

FUNCIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

ENDOTHELIAL FUNCTION AND DYSFUNCTION

MAGDALENA GONZÁLEZ N. MSC. (1), DR. FELIPE SALECH M. (1), DR. LUIS TORO C. (1), DR. LUIS MICHEA A (1).

1. INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE CHILE. lmichea@med.uchile.cl.

RESUMEN

El endotelio es el principal regulador de la homeostasis vascular, modula el balance vasoconstricción/vasodilatación, inhibe la proliferación/migración de células musculares de la pared vascular (VSMC), y también modula la hemostasia. La disfunción endotelial es un evento que precede los cambios morfológicos característicos de la aterogénesis y contribuye al desarrollo de complicaciones de la placa aterosclerótica. Además, la evidencia disponible indica que el desarrollo de disfunción endotelial participa en el daño cardiovascular en condiciones que abarcan desde procesos fisiológicos como el envejecimiento, hasta procesos fisiopatológicos diversos como hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, diabetes mellitus, coagulación intravascular, preeclampsia, enfermedades inflamatorias y la apnea del sueño (1, 2).

El objetivo del presente artículo es revisar brevemente la función endotelial, definir disfunción endotelial en un contexto amplio y presentar los mecanismos generales que conducen a disfunción endotelial en relación a las enfermedades cardiovasculares más prevalentes.

Palabras clave: Endotelio, eNOS, hipertensión, diabetes mellitus, aterosclerosis, daño oxidativo.

SUMMARY

The endothelium is the main regulator for vascular homeostasis. The functions of the endothelium include regulation of the balance between vasoconstriction and vasodilation, inhibition of proliferation and migration of smooth muscle cells (VSMC) from the vascular wall and

modulation of hemostasis. Endothelial dysfunction precedes the morphological changes characteristic of atherogenesis and contributes to the development atherosclerotic plaques. Also, current evidence indicates that the development of endothelial dysfunction is associated with cardiovascular damage in several physiological conditions such as arterial hypertension, heart and renal failure, diabetes mellitus, intravascular coagulation, preeclampsia, inflammatory disease and sleep apnea (1,2). The purpose of this article is to provide a brief review of endothelial dysfunction, broadly define endothelial dysfunction, and to present general mechanisms that are correlated with endothelial dysfunction in most prevalent cardiovascular diseases.

Key words: Endothelium, eNOS, hypertension, diabetes mellitus, atherosclerosis, oxidative damage.

1. EL ENDOTELIO

a) Definición

Es un órgano paracrino, que se dispone formando una monocapa celular polarizada, con una membrana apical con glicocalix orientado hacia el lumen de los vasos sanguíneos y el corazón, adherida a una membrana basal adluminal. El endotelio tiene un volumen celular total equivalente al volumen del hígado (1). Las células endoteliales (EC) que lo conforman derivan de precursores mesodérmicos, que dan origen a células de la pared vascular y células endoteliales durante el proceso de vasculogénesis (3). Las células endoteliales poseen una alta tasa de síntesis proteica, son metabólicamente muy activas, y utilizan como sustratos energéticos glucosa y ácidos grasos.

b) Regeneración endotelial

En condiciones normales, las EC del adulto se encuentran en estado quiescente (G_0). El endotelio es uno de los tejidos genéticamente más estables del organismo, con una velocidad de recambio de varios cientos de días. Sin embargo, las EC sufren de injuria mecánica y química constante, que induce procesos de reparación. Cuando ocurre angiogénesis o en condiciones patológicas que causan muerte endotelial, como la hiperlipidemia, la hipertensión y la angioplastia, las EC proliferan y llegan a tener tasas de recambio cercanas a cinco días (4).

La capacidad proliferativa de las EC es limitada, aceptándose que luego de un número determinado de ciclos de replicación entran en senescencia (detención total de capacidad proliferativa). Las EC senescentes no sólo carecen de capacidad proliferativa, sino que también presentarían alteración de la producción de sustancias vasodilatadoras y respuesta anormal al *shear stress* (1).

Clásicamente, se ha propuesto que la reparación de las zonas en las que existe daño endotelial dependería de la proliferación de EC pre-existentes en el lecho vascular, que participarían vía proliferación en la regeneración endotelial (3, 4). Sin embargo, durante los últimos 10 años se demostró que células derivadas de la médula ósea podían incorporarse en los vasos sanguíneos y diferenciarse hacia EC, ampliándose así las nociones de angiogénesis, neovascularización y neoendotelización en el adulto (3, 4).

c) Pericitos y células musculares lisas: vecindad y función coordinada con el endotelio

La función endotelial implica estrecha y rápida comunicación con las células subyacentes en la pared vascular. A nivel de los capilares, arteriolas y vénulas, las células endoteliales se pueden encontrar en contacto con pericitos. Los pericitos son células de origen mesenquimático embebidas en la membrana basal de los microvasos (vasos con diámetro menor a 40 micrones), que forman una capa continua o discontinua alrededor del tubo de EC. Además de su capacidad contráctil, los pericitos jugarían un papel activo en la angiogénesis. Existen canales de comunicación directa entre el citoplasma de los pericitos y el citoplasma de las EC vía uniones comunicantes. También existen diversos mecanismos de señalización química entre los pericitos de los diferentes tejidos y las EC (5). La abundancia de pericitos rodeando las EC varía en forma importante entre los tejidos, y en algunos territorios han sido reconocidos por funciones y morfologías características, como las células mesangiales en el glomérulo renal y las células Ito, que almacenan grasa perisinusoidal en el hígado (5).

Las EC se encuentran también en contacto y en comunicación con VSMC de la pared vascular en arterias, arteriolas, vénulas y venas. En estos vasos las EC y las VSMC se comunican a través de uniones comunicantes mio-epiteliales, que permiten el acoplamiento eléctrico y el traspaso de moléculas de pequeño tamaño, como iones y nucleótidos cíclicos. Finalmente, las células endoteliales se pueden contactar y comunicarse con células sanguíneas y plaquetas (1).

2. FUNCIONES DEL ENDOTELIO

Las EC responden a los estímulos físicos (*shear stress*, estiramiento y presión), estímulos químicos (pH) y mediadores (sustancias liberadas por el sistema nervioso autónomo, hormonas, autacoides, citoquinas), sintetizando y liberando factores moduladores del tono vascular, permeabilidad vascular, angiogénesis, remodelación vascular, la respuesta inflamatoria, permeabilidad vascular y hemostasia (6).

a) Barrera. El endotelio cumple una función de barrera entre la sangre y la pared vascular, y a nivel capilar entre la sangre y los tejidos. El endotelio capilar se comporta como una membrana semipermeable, que regula el pasaje de fluidos, nutrientes y leucocitos hacia el intersticio. Esta función de barrera depende de la existencia de sitios de adhesión (junturas adherentes y uniones estrechas) que mantienen el contacto célula-célula (7). La función de barrera se ve también reforzada por el contacto y formación de uniones estrechas entre los pericitos y las células endoteliales, controlando el pasaje de sustancias y células en forma selectiva (7).

b) Regulación de la coagulación. El endotelio también tiene un rol clave en la regulación de la hemostasia (8, 9). En condiciones fisiológicas, previene la coagulación intravascular, mediante varios mecanismos anticoagulantes y antiplaquetarios. Produce moléculas de superficie como glucosaminoglicanos (moléculas tipo heparina) que actúan como cofactores de antitrombina, generando una barrera anticoagulante en vasos sanguíneos indemnes. La trombomodulina, otra proteína anticoagulante endotelial, al unirse con trombina hace que ésta cambie su actividad pro-coagulante a una actividad anticoagulante. El también produce el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), que es el principal inhibidor del complejo factor tisular-factor VIIa. Junto con esto, el endotelio libera otras moléculas como óxido nítrico (NO) y prostaciclina (PGI₂) que tienen un rol inhibitorio de la adhesión y agregación plaquetaria (9).

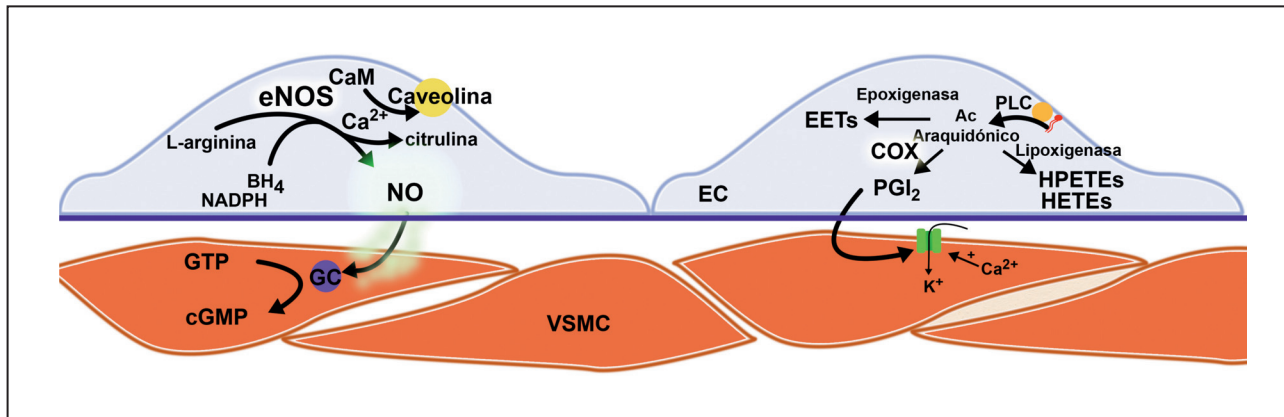
Cuando el endotelio sufre una injuria, esta actividad anticoagulante y antiplaquetaria disminuye, y además aumenta la expresión de moléculas como factor de von Willebrand, el inhibidor del activador de plasminógeno-1 (PAI-1), factor tisular y P-selectina, que llevan a la activación de la cascada de coagulación y activación plaquetaria, para reparar el daño vascular (8, 9).

b) Tono vascular: La mantención del tono vascular depende del equilibrio entre la acción de sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, que actúan sobre las VSMC de la pared vascular. El endotelio juega aquí un importante papel, produciendo ambos tipos de sustancias. La alteración del equilibrio vasodilatación/vasoconstricción representaría un evento inicial en el desarrollo de la disfunción endotelial, por lo que lo revisaremos en mayor profundidad.

Vasodilatadores endoteliales (Figura 1).

Óxido Nítrico: Uno de los principales mediadores producidos por el endotelio es el óxido nítrico (NO), que originalmente fue identificado como el factor vasodilatador derivado del endotelio o EDRF (10).

FIGURA 1. PRINCIPALES VASODILADORES ENDOTELIALES



En las caveolas de las células endoteliales (EC) se encuentra la proteína caveolina-1, que se une a la proteína calmodulina e inhibe la eNOS. La actividad de la eNOS depende de aumentos en la $[Ca^{2+}]_i$. El calcio se une a calmodulina, desplazando a caveolina-1, lo que lleva a la activación de la eNOS. La producción de NO depende también de cofactores: tetrahipteroína (BH₄) y dinucleótido adenina nicotinamida fosfato (NADPH). El NO difunde a la célula muscular lisa de la pared vascular (VSMC), activa la guanilato ciclasa (GC) que produce cGMP y relajación.

La enzima fosfolipasa C (PLC, círculo anaranjado) metaboliza el fosfatidil inositol de la membrana plasmática (rojo) y produce ácido araquidónico. El ácido araquidónico puede ser metabolizado por la vía epoxigenasa, por la vía lipoxigenasa o por vía la ciclooxigenasa (COX). Los EETs y la PGI₂ son vasodilatadores, activando canales de potasio modulados por calcio en la VSMC.

El déficit en la producción de NO es considerado uno de los eventos más significativos de la disfunción endotelial (11). El NO se forma en la célula endotelial a partir de su precursor (L-arginina) en una reacción catalizada por la Óxido Nítrico Sintetasa Endotelial (eNOS), presente en invaginaciones de la membrana de las EC denominadas caveolas. El NO difunde desde las EC a las VSMC de la pared vascular, donde activa a la guanilato ciclasa, causando relajación del músculo liso dependiente de cGMP y la consecuente vasodilatación (Figura 1). El principal mecanismo responsable de la producción de NO endotelial en condiciones fisiológicas es el *shear stress*. Aumentos del *shear stress* inducen la activación de la eNOS. Este mecanismo permitiría la adaptación de la perfusión tisular a los cambios del gasto cardíaco (12).

El NO es un vasodilatador que se opone a la acción de endotelina y angiotensina II. Inhibe la adhesión y la agregación plaquetaria, junto con la adhesión e infiltración leucocitaria y la proliferación de VSMC (11). El NO inhibe también la lipoperoxidación del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), uno de los mecanismos implicados en la aterosclerosis (13). El NO mantiene a las células de la pared vascular en estado quiescente a través de la inhibición de la inflamación, inhibición directa de la proliferación celular e inhibición de la trombogénesis. Estas acciones dependerían de la S-nitrosilación de los residuos de cisteína, que disminuye la actividad de diversas proteínas, como el NFκB y reguladores del ciclo celular. El NO también disminuye directamente la fosforilación oxidativa mitocondrial (12).

Prostaglandina I₂ (PGI₂ o prostaciclina): Fue el primer factor vasodilatador endotelial conocido. Las EC metabolizan el ácido araquidónico

a través de tres vías. La más importante corresponde a la vía de la ciclooxigenasa, con la PGI₂ como su principal metabolito. Por su parte, las VSMC normalmente sólo poseen un quinto de la capacidad de la célula endotelial para la síntesis de derivados del ácido araquidónico (14).

Las EC poseen además la vía de la epoxigenasa CYP450, que a partir del ácido araquidónico produce una serie de metabolitos vasodilatadores, los ácidos eicosatetraenóicos (EETs), y que se liberan en respuesta a bradicinina, *shear stress* y/o flujo (15). Los EETs han sido propuestos como uno de los Factores Hiperpolarizadores Derivados del Endotelio (EDHF), al menos en algunos lechos vasculares (16). Los EETs activarían canales de potasio activados por calcio (K_{Ca}) presentes en las VSMC, causando hiperpolarización de la membrana celular. La hiperpolarización de la membrana inhibe la actividad de los canales de calcio activados por voltaje, disminuyendo la entrada de calcio y la contracción de las VSMC (Figura 1). Además de su papel vasodilatador, los EETs inhiben la agregación plaquetaria, promueven la angiogénesis e inhiben la expresión de moléculas que inducen adhesión endotelial (15).

Bradicinina (BK): Pertenece a una familia de péptidos vasoactivos, derivados de proteínas plasmáticas (cininógenos de alto peso molecular y bajo peso molecular) producidas en el hígado. La BK es un nonapéptido, producido por proteólisis de cininógenos en la superficie endotelial (aunque también por células inmunes circulantes y tisulares), mediado por la enzima calicreína. Una vez liberada, la BK (vida media de segundos en el plasma) ejerce su acción de modo paracrino y autocrino, uniéndose a receptores B₂, que se expresan en abundancia en condiciones normales en el endotelio y pertenecen a la familia de receptores acoplados a pro-

teína G con siete dominios transmembrana. En condiciones patológicas (inflamación) se expresa además la isoforma de receptor B1, con funciones poco claras a la fecha. BK estimula la liberación de NO endotelial y EDHF, contribuyendo a la inhibición de la agregación plaquetaria (10). BK también estimula la producción del activador tisular de plasminógeno (tPA), participando en la fibrinólisis. La acción de BK es terminada por su rápida metabolización por peptidasas, como la endopeptidasa neutra (NEP) y la enzima convertidora de angiotensina (ACE) (17).

Vasoconstrictores Endoteliales

Endotelina (ET-1): Es el vasoconstrictor más potente identificado a la fecha (18, 19). ET-1 es secretada por el endotelio y tiene en general acciones opuestas al NO. Actúa a través de la unión a receptores de membrana ET-A y ET-B. La secreción de ET-1 se ve aumentada por el *shear stress*, trombina, epinefrina, angiotensina II, factores de crecimiento y citoquinas. El NO, el Péptido Natriurético Atrial (ANP) y la prostaciclina inhiben la secreción de ET-1 (18, 19).

Angiotensina II (AngII): AngII es el principal péptido del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona. AngII es un octapéptido, producido por la acción de renina sobre angiotensinógeno de origen hepático, que genera angiotensina I. La angiotensina I (10 aa) viaja libre en el plasma y al contactar el lecho capilar (principalmente pulmonar) es transformada en AngII. Esta segunda proteólisis depende de la acción de la ACE, una peptidil-dipeptidasa (remueve dipéptidos del C terminal), particularmente abundante en la superficie del endotelio pulmonar (17). La ACE también actúa sobre otros péptidos como BK, y su efecto neto es pro-vasoconstricción (17). La producción de AngII resulta en vasoconstricción, aumento del estrés oxidativo y estimulación de la producción de ET-1; en el largo plazo estimula la proliferación de las VSMC y activación de macrófagos. Estos efectos son mediados por los receptores de angiotensina tipo 1 (AT1R) (10).

Otros vasoconstrictores: Existen otras sustancias con actividad vasoconstrictora derivadas del endotelio, en particular prostanoides derivados de la ciclooxigenasa endotelial.

3. MECANISMOS GENERALES DEL DESARROLLO DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

El término disfunción endotelial fue utilizado por primera vez a comienzo de los años 80 para describir alteraciones estructurales y funcionales del endotelio pulmonar, y posteriormente para describir la pérdida de la respuesta vasodilatadora a acetilcolina, elegantemente descrita por Furchgott y Zawadzki (2). Sin embargo, durante los últimos 15 años el término disfunción endotelial se ha utilizado en forma creciente para describir no sólo alteraciones en la modulación del tono vascular, sino que también cambios en la función de barrera, disminución de las propiedades antitrombogénicas, alteraciones en las capacidades angiogénicas, cambios de la modulación de la muerte/proliferación celular y remodelación de la pared vascular, y alteraciones en la modulación de la función de monocitos y neutrófilos (2, 11).

Basados en la evidencia que indica que la disfunción endotelial representa un evento temprano en el desarrollo de aterosclerosis y que está presente en una gran gama de enfermedades con daño cardiovascular, el diagnóstico de disfunción endotelial ha generado creciente interés, proponiéndose a la disfunción endotelial como un factor de estratificación de riesgo cardiovascular. Desde un punto de vista clínico, la gran mayoría de los estudios que evalúan la función endotelial se han avocados a analizar la vasodilatación endotelio-dependiente, uno de los aspectos relevantes (Tabla 1). En este contexto, describiremos aquellos mecanismos fisiopatológicos generales que participan en los trastornos en la vasodilatación dependiente de endotelio, mencionando con menor detalle otros aspectos de la disfunción endotelial.

a) El estrés oxidativo disminuye el NO y los vasodilatadores endoteliales

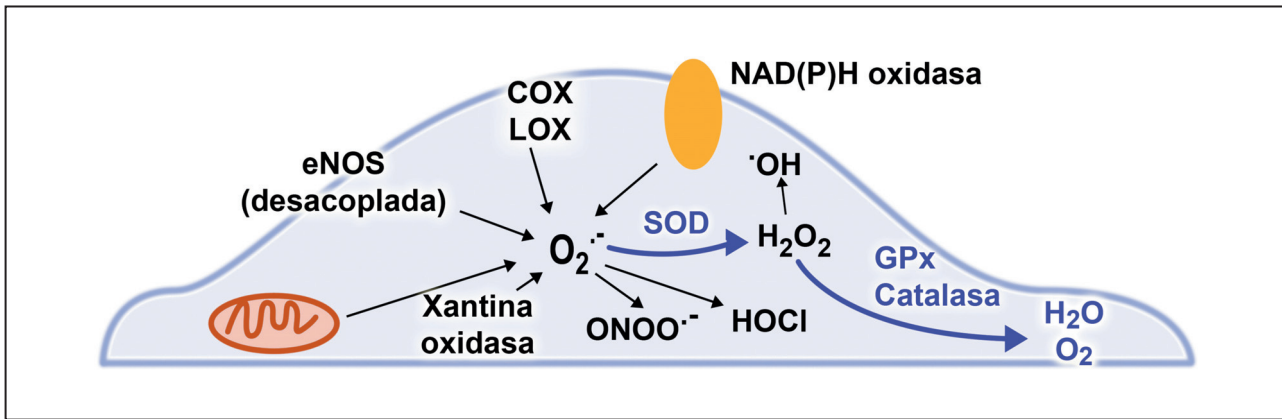
La deficiencia en la síntesis de NO y su menor biodisponibilidad son características fundamentales de la disfunción endotelial. El estrés oxidativo es un mecanismo inductor de disfunción endotelial ya que contribuye directamente al déficit de NO.

Las especies reactivas del oxígeno (ROS) incluyen a los radicales libres (Figura 2): $O_2^{\cdot-}$ (anión superóxido), $\cdot OH$ (radical hidroxilo) y NO, y además H_2O_2 , ONOOO \cdot (peroxinitrito) y el ácido hipocloroso (OHCl). Todas estas especies poseen la capacidad de oxidar moléculas y se producen en los vasos sanguíneos en condiciones fisiológicas y patológicas. Diferentes enzimas oxidadas son responsables de la producción de ROS. Las nicotinamida adenin dinucleótido fosfato oxidasas (NADH/NADPH oxidasas) son la principal fuente de ROS en la vasculatura, responsables de la generación de $O_2^{\cdot-}$. Las NADH/NADPH oxidasas están conformadas por varias subunidades protéicas (20). A la producción de ROS también contribuyen la xantina oxidasa, la ciclooxigenasa, la glucosa oxidasa y la lipooxigenasa. Otras fuentes importantes de ROS son la eNOS "desacoplada" (ver más adelante) y la cadena de transporte de electrones de la mitocondria (Figura 2).

Las EC poseen mecanismos de defensa enzimáticos (Figura 2): superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y catalasa, que en condiciones normales permiten mantener NO disponible. El superóxido es reducido en forma espontánea o enzimática (SOD) a H_2O_2 , especie que puede dismutarse en agua y oxígeno por la GPx(21). Esto permite controlar la abundancia de H_2O_2 , que si bien es vasodilatadora en forma aguda, es promotora de remodelación y proliferación de las VSMC cuando presenta niveles elevados en forma crónica. El superóxido también puede transformarse en radicales hidroxilo, que son altamente reactivos. Los radicales hidroxilo causan daño peroxidando los grupos sulfidrilos de las proteínas y produciendo lipoperóxidos. Por otra parte, cuando el NO y el $O_2^{\cdot-}$ se producen en proximidad física, se forma ONOOO \cdot , que oxida grupos sulfidrilos y nitrosila los grupos aromáticos de las proteínas (1).

Diversos estudios han demostrado el aumento en la producción de ROS, inducción en la actividad y expresión de las enzimas productoras de estrés oxidativo, con el desarrollo de la disfunción endotelial, por ejemplo

TABLA 1. PRESENCIA DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN DIVERSAS PATOLOGÍAS		
PATOLOGÍA	Metodología de estudio de disfunción endotelial	REFERENCIA
AVE	Alteración en la producción/respuesta endotelial a la endotelina-1, alteraciones vasculares en respuesta a la hemorragia subaracnoidea (vasoespasmos)	Cosentino et al. J Cardiovasc Pharmacol. 2001 Nov;38 Suppl 2:S75-8.
Migraña	Niveles elevados FvW, aumento de citoquinas proinflamatorias, disminución de mediadores de la vía óxido nítrico, alteraciones de la vía del folato/hiperhomocisteinemia	Tietjen et al. Cephalalgia. 2007 Aug;27(8):981-7
Enfermedad Coronaria	Respuesta constrictora al estímulo frío y con acetilcolina, respuesta vasodilatadora disminuida al estímulo con nitratos	Schachinger. Circulation. 2000;101:1899–1906.
Insuficiencia Cardíaca	Alteración de la dilatación mediada por flujo, niveles de células endoteliales circulantes, niveles elevados de FvW	Chong et al. Circulation 2004; 110 (13) 1794-1798
Hipertensión Pulmonar	Respuesta proliferativa inadecuada de células endoteliales, tono vasomotor exacerbado	Tuder et al Clin Chest Med. 2001;22:405–418
Apnea del sueño	Tono vasomotor elevado, estado proinflamatorio de células endoteliales, estrés oxidativo aumentado, disminución de la capacidad reparadora endotelial	Atkeson et al Prog Cardiovasc Dis. 2009;5:351-62
Hipertensión Arterial	Disfunción de la síntesis de óxido nítrico, estado proaterogénico/procoagulante	Panza et al Clin cardiol 1997: 20; 26-33
Diabetes Mellitus tipo 1	Alteración de la dilatación arterial mediada por flujo	Singh et al J Am Coll Cardiol 2003;41:661–5
Diabetes Mellitus tipo 2	Respuesta vasodilatadora alterada en respuesta a acetilcolina y trinitrina	McVeigh et al. Diabetologia. 1992;35:771–776.
Insuficiencia Renal Crónica	Menor producción de óxido nítrico alteración de la vía del folato menor respuesta al daño endotelial mediado por eritropoyetina	Endemann et al. J Am Soc Nephrol. 2004;15:1983–92
Lupus Eritematoso	Alteración de la dilatación mediada por flujo, alteración de índice íntima/media	El-Magadmi et al Circulation 2004; 110 (4) 399-404
Artritis Reumatoide	Alteración de la dilatación mediada por flujo, alteración de índice íntima/media, niveles elevados de citoquinas proinflamatorias	Szekanecz Z et al Ann N Y Acad Sci. 2007;1108:349
VIH	Aterosclerosis acelerada por infección viral de la célula endotelial y/o secundaria al tratamiento retroviral	Chi et al Endothelium. 2000;7(4):223-42.

FIGURA 2. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS) PRODUCIDAS EN EL ENDOTELIO

La ciclooxigenasa, lipoxigenasa, eNOS desacoplada, mitocondria y la NAD(P)H oxidasa contribuyen a la producción de superóxido ($O_2^{\cdot-}$). En azul se muestra la vía de protección enzimática, formada por superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GPx).

en la hipertensión arterial, diabetes mellitus, enfermedad coronaria y otras patologías (21). Durante el desarrollo de aterosclerosis también se ha demostrado una disminución en la actividad de SOD, GPx, catalasa, vitaminas E y C. Más aún, el ácido ascórbico mejora la vasodilatación endotelio-dependiente en pacientes con hipertensión arterial esencial, dislipidemia y enfermedad coronaria (21).

Las ROS inhiben la producción de las tres principales sustancias vasodilatadoras endoteliales (NO, PGI_2 y EDHF) (1). En el desarrollo de disfunción endotelial se ha encontrado disminución de la expresión génica de la eNOS y de su actividad enzimática. El superóxido disminuye la vida media de NO y la actividad de la guanilato ciclasa. $ONOO^{\cdot-}$ inhibe la guanilato ciclasa y aumenta el estrés oxidativo mediante la inhibición de SOD. En condiciones patológicas en las que ocurre una deficiencia relativa de tetrahidrobiopterina (BH_4) o se produce falta de sustrato, la eNOS *per se* se transforma en una fuente de superóxido y H_2O_2 (lo que se denomina desacoplamiento de eNOS). La oxidación de BH_4 por $ONOO^{\cdot-}$, $O_2^{\cdot-}$ y H_2O_2 también son mecanismos que inhiben a la eNOS (21). La actividad de los canales de potasio K_{Ca} es inhibida por superóxido, y la comunicación entre las EC y las VSMC a través de las uniones mioepiteliales también se ve alterada por daño de las uniones comunicantes. El peroxinitrito disminuye la producción de EDHF en varios lechos vasculares (21).

Un segundo mecanismo mediante el cual las ROS potencian la vasoconstricción es el aumento de la contractilidad de las VSMC, por alteraciones en el manejo del calcio intracelular. Además aumentan la producción de prostanoïdes vasoconstrictores, que activan receptores de tromboxano-prostanoïdes (TP) de las VSMC (1, 21).

En tercer lugar, las ROS poseen efectos reguladores de la expresión génica, induciendo la expresión de moléculas de adhesión, sustancias

quimioattractantes y enzimas antioxidantes. Además, activan las metaloproteinasas (proteasas que participan en la remodelación de la matriz extracelular) (1, 21).

b) Aumento de vasoconstrictores endoteliales

Además de la disminución de vasodilatadores, la disfunción endotelial se caracteriza por un aumento de vasoconstrictores endoteliales. Estudios en modelos experimentales han mostrado que la disfunción endotelial causa aumento de expresión de ACE en los tejidos extra-pulmonares, la que puede llegar a representar el *pool* mayoritario. Este fenotipo se asocia a crecimiento del músculo liso vascular y estrés oxidativo. Factores que típicamente inducen esta respuesta son la hipertensión arterial, isquemia-reperfusión, diabetes mellitus, hipercolesterolemia y tabaquismo.

El exceso de Ang II producida en el endotelio disminuye la biodisponibilidad de NO debido a la producción de radicales superóxido, y la actividad del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (RAAS) se encuentra en relación directa con la expresión y actividad de las NADH/NADPH oxidasas (17, 22). Además de la inducción de ACE endotelial, la disfunción endotelial se asocia con aumento de la expresión de ACE en cardiomiocitos y fibroblastos cardíacos (23). Ello se suma a la expresión de ACE en el infiltrado celular intersticial y perivascular, presente en la hipertensión y otros tipos de daño cardíaco, que acentúan la mayor producción de Ang II local (22, 23).

Ang II ha sido demostrada como un factor promotor de apoptosis de las células endoteliales. El aumento de ROS en respuesta a Ang II inhibe proteínas antiapoptóticas e inhibe la vía de las proteínas quinasa asociadas a mitógeno (MAPK/ERK). Sin embargo, en la microvasculatura la activación del AT1R sería antiapoptótica. Esta aparente contradicción podría reflejar la importancia de factores asociados para inducir disfunción endotelial, como la abundancia de LDL oxidadas (24).

TABLA 2. EFECTOS SECUNDARIOS AL AUMENTO DE VASOCONSTRICTORES EN DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

HORMONA	EFFECTOS DESCRITOS
Angiotensina II* Aldosterona	Aumento producción de ROS Disminución biodisponibilidad de NO por elevación de ROS Aumento actividad NADH/NADPH oxidasas Inhibición proteínas antiapoptóticas Inhibición vía de MAPK/ERK Aumento secreción de Endotelina Feedback negativo con eNOS Aumento producción de ROS Aumento producción prostanooides vasoconstrictores Disminución glutatión reducido Aumento expresión de PAI-1 (también se origina por aumento de ATII)
Endotelina	Secreción aumentada por shear stress NO, ANP y prostaciclina inhiben su secreción

*Disfunción endotelial aumenta expresión del receptor de angiotensina II en cardiomiocitos y fibroblastos cardiacos.

El Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo 1 (PAI-1) es el principal inhibidor fisiológico del activador tisular del plasminógeno, un activador de plasminógeno que regula la trombosis. Diversos estudios han mostrado que Ang II y aldosterona son reguladores de PAI-1. La inducción de PAI-1 sería un mecanismo de inhibición de la fibrinólisis, presente también en el desarrollo de disfunción endotelial (24).

Finalmente, la producción inadecuada de aldosterona también contribuiría al desarrollo de disfunción endotelial. Las EC expresan en abundancia el receptor de aldosterona. Aldosterona regula negativamente la eNOS, por disminución de la BH₄ y por reducción de la activación por fosforilación de la eNOS (calcio independiente). Aldosterona también aumenta la producción de ROS y disminuye los mecanismos antioxidantes celulares, aumentando la actividad de NADPH oxidasa y disminuyendo los niveles de glutatión reducido. Finalmente, aldosterona también aumenta la producción de los prostanooides vasoconstrictores (25).

4. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN CONDICIONES DE RIESGO

a) Tabaquismo

Múltiples trabajos clínicos y experimentales han evidenciado un rol causal del humo del tabaco en el desarrollo de disfunción endotelial y de cómo estas alteraciones pueden llevar al desarrollo de aterosclerosis y con ello a un aumento significativo del riesgo cardiovascular.

En humanos, el humo del tabaco ha demostrado disminuir significativa-

mente la vasodilatación endotelio dependiente, tanto en lechos arteriales braquiales como coronarios (26, 27). Estudios *in vitro*, realizados a partir de cultivos de células endoteliales derivadas de lechos arteriales o venosos, y expuestas a mediadores derivados del humo del tabaco y/o a suero de sujetos fumadores, han demostrado una disminución de la producción de endotelio de óxido nítrico, con de éste, que pudiera constituir (al menos en parte) el mecanismo fisiopatológico detrás de esta disfunción vasodilatadora del endotelio (28). El tabaquismo crónico causa un marcado desbalance sistémico de moléculas oxidantes/antioxidantes, reflejado en el aumento de lipoperóxidos, y disminución de antioxidantes como las vitaminas A y C (29).

Finalmente el tabaquismo, por múltiples mecanismos, se ha asociado a un estado procoagulante caracterizado por niveles elevados de fibrinógeno, una mayor actividad del factor tisular, una disminución de niveles y actividad de t-PA, así como también a una mayor activación plaquetaria tanto espontánea como bajo estímulo, todos cambios que favorecerían la formación y propagación de trombos intravasculares (29). A estas alteraciones descritas, se agregan además un estado inflamatorio leve crónico, caracterizado por niveles elevados de proteína C reactiva, fibrinógeno e interleuquina 6 (IL-6), en un número de casos aumento del recuento de leucocitos en el hemograma, quemotaxis y acumulación vascular de células inflamatorias perivasculares (30). Todos estos cambios en conjunto promueven el desarrollo de lesiones ateroscleróticas, y aunque muchos de ellos revierten al dejar de fumar, algunos de los mediadores de inflamación como la proteína C reactiva pueden encontrarse elevados 10-20 años después, sugiriendo un mecanismo de daño persistente en la vasculatura.

b) Aterosclerosis y activación endotelial

En general, la producción de ROS induce el viraje de la fisiología endotelial desde un estado dominado por el NO a un nuevo estado en el que junto con el aumento del tono vascular se produce la activación de maquinaria celular que lleva a la expresión de citoquinas, quimioquinas y moléculas de adhesión. Este cambio, conocido como activación endotelial, es un mecanismo clave en el desarrollo de aterosclerosis (12). Los mecanismos de señalización que se activan por ROS llevan a la adherencia de leucocitos y plaquetas, conducente a un estado inflamatorio localizado, que en condiciones normales es activado como respuesta al ataque por microorganismos, pero que en este caso representa una respuesta mal adaptativa (31). El desarrollo de una respuesta mal adaptativa persistente podría ser consecuencia de la extensión, duración y combinación de factores pro-inflamatorios, que se potencian y llevan a disfunción endotelial (12). Entre estos, encontramos factores de riesgo como la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus. Otras condiciones pro-inflamatorias también serían relevantes, como la periodontitis. Finalmente, se ha propuesto que existe un componente genético que participa en el desarrollo de activación endotelial (12).

Otro mecanismo que contribuye a la activación endotelial es el aumento desproporcionado de ROS, que sobrepasan los mecanismos antioxidantes enzimáticos y no-enzimáticos que normalmente posee la célula en-

dotelial. Además del aumento en la actividad de NADH/NDPH oxidasas (32), la hipoxia o el aumento de sustratos metabólicos pueden llevar a aumento de la producción de ROS mitocondriales. Esta situación sería particularmente relevante en la disfunción endotelial que caracteriza a la diabetes mellitus y la obesidad, secundariamente a la hiperglicemia y al aumento en ácidos grasos libres circulantes (33).

c) Hipertensión arterial

El aumento en la producción de ROS, la disminución de las capacidades antioxidantes vasculares y una caída en la capacidad de metabolizar los radicales libres han sido implicados en la disfunción endotelial de la hipertensión arterial esencial, renovascular y la preeclampsia (ver Tabla 3)(1). Los estados hipertensivos en los que se encuentra un estado de activación inadecuado del sistema renina-angiotensina-aldosterona se caracterizan por una mayor producción de ROS derivados de la actividad de la NADPH oxidasa, que podría verse exacerbada por endotelina (34).

La disminución de la producción de sustancias vasodilatadoras por parte del endotelio en respuesta a *shear stress*, en respuesta a estímulos químicos en la arteria braquial, en la circulación renal, en la circulación coronaria y en la microcirculación han sido demostrados en hipertensión esencial e hipertensión secundaria (1, 6). Este trastorno se ha relacionado a la caída en la biosíntesis y biodisponibilidad de NO, secundaria

TABLA 3. MECANISMOS DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN PATOLOGÍAS CARDIOVASCULARES

PATOLOGÍA	MECANISMOS IMPLICADOS
Hipertensión	<ul style="list-style-type: none"> Aumento producción de ROS Aumento actividad de NADPH oxidasa Disminución de síntesis de antioxidantes y vasodilatadores Disminución de clearance de radicales libres Déficit de BH₄ Aumento de ADMA (inhibidor eNOS) Alteración de transporte de L-arginina Polimorfismos de eNOS
Diabetes	<ul style="list-style-type: none"> Aumento de estrés oxidativo Aumento actividad aldosa reductasa por hiperglicemia Producción de productos avanzados de glicación por hiperglicemia Liberación citoquinas pro-inflamatorias por adipocitos Activación de proteína quinasa C Hipertrigliceridemia Disminución de HDL Aumento de ADMA Aumento de ácidos grasos libres

a la producción de prostanoides vasoconstrictores, polimorfismos genéticos de la eNOS, deficiencia de BH_4 , alteración en el transporte de L-arginina y aumento en los niveles séricos de dimetil-arginina asimétrica (ADMA, inhibidor de la eNOS) (1).

d) Diabetes mellitus

El endotelio de pacientes diabéticos presenta una disminución en la producción y biodisponibilidad de NO (ver tabla 3). Además, diferentes factores independientes se han asociado que podrían ser causales en estos pacientes para el desarrollo de disfunción endotelial. La hiperglicemia dañaría directamente el endotelio a través de la vía enzimática de la aldosa reductasa exacerbada, la producción de productos avanzados de glicación, hexosamina, activación de la vía de la proteína quinasa C y/o la hipoperfusión. Todas estas hipótesis tienen como elemento común el estrés oxidativo. Es interesante destacar que la hiperglicemia *per-se* puede inducir disfunción endotelial en sujetos sanos. La producción del inhibidor de eNOS dimetil-arginina asimétrica (ADMA) también sería relevante, particularmente en la diabetes mellitus tipo II (33, 35).

El estado proinflamatorio asociado a la diabetes, secundario a la liberación de citoquinas por el tejido adiposo (TNF- α , IL-6, PAI-1, adiponectina y leptina), también es un factor contribuyente a la disfunción endotelial. Adicionalmente, la resistencia a la insulina, a través de la hipertrigliceridemia, la baja concentración de HDL y el aumento de ácidos grasos libres, puede inducir disfunción endotelial. Como sería esperable a partir de la concurrencia de tantos factores patogénicos, la disfunción endotelial en la diabetes se manifiesta en forma más generalizada, con un espectro muy amplio de anomalías, que incluyen aumento de la adhesión de células mononucleares sanguíneas y plaquetas, disminución de la trombo-resistencia, alteraciones en la angiogénesis y reparación tisular, aumento de la permeabilidad a proteínas y lipoproteínas aterogénicas, y alteraciones en las proteínas de la matriz extracelular de la pared vascular (33, 35).

5. VÍA FINAL COMÚN DE LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

El desarrollo de estrés oxidativo ha sido propuesto como el elemento central que lleva a senescencia prematura y apoptosis de las células endoteliales (2). La senescencia prematura, consecuencia del déficit de NO y el exceso de peroxinitrito y superóxido, sumados a los trastornos metabólicos y la producción de mediadores proinflamatorios llevarían al desarrollo cada vez más acelerado de daños estructurales en la pared vascular, con un fenotipo protrombótico y proaterogénico. Las manifestaciones clínicas de la disfunción endotelial incluyen la hipertensión, macro y microvasculopatía, microalbuminuria y alteración de la capacidad angiogénica.

6. CONCLUSIONES

El endotelio es un órgano paracrino, con múltiples funciones que incluyen barrera selectiva al paso de moléculas y células, el control de la coagulación y la regulación del tono vascular. La regulación del tono

vascular depende de la síntesis de moléculas vasoconstrictoras y vasodilatadoras.

La disfunción endotelial incluye múltiples funciones endoteliales, aunque la mejor caracterizada es la alteración de la regulación del tono vascular. Los radicales libres producidos en la pared arterial son agentes causales de disfunción endotelial, desencadenando disminución de moléculas vasodilatadores y aterosclerosis.

Se espera una significativa disminución de la morbi-mortalidad cardiovascular con el desarrollo de estrategias diagnósticas de disfunción endotelial validadas en el contexto clínico, que permitan el desarrollo y evaluación de las estrategias terapéuticas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291:H985-1002.
2. Goligorsky MS. Endothelial cell dysfunction: can't live with it, how to live without it. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;288:F871-80.
3. Timmermans F, Plum J, Yöder MC, Ingram DA, Vandekerckhove B, Case J. Endothelial progenitor cells: Identity defined? *J Cell Mol Med.* 2009; Vol 13 (1): 57-102.
4. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation.* 2005;111:363-368.
5. Gaengel K, Genove G, Armulik A, Betsholtz C. Endothelial-Mural Cell Signaling in Vascular Development and Angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009.
6. Barac A, Campia U, Panza JA. Methods for evaluating endothelial function in humans. *Hypertension.* 2007;49:748-760.
7. London NR, Whitehead KJ, Li DY. Endogenous endothelial cell signaling systems maintain vascular stability. *Angiogenesis.* 2009
8. Aird WC. Coagulation. *Crit Care Med.* 2005;33:S485-7.
9. Verhamme P, Hoylaerts MF. The pivotal role of the endothelium in haemostasis and thrombosis. *Acta Clin Belg.* 2006;61:213-219.
10. Drexler H. Factors involved in the maintenance of endothelial function. *Am J Cardiol.* 1998;82:35-45.
11. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109:III27-32.
12. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115:1285-1295.

13. Steinberg D, Witztum JL. Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? Do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis? *Circulation*. 2002;105:2107-2111.
14. Gryglewski RJ. Prostacyclin among prostanoids. *Pharmacol Rep*. 2008;60:3-11.
15. Campbell WB, Falck JR. Arachidonic acid metabolites as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Hypertension*. 2007;49:590-596.
16. Luksha L, Agewall S, Kublickiene K. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in vascular physiology and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2009;202:330-344.
17. Fleming I. Signaling by the angiotensin-converting enzyme. *Circ Res*. 2006;98:887-896.
18. Stauffer BL, Westby CM, DeSouza CA. Endothelin-1, aging and hypertension. *Curr Opin Cardiol*. 2008;23:350-355.
19. Iglarz M, Clozel M. Mechanisms of ET-1-induced endothelial dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2007;50:621-628.
20. Hayashi T, Yano K, Matsui-Hirai H, Yokoo H, Hattori Y, Iguchi A. Nitric oxide and endothelial cellular senescence. *Pharmacol Ther*. 2008;120:333-339.
21. Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara Y. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ J*. 2009;73:411-418.
22. Pagliaro P, Penna C. Rethinking the renin-angiotensin system and its role in cardiovascular regulation. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2005;19:77-87.
23. Danilczyk U, Penninger JM. Angiotensin-converting enzyme II in the heart and the kidney. *Circ Res*. 2006;98:463-471.
24. Watanabe T, Barker TA, Berk BC. Angiotensin II and the endothelium: diverse signals and effects. *Hypertension*. 2005;45:163-169.
25. Cachofeiro V, Miana M, de Las Heras N et al. Aldosterone and the vascular system. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2008;109:331-335.
26. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*. 1993;88:2149-2155.
27. Kugiyama K, Yasue H, Ohgushi M et al. Deficiency in nitric oxide bioactivity in epicardial coronary arteries of cigarette smokers. *J Am Coll Cardiol*. 1996;28:1161-1167.
28. Barua RS, Ambrose JA, Eales-Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG, Saha DC. Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation*. 2001;104:1905-1910.
29. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1731-1737.
30. Shen Y, Rattan V, Sultana C, Kalra VK. Cigarette smoke condensate-induced adhesion molecule expression and transendothelial migration of monocytes. *Am J Physiol*. 1996;270:H1624-33.
31. Nilsson J, Hansson GK. Autoimmunity in atherosclerosis: a protective response losing control? *J Intern Med*. 2008;263:464-478.
32. Landmesser U, Spiekermann S, Preuss C et al. Angiotensin II induces endothelial xanthine oxidase activation: role for endothelial dysfunction in patients with coronary disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:943-948.
33. Potenza MA, Gagliardi S, Nacci C, Carratu' MR, Montagnani M. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets. *Curr Med Chem*. 2009;16:94-112.
34. Lassegue B, Griendling KK. Reactive oxygen species in hypertension; An update. *Am J Hypertens*. 2004;17:852-860.
35. Rask-Madsen C, King GL. Mechanisms of Disease: endothelial dysfunction in insulin resistance and diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007;3:46-56.

LOS AUTORES DECLARAN NO TENER CONFLICTOS DE INTERÉS CON LOS LABORATORIOS.