

ARCHIVO HISTÓRICO



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín de la Escuela de Medicina**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de ciencias médicas**. El contenido del presente artículo, no necesariamente representa la actual línea editorial. Para mayor información visitar el siguiente

vínculo: <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>

El endotelio y la regulación de la resistencia vascular y sus implicaciones en la hipertensión arterial y aterosclerosis

Dr. Héctor Croxatto Rezzio
 Profesor Emérito de Ciencias Fisiológicas
 Facultad de Ciencias Biológicas

REGULACION NEUROHUMORAL

Durante muchos años las células endoteliales fueron vistas como elementos pasivos, adaptados para ofrecer un mínimo de resistencia al flujo sanguíneo y cualidades óptimas de permeabilidad para el intercambio metabólico, migración de leucocitos, etcétera. Aunque ya había adquirido notoriedad al hallarse que son sede de la enzima de conversión, el sorpresivo descubrimiento de otras propiedades insospechadas ha producido un drástico vuelco en el clásico esquema sobre el control de la "resistencia periférica". Esta es regulada por las fibras musculares de vasos de 200 μm o menos, sobre las cuales operan los agentes clásicos, la innervación simpática y parasimpática, como parte del mecanismo regulador centralizado. A éstas se han sumado, desde hace pocos años, factores paracrinos, especialmente prostaciclina (PGI₂) y tromboxano (TxA₂). Ahora debemos considerar nuevos protagonistas.

Aparte del llamado factor relajador endotelial (FRE), el vasodilatador mejor caracterizado, deben considerarse otros de acción sinérgica, como la PGI₂ y un factor todavía no bien conocido de acción hiperpolarizante de la fibra muscular por apertura de canales de potasio. Frente a ellos están los agentes vasoconstrictores, la endotelina (ET), el TxA₂, la prostaglandina H₂ (PGH₂) y el anión superóxido, todos generados en la célula endotelial. Revisaremos algunas de las propiedades de los factores descritos en la vastísima literatura del último quinquenio.

El endotelio vascular constituye una barrera estratégica que, de acuerdo con estímulos físicos (presión luminal, roce, distensión), hipoxia, hormonas circulantes, factores de origen plaquetario, citoquinas, interleukinas, fosfolípidos, lipoproteínas de baja densidad, trombina, etcétera, es capaz de responder de un modo específico con la entrega de algunos principios de considerable potencia que afectan al tono de las fibras musculares lisas subyacentes. Pero, además, algunos operan inhibiendo la acción de plaquetas o despertando características defensivas en macrófagos y en otros elementos sanguíneos que intervienen en los procesos de ateromatosis.

El hito inicial y de más honda repercusión fue el descubrimiento de Furchgott y Zawadzki en 1980, que reveló que el endotelio de trocitos de vasos aislados (anillos de aorta) libera un potente agente relajador de la musculatura de la pared cuando es estimulado por acetilcolina,

fenómeno que no se presenta y aun se revierte si el endotelio se elimina. Se puso así en evidencia que la célula endotelial puede servir de mediadora para transmitir la señal química que ha recibido (acetilcolina u otra), a las células musculares lisas sobre las que descansa, liberando un producto específico difusible, designado como factor de relajación endotelial.

FACTOR DE RELAJACION ENDOTELIAL

Este ha sido identificado por Moncada *et al* como el óxido nítrico (NO), aun cuando todavía se duda si se podría tratar de algún otro compuesto nitrosilado. Uno de los derivados propuestos es un nitrosotiol, semejante a una S-nitrosocisteína, y es la razón por la cual al presunto NO lo designaremos como factor relajador endotelial (FRE). Este es un gas soluble en medio acuoso y lipofílico, difusible y muy inestable, ya que dura escasos segundos, lo suficiente para operar sobre la fibra muscular promoviendo su relajación al estimular la formación de GMP cíclico. Termina su carrera convirtiéndose, por la acción del O₂, en agua y nitritos o nitratos. Por su estructura de radical con un electrón libre, su liberación en exceso podría ejercer una acción nociva. El FRE es un producto derivado del aminoácido 1-arginina, sustrato indispensable para su formación, sobre el cual actúa una enzima específica, la sintetasa-NO, que requiere del coenzimo NAPH. Esta enzima es Ca²⁺ dependiente (1); el papel del ion Ca²⁺ está mediado por la calmodulina.

Existen dos tipos diferentes de sintetasa-NO: la constitutiva o dependiente de calcio y calmodulina, que se encuentra presente en el endotelio, en las plaquetas y tejidos nerviosos, y que libera NO por cortos períodos, y la inducible, no dependiente de calcio, que se expresa y libera en células inmunitarias, fibras musculares lisas, miocitos, hepatocitos, etcétera, y que una vez expresada sintetiza NO por períodos largos. Es importante mencionar que la endotoxina, el factor alfa de necrosis tumoral y la interleukina pueden favorecer la activación de la sintetasa-NO y explicar el shock séptico y de otros tipos, por progresiva y masiva producción de NO, originando una vasodilatación con hipotensión que puede llegar a ser irreversible.

La acción del NO sobre el músculo liso de la pared vascular, es activar la enzima guanidilciclase, combinándose con su componente heme por la afinidad del FRE con el Fe, formándose así un complejo que corresponde a la molécula activa que da origen a GMP cíclico, como segundo mensajero. El aumento de GMP cíclico es indispensable como

intermediario para poner en marcha el mecanismo básico que produce la relajación muscular a través de un proceso aún no clarificado. Aunque el NO ejerce su acción principal en las células más cercanas, también en la propia célula endotelial este gas es capaz de elevar el GMP cíclico, que podría modular la formación del NO. Las respuestas relajadoras de los vasos son dependientes del epitelio, lo que no ocurre con el efecto vasodilatador de los nitritos (nitroglicerina), que actúan directamente en las fibras musculares, liberando en ellas el FRE y activando la guanidilciclasa.

Aparte de la acetilcolina, otras sustancias estimulan la liberación del FRE de las células endoteliales, como angiotensina II, histamina, norepinefrina, serotonina, sustancia P, nucleótidos de adenina AMP, ionóforo de Ca, etcétera. Mención especial merece la bradicinina, péptido que aparte de promover un efecto vasodilatador por la producción del FRE del endotelio, activando la sintetasa-NO, puede además potenciar su efecto relajador a través de su propiedad de estimular la formación de prostaglandinas vasodilatadoras, como la PGE2 y especialmente la PGI2, que operan directamente en la musculatura. Es posible que la eficacia de la enzima de conversión para reducir la hipertensión arterial dependa mucho más de la bradicinina que lo que hasta ahora se ha supuesto, dada su propiedad de estimular la liberación de FRE. Esta hipótesis tiene un sólido apoyo en los trabajos que muestran que el empleo de antibradicinina en modelos experimentales de hipertensión bloquea el efecto de los inhibidores de la enzima de conversión como el ramipril (2).

Ciertos análogos de la l-arginina, como es el caso de la N-guonometilarginina (NMMA), que compite como sustrato impidiendo a la sintetasa formar el FRE, interrumpen la formación biosintética del NO y producen un aumento notorio y sostenido de la presión arterial, proporcional a la dosis del inhibidor. Este efecto hipertensivo puede ser revertido por la administración de l-arginina pero no por d-arginina. Estos resultados demuestran que la producción basal y liberación del NO por el endotelio estarían contribuyendo efectiva y permanentemente a regular la presión arterial.

La infusión de inhibidores competitivos como el NMMA en ratas no sólo eleva la presión arterial sistémica y de perfusión renal, sino también aumenta apreciablemente la excreción de sodio y disminuye la renina plasmática. Otros investigadores han confirmado estos resultados, mostrando que la larga y sostenida vasoconstricción en diversos territorios vasculares puede ser atenuada de un modo proporcional a la dosis de l-arginina que se infunde. En ratas que se encuentran en estado de shock por la administración de endotoxina (*Salmonella typhi*) se puede contrarrestar la caída de presión arterial y evitar su muerte, a diferencia de los controles, mediante una dosis de 30 mg/kg de NMMA por vía intravenosa (3). Estos avances abrieron el camino para el empleo clínico del NMMA para inhibir la sintetasa-NO en pacientes con shock séptico muy grave, refractario a los vasoconstrictores (4).

Por brevedad de espacio, enumeramos algunos de los hechos más relevantes en la relación al comportamiento del NO en diversos tipos de hipertensión.

1. La respuesta excretora del riñón a la expansión del volumen circulante se afecta con los inhibidores de la sintetasa-NO.
2. En ratas con hipertensión nefrótica (modelo Goldblatt, dos riñones, una pinza), se ha demostrado que la arteriola aferente de los glomérulos del riñón no pinzado requiere de dosis considerablemente mayores de acetilcolina para alcanzar el mismo grado de dilatación que en controles normotensos. Dentro del riñón, el FRE modularía además cambios en el GMPc del intersticio. El l-NMMA (inhibidor de la sintetasa-NO) disminuye el GMPc en la orina, la natriuresis, el flujo sanguíneo, la filtración glomerular, la excreción fraccionada de sodio.
3. Aortas con endotelio intacto, de ratas con hipertensión genética, responden a la acetilcolina administrada intraluminalmente con una contracción, a diferencia de las ratas normotensas (Wistar Kyoto), en

las cuales se obtiene la típica relajación. Estas contracciones son inhibidas por la indometacina, lo que permite suponer que la acetilcolina favorecería la formación de un factor contráctil dependiente de la ciclooxigenasa en las aortas hipertensas. Además, se ha demostrado que l-NMMA aumenta las contracciones evocadas por la acetilcolina, lo que podría indicar que el NO estaría contrarrestando algún factor contráctil que la ciclooxigenasa generaría del endotelio.

4. Existe un diferente comportamiento de los vasos aórticos de ratas con hipertensión genética y controles normales. La incubación de los vasos con l-arginina restaura en las aortas anormales la acción relajadora de la acetilcolina al grado que se observa en los controles. Las arterias mesentéricas perfundidas, tanto de ratas con hipertensión nefrótica como genética, presentan una liberación basal del FRE disminuida.
5. La liberación del FRE de vasos aórticos estimulados por ET es significativamente menor en las ratas espontáneamente hipertensas que en las ratas Wistar Kyoto normotensas.
6. En el antebrazo humano, los efectos vasodilatadores de la acetilcolina no se modifican por inhibidores de la ciclooxigenasa; en cambio, el l-NMMA disminuye significativamente la acción de acetilcolina. En sujetos hipertensos la respuesta vasodilatadora de las arterias del antebrazo está significativamente bloqueada (5).
7. En ratas con hipertensión genética o espontánea, la capacidad alterada de formar el FRE sólo es demostrable en ratas adultas con hipertensión establecida, mientras que las jóvenes no la presentan.

Sin embargo, no se puede responsabilizar solamente a una deficiente liberación del FRE de la anomalía que presentan los vasos de ratas hipertensas. Muchos hechos acumulados prueban que endoperóxidos vasoconstrictores derivados del endotelio podrían activar receptores de PGH2 y de TxA2 en el músculo liso, suposición que está apoyada en las propiedades antihipertensivas de inhibidores de esas PG, en diferentes modelos de hipertensión.

EL FRE EN LA HIPERCOLESTERONEMIA Y ATROMATOSIS

Era de esperar que se intentara investigar el eventual papel del sistema sintetasa-NO del endotelio en la aterosclerosis. Se ha encontrado:

1. En conejos sometidos a una dieta alta en colesterol, la respuesta vasodilatadora *in vivo* a la acetilcolina está disminuida; la administración de l-arginina mejora la dilatación sistémica inducida por la acetilcolina.
2. En aortas obtenidas de conejos hipercolesterolémicos, la administración de l-arginina restaura la respuesta máxima a la acetilcolina.
3. El endotelio, con su producción de FRE, ejerce una acción defensiva antiateromatosa. La exposición de arterias coronarias pericárdicas de cerdo por dos horas a LDL oxidado inhibe la relajación endotelio-dependiente inducida por la serotonina, trombina y por las plaquetas agregadas. Esta inhibición no se presenta cuando se hace actuar el LDL nativo o la lisolecitina. En las arterias, cuya relajación a la serotonina está disminuida, la l-arginina, pero no la d-arginina, induce una completa relajación.
4. En pacientes hipercolesterolémicos con arteriopatía coronaria, la infusión de l-arginina en la coronaria descendente izquierda aumenta el flujo de sangre, lo que no se observó en los controles (6).

5. El papel antitrombótico del endotelio está demostrado, entre otros hechos, porque la agregación plaquetaria está disminuida por la vía dependiente del GMPc cuyo aumento es favorecido por el FRE e inhibido por el I-NMMA. La agregación de las plaquetas estaría regulada tanto por el FRE intraplaquetario como por el FRE y prostaciclina del endotelio, que ejercen efecto inhibitorio sobre la agregación y elevación del Ca²⁺ intracelular.

Se puede afirmar que si bien hay sustancias humorales como la norepinefrina y la angiotensina, consideradas tradicionalmente como los más significativos agentes determinantes de la presión arterial, el FRE producido en el endotelio emerge como un compuesto de básica importancia en la regulación de la presión, actuando en toda la red vascular de un modo permanente para asegurar un tono prevalentemente antihipertensivo. Además, por sus efectos antitrombótico y antiateromatoso, contribuye a mantener las características normales de las paredes de los vasos, particularmente de las arterias. La búsqueda de medios que permitan regular, moderar o activar la síntesis-NO puede abrir nuevas perspectivas terapéuticas en la hipertensión, en el shock séptico, en la aterosclerosis, la trombogénesis, etcétera.

DESCUBRIMIENTO DE LA ENDOTELINA

Muy poco después del hallazgo del FRE se descubrió otro hecho igualmente sorprendente: vasos arteriales sometidos a hipoxia con su epitelio intacto experimentan una constricción más intensa que cuando se excluye la íntima, indicando que las células endoteliales estarían produciendo un agente vasoconstrictor.

El cultivo de células endoteliales humanas, como también de otras especies, libera un potente agente que muy prontamente fue identificado como un péptido de 21 aminoácidos designado como endotelina (ET). Aunque las células endoteliales producen exclusivamente la ET I, existen tres isoformas que difieren en dos a cinco residuos. Se origina de una molécula grande de 203 aminoácidos, la proendotelina, que se convierte en la "big endotelina" de 92 aminoácidos para finalmente desdoblarse y dar lugar a la ET activa. Diversas hormonas vasopresoras favorecen la expresión del RNA mensajero de proendotelina, como la epinefrina, angiotensina II, vasopresina, trombina, citoquinas, entre otras. En cambio, el FRE, la prostaciclina y la hormona natriurética auricular reducen la producción de ET.

La endotelina es un potentísimo vasoconstrictor. Inyectado en animales y humanos, desencadena un aumento muy duradero de la presión arterial, después de una fase de caída del flujo sanguíneo relativamente prolongada. Los vasos aislados tratados con ET permanecen por largo tiempo contraídos, tal vez por una unión muy fuerte a receptores. Se han reconocido dos diferentes tipos de receptores, uno propio de la fibra muscular y otro de la célula endotelial. La ET y la "big endotelina" se liberarían en forma continua en el espacio extracelular por las células endoteliales, entrega que es significativamente aumentada por la trombina. En arterias mesentéricas perfundidas, obtenidas de ratas con hipertensión espontánea y Wistar Kyoto normales, se ha encontrado que la ET atenúa la vasoconstricción evocada por la estimulación simpática y que el grado de inhibición es menor en las arterias de ratas hipertensas que en las normales.

La ET tendría un efecto estimulador en la producción de aldosterona por células glomerulosas de las adrenales cultivadas de bovino y de conejos, pero posee una potencia estimuladora inferior a la de angiotensina II.

Las células endoteliales no son la única fuente de ET; también la neurohipófisis la produce en el núcleo paraventricular, siendo almacenada en el lóbulo posterior y liberada en forma paralela a la vasopresina. Los niveles circulantes de ET son muy bajos, por lo que se ha invocado la hipótesis que se secretaría preferencialmente hacia la musculatura más que hacia el lumen, por lo que la concentración en la sangre no reflejaría la verdadera cantidad que localmente entregaría a la capa muscular. Más que hormona, sería un agente paracrino. Si bien existen

discordancias sobre el contenido de ET en la sangre entre hipertensos y normales, se ha descrito que hipertensos esenciales tienen cantidades significativamente mayores que los normotensos. En todo caso, los autores suponen que, de jugar un rol, éste sería parcial. Utilizando anticuerpos monoclonales contra ET1, se encuentra que hipertensos esenciales tienen una elevación significativa de los niveles de ET1 comparada con la de sujetos normales de edad similar, pero no se encontró correlación significativa entre los niveles de ET y la presión sistólica.

Los niveles sanguíneos de ET en mujeres embarazadas y no embarazadas con presión normal no ofrecen diferencias con los de varones normales. Tampoco mujeres embarazadas hipertensas tienen valores diferentes a las de embarazadas normotensas. En cambio, la ET plasmática está significativamente elevada en mujeres preeclámpticas cuando se compara con las mujeres con y sin hipertensión arterial, aun cuando no se encuentra correlación entre el nivel tensional arterial y la concentración de ET en el plasma (7).

La infusión de ET por siete días en ratas normales se acompaña de un aumento sostenido y significativo de la presión, con variaciones poco acentuadas de la resistencia periférica, sin retención de sodio y agua, hechos que estarían indicando que los mecanismos cardiovasculares normales homeostáticos no logran contrarrestar el efecto vasoconstrictor de la ET en exceso.

En las células mesangiales de los glomérulos renales, como también en las fibras musculares de vasos sanguíneos, ET1 activa a la fosfolipasa C, con la consecuente formación de fosfato de inositol y diacilglicerol. El aumento de estos intermediarios es mayor y de duración más larga que con otros agentes vasoconstrictores.

En la circulación del antebrazo humano, concentraciones bajas de ET causan aumento del flujo, mientras que las concentraciones más altas la disminuyen.

En aorta de cerdo con endotelio intacto, la producción de ET es continua en ausencia de estímulos, siendo aumentada por trombina y LDLP oxidada. Dosis de ET en concentraciones umbrales potencia las respuestas a la norepinefrina y serotonina, tanto en ratas como en humanos (5).

Aun cuando no se duda que a la ET le correspondería un papel en la homeostasis circulatoria, particularmente en los vasos de resistencia como factor paracrino, las condiciones de su participación todavía no han sido suficientemente clarificadas. Pero el hecho que el fosforamidón intravenoso (que inhibe la conversión de la proendotelina en ET) haga bajar la presión en rata normal, y el que en sujetos normales la concentración de ET aumente con la posición vertical y disminuya con la expansión del volumen circulante, sugieren que la activación de los barorreceptores influye en la liberación fisiológica de la ET (tal vez de la hipófisis, la que estaría asociada a otros mecanismos homeostáticos) inclinando a pensar que ET participa en la mantención de la presión arterial (8).

OTROS FACTORES VASOCONSTRICTORES DE ORIGEN ENDOTELIAL

Otros agentes producidos en el endotelio pueden contrarrestar y aun superar los efectos de los productos relajadores como el NO, provocando así un desbalance de la presión arterial. Entre los mejor conocidos están algunos derivados del sistema ciclooxigenasa, como el tromboxano TxA₂ y la PGH₂. En 1969, Piper y Vane describieron una poderosa sustancia muy inestable, derivada de plaquetas, que contrae trocitos de aorta de conejo; su liberación era contrarrestada con antiinflamatorios, como aspirina. En 1975, Samuelson demostró que el material activo derivaba del ácido araquidónico, formado al menos por dos sustancias, los endoperóxidos PGG₂ y el PGH₂, más una muy inestable, responsable de la mayor actividad, pero de una vida media de 30 segundos, que

resultó ser el TxA2, uno de los más potentes vasoconstrictores y activadores de la agregación de plaquetas. Su efecto vasoconstrictor ha sido demostrado en diversos territorios, incluyendo el pulmonar y renal. Otro endoperóxido de la línea de prostaglandinas descubierto por Vane en 1976, producido en el endotelio vascular, es la PGI2 de acción opuesta a TxA2, con gran efecto antiagregatorio plaquetario y que es, además, capaz de evitar la adhesión de éstas a la íntima de los vasos.

Como ya hemos visto, la acetilcolina es el agonista más empleado para producir la relajación de un sinnúmero de vasos, la cual debe su acción a la liberación del FRE. Sin embargo, en arterias de ratas con hipertensión espontánea, como aorta y arteria renal, la acetilcolina induce contracciones dependientes del endotelio, que son inhibidas por la indometacina, hecho demostrado también en experimentos similares, en los cuales la formación del FRE ha sido bloqueada por el NMMA. Se ha identificado a la PGH2 como la prostaglandina responsable del efecto. De la lista de vasoconstrictores, no puede excluirse a los aniones superóxidos, que son neutralizados por la dismutasa superóxido, los que, si escapan a la acción de esta enzima, pueden producir contracción de la musculatura vascular. Células endoteliales en cultivo generan espontáneamente anión superóxido, como también cuando son tratados con interleukina,

g-interferón, forbol, ionóforo de calcio. Este anión superóxido puede servir como fuente alternativa de radicales hidroxilos, que pueden ser inhibidores de la sintetasa prostaciclina. En arterias caninas, durante la anoxia, se atenúan marcadamente las contracciones por diversos agentes cuando se elimina el endotelio, lo que indicaría un predominio de los agentes vasoconstrictores sobre el de los antagonistas.

Los descubrimientos en torno al endotelio han abierto un nuevo horizonte que modifica el concepto que ha imperado por mucho tiempo y que concebía a la musculatura de los vasos sanguíneos como efectores que respondían directamente a estímulos humorales o nerviosos que de lejanos lugares llegaban para regularla. Hoy sabemos que las fibras musculares están también subordinadas a factores endoteliales paracrinos que influyen de manera permanente en el tono vascular. Además, algunos de esos factores realizan una función de protección de integridad de los vasos, que tiende permanentemente a contrarrestar la aterosclerosis, la aglutinación plaquetaria y la trombosis. En la hipertensión y aterosclerosis, el papel de los factores contráctiles se haría dominante, creando un inevitable desequilibrio.

REFERENCIAS ESCOGIDAS

1. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide. Physiology, pathophysiology and pharmacology. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1991; 43(2):109-142.
2. Bao G, Gohlke P, Qadri F, Unger T. Chronic kinin receptor blockade attenuates the antihypertensive effect of ramipril. *Hypertension*, 1992; 20(1):74-79.
3. Nava E, Palmer RMJ, Moncada S. Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial? *Lancet*, 1991; 338:1555-1557.
4. Petros A, Bennett D, Vallance P. Effect of nitric oxide synthetase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet*, 1991; 338:1557-1558.
5. Luscher TF, Dohi Y. Endothelium-derived relaxing factors and endothelin in hypertension. *NIPS*, 1992; 7:120-123.
6. Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet*, 1991; 338:1546-1550.
7. Florijn KW, Derkx FHM, Visser W, Hofman HJA, Rosmalen FMA, Wallengurg HCS, Schalekamp MADH. Elevated plasma levels of endothelin in preeclampsia. *J. Hyperten*, 1991; 9(Suppl 6):S166-S167.
8. Kaufmann H, Oribe E, Oliver JA. Plasma endothelin during upright tilt: relevance for orthostatic hypotension? *Lancet*, 1991; 338:1542-1545.
Se recomiendan, además, los siguientes trabajos de revisión:
9. Ignarro LJ. Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension*, 1990; 16(5):477-483.
10. Luscher TF. The endothelium. Target and promoter of hypertension? *Hypertension*, 1990; 15(5):482-485.
11. Barinaga M. Is nitric oxide the "Retrograde messenger?". *Science*, 1991; 254:1296-1297.
12. Luscher TF, Boulanger CM, Dohi Y, Yang Z. Endothelium-derived contracting factors. *Hypertension*, 1992; 19(2):117-130.