

Pablo Jorge Suárez Munguía.

Palabras clave: Liberación de óxido nítrico. Canales iónicos activados por estiramiento. Flujo coronario.
Key words: Nitric oxide release. Stretch-activated ion channels. Coronary flow.

INTRODUCCIÓN

El ambiente mecánico de las células de mamífero está definido por interacciones complejas entre fuerzas gravitacionales, fuerzas locales generadas por el aire, presión hidrostática y movimiento, así como la tensión intracelular derivada de la organización de los elementos del citoesqueleto. Con la excepción de la sangre, los componentes de tejidos de vertebrados desarrollan tensión por interacciones físicas con la matriz extracelular y células vecinas. La importancia fundamental de esto se refleja en la expresión dependiente de adhesión de la diferenciación celular normal, crecimiento y función. Las respuestas simples de organismos unicelulares a fuerzas externas han evolucionado en los mamíferos a sistemas sensoriales finos y sofisticados, así como respuestas adaptativas a cambios prolongados en el ambiente mecánico. En el sistema cardiovascular del mamífero, el endotelio presenta respuestas singulares a las fuerzas del flujo sanguíneo.

El endotelio está localizado entre el flujo sanguíneo y la pared vascular. Las células que recubren la circulación arterial están expuestas a fuerzas hemodinámicas de mayor magnitud que cualquier otro tejido de mamífero. En consecuencia, las respuestas mecánicas controladas por el endotelio han evolucionado como parte normal de la fisiología, mucho más notablemente en el control del tono vascular donde los mecanismos responsables para la transmisión y la transducción de la información hemodinámica, desde la sangre hasta la musculatura lisa de la pared vascular, re-

siden en el endotelio. Las fuerzas hemodinámicas también juegan un papel importante en algunas patologías vasculares, particularmente en la localización de lesiones de arteriosclerosis y en la hipertensión arterial.

Las funciones principales del endotelio son el mantenimiento de las propiedades anticoagulantes, el control fisiológico del diámetro del lumen, la regulación de la permeabilidad vascular y las consecuencias patológicas asociadas con la inflamación aguda, cicatrización y desordenes cardiovasculares como la localización focal de la arteriosclerosis. En todos estos procesos, los factores hemodinámicos (definidos como fuerzas mecánicas del flujo sanguíneo) afectan la biología endotelial tanto por la acción directa del estrés por fricción y la deformación por presión sobre el endotelio como por la modificación indirecta de la concentración de químicos y agonistas en la superficie endotelial, alterando la interacción de estas moléculas con sus receptores endoteliales. En realidad estos dos mecanismos no son excluyentes uno del otro, las fuerzas hemodinámicas actuando en forma directa en enzimas de superficie y receptores, podrían modificar la interacción enzima-sustrato y agonista-receptor al mismo tiempo que la concentración de superficie de los agonistas, el transporte convectivo y la difusión. Uno de los retos de investigación más importantes en este campo es la identificación de los mecanismos por los cuales las fuerzas del flujo sanguíneo son detectadas y convertidas en una secuencia de respuestas biológicas en las células endoteliales y posteriormente en las células adyacentes.

Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina-IPN. Plan de San Luis y Díaz Mirón. México D.F. 11340

Aceptado: 30 de noviembre de 1999

REGULACIÓN DEL TONO VASCULAR POR EL FLUJO SANGUÍNEO

Una importante consecuencia fisiológica de la transducción de fuerzas hemodinámicas es la regulación tan fina del diámetro arterial. Cuando se incrementa el flujo las arterias se dilatan por una relajación de las células musculares lisas dependiente de endotelio e independiente del sistema nervioso central. Una interpretación de esta idea se ilustra en la *Figura 1*.

Fue Thoma¹ en 1921, quien primero sugirió que el flujo sanguíneo podría regular el tono vascular; sin embargo, Schretsenmayr² demostró experimentalmente, por vez primera, respuestas vasculares ante alteraciones en el flujo sanguíneo. El papel del endotelio en este proceso fue sugerido por Rodbard^{3,4} quien propuso que el endotelio podría "sentir" el estrés por fricción generado por el flujo sanguíneo. En 1980 Furchgott y Zawadski⁵ descubrieron que la dilatación mediada por agonistas requería del endotelio. La dependencia de un endotelio intacto para la dilatación mediada por el flujo fue confirmada rápidamente en arterias grandes de conductancia así como en vasos de resistencia.⁶⁻¹⁴ La presión intra-arterial parece tener poco efecto en el control endotelial de la vasoactividad; la respuesta contráctil de la célula muscular lisa a una presión incrementada es dependiente del músculo liso e independiente del endotelio.^{15,16}

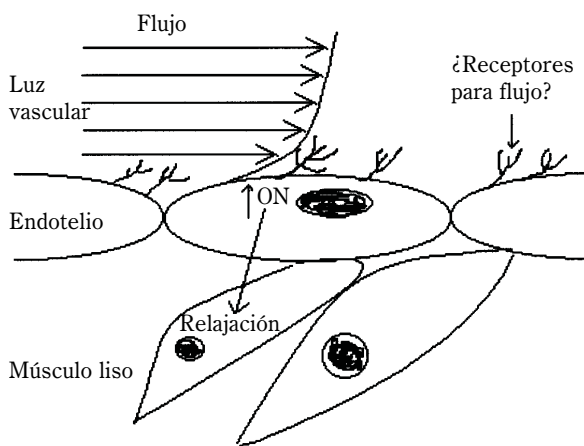


FIG. 1: Esquema que muestra el efecto del flujo sanguíneo sobre el músculo liso vascular. El flujo por medio del estrés por fricción estimula posibles receptores en la membrana endotelial, en el interior de la célula se estimula la síntesis y liberación de óxido nítrico (ON) que actuará en las células de músculo liso produciendo relajación del vaso.

En contraste, el principal regulador del diámetro arterial es el estrés por fricción. Esta distinción fue demostrada cambiando la viscosidad del líquido de perfusión de segmentos de arterias, manteniendo constantes el flujo y la presión.^{17,18} El estrés por fricción es directamente proporcional a la viscosidad. La viscosidad se cambió por hemoconcentración/dilución⁹ o por adición de dextranos.¹⁷ La vasodilatación se desarrolló como una función del estrés por fricción al cambiar la viscosidad del medio manteniendo el flujo constante, demostrándose así que el estrés por fricción es la fuerza hemodinámica más relevante dependiente de endotelio en la vasorregulación. Ahora existe buena evidencia que indica que el mecanismo involucra la liberación aumentada de factores relajantes derivados del endotelio, el principal componente de éstos es el óxido nítrico (ON) y otros nitroderivados relacionados.¹⁸⁻²⁰

LIBERACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO POR EL FLUJO SANGUÍNEO

El óxido nítrico es el principal factor relajante derivado del endotelio en la vasculatura. Esto se ha determinado por un gran número de experimentos *in vivo*, *ex vivo* e *in vitro* (para revisión ver 18 y 21). El ON es un activador endógeno de la forma soluble de la guanilato ciclasa. Mucho del trabajo que permitió la identificación de ON y otros factores relajantes derivados del endotelio fue llevado a cabo en bioensayos de anillos arteriales superfundidos con efluentes de vasos íntegros o esferas de vidrio cubiertas de células endoteliales cultivadas colocadas en columnas de cromatografía o sistemas de células en agitación. El ON es una molécula de corta duración (la vida media en una solución amortiguadora fisiológica es de unos cuantos segundos) rápidamente atrapada por la hemoglobina²² y su efecto es potenciado por la enzima superóxido dismutasa que destruye radicales libres que secuestran ON.^{19,20,23} El ON activa al cGMP en el endotelio, en el músculo liso y en las plaquetas.²⁴⁻²⁶ En células endoteliales bovinas existen proteínas cinasas dependientes de cGMP asociadas a la membrana.²⁷ La enzima ON sintasa (ONS) convierte L-arginina en L-citrulina con liberación de ON.^{19,20} La ONS endotelial, que ha sido mapeada en el cromosoma 7,²⁸ es expresada constitutivamente a nivel basal y su actividad es calcio/calmodulina dependiente.^{29,30}

Aunque en el estudio del mecanismo por el cual el flujo produce vasodilatación mediada por ON nos debemos enfocar a la regulación de la actividad de la ONS endotelial, mucha de la información existente acerca de la activación de estas enzimas se ha obtenido de otras formas de ONS, particularmente la ONS inducible de macrófagos y la neuronal de cerebelo de rata. La enzima es una proteína de la familia del citocromo P-450 que contiene un grupo prostético hemo.³¹ En presencia de oxígeno molecular, la L-arginina es convertida al intermediario N-hidroxi-L-arginina por una donación electrónica del NADPH; el intermediario se oxida posteriormente a ON y citrulina.³² Ambas etapas parecen envolver el mismo sitio activo de la ONS. Se requieren varios cofactores para la activación de la ONS que incluyen a la protoporfirina IX, nucleótidos de flavina y tetrahydrobiopterina.³³ La óxido nítrico sintasa es la única enzima de mamífero que cataliza al mismo tiempo una hidroxilación del tipo citocromo P-450 y una reducción dependiente de NADPH. También es el único ejemplo conocido de un citocromo P-450 soluble.³³ La ONS endotelial y la neuronal son enzimas calcio/calmodulina dependientes, sus secuencias de aminoácidos tienen un 60% de homología, pero la enzima endotelial tiene una característica única que consiste en un sitio de miristoilación de función desconocida en el amino terminal.^{28,33} Este sitio podría anclar a la enzima a la membrana plasmática³³ y de alguna manera podría estar involucrado en la activación de la ONS endotelial por el estrés por fricción. Existen sitios para hemo, calmodulina y L-arginina en todas las ONS y la enzima es sujeta a regulación por retroalimentación por ON.²²

La activación de la ONS endotelial por el flujo involucra un incremento en la $[Ca^{2+}]_i$ así como la unión de calmodulina. Sin embargo, los mecanismos de la transducción de las fuerzas hemodinámicas no son claros, existe un gran número de posibilidades de regulación asociados con los cofactores para la activación de esta enzima, la presencia de sitios de unión a factores de transcripción comunes (AP-1, AP-2, NF-1, SSRE) en el extremo 5' y la disponibilidad de sitios para fosforilación recientemente identificados.³³ No obstante, se ha reportado un número importante de trabajos estudiando el mecanismo por el cual el flujo estimula la producción de ON.

La exposición a estrés por fricción en lapsos de 3 h, incrementó la cantidad de RNAm para ONS endotelial así como la expresión de la proteína en células endoteliales de aorta de bovino y en células endoteliales de aorta humana.³⁴ El incremento es dependiente de la síntesis de proteínas e independiente de la activación de proteína cinasa C y parece estar involucrado un canal de K^+ .^{34,35} Experimentos *in vivo* han mostrado que incrementos crónicos o agudos del flujo sanguíneo aumentan la vasodilatación dependiente del endotelio, involucrando un incremento específico de la expresión del gen de ONS endotelial. Bajo condiciones de marcapaso cardiaco crónico o ejercicio, este mecanismo tendría un efecto benéfico.^{36,37} En cambio, cuando el flujo sanguíneo se reduce como en la insuficiencia cardiaca congestiva, la vasodilatación mediada por flujo se reduce.³⁸

Aunque existe controversia al respecto, es claro que la $[Ca^{2+}]_i$ está directamente relacionada con el efecto estimulador del flujo sobre la producción de ON. En arterias ilíacas de conejo se demostró que el bloqueador de canales tipo L de calcio, verapamil, inhibió el efecto vasodilatador del flujo.³⁹ Sin embargo, con el mismo tipo de preparación, otros autores demostraron que el flujo estimula la producción de ON en forma bifásica, es decir, tiene un pico dependiente de calcio y una meseta independiente de calcio.⁴⁰ En estos trabajos la producción de ON se estimó en un bioensayo.

El mecanismo de mecanotransducción involucrado en la estimulación de la liberación de ON por el flujo no se conoce. La células endoteliales y sus membranas muestran respuestas específicas de los canales iónicos a fuerzas mecánicas. Cambios en la concentración intracelular iónica, particularmente de calcio y potasio, están implicados en las rutas de los segundos mensajeros y en la regulación de la expresión génica que se han discutido. En las células endoteliales se han demostrado canales iónicos de diferente grado de selectividad.⁴¹⁻⁴⁶

PAPEL DE LOS CANALES ACTIVADOS POR ESTIRAMIENTO EN EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO

Un tipo de canales relevantes son los canales iónicos activados por estiramiento (CIAE). Este tipo de canales ha sido identificado en una gran

variedad de tejidos incluyendo las células endoteliales.⁴³ Cuando se aplica una micropipeta a la superficie de la membrana celular y se adosa a ésta por succión para formar un sello firme, la distensión del parche de membrana capturado puede ser controlado por presión negativa. Con esta estrategia se ha comprobado que el grado de estiramiento está relacionado con la apertura de canales catiónicos transmembranales. Estos canales se describieron en células endoteliales vasculares⁴³ siendo específicos para cationes como el Na, K y Ca^{2+} . Una de las primeras consecuencias de la estimulación de estos canales por estiramiento es un influjo de calcio, que lleva a una despolarización de la célula. Este influjo de calcio podría esperarse que estuviera involucrado con los efectos encontrados como respuesta a las fuerzas mecánicas incluida la producción de ON y la inducción de la ONS endotelial. El mecanismo por el cual las fuerzas mecánicas pudieran controlar la apertura de estos canales se desconoce casi en su totalidad, sin embargo es posible manipular estos canales ya que son susceptibles de bloqueo específico con el lantánido gadolinio (Gd^{3+}).⁴⁷

PERSPECTIVAS Y CONCLUSIONES

De todo lo anterior puede resumirse que el flujo es capaz de regular el tono vascular estimulando a las células endoteliales para que produzcan óxido nítrico. El mecanismo de transducción por medio del cual una señal mecánica se transforma en una señal química se desconoce en su totalidad. Se sabe que la estimulación de la producción de ON se acompaña de un aumento en la $[Ca^{2+}]_i$. Hasta ahora se ha estudiado el mecanismo del efecto del flujo en sistemas como cultivo de endotelio o vasos aislados, sin embargo se han discutido resultados artefactuales que no ayudan a esclarecer el problema.⁴⁸ En nuestro laboratorio estamos interesados en el estudio del mecanismo de acción del flujo sanguíneo regulando la función cardíaca⁴⁹⁻⁵¹ y hemos obtenido datos que se encuentran publicados⁵¹ en donde demostramos que el corazón perfundido libera óxido nítrico y esta liberación es dependiente de la velocidad del flujo de perfusión. La estimulación de la liberación de ON por el flujo que observamos es bloqueada por el gadolinio, sugiriendo la participación de los canales iónicos activados por estiramiento en el mecanismo de

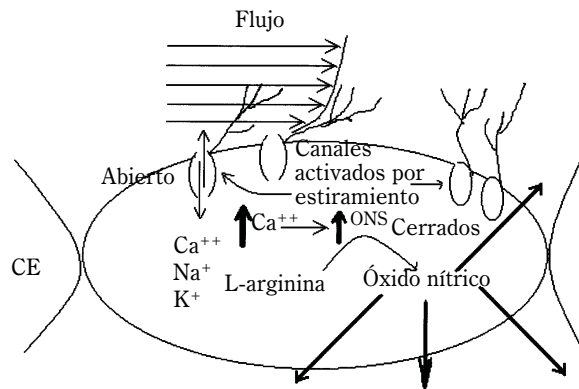


FIG. 2: Se muestra la hipótesis que explica el mecanismo de acción del flujo sanguíneo estimulando la liberación de óxido nítrico.

acción del flujo. A pesar de que el gadolinio no es totalmente específico para los CIAE como sería lo ideal,⁵² es la herramienta más utilizada y aceptada para explorar el papel de estos canales en respuestas biológicas (como ejemplos ver 51-55). Con estos resultados hemos construido una hipótesis que está representada en la *Figura 2* en donde se describe la manera como el flujo estimula receptores de naturaleza desconocida que están conectados a canales iónicos sensibles a estiramiento. Estos canales por diversos mecanismos pueden provocar el aumento del calcio citosólico y como consecuencia la activación de la óxido nítrico sintasa (ONS) constitutiva, calcio/calmodulina sensible. Estos canales pueden ser bloqueados con gadolinio.

Con este antecedente resulta necesario estudiar a fondo el papel de los canales iónicos activados por estiramiento en el mecanismo de acción del flujo estimulando la liberación de ON. Se requiere descartar la posibilidad de que el gadolinio actuara sobre otros canales iónicos y además estudiar la participación de otros canales en el fenómeno. Por otra parte, en la mayoría de los reportes sobre este problema no se mide directamente el ON, se realizan bioensayos o se miden los productos de degradación y sería más conveniente tener datos midiendo directamente la presencia del gas. Otro problema pendiente es saber como afectan estos canales la expresión de la ONS endotelial tanto constitutiva como inducible. Además, debemos investigar la interacción de los CIAE con otros mecanismos pro-

puestos como son: la activación de la tirosina cinasa o la serina/treonina cinasa y el reacomodo del citoesqueleto.

La relevancia de poder contestar estas preguntas estriba en la relación que puede tener el fenómeno analizado aquí con eventos fisiopatológicos de entidades tan graves como la hiper-

tensión arterial, la aterosclerosis y otras que desconocemos.

RECONOCIMIENTO

Trabajo financiado parcialmente por CEGEPI No. 990153.

REFERENCIAS

- THOMA R: *Über die intima der arterien*. Virchovs Arch A 1921; 230: 1-45.
- SCHRETZENMAYR A: *Über kreislaufregulatorische vorgänge an den grossen arterien bei der muskularbeit*. Pflugers Arch 1933; 232: 743-748.
- RODBARD S: *Negative feedback mechanisms in the architecture and function of the connective and cardiovascular tissues*. Perspect Biol Med 1970; 13: 507.
- RODBARD S: *Vascular caliber*. Cardiology 1975; 60: 4-49.
- FURCHGOTT RF, ZAWADSKI JV: *The obligatory role of the endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle cells by acetylcholine*. Nature Lond 1981; 288: 373-376.
- HOLTZ J, FORSTERMANN U, POHL U, GIESLER M, BASSENGE E: *Flow-dependent, endothelium-mediated dilatation of epicardial arteries in conscious dogs: effects of Cyclo-oxygenase inhibition*. J Cardiovasc Pharmacol 1984; 6: 1161-1169.
- KAMIYA A, TOGAWA T: *Adaptative regulation of wall shear stress to flow change in the canine carotid artery*. Am J Physiol 1980; 239: H14-H21.
- MELKUMYANTS AM, BALASHOV SA: *Blood flow velocity: a constantly acting factor in dilatation of large arteries*. Bull Exp Biol Med 1985; 99: 135-138.
- MELKUMYANTS AM, BALASHOV SA, KHAYUTIN VM: *Endothelium dependent control of arterial diameter by blood viscosity*. Cardiovasc Res 1989; 23: 23741-747.
- MILLER VM, VANHOUTTE PM: *Enhanced release of endothelium-derived relaxing factor by chronic increases in blood flow*. Am J Physiol 1988; 255: H446-H451.
- POHL U, HOLTS J, BUSSE R, BASSENGE E: *Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo*. Hypertension Dallas 1986; 8: 37-47.
- RUBANYI GM, RAMIRO JC, VANHOUTTE PM: *Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor*. Am J Physiol 1986; 250: H1145-H1149.
- RUBANYI GM, FREAY AD, KAUSER K, JOHNS A, HARDER DR: *Mechanoreception by the endothelium: mediators and mechanisms of pressure-and flow induced vascular responses*. Blood Vessels 1990; 27: 246-257.
- SMIESKO V, KOZIK J, DOLEZEL S: *Role of the endothelium in the control of the arterial diameter by blood flow*. Blood Vessels 1985; 22: 247-251.
- JOHNSON PC: *The myogenic response*. In: *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System*. Vascular Smooth Muscle. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., sect 2, vol. II, chapt. 15, 1981; 409-442.
- RUBANYI GM: *Endothelium-dependent pressure-induced contraction of isolated canine carotid arteries*. Am J Physiol 1988; 255: H783-H788.
- KOLLER A, SUNAND D, KALEY G: *Role of shear stress and endothelial prostaglandins in flow- and viscosity-induced dilatation of arterioles in vitro*. Circ Res 1993; 72: 1276-1284.
- MONCADA S, PALMER RM, HIGHS EA: *Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology of nitric oxide*. Pharmacol Rev 1991; 43: 109-142.
- PALMER RM, ASHTON DS, MONCADA S: *Vascular Endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine*. Nature Lond 1988; 333: 664-666.
- PALMER RM, FERRIGE AG, MONCADA S: *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxin factor*. Nature Lond 1987; 327: 524-526.
- IGNARRO LJ: *Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide*. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1990; 30: 535-560.
- ROGERS NE, IGNARRO LJ: *Constitutive nitric oxide synthase from cerebellum is reversibly inhibited by nitric oxide formed from L-arginine*. Biochem Biophys Res Commun 1992; 189: 242-249.
- RUBANYI GM, VANHOUTTE PM: *Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium derived relaxing factor*. Am J Physiol 1986; 250: H822-H827.
- ARNOLD WP, MITTAL CK, KATSUKI S, MURAD F: *Nitric oxide activates guanilate cyclase and increases guanosine 3',5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations*. Proc Natl Acad Sci USA 1977; 74: 3203-3207.
- MURAD F: *Cyclic guanosines monophosphate as a mediator of vasodilation*. J Clin Invest 1986; 78: 1-5.
- Stamiler J, Mendelsohn ME, Amarante P, Smick D, Andon N, Davies PF, et al: *N-acetylcysteine potentiates platelet inhibition by endothelium-derived relaxing factor*. Circ Res 1989; 65: 789-795.
- MACMILLAN-CROW LA, MURPHY-ULLRICH JE, LINCOLN TM: *Identification and possible localization of cGMP-dependent protein kinase in bovine aortic endothelial cells*. Biochem Biophys Res Commun 1994; 201: 531-537.
- MARSDEN PA, HENG HH, SCHERER SW, STEWART RJ, HALL AV, SHI XM, ET AL: *Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase*. J Biol Chem 1993; 268: 17478-17488.
- FORSTERMANN U, POLLOCK JS, SCHMIDT HH, HELLER M, MURAD F: *Calmodulin-dependent endothelium-derived re-*

- laxing factor synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells.* Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 1788-1792.
30. LÓPEZ-JARAMILLO P, GONZÁLEZ MP, PALMER RM, MONCADA S: *The crucial role of physiological calcium concentrations in the production of endothelial nitric oxide and the control of vascular tone.* Br J Pharmacol 1990; 101: 489-493.
 31. WHITE K, MARLETTA MA: *Nitric oxide synthase is a cytochrome p-450 type hemoprotein.* Biochemistry 1992; 31: 6627-6631.
 32. STUEHR DJ, KWON NS, NVAN C, GRIFFITH O, FELDMAN P, WISEMAN J: *N^w-hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine.* J Biol Chem 1991; 266: 6259-6266.
 33. SESSA WC: *The nitric oxide synthase family of proteins.* J Vasc Res 1994; 31: 131-143.
 34. UEMATSU M, OHARA Y, NAVAS JP, NISHIDA K, MURPHY TJ, ALEXANDER RW, ET AL: *Regulation of endothelial cell nitric oxide synthase mRNA expression by shear stress.* Am J Physiol 1995; 269: C1371-C1378.
 35. MALEK AM, JIANG L, LEE I, SESSA WC, IZUMO S, ALPER SL: *Induction of nitric oxide synthase mRNA by shear stress requires intracellular calcium and G-protein signals and is modulated by Pi 3 kinase.* Biochem Biophys Res Commun 1999; 254: 231-242.
 36. SESSA WC, PRITCHARD K, SEYEDI N, WANG J, HINTZE TH: *Chronic exercise increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression.* Circ Res 1994; 74: 349-353.
 37. WANG J, WOLIN MS, HINTZE TH: *Enhanced flow-dependent endothelium-derived dilation of epicardial coronary artery in conscious dogs.* Circ Res 1993; 73: 829-838.
 38. KAISER L, SPICKARD RC, OLIVER NB: *Hert failure depresses endothelium dependent responses in canine femoral artery.* Am J Physiol 1989; 259: H962-H967.
 39. COOKE JP, ROSSITCH E, ANDON NA, LOSCAALZO J, DZAU VJ: *Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator.* Clin Invest 1991; 88: 1663-1671.
 40. AYAJIKI K, HINDERMAN M, HECKER M, FLEMING I, BUSSE R: *Intracellular pH and tyrosine phosphorylation but not calcium determine shear stress-induced nitric oxide production in native endothelial cells.* Circ Res 1996; 78: 750-758.
 41. ADAMS DJ, BARAKEH J, LASKEY R, VAN BREEMEN C: *Ion channels and regulation of intracellular calcium in vascular endothelial cells.* FASEB J 1989; 3: 2380-2400.
 42. HIMMEL HM, WHORTON AR, STRAUSS HC: *Intracellular calcium, current, and stimulus-response couplin in endothelial cells.* Hypertension Dallas 1993; 21: 112-127.
 43. LANSMAN JB, HALLAM TJ, RINK TJ: *Single stretch-activated ion channels in vascular endothelial cells as mechanotransducers?* Nature Lond 1987; 325: 811-812.
 44. OLSEN SP, BUNDGARD M: *Chloride-selective channels of large conductance in bovine aortic endothelial cells.* Acta Physiol Scand 1992; 144: 191-198.
 45. OLSEN SP, BUNDGARD M: *ATP-dependent closure and reactivation of inguard rectifier K⁺ channels in endothelial cells.* Circ Res 1993; 73: 492-495.
 46. DAVIES PF: *How do vascular endothelial cells respond to flow?* News Physiol Sci 1989; 4: 22-26.
 47. YANG XC, SACHS F: *Block of stretch-activated ion channels in xenopus oocytes by gadolinium and calcium ions.* Science 1989; 243: 1068-1071.
 48. DAVIES PF, BARBEE KA, VOLIN MV, ROBOTOWSKYJ A, CHEN J, JOSEPH L, ET AL: *Spatial relationships in early signaling events of flow-mediated endothelial mechanotransduction.* Annu Rev Physiol 1997; 59: 527-549.
 49. SUÁREZ J, RUBIO R: *Regulation of glycolytic flux by coronary flow in Guinea pig heart. Role of vascular endothelial cell shear stress.* Am J Physiol 1991; 261: H1994-H2000.
 50. RUBIO R, CEBALLOS G, SUÁREZ J: *Coronary flow stimulates auricular-ventricular transmission in the isolated perfused Guinea pig heart.* Am J Physiol 1995; 269: H1177-H1185.
 51. SUÁREZ J, TORRES C, SÁNCHEZ L, DEL VALLE L, PASTELÍN G: *Flow stimulates nitric oxide release in Guinea pig heart. Role of stretch-activated ion channels.* Biochem Biophys Res Commun 1999; 261(1): 6-9.
 52. CALDWELL RA, CLEMO HF, BAUMGARTEN CM: *Using gadolinium to identify stretch-activated channels: technical considerations.* Am J Physiol 1998; 275: C619-C621.
 53. HANSEN DE, BORGANELLI M, STACY GP, TAYLOR K: *Dose-dependent inhibition of stretch-induced arrhythmias by gadolinium in isolated canine ventricles. Evidence for a unique mode of antiarrhythmic action.* Circ Res 1991; 69: 820-831.
 54. GYSEMBERG A, MARGONARI H, LOUFOUA J, OVIZE A, ANDRE-FOUET X, MINAIRE Y, ET AL: *Stretch-induced protection shares a common mechanism with ischemic preconditioning in rabbit heart.* Am J Physiol 1998; 274: H955-H964.
 55. YAMAZAKI T, KOMORO I, KUDOH S, ZOU Y, NAGAI R, AIKAWA R, ET AL: *Role of ion channels and exchangers in mechanical stretch-induced cardiomyocyte hypertrophy.* Cir Res 1998; 82: 430-437.