molecular diagnosis superior to clinical diagnosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:331–332.
- Damgaard D, Larsen ML, Nissen PH, Jensen JM, Jensen HK, Soerensen VR, Jensen LG, Faergeman O. The relationship of molecular genetic to clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia in a Danish population. *Atherosclerosis*. 2005;180:155–160.
- Hopkins PN, Stephenson S, Wu LL, Riley WA, Xin Y, Hunt SC. Evaluation of coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2001;87:547–553.
- Civeira F, Castillo JJ, Calvo C, Ferrando J, de Pedro C, Martinez-Rodes P, Pocovi M. Achilles tendon size by high resolution sonography in a healthy population. Relationship with lipid levels. *Med Clin (Barc)*. 1998;111:41–44.
- Tsouli SG, Kiortsis DN, Argyropoulou MI, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Pathogenesis, detection and treatment of Achilles tendon xanthomas. *Eur J Clin Invest*. 2005;35:236–244.

#### **COMENTARIO (Estudio 4):**

En este estudio se analiza el impacto que tiene la práctica de la ecografía del tendón de Aquiles en el diagnóstico de la HF mediante la determinación de los diámetros de los tendones (longitudinal y transversal) y la detección de xantomas tendinosos. Asimismo, comparamos los valores obtenidos en los pacientes con HF con un grupo de pacientes con dislipemia no HF y un grupo control y definimos los valores de normalidad de los diámetros de los tendones de Aquiles.

Antes de la realización del estudio, los valores de los tendones de Aquiles de los sujetos con dislipemias no HF eran desconocidos. Mientras que en el grupo de sujetos con HF, los valores de los tendones eran netamente superiores al resto de grupos analizados, no se encontraron diferencias en el tamaño de los mismos entre el grupo de sujetos con dislipemias no HF respecto al grupo control. Este hecho apoya la práctica de la ecografía de los tendones de Aquiles como herramienta diagnóstica en la HF.

Para obtener los puntos de corte de los tendones diagnósticos de HF, se diseñaron curvas ROC y se escogieron aquellos puntos con alta sensibilidad y baja especificidad, para evitar los resultados falsos positivos y las consecuencias que este hecho comportaría. Se definieron 4 puntos diagnósticos de HF, en función del sexo y de la mediana de edad. De este modo, tendones superiores a 5,3 mm y 5,7 mm en varones (<45 años y  $\geq$  45 años) y 4,8 mm y 4,9 mm en mujeres (<50 años y  $\geq$  50 años), respectivamente, fueron altamente sugestivos de HF.

Para la validación externa de los puntos de corte obtenidos, éstos se aplicaron a un grupo de 70 pacientes con HF y 54 pacientes no HF

procedentes del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza. Los puntos de corte obtenidos en el presente estudio clasificaban correctamente de HF y de no HF, al 80% y al 88% de los casos, respectivamente. La alta precisión de estos puntos de corte, los valida para su utilización en la identificación de los pacientes con sospecha de HF en nuestro país.

En ocasiones, la detección de xantomas tendinosos mediante la mera exploración física puede ser difícil, sobre todo en aquellos pacientes que han practicado deporte durante muchos años o que han tenido un traumatismo en sus tendones (esguince, ruptura fibrilar, etc.). En nuestro trabajo sólo se detectaron xantomas de los tendones de Aquiles en los pacientes con HF (76 de 127, 60%) y merece destacarse que, de los 40 (31%) sujetos con un diagnóstico final (clínico y ecográfico) de xantomas, 10 (8%) presentaban una ecoestructura alterada (diagnóstico ecográfico de xantoma) a pesar de tener un grosor tendinoso dentro de los límites normales. En conjunto, los resultados indican que la detección de xantomas tendinosos mediante ecografía duplica la tasa de diagnóstico clínico obtenida mediante la exploración física. Por lo tanto, estos hallazgos confirman la superioridad de la ecografía en comparación con la exploración física, tanto para la detección de los xantomas como para valorar el engrosamiento de los tendones.

En conclusión, la ecografía de los tendones de Aquiles puede ser una herramienta diagnóstica muy útil en la HF, además de ayudar en el diagnóstico diferencial de la HF con otras dislipemias que cursan con un fenotipo lipídico similar.

## **8. DISCUSIÓN**

Dada la elevada prevalencia de las enfermedades cardiovasculares en nuestra sociedad, la valoración eficaz del riesgo individual para la identificación y tratamiento oportuno de las personas con mayor riesgo de padecerlas (pacientes vulnerables) se ha convertido en uno de los principales retos de la medicina preventiva y de la salud pública en el mundo occidental. La presente tesis se basa en la utilización de una técnica de imagen no invasiva, fiable, reproducible y de bajo coste, la ecografía carotídea, como herramienta para la valoración de la aterosclerosis preclínica, refinamiento del riesgo cardiovascular y detección del paciente vulnerable.

En la práctica clínica habitual de nuestra Unidad de Lípidos, aparte de la valoración de los factores de riesgo tradicionales (con cálculo de la puntuación de riesgo de Framingham según el NCEP ATP-III) y emergentes (apoB, lipoproteína(a), homocisteína y genotipo de la apoE), realizamos una ecografía carotídea a todos los pacientes con un diagnóstico inicial de dislipemia primaria. En los pacientes con criterios clínicos de HF, se realiza además una ecografía de los tendones de Aquiles para la medición de su grosor y la detección de cambios de su ecoestructura indicativos de xantomas.

Con el objetivo de adscribir a la medición de los parámetros ecográficos de un paciente dado un valor normal o patológico, determinamos los valores ecográficos de referencia de nuestra población (Estudio 1). Para ello, se realizó una ecografía carotídea a 250 sujetos sanos normolipémicos (voluntarios sanos del centro de salud del hospital y de trabajadores del propio hospital). Los criterios que utilizamos para definir los puntos de corte de normalidad fueron los habituales en una patología común como la aterosclerosis, considerando

como patológicos aquellos valores del GIM carotídeo y/o altura máxima de la placa superiores al percentil 75. El interés de este estudio radica en que es el primero que define de forma precisa y en una muestra grande de sujetos los parámetros de normalidad de la ecografía carotídea en nuestra población. Estos puntos de corte pueden utilizarse en la práctica clínica habitual para maximizar la definición de riesgo cardiovascular más allá de los factores tradicionales. Por ejemplo, un adulto que presente unos valores de GIM medio por encima del percentil 75 puede considerarse de alto riesgo, independientemente de la potencia de los factores asociados. En cambio, si su GIM medio estuviera por debajo del percentil 25, podría considerarse como un individuo de bajo riesgo y, por lo tanto, no susceptible de tratamiento energético. Asimismo, podemos utilizar el impacto visual de las imágenes ecográficas como terapia conductual en nuestros pacientes para modificar determinados hábitos, como el tabaquismo, y potenciar la adherencia al tratamiento.

Al comparar nuestros valores de referencia con los de otras áreas geográficas, encontramos que los valores de nuestra población son netamente inferiores a los obtenidos en cohortes de EEUU (53,54), centro de Europa (59,62,67) y países nórdicos (61). Se observa lo mismo cuando se evalúa la prevalencia de placas carotídeas (59,67). En cambio, nuestros valores del GIM son similares a los de Francia (61,152) y Japón (153,154). Estas observaciones concuerdan con el conocido gradiente norte-sur de riesgo cardiovascular (155), es decir, menor afectación en los países mediterráneos y Japón que en EEUU y norte de Europa.

Dado que la edad es el principal factor que condiciona la progresión del GIM y la aparición de las placas de ateroma, calculamos las ecuaciones de

regresión del GIM carotídeo en función de la edad para varones y mujeres. (Figura 4 del Estudio 1). En contra de lo esperado, la progresión del GIM con la edad fue superior en las mujeres (0,007 mm por año) respecto a los varones (0,005 mm por año). Este hecho podría explicarse tanto por una aceleración del crecimiento del GIM en la mujer a partir de la menopausia (Tabla 3 del Estudio 1) como por una menor extrapolación de los valores al eje de ordenadas en las mujeres respecto a los varones, lo que indicaría que el crecimiento del GIM en la mujer siempre es inferior al del varón, convergiendo los valores de ambos sexos a la edad de 80 años (Figura 4 del Estudio 1). De nuevo, las tasas de progresión del GIM son superiores en EEUU (53), Reino Unido (67) y Francia (61) (0,01 mm/año) mientras que en Japón (153), la progresión es similar a la obtenida en nuestro estudio (0,006 mm/año).

Con más de 1000 ecografías carotídeas practicadas en pacientes individuales en nuestra Unidad, hemos observado una gran discrepancia entre los valores ecográficos y las puntuaciones obtenidas mediante la ecuación de riesgo de Framingham. Tal y como se indica en el Estudio 2 de la presente tesis, encontramos discordancia entre ambos parámetros en 242 pacientes (59%) de los 409 pacientes evaluados y, de éstos, 193 (80%) tienen más aterosclerosis que la predicha por la ecuación de Framingham. Por otro lado, la ecuación de Framingham sobreestima el riesgo en 1 de cada 3 sujetos clasificados inicialmente como de alto riesgo. Nuestros resultados confirman los hallazgos de los estudios de Stein (39) y Bard (40), los cuales utilizan la ecografía carotídea en 2 muestras pequeñas de sujetos con riesgo intermedio. Ambos autores observaron que, tras la ecografía carotídea, el 36% y 35% de los sujetos de riesgo inicial intermedio se clasificaban de alto riesgo, mientras



que el 14% y el 28% se reestratificaban en categorías de bajo riesgo. Nuestro estudio es el primero en el que, además de pacientes con riesgo intermedio, también se estudian individuos de bajo y alto riesgo, encontrando que la ecografía carotídea reclasifica una proporción considerable de sujetos a otras categorías de riesgo diferentes a las inicialmente determinadas por la ecuación de Framingham.

La discordancia observada entre los hallazgos de la ecografía carotídea y la puntuación de riesgo de Framingham podría deberse a varias razones. Una de ellas sería que la ecuación de Framingham no tiene en cuenta la presencia de síndrome metabólico, el cual está fuertemente asociado con aterosclerosis carotídea en poblaciones jóvenes y de mediana edad (156,157). A pesar de tener una proporción pequeña de pacientes con síndrome metabólico, puesto que se excluyeron los pacientes diabéticos, su presencia explica parte de las discrepancias encontradas en el grupo de riesgo intermedio. Otra razón podría ser la plétora de factores de riesgo asociados al desarrollo de las enfermedades cardiovasculares y que no están considerados en la ecuación de Framingham. Entre ellos destacan los triglicéridos (5,6,158), la lipoproteína(a) (7,10,158) y la homocisteína (7-9,158). En nuestro estudio, estos factores no explican las diferencias encontradas entre ambos índices, aunque el poder estadístico de estas asociaciones se diluye al efectuar subdivisiones entre los grupos y cuando hay valores “perdidos”, como ocurre con la homocisteína. Los factores genéticos también podrían explicar parte de las discrepancias encontradas (159,160). Nosotros hemos evaluado un marcador de predisposición genética, como es la historia familiar de enfermedad cardiovascular prematura (antes de los 55 años en varones y de los 65 años en

mujeres), pero éste no explicó las diferencias encontradas. Probablemente, la razón más importante de la deficiente asociación entre la aterosclerosis carotídea y la puntuación de Framingham sea que el GIM es el reflejo de la acción de todos los factores de riesgo, tanto los conocidos como los que quedan por conocer, pero también de todos aquellos factores que son protectores, conocidos como el colesterol HDL y aún por descubrir. Es decir, cada sujeto tiene un riesgo único de desarrollar aterosclerosis y enfermedad cardiovascular, en función de sus factores de riesgo y de la interacción con su estilo de vida y predisposición genética.

El Estudio 2 es un estudio prospectivo, con seguimiento posterior de los pacientes para determinar la presencia de enfermedad coronaria. De los 409 pacientes incluidos en el estudio, 307 (75%) fueron monitorizados durante más de un año. De éstos, 6 varones sufrieron un evento cardiovascular al cabo de una media de 57 meses (4 IAMs, 2 anginas). Todos ellos eran varones jóvenes ( $47 \pm 11$  años), 3 de ellos fumadores y 4 con hipertensión arterial. Tan sólo 1 de los 6 pacientes había sido considerado inicialmente como paciente de bajo riesgo (<5%) tras el cálculo de la puntuación de Framingham, mientras que todos tenían un GIM carotídeo superior al percentil 75 y 5 (83%) de ellos con placas. Estos resultados apoyan la utilidad de la ecografía carotídea en la detección del paciente vulnerable. En un reciente estudio con 242 sujetos dislipémicos, Baldasarre et al (161) concluyó que la determinación del GIM carotídeo en pacientes de riesgo intermedio, aumentaba el valor predictivo de padecer un evento coronario, mas allá de la determinación del riesgo mediante la ecuación de Framingham.

Actualmente estamos seleccionando estos pacientes con “aterosclerosis no explicada” (GIM patológico con puntuación de riesgo de Framingham <5%) para compararlos con aquellos “protegidos frente a la aterosclerosis” (GIM normal con puntuación de riesgo de Framingham >20%) y poder encontrar nuevos marcadores que contribuyan a la predicción del riesgo más allá de los factores tradicionales. Otro proyecto en marcha derivado de los resultados del Estudio 2 es la realización de un TC coronario en los pacientes con “aterosclerosis inexplicada” por ecografía carotídea para comparar los resultados de ambas técnicas de imagen y mejorar la predicción del riesgo cardiovascular.

Los pacientes con sospecha clínica de HF son remitidos a nuestra Unidad de Lípidos tanto para la confirmación del diagnóstico (detección del defecto molecular) como para la adecuación del tratamiento hipolipemiente. A todos ellos se les analizan los factores de riesgo cardiovascular, tanto tradicionales como emergentes, y se les realiza una ecografía carotídea y de los tendones de Aquiles para la evaluación de aterosclerosis preclínica y detección de xantomas, respectivamente.

En el Estudio 3 de la presente tesis, evaluamos el impacto de los diferentes factores de riesgo en la pared carotídea de casi 200 pacientes asintomáticos con criterios clínicos estrictos de HF (puntuación del *Dutch Lipid Clinic Network*  $\geq 6$ ). La edad, el colesterol HDL, el ejercicio físico, la historia familiar de ECC, el colesterol LDL y los leucocitos, por este orden, eran los factores determinantes independientes del GIM carotídeo y explicaban el 43% de la variabilidad del GIM. Una característica diferencial de este estudio, respecto a trabajos publicados en HF es que los pacientes o no recibían ningún

tratamiento hipolipemiante ( $\approx 50\%$  de los sujetos) o bien un tratamiento ineficaz con dosis bajas de estatinas (equivalente a 24 mg/dL de simvastatina), por lo que la pared arterial no estaba influenciada por el efecto del tratamiento.

A pesar de que la HF se caracteriza por tener unas cifras muy altas de colesterol LDL, el efecto antiaterogénico del colesterol HDL era más potente que el proaterogénico del LDL (Figuras 1 y 2 del Estudio 3). Tal y como se objetiva en la Tabla 3 de este estudio, por cada aumento de 10 mg/dL del colesterol HDL, el GIM carotídeo disminuía 0,03 mm, mientras que por cada aumento de 10 mg/dL del colesterol LDL, el GIM carotídeo aumentaba 0,01 mm. En estudios previos con cohortes pequeñas de pacientes con HF, el colesterol HDL no se asociaba con el grosor de la pared arterial (126) o bien esta relación era débilmente negativa en el análisis univariante, pero no en el multivariante, como predictor independiente del GIM carotídeo (127,128,130). Sin embargo, en estudios transversales y en muestras grandes de pacientes con HF, tener un colesterol HDL elevado se asociaba a un menor riesgo de ECC (125,140,143,162) y también en un estudio de casos y controles en pacientes con HF con diagnóstico molecular (163). Nuestros resultados concuerdan con las propiedades antiaterogénicas atribuidas al colesterol HDL, ya que éste facilita el transporte reverso del colesterol y evita la oxidación de las partículas de colesterol LDL, entre sus múltiples propiedades (164,165).

Las cifras de colesterol HDL de este estudio son comparables a las publicadas en un estudio poblacional español de referencia (166), así como a las obtenidas en una muestra poblacional española analizada en nuestro mismo laboratorio y en la misma región geográfica (Estudio 1 de la presente tesis). Probablemente los pacientes con HF están sujetos a las mismas

influencias genéticas y ambientales que condicionan las cifras de colesterol HDL en la población general.

Existen numerosas evidencias de que los cocientes entre parámetros lipídicos tienen un valor predictivo de futuros eventos coronarios superior al de considerar las cifras de lípidos por separado (163,167). Según nuestros resultados, los pacientes con un cociente colesterol total/colesterol HDL  $\leq 5$  tenían una pared arterial más delgada en comparación con los pacientes con un cociente superior. Del mismo modo, al sustituir en el análisis multivariante los valores de colesterol LDL y HDL por el cociente colesterol total/HDL, se obtenían los mismos factores predictivos, pero éstos explicaban el 48% de la variabilidad del GIM, mientras que las cifras lipídicas aisladas explicaban el 41%.

Un hallazgo interesante de este estudio fue que el recuento de leucocitos, marcador inespecífico de inflamación, se asociaba de modo independiente con el GIM carotídeo. Este marcador ha sido analizado en otros estudios en pacientes con HF con resultados contradictorios, resultando ser (168) y no ser (161) un factor de riesgo independiente de ECC. Sin embargo, el estudio ARIC (169), un estudio de seguimiento de una gran cohorte poblacional en EEUU, confirma que el recuento de leucocitos es un predictor independiente de enfermedades cardiovasculares. Una excelente revisión (170) publicada recientemente, encuentra que la cifra de leucocitos es un marcador pronóstico e independiente de futuros eventos cardiovasculares, independientemente del estado de la enfermedad. Asimismo, esta relación persiste tras ser ajustada por los diferentes factores de riesgo, incluyendo el tabaco. La elevación plasmática de los leucocitos favorece la proteólisis y daño oxidativo de las células

endoteliales con la afectación de la microcirculación y la activación de la cascada de la coagulación. En función de los resultados obtenidos y dado que es un marcador más asequible y de menor coste que la PCR ultrasensible, sería aconsejable su determinación para la valoración del riesgo cardiovascular en pacientes con y sin HF.

A pesar de que el diagnóstico de certeza de HF lo proporciona la detección del defecto genético, la presencia de xantomas tendinosos contribuye en gran medida al diagnóstico clínico de HF. En la práctica clínica, excepto en los casos más llamativos, la identificación de xantomas tendinosos mediante la exploración física es incierta. En estos casos, la ecografía de los tendones de Aquiles es una herramienta útil para su identificación, tal y como se evidencia en el Estudio 4.

En este estudio, tras realizar una ecografía de los tendones en 127 pacientes con HF (81 de ellos con diagnóstico genético) se detectaron xantomas en el 68% y el 46% de los pacientes con y sin diagnóstico molecular, respectivamente (Tabla 4 del Estudio 4). En cambio, estos porcentajes fueron del 43% y del 22% por examen físico en los mismos pacientes. Estos resultados confirman la superioridad de la ecografía respecto a la exploración física en la detección de xantomas.

El interés de este estudio radica en que las características ecográficas de los tendones en pacientes con dislipemias distintas a la HF no habían sido descritas anteriormente. Ebeling et al (148) compararon las características de los tendones de pacientes HF con un grupo de pacientes con dislipemia severa no HF, mientras que Descamps et al (151) los compararon con un grupo control y un grupo dislipémico no HF. Nosotros no encontramos diferencias en el

grosor de los tendones entre el grupo de pacientes con dislipemia no HF respecto al grupo control. En cambio, el tamaño de los tendones era significativamente superior en los pacientes con HF en comparación con el resto de grupos analizados y, además, estas diferencias persistían a pesar de corregir los valores por la edad, peso y colesterol LDL. Estos resultados indican que el engrosamiento de los tendones de Aquiles es un rasgo específico de la HF.

En concordancia con los trabajos publicados hasta la actualidad (146, 149, 151, 171), los varones con y sin HF tenían unos tendones más gruesos que las mujeres. Probablemente esto se debe al mayor desarrollo del aparato muscular en los varones respecto a las mujeres. Otra explicación posible sería el generalmente mayor peso de los varones, lo que supondría un tendón de Aquiles más grueso debido a la función de soporte de los tendones. Asimismo, el grosor de los tendones se asociaba de forma positiva con el colesterol LDL y negativa con el HDL únicamente en los pacientes HF, por lo que la gravedad del fenotipo lipídico parece condicionar el depósito de colesterol en los tendones. La presencia de cifras elevadas de colesterol LDL desde los primeros años de la vida (107,109,121) explicaría estos hallazgos.

Los puntos de corte del grosor de los tendones descritos en nuestro estudio son similares a los publicados por Descamps et al (151). Estos autores proponen un único punto de corte de 5,8 mm con una elevada sensibilidad y especificidad (superiores al 75%). En cambio, nosotros determinamos 4 puntos de corte específicos en función de la mediana de edad y del sexo con una elevada sensibilidad pero menor especificidad para evitar los falsos positivos (Tabla 3 del Estudio 4).

Finalmente, la aplicación de estos puntos de corte a 70 pacientes con HF confirmada por diagnóstico molecular y 54 pacientes con dislipemia no HF procedentes de una Unidad de Lípidos de Zaragoza, clasificó correctamente como HF y no HF al 80% y al 88% de los casos, respectivamente. De esta forma, validamos nuestros puntos de corte con otra muestra de pacientes que utilizó el mismo protocolo ecográfico que nuestro centro.

A pesar de que otras técnicas de imagen, como la TC o la RMN, pueden medir de forma más precisa el tamaño de los tendones de Aquiles, ninguna de ellas permite detectar la existencia de una ecoestructura alterada (xantomas) como la ecografía (172). Por lo tanto, dado que la ecografía es una técnica no invasiva, rápida, de bajo coste y reproducible, y tras los hallazgos obtenidos en el presente estudio, aconsejamos su utilización como herramienta diagnóstica en los pacientes con sospecha clínica de HF.



## 9. CONCLUSIONES

### 9.1. CONCLUSIONES DEL PRIMER ESTUDIO

1. Se han definido los valores de referencia del GIM medio, GIM máximo y presencia de placas en una cohorte comunitaria española.
2. Los puntos de corte descritos pueden utilizarse en la práctica clínica para maximizar la definición de riesgo cardiovascular más allá de los factores tradicionales.
3. El GIM y la presencia de placas se asocian principalmente con la edad en ambos sexos.
4. La comparación de las cifras de GIM, frecuencia de placas y progresión del GIM con la edad en esta cohorte con otras series de distinta procedencia geográfica indica que existe una menor aterosclerosis preclínica en las poblaciones mediterráneas que en el norte de Europa y EEUU.

## 9.2. CONCLUSIONES DEL SEGUNDO ESTUDIO

1. Existe una discordancia notable entre la evaluación de la aterosclerosis preclínica carotídea mediante ecografía y el cálculo del riesgo mediante la puntuación de la ecuación de Framingham en una muestra grande de sujetos asintomáticos con hiperlipemia.
2. Los hallazgos de la ecografía carotídea indican que el riesgo cardiovascular de más de la mitad de los individuos dislipémicos fue infraestimado por la ecuación de Framingham (aterosclerosis inexplicada). En cambio, la puntuación de Framingham sobreestimó el riesgo en 1 de cada 3 sujetos (protección frente a la aterosclerosis).
3. En la cohorte total, la edad vascular estimada fue superior a la edad cronológica en 14,5 años.
4. De los 6 pacientes que sufrieron un evento durante la monitorización del estudio, tan sólo 1 tenía una puntuación de Framingham >20%, mientras que todos tenían una ecografía carotídea alterada.
5. Tanto la valoración de aterosclerosis preclínica como el cálculo de la edad vascular a partir de la ecografía carotídea pueden ser útiles para refinar el riesgo cardiovascular individual y establecer una conducta terapéutica adecuada dirigida a la prevención de futuros eventos coronarios.
6. Los estudios genéticos y la determinación de nuevos marcadores de riesgo en los pacientes con aterosclerosis inexplicada en comparación con los protegidos pueden ser importantes para la identificación del paciente vulnerable.

### 9.3. CONCLUSIONES DEL TERCER ESTUDIO

1. Los factores de riesgo tradicionales explican una parte importante de la aterosclerosis preclínica medida por la determinación del GIM carotídeo en los pacientes con HF.
2. En la HF, el colesterol HDL es un factor protector de aterosclerosis preclínica más potente que el colesterol LDL, un factor lesivo y un cociente colesterol total/colesterol HDL  $<5$  protege del desarrollo de aterosclerosis preclínica en comparación con un cociente  $>5$ .
3. La práctica de ejercicio físico, la historia familiar de enfermedad cardiovascular prematura y la cifra de leucocitosis son factores de riesgo independientes de aterosclerosis preclínica en los pacientes con HF.
4. El colesterol HDL en los pacientes con HF es una importante diana terapéutica futura.

#### 9.4. CONCLUSIONES DEL CUARTO ESTUDIO

1. Las características ecográficas de los tendones de Aquiles de los pacientes con dislipemia no HF no difieren de las de los controles.
2. Los puntos de corte de normalidad del grosor del tendón de Aquiles en función del sexo y la edad permiten clasificar razonablemente a los individuos hipercolesterolémicos entre aquellos con y sin HF.
3. La detección ecográfica de xantomas mediante ecografía duplica la tasa de detección mediante la exploración física.
4. La ecografía de los tendones de Aquiles es una herramienta diagnóstica muy útil para la identificación de xantomas en pacientes con sospecha clínica de HF.

## 9.5. CONCLUSIONES GLOBALES

La ecografía carotídea de alta resolución es una técnica diagnóstica incruenta, útil, validada, reproducible y de bajo coste que permite:

1. La detección de la aterosclerosis preclínica incipiente mediante la determinación del GIM carotídeo.
2. La detección de la aterosclerosis preclínica avanzada mediante la presencia de placas de ateroma.
3. La estratificación del riesgo cardiovascular más allá de los factores de riesgo tradicionales.
4. La evaluación de la carga aterosclerótica de cada sujeto en función del impacto de los diferentes factores de riesgo en la pared arterial.
5. Adaptar la intensidad de la intervención sobre los factores de riesgo a los hallazgos ecográficos.

La ecografía de los tendones de Aquiles permite:

1. Confirmar la probabilidad diagnóstica de HF mediante la detección de xantomas tendinosos mediante un grosor aumentado o una ecoestructura alterada.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH, Badimon L. Coronary atherosclerosis: a multifactorial disease. *Circulation* 1993;87(suppl):II3-II16.
2. Elosua R, Belmonte E, Sentí M, Masià R, Marrugat J. ¿Debe diseñarse una estrategia específica de prevención primaria de la cardiopatía isquémica para los países mediterráneos de Europa? *Clin Invest Arterioscler* 2000;12:29-41.
3. Pérez-Jiménez F, Ros E, Solá R, Godás G, Pérez-Heras A, Serra M, et al. Consejos para ayudar a controlar el colesterol con una alimentación saludable. *Clin Invest Arterioscler* 2006;18:104-110.
4. Grundy SM. Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. *J Am Coll Cardiol* 2006;5:295-309.
5. Muntner P, He J, Chen J, Fonseca V, Whelton PK. Prevalence of non-traditional cardiovascular disease risk factors among persons with impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance, diabetes and the metabolic syndrome: analysis of the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Ann Epidemiol* 2004;14:686-695.
6. Barghash NA, Elewa SM, Hamdi EA, Barghash AA, El Dine R. Role of plasma homocysteine and lipoprotein(a) in coronary artery disease. *Br J Biomed Sci* 2004;61:78-83.
7. Mayer E, Jacobsen D, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:517-527.
8. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997;277:1775-1781.

9. Bostom AG, Cupples LA, Jenner JL, Ordovas JM, Seman LJ, Wilson PW, et al. Elevated plasma lipoprotein(a) and coronary heart disease in men aged 55 years and younger. A prospective study. *JAMA* 1996;276:544-548.
10. Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer H, Löwel H, Döring A, et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men. Results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease). *Circulation* 1999;99:237-242.
11. Montalescot G, Collet JP, Choussat R, Thomas D. Fibrinogen as a risk factor for coronary heart disease. *Eur Heart J* 1998;19:11-17.
12. Knuops KT, de Groot LC, Kromhout D, Perrin AE, Moreiras-Varela O, Menotti A, van Staveren WA. Mediterranean diet, lifestyle factors and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project. *JAMA* 2004;292:1433-1439.
13. Beswick A, Brindle P. Risk scoring in the assessment of cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol* 2006;17:375-386.
14. Kannel WB, McGee D, Gordon T. A general cardiovascular risk profile: the Framingham Study. *Am J Cardiol* 1976;38:46-51.
15. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) *JAMA* 2001;285:2486-2497.

16. Wilson PW, D' Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silvershtaz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97:1837-1847.
17. Anderson KM, Wilson PW, Odell PM, Kannel WB. An updated coronary risk profile: a statement for health professionals. *Circulation* 1991;83:356-362.
18. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple risk factor assessment equations. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation* 1999;100:1481-1492.
19. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. on behalf of the SCORE project group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J* 2003;24:987-1003.
20. Assman G, Cullen P, Shulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of Acute Coronary Events based on 10-year follow-up of the Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) Study. *Circulation* 2002;105:310-315.
21. Marrugat J, Solanas P, D'Agostino R, Sullivan S, Ordovas J, Cordon F, et al. Coronary risk estimation in Spain using a calibrated Framingham Function. *Rev Esp Cardiol* 2003;56:253-261.
22. Aranceta J, Perez C, Foz M, Mantilla T, Serra L, Moreno B, et al. Tablas de evaluación del riesgo coronario adaptadas a la población española. Estudio DORICA. *Med Clin (Barc)* 2004;123:686-691.
23. Hense H, Schulte H, Löwel H, Assmann G, Keil U. Framingham risk function overestimates risk of coronary heart disease in men and women from Germany-



results from the MONICA Augsburg and the PROCAM cohorts. *Eur Heart J* 2003;24:937-945.

24. Empana JP, Ducimetière P, Arviler D, Ferrières J, Evans A, Ruidavets JB. Are the Framingham and PROCAM coronary heart disease risk functions applicable to different European populations? The PRIME study. *Eur Heart J* 2003;24:1903-1911.

25. Menotti A, Puddu PE, Lanti M. Comparison of the Framingham risk function based coronary chart with risk function from an Italian population study. *Eur Heart J* 2000;21:365-370.

26. Brindle P, Emberson J, Lampe F, Walker M, Whincup P, Fahey T, Ebrahim S. Predictive accuracy of the Framingham coronary risk score in British men: prospective cohort study. *BMJ* 2003;327:1267-1273.

27. Ramos R, Solanas P, Cerdón F, Rohlfs I, Elosua R, Sala J, Masiá R, Faixedas M, Marrugat J. Comparación de la función de Framingham original y la calibrada del REGICOR en la predicción del riesgo coronario poblacional. *Med Clin (Barc)* 2003;121:521-526.

28. Marrugat J, D'Agostino R, Sullivan L, Elosua R, Wilson P, Ordovas J, et al. An adaptation of the Framingham coronary heart disease risk function to European mediterranean areas. *J Epidemiol Community Health* 2003;57:634-638.

29. D'Agostino RB, Grundy S, Sullivan LM, Wilson P. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA* 2001;286:180-187.

30. Verschuren WM, Jacobs DR, Bloemberg BP, Kromhout D, Menotti A, Aravanis C, et al. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease

mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. *JAMA* 1995;274:131-136.

31. Haq IU, Ramsay LE, Yeo WW, Jackson PR, Wallis EJ. Is the Framingham risk function valid for northern European populations? A comparison of methods for estimating absolute coronary risk in high risk men. *Heart* 1999;81:40-46.

32. Akosah KO, Schaper A, Cogbill C, Schoenfeld P. Preventing myocardial infarction in the young adult in the first place: how do the National Cholesterol Education Panel III Guidelines perform? *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1475-1479.

33. Smith SC Jr, Greenland P, Grundy SM. AHA Conference Proceedings. Prevention Conference V. Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patients for primary prevention: executive summary. *Circulation* 2000;101:111-116.

34. Greenland P, Smith SC Jr, Grundy SM. Improving coronary heart disease risk assessment in asymptomatic people. The role of traditional risk factors and non-invasive cardiovascular tests. *Circulation* 2001;104:1863-1867.

35. Ministerio de Sanidad y Consumo, Sociedad Española de Cardiología y Sociedad Española de Arteriosclerosis. Control de la colesterolemia en España, 2000. Un instrumento para la prevención cardiovascular. *Clin Invest Arterioscler* 2000;12:125-152.

36. Wood D, De Backer G, Faergeman O, Graham I, Mancia G, Pyorala K, et al. Prevention of coronary heart disease in clinical practice: Recommendations of the Second Joint Task Force of European and other Societies on coronary prevention. *Atherosclerosis* 1998;140:199-270.

37. Stamler J, Stamler R, Neaton JD, Wentworth D, Daviglius ML, Garside D, et al. Low risk factor profile and long-term cardiovascular and noncardiovascular

mortality and life expectancy: findings for 5 large cohorts of young adult and middle-aged men and women. *JAMA* 1999;282:2012-2128.

38. Jacobson TA, Griffiths GG, Varas C, Gause D, Sung JC, Ballantyne CM. Impact of evidence-based “clinical judgment” on the number of American adults requiring lipid-lowering therapy based on updated NHANES III data: National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2000;160:1361-1369.

39. Stein JH, Fraizer MC, Aeschlimann SE, Nelson-Worel J, McBride PE, Douglas PS. Vascular age: integrating carotid intima-media thickness measurements with global coronary risk assessment. *Clin Cardiol* 2004;27:388-392.

40. Bard RL, Kalsi H, Rubenfire M, Wakefield T, Fex B, Rajagopalan S, Brook RD. Effect of carotid atherosclerosis screening on risk stratification during primary cardiovascular disease prevention. *Am J Cardiol* 2004;93:1030-1032.

41. Naghavi M, Falk E, Hecht H, Jamieson M, Kaul S, Berman D, et al. From Vulnerable Plaque to Vulnerable patient part III: Executive Summary of the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force Report. *Am J Cardiol* 2006;98:2-15.

42. Bots M, Evans G, Riley W, Grobbee D. Carotid intima-media thickness measurements in intervention studies. Design options, progression rates and sample size considerations: a point of view. *Stroke* 2003;23:2985-2994.

43. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986;74:1399-1406.

44. De Groot E, Hovingh K, Wiegman A, Duriez P, Smit A, Fruchart J, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(suppl III):III33-III38.
45. O'Leary DH, Polak JF. Intima-media thickness: a tool for atherosclerosis imaging and event prediction. *Am J Cardiol* 2002;990 (supl.10C):18L-21L.
46. Kastelein JJ, de Groot E, Sankatsing R. Atherosclerosis measured by B-mode ultrasonography: effects of statin therapy on disease progression. *Am J Med* 2004;116(6A):31S-36S.
47. Nagal Y, Matsumoto M, Metter EJ. The carotid artery as a non-invasive window for cardiovascular risk in apparently healthy individuals. *Ultrasound Med Biol* 2002;28:1231-1238.
48. Simon A, Gariépy J, Chironi C, Megnien JL, Levenson J. Intima-media thickness : a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002;20:159-169.
49. Cheng KS, Mikhailidis DB, Hamilton G, Seifalian AM. A review of the carotid and femoral intima-media thickness as an indicator of the presence of peripheral vascular disease and cardiovascular risk factors. *Cardiovasc Res* 2002;54:528-538.
50. Mukherjee D, Yadav JS. Carotid artery intimal-media thickness: indicator of atherosclerotic burden and response to risk factor modification. *Am Heart J* 2002;144:753-759.
51. Barth JD. Which tools are in your cardiac workshop? Carotid ultrasound, endothelial function and magnetic resonance imaging. *Am J Cardiol* 2001;87 (supl):8A-14A.

52. Baldassarre D, Amato D, Bondioli A, Sirtori CR, Tremoli E. Carotid artery intima-media thickness measured by ultrasonography in normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors. *Circulation* 2000;31:2426-2430.
53. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults: Cardiovascular Health Study. *N Engl J Med* 1999;340:14-22.
54. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, Clegg LX. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997;146:483-494.
55. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 2000;151:478-487.
56. Aminbakhsh A, Mancini GB. Carotid intima-media thickness measurements: what defines an abnormality? A systematic review. *Clin Invest Med* 1999;22:149-157.
57. Ros E, Zambón D, Gilabert R. Técnicas de diagnóstico de aterosclerosis preclínica y su utilización para mejorar la predicción de riesgo cardiovascular. *Clin Invest Arterioscler* 2002;14:187-197.
58. Bovet P, Pret F, Cornuz J, Quilindo J, Paccaud F. Improved smoking cessation in smokers given ultrasound photographs of their own atherosclerotic plaques. *Prev Med* 2002;34:215-220.

59. Van der Meer I, Bots M, Hofman A, Iglesias del Sol A, Van der Kuip D, Witterman J. Predictive value of non-invasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction. The Rotterdam study. *Circulation* 2004;109;30:841-850.
60. Stensland-Bugge E, Bonna K, Joakimsen O. Age and sex differences in the relationship between inherited and lifestyle risk factors and subclinical carotid atherosclerosis: the Tromso study. *Atherosclerosis* 2001;154:437-448.
61. Zureik M, Touboul PJ, Bonithon-Kopp C, Courbon D, Berr C, Leroux C, et al. Cross-sectional and 4-year longitudinal associations between brachial pulse pressure and common carotid intima-media thickness in a general population. The EVA study. *Stroke* 1999;30:550-555.
62. Allan P, Mowbray P, Lee A, Fowkes G. Relationship between carotid intima-media thickness and symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease. The Edinburgh Artery study. *Stroke* 1997;28:348-353.
63. Prati P, Vanuzzo D, Casaroli M, Di Chiara A, De Biasi F, Feruglio GA, et al. Prevalence and determinants of carotid atherosclerosis in a general population. *Stroke* 1992;23:1705-1711.
64. Mannami T, Konishi M, Baba S, Nishi N, Terao A. Prevalence of asymptomatic carotid atherosclerotic lesions detected by high-resolution ultrasonography and its relation to cardiovascular risk factors in the general population of a Japanese city. The Suita study. *Stroke* 1997;28:518-525.
65. Crouse JR, III Tang R, Espeland MA, Terry JG, Morgan T, Mercuri M. Associations of extracranial carotid atherosclerosis progression with coronary status and risk factors in patients with and without coronary artery disease. *Circulation* 2002;106:2061-2066.

66. Salonen R, Salonen JT. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993;87:56-65.
67. Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, Wannamethee G, Walker M, Nicolaides A, et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women. The British Regional Heart study. *Stroke* 1999;30:841-850.
68. Urbina E, Srinivasan S, Tang R, Bond G, Kieltyka L, Berenson G. Impact of multiple coronary risk factors on the intima-media thickness of different segments of carotid artery in healthy young adults (The Bogalusa Heart study). *Am J Cardiol* 2002;90:953-958.
69. Salonen JT, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1245-1249.
70. Hollander M, Bots ML, Iglesias del Sol A, Koudstaal PJ, Witteman JCM, Grobbee DE, et al. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly. The Rotterdam study. *Circulation* 2002;105:2872-2877.
71. Iglesias del Sol A, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, Witteman JCM. Carotid intima-media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction. *Eur Heart J* 2002;23:934-940.
72. Kitamura A, Iso H, Imano H, Ohira T, Okada T, Sato S, et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke* 2004;35:2788-2794.
73. Lorenz M, von Kegler S, Steinmetz H, Markus H, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range.

Prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression study (CAPS).  
Stroke 2006;37:87-92.

74. Hodis H, Mack W, LaBree L, Setzer R, Chao-ran Liu, Ci-hua Liu, et al. The role of carotid intima-media thickness in predicting clinical coronary events. Ann Intern Med 1998;128:262-269.

75. Furberg CD, Adams HP, Applegate WB, Byington RP, Espeland MA, Hartwell T, et al. Effect of lovastatin on early carotid atherosclerosis and cardiovascular events. Asymptomatic Carotid Artery Progression Study (ACAPS) Research Group. Circulation 1994;90:1679-1687.

76. Crouse III JR, Byington RP, Bond MG, Espeland MA, Craven TE, Sprinkle JW, et al. Pravastatin, Lipids, and Atherosclerosis in the Carotid arteries (PLAC-II). Am J Cardiol 1995;75:455-459.

77. Salonen R, Nyssonen K, Porkkala E, Rummukainen J, Belder R, Park JS, et al. Kuopio Atherosclerosis Prevention Study (KAPS): A population-based primary preventive trial of the effect of LDL lowering on atherosclerotic progression in carotid and femoral arteries. Circulation 1995;92:1758-1764.

78. Mercuri M, Bond MG, Sirtori CR, Veglia F, Crepaldi G, Feruglio FS, et al. Pravastatin reduces carotid intima-media thickness progression in an asymptomatic hypercholesterolemic mediterranean population: the Carotid Atherosclerosis Italian Ultrasound Study. Am J Med 1996;101:627-634.

79. Baldassarre D, Veglia F, Gobbi C, Gallus G, Ventura A, Crepaldi G, et al. Intima-media thickness after pravastatin stabilizes also in patients with moderate to no reduction in LDL-cholesterol levels: the Carotid Atherosclerosis Italian Ultrasound Study. Atherosclerosis 2000;151:575-583.



80. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu C, Alaupovic P, et al. Reduction in carotid arterial wall thickness using lovastatin and dietary therapy: a randomized controlled clinical trial. *Ann Intern Med* 1996;124:548-556.
81. Hodis HN, Mack WJ, Dunn M, Liu C, Selzer RH, Krauss RM. Intermediate-density lipoproteins and progression of carotid arterial wall intima-media thickness. *Circulation* 1997;95:2022-2026.
82. MacMahon S, Sharpe N, Gamble G, Hart H, Scott J, Simes J, et al. Effects of lowering average or below-average cholesterol levels on the progression of carotid atherosclerosis. Results of the LIPID atherosclerosis substudy. LIPID Trial Research Group. *Circulation* 1998;97:1784-1790.
83. de Groot E, Jukema JW, Montauban van Swijndregt AD, Zwinderman AH, Ackerstaff RG, van der Steen AF, et al. B-mode ultrasound assessment of pravastatin treatment effect on carotid and femoral artery walls and its correlations with coronary arteriographic findings: a report of the Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1561-1567.
84. Heldblad B, Wikstrand J, Janzon L, Wedel H, Berglund G. Low dose metoprolol CR/XL and fluvastatin slow progression of carotid intima-media thickness: main results from the Beta-blocker Cholesterol-lowering Asymptomatic Plaque Study (BCAPS). *Circulation* 2001;103:1721-1726.
85. Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, Trip MD, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet* 2001;357:577-581.

86. Taylor AJ, Kent SM, Flaherty PJ, Coyle LC, Markwood TT, Vernalis MN. ARBITER: Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol. A randomized trial comparing the effects of atorvastatin and pravastatin on carotid intima medial thickness. *Circulation* 2002;106:2055-2060.
87. Kent SM, Coyle LC, Flaherty PJ, Markwood TT, Taylor AJ. Marked low-density lipoprotein cholesterol reduction below current National Cholesterol Education Program targets provides the greatest reduction in carotid atherosclerosis. *Clin Cardiol* 2004;27:17-21.
88. Bemelmans WJE, Lefrandt JD, Feskens EJM, Broer J, Tervaert JWC, May JF, et al. Change in saturated fat intake is associated with progression of carotid and femoral intima-media thickness, and with levels of soluble intercellular adhesion molecule-1. *Atherosclerosis* 2002;163:113-120.
89. Okada K, Maeda N, Tatsukawa M, Shimizu C, Sawayama Y, Hayashi J. The influence of lifestyle modification on carotid artery intima-media thickness in a suburban Japanese population. *Atherosclerosis* 2004;173:329-337.
90. O'Rourke RA, Brundage BH, Froelicher VG. American College of Cardiology. American Heart Association Expert Consensus Document on electron-beam computed tomography for the diagnosis and prognosis of coronary artery disease. *Circulation* 2000;102:126-40.
91. Valabhji J, Elkeles RS. Non-invasive measurement of coronary heart disease using electron beam computed tomography. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:409-414.

92. Achenbach S, Daniel WG. Imaging of coronary atherosclerosis using computed tomography: current status and future directions. *Curr Atheroscler Rep* 2004;6:213-218.
93. Detrano RC, Wong ND, Doherty TM, Shavelle RM, Tang W, Ginzton LE, et al. Coronary calcium does not accurately predict near-term future coronary events in high risk adults. *Circulation* 1999;99:2633-2638.
94. Oei HH, Vliegenthart R, Hak AE, Iglesias del Sol A, Hofman A, Oudkerk M, et al. The association between coronary calcification assessed by electron beam computed tomography and measures of extracoronary atherosclerosis. The Rotterdam Coronary Calcification Study. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1745-1751.
95. Callister TQ, Raggi P, Cooil B, Lippolis NJ, Russo DJ. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography. *N Engl J Med* 1998;339:1972-1978.
96. Achenbach S, Ropers D, Pohle K, Leber A, Thilo C, Knez A, et al. Influence of lipid-lowering therapy on the progression of coronary artery calcification: a prospective evaluation. *Circulation* 2002;106:1077-1082.
97. Raggi P, Callister TQ, Shaw LJ. Progression of coronary artery calcium and risk of first myocardial infarction in patients receiving cholesterol-lowering therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1272-1277.
98. Raggi P, Callister TQ, Davidson M, Welty FK, Bachmann GA, Laskey R, et al. Aggressive versus moderate lipid-lowering therapy in postmenopausal women with hypercholesterolemia: rationale and design of the Beyond Endorsed Lipid Lowering with EBT Scanning (BELLES) trial. *Am Heart J* 2001;141:722-726.

99. Prokop M. Multislice CT angiography. *Eur J Radiol* 2000;36:86-96.
100. Yuan C, Zhao XQ, Hatsukami TS. Quantitative evaluation of carotid atherosclerotic plaques by magnetic resonance imaging. *Curr Atheroscler Rep* 2002;4:351-357.
101. Corti R, Fuster V. New understanding, diagnosis, and prognosis of atherothrombosis and the role of imaging. *Am J Cardiol* 2003;91:17A-26A.
102. Zhao XQ, Yuan C, Hatsukami TS, Frechette EH, Kang XJ, Maravilla KR, et al. Effects of prolonged intensive lipid-lowering therapy on the characteristics of carotid atherosclerotic plaques in vivo by MRI. A case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1623-1629.
103. Corti R, Fuster V, Fayad ZA, Worthley SG, Helft G, Smith D, et al. Lipid lowering by simvastatin induces regression of human atherosclerotic lesions. Two years' follow-up by high-resolution noninvasive magnetic resonance imaging. *Circulation* 2002;106:2884-2887.
104. Nissen SE, Yock P. Intravascular ultrasound: novel pathophysiological insights and current clinical applications. *Circulation* 2001;103:604-616.
105. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Brown BG, Ganz P, Vogel RA, et al. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis. A randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:1071-1080.
106. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, Libby P, Raichlen JS, Ballantyne CM, et al. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis : the ASTEROID trial. *JAMA* 2006;295:1583-1584.

107. Civeira F. International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2004;173:55-68.
108. WHO. Human Genetic Program. Familial hipercolesterolemia, report of a WHO consultation. WHO/HGN/FH/CONS/98.7 Paris; October 1997.
109. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic basis of inherited disease*, vol 120. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 2863-2913.
110. Austin M, Hutter C, Zimmern R, Humphries S. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol* 2004;160:407-420.
111. Pullinger CR, Eng C, Salen G, Shefer S, Batta AK, Erickson SK, et al. Human cholesterol 7 alpha hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype. *J Clin Invest* 2002;110:109-117.
112. Innerarity TL, Mahley RW, Weisgraber KH, Bersot TP, Krauss RM, Vega GL, et al. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1990;31:1337-1349.
113. Myant NB. Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1993;104:1-18.
114. Varret M, Rabes JP, Saint-Jore B, Cenarro A, Marinoni JC, Civeira F, et al. A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34.1-p32. *Am J Hum Genet* 1999;64:1378-1387.
115. Hunt SC, Hopkins PN, Bulka K, McDermott MT, Thorne TL, Wardell BB, et al. Genetic localization to chromosome 1p32 of the third locus for familial

hypercholesterolemia in a Utah kindred. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1089-1093.

116. Abifadel M, Varret M, Rabes JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hipercolesterolemia. *Nat Genet* 2003 ;34 :154-156.

117. Tejedor D, Castillo S, Mozas P, Jiménez E, López M, Tejedor MT, et al. Reliable low-density DNA array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clin Chem* 2005;51:1-8.

118. Blesa S, García-García AB, Martínez-Hervas S, Luisa M, González-Albert V, Francisco J, et al. Análisis of sequence variations in the LDL receptor gene in Spain: general gene screening of search for specific alterations? *Clin Chem* 2006;52:1021-1025.

119. Mabuchi H, Koizumi J, Shimuzu M, Takeda R, Hokuriku FH, CHD Study Group. Development of coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1989;79:225-232.

120. Miettinen T, Gylling H. Mortality and cholesterol metabolism in familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis* 1988;8:163-167.

121. Marks D, Thorogood M, Neil A, Humphries S. A review on the diagnosis, natural history and treatment of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2003;168:1-14.

122. Gidding SS, Booksteien LC, Chomka EV. Usefulness of electron beam tomography in adolescents and young adults with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1998;98:2580-2583.

123. Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M, Takeda R. Development of coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1989;79:225-232.

124. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Familial hypercholesterolemia and coronary heart disease: a HuGE association. *Am J Epidemiol* 2004;160:421-429.
125. Jansen ACM, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, Trip MD, Lansberg PJ, Liem AH, et al. The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia: data in 2400 patients. *J Intern Med* 2004;256:482-490.
126. Wendelhag I, Wiklund O, Wikstrands J. Arterial wall thickness in familial hypercholesterolemia. Ultrasound measurement of intima-media thickness in the common carotid artery. *Arterioscler Thromb*. 1992;12:70-77.
127. Tonstad S, Joakimsen O, Stensland-Bugge E, Ose L, Bonna KH, Leren TP. Carotid intima-media thickness and plaque in patients with familial hypercholesterolemia mutations and control subjects. *Eur J Clin Invest* 1998;28:971-979.
128. Taira K, Bujo H, Kobayashi J, Takahashi K, Miyazaki A, Saito Y. Positive family history for coronary heart disease and 'midband lipoproteins' are potential risk factors of carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2002;160:391-397.
129. Descamps OS, Gilbeau JP, Leysen X, Van Leuven F, Heller FR. Impact of genetic defects on atherosclerosis in patients suspected of familial hypercholesterolemia. *Eur J Clin Invest* 2001;31:958-965.
130. Sidhu PS, Naoumova RP, Maher VM, MacSweeney JE, Neuwirth CK, Hollyer JS, et al. The extracranial carotid artery in familial hypercholesterolaemia: relationship of intimal-medial thickness and plaque

morphology with plasma lipids and coronary heart disease. *J Cardiovasc Risk* 1996;3:61-67.

131. Wittekoek ME, de Groot E, Prins MH, Trip MD, Büller HR, Kastelein JJ. Differences in intima-media thickness in the carotid and femoral arteries in familial hypercholesterolemic heterozygotes with and without clinical manifestations of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 1999;146:271-279.

132. Pauciuolo P, Giannino A, De Michele M, Gentile M, Liguori R, Argiriou A, et al. Increased carotid artery intima-media thickness is associated with a novel mutation of low-density lipoprotein receptor independently of major cardiovascular risk factors. *Metabolism* 2003;52:1433-1438.

133. Leus FR, Wittekoek ME, Prins J, Kastelein JJ, Voorbij HA. Paraoxonase gene polymorphisms are associated with carotid arterial wall thickness in subjects with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2000;149:371-377.

134. Kruth HS. Lipid deposition in human tendon xanthoma. *Am J Pathol* 1985;121:311-315.

135. Moghadasian MH. Cerebrotendinous xanthomatosis: clinical course, genotypes and metabolic backgrounds. *Clin Invest Med* 2004;27:42-50.

136. Mahley R, Huang Y, Rall S. Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia): questions, quandaries and paradoxes. *J Lipid Res.* 1999;40:1933-1949.

137. Lee MH, Lu K, Hazard S, Yu H, Shulenin S, Hidaka H, et al. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet* 2001;27:79-83.



138. Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 2000;290:1771-1775.
139. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005;353:1261-1273.
140. Bertolini S, Cantafora A, Averna M, Cortese C, Motti C, Martini S, et al. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:E41-E52.
141. Alonso R, Castillo S, Civeira F, Puzo J, La Cruz JJ, Pocoví M, et al. Heterozygous familial hypercholesterolemia in Spain. Description of 819 unrelated cases. *Med Clin (Barc)* 2002;118:487-492.
142. WHO-Human genetics DoNDP. Familial hypercholesterolemia. Report of a second WHO consultation. Geneva: WHO:1999.
143. Ferrieres J, Lambert J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia patients with the same LDL receptor gene mutation. *Circulation* 1995;92:290-295.
144. Scientific Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. *BMJ* 1991;303:893-896.
145. Williams RR, Hunt SC, Schumacher M, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol* 1993;72:171-176.

146. Yuzawa K, Yamakawa K, Tohno E, Seki M, Akisada M, Yanagi H, et al. An ultrasonographic method for detection of Achilles tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1989;75:211-218.
147. Steinmetz A, Schmitt W, Schuler P, Kleinsorge F, Schneider J, Kaffarnik H. Ultrasonography of Achilles tendons in primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1988;74:231-239.
148. Ebeling T, Farin P, Pyorala K. Ultrasonography in the detection of Achilles tendon xanthomata in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1992;97:217-228.
149. Koivunen-Niemela T, Alanen A, Viikari J. Sonography of the Achilles tendon in hypercholesterolemia. *J Intern Med* 1993;234:401-405.
150. Bureau NJ, Roederer G. Sonography of Achilles tendon xanthomas in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Roentgenol* 1998;171:745-749.
151. Descamps O, Leysen X, Van Leuven F, Heller F. The use of Achilles tendon ultrasonography for the diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2001;157:514-518.
152. Ferrieres J, Elias A, Ruidavets JB, Cantet C, Bongard V, Fauvel J, et al. Carotid intima-media thickness and coronary heart disease risk factors in a low-risk population. *J Hypertens* 1999;17:743-748.
153. Ando F, Takekuma K, Niino N, Shimokata H. Ultrasonic evaluation of common carotid intima-media thickness (IMT). Influence of local plaque on the relationship between IMT and age. *J Epidemiol* 2000;10 Suppl 1:10-17.

154. Homma S, Hirose N, Ishida H, Ishii T, Araki G. Carotid plaque and intima-media thickness assessed by B-mode ultrasonography in subjects ranging from young adults to centenarians. *Stroke* 2001;32:830-835.
155. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Rukokoski E, Amouyel P, et al. for the WHO MONICA Project. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality:10-year results from 37 WHO MONICA Project populations. *Lancet* 1999;353:1547-1557.
156. Scuteri A, Najjar S, Muller D, Andres R, Hougaku H, Metter EJ, et al. Metabolic syndrome amplifies the age-associated increases in vascular thickness and stiffness. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:1388-1395.
157. Tzou W, Douglas P, Srinivasan S, Bond MG, Tang R, Chen W, et al. Increased subclinical atherosclerosis in young adults with metabolic syndrome. The Bogalusa Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:457-463.
158. Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ESG, Kastelein JJP, Duriez P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation* 2004;109(suppl III):III15-III19.
159. Fox CS, Polak JF, Chazaro I, Cupples A, Wolf PA, D'agostino RA, et al. Genetic and environmental contributions to atherosclerosis phenotypes in men and women. Heritability of carotid intima-media thickness in the Framingham Heart Study. *Stroke* 2003;34:397-401.
160. Zannad F, Benetos A. Genetics of intima-media thickness. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:191-200.

161. Baldassarre D, Amato M, Pustina L, Castelnuovo S, Sanvito S, Gerosa L, Veglia F, Keidar S, Tremoli E, Sirtori C. Measurement of carotid artery intima-media thickness in dyslipidemic patients increases the power of traditional risk factors to predict atherosclerotic events. *Atherosclerosis* 2006 (Epub ahead of print).
162. Neil HAW, Seagroatt V, Betteridge DJ, Cooper MB, Durrington PN, Miller JP, et al. Established and emerging coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Heart* 2004;90:1431-1437.
163. Real JT, Chaves FJ, Martínez-Usó I, García-García AB, Ascaso JF, Carmena R. Importance of HDL cholesterol levels and the total/HDL cholesterol ratio as a risk factor for coronary heart disease in molecularly defined heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J* 2001;22:465-471.
164. Assmann G, Gotto AM. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(suppl III):III8-III14.
165. Barter P, Kastelein J, Nunn A, Hobbs R, Future Forum Editorial Board. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis* 2003;168:195-211.
166. Gómez-Gerique JA, Gutierrez-Fuentes JA, Montoya MT, Porres A, Rueda A, Avellaneda A, et al. Lipid profile of the spanish population: the DRECE (Diet and Risk of Cardiovascular Disease in Spain) study. DRECE Study Group. *Med Clin (Barc)* 1999;113:730-735.
167. Pintó X, Ros E. Lípidos séricos y predicción del riesgo cardiovascular: importancia de los cocientes colesterol total/colesterol HDL y colesterol LDL/colesterol HDL. *Clin Invest Arterioscler* 2000;12:267-284.

168. Hopkins PN, Stephenson S, Wu LL, Riley WA, Xin Y, Hunt SC. Evaluation of coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2001;87:547-553.
169. Chambless LE, Folsom AR, Davis V, Sharrett R, Heiss G, Sorlie P, et al. Risk factors for progression of common carotid atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities Study, 1987-1998. *Am J Epidemiol* 2002;155:38-47.
170. Madjid M, Awan I, Willerson J, Casscells W. Leukocyte count and coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1945-1956.
171. Civeira F, Castillo JJ, Calvo C, Ferrando J, de Pedro C, Martínez-Rodes P, et al. Achilles tendon size by high resolution sonography in a healthy population. Relationship with lipid levels. *Med Clin (Barc)* 1998;111:41-44.
172. Tsouli SG, Kiortsis DN, Argyropoulou MI, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Pathogenesis, detection and treatment of Achilles tendon xanthomas. *Eur J Clin Invest* 2005;35:236-244.

## **11. CURRICULUM VITAE**

### 11.1. Publicaciones.

- **M. Junyent**, E. Ros ¿Son necesarios los estudios angiográficos para valorar la eficacia del tratamiento hipolipemiante? Suplemento “Hot Topics en Arteriosclerosis” Clin Invest Arterioscler 2005;17:7-15. (Revisión)
- **M. Junyent**, R. Gilabert, I. Núñez, E. Corbella, M. Vela, D. Zambón, E. Ros. Ecografía carotídea en la evaluación de la aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en población española. Med Clin (Barc) 2005; 125:770-774. (Original)
- **Mireia Junyent**, Rosa Gilabert, Daniel Zambón, Isabel Núñez, María Vela, Fernando Civeira, Miguel Pocoví, Emilio Ros. *The use of achilles tendon sonography to distinguish familial hypercholesterolemia from other genetic dyslipidemias.* Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005; 25:2203-2208. (Original)
- **Junyent M**, Ros E. Ecografía del tendón de Aquiles en el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar. Clin Invest Arterioscler 2006;18:69. (Clínica e investigación en imágenes).
- **Mireia Junyent**, Montserrat Cofán, Isabel Núñez, Rosa Gilabert, Daniel Zambón, Emilio Ros. *Influence of the HDL cholesterol level on preclinical carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia.* Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26:1107-1113 (Original).
- García-Otín AL, Cofán M, **Junyent M**, Recalde D, Cenarro A, Pocoví M, Ros E, Civeira F. *Increased intestinal cholesterol absorption in subjects with autosomal dominant hypercholesterolemia and no mutations in the LDL receptor or APOB genes.* Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006 (submitted) (Original)

- **Junyent M**, Zambón D, Gilabert R, Núñez I, Cofán M, Ros E. *Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease beyond the Framingham risk score*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006 (submitted) (Original).



## 11.2. Comunicaciones a congresos nacionales

- Título: Influencia del defecto molecular en la aterosclerosis carotídea y femoral y frecuencia de xantomas del tendón de aquiles en la hipercolesterolemia familiar (HF). Autores: **M. Junyent**, R. Gilabert, D. Zambón, I. Núñez, S. Castillo, M. Pocoví, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), La Coruña del 4 al 7 de mayo de 2005 (comunicación oral). **Premiado, mención especial a la mejor comunicación.**
- Título: Valor de la ecografía del tendón de aquiles en el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar (HF). Autores: **M. Junyent**, R. Gilabert, I. Núñez, M. Vela, D. Zambón, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), La Coruña del 4 al 7 de mayo de 2005 (comunicación oral). **1r premio a la mejor comunicación.**
- Título: Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española. Autores: **M. Junyent**, D. Zambón, R. Gilabert, I. Núñez, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): Club para la Investigación en Dislipemias (CEID) 2005, del 6 al 9 de octubre, Palacio de Eguillor, Limpias. (comunicación oral).
- Título: Importancia del colesterol HDL y del cociente colesterol total/HDL como factores de riesgo de aterosclerosis preclínica en pacientes con hipercolesterolemia familiar. Autores: **M. Junyent**, D. Zambón, R. Gilabert, I. Núñez,

E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): Club para la Investigación en Dislipemias (CEID) 2005, del 6 al 9 de octubre, Palacio de Eguilior, Limpias. (comunicación oral).

- Título: Influencia del colesterol HDL en la aterosclerosis preclínica en la hipercolesterolemia familiar. Autores: **M. Junyent**, R. Gilabert, D. Zambón, I. Núñez, M. Cofan, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): XIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), Santander del 7 al 10 de junio de 2006 (comunicación oral).

- Título: Efecto del grosor íntima-media carotídeo sobre la estratificación del riesgo cardiovascular en pacientes con dislipemia. Autores: **M. Junyent**, R. Gilabert, I. Núñez, M. Vela, D. Zambón, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): XIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), Santander del 7 al 10 de junio de 2006 (comunicación oral).

- Título: Asociación de las variantes del gen USF1 con hiperlipemia familiar combinada en población española. Autores: De Castro I, Mozas P, Cofan M, **Junyent M**, Gonzalvo C, Jarauta E, Ros E, Pocoví M, Civeira F. Congreso (ciudad, país; año): XIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), Santander del 7 al 10 de junio de 2006 (póster).

- Título: Elevada absorción intestinal de colesterol en hipercolesterolemia autonómica dominante no causada por mutaciones en LDLR ni APOB. Autores: García-Otín AL, Cofán M, **Junyent M**, Recalde D, Martín-Fuentes P, Jarauta E, Cenarro E, Ros E, Pocoví M, Civeira F. Congreso (ciudad, país; año): XIX Congreso

Nacional de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), Santander del 7 al 10 de junio de 2006 (póster).

### 11.3. Comunicaciones a congresos internacionales

- Título: Relation of carotid atherosclerosis determined by ultrasound to the MEDPED score in familial hypercholesterolemia (FH). Autores: **M. Junyent**, D. Zambón, M. Vela, I. Núñez, R. Gilabert, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): 75 th European atherosclerosis society congress 2005, Praga del 23 al 26 de abril de 2005 (poster presentation).
- Título: Achilles tendon sonography in control subjects, familial hypercholesterolemia (FH) with and without molecular diagnosis and other genetic hyperlipidemias. Autores: **M. Junyent**, R. Gilabert, I. Núñez, M. Vela, D. Zambón, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): 75 th European atherosclerosis society congress 2005, Praga del 23 al 26 de abril de 2005 (poster presentation).
- Título: Atherosclerosis in FH patients depending on type of mutation. Autores: **M. Junyent-Priu**, D. Zambón, S. Castillo, M. Pocoví, A. Sánchez, R. Gilabert, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): 11 th Conference of the European Society of General Practice/Family Medicine (WONCA 2005), Grecia del 3 al 7 de septiembre de 2005 (oral presentation).
- Título: Effect of carotid intima-media thickness measurements on Framingham risk stratification in patients with primary dyslipidemia. Autores: **M. Junyent**, R. Gilabert, I. Núñez, E. Corbella, D. Zambón, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): 76th EAS Congress and XIV International Symposium on atherosclerosis, Rome, Italy 18-22 June 2006 (poster presentation). Premiado por la Sociedad Internacional

de Atherosclerosis en la categoría de “YOUNG AWARD POSTER PRESENTATION”.

- Título: Influence of the HDL cholesterol levels on preclinical carotid atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia. Autores: **M. Junyent**, M. Cofán, I. Núñez, R. Gilabert, D. Zambón, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): 76th EAS Congress and XIV International Symposium on atherosclerosis, Rome, Italy 18-22 June 2006 (poster presentation).
- Título: High intestinal cholesterol absorption associated with primary hypercholesterolemia non-related to defective LDL receptor. Autores: AL.García-Otín, M. Cofán, **M. Junyent**, D. Recalde, P. Martín-Fuentes, E. Jarauta, A. Cenarro, E. Ros, M. Pocoví, F. Civeira. Congreso (ciudad, país; año): 76th EAS Congress and XIV International Symposium on atherosclerosis, Rome, Italy 18-22 June 2006 (poster presentation).
- Título: Influence of the HDL cholesterol levels on preclinical carotid atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia. Autores: **M. Junyent**, M. Cofán, I. Núñez, R. Gilabert, D. Zambón, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): XIV International Symposium on Atherosclerosis. High density lipoproteins: from basic science to therapeutic applications, Parma, Italy del 23 al 24 de junio de 2006 (poster presentation).
- Título: Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish

community cohort. Autores: **M. Junyent**, R. Gilabert, E. Corbella, D. Zambón, E. Ros. Congreso (ciudad, país; año): 12 th Conference of the European Society of General Practice/Family Medicine (WONCA 2006), Florence del 27 al 30 de agosto de 2006 (oral presentation).