

## Archivos de Cardiología de México

Volumen **74**  
Volume

Suplemento **2**  
Supplement




Abril-Junio **2004**  
April-June

*Artículo:*

### Evaluación no invasiva de la función endotelial

Derechos reservados, Copyright © 2004  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

**Otras secciones de  
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in  
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



**Medigraphic.com**

## *Evaluación no invasiva de la función endotelial*

José R de Berrazueta\*

### Resumen

El descubrimiento del óxido nítrico como una molécula liberada por el endotelio que relaja el músculo liso vascular, ha modificado el interés en el estudio de las numerosas funciones que realiza el endotelio. La falta de relajación a estímulos químicos o mecánicos en presencia de un endotelio intacto, o la alteración en la liberación de sustancias por parte de las células endoteliales, o la sobreexpresión de otras, son las circunstancias que hoy se conocen como disfunción endotelial. Su estudio permite identificar precozmente el daño arterial que se mantiene a lo largo de toda la enfermedad vascular.

### Summary

#### NON-INVASIVE EVALUATION OF ENDOTHELIAL FUNCTION

The Nitric Oxide identification as an endothelial derived relaxing molecule has increased the interest in the study of the numerous functions of the endothelium. Endothelial dysfunction is the lack of vascular smooth muscle relaxation after a mechanical or chemical stimuli in the presence of an intact endothelium. It is also the modification in plasma levels of the substances released by the endothelial cells. Its study permits an early identification of the arterial damage that is maintained throughout all the vascular disease.

**Palabras clave:** Biomarcadores de disfunción endotelial. Óxido nítrico. Pletismografía.

**Key words:** Endothelial dysfunction biomarkers. Nitric oxide. Pletismography.

### Descubrimiento del NO

**C**onviene recordar que a pesar de que se ha intentado reescribir otra historia<sup>1</sup> en 1987 Moncada demostró por primera vez que las células endoteliales producen óxido nítrico (NO) y que éste cumple con las propiedades farmacológicas del factor relajador derivado del endotelio (FRDE) descrito por Furchgott en 1980.<sup>2</sup> A partir del descubrimiento del NO se produjo una gran avalancha de conocimientos tanto de la molécula NO, el primer gas conocido como mediador biológico de numerosísimas acciones,<sup>3</sup> como del endotelio. Numerosos estudios han permitido entender que el endotelio es un órgano muy activo, con numerosas funciones reguladas por las moléculas que sintetizan sus células. Su distribución sistémica hace que su importancia sea crucial en la regulación funcional en todos los órganos y sistemas.

El endotelio sintetiza principalmente tres tipos de moléculas que regulan: el tono vascular, la homeostasis del sistema de la coagulación y los mecanismos inflamatorios tisulares. Las principales de estas moléculas regulan distintos mecanismos o pasos moleculares en estas tres grandes acciones del endotelio. La principal de ellas es el NO.

El NO es el más potente vasodilatador endógeno conocido, pero además es el más potente antiadherente plaquetario y tiene acciones en los sistemas que regulan la inflamación.

La potente acción dilatadora del NO se suma a la acción vasodilatadora de otras sustancias también producidas por el endotelio como la prostaciclina o el factor hiperpolarizante derivado del endotelio.<sup>4</sup> Esta acción dilatadora se contrapone con un tono vasoconstrictor normal, necesario para una homeostasis vascular normal y que se mantiene

\* Catedrático de Cardiología.

Hospital Universitario M de Valdecilla.  
Universidad de Cantabria.  
Santander, España.

Correspondencia: Dr. José R de Berrazueta. Hospital Universitario M de Valdecilla. Universidad de Cantabria. Santander, España. E-mail: jose.berrazueta@unican.es Tfn. 34.942.361537, Fax. 34.942.201334



por la síntesis endotelial de sustancias como la angiotensina II, la endotelina y el tromboxano.<sup>5</sup> También el Dr. Moncada fue el primero en demostrar que el NO se sintetiza a partir de la L-Arginina,<sup>6</sup> y que ciertos análogos de la misma, como la L-Ng-Mono Metil Arginina (L-NMMA), se comportan como antagonistas competitivos de la síntesis del NO y se convirtieron en unas herramientas muy útiles en el estudio de la vía metabólica L-Arginina: NO.<sup>7</sup>

Tras el descubrimiento del NO aumentó de forma también espectacular el interés y conocimiento de las acciones endoteliales, desde la regulación del tono vascular a la modulación del crecimiento de las células musculares lisas vasculares regulando la síntesis proteica. También regula el equilibrio trombogénico y la hemostasia, diferentes mecanismos ligados al proceso inflamatorio, transporte y permeabilidad a distintas sustancias y libera sustancias que estimulan la neoangiogénesis importante en distintos procesos fisiopatológicos.

### Disfunción endotelial

Con el conocimiento de las funciones normales del endotelio, emergió el concepto de disfunción endotelial. Sin embargo, a pesar de que ha tenido una extensa aplicación en el estudio de las arterias sistémicas, en 1981, un año antes aún de que se describiera la acción relajadora dependiente del endotelio, se describió que el daño del endotelio en el lecho vascular pulmonar puede contribuir al desarrollo de hipertensión pulmonar, a través de un cambio en la reactividad de vascular a la acetilcolina (ACh) y a la bradikina (BK), de relajación a contracción<sup>8</sup> y el mismo año en que se comunica por Furchgott la acción del endotelio, se describe que el endotelio de las arterias coronarias dañadas por isquemia aguda podría jugar un papel importante en la patogenia del espasmo coronario a través de un mecanismo de daño endotelial.<sup>9</sup>

A partir de estos primeros trabajos, se define la disfunción endotelial como la situación en la que en presencia de un endotelio morfológicamente normal, éste no responde con una dilatación normal o completa ante el estímulo de sustancias como ACh o la BK, que ejercen su efecto vasodilatador a través de la liberación del NO. Sin embargo, la arteria tiene una respuesta relajadora completa al estímulo con nitroglicerina (NTG), nitroprusiato sódico (NPS), o cualquier otro nitrovasodilatador. Estas moléculas se convierten

en su metabolismo intracelular en NO, ejerciendo por tanto la acción dilatadora independiente de la producción de NO endógeno por la célula endotelial. Pero más extensamente el concepto de disfunción endotelial se ha extendido desde fallo en la función dilatadora endotelio dependiente al resto de las funciones del endotelio que puedan ser estudiadas. Por ello, se puede definir mejor la disfunción endotelial como la situación en que un endotelio morfológicamente normal presenta alteración de cualquiera de sus funciones.

La presencia de disfunción endotelial es hoy día una de las características mejor definidas de múltiples procesos cardiovasculares. Si es el mecanismo desencadenante o precoz que conduce a una alteración más avanzada y severa, o si es sencillamente una manifestación precoz de múltiples trastornos cardiovasculares es un tema debatido.

### Estudios *in vitro*

Los estudios donde se pudo demostrar este nuevo concepto de disfunción endotelial, fueron primero estudios *in vitro*, en baño de órganos, luego en animales *in vivo*, y posteriormente en el hombre. Tanto las preparaciones de anillos vasculares *in vitro* como las situaciones *in vivo* en los estudios con pletismografía, se realiza el estudio realizando una curva dosis respuesta con acetilcolina. La respuesta relajadora del 100% se considera normal y tiene la misma magnitud que la que se alcanza con la NTG o cualquier otro donador exógeno de NO. Existe disfunción cuando no se consigue una relajación equivalente a la que se obtiene con la NTG. Hemos estudiado situaciones de disfunción endotelial en arterias humanas en baño de órganos, en arterias pedias de pacientes con arteriosclerosis con y sin diabetes mellitus,<sup>10</sup> en arterias coronarias de pacientes trasplantados,<sup>11</sup> con vasculopatía de rechazo, cardiopatía isquémica y miocardiopatía dilatada con arterias aparentemente sanas. Las arterias arteriosclerosas y con vasculopatía presentan disfunción endotelial al estímulo con acetilcolina.

Pero los modelos de estudio *in vitro* más comunes son los realizados con animales de experimentación, tratando de reproducir alguna de las situaciones patológicas humanas, como las lesiones arteriales por radiación beta.<sup>12</sup> Estos modelos nos permitieron demostrar disfunción endotelial precoz de la aorta abdominal radiada, pero también de la aorta torácica, que no recibía la radiación. A largo plazo, seis meses, se produce



Fig. 1.



Fig. 2.

**Figs. 1 y 2.** Pletismografía por oclusión venosa intermitente del antebrazo, medición del flujo por distensión de anillo elástico de mercurio.

una alteración también de la relajación endotelio independiente, como expresión no sólo de la menor síntesis de NO endotelial, sino también de la fibrosis que se induce en el tejido intersticial vascular, y este fenómeno se produce también en la arteria no radiada, probablemente por radiación secundaria o por liberación desde el endotelio directamente radiado de sustancias capaces de producir un significativo daño permanente a distancia en el sistema arterial.

La expresión de la enzima inducible hemos podido estudiarla en arterias mamarias procedentes de enfermos coronarios que fueron operados con pontaje mamaria interna a coronaria.<sup>13</sup> Estudiamos las arterias mamarias en baño de órganos en respuesta a la toxina del *Escherichia coli*. Las arterias en presencia del lipopolisacárido del *Escherichia* se relajan completamente en 8 horas. Esta relajación no es recuperada con aminas simpáticas. Sin embargo, cuando al baño de órganos se añadía antes Dexametaxona, L-NMMA (el inhibidor de la síntesis de NO) o Polimixina B (inhibidor de la síntesis proteica), no se inducía la relajación, y esto tanto en arterias con o sin endotelio, lo que viene a indicar que en el músculo liso vascular se produce la inducción de la NOSi, y que la síntesis de grandes cantidades de NO es responsable de esta relajación vascular inducida por toxina bacteriana y este mecanismo puede ser responsable de la pérdida de tono vascular que se produce en el shock endotóxico.

### Estudios *in vivo*. Pletismografía

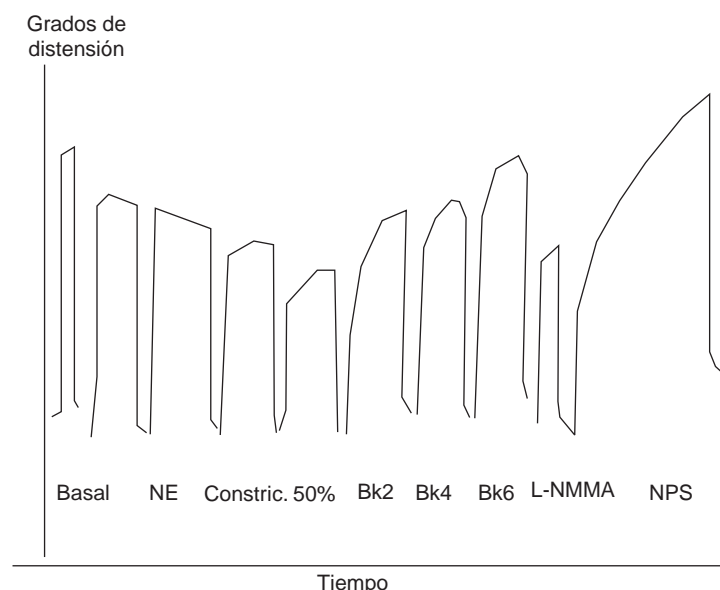
El estudio de la función endotelial la hemos abordado también a través de los estudios *in vivo* en

diferentes situaciones fisiopatológicas mediante varias técnicas de pletismografía de oclusión venosa intermitente. Ello nos ha permitido estudiar la respuesta de la función endotelial en mujeres menopáusicas antes y después del tratamiento hormonal sustitutorio.<sup>14,15</sup> O el efecto de los diuréticos de asa sobre la función endotelial,<sup>16</sup> o el comportamiento de otras situaciones, como pacientes arteriosclerosos antes y después del tratamiento con estatinas.

Se han desarrollado varias técnicas de pletismografía por oclusión venosa intermitente para el estudio de la función endotelial *in vivo*. Unas emplean la infusión durante un período de tiempo establecido de agonistas directamente en la arteria branquial, y la oclusión venosa intermitente durante períodos de unos segundos de inflado y desinflado automático de los manguitos, para medir la distensión durante la situación basal, y tras la inyección de los distintos fármacos



**Fig. 3.** Técnica de pletismografía por oclusión venosa y distensión de venas del dorso de la mano.



**Fig. 4.** Curva de pletismografía en vena de dorso de la mano. Relajación basal del 100% constricción 50 con NE, relajación dosis/dependiente con BK. Constricción con L-NMMA. Relajación con NPS.

(Figs. 1 y 2). El flujo varía en el antebrazo, por vasodilatación o vasoconstricción si se emplean sustancias agonistas del NO, o antagonistas del mismo como L-Ng monometil arginina. La medida del flujo en esta situación se realiza por la distensión de un manguito elástico de mercurio, que mide la variación del diámetro del antebrazo donde se inyectan las diferentes sustancias, frente al antebrazo dominante que se emplea de control.<sup>5,17</sup>

Otra técnica con infusión directa de fármacos consiste en la inyección también durante períodos de tiempo prefijados, de las sustancias a estudiar en alguna vena del dorso de la mano (Figs. 3 y 4). La distensión de las venas del dorso de la mano, permite estudiar la función endotelial en este territorio venoso. Se mide con un pequeño vástago soportado por un pequeño trípode especial, que se desliza sobre el vértice de la vena que se distiende con el inflado del manguito en el antebrazo. Para que se pueda estudiar la función endotelial, se precisa que la vena esté precontraída al 50% (con norepinefrina). A partir de esta precontracción, la administración de los agonistas como BK, produce vasodilatación por liberación de NO (endotelio dependiente), que se compara con la vasodilatación que se consigue con la administración intravenosa, a la dosis precisa para el flujo estimado de la vena, de un nitrovasodilatador, como el nitroprusiato sódico,

que se transforma directamente en NO, pero no lo libera del endotelio, por lo que conseguimos medir la vasodilatación independiente del endotelio. Esta técnica la hemos empleado para comprobar el efecto de la terapia hormonal sustitutiva sobre la función endotelial en mujeres menopáusicas.<sup>14,15</sup>

Sin embargo, la introducción del concepto de disfunción endotelial como un proceso preaterogénico, que se mantiene a lo largo de toda la enfermedad arteriosclerosa, ha llevado a estudiar la función endotelial en numerosas situaciones de riesgo cardiovascular que pueden conllevar disfunción. Para estudiar poblaciones numerosas se ha desarrollado el empleo de los ultrasonidos y el Doppler, que permiten valorar la dilatación arterial en el antebrazo tras la oclusión isquémica del mismo.<sup>18,19</sup>

Esta técnica consiste en la oclusión isquémica del flujo del brazo durante cinco minutos. La liberación, el desinflado del manguito tras esta oclusión produce una hiperemia, un flujo que por el estrés de rozamiento que produce, es capaz de liberar las sustancias endoteliales capaces de producir la dilatación arterial. Existen trabajos que han mostrado que la hiperemia reactiva no se produce cuando se administra previamente un antagonista del NO, como la L-NMMA. Además de los ultrasonidos y Doppler, nosotros hemos empleado el mismo sistema de oclusión isquémica, pero midiendo la distensión del antebrazo por los anillos de mercurio.

Midiendo la distensión en relación al entrenamiento físico en distintos tipos de deporte, aeróbicos o anaeróbicos. En estudios previos habíamos encontrado que los sujetos entrenados mostraban una contracción de nitratos y nitritos más elevados que los controles sedentarios, lo que indicaba un aumento en la producción de NO con el ejercicio crónico.<sup>20</sup>

### Marcadores bioquímicos de disfunción endotelial

Sin embargo, las técnicas de pletismografía, no son lo suficientemente prácticas como para que puedan ser empleadas como un método diagnóstico masivo de la alteración de la pared arterial. Se necesitan encontrar marcadores, probablemente bioquímicos que expresen la alteración de alguna de las múltiples funciones del endotelio, prevención de mecanismos de trombosis, coagulación, adhesión leucocitaria o plaquetaria, o proliferación del músculo liso vascular. Estas sustancias

han de cumplir el criterio de un marcador ideal: ser específico, sensible y estable. Hasta ahora entre los parámetros producidos por el endotelio se han ensayado los siguientes, que en unos u otros ensayos hemos medido en nuestros estudios, tales como el factor de von Willebrand (vWF), la selectina E, el VCAM, el NO, la Endotelina (ET1),

y la ECA-AII, también aunque no tan específicos, se han ensayado el fibrinógeno, y el ácido siálico. Cuando el análisis de alguna de estas moléculas o alguna otra se haga de forma fácil y con una sensibilidad y especificidad alta, tendremos posibilidad de diagnosticar como digo, esta fase precoz de la enfermedad cardiovascular.

## Referencias

1. BERRAZUETA JR: *El Nobel para el óxido nítrico. La injusta exclusión del Dr. Salvador Moncada*. Rev Esp Cardiol 1999; 52: 221-226.
2. PALMER RMJ, FERRIGE AG, MONCADA S: *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor*. Nature 1987; 327: 524-526.
3. BERRAZUETA JR, LÓPEZ JARAMILLO P, MONCADA S: *El óxido nítrico: De vasodilatador endógeno a mediador biológico*. Rev Esp Cardiol 1990; 43: 421-431.
4. MATZ RL, SCHOTT C, STOCLET JC, ANDRIANTSITOHAINA R: *Age-related endothelial dysfunction with respect to nitric oxide, endothelium-derived hyperpolarizing factor and cyclooxygenase products*. Physiol Res 2000; 49: 11-8.
5. BERRAZUETA JR, BAGHAT K, VALLANCE P, MCALLISTER R: *Dose and time-dependency of the dilator effects of the endothelin antagonist BQ 123, in the human forearm*. Br J Clin Pharmacol 1997; 44: 569-571.
6. PALMER RMJ, REES DD, ASHTON DS, MONCADA S: *L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in the endothelium-dependent relaxation*. Biochem Biophys Res Commun 1988; 153: 1251-1256.
7. REES DD, PALMER RMJ, HODSON HF, MONCADA S: *A specific inhibition of nitric oxide formation from L-Arginine attenuates endothelium-dependent relaxation*. Br J Pharmacol 1989; 96: 418-424.
8. CHAND N, ALTURA BM: *Acetylcholine and bradykinin relax intrapulmonary arteries by acting on endothelial cells: Role in lung vascular disease*. Science 1981; 213: 1376-1379.
9. KU D: *Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia*. Science 1982; 218: 576-578.
10. SALAS E, BERRAZUETA JR, FLEITAS M, POVEDA J, OCHOTECO A, AMADO J: *Reduced endothelium-mediated relaxing responses in peripheral atherosclerotic arteries from patients with and without diabetes mellitus*. Diabet Medicine 1992; 9: 875-876.
11. SALAS E, AMADO JA, SÁNCHEZ DE VEGA MJ, POVEDA JJ, BERRAZUETA JR: *Impaired vascular smooth muscle nitric oxide-dependent relaxation in human coronary arteries from Transplanted heart vasculopathy*. Arch Inst Cardiol Mex 1997; 67: 11-16.
12. MENÉNDEZ JC, CASANOVA D, AMADO JA, SALAS E, GARCÍA-UNZUETA MT, FERNÁNDEZ F, PÉREZ DE LA LASTRA L, BERRAZUETA JR: *Effects of radiation on endothelial function*. Int J Radiation Oncology Biol Phys 1998; 41: 905-913.
13. BERRAZUETA JR, SALAS E, AMADO JA, SÁNCHEZ DE VEGA MJ, POVEDA JJ: *Induction of nitric oxide synthase in human mammary arteries in vitro*. Eur J Pharmacol 1994; 251: 303-305.
14. CEBALLOS C, RIBES C, GARCÍA UM, AMADO JA, PÉREZ J, BERRAZUETA JR: *Venous endothelial function in postmenopausal women who are receiving long term estrogen and progestagen therapy*. Fertil Steril 2000; 74: 268-273.
15. CEBALLOS C, RIBES C, AMADO JA, DE MIER I, DE ROZAS LS, BERRAZUETA JR: *Venous endothelial function in postmenopausal women after six months of tibolone therapy*. Maturitas 2001; 39: 63-70.
16. PÉREZ GJ, CEBALLOS C, VÁZQUEZ L, MIER I, AMADO JA, OCHOTECO A, POVEDA JJ, BERRAZUETA JR: *The venodilator effect of furosemide is dependent of the endothelium release of NO*. POSTER No. 45. Second International Congress on NO in Cardiovascular Regulation and Intensive Care. XIX Congress of the European Society of Cardiology - Stockholm, Sweden. August 29-30. 1997.
17. COLLIER JG, LORGE RE, ROBINSON BF: *Comparison of effects of Tolesoxide, Prazosin, Glyceryl trinitrate and sodium nitroprusside on forearm arteries and dorsal hand veins of arm*. Br J Clin Pharmacol 1978; 5: 35-44.
18. SORESEN KE, CELERMAJER DS, SPIEGELHALTER DJ, GEORGAKOPOULOS D, ROBINSON J, THOMAS O, DEANFIELD JE: *Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility*. Br Heart J 1995; 74: 274-253.
19. CELERMAJER DS, ADAMS MR, CLARKSON P, ROBINSON J, MCCREDIE R, DONALD A, DEANFIELD JE: *Passive smoking and impaired endothelium dependent arterial dilatation in healthy young adults*. N Engl J Med 1996; 334: 150-154.
20. POVEDA JJ, RUESTRA A, SALAS E, CAGIGAS ML, AMADO JA, BERRAZUETA JR: *Contribution of nitric oxide to exercise-induced changes in healthy volunteers: effects of acute and long-term physical training*. Eur J Clin Invest 1997; 27: 967-971.