



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Michelle Trindade Soares da Silva

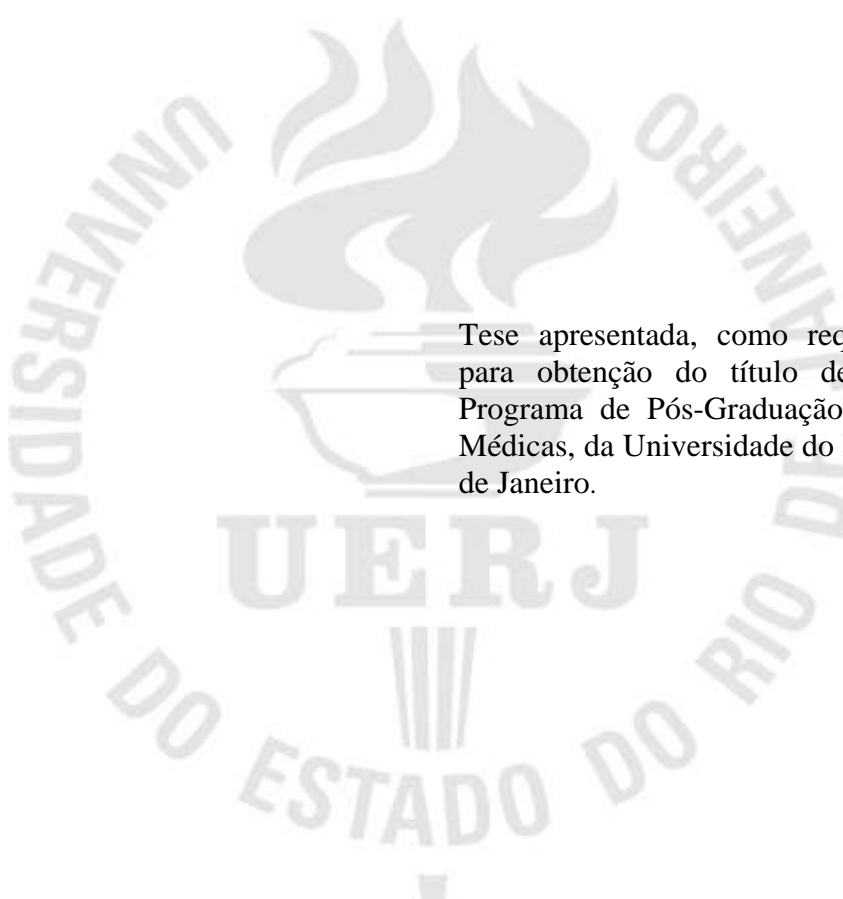
**Relação entre envelhecimento vascular, rigidez arterial e aterosclerose
subclínica em pacientes hipertensos tratados**

Rio de Janeiro

2016

Michelle Trindade Soares da Silva

**Relação entre envelhecimento vascular, rigidez arterial e aterosclerose subclínica em
pacientes hipertensos tratados**



Tese apresentada, como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor, ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Médicas, da Universidade do Estado do Rio
de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Mario Fritsch Toros Neves

Coorientadora: Prof.^a Dra. Renata Brum Martucci

Rio de Janeiro

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

S586 Silva, Michelle Trindade Soares

Relação entre envelhecimento vascular, rigidez arterial e aterosclerose subclínica em pacientes hipertensos tratados / Michelle Trindade Soares – 2016.

109 f.

Orientador: : Prof. Dr. Mario Fritsch Toros Neves
Coorientadora Prof.^a Dra. Renata Brum Martucci

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Sistema cardiovascular - Doenças – Teses. 2. Hipertensão – Teses. 3. Aterosclerose – Teses. 4. Rigidez arterial. 5. Análise de onda de pulso. I. Neves, Mario Fritsch Toros. II. Martucci, Renata Brum. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616-053.6

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira – CRB7/5302

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Michelle Trindade Soares da Silva

**Relação entre envelhecimento vascular, rigidez arterial e aterosclerose subclínica em
pacientes hipertensos tratados**

Tese apresentada, como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor, ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Médicas, da Universidade do Estado do Rio
de Janeiro.

Aprovada em: 12 de abril de 2016

Coorientador: Prof.^a Dra. Renata Brum Martucci
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora: _____

Prof. Dr. Mario Fritsch Toros Neves (Orientador)
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Wille Oigman
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Sergio Emanuel Kaiser
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Gil Fernando da Costa Mendes de Salles
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Ronaldo Altenburg Odebrecht Curi Gismondi
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2016

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu querido pai (*in memoriam*) e ao meu anjinho Henrique.

AGRADECIMENTOS

Ao meu querido pai, que foi meu exemplo de luta e perseverança.

À minha mãe, por me apoiar em todos os momentos da minha vida e ter fé em todos eles.

Às minhas irmãs Renata, Bruna e Vanessa, que sempre foram e serão minhas melhores amigas.

Ao meu sobrinho Henrique, que tornou todos os momentos difíceis em momentos alegres, com seu sorriso, alegria e graciosidade de bebê.

Ao meu noivo Dauwe Vercamer, por todo o seu apoio, carinho e amor dedicados a mim.

Ao meu orientador, professor Mario Fritsch, por sua confiança, paciência e sabedoria.

Ao professor Wille, por seus ensinamentos, bom humor, competência e exemplo de bom profissional.

A todos os meus amigos, que torceram, que me apoiaram e me deram força, principalmente nos momentos de solidão no rigoroso inverno canadense. Agradeço em particular Sylvana Ferrari Arredondo e Viviani Ludovice pelo companheirismo e amizade.

A todos os meus amigos que fazem parte da equipe do grupo CHAMA, em especial, Marcela Casanova e Jenifer d'El-Rei, Juliana Duarte, Ana Rosa Cunha, Bianca Marques, Bianca Umbelino, Cláudia Mansano, Viviane Prangiel e Júlio Fraulob.

À minha querida estagiária Samanta, por sua ajuda na coleta de dados e cuidado com os pacientes.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

Tenho em mim todos os sonhos do mundo

Fernando Pessoa

RESUMO

SILVA, Michelle Trindade Soares. *Relação entre envelhecimento vascular, rigidez arterial e aterosclerose subclínica em pacientes hipertensos tratados*. 2016. 109 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Apesar da existência de vários algoritmos de predição de risco validados, essas ferramentas não têm sido muito utilizadas no cuidado primário. A idade vascular pode ser o conceito mais razoável para o paciente do que o percentual de risco. O objetivo desse estudo foi comparar a idade cronológica e a idade vascular em pacientes hipertensos tratados e sua associação com doença arterial subclínica. Pacientes hipertensos (n=165), com idades entre 30 e 75 anos, sem eventos cardiovasculares prévios, foram incluídos nesse estudo. Após a avaliação clínica, os participantes foram submetidos a tonometria de aplanção mensuração da velocidade de onda de pulso e espessura médio-intimal de carótidas pelo ultrassom vascular. A idade vascular foi calculada pelo escore de risco de Framingham para doença cardiovascular geral. Os pacientes foram inicialmente separados por tercís de idade cronológica e posteriormente por idade vascular. Comparado com a idade cronológica, o maior tercil de idade vascular apresentou maiores valores de pressão sistólica aórtica (150 ± 18 vs 136 ± 20 mmHg), velocidade de onda de pulso carótida-femoral ($11,9 \pm 2,0$ vs $11,1 \pm 2,0$ m/s), valor médio e máximo de espessura médio-intimal de carótidas ($0,95 \pm 0,25$ vs $0,86 \pm 0,13$ e $1,10 \pm 0,38$ vs $0,91 \pm 0,14$ mm, respectivamente). Esses parâmetros vasculares foram progressivamente aumentando nos tercís de idade vascular mas não de idade cronológica. As correlações de pressão sistólica aórtica ($r=0,57$; $p<0,001$), PWV ($0,44$; $p<0,001$), valores médio e máximo de espessura médio-intimal de carótidas ($r=0,66$; $p<0,001$ e $r=0,59$; $p<0,001$, respectivamente) foram maiores com a idade vascular do que com a idade cronológica. Em conclusão, a idade vascular apresentou uma melhor correlação com doença arterial subclínica, comparado com a idade cronológica, em pacientes hipertensos tratados. Esses achados indicam que a idade vascular pode ser uma ferramenta útil para demonstrar o risco cardiovascular individual nessa população.

Palavras-chave: Idade vascular. Risco cardiovascular. Hipertensão. Aterosclerose. Rigidez arterial. Velocidade de onda de pulso.

ABSTRACT

SILVA, Michelle Trindade Soares. *Relationship between vascular aging, arterial stiffness and subclinical atherosclerosis in treated hypertensive patients*. 2016. 109 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Despite of various risk prediction algorithms already validated, these tools have been underused in primary care. Vascular age may be a more reasonable concept to the patient than the percentage of risk. The aim of this study was to compare chronological and vascular age in treated hypertensive patients concerning the association with subclinical arterial disease. Hypertensive patients (n=165), aged 30-75 years, without previous cardiovascular events were included in this study. After clinical evaluation, participants underwent radial applanation tonometry, measurement of pulse wave velocity (PWV) and carotid intima media thickness (IMT) by vascular ultrasound. Vascular age was calculated by the Framingham risk score for general cardiovascular disease. The subjects were initially separated by tertiles of chronological age and later by vascular age. Compared to chronological age, the highest tertile of vascular age presented greater values of aortic systolic pressure (150 ± 18 vs 136 ± 20 mmHg), carotid-femoral PWV (11.9 ± 2.0 vs 11.1 ± 2.0 m/s), mean and maximum carotid IMT (0.95 ± 0.25 vs 0.86 ± 0.13 and 1.10 ± 0.38 vs 0.91 ± 0.14 mm, respectively). These vascular parameters were progressively increasing in tertiles of vascular age but not with chronological age. The correlations of aortic systolic pressure ($r=0.57$, $p<0.001$), PWV ($r=0.44$, $p<0.001$), mean and maximum carotid IMT ($r=0.66$, $p<0.001$ and $r=0.59$, $p<0.001$, respectively) were greater with vascular than with chronological age. In conclusion, vascular age presented a better correlation with subclinical arterial disease, compared to chronological age, in treated hypertensive patients. These findings indicate that vascular age may be a useful tool to demonstrate the individual cardiovascular risk in this population.

Keywords: Vascular age. Cardiovascular risk. Hypertension. Atherosclerosis. Arterial stiffness. Pulse wave velocity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIx	<i>Augmentation index</i>
AP	<i>Augmentation pressure</i>
AT1	Receptor de angiotensina 1
AT2	Receptor de angiotensina 2
BMI	<i>Body mass index</i>
CVD	<i>Cardiovascular disease</i>
DT	<i>Distance traveled</i>
eNOS	<i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
ET-1	Endothelin-1
ET-2	Endothelin-2
ET-3	Endothelin-3
ET-4	Endothelin-4
ET-1-31	Endothelin-1-31
ET _A	Receptor de endotelina A
ET _B	Receptor de endotelina B
EVA	<i>Early vascular aging</i>
HDL	<i>High-density lipoprotein</i>
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i>
PWV	<i>Pulse wave velocity</i>
TT	<i>Transit time</i>

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	11
1	OBJETIVOS	38
1.1	Geral	38
1.2	Específicos	38
2	MÉTODOS	39
2.1	Artigo 1. Potencial role of endothelin in early vascular aging (Artigo publicado)	39
2.2	Artigo 2. Relationship between vascular age, arterial stiffness and subclinical atherosclerosis in treated hypertensive patients (Artigo submetido)	62
3	DISCUSSÃO	79
	CONCLUSÃO	84
	REFERÊNCIAS	85

INTRODUÇÃO

É atualmente reconhecido que idade, gênero, pressão alta, tabagismo, dislipidemia e diabetes são os principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, interagindo para promover o risco cardiovascular(1). O reconhecimento precoce e o tratamento de pacientes com alto risco para aterosclerose é o objetivo principal para reduzir a incidência de eventos cardiovasculares e, portanto, a identificação de fatores de risco e marcadores subclínicos de doença arterial é essencial(2).

Algoritmos para predição de risco que incorporam esses fatores de risco foram desenvolvidos e podem ser usados por médicos para o cuidado primário(1), mas embora esses algoritmos para predição de risco estejam disponíveis e validados, essas ferramentas não são tão usadas na prática clínica(3). Uma razão potencial o não uso desses instrumentos de predição de risco é a multiplicidade de tais algoritmos, pelo fato de que o escore de risco de Framingham varia consideravelmente entre diferentes populações e porque ainda há pouca evidência indicando o uso de escores de risco cardiovascular para prevenção primária(4).

A avaliação de risco global de Framingham para doença arterial coronariana ajuda a classificar um risco individual futuro de eventos coronarianos e suas estimativas são fortemente influenciadas pela idade cronológica; entretanto, o perfil aterosclerótico de indivíduos com a mesma idade cronológica e perfil de risco similar poder diferir substancialmente(5). Baseado nisso, a idade vascular foi formulada baseada no escore de Framingham(1). Essa ferramenta permite que médicos possam identificar indivíduos com risco mais alto de desenvolver doenças cardiovasculares, como infarto agudo do miocárdio, angina instável, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral, ataque isquêmico transitório ou doença arterial periférica. A idade vascular pode ser um conceito mais razoável para o paciente do que a informação do percentual de risco e acredita-se que possa contribuir para melhorar modelos de previsão de risco cardiovascular e o melhor entendimento do mesmo(6). Estudos têm mostrado(6-9) que a espessura médio-intimal da carótida, assim como rigidez arterial, são fortes preditores de morbidade e mortalidade por doença cardiovascular e estão relacionados com todos os fatores de risco cardiovascular tradicionais em indivíduos

de meia idade e idosos(10). Embora essas técnicas sejam não-invasivas, rapidamente avaliadas e podem ser usadas como uma ferramenta de rastreio para identificar pacientes com alto risco vascular, não significa necessariamente que a sua utilidade clínica exceda os modelos de risco tradicionais, como o Escore de Risco de Framingham(11).

➤ Risco Cardiovascular

A epidemia de doença cardiovascular é um desafio de saúde pública mundial e atualmente é a principal causa de morte nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. A Organização Mundial da Saúde estima que 80% das mortes prematuras relacionadas com a doença cardiovascular poderiam ser evitadas se os fatores primários causais (tabagismo, dislipidemia, hipertensão, diabetes e obesidade) fossem reduzidos através da adoção de uma dieta saudável, exercício e cessação do tabagismo(12).

A aterosclerose, uma doença progressiva, caracterizada pelo acúmulo de lipídeos e elementos fibrosos nas grandes artérias, constitui o mais importante contribuinte para o crescente número de doenças cardiovasculares(13). É um processo multifatorial que se inicia mais cedo na infância, mas clinicamente progride mais tarde na vida adulta. As doenças cardiovasculares começam com a evolução dos fatores de risco, que por sua vez contribuem para o desenvolvimento de aterosclerose subclínica. A prevalência da obesidade, sedentarismo e o envelhecimento populacional são considerados risco para as doenças cardiovasculares(14), porém alguns fatores como intolerância à glicose, hipertensão e dislipidemia também formam um complexo genético e de interações ambientais que contribuem para a aterosclerose(13).

As doenças cardiovasculares tornaram-se um problema de saúde pública de destaque em todo o mundo(13). Por esse motivo, a prevenção primária de eventos cardiovasculares é prioridade no sistema de saúde, sendo importante a identificação de indivíduos que poderiam ser candidatos a intervenções médicas mais intensas(15). Dessa forma, as estimativas de risco cardiovascular individual e de base populacional são de suma importância(16). Alguns fatores de risco cardiovascular tradicionais são preditores independentes do desenvolvimento futuro de doenças cardiovasculares e a

combinação de alguns desses fatores de risco predizem futuros eventos(17, 18). O risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares sintomáticas varia grandemente entre indivíduos e pode ser calculado através de vários modelos de predição(19). O risco cardiovascular estabelece a chance de ter um evento cardiovascular dentro de um específico período de tempo, geralmente em 5 ou 10 anos. O termo evento cardiovascular se refere a doença arterial isquêmica, doença cerebrovascular e doença arterial periférica(20). Baseado no risco para doenças cardiovasculares, um indivíduo pode ser classificado em categorias de baixo, intermediário ou alto risco com suas correspondentes opções de tratamento(19).

Os consensos para prevenção de doença cardiovascular recomendam o uso dos escores de risco para identificar adultos com maior risco de doença cardiovascular, para quem a terapia preventiva possui maior benefício absoluto(21). Essas ferramentas permitem intervenções precoces, como recomendações de modificações de estilo de vida ou medicamentos para controlar os fatores de risco cardiovascular modificáveis, incluindo a hipertensão, diabetes, tabagismo, dislipidemia e obesidade(16).

Várias fórmulas de predição de risco cardiovascular são utilizadas na prática clínica em todo o mundo. Nos Estados Unidos, o escore de Framingham modificado é a ferramenta mais utilizada(17), e foi adaptada para utilização em diversas populações em outras partes do mundo. Outras ferramentas incluem o *Prospective Cardiovascular Münster Heart Study* (PROCAM)(22), o *Systematic Coronary Risk Evaluation System* (SCORE)(23), *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS)(24) ferramenta para diabéticos, o *Reynolds Risk Score*(25, 26) e, mais recentemente, um que inclui a obesidade como um variável (NHANES)(27).

✓ Escore de Risco de Framingham

As equações de avaliação de risco para prever eventos cardiovasculares foram primeiramente desenvolvidas pelo grupo *Framingham Heart Study*. As equações de Framingham permanecem as mais utilizadas em todo o mundo e têm evoluído ao longo de mais de 40 anos desde que os primeiros modelos foram desenvolvidos em fatores de risco como idade, gênero, colesterol total, pressão arterial sistólica ou diastólica, e a presença de diabetes, tabagismo e hipertrofia ventricular esquerda. A coorte original de Framingham e a coorte *Offspring* normalmente fornecem entre 3 a 5

mil indivíduos (com idade entre 30 e 74 anos), seguidos por 5 a 15 anos, e é, sem dúvida, a população de estudo com mais longo seguimento e que fornece muitas informações sobre fatores de risco cardiovascular e seus papéis nos eventos coronarianos(28).

O escore de risco de Framingham é uma ferramenta clínica comum e simplificada para avaliação do risco para doença arterial coronariana, assim como para identificar indivíduos que são candidatos à modificação dos fatores de risco. Essa ferramenta quantifica o impacto de fatores de risco mensuráveis e modificáveis no desenvolvimento de doença arterial coronariana, incluindo gênero, idade, tabagismo, pressão sistólica, diabetes e perfil lipídico. Há outros fatores de risco que podem garantir inclusão, mas porque eles somente podem ser mensurados por procedimentos caros, que demandam tempo ou técnicas invasivas, eles não são considerados geralmente(29). O escore de risco de Framingham é o método mais aplicado para prever a chance de um indivíduo em desenvolver doença cardiovascular a longo prazo(17). Pelo fato de que esse escore de risco fornece a indicação dos prováveis benefícios da prevenção, pode ser útil para o paciente e o médico na determinação apropriada do tratamento e para motivar os pacientes na mudança de estilo de vida, assim como na identificação dos pacientes com risco aumentado para futuros eventos cardiovasculares(30).

O estudo de Framingham propôs um algoritmo baseado em três ideias principais: o uso dos fatores de risco com maior peso, diferenciados por gênero; predição de muitas doenças cardiovasculares e o incorporamento do conceito da idade vascular(21). Esse escore de risco tem sido validado em diferentes populações e grupos étnicos(31-34) e recalibrado apropriadamente, fazendo com que essa ferramenta permita comparações de risco em diferentes grupos populacionais(16).

Vários estudos foram realizados com o objetivo de comprovar a acurácia do escore de risco de Framingham em prever doença arterial coronariana e outras doenças cardiovasculares(34-38). Wannamethee e colaboradores(36) conduziram um estudo para comparar a síndrome metabólica (baseada nos critérios do NCEP) com o escore de risco de Framingham, como preditores de doença coronariana, acidente vascular cerebral e diabetes tipo 2 em homens de meia idade e mostraram que o escore de Framingham é um melhor preditor de doença coronariana e doença cerebrovascular do que a síndrome metabólica, porém menos preditiva para o diabetes tipo 2. Por outro lado, uma coorte britânica avaliou a acurácia preditiva do escore de

Framingham em homens sem doenças cardiovasculares e concluiu que esse escore superestima o risco absoluto coronariano nessa população(34). De forma semelhante, resultados dos estudos MONICA Augsburg e PROCAM utilizaram as equações de Framingham para comparar o risco predito e o risco observado de eventos fatais e não fatais em uma coorte de homens e mulheres e mostrou que o escore de Framingham superestimou os o risco de doença coronariana(38). No estudo prospectivo de Greenland e colaboradores(37), o escore de Framingham foi avaliado juntamente com o escore de cálcio arterial coronariano, mostrando que o escore de cálcio pode modificar o risco obtido pelo escore de Framingham, especialmente entre pacientes classificados como risco intermediário.

- Idade

A idade é um fator de risco altamente preditivo para futuras doenças cardiovasculares, no qual a idade avançada está associada com aumento da incidência de doença coronariana, acidente vascular cerebral e insuficiência cardíaca(39-41). Acredita-se que o impacto da idade sobre o risco cardiovascular tem sido atribuída ao acúmulo com o tempo de fatores de risco cardiovascular(41), porém a idade avançada é um preditor de futuras doenças cardiovasculares, independentemente de outros fatores de risco(42). Possivelmente, as mudanças na estrutura e função da vasculatura podem explicar o aumento do risco cardiovascular relacionadas à idade(43).

O aumento espessura médio-intimal de carótidas é um exemplo do impacto da idade avançada sobre estrutura das artérias(44, 45), no qual mais de 60% dos idosos com mais de 65 anos podem ter doença aterosclerótica subclínica(46). Homma e colaboradores(45) investigaram a relação entre a formação de placa, aumento da espessura médio-intimal de carótidas e idade, através de um aparelho de ultrassonografia em indivíduos sem muitos fatores de risco para aterosclerose. O estudo mostrou que o aumento da espessura médio-intimal é um efeito fisiológico de envelhecimento que corresponde a um espessamento intimal difuso, especialmente em pessoas muito idosas, e que a espessura médio-intimal é distinta da formação de placas patológica. Avaliando o efeito da idade e do gênero, o estudo de van denMunckhof e colaboradores(44) mostrou que o espessamento da parede é relacionada com a idade e é evidente na artéria carótida, como também é aparente nas artérias dos membros superiores e inferiores, independente do gênero. O aumento na

espessura médio-intimal da carótida ocorre de forma linear (em torno de 5 mm/ano), com idade mais avançada, tanto em homens e mulheres(47). No estudo realizado por Baldassarre e colaboradores(48) com o objetivo de identificar os principais fatores de risco associados com o aumento da espessura médio-intimal de carótidas, foi observado que o determinante mais forte e independente para a aterosclerose carotídea foi a idade, seguida por gênero, pressão de pulso, tabagismo, nível educacional e hipertensão arterial. Um estudo com 1.257 indivíduos finlandeses do gênero masculino com idades entre 40 e 60 anos, mostrou que conforme a idade dos indivíduos aumentava, havia um aumento significativo na espessura médio-intimal de carótidas(49).

A velocidade de onda pulso aumentada reflete uma maior rigidez do sistema arterial(50), e alguns estudos reforçam a observação de que a idade avançada é independentemente relacionada a um aumento da velocidade da onda de pulso(51-54). O estudo de Meyer e colaboradores(51) mostrou que a idade está associada com valores mais altos de velocidade de onda de pulso. Esse resultado é também visto no estudo de Rogers e colaboradores(53) que relatou alterações na velocidade de onda de pulso, relacionada a idade. Além disso, a velocidade de onda de pulso aumenta progressivamente de 6 a 8% em cada década de vida e essa tendência é mais acentuada após os 50 anos, de acordo com o estudo de Diaz(54).

O avanço da idade tem efeitos diretos sobre a estrutura e função da vasculatura. Durante o envelhecimento, ocorre uma anormalidade na parede vascular relacionada com mudanças na estrutura e função endotelial vascular, possivelmente devido a uma alteração no equilíbrio entre fatores relaxantes (por exemplo, óxido nítrico) e constritores (por exemplo, endotelina-1)(55). O aumento do estresse oxidativo e da inflamação, o desenvolvimento de senescência celular e apoptose, podem contribuir para deficiências relacionadas com a idade na função vascular. Estruturalmente, as artérias mais velhas demonstram paredes mais espessas, que são mais rígidas e apresentam um diâmetro maior e todas essas mudanças funcionais e estruturais representam preditores independentes de doenças cardiovasculares(43).

As mudanças vasculares que ocorrem com o envelhecimento de um indivíduo, há um envelhecimento vascular normal, um processo associado com mudanças graduais na estrutura e função dos vasos (como mudanças no conteúdo de elastina e colágeno na parede do vaso)(56). Quando esse processo de envelhecimento normal ocorre de forma prematura, parece haver um curso mais rápido de envelhecimento

biológico normal das artérias(57), levando a um número de características que são integrados em uma condição caracterizada como envelhecimento vascular acelerado(58). Essas mudanças associadas com o envelhecimento estão aceleradas na presença de doenças cardiovasculares e são também fatores de risco para o aparecimento ou progressão de doenças cardiovasculares, como pressão alta, dislipidemia, tabagismo e diabetes(59).

O envelhecimento vascular acelerado reflete o envelhecimento da árvore vascular(60), caracterizado por mudanças funcionais e estruturais no endotélio e células musculares lisas. Alterações nas vias de comunicação entre essas duas camadas de células(61) e a inadequada habilidade de reparo ao dano arterial(60) resultam em função endotelial prejudicada e enrijecimento vascular aumentado(59). Esse processo de envelhecimento acelerado pode ser investigado por mensurações não-invasivas do enrijecimento arterial, espessura médio-intimal de carótidas e disfunção endotelial(57, 58), que podem fornecer informações sobre uma exposição prévia a fatores de risco de dano arterial e risco cardiovascular(59) e são importante ferramentas para entender os mecanismos patológicos das manifestações precoces e seu tratamento(58).

- Pressão Arterial

A hipertensão é um importante fator de risco para a morbidade e mortalidade em todo o mundo. A detecção precoce dos danos em órgãos-alvo e de doenças secundárias são fatores determinantes do prognóstico cardiovascular em pacientes hipertensos(62). A hipertensão arterial é quantitativamente o fator de risco mais importante para doença cardiovascular prematura, sendo mais comum do que o tabagismo, dislipidemia e diabetes, que são os outros importantes fatores de risco. A hipertensão pode ser responsável pelo aumento do risco de uma variedade de doenças cardiovasculares(63), incluindo acidente vascular cerebral, doença da artéria coronária, insuficiência cardíaca, fibrilação atrial, e doença vascular periférica(64), contando com uma estimativa de 54% de todos os acidentes vasculares cerebrais e 47% de todos os eventos de doença isquêmica do coração(65). Doença coronariana em homens e derrame em mulheres são os principais primeiros eventos cardiovasculares observados após o início da hipertensão, como observado a partir dos dados do *Framingham Heart Study*(66).

O estudo *Global Burden of Disease Study* identificou a pressão arterial elevada como o principal fator de risco, entre 67 fatores estudados, para a mortalidade(21). Porém, alguns estudos têm mostrando a diminuição do risco para doenças cardiovasculares com o tratamento da hipertensão, incluindo acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca(67-69).

Além da hipertensão arterial, alguns estudos têm indicado que a hipertensão sistólica isolada é um forte preditor de doença cardiovascular aterosclerótica e mortalidade total. A hipertensão sistólica isolada é a forma mais comum de hipertensão após os 50 anos(70), sendo a pressão arterial sistólica um fator de risco independente para eventos coronarianos, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, doença renal crônica e progressiva, incluindo doença renal em estágio final(67, 71-74). No estudo de coorte prospectivo de Antikainen e colaboradores, realizado em uma população de meia-idade com seguimento de 15 anos, foi mostrado que a hipertensão sistólica isolada é um importante preditor de morte por doença coronariana, acidente vascular cerebral, todas as causas de doença cardiovascular em mulheres, porém em homens, o risco de acidente vascular cerebral e todas as causas de mortalidade associadas com aumento da pressão sistólica foi evidente já com níveis de pressão sistólica menores que 160 mmHg, independentemente dos níveis de pressão diastólica(75).

Os níveis de pressão arterial correlacionam-se de maneira direta com a sobrevivência da população e as alterações/adaptações vasculares em órgãos vitais como cérebro, rins e coração, associam-se e contribuem para os estados patológicos clínicos apresentados por pacientes hipertensos(76). Os exatos mecanismos fisiopatológicos através do qual a pressão arterial elevada leva a complicações cardiovasculares, no entanto, permanecem incertos. Sugere-se que o aumento dos níveis pressóricos pode estimular uma resposta pró-inflamatória e que a inflamação endotelial também possa causar mudanças na parede arterial(77), uma vez que a hipertensão por si só determina alterações anatômicas e funcionais na parede dos vasos(78).

As lesões hipertensivas causadas nas paredes dos vasos sanguíneos, processo chamado de vasculopatia hipertensiva, são caracterizadas por uma disfunção endotelial e remodelamento das artérias de pequeno e grande calibre. Esse processo conduz a uma capacidade reduzida de dilatação dos vasos de alta resistência que se manifesta clinicamente como angina, resultante da reserva coronariana reduzida, formação de placas de ateroma e estenoses, aneurismas, entre outros(62).

A pressão arterial elevada é um contribuinte comum e poderoso para as principais doenças cardiovasculares associadas à aterogênese acelerada(79) e apesar de todo o conhecimento epidemiológico e clínico da hipertensão como fator de risco cardiovascular aterotrombótico, o entendimento do ponto de vista mecânicos acerca dos efeitos patogênicos da hipertensão arterial sobre os vasos e, sobretudo, na patogênese da aterosclerose e de suas complicações aterotrombóticas ainda necessita de estudos mais aprofundados, porém sabe-se que a hipertensão raramente ocorre de forma isolada dos outros fatores de risco aterogênicos(76).

De todos os fatores de risco tradicionais, a hipertensão parece ter o maior efeito sobre a espessura médio-intimal de carótidas, porém deve-se considerar que esse espessamento também se deve aos efeitos cumulativos dos outros fatores de risco clássicos(80). Evidências recentes defendem que os indivíduos hipertensos são mais propensos a aumentarem o espessamento médio-intimal da artéria carótida comum, do que indivíduos normotensos(81). O estudo de Pauletto e colaboradores(82) encontrou maiores valores de espessura médio-intimal em hipertensos “*borderline*”, em comparação com indivíduos normotensos. O aumento na espessura médio-intimal ocorreu na artéria comum da carótida, mas também no bulbo e no segmento da carótida interna.

O estudo *The Rotterdam Elderly Study*(83) mostrou que placas ateroscleróticas foram mais frequentes entre os idosos com hipertensão sistólica isolada em comparação com indivíduos controle. Assim como o aumento da pressão arterial, fatores hemodinâmicos, como débito cardíaco, frequência cardíaca, estresse de cisalhamento e pressão do pulso podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento do espessamento das camadas íntima e média(82). O mecanismo pelo qual a pressão de pulso possa contribuir para o desenvolvimento da aterosclerose não está totalmente claro. Alguns estudos mostraram associações diretas entre a pressão de pulso e a espessura médio-intimal de carótidas (84, 85), porém a causalidade dessa associação é incerta.

- Gênero

A doença cardiovascular continua sendo uma das principais causas de morte para homens e mulheres(86). Diferenças consideráveis entre os gêneros existem na ocorrência de diversas manifestações da doença cardiovascular(87). A doença

coronariana é mais comum em homens do que em mulheres, especialmente entre os mais jovens(87). A doença cardiovascular se desenvolve de 7 a 10 anos mais tarde nas mulheres do que nos homens e é ainda a principal causa de morte em mulheres com idade superior a 65 anos(88). As mulheres têm uma expectativa de vida maior do que os homens e, conseqüentemente, ter mais tempo para desenvolver doenças cardiovasculares(89).

Embora a maioria dos fatores de risco contribuem para doença coronariana em homens e mulheres, o impacto dos fatores de risco individuais podem ser diferentes(90). A influência da menopausa nos fatores de risco cardiovascular e de doença coronariana é único para as mulheres, devido à influência do seu estado hormonal(90). Em comparação com os homens da mesma idade e mulheres pós-menopausa, a incidência de doença coronariana é significativamente menor em mulheres na pré-menopausa, sugerindo que os estrogênios endógenos ter um efeito protetor sobre o desenvolvimento da doença coronariana(91, 92). Os estrogênios parecem afetar o processo de aterosclerose por meio de uma variedade de mecanismos. Os estrogênios têm sido referidos como tendo um efeito redutor sobre o colesterol total e *low-density lipoprotein*(LDL)(93, 94), lipoproteína (a)(95), além de aumento nos níveis de *high-density lipoprotein* (HDL) (96). Além disso, estrogênios têm um efeito vasodilatador aguda na parede do vaso e um efeito ateroprotetor envolvendo a inibição da proliferação de células do músculo liso(97).

- Dislipidemia

A dislipidemia associada à obesidade, síndrome metabólica, resistência à insulina e diabetes tipo 2 consiste de triglicerídeos aumentados, reduzidos níveis de HDL, aumento do número de partículas de LDL pequenas e densas. A forte inter-relação dessas mudanças e suas associações com risco aumentado para doença cardiovascular aterosclerótica levaram à designação coletiva como dislipidemia aterogênica(98).

Na maioria dos indivíduos, as principais formas de LDL são grandes e flutuantes, mas em uma parte considerável da população, há uma predominância de partículas de LDL pequenas e densas. Esse perfil associado com um aumento relativo dos níveis de triglicerídeos no plasma e outras alterações metabólicas pró-

aterogênicas, que incluem o aumento das lipoproteínas de densidade intermediária, a redução de HDL e a diminuição da sensibilidade à insulina(99).

A presença de partículas de LDL com menos conteúdo de colesterol, pequenas e densas está associada com um risco aumentado e piora da gravidade de doença cardiovascular(100). Partículas de LDL pequenas e densas possuem maior potencial aterogênico do que partículas de LDL de tamanho maior, em virtude de reduzido *clearance* mediado pelo receptor, e maior transporte endotelial e susceptibilidade oxidativa(99), entrando mais facilmente na parede arterial e sendo conduzidos à fagocitose por macrófagos(101).

Ao contrário do LDL, os níveis de HDL têm sido relacionado inversamente com o risco de doença coronariana por numerosos estudos clínicos e epidemiológicos(102-112). Em particular, tanto o estudo de Framingham, e o estudo PROCAM mostram que os níveis plasmáticos de HDL estão fortemente associados com maior incidência de doença arterial coronariana, independentemente dos níveis plasmáticos de LDL(107, 113). Na verdade, alguns estudos têm indicado que a redução dos níveis de HDL são um fator de risco mais importante do que os níveis de LDL elevados(114, 115). Uma análise de quatro importantes estudos norte-americanos, que incluem o Framingham Heart Study(113), the Lipid Research Clinic Prevalence Mortality Follow-up Study, Lipid Research Clinic Primary Prevention Trial, and Multiple Risk Factor Intervention Trial(116), estimaram que a elevação de 1 mg/dl (0,02 mmol/l) nos níveis de HDL, está associada redução de 2 - 3% no risco de doença coronariana, uma magnitude comparável à redução de proposta para a redução do LDL.

A relação exata entre os níveis de HDL e risco de doença coronariana dependem do gênero. De forma geral, os níveis de HDL são mais baixos em homens do que em mulheres, em cerca de 10 mg/dl (0.2 mmol/l), embora os níveis de HDL diminuam com o avançar da idade em mulheres, mas permanecem relativamente inalterados em homens(117).

A relação inversa entre níveis de HDL e risco cardiovascular está relacionada com várias propriedades anti-aterogênicas de estas partículas, incluindo o transporte reverso do colesterol, a atividade anti-inflamatória e anti-oxidante, a atividade anti-trombótica e a proteção do endotélio exercida por partículas de HDL(118). No entanto, alguns autores sugerem que a anti-aterogenicidade do HDL pode ser influenciada por variáveis não mensuráveis, incluindo genética e fatores adquiridos,

ou que a concentração das subclasses de HDL e a cinética do metabolismo da HDL, e não a quantidade de HDL pode contribuir para o efeito antiaterogênico(119, 120).

- Tabagismo

O tabagismo é um importante fator de risco para doença cardiovascular(121). Acredita-se que o tabagismo seja um dos principais fatores responsáveis pela promoção e progresso da aterosclerose, embora os mecanismos que explicam a patofisiologia da aterogênese não tenham sido elucidados(122). A nicotina, principal componente do tabaco, pode não ser o fator determinante do processo aterosclerótico, mas aumenta a mortalidade por doença cardiovascular(123).

O mecanismo biológico relacionando o tabagismo e aterogênese, o processo que conduz às doenças cardiovasculares, é complexo. Os potenciais mecanismos propostos pelos quais o tabagismo aumenta o risco cardiovascular inclui várias outras vias: a disfunção endotelial vascular(124), distúrbios de hemostasia e coagulação sistêmicas(125) e anormalidades lipídicas(126). Os mecanismos inflamatórios também desempenham um papel importante no desenvolvimento e na progressão da aterosclerose(121, 127, 128). O tabagismo está associado a um variedade de marcadores de inflamação como a proteína C-reativa, contagem de células brancas, fibrinogênio e albumina(129, 130), que foram mostrados ser fatores de risco independentes para doença coronariana(128, 129).

Levitzky e colaboradores(131) investigaram a relação entre o tabagismo e inflamação sistêmica com os participantes do estudo de Framingham e mostraram que os indivíduos que têm exposição aguda ao tabagismo tiveram concentrações significativamente maiores na maioria dos marcadores inflamatórios avaliados, sendo consistente com a hipótese de que o tabagismo está associado com inflamação sistêmica.

Em um ensaio clínico randomizado realizado por Aldaham e colaboradores(132), alguns marcadores de inflamação sistêmica (proteína C reativa e interleucina-6) foram dosados em indivíduos fumantes e ex-fumantes com grande carga tabágica. O estudo mostrou que os níveis de proteína C reativa não foram associados com o tabagismo intenso, ao contrário dos níveis de interleucina-6, que foram significativamente associados com tabagismo, especialmente nos indivíduos atualmente fumantes.

Deixar de fumar está associado a uma redução substancial no risco de doença cardíaca coronariana e acidente vascular cerebral, embora a diminuição do risco parece ser dependente da duração de cessação(133, 134). Embora alguns estudos mostram que marcadores hematológicos e inflamatórios baixaram após a cessação do tabagismo(121, 122), alguns estudos mostram que parece que os efeitos do tabagismo sobre marcadores inflamatórios podem ainda persistir por muitos anos(130, 135, 136).

A espessura médio-intimal de carótidas, que é considerado um marcador de doença aterosclerótica subclínica, foi realizada nos estudos de Pit'ha(137) e Belcaro(138), que relataram não haver diferenças na espessura médio-intimal da carótida ou diferenças na progressão da espessura médio-intimal entre fumantes e não fumantes. Outros estudos relataram maiores valores na espessura médio-intimal de carótidas em fumantes quando comparados a não-fumantes(139, 140). O estudo de Bolinder e colaboradores(123) foi feito com homens de meia idade, tabagistas e não tabagistas, mostrou que os tabagistas tiveram as medidas de espessura médio-intimal de carótidas aumentadas, em comparação com os homens eu nunca fumaram. Fan e colaboradores(141) estudaram homens e mulheres de meia idade em um estudo de coorte e concluíram que o tabagismo foi associado com as mudanças morfológicas na carótida.

- Diabetes

O diabetes tipo 2 está associado com um aumentado risco de doença cardiovascular(142-144). Este risco é de duas a quatro vezes maior em pacientes com diabetes tipo 2 do que em pacientes não-diabéticos, independentemente dos fatores de risco cardiovascular clássicos(145). Em um estudo de coorte com pacientes com diabetes tipo 2 sem infarto do miocárdio prévio, a incidência de infarto do miocárdio em sete anos foi o dobro de indivíduos não-diabéticos e semelhante ao de indivíduos não-diabéticos com infarto do miocárdio prévio(146).

Espera-se que a incidência de diabetes continue a aumentar nos próximos anos e as doenças cardiovasculares associadas com o diabetes tipo 2 provavelmente irão aumentar da mesma forma(147). Pacientes diabéticos tipo 2 sem outro fator de risco cardiovascular têm um menor risco de doenças cardiovasculares, especialmente pacientes com evolução mais curta da doença e com menor número de alterações metabólicas(148). De acordo com alguns estudos(149-151), a idade de diagnóstico e o

curso de tempo da doença desempenham um papel na sua progressão, e após 10 a 15 anos, o risco coronário destes doentes diabéticos é semelhante para pacientes com doença coronariana prévia.

Contudo, estas estimativas de risco baseiam-se no pressuposto de que o diabetes confere o mesmo grau de risco em mulheres que em homens. Uma revisão sistemática avaliou dados de 64 estudos de coorte, com um total de 775.385 indivíduos e, comparado com homens com diabetes, mulheres diabéticas tiveram um risco maior de doença cerebrovascular. Esse estudo concluiu que o excesso de risco de acidente vascular cerebral associado com diabetes é significativamente maior em mulheres do que em homens, independente das diferenças entre gêneros em outros fatores de risco cardiovascular maiores(152). Da mesma forma, o risco relativo de doença coronariana relacionada com o diabetes é substancialmente mais elevada nas mulheres do que nos homens, mesmo após um ajuste para fatores de risco cardiovasculares(153).

As complicações microvasculares do diabetes (retinopatia, nefropatia e neuropatia) estão diretamente relacionados à gravidade e duração da hiperglicemia(154, 155), porém as complicações macrovasculares são a principal causa de mortalidade, (com infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral) responsáveis por 80% de todas as mortes em pacientes com diabetes mellitus do tipo 2(156).

Em pacientes diabéticos, os vasos de menor calibre são envolvidos mais extensivamente do que em populações não-diabéticas e a aterosclerose parece estar mais agressiva do que na população não-diabética(146). A hiperglicemia tem efeitos aterogênicos que conduzem ao desenvolvimento de aterosclerose em indivíduos com diabetes tipo 2. O nível sérico de albumina glicada e a relação entre albumina glicada e hemoglobina glicosilada parecem ser potenciais parâmetros que estão associados com a progressão da aterosclerose em indivíduos com diabetes tipo 2(157-159). Além disso, estudos prévios demonstraram mudanças mais avançadas na espessura médio-intimal de carótidas de pacientes com diabetes tipo 2, quando comparados com indivíduos não-diabéticos(160-162). Hunt e colaboradores demonstraram que a espessura médio-intimal da artéria carótida é significativamente elevada em pacientes que irão posteriormente desenvolver diabetes(163). Os mesmos resultados não foram encontrados no estudo realizado por Charvat e colaboradores(164), realizado com indivíduos diabéticos e indivíduos saudáveis como controle, no qual não foram

encontradas diferenças significativas na espessura médio-intimal de carótidas entre os dois grupos, somente em outros parâmetros vasculares, como rigidez vascular.

Assim como hiperglicemia, distúrbios metabólicos relacionados com diabetes e que representam fatores de risco para aterosclerose, por exemplo, resistência à insulina, hipertensão arterial, obesidade central e dislipidemia contribuem para a progressão da espessura médio-intimal em diabéticos(78). Além disso, as complicações ateroscleróticas do diabetes são mediadas por anormalidades na função endotelial e de células do músculo liso vascular causados por alterações metabólicas, tais como hiperglicemia, aumento de ácidos gordos livres, e a resistência à insulina(165).

✓ Idade Vascular

O risco cardiovascular é primariamente direcionado pela idade e uma pessoa jovem com um fator de risco significativo pode ainda ter um provável baixo escore de risco cardiovascular. Uma contínua exposição a fatores de risco nesses indivíduos jovens pode provavelmente levar a um aumento absoluto no risco cardiovascular conforme eles envelhecem(19). Essas ferramentas para cálculo de risco cardiovascular possuem limitações na precisa avaliação de risco de um indivíduo, podendo causar subestimação do mesmo(166). Além disso, os escores de risco são muito úteis em termos de cálculos estatísticos e monitoramento de saúde pública, porém eles fornecem somente uma avaliação superficial do risco do paciente, no qual o monitoramento de pacientes assintomáticos que são categorizados como risco baixo ou intermediário permanece um desafio(167).

Dessa forma, o conceito de idade vascular foi introduzida por D'Agostino e colaboradores(1), que publicaram tabelas de idade vascular derivadas das novas tabelas de risco cardiovascular obtidas do estudo de Framingham. É conceituada como a idade cronológica de alguém com o mesmo escore de risco para doença cardiovascular, mas com fatores de risco modificáveis normais. Isto significa que a idade vascular poderá ser maior do que a própria idade cronológica do indivíduo, se os fatores de risco de são elevados(168). A idade vascular é uma forma de expressar o risco cardiovascular como uma idade(19), simplificando a comunicação sobre o risco do paciente e portanto, poderia melhorar a aderência ao tratamento. Essa ferramenta mostra aos pacientes quantos anos eles podem ganhar ou perder, dependendo se

controlam ou não seus fatores de risco(169).

A própria percepção de risco pelo paciente parece ser um fator importante para motivar com sucesso a adoção de estilos de vida mais saudáveis em pacientes em risco de desenvolver doença cardiovascular(168), uma vez que o estudo de Marteau e colaboradores(170) relatou que quase 40% da população em geral subestima o próprio risco de doença cardiovascular. Alguns estudos avaliaram se a informação da idade vascular como uma forma de comunicar o risco cardiovascular seria melhor entendido pelos pacientes(168, 171, 172). Um estudo recente mostrou que informar o paciente sobre o risco de Framingham, ou a idade vascular, além do aconselhamento médico convencional, melhorou significativamente os parâmetros metabólicos dos pacientes(168). Similarmente, o estudo de Soureti e colaboradores(173) mostrou que a idade vascular é mais facilmente entendida por pacientes e tem um maior impacto do que o escore de risco cardiovascular. No entanto, não existem atualmente orientações que indicam metas e tratamentos com base nos valores de risco relativo ou na idade vascular(169).

➤ Marcadores de Rigidez Arterial e Aterosclerose

É cada vez mais claro que, embora a avaliação clínica seja fundamental do manejo do paciente, essa avaliação tem a sua limitação. Os médicos têm usado ferramentas adicionais para auxiliar a avaliação clínica e reforçar a sua capacidade de identificar os pacientes vulneráveis em risco para doença cardiovascular(13). Apesar de o escore de risco de Framingham ser um método de avaliação de risco amplamente utilizado para a predição de risco de doença cardiovascular, este método não aborda a história familiar de doença cardiovascular, estresse oxidativo, inflamação e suscetibilidade genética para doenças cardiovasculares(14). No entanto, quando aplicado em conjunto com marcadores de estresse oxidativo, aterosclerose e rigidez arterial, o escore de risco de Framingham torna-se uma ferramenta valiosa para a realização do gerenciamento de risco para doença cardiovascular(13).

✓ Velocidade de Onda de Pulso

A avaliação da rigidez arterial tem sido utilizada na avaliação clínica de pacientes, devido ao seu papel no desenvolvimento de doenças cardiovasculares(174). O enrijecimento arterial é também um marcador para o risco aumentado de doença cardiovascular, incluindo infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca, e a mortalidade total, bem como acidente vascular cerebral, demência, e doença renal(175-180).

A rigidez vascular se desenvolve a partir de uma interação complexa entre as alterações dinâmicas e estáveis envolvendo elementos estruturais e celulares da parede do vaso, que são influenciadas por forças hemodinâmicas, bem como pelos "fatores extrínsecos", tais como hormônios, sal e regulação da glicose(181). A rigidez não é uniformemente disseminada em toda a árvore vascular, ocorrendo em vasos centrais e de condutância, poupando as artérias mais periféricas(182). A rigidez arterial progride com a idade e pode ser acelerada por fatores diferentes, sendo a pressão arterial elevada um dos mais relevantes(183) e pode ser considerada uma medida da influência cumulativa de fatores de risco com o envelhecimento na árvore arterial(166).

Um método padrão-ouro para a avaliação da rigidez arterial é a velocidade da onda de pulso, que é diretamente medida, como uma razão entre a distância entre dois pontos de medição e o tempo necessário para a propagação do pulso(52, 184), sendo inversamente relacionada com a distensibilidade das paredes arteriais(185). A mensuração da velocidade de onda de pulso é aceita como o método mais simples, não invasivo, robusto e reproduzível para determinar a rigidez arterial. A velocidade de onda de pulso carótida-femoral é uma medida direta e corresponde ao modelo propagativo mais aceito do sistema arterial(174).

Vários estudos foram realizados demonstrando o valor preditivo da velocidade de onda de pulso para mortalidade cardiovascular(8, 9, 179, 186-188), eventos coronarianos(189), todas as causas de mortalidade cardiovascular(190), acidente vascular cerebral fatal(191), mortalidade e eventos cardiovasculares(192) e mortalidade cardiovascular e doença coronariana(193). Vlachopoulos e colaboradores conduziram um estudo de meta-análise mostrando o valor preditivo da velocidade de onda de pulso para prever futuros eventos cardiovasculares e todas as causas de mortalidade, sendo maior em indivíduos que já apresentavam maior risco cardiovascular no início do estudo(194). Além disso, alguns estudos têm usado a

velocidade de onda de pulso para estratificação de risco cardiovascular. Usando dados do Framingham Heart Study, Mitchell e colaboradores mostraram que a velocidade de onda de pulso carótida-femoral reclassificou o risco em um modelo que considerou fatores de risco padrões para doença cardiovascular, incluindo pressão arterial sistólica(195). Uma meta-análise de 16 estudos e 17.635 participantes com os principais eventos de doença cardiovascular confirmou a capacidade da velocidade de onda de pulso carótida-femoral de reclassificar o risco(196).

A medição da rigidez arterial é particularmente útil para obter uma visão global do efeito acumulado de fatores de risco cardiovascular diferentes, no processo de envelhecimento vascular. O acompanhamento longitudinal desta medida poderia também identificar aqueles cuja intervenção clínica não foi capaz de conseguir o controle dos fatores de risco e regressão/estabilização de sinais de rigidez arterial no início(183).

✓ Espessura médio-intimal de carótidas

A aterosclerose e suas complicações são importantes causa de morbidade e mortalidade no mundo ocidental, visto que podem ter como consequências: cardiopatia isquêmica crônica, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico, encefalopatia isquêmica, aneurismas de aorta, oclusão mesentérica, lesões isquêmicas nos membros inferiores, entre outras complicações(197).

A aterosclerose pode ser definida como uma doença inflamatória crônica que acomete principalmente a camada íntima de artérias de grande e médio calibre, a partir de um dano endotelial(198). O endotélio, é responsável pela manutenção da integridade e função vasculares e quando há a presença de alguns fatores de risco, ocorre a lesão endotelial, fazendo com que haja a perda da ação protetora do endotélio, causando alterações no fenótipo endotelial, que causam aumento na propensão para vasoconstrição, inflamação e proliferação na parede do vaso(199).

Alguns fatores de risco foram identificados como contribuintes do processo aterosclerótico e destacam-se a dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica, diabetes e o tabagismo. Além destes, também já foram propostos: sedentarismo, obesidade, história familiar positiva, idade avançada, hiperhomocisteinemia, entre outros(200). Estão intimamente relacionados com a incidência e a progressão da aterosclerose,

porém, são marcadores indiretos para avaliar a aterosclerose e possuem limitações(201). Os fatores de risco tradicionais para prever doenças cardiovasculares, como o Escore de Risco de *Framingham* conferem um valor preditivo modesto para eventos cardiovasculares futuros(16). Dessa forma, é importante identificar indivíduos com risco aumentado de doença cardiovascular e modificar seus fatores de risco logo no início. Além disso, o tratamento da aterosclerose avançada é menos eficaz do que a inibição da progressão da aterosclerose(202).

Uma razão óbvia pelo qual devemos ter interesse em avaliar as artérias carótidas é que o acidente vascular cerebral é a terceira causa de mortalidade nos Estados Unidos e é a maior causa de incapacidade. Além disso, as artérias carótidas fornecem uma janela para as artérias coronárias. Os fatores de risco para doença arterial coronária são os mesmos para doença cerebrovascular, e sabe-se que pacientes com uma grande estenose carotídea são propensos a ter estenose coronária. Além disso, a relação entre o grau de aterosclerose nas artérias carótidas e artérias coronárias é similar(15).

Alguns estudos têm demonstrado que as medições de aterosclerose subclínica, tais como ultrassom da carótida, índice tornozelo-braquial e escore de cálcio coronário, oferecem benefícios significativos na melhoria da predição de risco cardiovascular além dos tradicionais fatores de risco(203-205). Entre essas medidas, a medição ultrassonográfica da espessura médio-intimal da carótida e placa de carótida, têm sido amplamente aplicadas para detectar lesões ateroscleróticas precoces(201).

A medição da espessura da camada íntima-média com ultrassom modo B é uma técnica não invasiva, sensível e reprodutível para identificação e quantificação de doença vascular subclínica e para avaliar o risco de doença cardiovascular. A avaliação da espessura médio-intimal da carótida e identificação de placa na carótida podem ser úteis para refinar a avaliação de risco cardiovascular em pacientes com risco intermediário (ou seja, os pacientes com 6 a 20% de risco em 10 anos para infarto do miocárdio ou morte por doença cardíaca coronária que não tenham doença coronária estabelecida). Essa avaliação pode ser útil para pacientes com história familiar de doença cardiovascular prematura em um parente de primeiro grau, indivíduos com menos de 60 anos, com graves anormalidades em um fator de risco que não seriam candidatos para a farmacoterapia ou mulheres com menos de 60 anos de idade com pelo menos dois fatores de risco para doença cardiovascular(206).

A medida da espessura médio-intimal de carótidas e placa aterosclerótica possui várias vantagens para a monitorização da aterosclerose, uma vez que pode ser realizada sem efeitos adversos em pacientes, a um custo relativamente baixo, dá uma melhor visualização de alterações ateroscleróticas na parede arterial do que outras modalidades de imagem(201), além de se correlacionar bem com os principais fatores de risco cardiovascular(47), como alguns estudos têm demonstrado.

Idade e pressão alta são conhecidos como os principais determinantes do espessamento médio-intimal de carótidas na população em geral(207). Além desses, outros fatores pró-aterogênicos, como colesterol, LDL e resistência à insulina têm sido associados com a espessura médio-intimal de carótidas(208, 209). O *Bougalusa Heart Study* mostrou que a progressão da espessura médio-intimal de carótidas foi significativamente associada com a glicemia de jejum e pressão sistólica em adultos jovens(210). Essas associações entre os fatores de risco tradicionais para doença cardiovascular e a espessura médio-intimal de carótidas sugere que a mesma possui potencial como um marcador para predição de eventos cardiovasculares(201).

Muitos estudos têm avaliado a relação entre a medida da espessura médio-intimal da carótida e eventos clínicos cardiovasculares. Uma meta-análise com oito estudos realizada por Lorenz e colaboradores mostrou que o risco relativo para acidente vascular cerebral e infarto agudo do miocárdio aumenta conforme aumentam os valores da espessura médio-intimal de carótidas(211). Outro estudo de coorte desse mesmo autor mostrou que a medida da espessura médio-intimal em vários segmentos da carótida foi altamente preditora de desfechos como acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio e mortalidade geral(212). O estudo *Atherosclerosis Risk in Communities*(ARIC) realizou medidas da espessura médio-intimal nas carótidas comuns, bifurcação e na artéria carótida interna e após um período de acompanhamento de quatro a sete anos, foi demonstrado que um valor de 1 milímetro da espessura médio-intimal foi associado com um aumento na taxa de risco de evento coronariano, tanto para mulheres como para homens(213).

Além de possuir um valor preditivo significativo para eventos cardiovasculares, ainda não está claro se a espessura médio-intimal de carótidas agrega valor preditivo adicional aos fatores de risco tradicionais. Em um estudo realizado por Grewal e colaboradores(214), 23% dos indivíduos classificados como sendo de baixo risco para doença arterial coronariana por score de Framingham tinham aterosclerose subclínica assintomática. O estudo de Adolphe e colaboradores

também sugere que a medida da espessura médio-intimal de carótidas pode ser muito útil em melhorar a predição individual de risco do escore de Framingham(215). Gepner e colaboradores(216) identificaram preditores de pacientes no qual a mensuração da espessura médio-intimal de carótidas e determinaram que a idade vascular pode identificar indivíduos com aterosclerose subclínica, resultando em alterações clinicamente significativas nas estimativas de risco para doença cardiovascular. O estudo realizado por Junyent e colaboradores(217) também mostrou que a avaliação da espessura médio-intimal reajustou as categorias do escore de risco de Framingham em muitos indivíduos assintomáticos.

Lorenz e colaboradores(11) estudaram o valor adicional da espessura médio-intimal de carótidas usando dados do estudo *Carotid Atherosclerosis Progression Study*, que teve um segmento por 10 anos, envolvendo 4.904 indivíduos. Os indivíduos foram reclassificados para novas estratificações de risco usando modelos preditivos tradicionais de risco com a espessura médio-intimal de carótidas e foram comparados com as classificações baseadas nos escores de risco tradicionais para determinar a melhora da predição de risco cardiovascular com o uso da espessura médio-intimal de carótidas. Surpreendentemente, a predição de risco com a espessura médio-intimal de carótidas não demonstrou melhora na predição do risco cardiovascular, comparado com os modelos de predição de risco tradicionais. O estudo de Bots e colaboradores mostrou que não há valor adicional com a mensuração da espessura médio-intimal de carótidas nos indivíduos com elevados níveis de pressão arterial e para aqueles classificados como risco intermediário, a adição da mensuração da espessura médio-intimal de carótidas a um escore de risco cardiovascular prévio é pequena, porém estatisticamente significativa(218). Entretanto, apesar de não estar claro se a espessura médio-intimal de carótidas adiciona valor preditivo além dos modelos de fatores de risco tradicionais, essa medida pode ser útil na estratificação de risco de indivíduos com risco intermediário para doença cardiovascular, como determinado pelos fatores de risco tradicionais(201).

Além da espessura médio-intimal de carótidas, outra técnica que avalia aterosclerose subclínica é o escore de cálcio coronário, através do método de tomografia computadorizada, que também tem demonstrado uma sensibilidade maior para detecção do risco cardiovascular. Embora essas duas técnicas melhorem a capacidade de detectar precocemente a doença, existe uma discussão em relação à forma de integrar os resultados de imagem ao risco global do paciente. O que se

propõe é o uso da espessura médio-intimal de carótidas ou o escore de cálcio coronário para definir a idade vascular do paciente que poderia representar o percentil 50 da uma base de dados de referência. Redefinindo a idade de um indivíduo de acordo com os resultados dessas técnicas e usando essa idade vascular para calcular o Escore de Risco de Framingham, pode-se definir melhor a probabilidade de desenvolvimento de doença coronariana, além dos tradicionais fatores de risco. Porém, poucos dados estão disponíveis para comparar esses dois métodos(219).

➤ O papel da da inflamação e do estresse oxidativo no envelhecimento vascular

O envelhecimento vascular é caracterizado por mudanças funcionais e estruturais no endotélio e células de músculo liso, assim como alterações nas vias de comunicação entre essas duas camadas de células que formam a parede vascular(61) e a habilidade inadequada de reparo ao dano arterial(60), resultando em função endotelial prejudicada e aumento do enrijecimento vascular(59).

A vasodilatação endotelial prejudicada é uma manifestação precoce do envelhecimento arterial, que precede em anos as manifestações clínicas da disfunção vascular, e é o primeiro passo para doenças cardiovasculares, influenciando desfechos vasculares.

O aumento da rigidez vascular também acontece durante o envelhecimento vascular. A rigidez arterial é precedida por vasodilatação endotelial prejudicada, sugerindo que esta alteração arterial também está ligada à disfunção endotelial. Com a disfunção endotelial, outros distúrbios funcionais associados com o envelhecimento e algumas doenças (incluindo os fatores de risco cardiovasculares clássicos) vão contribuir para o desenvolvimento de alterações estruturais. O aumento da rigidez é secundário à perda de elasticidade da artéria, comprometendo adaptação ao fluxo sanguíneo vascular e alterações de pressão. A rigidez arterial aumentada devido ao envelhecimento vascular é manifestada por um aumento na velocidade de propagação das ondas de fluxo e está relacionada com a alteração da morfologia e da composição da matriz extracelular. As fibras elásticas se submetem a fragmentação e desgaste, que pode ser devido à fadiga mecânica ou atividade aumentada de metaloproteinase da matriz(220).

✓ Endotelina-1

A endotelina-1 foi inicialmente identificada como o mais potente vasoconstrictor, porém esse peptídeo tem uma molécula multifuncional, “citocina-like”, com várias atividades, afetando todos os níveis de função celular(221). A endotelina-1 não é um hormônio circulante(222) e é produzida em pequenas quantidades principalmente em células endoteliais, atuando principalmente como um mediador autócrino/parácrino(223) e é liberado continuamente, produzindo constrição intensa de músculo liso, contribuindo para a manutenção do tônus vascular(224). Entretanto, em condições fisiopatológicas, um grande número de diferentes células, incluindo células endoteliais, células musculares lisas vasculares e células inflamatórias, como macrófagos e leucócitos, são estimulados a produzir endotelina-1(223). A produção de endotelina-1 é regulada por muitos estímulos, no qual angiotensina II, epinefrina, insulina, hipóxia, trombina(225-227), fatores de crescimento, citocinas, radicais livres(227) e hormônios vasoativos(228) estimulam sua produção. Muitas funções importantes são mediadas pela ativação dos receptores Endotelina-A e Endotelina-B (ET_A e ET_B), incluindo vasoconstrição, remodelamento cardiovascular, proliferação celular, diferenciação celular, produção de matriz extracelular e controle da secreção de água e sódio(229). O receptor ET_A parece estar envolvido na patogênese e desenvolvimento de várias doenças, como hipertensão sistêmica e pulmonar, aterosclerose e diabetes, enquanto o receptor ET_B tem sido classificado como um receptor de depuração para prevenir que a endotelina-1 estimule em excesso o receptor ET_A(230).

O papel da endotelina-1 no processo de envelhecimento vascular está relacionado com efeitos diretos e indiretos na inflamação (incluindo expressão aumentada, liberação e atividade da endotelina-1)(221), e seus efeitos vasoconstrictores relacionados com a fisiologia desse processo, facilitando a proliferação de células de músculo liso vascular, fibrose e remodelamento, promovendo aterosclerose e enrijecimento arterial(231). O aumento na atividade do sistema de endotelina-1 tem sido sugerido para desempenhar um importante papel na disfunção endotelial(232). A endotelina-1 pode contribuir para a disfunção vascular no processo de envelhecimento, através de várias vias, como efeitos hemodinâmicos diretos, estresse oxidativo e atividade inflamatória, absorção de lipoproteínas de baixa

densidade oxidada, estimulação mitogênica das células musculares lisas vasculares, e processos fibróticos(233). No entanto, a compreensão dos eventos moleculares associados com diminuição da dilatação endotélio-dependente, relacionado ao envelhecimento em humanos não é clara(234).

Cardillo *et al*(235) mostraram que o bloqueio de receptores de endotelina-1 melhora a vasodilatação dependente do endotélio em pacientes hipertensos. Num estudo realizado com células endoteliais obtidos a partir da artéria braquial e veias periféricas mostraram que a expressão da endotelina-1 é aumentada em homens mais velhos saudáveis sedentários e que está relacionada com uma redução da dilatação dependente do endotélio(234).

O tônus vascular aumentado é um dos fatores importantes que ocorrem durante as mudanças relacionadas ao envelhecimento vascular(181) e os mecanismos mediados pela endotelina-1 que aumentam o tônus vascular incluem a síntese de endotelina-1, sensibilidade ou número de receptores de $ET_{A/B}$, e/ou alterações nas vias ativadas através dos receptores de endotelina-1(236). Haynes & Webb(237) mostraram que a geração endógena de endotelina-1 contribui para a manutenção do tônus vascular basal de seres humanos, agindo em parte através de receptores ET_A . Em vasos de resistência na circulação do antebraço em homens, a endotelina-1 provocou um efeito de progressão lenta, sugerindo um papel para endotelina-1 na manutenção a longo prazo do tônus vascular(238).

A endotelina-1 pode gerar espécies reativas de oxigênio através da ativação da NADPH-oxidase, e espécies reativas de oxigênio parecem estimular a produção de endotelina-1, levando a um ciclo vicioso de estresse oxidativo, inflamação e vasoconstrição(239). O aumento do estresse oxidativo tem muitos efeitos deletérios e o rápido consumo do óxido nítrico parece muito importante devido à sua reação com o radical superóxido, gerando peroxinitrito, que é uma molécula inflamatória(233). A endotelina-1 também tem sido implicada nos processos inflamatórios na parede do vaso por meio da ativação direta dos macrófagos e a indução de numerosos mediadores pró-inflamatórios(240). Como a endotelina-1 liga-se a receptores distintos e tem a sua função como um agente de proliferação e produção de citocinas pró-inflamatórias, tem um importante papel em várias doenças vasculares(240).

Como a endotelina-1 possui potentes propriedades vasoconstritoras e mitogênicas, que está envolvida na homeostase do sal e água e estimula o sistema nervoso simpático e no sistema renina-angiotensina-aldosterona(228). A endotelina-1

não somente influencia a hemodinâmica vascular, mas também pode participar da patogênese e progressão de várias doenças cardiovasculares: hipertensão essencial, aterosclerose, insuficiência cardíaca e hipertensão pulmonar(236). No entanto, os níveis de endotelina-1 foram associados a um risco aumentado de morbidade e mortalidade, também em indivíduos sem doença cardiovascular(241). Bossard e colaboradores (242) realizaram um estudo de base populacional entre os indivíduos jovens e saudáveis e descobriu que os níveis de endotelina-1 estão fortemente e independentemente associados ao risco cardiovascular global e com vários fatores de risco cardiovascular individuais, incluindo o tabagismo, pressão arterial e inflamação.

Apenas as concentrações plasmáticas de endotelina-1 podem ser mensuradas. Estas concentrações são afetados pela produção, liberação e quebra da endotelina-1(243). Em algumas condições, tais como aterosclerose, infarto do miocárdio, hipertensão pulmonar, insuficiência cardíaca e insuficiência renal, os níveis de endotelina-1 são elevados nos tecidos e no plasma(244-248). Em algumas doenças cardiovasculares, o aumento dos níveis plasmáticos de endotelina-1 é um marcador de ativação da endotelina-1, e dependendo da condição, estas alterações podem representar um aumento da produção, a depuração reduzida, e/ou o metabolismo da endotelina-1(243).

Existem vários dados sobre a influência do envelhecimento sobre a atividade do sistema endotelina-1 em adultos. Alguns estudos (249, 250) relataram aumento dos níveis circulantes de endotelina-1 em relação à idade, e produção excessiva de endotelina-1 em pacientes mais velhos(234), mas o significado fisiopatológico desses valores elevados não é claro(251). De acordo com Cardillo *et al*(252), concentrações plasmáticas circulantes de endotelina-1 podem não necessariamente refletir os seus efeitos vasculares, mas o depuramento do sangue. Há também excesso de produção de endotelina-1 em pacientes com hipertensão, doença renal crônica e diabetes(221). A concentração plasmática de endotelina-1 foi intimamente relacionada com a secreção de insulina e dose de insulina em pacientes com diabetes. Os autores mostraram que a endotelina-1 no plasma é mais elevada em diabetes tipo II do que em diabetes tipo I, concluindo que o aumento da exposição à insulina em pacientes com diabetes pode ter efeito a longo prazo na estrutura da parede vascular através da estimulação da expressão da endotelina-1(253).

✓ Sistema renina-angiotensina-aldosterona

A ativação inadequada do sistema renina-angiotensina-aldosterona está sendo cada vez mais reconhecida como um fator importante na determinação da disfunção endotelial, rigidez arterial e progressão de doenças cardiovasculares. O sistema renina-angiotensina-aldosterona é considerado como um sistema endócrino com renina derivada do rim regulando a produção de angiotensina II, que atua sobre supra-renais para estimular a produção de aldosterona e em tecidos cardiovasculares e outros tecidos para regular remodelação cardiovascular e pressão arterial(254).

A angiotensina é o principal componente biologicamente ativo do sistema renina angiotensina e atua através de receptores de angiotensina tipo 1 e tipo 2 (AT1 e AT2). Os receptores AT1 e AT2 têm ações contra reguladoras no sistema cardiovascular. Considerando que a ativação de AT1 resulta em vasoconstrição, proliferação, atividade pró-inflamatória, e pró-fibrótica, a angiotensina II se liga ao receptor AT2, induz vasodilatação nas artérias de condutas e de resistência e melhora a remodelação arterial(220).

O processo de envelhecimento vascular está associado com mudanças estruturais e funcionais, que são consequências de um fenótipo pró-inflamatório de células arteriais, incluindo células endoteliais, células de músculo liso vascular e (mio) fibroblastos. Essas alterações celulares estão associadas com ativação crônica da cascata de ativação da angiotensina II. A pró-inflamação da parede arterial é auto-regulada pelo fenômeno de sinalização da angiotensina II em resposta à condições fisiopatológicas(255).

A sinalização da angiotensina II tem sido amplamente associada ao processo de envelhecimento. Alguns estudos experimentais e em humanos mostram que a angiotensina II, a enzima de conversão da angiotensina, e o receptor AT1 estão marcadamente aumentados com a idade dentro da íntima espessada(256-258).

A angiotensina II media vários eventos importantes do processo inflamatório(259) e tem sido amplamente associada a um aumento associado à idade na capacidade migratória das células musculares lisas e com as características pró-inflamatórias do envelhecimento arterial(258). Sugere-se que a angiotensina II, que atua através do receptor AT 1, induz a ativação de células endoteliais e aumenta a expressão de *Vascular cell adhesion protein 1*(VCAM-1), através da via de NFL-κB(260, 261), promove a disfunção endotelial através da ativação de ciclo-oxigenase-

2, que por sua vez gera as prostaglandinas vasoativas e espécies reativas de oxigênio(262). O aumento das espécies reativas de oxigênio mitocondriais induzido pela angiotensina II está associada à diminuição da formação de óxido nítrico nas células endoteliais(263) e reduz o relaxamento dependente do endotélio aórtico, estando associado com o desenvolvimento de alterações cardiovasculares e hipertensão(264).

A aldosterona é um hormônio secretado pela glândula supra-renal, que se liga a mineralocorticóides e regula a pressão sanguínea no sistema cardiovascular(265). A via de sinalização da parede arterial aldosterona/mineralocorticóide parece estar aumentada com o envelhecimento(266). Estudos em humanos e em animais têm relatado previamente que o processo de envelhecimento vascular pode estar associado com insuficiência progressiva na estimulação adrenal da aldosterona, e essa insuficiência está possivelmente relacionada com o aumento da exposição do tecido a angiotensina II(267, 268), proporcionando assim um potencial mecanismo para explicar as doenças relacionadas com o envelhecimento(269). A aldosterona é conhecida por causar respostas inflamatórias e infiltração de células T. O envelhecimento está associado com a desregulação de aldosterona e seus receptores, que pode desempenhar um papel na inflamação relacionada com o envelhecimento, assim como prejudica a função vascular, levando ao remodelamento e hipertensão(270).

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo geral

Avaliar a relação entre envelhecimento vascular, rigidez arterial e aterosclerose subclínica em uma amostra de pacientes hipertensos tratados.

1.2. Objetivos específicos

- Rever o papel da endotelina no envelhecimento vascular acelerado
- Comparar o grau de correlação entre idade cronológica e idade vascular em relação à:
 - Rigidez arterial através da medida da velocidade de onda de pulso
 - Aterosclerose subclínica através da medida da espessura médio-intimal de carótidas
 - Reflexão da onda de pulso através da medida da pressão e índice de incremento
 - Pressão central através da medida indireta da pressão sistólica aórtica e pressão de pulso aórtica.

2. MÉTODOS

2.1. **Artigo 1:** Potential role of endothelin in early vascular aging (Artigo publicado)

Autores: Michelle Trindade, Mario Fritsch e Wille Oigman

Artigo aceito para publicação no *Current Hypertension Reviews*

Introduction

Normal vascular aging is a process associated with gradual changes in the structure and function of the vessels, e.g. changes in the elastin and collagen content of the vessel wall(1). When this process occurs in a premature way, it seems to take a more rapid course of normal biological aging in the arteries(2) leading to a number of features that are integrated in a condition characterized as early vascular aging (EVA)(3). These age-associated changes are accelerated in the presence of cardiovascular disease, and are also risk factors for the appearance or progression of cardiovascular disease, such as high blood pressure, dyslipidemia, smoking and diabetes(4).

EVA reflects the pronounced effect of aging on the vascular tree(5), characterized by functional and structural changes of the endothelium and smooth muscle cells. Alterations of the communication routes between these two cell layers(6) and the inadequate ability for repairing arterial damage(5) results in impairment of the endothelial function, and increased vascular stiffness(4).

The EVA process can be investigated by noninvasive measurement of arterial stiffness, carotid intima media thickness, and endothelial dysfunction(2, 3). It can provide information about previous exposure to risk factors for arterial damage and cardiovascular risk(4) and it is an important tool to understand the pathological mechanisms of early manifestations and its treatment(3).

1. Endothelins

Yanagisawa(7) reported in 1988 the isolation and characterization of a new, 21-residue peptide, as the most potent vasoconstrictor, called endothelin(8). Endothelins are a family of peptides, which comprises endothelin-1 (ET-1), endothelin-2 (ET-2), endothelin-3 (ET-3), endothelin-4 (ET-4), and endothelin-1-31 (ET-1-31)(9). Structure of ET-1, ET-2 and ET-3 are shown in the figure 1.

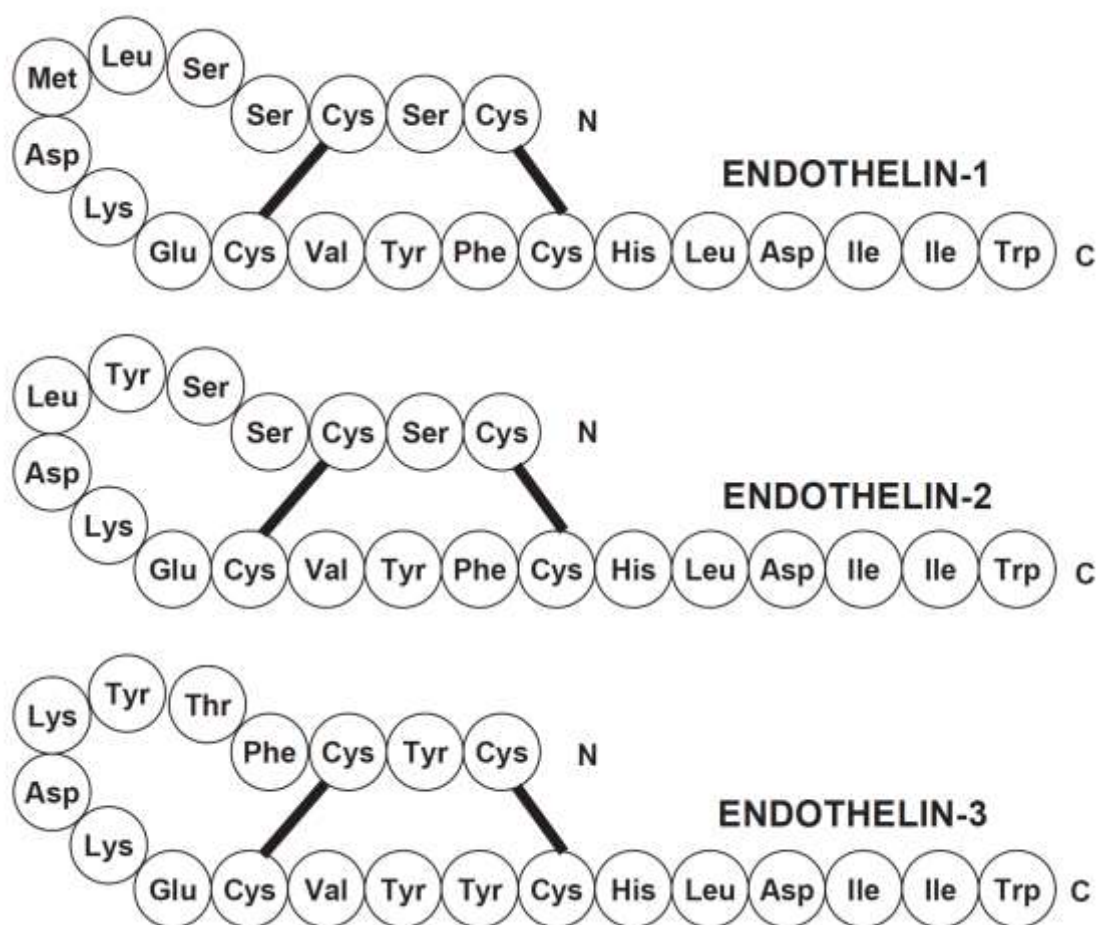


Figure 1. Amino acid sequences of the three isoforms (ET-1, ET-2, and ET-3) of endothelin

Each of the five endothelin peptides is expressed in various tissues and cells. Under normal physiological conditions, ET-1 is not circulating hormone(10). It is produced in small amounts mainly in endothelial cells, primarily acting as an autocrine/paracrine mediator(11) and it is released continuously producing intense constriction of the smooth muscle, contributing to the maintenance of endogenous vascular tone(12). However, under pathophysiological conditions, a large number of different cells, including endothelial cells, vascular smooth muscle cells, and inflammatory cells, as macrophages and leukocytes, are stimulated to produce ET-1(11). It is also produced in the heart, kidney, posterior pituitary(13), airway epithelial cells, macrophages, fibroblasts, cardiac myocytes, brain neurons, and pancreatic islets(9).

ET-2 is expressed in the ovary and intestinal epithelial cells(14) and it is known as the vasoactive intestinal contractor. ET-3 is found in brain neurons, renal tubular epithelial cells and intestinal epithelial cells(9) and mediates release of vasodilators(14). ET-4 is found in gut mucosa, lung and renal epithelial cells and ET1-31 has been discovered in mast cells(9).

ET-1 is the most abundant and important endothelin produced by vascular cells(15) and it is derived from a 39-amino acid precursor peptide, the pre-proET-1, or "big ET-1", which is subsequently cleaved in the C-terminal portion of the molecule to pro-ET-1 and then to ET-1 by a family of converting enzymes(8) (Figure 2). ET-1 production is regulated by many stimuli. Angiotensin II, epinephrine, insulin, hypoxia, thrombin(9, 13, 15), growth factors, cytokines, free radicals(13) and vasoactive hormones(16) stimulate ET-1 production. Nitric oxide, prostaglandins, natriuretic peptides, heparin, nitrovasodilators and prostaglandins down regulate its generation(16). In endothelial cells, mechanical shear stress has been shown to regulate ET-1 in a biphasic manner; low shear induces an early transient increase, whereas high physiological levels of shear stress induce a mild increase followed by a sustained decrease in ET-1 levels(17).

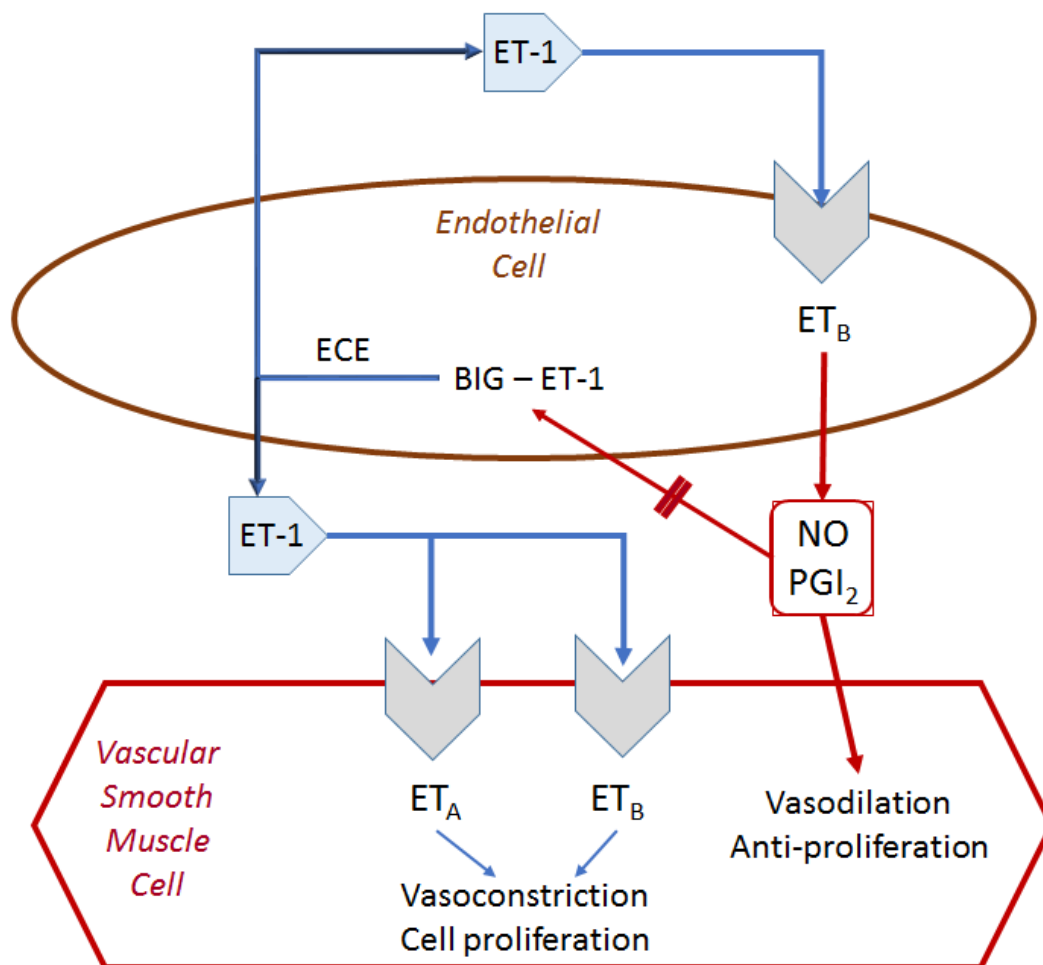


Figure 2. The interaction between ET-1 on endothelial and smooth muscle cells, and the ET_A and ET_B receptors is shown. ET-1 is derived from the pre-proET-1, or “big ET-1”, which is subsequently cleaved to pro-ET-1 and then to ET-1 by a family of converting enzymes. In normal states, the endothelial cell responds to stimulation from cytokines, growth factors, free radicals, and hypoxia by increasing ET-1 production. On the vascular smooth muscle cells, the expression of the ET_A and ET_B receptors will produce vasoconstriction and cell proliferation. ET_B receptor on the endothelial cell produces vasodilation and anti-proliferation effects.

ET-1 exerts its biological actions through the activation of two receptors: ET_A and ET_B. The receptors belong to a large family of transmembrane guanine nucleotide-binding protein-coupled receptors (GPCRs)(8). ET_A receptor has more

affinity for ET-1 and ET-2 than for ET-3, while ET_B receptor has a similar affinity to all ET isopeptides(18). ET_A and ET_B receptors are distributed in various tissues and cells, but with different levels of expression(14). In the vasculature, ET_A receptor is mainly located on vascular smooth muscle cells and ET_B receptor is primarily located on endothelial cells, but it is also present on vascular smooth muscle cells(19). Both ET_A and ET_B receptors located on vascular smooth muscle mediate potent vasoconstrictor effects. ET_B receptor exerts a dual role on vascular tone. Its activation in the endothelium results in release of nitric oxide and prostacyclin which cause vasodilatation, whereas stimulation of ET_B receptor in vascular smooth muscle cell results in vasoconstriction(20) (Figure 2).

ET-1 was initially identified as the most potent vasoconstrictor, but this peptide has a multifunctional, cytokine-like molecule with several activities, affecting all levels of cell function(21). Many important functions are mediated by activation of ET_A and ET_B receptors, including vasoconstriction, cardiovascular remodeling, cell proliferation, cell differentiation, extracellular matrix production, and control of water and sodium secretion(22). ET_A receptor seems to be involved in pathogenesis and development of various diseases such as systemic and pulmonary hypertension, atherosclerosis, diabetes, and cardiac remodeling after myocardial ischemia, whereas ET_B receptor has been classified as a clearance receptor to prevent ET-1 from excessively stimulating ET_A receptor(23).

2. Vascular effects of endothelin-1

The direct and indirect effects of ET-1 on inflammation (21) and its effects as a vasoconstrictor mediator in the physiology of this process, which facilitates vascular smooth muscle cell proliferation, fibrosis and remodeling, promoting atherosclerosis and arterial stiffening, play a role in the aging process(24). These changes also include increased expression, release, and activity of ET-1(21) (Figure 3).

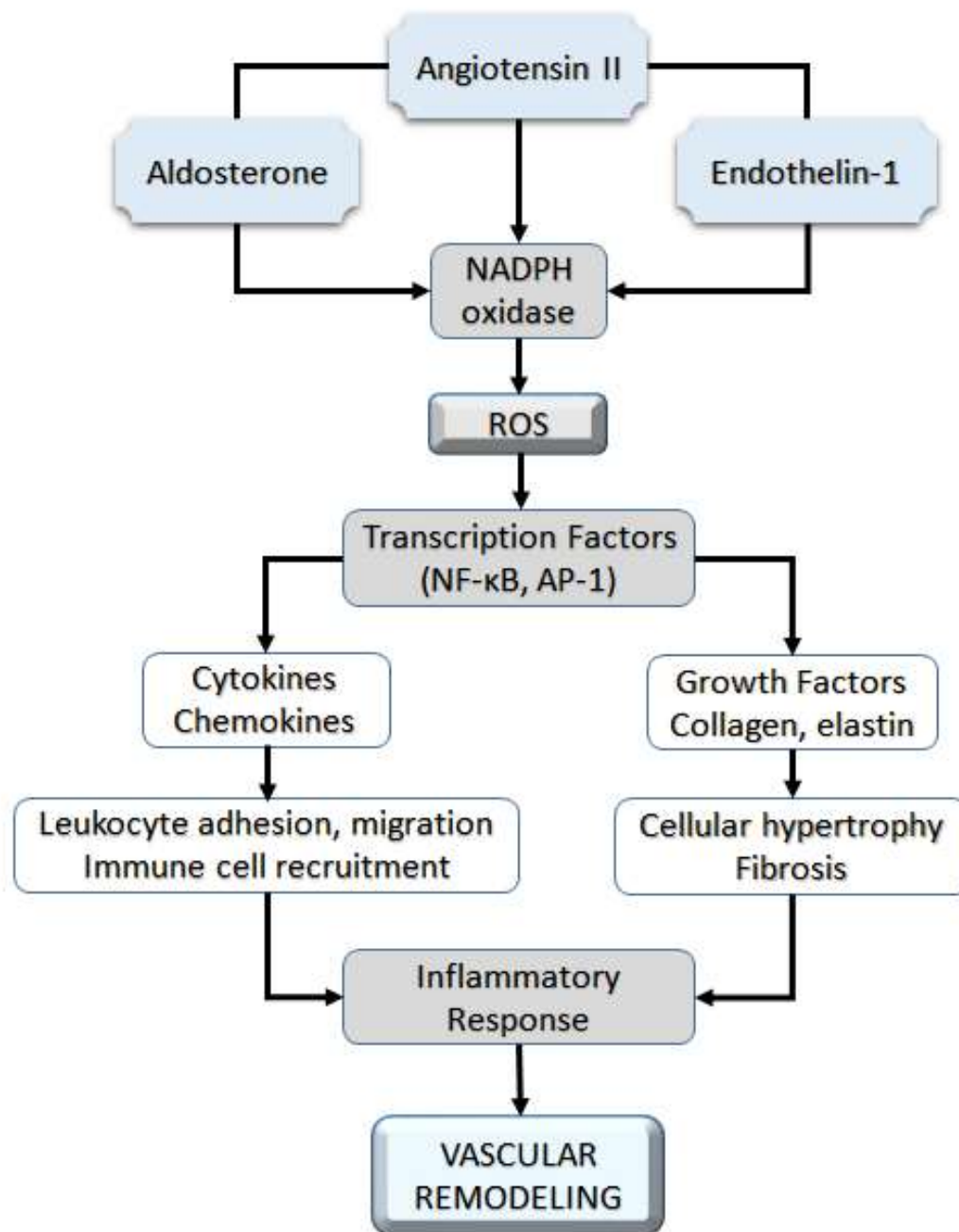


Figure 3. Enhanced renin-angiotensin-aldosterone activity leads to over production of angiotensin II which stimulates the production of ET-1 and aldosterone. These molecules can generate reactive oxygen species through activation of NADPH oxidase, as well as up regulates the activity of transcription factors (such as NF- κ B, nuclear factor κ B), promoting vascular inflammation that contributes to vascular remodeling and endothelial dysfunction.

Increased ET-1 system activity has been suggested to play a key role in endothelial vasodilator dysfunction(25). ET-1 may contribute to vascular dysfunction in aging via multiple pathways, such as direct hemodynamic effects, vascular oxidative stress and inflammatory activity, oxidized low-density lipoprotein uptake, mitogenic stimulation of the vascular smooth muscle cells, and fibrotic processes(26). However, the understanding of the molecular events associated with age-related reductions in endothelium-dependent dilation in humans is unclear(27).

Increased vascular tone is one of the important factors that occur during the age-related changes(28). The mechanisms for the increased ET-1– mediated vascular tone with aging include the synthesis of ET-1, sensitivity or numbers of ETA/B receptors, and/or changes in the activated pathways by the ET receptors(29).

ET-1-mediated vasoconstrictor tone has been shown to be greater in older compared with young men, but it can be reduced by regular aerobic exercise(30). In resistance vessels in the forearm circulation in man, ET-1 produced a slowly progressive effect, supporting a role for ET in long-term maintenance of vascular tone(31). Haynes & Webb(32) showed that endogenous generation of ET-1 contributes to maintenance of basal vascular tone in human beings, acting in part through ETA receptors. These finds have also been shown in healthy men(33) and patients with chronic renal disease(34).

Cardillo *et al*(35) showed that the blockade of ET-1 receptors improves endothelium-dependent vasodilatation in hypertensive patients. In a study conducted with endothelial cells obtained from the brachial artery and peripheral veins showed that ET-1 protein expression is increased in healthy sedentary old men and it is related to a reduction in endothelium-dependent dilation. Neither endothelial nitric oxide synthase (eNOS) protein nor its activation is reduced in vascular endothelial cells of older men, and eNOS activation was increased with age, indicating that ET-1 expression and bioactivity, but not eNOS, contribute to vascular endothelial dysfunction with aging(27). ET-1 vasoconstrictor tone, mediated by ETA receptor, seems to be lower in postmenopausal middle-aged and older women than in age-matched men(36). In healthy men, intrabrachial infusion of ET-1 during 30 min impairs endothelium-dependent relaxation, which can be prevented by coadministration of C vitamin(37).

ET-1 can generate reactive oxygen species through activation of NADPH

oxidase, and reactive oxygen species seems to stimulate ET-1 production, leading into a vicious cycle of oxidative stress, inflammation, and vasoconstriction(38). Increased oxidative stress has many deleterious effects and the rapid consumption of nitric oxide seems very important due its reaction with superoxide radical, generating peroxynitrite, that is an inflammatory molecule(26). ET-1 has been also implicated in the inflammatory processes in the vessel wall via direct activation of macrophages and induction of numerous proinflammatory mediators(39). Anggrahiniet *al*(39) have shown the role of endothelial cells-derived ET-1 in mediating inflammatory cell recruitment and neointima formation induced by ligation of the carotid artery in mice, stimulating the expression of adhesion molecules and vascular smooth muscle cells proliferation. As ET-1 binds to distinct receptors and has its function as a proliferating agent and pro-inflammatory cytokine, ET-1 has an important role in several vascular diseases(39).

As ET-1 has potent vasoconstrictor and mitogenic properties, it is involved in salt and water homeostasis and stimulates the sympathetic nervous system and renin-angiotensin-aldosterone system(16). Not only does the ET-1 pathway influence vascular hemodynamics, but it also may participate in the pathogenesis and progression of several cardiovascular diseases: essential hypertension, atherosclerosis, heart failure, and pulmonary hypertension(29). However, ET-1 levels have been associated with an increased risk of morbidity and mortality, also in subjects without cardiovascular disease(40). Bossardet *al*(41) performed a population-based study among young and healthy individuals and found that ET-1 levels are strongly and independently associated with the global cardiovascular risk and with several individual cardiovascular risk factors, including smoking, blood pressure, and inflammation.

3. Endothelin-1 and cardiovascular risk factors

Only plasma ET-1 concentrations can be measured in the clinical setting. These concentrations are affected by the production, clearance, and breakdown of ET-1(18).In some conditions, such as atherosclerosis,myocardial infarction,pulmonary hypertension,heart failure,and renal failure,ET-1 levels are elevated in both tissue and plasma(42-46). In some cardiovascular diseases, increased plasma ET-1 levels are a

marker of ET activation, and depending on the condition, these changes may reflect increased production, reduced clearance, and/or the metabolism of ET-1(18).

3.1 Age

There is evidence in animal models that aging is associated with elevated ET-1 system activation(47). The expression of ET-1 and nitric oxide synthase were increased in aging arteries in rats(48). Aging was associated with increased circulating levels of endothelin-1 and increased functional endothelin converting enzyme activity in intact arteries(49). Slight increases in circulating levels of ET-1 and in functional activity of endothelin converting enzyme have been observed in very advanced aging in rodents(50).

There are several data regarding the influence of aging on ET-1 system activity in adult humans. Some studies(51, 52) have reported increases in circulating levels of ET-1 related to age, and excessive production of ET-1 in older patients(27), but the pathophysiological significance of these elevated values is unclear(30). According with Cardillo *et al*(53), circulating plasma concentrations of ET-1 may not necessarily reflect its vascular effects but the clearance from the blood. In another study with cultured endothelial cells from the aorta of adults, the production and release of ET-1 was greater in subjects over the age of 50 years compared with cells from younger adults(54).

There is also overproduction of ET-1 in patients with hypertension, chronic renal disease, and diabetes(21). ET-1 plasma concentration was closely associated with insulin secretion and insulin dose in patients with diabetes. The authors showed that plasma ET-1 is higher in Type II diabetes than in Type I diabetes, concluding that increased insulin exposure in patients with diabetes may have long-term effects on vascular wall structure through its stimulation of ET-1 expression(55).

Studies have shown a relationship between ET-1 and age-dependent development of disease(27, 56), but it is unclear if the increase in local ET-1 during aging is due disease processes or inflammation, or whether it is in fact causal for the disease progression(21).

3.2 Hypertension

Vascular contribution of ET-1 to hypertension is related to vasoconstriction and remodeling of resistance vessels, thus increasing total peripheral resistance. These effects are predominantly related to ET_A receptor and are accompanied by oxidative stress, endothelial dysfunction and inflammation(57). ET-1 affects many systems that impact blood pressure, including central and peripheral nerves, circulating hormones, the vasculature, the heart and the kidneys(58).

The role of ET-1 in human hypertension has been investigated by measuring its plasma levels. Studies in animals and humans have shown the relationship between ET-1 and hypertension(59, 60), but whether ET-1 is the primary cause or a secondary factor associated, remains unknown(60). There is also an increase in some salt-sensitive models of hypertension, such as the deoxycorticosterone acetate (DOCA) salt hypertensive rat, DOCA salt-treated spontaneously hypertensive rat, and the Dahl salt-sensitive rat(61, 62).Amiriet al(63) demonstrated that in animals that received a high salt diet, the ET-1 over-expressing mice developed hypertension, emphasizing a role for ET-1 in salt-sensitive hypertension.

The implication of ET-1 in hypertension has been controversial and not completely clarified so far. Although some studies have demonstrated an increase in plasma levels of ET-1 in hypertensive patients or animal studies, most studies show unaltered or slightly increased levels(64, 65). Although ET-1 plasma levels are normal in some patients with essential hypertension, local ET-1 levels increase in the vascular wall with hypertension(50).

3.3 Diabetes

Multiple functions along with predominant expression in vascular tissues suggest that alteration of ET may be involved in diseases affecting both micro- and microvasculature (66). Endothelial dysfunction is an early finding in insulin resistance and diabetes(67) and one important feature is an increased production and biological activity of the potent vasoconstrictor and proinflammatory peptide ET-1(68), dysregulating glucose metabolism in insulin-resistant states(67). The contribution of ET-1 in vascular dysfunction has been reported in diabetes(69), contributing to

diabetic vascular disease and development of endothelial dysfunction, and insulin resistance, by increasing the production of reactive oxygen species in the vasculature(70).

Patients with diabetes demonstrate abnormalities of plasma ET-1 levels. Studies have reported both decreased(71) and increased plasma ET-1 levels(72). Furthermore, patients with type 2 diabetes have been reported to exhibit elevated(73) as well as unchanged levels of plasma ET-1(74). A correlation has been observed between plasma ET-1 levels and diabetic complications. ET-1 levels are higher in patients with microalbuminuria, elevated glycosylated concentrations and retinopathy(75, 76). It was also demonstrated an upregulation of ET-1 by hyperglycemia and insulin(77), suggesting that the upregulation of ET-1 and its receptors may be involved in vascular complications of diabetes(78). In diabetes mellitus, it is believed that a primary disturbance in ET-1 production from vascular endothelium exists as an early phenomenon rather than a result of advanced stage of the disease(68).

The inconsistency of the studies may be because of the variability in duration of diabetes and/or the level of metabolic control. In addition, ETs act both in an autocrine and paracrine fashion and the plasma levels of these peptides may not provide an adequate assessment of their biological activity(66).

3.4 Smoking

Cigarette smoke has been implicated as a major risk factor in chronic obstructive pulmonary disease, atherosclerosis, and related cardiovascular dysfunction(79). The mechanism for the increased risk of vascular dysfunction is not well understood, but it is presumed that the constituents of the tobacco smoke affect endothelial cell function(80). Because ET-1 exhibits potent vasoconstrictor activity, it may act as a mediator of vessel diseases associated with smoking(81). Some studies in humans showed that cigarette smoking results in a significant increase in plasma ET-1 levels(82, 83). Goerreet *al*(81) showed a significant increase in the ET-1 plasma levels after cigarette smoking, concluding that although nicotine itself seems to be an unlikely mediator, other smoke components, such as carbon oxide or tar, may be responsible for the increase in plasma ET-1 in smokers.

3.5 Dyslipidemia

Hypercholesterolemia is associated with early impairment of endothelium-dependent vasodilatation, and it is also associated with elevated plasma and tissue ET-1 concentrations that may be important for the vasomotor dysfunction in this condition(67). Niemann *et al* showed the interaction between increased LDL plasma levels and an enhanced ET-1 release in patients with hypercholesterolemia, suggesting that oxidized and native LDL stimulates the production of ET-1(84). Some studies showed that immunoreactive ET-1 and vascular activity of endogenous ET-1 are increased in patients with hypercholesterolemia(85, 86), and that lipoproteins stimulate the release of ET-1 in endothelial cells(87) and vascular smooth muscle cells(88). Studies have shown that a lipid-lowering treatment in patients with hypercholesterolemia decreased vascular effects of ET-1(89, 90). Hernandez-Perera *et al*(90, 91) showed that a reduction in plasma LDL-cholesterol by lipid-lowering treatment causes a down-regulation of the expression of pre-pro ET-1 mRNA in endothelial cells, and reduction of the ET-1 synthesis. Furthermore, cholesterol-lowering therapy by statins further improves the beneficial effects of ET antagonism on nitric oxide-mediated vasodilatation in hypercholesterolemia(92).

4. Endothelin Receptor Antagonists

Endothelin receptor antagonists can be classified into non-selective and selective ones. The selective antagonists have been developed to selectively block ET_A or ET_B receptors, and the non-selective antagonists can act on both ET_A and ET_B receptors. As ET_A and ET_B receptors have opposite actions, therapeutic applications must be carefully assessed, because it remains unclear whether selective ET_A or nonselective ET antagonists will confer the most therapeutic benefit(93).

Although many ET-1 receptor antagonists have been indicated for the clinical use in the treatment of cardiovascular diseases, only two molecules are in clinical use for pulmonary arterial hypertension (ambrisentan and bosentan). As ET-1 acts as a vasoconstrictive peptide, many investigators assumed that ET-1 would have a pharmacological target in the treatment of human hypertension(23).

Clinical studies in hypertensive patients showed that ET receptor antagonists are effective in lowering blood pressure. Bosentan Hypertension Investigators studied

patients with essential hypertension, comparing placebo, enalapril and bosentan (combined ET_A and ET_B receptors) and showed that bosentan significantly lowered blood pressure in these patients(94). Darusentan, which is an ET_A receptor-selective agent, also showed a decrease in blood pressure in a multicenter study (95). Another study showed the clinical use of ET receptor antagonists in the treatment of resistant hypertension. In this clinical study, patients who were receiving darusentan showed significant reduction in blood pressure compared to the placebo group(96). Although there is some evidence of a key role for the endothelin system in blood pressure control and hypertension, the clinical use of ET receptor antagonists to treat hypertension has not yet been approved(57).

Clinical studies have also been performed in diabetic patients using ET receptor antagonists. Settergren *et al*(97)reported that the administration of ET_A receptor antagonists improved skin capillary circulation and perfusion in patients with type 2 diabetes and microangiopathy. In a study using an ET_A receptor antagonist (atrasentan), blood pressure, LDL-cholesterol and triglyceride were improved and albuminuria was reduced in type 2 diabetic nephropathy patients receiving renin-angiotensin system inhibitors. In spite of these positive effects of the ET antagonist, some patients discontinued the treatment because of adverse effects(98). In experimental studies, ET receptor antagonists have been shown to restore endothelial function as assessed by nitric oxide production and acetylcholine-mediated vasodilatation in streptozotocin-treated rats, a widely used model of diabetes(99, 100). These studies indicate that the ET-1 pathway therapeutic target for the treatment of diabetes needs to be more deeply studied and confirmed in well-designed clinical trials(23).

Two important trials using ET receptor antagonists in chronic kidney disease evaluated the effect of avosentan in diabetic nephropathy patients and demonstrated decrease in albuminuria compared with placebo. Some patients informed adverse effects, such as fluid overload and congestive heart failure. Thus, the possible small dose-dependent reduction in urinary albumin excretion rate is questionable because of the potential adverse events associated with the higher dose(101).

In spite of the acceptable safety profile until now, ET receptor antagonists presented side effects. The most frequent clinical adverse events reported with ET receptor antagonists have been headache, dizziness, peripheral edema, nasal

congestion, upper respiratory tract infection, sinusitis, dyspnea, and chest pain (13). Potential gastrointestinal side effects include nausea, vomiting, and constipation(18). Most of these adverse events seem to be related to non-specific vasodilating effects(13). A dose-dependent liver toxicity is also reported. It seems to be related to impaired bile salt transport, causing accumulation of toxic bile salts in hepatocytes(102).

Although ET receptor antagonists may be beneficial in some conditions, there is not a single molecule antagonizing ET receptors that is in use beyond pulmonary arterial hypertension, because of the side effects and the availability of safer drugs for the treatment of these diseases(23).

References:

1. Nilsson P. Early Vascular Aging: Consequences and prevention. *Vascular Health and Risk Management*. 2008;4(3):5.
2. Nilsson PM. Early vascular aging (EVA): consequences and prevention. *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(3):547-52.
3. Kotsis V, Stabouli S, Karafillis I, Nilsson P. Early vascular aging and the role of central blood pressure. *Journal of hypertension*. 2011;29(10):1847-53.
4. Laurent S. Defining vascular aging and cardiovascular risk. *Journal of hypertension*. 2012;30 Suppl:S3-8.
5. Peter M, Nilsson PB, Pedro Cunha, Vasilios Kotsis, Krzysztof Narkiewicz, Gianfranco Parati, Ernst Rietzschel, Angelo Scuteri, Stephane Laurent. Early vascular ageing in translation: from laboratory investigations to clinical applications in cardiovascular prevention. *Journal of hypertension*. 2013:10.
6. El Assar M, Angulo J, Vallejo S, Peiro C, Sanchez-Ferrer CF, Rodriguez-Manas L. Mechanisms involved in the aging-induced vascular dysfunction. *Frontiers in physiology*. 2012;3:132.
7. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332(6163):411-5.
8. Nelson JB. Endothelin receptor antagonists. *World journal of urology*. 2005;23(1):19-27.

9. Sandoval YH, Atef ME, Levesque LO, Li Y, Anand-Srivastava MB. Endothelin-1 signaling in vascular physiology and pathophysiology. *Current vascular pharmacology*. 2014;12(2):202-14.
10. Bouallegue A, Vardatsikos G, Srivastava AK. Involvement of insulin-like growth factor 1 receptor transactivation in endothelin-1-induced signaling in vascular smooth muscle cells. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2010;88(5):501-9.
11. Bohm F, Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovascular research*. 2007;76(1):8-18.
12. Nasser SA, El-Mas MM. Endothelin ETA receptor antagonism in cardiovascular disease. *European journal of pharmacology*. 2014;737:210-3.
13. Motte S, McEntee K, Naeije R. Endothelin receptor antagonists. *Pharmacology & therapeutics*. 2006;110(3):386-414.
14. Kawanabe Y, Nauli SM. Endothelin. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2011;68(2):195-203.
15. Schiffrin EL. Vascular endothelin in hypertension. *Vascular pharmacology*. 2005;43(1):19-29.
16. Agapitov AV, Haynes WG. Role of endothelin in cardiovascular disease. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system : JRAAS*. 2002;3(1):1-15.
17. Malek AM, Zhang J, Jiang J, Alper SL, Izumo S. Endothelin-1 gene suppression by shear stress: pharmacological evaluation of the role of tyrosine kinase, intracellular calcium, cytoskeleton, and mechanosensitive channels. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1999;31(2):387-99.
18. Luscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation*. 2000;102(19):2434-40.
19. Dhaun N, Goddard J, Webb DJ. The endothelin system and its antagonism in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2006;17(4):943-55.
20. Schneider MP, Boesen EI, Pollock DM. Contrasting actions of endothelin ET(A) and ET(B) receptors in cardiovascular disease. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2007;47:731-59.
21. Barton M. Aging and endothelin: determinants of disease. *Life sciences*. 2014;118(2):97-109.

22. Horinouchi T, Terada K, Higashi T, Miwa S. Endothelin Receptor Signaling: New Insight Into Its Regulatory Mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2013;123(2):85-101.
23. Rodriguez-Pascual F, Busnadiego O, Lagares D, Lamas S. Role of endothelin in the cardiovascular system. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2011;63(6):463-72.
24. Meyer MR, Fredette NC, Barton M, Prossnitz ER. Endothelin-1 but not angiotensin II contributes to functional aging in murine carotid arteries. *Life sciences*. 2014;118(2):213-8.
25. Iglarz M, Clozel M. Mechanisms of ET-1-induced endothelial dysfunction. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2007;50(6):621-8.
26. Lekontseva O, Chakrabarti S, Davidge ST. Endothelin in the female vasculature: a role in aging? *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2010;298(3):R509-16.
27. Donato AJ, Gano LB, Eskurza I, Silver AE, Gates PE, Jablonski K, et al. Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2009;297(1):H425-32.
28. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005;25(5):932-43.
29. Thijssen DH, Hopman MT, Levine BD. Endothelin and aged blood vessels: one more reason to get off the couch? *Hypertension*. 2007;50(2):292-3.
30. Van Guilder GP, Westby CM, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic exercise. *Hypertension*. 2007;50(2):403-9.
31. Cockcroft JR, Clarke JG, Webb DJ. The effect of intra-arterial endothelin on resting blood flow and sympathetically mediated vasoconstriction in the forearm of man. *British journal of clinical pharmacology*. 1991;31(5):521-4.
32. Haynes WG, Webb DJ. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet*. 1994;344(8926):852-4.
33. Spratt JC, Goddard J, Patel N, Strachan FE, Rankin AJ, Webb DJ. Systemic ETA receptor antagonism with BQ-123 blocks ET-1 induced forearm vasoconstriction

- and decreases peripheral vascular resistance in healthy men. *British journal of pharmacology*. 2001;134(3):648-54.
34. Hand MF, Haynes WG, Webb DJ. Reduced endogenous endothelin-1-mediated vascular tone in chronic renal failure. *Kidney international*. 1999;55(2):613-20.
 35. Cardillo C, Campia U, Kilcoyne CM, Bryant MB, Panza JA. Improved endothelium-dependent vasodilation after blockade of endothelin receptors in patients with essential hypertension. *Circulation*. 2002;105(4):452-6.
 36. Stauffer BL, Westby CM, Greiner JJ, Van Guilder GP, Desouza CA. Sex differences in endothelin-1-mediated vasoconstrictor tone in middle-aged and older adults. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2010;298(2):R261-5.
 37. Bohm F, Settergren M, Pernow J. Vitamin C blocks vascular dysfunction and release of interleukin-6 induced by endothelin-1 in humans in vivo. *Atherosclerosis*. 2007;190(2):408-15.
 38. Dammanahalli KJ, Sun Z. Endothelins and NADPH oxidases in the cardiovascular system. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2008;35(1):2-6.
 39. Anggrahini DW, Emoto N, Nakayama K, Widyantoro B, Adiarto S, Iwasa N, et al. Vascular endothelial cell-derived endothelin-1 mediates vascular inflammation and neointima formation following blood flow cessation. *Cardiovascular research*. 2009;82(1):143-51.
 40. Yokoi K, Adachi H, Hirai Y, Enomoto M, Fukami A, Ogata K, et al. Plasma endothelin-1 level is a predictor of 10-year mortality in a general population: the Tanushimaru study. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2012;76(12):2779-84.
 41. Bossard M, Pumpol K, van der Lely S, Aeschbacher S, Schoen T, Krisai P, et al. Plasma endothelin-1 and cardiovascular risk among young and healthy adults. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):186-91.
 42. Lerman A, Edwards BS, Hallett JW, Heublein DM, Sandberg SM, Burnett JC, Jr. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *The New England journal of medicine*. 1991;325(14):997-1001.
 43. Stewart DJ, Kubac G, Costello KB, Cernacek P. Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1991;18(1):38-43.

44. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *The New England journal of medicine*. 1993;328(24):1732-9.
45. McMurray JJ, Ray SG, Abdullah I, Dargie HJ, Morton JJ. Plasma endothelin in chronic heart failure. *Circulation*. 1992;85(4):1374-9.
46. Knoll T, Schaub M, Birck R, Braun C, Juenemann KP, Rohmeiss P. The renoprotective potential of endothelin receptor antagonists. *Expert opinion on investigational drugs*. 2000;9(5):1041-52.
47. Ishihata A, Katano Y, Morinobu S, Endoh M. Influence of aging on the contractile response to endothelin of rat thoracic aorta. *European journal of pharmacology*. 1991;200(1):199-201.
48. Goettsch W, Lattmann T, Amann K, Szibor M, Morawietz H, Munter K, et al. Increased expression of endothelin-1 and inducible nitric oxide synthase isoform II in aging arteries in vivo: implications for atherosclerosis. *Biochemical and biophysical research communications*. 2001;280(3):908-13.
49. Barton M, Cosentino F, Brandes RP, Moreau P, Shaw S, Luscher TF. Anatomic heterogeneity of vascular aging: role of nitric oxide and endothelin. *Hypertension*. 1997;30(4):817-24.
50. Barton M, Shaw S, d'Uscio LV, Moreau P, Luscher TF. Angiotensin II increases vascular and renal endothelin-1 and functional endothelin converting enzyme activity in vivo: role of ETA receptors for endothelin regulation. *Biochemical and biophysical research communications*. 1997;238(3):861-5.
51. White M, Courtemanche M, Stewart DJ, Talajic M, Mikes E, Cernacek P, et al. Age- and gender-related changes in endothelin and catecholamine release, and in autonomic balance in response to head-up tilt. *Clinical science*. 1997;93(4):309-16.
52. Maeda S, Tanabe T, Miyauchi T, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, et al. Aerobic exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in older women. *Journal of applied physiology*. 2003;95(1):336-41.
53. Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO, 3rd, Panza JA. Interactions between nitric oxide and endothelin in the regulation of vascular tone of human resistance vessels in vivo. *Hypertension*. 2000;35(6):1237-41.

54. Kumazaki T, Fujii T, Kobayashi M, Mitsui Y. Aging- and growth-dependent modulation of endothelin-1 gene expression in human vascular endothelial cells. *Experimental cell research*. 1994;211(1):6-11.
55. Wollesen F, Berglund L, Berne C. Plasma endothelin-1 and total insulin exposure in diabetes mellitus. *Clinical science*. 1999;97(2):149-56.
56. Ortmann J, Amann K, Brandes RP, Kretzler M, Munter K, Parekh N, et al. Role of podocytes for reversal of glomerulosclerosis and proteinuria in the aging kidney after endothelin inhibition. *Hypertension*. 2004;44(6):974-81.
57. Boesen EI. Endothelin receptors, renal effects and blood pressure. *Current opinion in pharmacology*. 2015;21:25-34.
58. Kohan DE. Endothelin, hypertension and chronic kidney disease: new insights. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2010;19(2):134-9.
59. Iwasa S, Fan J, Shimokama T, Nagata M, Watanabe T. Increased immunoreactivity of endothelin-1 and endothelin B receptor in human atherosclerotic lesions. A possible role in atherogenesis. *Atherosclerosis*. 1999;146(1):93-100.
60. Naruse M, Takagi S, Tanabe A, Naruse K, Adachi C, Yoshimoto T, et al. Augmented expression of tissue endothelin-1 messenger RNA is a common feature in hypertensive rats. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2000;36(5 Suppl 1):S195-7.
61. Doucet J, Gonzalez W, Michel JB. Endothelin antagonists in salt-dependent hypertension associated with renal insufficiency. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1996;27(5):643-51.
62. Li JS, Lariviere R, Schiffrin EL. Effect of a nonselective endothelin antagonist on vascular remodeling in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. Evidence for a role of endothelin in vascular hypertrophy. *Hypertension*. 1994;24(2):183-8.
63. Amiri F, Ko EA, Javeshghani D, Reudelhuber TL, Schiffrin EL. Deleterious combined effects of salt-loading and endothelial cell restricted endothelin-1 overexpression on blood pressure and vascular function in mice. *Journal of hypertension*. 2010;28(6):1243-51.
64. Suzuki N, Miyauchi T, Tomobe Y, Matsumoto H, Goto K, Masaki T, et al. Plasma concentrations of endothelin-1 in spontaneously hypertensive rats and

- DOCA-salt hypertensive rats. *Biochemical and biophysical research communications*. 1990;167(3):941-7.
65. Davenport AP, Ashby MJ, Easton P, Ella S, Bedford J, Dickerson C, et al. A sensitive radioimmunoassay measuring endothelin-like immunoreactivity in human plasma: comparison of levels in patients with essential hypertension and normotensive control subjects. *Clinical science*. 1990;78(3):261-4.
 66. Khan ZA, Chakrabarti S. Endothelins in chronic diabetic complications. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2003;81(6):622-34.
 67. Pernow J, Shemyakin A, Bohm F. New perspectives on endothelin-1 in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Life sciences*. 2012;91(13-14):507-16.
 68. Kalani M. The importance of endothelin-1 for microvascular dysfunction in diabetes. *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(5):1061-8.
 69. Sachidanandam K, Harris A, Hutchinson J, Ergul A. Microvascular versus macrovascular dysfunction in type 2 diabetes: differences in contractile responses to endothelin-1. *Experimental biology and medicine*. 2006;231(6):1016-21.
 70. Li L, Fink GD, Watts SW, Northcott CA, Galligan JJ, Pagano PJ, et al. Endothelin-1 increases vascular superoxide via endothelin(A)-NADPH oxidase pathway in low-renin hypertension. *Circulation*. 2003;107(7):1053-8.
 71. Smulders RA, Stehouwer CD, Olthof CG, van Kamp GJ, Teerlink T, de Vries PM, et al. Plasma endothelin levels and vascular effects of intravenous L-arginine infusion in subjects with uncomplicated insulin-dependent diabetes mellitus. *Clinical science*. 1994;87(1):37-43.
 72. Haak T, Jungmann E, Felber A, Hillmann U, Usadel KH. Increased plasma levels of endothelin in diabetic patients with hypertension. *American journal of hypertension*. 1992;5(3):161-6.
 73. Mather KJ, Mirzamohammadi B, Lteif A, Steinberg HO, Baron AD. Endothelin contributes to basal vascular tone and endothelial dysfunction in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(12):3517-23.
 74. Guvener N, Aytemir K, Aksoyek S, Gedik O. Plasma endothelin-1 levels in non-insulin dependent diabetes mellitus patients with macrovascular disease. *Coronary artery disease*. 1997;8(5):253-8.
 75. Kawamura M, Ohgawara H, Naruse M, Suzuki N, Iwasaki N, Naruse K, et al. Increased plasma endothelin in NIDDM patients with retinopathy. *Diabetes care*. 1992;15(10):1396-7.

76. Collier A LJ, McLellan A, Jardine A, Morton JJ, Small M. Plasma endothelin-like immunoreactivity levels in IDDM patients with microalbuminuria. *Diabetes care*. 1992;15:3.
77. Yamauchi T, Ohnaka K, Takayanagi R, Umeda F, Nawata H. Enhanced secretion of endothelin-1 by elevated glucose levels from cultured bovine aortic endothelial cells. *FEBS letters*. 1990;267(1):16-8.
78. Ergul A. Endothelin-1 and diabetic complications: focus on the vasculature. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2011;63(6):477-82.
79. Li MW, Mian MO, Barhoumi T, Rehman A, Mann K, Paradis P, et al. Endothelin-1 overexpression exacerbates atherosclerosis and induces aortic aneurysms in apolipoprotein E knockout mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2013;33(10):2306-15.
80. Su Y, Han W, Giraldo C, De Li Y, Block ER. Effect of cigarette smoke extract on nitric oxide synthase in pulmonary artery endothelial cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 1998;19(5):819-25.
81. Goerre S, Staehli C, Shaw S, Luscher TF. Effect of cigarette smoking and nicotine on plasma endothelin-1 levels. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1995;26 Suppl 3:S236-8.
82. Haak T, Jungmann E, Raab C, Usadel KH. Elevated endothelin-1 levels after cigarette smoking. *Metabolism: clinical and experimental*. 1994;43(3):267-9.
83. Adachi C, Naruse M, Ishihara Y, Tanabe A, Takagi S, Yoshimoto T, et al. Effects of acute and chronic cigarette smoking on the expression of endothelin-1 mRNA of the cardiovascular tissues in rats. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2000;36(5 Suppl 1):S198-200.
84. Niemann B, Rohrbach S, Catar RA, Muller G, Barton M, Morawietz H. Native and oxidized low-density lipoproteins stimulate endothelin-converting enzyme-1 expression in human endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2005;334(3):747-53.
85. Rossi GP, Colonna S, Pavan E, Albertin G, Della Rocca F, Gerosa G, et al. Endothelin-1 and its mRNA in the wall layers of human arteries ex vivo. *Circulation*. 1999;99(9):1147-55.

86. Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO, 3rd, Panza JA. Increased activity of endogenous endothelin in patients with hypercholesterolemia. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000;36(5):1483-8.
87. Horio T, Kohno M, Yasunari K, Murakawa K, Yokokawa K, Ikeda M, et al. Stimulation of endothelin-1 release by low density and very low density lipoproteins in cultured human endothelial cells. *Atherosclerosis*. 1993;101(2):185-90.
88. Haug C, Schmid-Kotsas A, Zorn U, Schuett S, Gross HJ, Gruenert A, et al. Endothelin-1 synthesis and endothelin B receptor expression in human coronary artery smooth muscle cells and monocyte-derived macrophages is up-regulated by low density lipoproteins. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2001;33(9):1701-12.
89. Mraiche F, Cena J, Das D, Vollrath B. Effects of statins on vascular function of endothelin-1. *British journal of pharmacology*. 2005;144(5):715-26.
90. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Soria E, Lamas S. Involvement of Rho GTPases in the transcriptional inhibition of preproendothelin-1 gene expression by simvastatin in vascular endothelial cells. *Circulation research*. 2000;87(7):616-22.
91. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Navarro-Antolin J, Sanchez-Pascuala R, Hernandez G, Diaz C, et al. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *The Journal of clinical investigation*. 1998;101(12):2711-9.
92. Leslie SJ, Spratt JC, Grieg L, Attina T, Denvir MA, Webb DJ. The effect of cerivastatin therapy on vascular responses to endothelin antagonists in humans. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2004;44 Suppl 1:S410-2.
93. Rich S, McLaughlin VV. Endothelin receptor blockers in cardiovascular disease. *Circulation*. 2003;108(18):2184-90.
94. Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, Budde M, Charlon V. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. Bosentan Hypertension Investigators. *The New England journal of medicine*. 1998;338(12):784-90.

95. Nakov R, Pfarr E, Eberle S, Investigators H. Darusentan: an effective endothelinA receptor antagonist for treatment of hypertension. *American journal of hypertension*. 2002;15(7 Pt 1):583-9.
96. Weber MA, Black H, Bakris G, Krum H, Linas S, Weiss R, et al. A selective endothelin-receptor antagonist to reduce blood pressure in patients with treatment-resistant hypertension: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2009;374(9699):1423-31.
97. Settergren M, Pernow J, Brismar K, Jorneskog G, Kalani M. Endothelin-A receptor blockade increases nutritive skin capillary circulation in patients with type 2 diabetes and microangiopathy. *Journal of vascular research*. 2008;45(4):295-302.
98. de Zeeuw D, Coll B, Andress D, Brennan JJ, Tang H, Houser M, et al. The endothelin antagonist atrasentan lowers residual albuminuria in patients with type 2 diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2014;25(5):1083-93.
99. Dumont AS, Dumont RJ, McNeill JH, Kassell NF, Sutherland GR, Verma S. Chronic endothelin antagonism restores cerebrovascular function in diabetes. *Neurosurgery*. 2003;52(3):653-60; discussion 9-60.
100. Wolkart G, Stessel H, Saad Z, Kirchengast M, Brunner F. Cardioprotective effects of atrasentan, an endothelin-A receptor antagonist, but not of nitric oxide in diabetic mice with myocyte-specific overexpression of endothelial nitric oxide synthase. *British journal of pharmacology*. 2006;148(5):671-81.
101. Wenzel RR, Littke T, Kuranoff S, Jurgens C, Bruck H, Ritz E, et al. Avosentan reduces albumin excretion in diabetics with macroalbuminuria. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2009;20(3):655-64.
102. Fattinger K, Funk C, Pantze M, Weber C, Reichen J, Stieger B, et al. The endothelin antagonist bosentan inhibits the canalicular bile salt export pump: a potential mechanism for hepatic adverse reactions. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2001;69(4):223-31.

2.2. Artigo 2: Relationship between vascular age, arterial stiffness and subclinical atherosclerosis in treated hypertensive patients (Artigo submetido)

Autores: Michelle Trindade, Mario Fritsch, Ana Rosa Cunha, Jenife d'El-Rei, Marcela Casanova, Wille Oigman

Artigo submetido para publicação no *Journal of Hypertension*.

INTRODUCTION

Advanced age, male gender, high blood pressure, smoking, dyslipidemia, and diabetes are well established as the major risk factors for cardiovascular disease (CVD)[1] although some patients with atherosclerotic disease do not always have these conditions. Early recognition and treatment of patients at high risk for atherosclerosis are the main goals to reduce the incidence of cardiovascular events. Therefore, the identification of risk factors and markers of subclinical arterial disease are essential for the prevention of CVD[2].

Risk prediction scores incorporating these risk factors were developed and they can be used by primary care physicians[1], but despite the availability of various risk prediction algorithms already validated, these tools have been underused in primary care[3]. The potential reasons for physician inertia in using risk prediction instruments are the multiplicity of such algorithms, little evidence indicating the use of cardiovascular risk scores for primary prevention and because the performance of the Framingham risk score varies considerably between different populations[4].

Framingham coronary heart disease risk assessment aids to classify an individual's risk of future coronary events and its estimates are strongly influenced by chronological age. However, the atherosclerotic burdens of individuals with the same chronological age and similar risk profiles can differ substantially[5]. Thus, vascular age was formulated according to the general cardiovascular risk score based on Framingham Heart Study[1]. This tool allows physicians to identify higher-risk individuals to develop any cardiovascular disease such as myocardial infarction, unstable angina, heart failure, stroke, transient ischemic attack or peripheral arterial disease. Vascular age may be a more reasonable concept to the patient than the information on the percentage of risk and it is thought to improve cardiovascular risk prediction models[6].

Several studies have shown that carotid intima-media thickness as well as arterial stiffness [7-10] are strong predictors of CVD morbidity and mortality, and both are well related to all traditional cardiovascular risk factors in middle-aged and older subjects[11]. Although these techniques are non-invasive, quickly assessed and can be used as a screening tool to identify subjects at high vascular risk, this does not necessarily mean that its clinical usefulness substantially exceeds that of traditional risk models, like the Framingham Risk Score[12]. The aim of the present study was to identify the degree of correlation between vascular age and subclinical evidence of arterial disease in treated hypertensive patients.

METHODS

Study population

Patients were recruited from the outpatient Hypertension Clinic at our University Hospital. Study population consisted of 165 hypertensive patients, both genders, aged 30-75 years, and free of clinical evidence of atherosclerotic CVD or signs of secondary hypertension. The local research ethics committee approved the study protocol and all participants signed the informed consent according to Resolution no. 466/2013 of the National Health Council.

Clinical evaluation

All individuals were asked about previous CVD, diabetes, smoking habits and duration of hypertension. Height and weight were obtained, and body mass index (BMI) was calculated as body weight (in kg) divided by squared height (in meters). Waist circumference was measured using a steel measuring tape, with measurements made halfway between the lower border of the ribs, and the iliac crest in a horizontal plane. Hip circumference was measured at the widest point over the buttocks. Waist-hip ratio was obtained by dividing the mean waist by the hip-circumference.

Three consecutive measurements of brachial blood pressure and heart rate were done after five minutes resting, and the average of these readings was considered for the analysis. Pulse pressure was calculated as the difference between systolic and diastolic blood pressure. Venous blood samples were collected after 12h fasting. Serum lipids and glucose were measured with an autoanalyzer technique(Technicon

DAX96, Miles Inc). LDL-cholesterol concentrations were calculated using Friedewald's equation when triglycerides levels < 400 mg/dl. We used the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equation to estimate glomerular filtration ratio from age, gender, ethnic origin, and serum creatinine concentration.

Vascular age estimation

We calculated the 10-year risk of cardiovascular disease for each person using the sex-specific Framingham equations for general cardiovascular disease which include age, total and HDL cholesterol, systolic blood pressure, treatment for hypertension, current smoking (yes/no) and diabetes status. This estimated risk score was matched with the age at which the risk was equivalent but all other risk factors were at ideal levels. This evaluation considers the risk of developing, over a period of 10 years, fatal or nonfatal coronary heart disease, ischemic or hemorrhagic stroke, transient ischemic attack, peripheral arterial disease or heart failure.

Assessment of central pressure

Applanation tonometry was performed with the SphygmoCor system (Atcor Medical, Sydney, Australia) with the patient in supine position, resting the arm on a rigid surface, and a sensor in the radial artery. The device analyzes pulse waves using a generalized transfer function validated in a catheterization laboratory to calculate a central aortic pressure wave. Augmentation pressure (AP) was defined as the difference between the late and the early peak in blood pressure, and the central augmentation index (AIx) as the ratio between augmentation pressure and pulse pressure. Since AIx is affected by heart rate, values were adjusted to a standard heart rate of 75 beats per minute.

Pulse wave velocity

After the patients had rested for 10 minutes in supine position in a quiet room, the investigator measured carotid-femoral pulse wave velocity (PWV) using a Complior device (Alam Medical, Vincennes, France). During the measurements,

speaking or sleeping was not allowed and no meal, caffeine or smoking was permitted within 3h before measurement. Pulse wave forms were obtained transcutaneously from the right common carotid artery and femoral artery. The distance travelled (DT) was estimated as 80% of the direct tape measure distance between carotid and femoral artery. Carotid-femoral PWV was calculated as distance (DT) divided by transit time (TT) obtained by measuring the time difference between the arrival of the pulse wave at the femoral and carotid arteries ($PWV = DT/TT$). The mean of two measurements was calculated and when the difference between them was more than 0.5 m/s, a third measurement was obtained.

Carotid ultrasonography

A linear array transducer with a multiple-frequency (7–12 MHz) attached to a high-resolution B-mode ultrasound system was used to acquire images by a single sonographer blind to clinical data of subjects. Simultaneous electrocardiogram was recorded to assure the timing of end-diastolic images. Measurement of intima-media thickness (IMT) was performed in the common carotid artery, at both sides, in a region free of plaque located approximately 20 mm from bulb. At least three values were obtained in different sites of this segment, and the mean value of six measurements (three from each side) was used for analysis.

Statistical analysis

The results of continuous variables were expressed as mean \pm standard deviation and categorical variables as frequency and percentage. The continuous variables in the groups divided into tertiles were compared by analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-test, with a 95% confidence interval, and $p < 0.05$ was considered statistically significant. Pearson's coefficient was obtained in correlation tests between continuous variables. The Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 18 for Windows (SPSS, Chicago, IL, USA) was used for statistical analysis.

RESULTS

Two-hundred individuals were selected for this study but 35 subjects did not match the inclusion criteria or did not sign the informed consent. Therefore, 165 patients with low (21.4%), intermediate (39.6%) and high (39.0%) cardiovascular risk by Framingham score were included in the study. Dyslipidemia (55.7%), obesity (39.5%), chronic renal disease (21.7%), diabetes (17.6%) and smoking (11.5%) were the main risk factors observed in this study population.

After dividing the patients into tertiles of chronological age, time of hypertension was shorter in the first tertile as expected, but no significant difference was found between the second and the third tertile. The systolic blood pressure was significantly higher only in the second tertile when compared to the first tertile. Diastolic blood pressure was decreasing according to the progression of the tertile of age, in contrast to pulse pressure that was gradually increased in the second and third tertile. Although carotid-femoral pulse wave velocity (cf-PWV), AP and aortic pulse pressure were significantly lower in the first compared to the second and third groups, there was no significant difference between these last tertiles concerning these vascular parameters (Table 1).

Table 1. Clinical, biochemical and vascular parameters in the groups divided by tertiles of chronological age.

	1 st tertile (30-52 yo) n = 52	2 nd tertile (53-60 yo) n = 56	3 rd tertile (≥61 yo) n = 57	ANOVA
Age, years	45.6 ± 5.3	56.5 ± 2.2 ^{***}	66.3 ± 3.9 ^{***}	<0.001
Time of hypertension, years	7.5 ± 5.0	14.4 ± 9.1 ^{**}	17.2 ± 11.8 ^{***}	<0.001
Systolic BP, mmHg	139 ± 17	151 ± 22 ^{**}	146 ± 19	<0.01
Diastolic BP, mmHg	88 ± 12	89 ± 9	80 ± 10 ^{****††}	<0.001
Pulse pressure, mmHg	51 ± 10	62 ± 16 ^{***}	65 ± 17 ^{***}	<0.001
BMI, kg/m ²	29.7 ± 5.4	29.3 ± 4.7	28.5 ± 4.1	0.401
Waist-to-hip ratio	0.91 ± 0.06	0.91 ± 0.06	0.92 ± 0.07	0.463
Creatinine, mg/dl	0.79 ± 0.16	0.86 ± 0.19	0.88 ± 0.20	0.096
eGFR, ml/min	90 ± 19	76 ± 15 ^{***}	63 ± 14 ^{****††}	<0.001
Total cholesterol, mg/dl	193 ± 40	221 ± 41 ^{**}	206 ± 50	<0.01
Triglycerides, mg/dl	126 ± 71	138 ± 70	134 ± 72	0.665
HDL-cholesterol, mg/dl	46 ± 11	47 ± 11	48 ± 13	0.764
LDL-cholesterol, mg/dl	123 ± 35	146 ± 36 ^{**}	131 ± 42	<0.05
Glucose, mg/dl	107 ± 53	98 ± 32	106 ± 41	0.437
Carotid-femoral PWV, m/s	9.7 ± 1.5	11.1 ± 1.9 ^{**}	11.1 ± 2.0 ^{**}	<0.001
Mean carotid IMT, mm	0.78 ± 0.26	0.82 ± 0.10	0.86 ± 0.13	0.529
Maximum carotid IMT, mm	0.88 ± 0.38	0.89 ± 0.13	0.91 ± 0.14	0.952
Augmentation pressure, mmHg	13 ± 5	18 ± 9 [*]	19 ± 9 ^{**}	<0.01
Augmentation index, %	31 ± 9	33 ± 10	34 ± 9	0.284
Aortic systolic pressure, mmHg	129 ± 17	140 ± 23 [*]	136 ± 20	<0.05
Aortic pulse pressure, mmHg	39 ± 9	51 ± 17 ^{**}	55 ± 18 ^{***}	<0.001

Data expressed as mean±SD. BP, blood pressure; BMI, body mass index; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HDL; high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; PWV, pulse wave velocity; IMT, intima media thickness. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs 1st tertile; ††p<0.01, †††p<0.001 vs 2nd tertile.

Afterward, the patients were divided according to tertiles of vascular age estimated by the Framingham risk score. Systolic blood pressure and pulse pressure were progressively higher in groups with higher vascular age. Likewise, AP, aortic systolic blood pressure and the aortic pulse pressure were significantly higher in the groups with increased vascular age (Table 2).

Table 2. Parameters divided by tertile of vascular age based on global cardiovascular risk.

	1 st tertile (30-64 yo) n = 53	2 nd tertile (65-83 yo) n = 56	3 rd tertile (≥ 84 yo) n = 56	ANOVA
Vascular age, years	52 ± 9	75 ± 5 ^{***}	86 ± 1 ^{***†††}	<0.001
Time of hypertension, years	6.6 ± 5.2	14.5 ± 9.2 ^{***}	17.7 ± 10.2 ^{***}	<0.001
Systolic BP, mmHg	131 ± 15	143 ± 15 ^{**}	160 ± 17 ^{***†††}	<0.001
Diastolic BP, mmHg	83 ± 12	85 ± 10	88 ± 10 [*]	<0.05
Pulse pressure, mmHg	48 ± 8	58 ± 12 ^{***}	71 ± 16 ^{***†††}	<0.001
BMI, kg/m ²	29.4 ± 5.8	29.0 ± 4.2	29.7 ± 4.2	0.769
Waist-to-hip ratio	0.90 ± 0.07	0.91 ± 0.07	0.93 ± 0.07	0.056
Creatinine, mg/dl	0.81 ± 0.17	0.87 ± 0.16	0.86 ± 0.23	0.318
eGFR, ml/min	86 ± 21	73 ± 16 ^{**}	69 ± 17 ^{***}	<0.001
Total cholesterol, mg/dl	188 ± 38	212 ± 41 [*]	222 ± 49 ^{***}	<0.001
Triglycerides, mg/dl	112 ± 61	135 ± 63	153 ± 81 ^{***}	<0.05
HDL-cholesterol, mg/dl	51 ± 13	47 ± 11	45 ± 11 [*]	0.061
LDL-cholesterol, mg/dl	116 ± 33	138 ± 36 ^{**}	148 ± 40 ^{***}	<0.001
Glucose, mg/dl	100 ± 43	96 ± 36	115 ± 46	0.067
Carotid-femoral PWV, m/s	9.6 ± 1.2	10.6 ± 1.8 [*]	11.9 ± 2.0 ^{***†††}	<0.001
Mean carotid IMT, mm	0.71 ± 0.12	0.83 ± 0.07	0.95 ± 0.25 ^{**}	<0.01
Maximum carotid IMT, mm	0.76 ± 0.13	0.90 ± 0.11	1.10 ± 0.38 ^{**}	<0.01
Augmentation pressure, mmHg	13 ± 6	15 ± 6	21 ± 9 ^{***††}	<0.001
Augmentation index, %	31 ± 11	32 ± 8	34 ± 8	0.354
Aortic systolic pressure, mmHg	123 ± 15	133 ± 16 [*]	150 ± 18 ^{***†††}	<0.001
Aortic pulse pressure, mmHg	39 ± 9	48 ± 12 [*]	60 ± 19 ^{***†††}	<0.001

Data expressed as mean±SD. BP, blood pressure; BMI, body mass index; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HDL; high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; PWV, pulse wave velocity; IMT, intima media thickness. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs 1st tertile; ††p<0.01, †††p<0.001 vs 2nd tertile.

Radial applanation tonometry was carried out to obtain aortic systolic pressure and other central hemodynamic parameters. Patients with higher (≥ 135 mmHg) aortic systolic pressure presented similar chronological age but significantly greater vascular age compared to those with lower (< 135 mmHg) aortic systolic pressure (Figure 1).

Additionally, aortic systolic pressure was significantly correlated with vascular age but not with chronological age (Figure 2).

When we grouped the patients according to pulse wave velocity (n=158), the group with greater values of cf-PWV (≥ 10 m/s) showed significantly higher mean of chronological and vascular age (Figure 1). In addition, cf-PWV showed moderate positive correlation with chronological and vascular age (Figure 2).

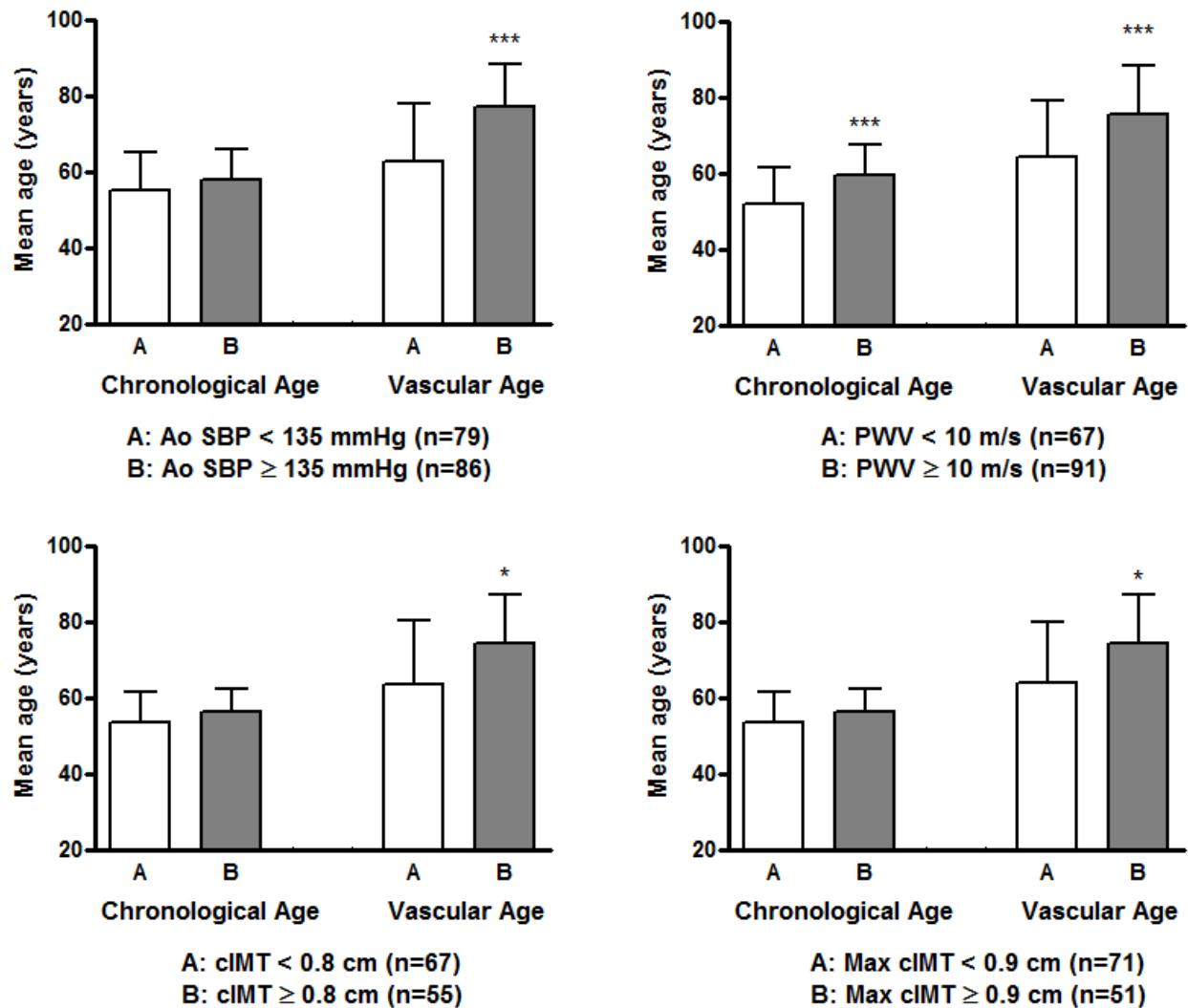


Figure 1. Mean chronological and vascular age when patients were divided by aortic systolic blood pressure (Ao SBP; left superior), by pulse wave velocity (PWV; right superior), by mean carotid intima media thickness (cIMT; left inferior) and by maximum carotid intima media thickness (Max cIMT; right inferior). * $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$ compared to subjects in the same age group.

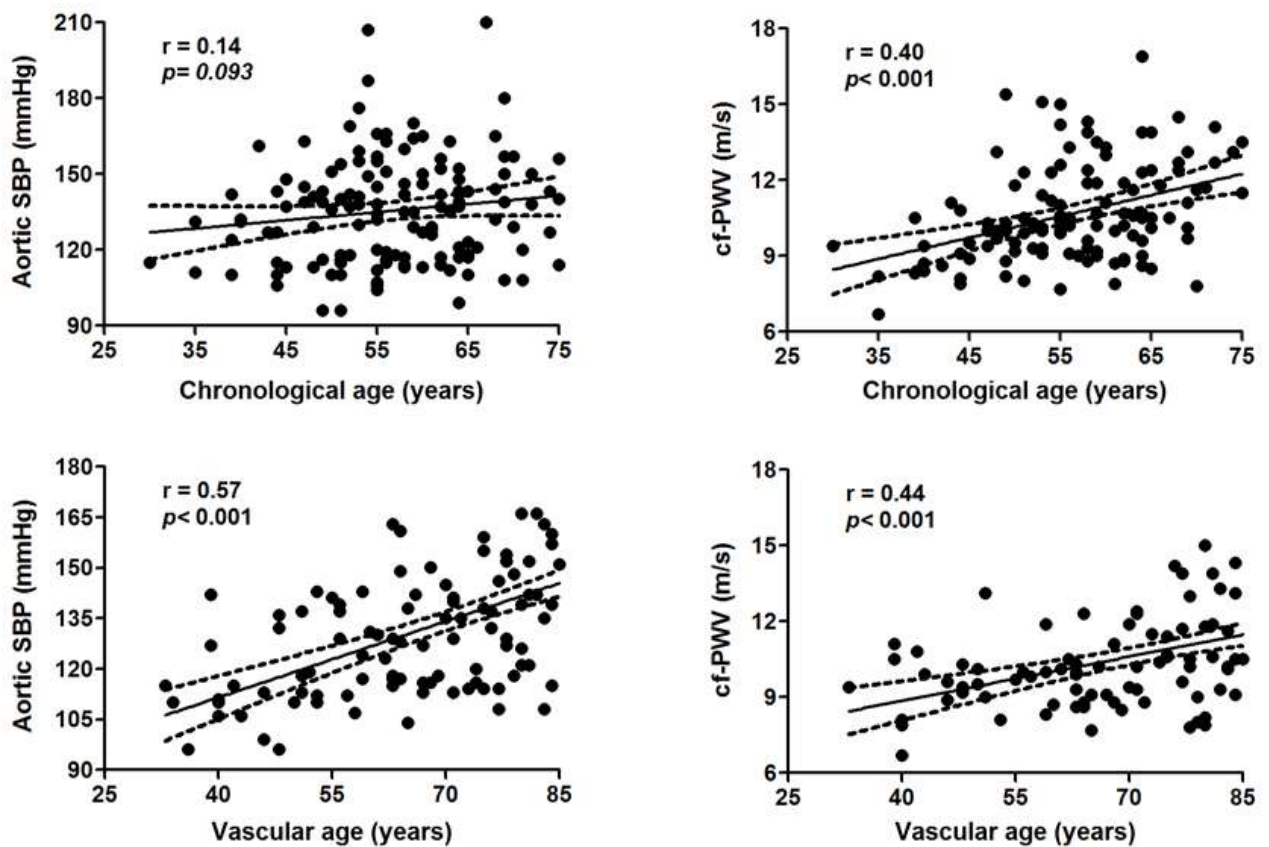


Figure 2. Correlation of aortic systolic blood pressure (SBP) and carotid-femoral pulse wave velocity (cf-PWV) with chronological age (superior panel) and with vascular age (inferior panel).

Patients who performed carotid ultrasound ($n=122$) were divided into two groups according to the median of carotid IMT (0.8 mm). The group with higher value of IMT presented higher mean of vascular age (Figure 1). Only the highest tertile of vascular age presented mean and maximum carotid IMT significantly higher than younger groups (Table 2). A moderate correlation of carotid IMT with chronological age was observed but was stronger with vascular age. The findings regarding to the maximum carotid IMT were similar to those results related to mean carotid IMT (Figure 3).

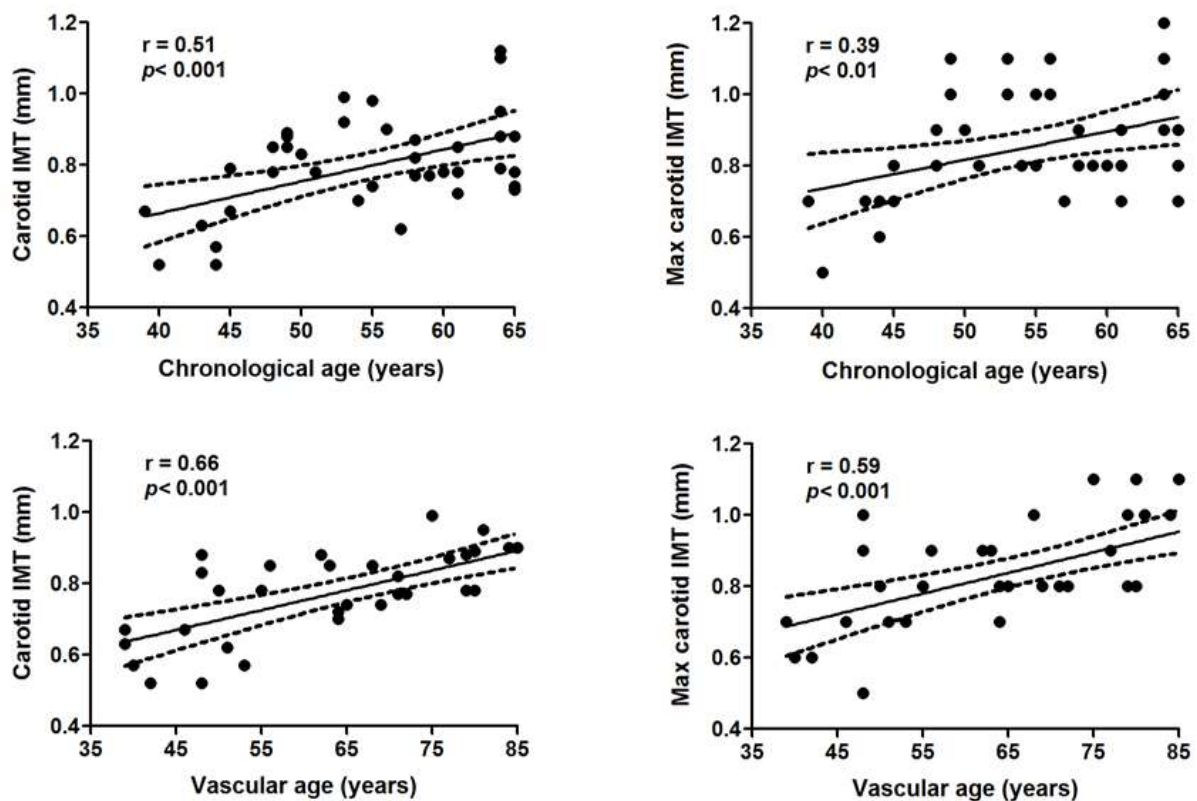


Figure 3. Correlation of mean carotid intima media thickness (IMT) and maximum (Max) carotid IMT with chronological age (superior panel) and with vascular age (inferior panel).

DISCUSSION

Cardiovascular risk assessment has been increasingly requested for several reasons, especially because of longer life expectancy of the general population. Hypertensive individuals are at increased risk of morbidity and mortality compared to the general population due to increased blood pressure levels, which are not controlled in most cases, and other common associated conditions such as metabolic dysfunction and insulin resistance. Therefore, the evaluation of cardiovascular risk in hypertensive population should be more individualized.

The main results of this study showed that treated hypertensive patients demonstrated evidence of subclinical arterial injury, which correlated with vascular age estimated by the Framingham risk score, and this correlation was greater than that

obtained with chronological age. This was the first study showing that vascular age correlated more strongly with arterial stiffness and subclinical atherosclerosis than chronological age.

Vascular age represents a different way to express cardiovascular risk. The current concept of vascular age developed with a greater incorporation of the Framingham risk score trying to represent vascular aging in a patient with different cardiovascular risk factors. It is thought to improve cardiovascular risk prediction models and may contribute to a better understanding of cardiovascular risk[6]. Indeed, the concept of vascular age is related to the risk that might be more easily understood by patients, and therefore increase adherence to the treatment. A previous study compared the impact of providing a cardiovascular risk message in either a traditional format (% risk) or using an analogy of risk (vascular age) on participants' intention to make lifestyle changes. The authors found that the vascular age message significantly differed from percentage risk score in risk perceptions and was more impactful in those participants at higher cardiovascular risk levels[13]. Most patients involved in our study were characterized as intermediate or high risk by Framingham score. This profile indicates the need for a better assessment of end-organ damage, especially in the vascular system.

In the past, hypertension diagnosis and treatment were based on diastolic blood pressure but prospective data from the Framingham study redirected attention to systolic blood pressure showing a greater association with cardiovascular mortality [14-16]. Our results demonstrated that diastolic blood pressure was progressively lower with the advancing of chronological age while pulse pressure was increasing progressively with the advancing tertile of vascular age. This difference was based on the behavior of the systolic blood pressure that was similar in the groups of chronological age but it was higher in the groups with advanced vascular age. Similar systolic blood pressure found in different groups of chronological age is not what we usually observe in the general population. In our study, however, we had treated hypertensive, and antihypertensive drugs influence systolic blood pressure level, making them very similar, emphasizing the decreasing of diastolic blood pressure that tends to occur with aging [17].

Concerning central hemodynamic parameters, augmentation pressure (AP) was higher in all older groups. On the other hand, AIx was similar in all the groups. The reason for this difference is because AIx is a relative measure dependent on pulse

pressure that was higher in older groups. AIx seems to be an independent predictor for all-cause mortality and cardiovascular events in patients with coronary heart disease or kidney disease, but it is not completely agreed in hypertensive patients[18]. Increased AIx has been previously associated with higher cardiovascular risk scores[19], especially with increased risk of coronary disease[20]. In contrast, the Australian National Blood Pressure Study 2 (ANBP2) reported that AIx was not characterized as an independent predictor of CVD in older women with hypertension[21]. The authors explained this result indicating a low discriminatory value of the AIx in a cohort of hypertensive subjects over 70 years. In agreement with this, McEniery et al have shown that there is little change in AIx after 55 years old, indicating the confounding effect of age on AIx[22]. The predictive value of AIx derived from the radial artery was also examined in the CAFE (Conduit Artery Function Evaluation), a sub study of ASCOT (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial). In this analysis, AIx was not predictor of outcome of death, myocardial infarction, and stroke[23].

Vascular age has been recently associated with arterial stiffness. In fact, the substitution of vascular age for chronological age was able to increase the Framingham risk score category and arterial stiffness was considered a good predictor of increased vascular age[24]. The main parameters of vascular damage in the present study were increased PWV and carotid IMT. PWV was greater in all the older groups, but with stronger correlation with vascular age. PWV has been well characterized as cardiovascular risk marker in the general population and in hypertensive patients[25, 26]. Longitudinal follow-up of this measurement could identify those whose clinical intervention has failed to achieve cardiovascular risk factors control[27]. In a cohort of 710 subjects with essential hypertension, aortic PWV was strongly associated with the presence and extent of atherosclerosis and could be considered as predictor of cardiovascular risk hypertensive patients[28]. In a meta-analysis including 17 longitudinal studies, aortic PWV was identified as a strong predictor of future cardiovascular events and all-cause of mortality, especially in subjects with higher baseline cardiovascular risk[25]. Another meta-analysis evaluated 2232 participants in the Framingham Study and found that 151 individuals (6.8%) had the first cardiovascular event, defined as myocardial infarction, unstable angina, heart failure or stroke in a period of 7.8 years. After adjusting for confounding factors, aortic PWV was associated with a 48% increase in the risk of CVD [26].

In the present study, both mean and maximum carotid IMT were higher in older groups only when the patients were divided by vascular age. Moreover, carotid IMT was more intensely correlated with vascular age than with chronological age. Framingham risk score is widely used in clinical practice to identify individuals at high risk for developing coronary artery disease. However, Framingham score may not accurately identify individuals at low risk in young individuals. It has been previously shown that 38% of young asymptomatic individuals with low risk assessed by Framingham score (<5%) had abnormal values of carotid IMT associated with increased risk for cardiovascular events [29]. Thus, measurement of carotid IMT has been proposed to be added to cardiovascular risk factors to improve individual risk assessment. In fact, an independent association between Framingham risk score and subclinical atherosclerosis has been already demonstrated for more than a decade[30]. A recent meta-analysis concluded that common carotid IMT was associated with small improvement in 10-year risk prediction of first-time myocardial infarction or stroke[31]. Stein et al evaluated carotid IMT in patients without evidence of atherosclerotic vascular disease and used the values to determine vascular age based on nomograms from the Atherosclerosis Risk in Communities study[5]. The authors showed that carotid IMT values might help individualize the age component of population-based coronary heart disease risk estimation. This conclusion has been supported by other authors[32], suggesting that carotid IMT may be very useful in improving risk discrimination in the Framingham risk score.

The present study followed an observational, cross-sectional design and we cannot have a cause-effect relationship between the variables. Thus, it is not possible to state that increased vascular stiffness determines greater vascular aging or that advanced vascular age results in subclinical atherosclerosis. We can only indicate that there is an association between these variables. In addition, our results are related to treated hypertensive subjects and cannot be used for the general population.

In conclusion, this study demonstrated that vascular age was superior to chronological age concerning the association with increased aortic systolic pressure, arterial stiffness and subclinical atherosclerosis in hypertensive patients. This greater relationship between vascular age and arterial damage suggests that this tool may be a better strategy to assess individual cardiovascular risk with a greater subject's perception.

References

1. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, Kannel WB. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008; 117:743-753.
2. Baldassarre D, Nyssonen K, Rauramaa R, de Faire U, Hamsten A, Smit AJ, *et al.* Cross-sectional analysis of baseline data to identify the major determinants of carotid intima-media thickness in a European population: the IMPROVE study. *Eur Heart J* 2010; 31:614-622.
3. Beswick A, Brindle P. Risk scoring in the assessment of cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol* 2006; 17:375-386.
4. Brindle P, Beswick A, Fahey T, Ebrahim S. Accuracy and impact of risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Heart* 2006; 92:1752-1759.
5. 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.
6. Groenewegen KA, den Ruijter HM, Pasterkamp G, Polak JF, Bots ML, Peters SA. Vascular age to determine cardiovascular disease risk: A systematic review of its concepts, definitions, and clinical applications. *Eur J Prev Cardiol* 2016; 23:264-274.
7. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, Chambless LE, Szklo M, Alzola C. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am J Epidemiol* 1991; 134:250-256.
8. 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. *Am J Epidemiol* 2000; 151:478-487.
9. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, *et al.* Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001; 37:1236-1241.

10. Meaume S, Benetos A, Henry OF, Rudnichi A, Safar ME. Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in subjects >70 years of age. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:2046-2050.
11. Oren A, Vos LE, Uiterwaal CS, Grobbee DE, Bots ML. Aortic stiffness and carotid intima-media thickness: two independent markers of subclinical vascular damage in young adults? *Eur J Clin Invest* 2003; 33:949-954.
12. Lorenz MW, Schaefer C, Steinmetz H, Sitzer M. Is carotid intima media thickness useful for individual prediction of cardiovascular risk? Ten-year results from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Eur Heart J* 2010; 31:2041-2048.
13. Soureti A, Hurling R, Murray P, van Mechelen W, Cobain M. Evaluation of a cardiovascular disease risk assessment tool for the promotion of healthier lifestyles. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2010; 17:519-523.
14. Mancia G, Seravalle G, Grassi G. Systolic blood pressure: an underestimated cardiovascular risk factor. *J Hypertens Suppl* 2002; 20:S21-27.
15. Kannel WB, Gordon T, Schwartz MJ. Systolic versus diastolic blood pressure and risk of coronary heart disease. The Framingham study. *Am J Cardiol* 1971; 27:335-346.
16. Black HR. The paradigm has shifted, to systolic blood pressure. *Hypertension* 1999; 34:386-387.
17. Mancia G, Grassi G. Systolic and diastolic blood pressure control in antihypertensive drug trials. *J Hypertens* 2002; 20:1461-1464.
18. Zoungas S, Asmar RP. Arterial stiffness and cardiovascular outcome. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34:647-651.
19. Nurnberger J, Keflioglu-Scheiber A, Opazo Saez AM, Wenzel RR, Philipp T, Schafers RF. Augmentation index is associated with cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002; 20:2407-2414.
20. Weber T, Auer J, O'Rourke MF, Kvas E, Lassnig E, Berent R, Eber B. Arterial stiffness, wave reflections, and the risk of coronary artery disease. *Circulation* 2004; 109:184-189.
21. Dart AM, Gatzka CD, Kingwell BA, Willson K, Cameron JD, Liang YL, *et al.* Brachial blood pressure but not carotid arterial waveforms predict cardiovascular events in elderly female hypertensives. *Hypertension* 2006; 47:785-790.

22. McEniery CM, Yasmin, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB, Cockcroft JR, Investigators A. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT).*J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1753-1760.
23. Williams B, Lacy PS, Thom SM, Cruickshank K, Stanton A, Collier D, *et al.* Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study.*Circulation* 2006; 113:1213-1225.
24. Lobo-Rudnicka M, Jaroch J, Bociaga Z, Kruszynska E, Ciecierzynska B, Dziuba M, *et al.* Relationship between vascular age and classic cardiovascular risk factors and arterial stiffness.*Cardiol J* 2013; 20:394-401.
25. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, O'Rourke MF, Safar ME, Baou K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with central haemodynamics: a systematic review and meta-analysis.*Eur Heart J* 2010; 31:1865-1871.
26. Mitchell GF, Hwang SJ, Vasan RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, *et al.* Arterial stiffness and cardiovascular events: the Framingham Heart Study.*Circulation* 2010; 121:505-511.
27. Cunha PG, Cotter J, Oliveira P, Vila I, Boutouyrie P, Laurent S, *et al.* Pulse wave velocity distribution in a cohort study: from arterial stiffness to early vascular aging.*J Hypertens* 2015; 33:1438-1445.
28. Blacher J, Asmar R, Djane S, London GM, Safar ME. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients.*Hypertension* 1999; 33:1111-1117.
29. Eleid MF, Lester SJ, Wiedenbeck TL, Patel SD, Appleton CP, Nelson MR, *et al.* Carotid ultrasound identifies high risk subclinical atherosclerosis in adults with low framingham risk scores.*J Am Soc Echocardiogr* 2010; 23:802-808.
30. Kieltyka L, Urbina EM, Tang R, Bond MG, Srinivasan SR, Berenson GS. Framingham risk score is related to carotid artery intima-media thickness in both white and black young adults: the Bogalusa Heart Study.*Atherosclerosis* 2003; 170:125-130.
31. Den Ruijter HM, Peters SA, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Eijkemans MJ, *et al.* Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis.*JAMA* 2012; 308:796-803.

32. Adolphe AB, Huang X, Cook LS. Carotid intima-media thickness determined vascular age and the Framingham Risk Score. *Crit Pathw Cardiol* 2011; 10:173-179.

3. DISCUSSÃO

A avaliação de risco cardiovascular tem sido cada vez mais solicitada e apreciada por várias razões, especialmente por causa da expectativa de vida da população em geral. Hipertensos têm maior risco de morbidade e mortalidade em comparação com a população em geral, por causa do aumento dos níveis de pressão arterial, que não são controlados na maioria dos casos. Assim, a avaliação de risco cardiovascular em uma população hipertensa deve ser mais individualizada. De fato, as atuais ferramentas disponíveis usadas para avaliar o risco cardiovascular não são muito precisas e talvez uma das principais razões é porque os algoritmos feitos para avaliação de risco são sempre baseadas em uma população geneticamente e geograficamente limitadas, o que torna difícil extrapolar ou generalizar os resultados.

O conceito de idade vascular reflete o dano aterosclerótico nas artérias e pode ser investigado tanto por exames de imagem, como a mensuração da espessura médio-intimal de carótidas e detecção de placas e métodos que refletem rigidez arterial, como velocidade de onda de pulso. Expressa o efeito cumulativo de fatores de risco cardiovascular com o envelhecimento na árvore arterial (166). O envelhecimento vascular é caracterizado por mudanças funcionais e estruturais no endotélio e células de músculo liso, assim como alterações nas vias de comunicação entre essas duas camadas de células que formam a parede vascular(61) e a habilidade inadequada de reparo ao dano arterial(60), resultando em função endotelial prejudicada e aumento do enrijecimento vascular(59). Entre um dos vários mecanismos relacionados com o envelhecimento vascular, a endotelina-1 está relacionada com efeitos diretos e indiretos na inflamação (incluindo expressão aumentada, liberação e atividade da endotelina-1)(221), e seus efeitos vasoconstrictores relacionados com a fisiologia desse processo, facilitando a proliferação de células de músculo liso vascular, fibrose e remodelamento, promovendo aterosclerose e enrijecimento arterial(231). Alguns estudos (249, 250) relataram aumento dos níveis circulantes de endotelina-1 em relação à idade, e produção excessiva de endotelina-1 em pacientes mais velhos(234), mas o significado fisiopatológico desses valores elevados não é claro(251).

Os principais resultados deste estudo mostram que, nessa população de hipertensos em tratamento, o marcador de dano arterial subclínico correlacionou-se bem com a idade vascular, estimado pelo score de risco de Framingham, e essa

correlação foi maior do que a obtida com a idade cronológica. Esse foi o primeiro estudo que mostrou que a idade vascular se correlacionou mais fortemente com o enrijecimento arterial e aterosclerose subclínica do que a idade cronológica.

A idade vascular representa uma forma de expressar o risco cardiovascular. O conceito atual de idade vascular desenvolvido com uma maior incorporação do escore de risco de Framingham, na tentativa de representar o envelhecimento vascular em um paciente com fatores de risco cardiovasculares diferentes. Acredita-se que melhora os modelos de predição e possa contribuir para o melhor entendimento do risco cardiovascular(19). Na verdade, o conceito de idade vascular está relacionado com o risco que pode ser mais facilmente entendido pelos pacientes e, portanto, pode aumentar a aderência ao tratamento. Soureti e colaboradores (173)compararam o impacto de fornecer uma mensagem de risco cardiovascular na forma tradicional (em percentual de risco) ou usando uma analogia de risco (idade vascular) sobre a intenção dos participantes para fazer mudanças de estilo de vida. Um estudo prévio comparou o impacto de fornecer uma mensagem de risco cardiovascular na forma tradicional (em percentual de risco) ou usando uma analogia de risco (idade vascular) sobre a intenção dos participantes para fazer mudanças de estilo de vida. Os autores descobriram que a mensagem de idade vascular diferiu significativamente do escore de risco percentual na percepção de risco e foi mais impactante nos participantes com níveis mais elevados de risco cardiovascular. A maioria dos pacientes envolvidos no nosso estudo foram caracterizados como risco intermediário ou alto, pelo escore de Framingham. Esse perfil indica a necessidade de uma melhor avaliação de dano em órgão-alvo, especialmente no sistema vascular.

Embora no passado, o diagnóstico e tratamento da hipertensão eram baseados na pressão arterial diastólica, os dados prospectivos do estudo de Framingham redirecionaram a atenção para a pressão arterial sistólica, mostrando uma maior associação com mortalidade cardiovascular(271-273). Nossos resultados demonstraram que a pressão arterial diastólica foi progressivamente menor com o avanço da idade cronológica, enquanto a pressão de pulso aumentou progressivamente com o avanço de tercis de idade vascular. Essa diferença foi baseada no comportamento da pressão arterial sistólica que foi similar nos grupos de idade cronológica, mas foi maior nos grupos com idade vascular avançada. A pressão arterial sistólica similar encontrada em diferentes grupos de idade cronológica não é o que geralmente é observado na população geral. Em nosso estudo, entretanto, os

pacientes são hipertensos tratados, e as drogas anti-hipertensivas influenciam nos níveis de pressão arterial sistólica, tornando-os bem similar, enfatizando a diminuição da pressão arterial diastólica que tende a ocorrer com o envelhecimento (274).

Em relação aos parâmetros hemodinâmicos centrais, a pressão de aumento foi maior em todos os grupos mais velhos. Por outro lado, o índice de incremento (AIx) foi semelhante em todos os grupos. A razão para esta diferença é porque o AIx é uma medida relativa dependente da pressão de pulso, que era maior nos grupos mais velhos. O AIx parece ser um preditor independente de todas as causas de mortalidade e eventos cardiovasculares em pacientes com doença cardíaca coronária ou doença renal, mas não existe um consenso em pacientes hipertensos(275). O Aix aumentado tem sido previamente associado com maiores escores de risco cardiovascular(276), especialmente com risco de doença coronariana aumentado (277). Em contraste, o *Australian National Blood Pressure Study 2* relatou que o AIx não foi caracterizado como um preditor independente de doença cardiovascular em mulheres hipertensas mais velhas (278). Os autores explicaram esse resultado, indicando um baixo valor discriminatório do AIx em uma coorte de indivíduos hipertensos com mais de 70 anos. De acordo com isso, McEniery *et al* mostraram que há pouca alteração no AIx após os 55 anos de idade, indicando o efeito de confusão da idade no AIx(279). O valor preditivo do AIx derivado da artéria radial foi também examinado no estudo CAFE (*Conduit Artery Function Evaluation*), um sub-estudo do estudo ASCOT (*Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial*). Nesta análise, o AIx não foi preditor de desfecho de morte, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (280).

A idade vascular foi recentemente associada a rigidez arterial. De fato, a substituição da idade vascular pela idade cronológica foi capaz de aumentar a categoria de risco do escore de Framingham e a rigidez arterial foi considerada um bom preditor de idade vascular aumentada(166). Os principais parâmetros de dano vascular no presente estudo foram velocidade de onda de pulso e espessura médio-intimal de carótidas aumentados. A velocidade de onda de pulso foi maior em todos os grupos mais velhos, mas com forte correlação com a idade vascular.

A velocidade de onda de pulso tem sido caracterizada como um marcador de risco cardiovascular na população geral e em pacientes hipertensos (195, 281). A mensuração do enrijecimento arterial é particularmente útil para obter uma visão global do efeito acumulado dos diferentes fatores de risco cardiovascular, no processo de envelhecimento vascular. O acompanhamento longitudinal dessa medida também

poderia identificar aqueles indivíduos cuja intervenção clínica não foi capaz de conseguir o controle dos fatores de risco cardiovascular e regressão/estabilização dos sinais de rigidez arterial precoce (183). Em um estudo de coorte com 710 indivíduos com hipertensão essencial, a velocidade de onda de pulso foi fortemente associada com a presença e extensão da aterosclerose e pode ser considerada um preditor de risco cardiovascular em pacientes hipertensos (282). Em uma meta-análise de 17 estudos longitudinais, a velocidade de onda de pulso aórtica foi identificada como um forte preditor de eventos cardiovasculares futuros e todas as causas de mortalidade, principalmente em indivíduos com maior risco cardiovascular de início do estudo (281). Outra meta-análise avaliou 2232 participantes no Estudo de Framingham e descobriu que 151 indivíduos (6,8%) tiveram o primeiro evento cardiovascular, definido como infarto do miocárdio, angina instável, insuficiência cardíaca ou acidente vascular cerebral, em um período de 7,8 anos. Após ajuste para os fatores de confusão, a velocidade de onda de pulso aórtica foi associado com um aumento de 48 % no risco de doenças cardiovasculares(195).

No presente estudo, a espessura médio-intimal da carótida média e máxima foram maiores nos grupos mais velhos apenas quando os pacientes foram divididos por idade vascular. Além disso, a espessura médio-intimal da carótida foi mais intensamente correlacionada com a idade vascular do que com a idade cronológica.

O aumento da espessura íntima-média da artéria carótida é um marcador de aterosclerose subclínica que pode ser detectado precocemente em indivíduos assintomáticos (283). A ultrassonografia da carótida é um método eficaz para examinar a presença de estenose e de placas nas paredes das artérias, e a sua medida é relativamente simples e não-invasiva (284). Além disso, a identificação de indivíduos com aterosclerose precoce poderia ser útil para intervenções terapêuticas, tais como a modificação do estilo de vida ou terapia medicamentosa, a fim de alterar ou inverter a progressão da doença (285).

O escore de risco de Framingham é utilizado na prática clínica para identificar indivíduos com alto risco de desenvolver doença arterial coronariana. No entanto, o escore de Framingham não pode identificar com precisão indivíduos de baixo risco em indivíduos jovens. Foi previamente mostrado que 38% dos indivíduos jovens e assintomáticos com baixo risco avaliadas pelo escore de Framingham (<5%) tinham valores anormais de espessura médio-intimal da carótida, associado com aumento do risco de eventos cardiovasculares (286). Assim, tem sido proposto a adição da

medição da espessura médio-intimal da carótida aos fatores de risco cardiovascular, para melhorar a avaliação de risco individual.

Na verdade, uma associação independente entre o escore de risco de Framingham e aterosclerose subclínica já foi demonstrado por mais de uma década (287). Uma meta-análise recente concluiu que a espessura médio-intimal da carótida comum estava associada com uma pequena melhoria na predição de risco de 10 anos para infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral pela primeira vez (288). Stein *et al* avaliaram a espessura médio-intimal da carótida em pacientes sem evidência de doença vascular aterosclerótica e utilizaram os valores para determinar a idade vascular baseada em nomogramas do estudo *Atherosclerosis Risk in Communities* (5). Os autores mostraram que os valores da espessura médio-intimal da carótida podem ajudar a individualizar o componente idade da estimativa de risco para doença coronária de base populacional. Esta conclusão foi apoiada por Adolphe e colaboradores (215), sugerindo que a espessura médio-intimal da carótida pode ser muito útil para melhorar a discriminação de risco no escore de risco de Framingham.

O presente estudo seguiu um modelo observacional e cruzado e por isso, não é possível estabelecer uma relação de causa/efeito entre as variáveis. Assim, não é possível afirmar que o aumento da rigidez vascular determina um maior envelhecimento vascular ou que a idade vascular avançada resulta em aterosclerose subclínica. Pode-se apenas sugerir que há uma associação entre essas variáveis. Além disso, os resultados do estudo estão relacionados com indivíduos hipertensos tratados e não podem ser utilizados para a população geral, além de serem validados para a população americana.

CONCLUSÃO

Em conclusão, este estudo demonstrou que a classificação dos pacientes hipertensos pela idade vascular foi superior à idade cronológica em relação ao aumento progressivo da pressão sistólica aórtica, velocidade da onda de pulso e espessura médio-intimal da carótida. Esses parâmetros referentes à reflexão da onda de pulso, rigidez arterial e aterosclerose subclínica apresentaram correlação mais forte com a idade vascular do que com a idade cronológica. Essa maior relação entre idade vascular e dano arterial sugere que essa ferramenta pode ser uma melhor estratégia para avaliar o risco cardiovascular individual com uma melhor percepção do indivíduo.

REFERÊNCIAS

1. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117(6):743-53.
2. Baldassarre D, Nyysönen K, Rauramaa R, de Faire U, Hamsten A, Smit AJ, et al. Cross-sectional analysis of baseline data to identify the major determinants of carotid intima-media thickness in a European population: the IMPROVE study. *European heart journal*. 2010;31(5):614-22.
3. Beswick A, Brindle P. Risk scoring in the assessment of cardiovascular risk. *Current opinion in lipidology*. 2006;17(4):375-86.
4. Brindle P, Beswick A, Fahey T, Ebrahim S. Accuracy and impact of risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Heart*. 2006;92(12):1752-9.
5. 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. *Clinical cardiology*. 2004;27(7):388-92.
6. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, Chambless LE, Szklo M, Alzola C. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *American journal of epidemiology*. 1991;134(3):250-6.
7. 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. *American journal of epidemiology*. 2000;151(5):478-87.
8. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001;37(5):1236-41.
9. Meaume S, Benetos A, Henry OF, Rudnichi A, Safar ME. Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in subjects >70 years of age. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2001;21(12):2046-50.
10. Oren A, Vos LE, Uiterwaal CS, Grobbee DE, Bots ML. Aortic stiffness and carotid intima-media thickness: two independent markers of subclinical vascular damage in young adults? *European journal of clinical investigation*. 2003;33(11):949-54.
11. Lorenz MW, Schaefer C, Steinmetz H, Sitzer M. Is carotid intima media thickness useful for individual prediction of cardiovascular risk? Ten-year

- results from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *European heart journal*. 2010;31(16):2041-8.
12. World Health Organization Cardiovascular Diseases. Genova: 2007.
 13. Reddy RK, Mahendra J, Gurumurthy P, Jayamathi, Babu S. Identification of Predictable Biomarkers in Conjunction to Framingham Risk Score to Predict the Risk for Cardiovascular disease (CVD) in Non Cardiac Subjects. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 2015;9(2):BC23-7.
 14. Scheuner MT. Clinical application of genetic risk assessment strategies for coronary artery disease: genotypes, phenotypes, and family history. *Primary care*. 2004;31(3):711-37, xi-xii.
 15. Stein JH. Carotid intima-media thickness and vascular age: you are only as old as your arteries look. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2004;17(6):686-9.
 16. Batsis JA, Lopez-Jimenez F. Cardiovascular risk assessment--from individual risk prediction to estimation of global risk and change in risk in the population. *BMC medicine*. 2010;8:29.
 17. 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(18):1837-47.
 18. Wang TJ, Gona P, Larson MG, Tofler GH, Levy D, Newton-Cheh C, et al. Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. *The New England journal of medicine*. 2006;355(25):2631-9.
 19. Groenewegen K, den Ruijter H, Pasterkamp G, Polak J, Bots M, Peters SA. Vascular age to determine cardiovascular disease risk: A systematic review of its concepts, definitions, and clinical applications. *European journal of preventive cardiology*. 2015.
 20. Brotons C, Moral I, Soriano N, Cuixart L, Osorio D, Bottaro D, et al. Impact of using different SCORE tables for estimating cardiovascular risk. *Revista espanola de cardiologia*. 2014;67(2):94-100.
 21. Artigao-Rodenas LM, Carbayo-Herencia JA, Divison-Garrote JA, Gil-Guillen VF, Masso-Orozco J, Simarro-Rueda M, et al. Framingham risk score for prediction of cardiovascular diseases: a population-based study from southern Europe. *PloS one*. 2013;8(9):e73529.
 22. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation*. 2002;105(3):310-5.

23. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *European heart journal*. 2003;24(11):987-1003.
24. Stevens RJ, Kothari V, Adler AI, Stratton IM, United Kingdom Prospective Diabetes Study G. The UKPDS risk engine: a model for the risk of coronary heart disease in Type II diabetes (UKPDS 56). *Clinical science*. 2001;101(6):671-9.
25. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, Cook NR. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. *Jama*. 2007;297(6):611-9.
26. Ridker PM, Paynter NP, Rifai N, Gaziano JM, Cook NR. C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: the Reynolds Risk Score for men. *Circulation*. 2008;118(22):2243-51, 4p following 51.
27. Batsis JA, Romero-Corral A, Collazo-Clavell ML, Sarr MG, Somers VK, Brekke L, et al. Effect of weight loss on predicted cardiovascular risk: change in cardiac risk after bariatric surgery. *Obesity*. 2007;15(3):772-84.
28. Grover SA, Lowensteyn I. The challenges and benefits of cardiovascular risk assessment in clinical practice. *The Canadian journal of cardiology*. 2011;27(4):481-7.
29. Sullivan LM, Massaro JM, D'Agostino RB, Sr. Presentation of multivariate data for clinical use: The Framingham Study risk score functions. *Statistics in medicine*. 2004;23(10):1631-60.
30. Yousefzadeh G, Shokoohi M, Najafipour H, Shadkamfarokhi M. Applying the Framingham risk score for prediction of metabolic syndrome: The Kerman Coronary Artery Disease Risk Study, Iran. *ARYA atherosclerosis*. 2015;11(3):179-85.
31. 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. *Journal of epidemiology and community health*. 2003;57(8):634-8.
32. Liu J, Hong Y, D'Agostino RB, Sr., Wu Z, Wang W, Sun J, et al. Predictive value for the Chinese population of the Framingham CHD risk assessment tool compared with the Chinese Multi-Provincial Cohort Study. *Jama*. 2004;291(21):2591-9.
33. 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(1):40-6.

34. Brindle P, Emberson J, Lampe F, Walker M, Whincup P, Fahey T, et al. Predictive accuracy of the Framingham coronary risk score in British men: prospective cohort study. *Bmj*. 2003;327(7426):1267.
35. D'Agostino RB, Sr., Grundy S, Sullivan LM, Wilson P, Group CHDRP. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *Jama*. 2001;286(2):180-7.
36. Wannamethee SG, Shaper AG, Lennon L, Morris RW. Metabolic syndrome vs Framingham Risk Score for prediction of coronary heart disease, stroke, and type 2 diabetes mellitus. *Archives of internal medicine*. 2005;165(22):2644-50.
37. Greenland P, LaBree L, Azen SP, Doherty TM, Detrano RC. Coronary artery calcium score combined with Framingham score for risk prediction in asymptomatic individuals. *Jama*. 2004;291(2):210-5.
38. Hense HW, Schulte H, Lowel 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. *European heart journal*. 2003;24(10):937-45.
39. Lakatta EG. Age-associated cardiovascular changes in health: impact on cardiovascular disease in older persons. *Heart failure reviews*. 2002;7(1):29-49.
40. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation*. 2003;107(1):139-46.
41. Najjar SS, Scuteri A, Lakatta EG. Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension*. 2005;46(3):454-62.
42. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet*. 2014;383(9921):999-1008.
43. Thijssen DH, Carter SE, Green DJ. Arterial structure and function in vascular ageing: are you as old as your arteries? *The Journal of physiology*. 2015.
44. van den Munckhof I, Scholten R, Cable NT, Hopman MT, Green DJ, Thijssen DH. Impact of age and sex on carotid and peripheral arterial wall thickness in humans. *Acta physiologica*. 2012;206(4):220-8.
45. 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; a journal of cerebral circulation*. 2001;32(4):830-5.
46. Abizanda P, Atienzar P, Casado L, Romero L, Sanchez-Jurado P, Leon M, et al. Cardiovascular risk factors are associated with subclinical atherosclerosis in high functioning older adults. *Maturitas*. 2010;67(1):54-9.

47. Engelen L, Ferreira I, Stehouwer CD, Boutouyrie P, Laurent S, Reference Values for Arterial Measurements C. Reference intervals for common carotid intima-media thickness measured with echotracking: relation with risk factors. *European heart journal*. 2013;34(30):2368-80.
48. Baldassarre D, Nyssonen K, Rauramaa R, de Faire U, Hamsten A, Smit A, et al. Cross-sectional analysis of baseline data to identify the major determinants of carotid intima-media thickness in a European population: the IMPROVE study. *Eur Heart J*. 2010;31(5):614-22.
49. Salonen R, Salonen J. Determinants of carotid intima-media thickness: a population-based ultrasonography study in eastern Finnish men. *J Intern Med*. 1991;229(3):225-31.
50. Palatini P, Casiglia E, Gasowski J, Gluszek J, Jankowski P, Narkiewicz K, et al. Arterial stiffness, central hemodynamics, and cardiovascular risk in hypertension. *Vascular health and risk management*. 2011;7:725-39.
51. Meyer ML, Tanaka H, Palta P, Cheng S, Gouskova N, Aguilar D, et al. Correlates of Segmental Pulse Wave Velocity in Older Adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American journal of hypertension*. 2015.
52. Reference Values for Arterial Stiffness C. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *European heart journal*. 2010;31(19):2338-50.
53. Rogers WJ, Hu YL, Coast D, Vido DA, Kramer CM, Pyeritz RE, et al. Age-associated changes in regional aortic pulse wave velocity. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;38(4):1123-9.
54. Diaz A, Galli C, Tringler M, Ramirez A, Cabrera Fischer EI. Reference values of pulse wave velocity in healthy people from an urban and rural argentinean population. *International journal of hypertension*. 2014;2014:653239.
55. Matz RL, Andriantsitohaina R. Age-related endothelial dysfunction : potential implications for pharmacotherapy. *Drugs & aging*. 2003;20(7):527-50.
56. Nilsson P. Early Vascular Aging: Consequences and prevention. *Vascular Health and Risk Management*. 2008;4(3):5.
57. Nilsson PM. Early vascular aging (EVA): consequences and prevention. *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(3):547-52.
58. Kotsis V, Stabouli S, Karafillis I, Nilsson P. Early vascular aging and the role of central blood pressure. *Journal of hypertension*. 2011;29(10):1847-53.
59. Laurent S. Defining vascular aging and cardiovascular risk. *Journal of hypertension*. 2012;30 Suppl:S3-8.

60. Peter M. Nilsson PB, Pedro Cunha, Vasilios Kotsis, Krzysztof Narkiewicz, Gianfranco Parati, Ernst Rietzschel, Angelo Scuteri, Stephane Laurent. Early vascular ageing in translation: from laboratory investigations to clinical applications in cardiovascular prevention. *Journal of hypertension*. 2013;10.
61. El Assar M, Angulo J, Vallejo S, Peiro C, Sanchez-Ferrer CF, Rodriguez-Manas L. Mechanisms involved in the aging-induced vascular dysfunction. *Frontiers in physiology*. 2012;3:132.
62. Schmieder R. End organ damage in hypertension. *Dtsch Arztebl Int*. 2010;107(49):866-73.
63. Rapsomaniki E, Timmis A, George J, Pujades-Rodriguez M, Shah AD, Denaxas S, et al. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1.25 million people. *Lancet*. 2014;383(9932):1899-911.
64. Angeli F, Reboldi G, Verdecchia P. Hypertension, inflammation and atrial fibrillation. *Journal of hypertension*. 2014;32(3):480-3.
65. Lawes CM, Vander Hoorn S, Rodgers A, International Society of H. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet*. 2008;371(9623):1513-8.
66. Lloyd-Jones DM, Leip EP, Larson MG, Vasan RS, Levy D. Novel approach to examining first cardiovascular events after hypertension onset. *Hypertension*. 2005;45(1):39-45.
67. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama*. 2003;289(19):2560-72.
68. Neal B, MacMahon S, Chapman N, Blood Pressure Lowering Treatment Trialists C. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. *Lancet*. 2000;356(9246):1955-64.
69. Psaty BM, Smith NL, Siscovick DS, Koepsell TD, Weiss NS, Heckbert SR, et al. Health outcomes associated with antihypertensive therapies used as first-line agents. A systematic review and meta-analysis. *Jama*. 1997;277(9):739-45.
70. Franklin SS, Jacobs MJ, Wong ND, L'Italien GJ, Lapuerta P. Predominance of isolated systolic hypertension among middle-aged and elderly US hypertensives: analysis based on National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III. *Hypertension*. 2001;37(3):869-74.
71. Hsu CY, McCulloch CE, Darbinian J, Go AS, Iribarren C. Elevated blood pressure and risk of end-stage renal disease in subjects without baseline kidney disease. *Archives of internal medicine*. 2005;165(8):923-8.

72. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, Prospective Studies C. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002;360(9349):1903-13.
73. Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Evans JC, O'Donnell CJ, Kannel WB, et al. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *The New England journal of medicine*. 2001;345(18):1291-7.
74. Sacco RL, Boden-Albala B, Abel G, Lin IF, Elkind M, Hauser WA, et al. Race-ethnic disparities in the impact of stroke risk factors: the northern Manhattan stroke study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2001;32(8):1725-31.
75. Antikainen R, Jousilahti P, Tuomilehto J. Systolic blood pressure, isolated systolic hypertension and risk of coronary heart disease, strokes, cardiovascular disease and all-cause mortality in the middle-aged population. *Journal of hypertension*. 1998;16(5):577-83.
76. Teles C, Tavares Filho S, Sousa A, Barreto-Filho J. Hipertensão: um estado pró-trombótico. *Revista Brasileira de Hipertensão*. 2007;14(4):245 - 51.
77. Blake G, Rifai N, Buring J, Ridker P. Blood pressure, C-reactive protein and risk of future cardiovascular events. *Circulation*. 2003;108:2993 – 9.
78. Vigili de Kreutzenberg S, Tiengo A, Avogaro A. Cerebrovascular disease in diabetes mellitus: the role of carotid intima-media thickness. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2009;19(9):667-73.
79. Kannel WB. Elevated systolic blood pressure as a cardiovascular risk factor. *The American journal of cardiology*. 2000;85(2):251-5.
80. Simon A, et al. . Intima-media thickness: a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *Journal of Hypertension*. 2002;20(2):150 - 69.
81. Manios E, Michas F, Tsivgoulis G, Stamatelopoulos K, Tsagalis G, Koroboki E, et al. Impact of prehypertension on carotid artery intima-media thickening: Actual or masked? *Atherosclerosis*. 2010.
82. Pauletto P, Palatini P, Da Ros S, Pagliara V, Santipolo N, Baccillieri S, et al. Factors underlying the increase in carotid intima-media thickness in borderline hypertensives. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(5):1231-7.
83. Bots M, Hofman A, de Bruyn A, de Jong P, Grobbee D. Isolated systolic hypertension and vessel wall thickness of the carotid artery. The Rotterdam Elderly Study. *Arterioscler Thromb*. 1993;13(1):64-9.
84. Riley W, Evans G, Sharrett A, Burke G, Barnes R. Variation of common carotid artery elasticity with intimal-medial thickness: the ARIC Study. *Atherosclerosis Risk in Communities. Ultrasound Med Biol*. 1997;23(2):157-64.

85. Zureik M, Touboul P, 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(3):550-5.
86. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2015;131(4):e29-322.
87. Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation*. 1999;99(9):1165-72.
88. Maas AH, Appelman YE. Gender differences in coronary heart disease. *Netherlands heart journal : monthly journal of the Netherlands Society of Cardiology and the Netherlands Heart Foundation*. 2010;18(12):598-602.
89. Leening MJ, Ferket BS, Steyerberg EW, Kavousi M, Deckers JW, Nieboer D, et al. Sex differences in lifetime risk and first manifestation of cardiovascular disease: prospective population based cohort study. *Bmj*. 2014;349:g5992.
90. Roeters van Lennep JE, Westerveld HT, Erkelens DW, van der Wall EE. Risk factors for coronary heart disease: implications of gender. *Cardiovascular research*. 2002;53(3):538-49.
91. Hu FB, Grodstein F, Hennekens CH, Colditz GA, Johnson M, Manson JE, et al. Age at natural menopause and risk of cardiovascular disease. *Archives of internal medicine*. 1999;159(10):1061-6.
92. van der Schouw YT, van der Graaf Y, Steyerberg EW, Eijkemans JC, Banga JD. Age at menopause as a risk factor for cardiovascular mortality. *Lancet*. 1996;347(9003):714-8.
93. Tremollieres FA, Pouilles JM, Cauneille C, Ribot C. Coronary heart disease risk factors and menopause: a study in 1684 French women. *Atherosclerosis*. 1999;142(2):415-23.
94. Stevenson JC, Crook D, Godsland IF. Influence of age and menopause on serum lipids and lipoproteins in healthy women. *Atherosclerosis*. 1993;98(1):83-90.
95. Brown SA, Morrisett JD, Boerwinkle E, Hutchinson R, Patsch W. The relation of lipoprotein[a] concentrations and apolipoprotein[a] phenotypes with asymptomatic atherosclerosis in subjects of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology / American Heart Association*. 1993;13(11):1558-66.
96. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *Heart and*

- Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *Jama*. 1998;280(7):605-13.
97. Mendelsohn ME, Karas RH. Estrogen and the blood vessel wall. *Current opinion in cardiology*. 1994;9(5):619-26.
 98. Krauss R. Dietary and genetic probes of atherogenic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(11):2265-72.
 99. Krauss R. Atherogenic lipoprotein phenotype and diet-gene interactions. *J Nutr*. 2001;131(2):340S-3S.
 100. Zambon A, Hokanson J, Brown B, Brunzell J. Evidence for a new pathophysiological mechanism for coronary artery disease regression: hepatic lipase-mediated changes in LDL density. *Circulation*. 1999;99(15):1959-64.
 101. Carr M, Brunzell J. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2601-7.
 102. Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. *Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study*. *Jama*. 1998;279(20):1615-22.
 103. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *The New England journal of medicine*. 2004;350(15):1495-504.
 104. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, Shear C, Barter P, Fruchart JC, et al. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *The New England journal of medicine*. 2005;352(14):1425-35.
 105. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB, Jr., Clark LT, Hunninghake DB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004;110(2):227-39.
 106. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. *The Framingham Study*. *Jama*. 1986;256(20):2835-8.
 107. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A, Huang Y. High-density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk. The PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*. 1996;124 Suppl:S11-20.
 108. Curb JD, Abbott RD, Rodriguez BL, Masaki K, Chen R, Sharp DS, et al. A prospective study of HDL-C and cholesteryl ester transfer protein gene

- mutations and the risk of coronary heart disease in the elderly. *Journal of lipid research*. 2004;45(5):948-53.
109. Sharrett A, Ballantyne C, Coady S, Heiss G, Sorlie P, Catellier D, et al. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation*. 2001;104(10):1108-13.
 110. Turner RC, Millns H, Neil HA, Stratton IM, Manley SE, Matthews DR, et al. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23). *Bmj*. 1998;316(7134):823-8.
 111. Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, Maroni J, Szarek M, Grundy SM, et al. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *The New England journal of medicine*. 2007;357(13):1301-10.
 112. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005;366(9493):1267-78.
 113. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *The American journal of medicine*. 1977;62(5):707-14.
 114. Despres JP, Lemieux I, Dagenais GR, Cantin B, Lamarche B. HDL-cholesterol as a marker of coronary heart disease risk: the Quebec cardiovascular study. *Atherosclerosis*. 2000;153(2):263-72.
 115. Weverling-Rijnsburger AW, Jonkers IJ, van Exel E, Gussekloo J, Westendorp RG. High-density vs low-density lipoprotein cholesterol as the risk factor for coronary artery disease and stroke in old age. *Archives of internal medicine*. 2003;163(13):1549-54.
 116. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation*. 1989;79(1):8-15.
 117. Barter P. HDL: a recipe for longevity. *Atherosclerosis Supplements*. 2004;5(2):25-31.
 118. Assmann G, Gotto Jr A. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(23 Suppl 1):III8-14.
 119. von Eckardstein A, Nofer J, Assmann G. High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(1):13-27.

120. Gotto Jr A. Low high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor in coronary heart disease: a working group report. *Circulation*. 2001;103(17):2213-8.
121. Wannamethee SG, Lowe GD, Shaper AG, Rumley A, Lennon L, Whincup PH. Associations between cigarette smoking, pipe/cigar smoking, and smoking cessation, and haemostatic and inflammatory markers for cardiovascular disease. *European heart journal*. 2005;26(17):1765-73.
122. Ohsawa M, Okayama A, Nakamura M, Onoda T, Kato K, Itai K, et al. CRP levels are elevated in smokers but unrelated to the number of cigarettes and are decreased by long-term smoking cessation in male smokers. *Preventive medicine*. 2005;41(2):651-6.
123. Bolinder G, Noren A, de Faire U, Wahren J. Smokeless tobacco use and atherosclerosis: an ultrasonographic investigation of carotid intima media thickness in healthy middle-aged men. *Atherosclerosis*. 1997;132(1):95-103.
124. Miyata S, Noda A, Ito Y, Iizuka R, Shimokata K. Smoking acutely impaired endothelial function in healthy college students. *Acta cardiologica*. 2015;70(3):282-5.
125. Barua RS, Ambrose JA, Saha DC, Eales-Reynolds LJ. Smoking is associated with altered endothelial-derived fibrinolytic and antithrombotic factors: an in vitro demonstration. *Circulation*. 2002;106(8):905-8.
126. Scheffler E, Wiest E, Woehrl J, Otto I, Schulz I, Huber L, et al. Smoking influences the atherogenic potential of low-density lipoprotein. *The Clinical investigator*. 1992;70(3-4):263-8.
127. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, 3rd, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107(3):499-511.
128. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *The New England journal of medicine*. 2004;350(14):1387-97.
129. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *Jama*. 1998;279(18):1477-82.
130. Bermudez EA, Rifai N, Buring JE, Manson JE, Ridker PM. Relation between markers of systemic vascular inflammation and smoking in women. *The American journal of cardiology*. 2002;89(9):1117-9.
131. Levitzky YS, Guo CY, Rong J, Larson MG, Walter RE, Keaney JF, Jr., et al. Relation of smoking status to a panel of inflammatory markers: the framingham offspring. *Atherosclerosis*. 2008;201(1):217-24.

132. Aldaham S, Foote JA, Chow HH, Hakim IA. Smoking Status Effect on Inflammatory Markers in a Randomized Trial of Current and Former Heavy Smokers. *International journal of inflammation*. 2015;2015:439396.
133. Ockene IS, Miller NH. Cigarette smoking, cardiovascular disease, and stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. American Heart Association Task Force on Risk Reduction. *Circulation*. 1997;96(9):3243-7.
134. Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH, Walker M. Smoking cessation and the risk of stroke in middle-aged men. *Jama*. 1995;274(2):155-60.
135. Yarnell JW, Sweetnam PM, Rogers S, Elwood PC, Bainton D, Baker IA, et al. Some long term effects of smoking on the haemostatic system: a report from the Caerphilly and Speedwell Collaborative Surveys. *Journal of clinical pathology*. 1987;40(8):909-13.
136. Smith MR, Kinmonth AL, Luben RN, Bingham S, Day NE, Wareham NJ, et al. Smoking status and differential white cell count in men and women in the EPIC-Norfolk population. *Atherosclerosis*. 2003;169(2):331-7.
137. Pit'ha J, Krajickova D, Cifkova R, Hubacek J, Petrzilkova Z, Hejl Z, et al. Intima-media thickness of carotid arteries in borderline hypertensives. *J Neuroimaging*. 1999;9(1):19-22.
138. Belcaro G, Laurora G, Cesarone M, De Sanctis M, Incandela L, Barsotti A. Progression of subclinical atherosclerosis in 6 years. Ultrasound evaluation of the average, combined femoral and carotid bifurcation intima-media thickness. *Vasa*. 1995;24(3):227-32.
139. van den Berkmortel F, Smilde T, Wollersheim H, van Langen H, de Boo T, Thien T. Intima-media thickness of peripheral arteries in asymptomatic cigarette smokers. *Atherosclerosis*. 2000;150(2):397-401.
140. Diez-Roux A, Nieto F, Comstock G, Howard G, Szklo M. The relationship of active and passive smoking to carotid atherosclerosis 12-14 years later. *Prev Med*. 1995;24(1):48-55.
141. Fan A, Paul-Labrador M, Merz C, Iribarren C, Dwyer J. Smoking status and common carotid artery intima-medial thickness among middle-aged men and women based on ultrasound measurement: a cohort study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2006;6:42.
142. Roglic G, Unwin N, Bennett PH, Mathers C, Tuomilehto J, Nag S, et al. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. *Diabetes care*. 2005;28(9):2130-5.
143. Franco OH, Steyerberg EW, Hu FB, Mackenbach J, Nusselder W. Associations of diabetes mellitus with total life expectancy and life expectancy with and without cardiovascular disease. *Archives of internal medicine*. 2007;167(11):1145-51.

144. Emerging Risk Factors C, Seshasai SR, Kaptoge S, Thompson A, Di Angelantonio E, Gao P, et al. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *The New England journal of medicine*. 2011;364(9):829-41.
145. Rodriguez-Poncelas A, Coll-de-Tuero G, Saez M, Garrido-Martin JM, Millaruelo-Trillo JM, Barrot de-la-Puente J, et al. Comparison of different vascular risk engines in the identification of type 2 diabetes patients with high cardiovascular risk. *BMC cardiovascular disorders*. 2015;15(1):121.
146. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *The New England journal of medicine*. 1998;339(4):229-34.
147. Huang ES, Basu A, O'Grady M, Capretta JC. Projecting the future diabetes population size and related costs for the U.S. *Diabetes care*. 2009;32(12):2225-9.
148. Boyko EJ, Meigs JB. Does diabetes always confer coronary heart disease risk equivalent to a prior myocardial infarction?: implications for prevention. *Diabetes care*. 2011;34(3):782-4.
149. Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH, Lennon L, Sattar N. Impact of diabetes on cardiovascular disease risk and all-cause mortality in older men: influence of age at onset, diabetes duration, and established and novel risk factors. *Archives of internal medicine*. 2011;171(5):404-10.
150. Hu FB, Stampfer MJ, Solomon CG, Liu S, Willett WC, Speizer FE, et al. The impact of diabetes mellitus on mortality from all causes and coronary heart disease in women: 20 years of follow-up. *Archives of internal medicine*. 2001;161(14):1717-23.
151. Fox CS, Sullivan L, D'Agostino RB, Sr., Wilson PW, Framingham Heart S. The significant effect of diabetes duration on coronary heart disease mortality: the Framingham Heart Study. *Diabetes care*. 2004;27(3):704-8.
152. Peters SA, Huxley RR, Woodward M. Diabetes as a risk factor for stroke in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of 64 cohorts, including 775,385 individuals and 12,539 strokes. *Lancet*. 2014;383(9933):1973-80.
153. Huxley R, Barzi F, Woodward M. Excess risk of fatal coronary heart disease associated with diabetes in men and women: meta-analysis of 37 prospective cohort studies. *Bmj*. 2006;332(7533):73-8.
154. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet*. 1998;352(9131):837-53.

155. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Bmj*. 2000;321(7258):405-12.
156. Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia*. 2001;44 Suppl 2:S14-21.
157. Kim HM, Lee BW, Song YM, Kim WJ, Chang HJ, Choi DH, et al. Potential association between coronary artery disease and the inflammatory biomarker YKL-40 in asymptomatic patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovascular diabetology*. 2012;11:84.
158. Moon JH, Chae MK, Kim KJ, Kim HM, Cha BS, Lee HC, et al. Decreased endothelial progenitor cells and increased serum glycated albumin are independently correlated with plaque-forming carotid artery atherosclerosis in type 2 diabetes patients without documented ischemic disease. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2012;76(9):2273-9.
159. Song SO, Kim KJ, Lee BW, Kang ES, Cha BS, Lee HC. Serum glycated albumin predicts the progression of carotid arterial atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2012;225(2):450-5.
160. Folsom A, Eckfeldt J, Weitzman S, Ma J, Chambless L, Barnes R, et al. Relation of carotid artery wall thickness to diabetes mellitus, fasting glucose and insulin, body size, and physical activity. *Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Stroke*. 1994;25(1):66-73.
161. Salonen R, Tervahauta M, Salonen J, Pekkanen J, Nissinen A, Karvonen M. Ultrasonographic manifestations of common carotid atherosclerosis in elderly eastern Finnish men. Prevalence and associations with cardiovascular diseases and risk factors. *Arterioscler Thromb*. 1994;14(10):1631-40.
162. Mohan V, Ravikumar R, Shanthi-Rani S, Deepa R. Intimal medial thickness of the carotid artery in South Indian diabetic and non-diabetic subjects: the Chennai Urban Population Study (CUPS). *Diabetologia*. 2000;43(4):494-9.
163. Hunt K, Williams K, Rivera D, O'Leary D, Haffner S, Stern M, et al. Elevated carotid artery intima-media thickness levels in individuals who subsequently develop type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(10):1845-50.
164. Charvat J, Chlumsky J, Zakovicova E, Kvapil M. Common carotid artery intima-media thickness is not increased but distensibility is reduced in normotensive patients with type 2 diabetes compared with control subjects. *J Int Med Res*. 2010;38(3):860-9.
165. Hong EG, Ohn JH, Lee SJ, Kwon HS, Kim SG, Kim DJ, et al. Clinical implications of carotid artery intima media thickness assessment on

- cardiovascular risk stratification in hyperlipidemic Korean adults with diabetes: the ALTO study. *BMC cardiovascular disorders*. 2015;15(1):114.
166. Lobo-Rudnicka M, Jaroch J, Bociaga Z, Kruszynska E, Ciecierzynska B, Dziuba M, et al. Relationship between vascular age and classic cardiovascular risk factors and arterial stiffness. *Cardiology journal*. 2013;20(4):394-401.
 167. Stefanadis CI. Evaluation of cardiovascular risk in the asymptomatic patient: beyond the classical risk factors and towards vascular age. *Hellenic journal of cardiology : HJC = Hellenike kardiologike epitheorese*. 2009;50(1):87-8.
 168. Lopez-Gonzalez AA, Aguilo A, Frontera M, Bennasar-Veny M, Campos I, Vicente-Herrero T, et al. Effectiveness of the Heart Age tool for improving modifiable cardiovascular risk factors in a Southern European population: a randomized trial. *European journal of preventive cardiology*. 2015;22(3):389-96.
 169. Cooney MT, Vartiainen E, Laatikainen T, De Bacquer D, McGorrian C, Dudina A, et al. Cardiovascular risk age: concepts and practicalities. *Heart*. 2012;98(12):941-6.
 170. Marteau TM, Kinmonth AL, Pyke S, Thompson SG. Readiness for lifestyle advice: self-assessments of coronary risk prior to screening in the British family heart study. Family Heart Study Group. *The British journal of general practice : the journal of the Royal College of General Practitioners*. 1995;45(390):5-8.
 171. Bonner C, Jansen J, Newell BR, Irwig L, Glasziou P, Doust J, et al. I don't believe it, but i'd better do something about it: patient experiences of online heart age risk calculators. *Journal of medical Internet research*. 2014;16(5):e120.
 172. Neufingerl N, Cobain MR, Newson RS. Web-based self-assessment health tools: who are the users and what is the impact of missing input information? *Journal of medical Internet research*. 2014;16(9):e215.
 173. Soureti A, Hurling R, Murray P, van Mechelen W, Cobain M. Evaluation of a cardiovascular disease risk assessment tool for the promotion of healthier lifestyles. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2010;17(5):519-23.
 174. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *European heart journal*. 2006;27(21):2588-605.
 175. Chae CU, Pfeffer MA, Glynn RJ, Mitchell GF, Taylor JO, Hennekens CH. Increased pulse pressure and risk of heart failure in the elderly. *Jama*. 1999;281(7):634-9.

176. Franklin SS, Larson MG, Khan SA, Wong ND, Leip EP, Kannel WB, et al. Does the relation of blood pressure to coronary heart disease risk change with aging? The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2001;103(9):1245-9.
177. Mitchell GF, Moya LA, Braunwald E, Rouleau JL, Bernstein V, Geltman EM, et al. Sphygmomanometrically determined pulse pressure is a powerful independent predictor of recurrent events after myocardial infarction in patients with impaired left ventricular function. SAVE investigators. *Survival and Ventricular Enlargement*. *Circulation*. 1997;96(12):4254-60.
178. Kostis JB, Lawrence-Nelson J, Ranjan R, Wilson AC, Kostis WJ, Lacy CR. Association of increased pulse pressure with the development of heart failure in SHEP. Systolic Hypertension in the Elderly (SHEP) Cooperative Research Group. *American journal of hypertension*. 2001;14(8 Pt 1):798-803.
179. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation*. 1999;99(18):2434-9.
180. Benetos A, Safar M, Rudnichi A, Smulyan H, Richard JL, Ducimetiere P, et al. Pulse pressure: a predictor of long-term cardiovascular mortality in a French male population. *Hypertension*. 1997;30(6):1410-5.
181. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005;25(5):932-43.
182. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circulation research*. 2002;90(3):251-62.
183. Cunha PG, Cotter J, Oliveira P, Vila I, Boutouyrie P, Laurent S, et al. Pulse wave velocity distribution in a cohort study: from arterial stiffness to early vascular aging. *Journal of hypertension*. 2015;33(7):1438-45.
184. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *Journal of hypertension*. 2012;30(3):445-8.
185. Kozakova M, Morizzo C, Guarino D, Federico G, Miccoli M, Giannattasio C, et al. The impact of age and risk factors on carotid and carotid-femoral pulse wave velocity. *Journal of hypertension*. 2015;33(7):1446-51.
186. Shoji T, Emoto M, Shinohara K, Kakiya R, Tsujimoto Y, Kishimoto H, et al. Diabetes mellitus, aortic stiffness, and cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2001;12(10):2117-24.
187. Shokawa T, Imazu M, Yamamoto H, Toyofuku M, Tasaki N, Okimoto T, et al. Pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality: findings from the

- Hawaii-Los Angeles-Hiroshima study. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2005;69(3):259-64.
188. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, Rasmussen S, Thijs L, Ibsen H, et al. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation*. 2006;113(5):664-70.
 189. Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension*. 2002;39(1):10-5.
 190. Cruickshank K, Riste L, Anderson SG, Wright JS, Dunn G, Gosling RG. Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function? *Circulation*. 2002;106(16):2085-90.
 191. Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano AI, Gautier I, Laloux B, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2003;34(5):1203-6.
 192. Sutton-Tyrrell K, Najjar SS, Boudreau RM, Venkitachalam L, Kupelian V, Simonsick EM, et al. Elevated aortic pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness, predicts cardiovascular events in well-functioning older adults. *Circulation*. 2005;111(25):3384-90.
 193. Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Hofman A, van Popele NM, Bos ML, Schalekamp MA, et al. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*. 2006;113(5):657-63.
 194. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010;55(13):1318-27.
 195. Mitchell GF, Hwang SJ, Vasan RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, et al. Arterial stiffness and cardiovascular events: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2010;121(4):505-11.
 196. Ben-Shlomo Y, Spears M, Boustred C, May M, Anderson SG, Benjamin EJ, et al. Aortic pulse wave velocity improves cardiovascular event prediction: an individual participant meta-analysis of prospective observational data from 17,635 subjects. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;63(7):636-46.
 197. Aguilar-Shea A, Gallardo-Mayo C, Garrido-Elustondo S, Calvo-Manuel E, Zamorano-Gomez J. Carotid intima-media thickness as a screening tool in cardiovascular primary prevention. *Eur J Clin Invest*. 2010.
 198. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2007. p. 2 - 19.

199. Ganz P, Vita J. Testing endothelial vasomotor function: nitric oxide, a multipotent molecule. *Circulation*. 2003;108(17):2049-53.
200. Libby P, Ridker P, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135-43.
201. Lee CJ, Park S. The role of carotid ultrasound for cardiovascular risk stratification beyond traditional risk factors. *Yonsei medical journal*. 2014;55(3):551-7.
202. Insull W, Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *The American journal of medicine*. 2009;122(1 Suppl):S3-S14.
203. Polak JF, Pencina MJ, Pencina KM, O'Donnell CJ, Wolf PA, D'Agostino RB, Sr. Carotid-wall intima-media thickness and cardiovascular events. *The New England journal of medicine*. 2011;365(3):213-21.
204. Lee AJ, Price JF, Russell MJ, Smith FB, van Wijk MC, Fowkes FG. Improved prediction of fatal myocardial infarction using the ankle brachial index in addition to conventional risk factors: the Edinburgh Artery Study. *Circulation*. 2004;110(19):3075-80.
205. Polonsky TS, McClelland RL, Jorgensen NW, Bild DE, Burke GL, Guerci AD, et al. Coronary artery calcium score and risk classification for coronary heart disease prediction. *Jama*. 2010;303(16):1610-6.
206. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2008;21(2):93-111; quiz 89-90.
207. 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; a journal of cerebral circulation*. 1992;23(12):1705-11.
208. Davis PH, Dawson JD, Riley WA, Lauer RM. Carotid intimal-medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: The Muscatine Study. *Circulation*. 2001;104(23):2815-9.
209. Pauletto P, Palatini P, Da Ros S, Pagliara V, Santipolo N, Baccillieri S, et al. Factors underlying the increase in carotid intima-media thickness in borderline hypertensives. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1999;19(5):1231-7.
210. Johnson HM, Douglas PS, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Li S, et al. Predictors of carotid intima-media thickness progression in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2007;38(3):900-5.

211. Lorenz M, Markus H, Bots M, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115(4):459-67.
212. 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(1):87-92.
213. Chambless L, Heiss G, Folsom A, Rosamond W, Szklo M, Sharrett A, 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(6):483-94.
214. Grewal J, Anand S, Islam S, Lonn E, Share, Investigators S-A. Prevalence and predictors of subclinical atherosclerosis among asymptomatic "low risk" individuals in a multiethnic population. *Atherosclerosis*. 2008;197(1):435-42.
215. Adolphe AB, Huang X, Cook LS. Carotid intima-media thickness determined vascular age and the Framingham Risk Score. *Critical pathways in cardiology*. 2011;10(4):173-9.
216. Gepner AD, Keevil JG, Wyman RA, Korcarz CE, Aeschlimann SE, Busse KL, et al. Use of carotid intima-media thickness and vascular age to modify cardiovascular risk prediction. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2006;19(9):1170-4.
217. Junyent M, Zambon D, Gilabert R, Nunez I, Cofan M, Ros E. Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease risk beyond the Framingham Risk Score. *Atherosclerosis*. 2008;196(2):803-9.
218. Bots ML, Groenewegen KA, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Engstrom G, et al. Common carotid intima-media thickness measurements do not improve cardiovascular risk prediction in individuals with elevated blood pressure: the USE-IMT collaboration. *Hypertension*. 2014;63(6):1173-81.
219. Khalil Y, Mukete B, Durkin MJ, Coccia J, Matsumura ME. A comparison of assessment of coronary calcium vs carotid intima media thickness for determination of vascular age and adjustment of the Framingham Risk Score. *Preventive cardiology*. 2010;13(3):117-21.
220. El Assar M, Angulo J, Rodriguez-Manas L. Oxidative stress and vascular inflammation in aging. *Free radical biology & medicine*. 2013;65:380-401.
221. Barton M. Aging and endothelin: determinants of disease. *Life sciences*. 2014;118(2):97-109.
222. Bouallegue A, Vardatsikos G, Srivastava AK. Involvement of insulin-like growth factor 1 receptor transactivation in endothelin-1-induced signaling in vascular smooth muscle cells. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2010;88(5):501-9.

223. Bohm F, Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovascular research*. 2007;76(1):8-18.
224. Nasser SA, El-Mas MM. Endothelin ETA receptor antagonism in cardiovascular disease. *European journal of pharmacology*. 2014;737:210-3.
225. Schiffrin EL. Vascular endothelin in hypertension. *Vascular pharmacology*. 2005;43(1):19-29.
226. Sandoval YH, Atef ME, Levesque LO, Li Y, Anand-Srivastava MB. Endothelin-1 signaling in vascular physiology and pathophysiology. *Current vascular pharmacology*. 2014;12(2):202-14.
227. Motte S, McEntee K, Naeije R. Endothelin receptor antagonists. *Pharmacology & therapeutics*. 2006;110(3):386-414.
228. Agapitov AV, Haynes WG. Role of endothelin in cardiovascular disease. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system : JRAAS*. 2002;3(1):1-15.
229. Horinouchi T, Terada K, Higashi T, Miwa S. Endothelin Receptor Signaling: New Insight Into Its Regulatory Mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2013;123(2):85-101.
230. Rodriguez-Pascual F, Busnadiego O, Lagares D, Lamas S. Role of endothelin in the cardiovascular system. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2011;63(6):463-72.
231. Meyer MR, Fredette NC, Barton M, Prossnitz ER. Endothelin-1 but not angiotensin II contributes to functional aging in murine carotid arteries. *Life sciences*. 2014;118(2):213-8.
232. Iglarz M, Clozel M. Mechanisms of ET-1-induced endothelial dysfunction. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2007;50(6):621-8.
233. Lekontseva O, Chakrabarti S, Davidge ST. Endothelin in the female vasculature: a role in aging? *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2010;298(3):R509-16.
234. Donato AJ, Gano LB, Eskurza I, Silver AE, Gates PE, Jablonski K, et al. Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2009;297(1):H425-32.
235. Cardillo C, Campia U, Kilcoyne CM, Bryant MB, Panza JA. Improved endothelium-dependent vasodilation after blockade of endothelin receptors in patients with essential hypertension. *Circulation*. 2002;105(4):452-6.
236. Thijssen DH, Hopman MT, Levine BD. Endothelin and aged blood vessels: one more reason to get off the couch? *Hypertension*. 2007;50(2):292-3.
237. Haynes WG, Webb DJ. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet*. 1994;344(8926):852-4.

238. Cockcroft JR, Clarke JG, Webb DJ. The effect of intra-arterial endothelin on resting blood flow and sympathetically mediated vasoconstriction in the forearm of man. *British journal of clinical pharmacology*. 1991;31(5):521-4.
239. Dammanahalli KJ, Sun Z. Endothelins and NADPH oxidases in the cardiovascular system. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2008;35(1):2-6.
240. Anggrahini DW, Emoto N, Nakayama K, Widyantoro B, Adiarto S, Iwasa N, et al. Vascular endothelial cell-derived endothelin-1 mediates vascular inflammation and neointima formation following blood flow cessation. *Cardiovascular research*. 2009;82(1):143-51.
241. Yokoi K, Adachi H, Hirai Y, Enomoto M, Fukami A, Ogata K, et al. Plasma endothelin-1 level is a predictor of 10-year mortality in a general population: the Tanushimaru study. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2012;76(12):2779-84.
242. Bossard M, Pumpol K, van der Lely S, Aeschbacher S, Schoen T, Krisai P, et al. Plasma endothelin-1 and cardiovascular risk among young and healthy adults. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):186-91.
243. Luscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation*. 2000;102(19):2434-40.
244. Lerman A, Edwards BS, Hallett JW, Heublein DM, Sandberg SM, Burnett JC, Jr. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *The New England journal of medicine*. 1991;325(14):997-1001.
245. Stewart DJ, Kubac G, Costello KB, Cernacek P. Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1991;18(1):38-43.
246. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *The New England journal of medicine*. 1993;328(24):1732-9.
247. McMurray JJ, Ray SG, Abdullah I, Dargie HJ, Morton JJ. Plasma endothelin in chronic heart failure. *Circulation*. 1992;85(4):1374-9.
248. Knoll T, Schaub M, Birck R, Braun C, Juenemann KP, Rohmeiss P. The renoprotective potential of endothelin receptor antagonists. *Expert opinion on investigational drugs*. 2000;9(5):1041-52.
249. White M, Courtemanche M, Stewart DJ, Talajic M, Mikes E, Cernacek P, et al. Age- and gender-related changes in endothelin and catecholamine release, and in autonomic balance in response to head-up tilt. *Clinical science*. 1997;93(4):309-16.

250. Maeda S, Tanabe T, Miyauchi T, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, et al. Aerobic exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in older women. *Journal of applied physiology*. 2003;95(1):336-41.
251. Van Guilder GP, Westby CM, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic exercise. *Hypertension*. 2007;50(2):403-9.
252. Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO, 3rd, Panza JA. Interactions between nitric oxide and endothelin in the regulation of vascular tone of human resistance vessels in vivo. *Hypertension*. 2000;35(6):1237-41.
253. Wollesen F, Berglund L, Berne C. Plasma endothelin-1 and total insulin exposure in diabetes mellitus. *Clinical science*. 1999;97(2):149-56.
254. Aroor AR, Demarco VG, Jia G, Sun Z, Nistala R, Meininger GA, et al. The role of tissue Renin-Angiotensin-aldosterone system in the development of endothelial dysfunction and arterial stiffness. *Frontiers in endocrinology*. 2013;4:161.
255. Wang M, Monticone RE, Lakatta EG. Proinflammation of aging central arteries: a mini-review. *Gerontology*. 2014;60(6):519-29.
256. Wang M, Zhang J, Jiang LQ, Spinetti G, Pintus G, Monticone R, et al. Proinflammatory profile within the grossly normal aged human aortic wall. *Hypertension*. 2007;50(1):219-27.
257. Korystova AF, Emel'yanov MO, Kublik LN, Levitman M, Shaposhnikova VV, Kim YA, et al. Distribution of the activity of the angiotensin-converting enzyme in the rat aorta and changes in the activity with aging and by the action of L-NAME. *Age*. 2012;34(4):821-30.
258. Jiang L, Wang M, Zhang J, Monticone RE, Telljohann R, Spinetti G, et al. Increased aortic calpain-1 activity mediates age-associated angiotensin II signaling of vascular smooth muscle cells. *PloS one*. 2008;3(5):e2231.
259. Marchesi C, Paradis P, Schiffrin EL. Role of the renin-angiotensin system in vascular inflammation. *Trends in pharmacological sciences*. 2008;29(7):367-74.
260. Costanzo A, Moretti F, Burgio VL, Bravi C, Guido F, Levrero M, et al. Endothelial activation by angiotensin II through NFkappaB and p38 pathways: Involvement of NFkappaB-inducible kinase (NIK), free oxygen radicals, and selective inhibition by aspirin. *Journal of cellular physiology*. 2003;195(3):402-10.
261. Xu S, Zhi H, Hou X, Jiang B. Angiotensin II modulates interleukin-1beta-induced inflammatory gene expression in vascular smooth muscle cells via interfering with ERK-NF-kappaB crosstalk. *Biochemical and biophysical research communications*. 2011;410(3):543-8.

262. Welch WJ. Angiotensin II-dependent superoxide: effects on hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension*. 2008;52(1):51-6.
263. Doughan AK, Harrison DG, Dikalov SI. Molecular mechanisms of angiotensin II-mediated mitochondrial dysfunction: linking mitochondrial oxidative damage and vascular endothelial dysfunction. *Circulation research*. 2008;102(4):488-96.
264. Widder JD, Fraccarollo D, Galuppo P, Hansen JM, Jones DP, Ertl G, et al. Attenuation of angiotensin II-induced vascular dysfunction and hypertension by overexpression of Thioredoxin 2. *Hypertension*. 2009;54(2):338-44.
265. Wang M, Jiang L, Monticone RE, Lakatta EG. Proinflammation: the key to arterial aging. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2014;25(2):72-9.
266. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovascular research*. 2005;66(2):286-94.
267. Weidmann P, De Myttenaere-Bursztein S, Maxwell MH, de Lima J. Effect on aging on plasma renin and aldosterone in normal man. *Kidney international*. 1975;8(5):325-33.
268. Hegstad R, Brown RD, Jiang NS, Kao P, Weinshilboum RM, Strong C, et al. Aging and aldosterone. *The American journal of medicine*. 1983;74(3):442-8.
269. Brown JM, Underwood PC, Ferri C, Hopkins PN, Williams GH, Adler GK, et al. Aldosterone dysregulation with aging predicts renal vascular function and cardiovascular risk. *Hypertension*. 2014;63(6):1205-11.
270. Sun Z. Aging, arterial stiffness, and hypertension. *Hypertension*. 2015;65(2):252-6.
271. Mancia G, Seravalle G, Grassi G. Systolic blood pressure: an underestimated cardiovascular risk factor. *Journal of hypertension Supplement : official journal of the International Society of Hypertension*. 2002;20(5):S21-7.
272. Kannel WB, Gordon T, Schwartz MJ. Systolic versus diastolic blood pressure and risk of coronary heart disease. The Framingham study. *The American journal of cardiology*. 1971;27(4):335-46.
273. Black HR. The paradigm has shifted, to systolic blood pressure. *Hypertension*. 1999;34(3):386-7.
274. Mancia G, Grassi G. Systolic and diastolic blood pressure control in antihypertensive drug trials. *Journal of hypertension*. 2002;20(8):1461-4.
275. Zoungas S, Asmar RP. Arterial stiffness and cardiovascular outcome. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2007;34(7):647-51.

276. Nurnberger J, Keflioglu-Scheiber A, Opazo Saez AM, Wenzel RR, Philipp T, Schafers RF. Augmentation index is associated with cardiovascular risk. *Journal of hypertension*. 2002;20(12):2407-14.
277. Weber T, Auer J, O'Rourke MF, Kvas E, Lassnig E, Berent R, et al. Arterial stiffness, wave reflections, and the risk of coronary artery disease. *Circulation*. 2004;109(2):184-9.
278. Dart AM, Gatzka CD, Kingwell BA, Willson K, Cameron JD, Liang YL, et al. Brachial blood pressure but not carotid arterial waveforms predict cardiovascular events in elderly female hypertensives. *Hypertension*. 2006;47(4):785-90.
279. McEniery CM, Yasmin, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB, Cockcroft JR, et al. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(9):1753-60.
280. Williams B, Lacy PS, Thom SM, Cruickshank K, Stanton A, Collier D, et al. Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation*. 2006;113(9):1213-25.
281. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, O'Rourke MF, Safar ME, Baou K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with central haemodynamics: a systematic review and meta-analysis. *European heart journal*. 2010;31(15):1865-71.
282. Blacher J, Asmar R, Djane S, London GM, Safar ME. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension*. 1999;33(5):1111-7.
283. Kasliwal RR, Bansal M, Desai D, Sharma M. Carotid intima-media thickness: Current evidence, practices, and Indian experience. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2014;18(1):13-22.
284. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115(4):459-67.
285. Stamatelopoulos K, Karatzi K, Sidossis LS. Noninvasive methods for assessing early markers of atherosclerosis: the role of body composition and nutrition. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2009;12(5):467-73.
286. Eleid MF, Lester SJ, Wiedenbeck TL, Patel SD, Appleton CP, Nelson MR, et al. Carotid ultrasound identifies high risk subclinical atherosclerosis in adults with low framingham risk scores. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2010;23(8):802-8.

287. Kieltyka L, Urbina EM, Tang R, Bond MG, Srinivasan SR, Berenson GS. Framingham risk score is related to carotid artery intima-media thickness in both white and black young adults: the Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis*. 2003;170(1):125-30.
288. Den Ruijter HM, Peters SA, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Eijkemans MJ, et al. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis. *Jama*. 2012;308(8):796-803.