

## Funciones del endotelio arterial: su relación con la aterosclerosis

JULIO A. BERRETA (h)\*, JULIO A. BERRETA<sup>Δ</sup>

Servicio de Terapia Intensiva, Hospital "Dr. Carlos B. Udaondo", Buenos Aires

\* Para optar a Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología. Consejo de Aterosclerosis y Trombosis SAC.

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina (UBA)

Trabajo recibido para su publicación: 4/96 Aceptado: 8/96

Dirección para separatas: Dr. Julio A. Berreta (h), Santa Fe 2179, 1° "A", Buenos Aires, Argentina

<sup>Δ</sup> Miembro Titular SAC

El endotelio arterial no es una simple barrera que separa la sangre circulante de la pared arterial sino que, por el contrario, es un elemento activo que cumple numerosas funciones metabólicas que participan en la biología de la circulación y de la propia pared arterial. Se señalan sus diversas funciones, analizándose particularmente las que se relacionan con la coagulación y la trombosis, las relacionadas con la vasomotilidad y las que concurren a mantener la integridad de la capa endotelial y su permeabilidad. Las funciones endoteliales se cumplen merced a diversas sustancias que integran la célula endotelial o son sintetizadas y liberadas por ella: trombomodulina, activador tisular del plasminógeno, inhibidor del activador del plasminógeno tipo I, uroquinasa, prostaciclina, factor de relajación derivado del endotelio, óxido nítrico, endotelinas y en particular endotelina 1, glicosaminoglicanos, factor hiperpolarizante derivado del endotelio, factor de contracción derivado del endotelio, integrinas y otras. Diversos estímulos químicos, hormonales y mecánicos, como la tensión tangencial del flujo sanguíneo circulante (*shear stress*), pueden actuar sobre la célula endotelial activando o inhibiendo la secreción y liberación de dichas sustancias. Se sugiere una correlación entre las alteraciones de las funciones del endotelio con aspectos de la patogenia de la aterosclerosis en sus distintos estadios. REV ARGENT CARDIOL 1997; 65 (4): 373-384.

*Palabras clave* Funciones del endotelio - Aterosclerosis

Como es sabido, el aparato cardiovascular está revestido internamente por una capa de células planas, llamadas células endoteliales, las que están en contacto directo con la sangre circulante.

A nivel arterial, estas células se encuentran separadas del subendotelio de la túnica íntima por una membrana diferenciada delgada llamada membrana basal. La célula endotelial ha sido objeto de numerosos estudios histoquímicos de microscopía electrónica y cultivos de tejidos, los que han aportado más evidencias acerca de sus características y funciones.

El endotelio arterial no es una simple barrera pasiva que separa la pared de la arteria de la sangre que circula en su interior, sino un elemento activo con diversas funciones que participan en la biología de la circulación y de la propia pared arterial. (1)

Existen numerosas investigaciones que estudian las funciones de las células del endotelio arterial y las publicaciones al respecto se han incrementado en la última década.

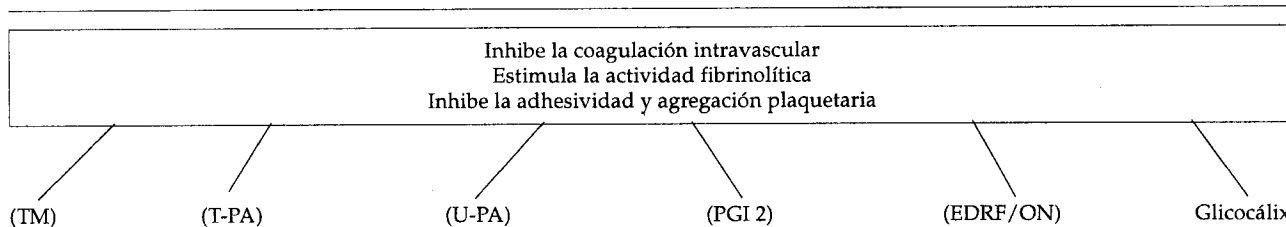
Muchas enfermedades vasculares, en especial la aterosclerosis, están vinculadas con alteraciones de la célula del endotelio arterial y/o de sus funciones.

El propósito de esta publicación es resumir los conocimientos actuales sobre las funciones de las células del endotelio arterial, referirnos al estrés hemodinámico a que están sometidas durante la circulación de la sangre, en relación con sus propias funciones, y establecer una correlación entre las alteraciones de las funciones del endotelio y la aterosclerosis que es consecuencia y causa a la vez de disfunción endotelial.

### CITOARQUITECTURA Y ESTRES ENDOTELIAL

La sangre circulante somete al endotelio arterial a un estrés mecánico (fuerza/área), el cual tiene dos componentes: el primero es la presión de la sangre que ejerce su efecto sobre la pared arterial variando su intensidad en forma de ciclos pulsátiles; el segun-

Tabla 1  
Endotelio: funciones en relación con la coagulación y trombosis



(TM): trombomodulina. (T-PA): activador tisular del plasminógeno. (U-PA): uroquinasa. (PGI 2): prostaciclina. (EDRF/ON): factor de relajación derivado del endotelio/óxido nítrico.

do es la tensión tangencial del flujo sanguíneo circulante sobre el endotelio mismo (*shear stress*). Este estrés tangencial del flujo, por fricción y cizallamiento sobre la membrana endotelial, es de menor magnitud que el provocado por la presión sanguínea. Alcanza su máxima intensidad en zonas de bifurcación de arterias grandes y medianas, pudiendo llegar en ellas a más de 100 dinas/cm<sup>2</sup>. (2) El estrés tangencial del flujo sanguíneo existe también en las arteriolas, donde la presión sanguínea ha caído significativamente, y aún en los capilares, donde el paso individual de los elementos figurados en la sangre condiciona un medio hemodinámico que se modifica en el tiempo y fricciona sobre la membrana endotelial. (3)

En las áreas donde el estrés tangencial (*shear stress*) sobre el endotelio es bajo, las células del endotelio se disponen en forma poligonal, tapizando la luz vascular; mientras que en las zonas sometidas a un elevado *shear stress*, las células se elongan, su eje mayor se dispone paralelamente al sentido del flujo. También se adapta la citoarquitectura celular y se reordenan los microfilamentos intracelulares de actina, los que se disponen también en paralelo al sentido del flujo. (4-7) El estrés tangencial elevado sobre el endotelio reduce la tasa de replicación celular endotelial, pero en zonas de endotelio lesionado estimula la proliferación y la migración celular. (3, 8)

La mayor parte de las investigaciones realizadas estudiando la influencia del *shear stress* sobre el endotelio arterial en cultivo de tejidos han sido efectuadas con flujos estables. Los resultados de aquellas realizadas con flujos pulsátiles y de tipo sinusoidal no contradicen sus conceptos fundamentales.

## FUNCIONES DEL ENDOTELIO

Las analizaremos dividiéndolas esquemáticamente y con finalidad didáctica en tres grupos: I) las que se relacionan con la coagulación y trombosis; II) las relacionadas con la vasomotilidad; y III) las que concurren a mantener la integridad de la capa endotelial.

Además, las células endoteliales activan o inacti-

van hormonas circulantes. La enzima convertidora de la angiotensina está presente en la membrana de la célula endotelial activando *in situ* la angiotensina I y degradando la bradiquinina. (9) Además constituyen una fuente de factor quimiotáctico para monocitos a través de la llamada proteína quimiotáctica de monocitos (MCP 1), de factores que estimulan la proliferación de fibroblastos y células musculares lisas de la túnica media arterial, y de inhibidores del crecimiento: heparan-sulfato (H-S) y factor transformador del crecimiento  $\beta$  (TGF  $\beta$ ). (10)

## I. Funciones en relación con la coagulación y trombosis

El endotelio vascular ofrece una superficie luminal que se opone a la trombosis y previene la activación de la coagulación; además estimula la actividad fibrinolítica e inhibe la adhesión y agregabilidad plaquetaria (2, 11, 12) (ver Tabla 1).

Estas funciones las ejerce merced a la acción de diversas sustancias que integran las células del endotelio o son sintetizadas y liberadas por ellas, a saber: trombomodulina, activador tisular del plasminógeno, uroquinasa, prostaciclina, óxido nítrico y glicosaminoaglicanos del glicocálix de la superficie luminal del endotelio. Concurren también a ello diversos factores de adhesión de las células del endotelio que permiten mantener la integridad de la capa endotelial (integrinas).

a) **Trombomodulinas.** El endotelio expone a la luz de la arteria una glucoproteína de la membrana de la célula endotelial llamada trombomodulina (TM), que se une a la trombina y activa a la proteína C, la cual en presencia de la proteína S inactiva a los factores V y VIII activados (Va y VIIIa). (13) Además la unión de TM a la trombina disminuye la formación de fibrina y la activación de las plaquetas por trombina. (14) La trombina unida a la TM no inactiva a la proteína S, que es uno de los inhibidores fisiológicos de la coagulación. (15) Por todo ello, la TM previene la coagulación en los vasos sanguíneos, y la agregación plaquetaria inducida por trombina. (16) También es función

del endotelio la secreción del factor von Willebrand, que en sentido contrario a las anteriores, ligándose al factor VIII, actúa como cofactor favoreciendo la activación de las plaquetas. (17)

**b) Activador tisular del plasminógeno (T-PA).** El endotelio sintetiza T-PA, que es liberado al medio intravascular de dos maneras: en forma lenta y sostenida, o en forma rápida y en pocos minutos. La liberación rápida puede tener un papel importante en la disolución de la fibrina, oponiéndose a la génesis de trombos. (18) La liberación rápida es estimulada por la histamina y por la formación de fibrina, entre otros. (18)

Las mayores concentraciones de T-PA se encuentran en las células endoteliales de los vasos pequeños, excluyendo los capilares. (10, 19) El *shear stress* hasta 4 dinas/cm<sup>2</sup> no estimula la liberación de T-PA hacia la luz vascular, pero por arriba de 15 dinas/cm<sup>2</sup> existe una estimulación evidente en la liberación de T-PA. (20)

Las lipoproteínas inhiben la síntesis y la liberación del T-PA, tanto en la forma sostenida como en la rápida. (21)

La secreción del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) por las células endoteliales en migración armoniza la actividad fibrinolítica ejercida desde el endotelio. La importancia de la regulación del sistema que estimula o inhibe la liberación del T-PA en el endotelio está dada por el aumento del riesgo trombótico observado cuando disminuye el T-PA o cuando aumenta el PAI-1; y a la inversa hay aumento del riesgo hemorrágico en el caso contrario. (22)

Las concentraciones fisiológicas de lipoproteína a (LPa) modulan la activación del plasminógeno a plasmina en la superficie del endotelio, dado que la LPa y el plasminógeno compiten por los sitios de ligadura a la membrana endotelial. Los sitios de ligadura para la plasmina y el T-PA en la faz luminal del endotelio parecen proteger a estas moléculas de sus antagonistas fisiológicos, la proteína alfa2 inhibidora de la plasmina y el PAI-1. (23) Por ello, una elevación de LPa en el plasma conduce a un estado protrombótico. (23)

**c) Uroquinasa (U-PA).** La uroquinasa sintetizada por el endotelio es activadora del plasminógeno y puede degradar la matriz subendotelial e inducir migración celular y con ello angiogénesis. Igual acción pueden tener proteasas no fibrinolíticas, como las colagenasas, gelatinasas y estromalisina. (22)

La U-PA segregada por el endotelio permanece en la superficie de la membrana celular en vecindad con los receptores para el plasminógeno, lo cual favorece la activación local del plasminógeno a plasmina; su permanencia sobre la superficie endotelial la protege de la inhibición por la alfa2 antiplasmina. (22)

**d) Prostaciclina.** La prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), formada a partir de los fosfolípidos de la membrana, en particular del ácido araquidónico, inhibe la agregabilidad plaquetaria. (24) Esta acción resulta de la estimulación de la actividad de la adenilatociclasa plaquetaria, con aumento del AMP cíclico intraplaquetario e inhibición en las plaquetas de la formación de tromboxano A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>).

**e) Óxido nítrico.** El óxido nítrico, que es el responsable de la actividad biológica del factor relajante derivado del endotelio (EDRF), inhibe la adhesividad y agregabilidad plaquetaria. (25) Esto es debido a la activación de la guanilatociclasa intraplaquetaria y a la elevación del GMP cíclico de las plaquetas con inhibición del flujo de Ca hacia el citosol plaquetario y bloqueo de la activación de fosfolipasa. El óxido nítrico parece inhibir también la movilización del ácido araquidónico de la membrana plaquetaria y la síntesis de TxA<sub>2</sub>, independientemente de su efecto sobre el Ca intracitosólico. Además, por su efecto vasodilatador y por aumento secundario del flujo sanguíneo, el ON favorece el arrastre de agregados plaquetarios en vías de formar trombos. (26)

**f) Glicocálix.** Es un ramillete de glicosaminoglicanos que cubren la superficie vascular de la membrana plasmática endotelial, confiriéndole electro negatividad, por lo que repele a la membrana plasmática de las plaquetas (cuyo glicocálix también expone cargas electronegativas), y a cuyo nivel se concentra antitrombina III.

## II. Funciones en relación con la vasomotilidad

El endotelio sintetiza y libera sustancias que actúan promoviendo vasodilatación unas y vasoconstricción otras (Tabla 2).

Las que provocan vasodilatación son la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), el factor de relajación derivado del endotelio (EDRF), y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF). Las que promueven vasoconstricción son: la endotelina I, el factor de contracción derivado del endotelio (EDCF), y un tercer factor.

Tabla 2

| Sustancias con actividad vasomotora sintetizadas por el endotelio |
|---|
| Vasodilatadoras<br>(PGI <sub>2</sub> ) (EDRF/ON) (EDHF)           |
| Vasoconstrictoras<br>(ET-1) (EDCF) (3er. factor)                  |

(PGI<sub>2</sub>): prostaciclina. (EDRF/ON): factor de relajación derivado del endotelio/óxido nítrico. (EDHF): factor hiperpolarizante derivado del endotelio. (ET-1): endotelina 1. (EDCF): factor de contracción derivado del endotelio. (3er. factor): derivado del ácido araquidónico o anión superóxido.

### **Sustancias que provocan vasodilatación**

a) *Prostaciclina* (PGL 2). Es sintetizada a partir del ácido araquidónico contenido en los fosfolípidos de la membrana de las células endoteliales. Los pasos son los siguientes: la fosfolipasa A2 hidroliza los fosfolípidos de la membrana celular, liberando ácido araquidónico. El ácido araquidónico liberado de los fosfolípidos entra en el citoplasma celular y por acción de la enzima ciclooxigenasa, presente en la fracción mitocondrial, se originan cicloendoperóxidos, los que por acción de la enzima prostaciclina sintetasa originan la prostaciclina.

Diversos estímulos, químicos, hormonales y mecánicos, tales como la hipoxia, la heparina, la histamina, bradiquina, acetilcolina, serotonina, la isquemia, el *shear stress* y la endotelina I, aumentan su secreción. (27, 28, 29-34).

El mecanismo de su acción vasodilatadora se ejerce a través del aumento del AMP cíclico en el músculo liso de la pared arterial, lo que produce relajación muscular por inactivación de la cadena liviana de la miosina debida a la fosforilación de la quinasa de la misma. (24)

Su acción es fundamentalmente paracrina, por secreción hacia el polo basal de la célula endotelial y difusión hacia la túnica media arterial. También tiene acción endocrina por cuanto pequeñas cantidades pasan del polo luminal hacia la sangre circulante y ejercen un efecto vasodilatador breve, pues son catabolizadas en la sangre por hidrólisis y posterior oxidación.

b) *Factor relajante derivado del endotelio* (EDRF). Es una sustancia vasodilatadora liberada por el endotelio que fue descrita en 1980 por Furchgott y Zawidski. (35) Si bien no pudieron determinar su naturaleza química, quedó claro que no era una prostaglandina, sino una sustancia de muy corta vida que podía ser inhibida por el radical superóxido y la hemoglobina. En 1985 Furchgott e Ignarro propusieron que el óxido nítrico pudiera ser su principio activo, lo cual fue confirmado en 1987 por Palmer y Fenige, al demostrar que las células endoteliales cultivadas liberan ON. (36)

El ON promueve la vasodilatación en un grado mayor que la PGI 2, aumentando el GMP cíclico de las células musculares lisas vasculares. (25, 36) Además, disminuye la adhesividad y agregabilidad plaquetaria, como se señaló anteriormente. (25, 35, 36).

El ON proviene de la L-arginina y su síntesis es catalizada por la enzima óxido nítrico-sintetasa, originando ON y liberando L-citrulina.

Factores que promueven su síntesis y liberación: numerosos estímulos promueven la síntesis y liberación continua del ON por la célula endotelial; los clasificamos en 3 grupos:

1) El primero integrado por sustancias circulan-

tes que pueden ser hormonas o neuromediadores, tales como histamina, vasopresina, catecolaminas, bradiquina, acetilcolina, ácido araquidónico, arginina. (26, 37)

2) El segundo grupo está dado por sustancias que se liberan durante la agregación plaquetaria (ADP, serotonina) y por la trombina. Si el endotelio está sano, la estimulación de la síntesis y liberación del ON puede, por el incremento del flujo sanguíneo, secundario a la vasodilatación, arrastrar a las plaquetas que se encuentran en vías de agregación, ejerciendo así un efecto que tiende a compensar o neutralizar ese fenómeno patológico. (26) Por el contrario, si el endotelio está dañado, tanto el ADP como la serotonina pueden incrementar la agregabilidad plaquetaria y originar vasoconstricción, favoreciéndose la constitución de un trombo en el endotelio dañado.

3) El tercer grupo de elementos que estimulan la síntesis de ON está constituido por las fuerzas mecánicas que actúan tangencialmente sobre la membrana endotelial (fuerza de cizallamiento y tensión tangencial del flujo o *shear stress*). El *shear stress* aumenta con el flujo sanguíneo y con la viscosidad de la sangre, y constituye el principal estímulo para la vasomotilidad que acompaña a los cambios del débito cardíaco. (2, 26)

Mecanismo de acción: El ON ejerce su efecto vasodilatador actuando sobre la musculatura vascular solamente de manera paracrina. Es liberado por la célula endotelial hacia ambos polos de la misma, siendo un compuesto inestable, con una vida media de pocos segundos. En el polo luminal de la célula endotelial es rápidamente inactivado por la hemoglobina (Hb) de la sangre circulante, aunque llega a ejercer su efecto sobre las plaquetas en la proximidad de la pared del vaso, inhibiendo su adhesividad y agregabilidad, de manera sinérgica con las prostaciclina. (38) Hacia el polo basal penetra por difusión en la túnica media arterial y actúa sobre el músculo liso activando a la gualinatoclasa, con aumento del contenido de GMP cíclico y disminución del Ca<sup>++</sup> en el citoplasma del miocito, produciendo su relajación y la consecutiva vasodilatación de la arteria. (35, 36) Es probable que la mayor parte del ON sea liberada hacia la túnica media y en menor cantidad hacia la luz del vaso, donde, como dijimos, es rápidamente inactivado por la Hb. Por lo tanto, el ON no puede actuar a distancia y es fundamentalmente un modulador local del tono vascular y de la función plaquetaria. Por eso el déficit de producción de ON causado por daño endotelial no puede ser compensado por la liberación procedente de las células endoteliales sanas vecinas.

Se han publicado algunas investigaciones que sugieren que, además de la acción sobre el músculo

vascular y las plaquetas, el ON liberado por el endocardio y el endotelio coronario modula la contracción del miocardio. (39, 40)

c) *Factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF)*. Ha sido también llamado factor hiperpolarizante de las células musculares lisas de los vasos. Provoca vasodilatación rápida pero breve, producida como consecuencia de un aumento de la conductancia al potasio en la membrana plasmática del miocito vascular, con la consiguiente repolarización e hiperpolarización. (41) Por ello, su efecto miorelajante y vasodilatador es rápido y de poca duración.

#### *Sustancias que provocan vasoconstricción*

a) *Endotelina I*. Es un polipéptido de 21 aminoácidos producido por el endotelio que posee acción vasoconstrictora intensa y duradera, actuando sobre los receptores de endotelina tipo A del músculo liso vascular. (42, 43) Es liberada hacia ambos polos celulares, el basal y el luminal. Si bien existen valores dosables en el plasma, con vida media de 4 a 7 minutos, su concentración es muy pequeña y sus efectos son de neto predominio paracrino y escaso efecto endocrino. (42-44)

La endotelina 1 actúa sobre receptores para endotelina tipo A del músculo liso vascular y estimula la fosfolipasa C, lo que lleva a la formación de inositol trifosfato y diacilglicerol; ocasionando el primero un aumento del  $Ca^{++}$  intracitoplasmático y vasoconstricción. (45) A su vez, el diacilglicerol y el  $Ca^{++}$  estimulan la proteinquinasa C, que media el efecto mitogénico (factor de crecimiento) de la endotelina. (46)

El efecto vasoconstrictor persiste después que la endotelina 1 es removida del receptor, lo que ha sido relacionado con la permanencia de altas concentraciones de  $Ca^{++}$  en el citoplasma muscular. (45) El ON acorta la duración de la vasoconstricción ocasionada por la endotelina, acelerando el retorno del  $Ca^{++}$  intracitosólico a los valores basales. (47)

b) *Factor de contracción derivado del endotelio (EDCF)*. Se lo vincula a endoperóxidos con acción vasoconstrictora, producto de la actividad de la ciclooxigenasa estimulada por la histamina. (48)

c) *Tercer factor*. Es posible que exista un tercer factor de vasoconstricción producido por el endotelio, cuya síntesis es bloqueada por los inhibidores de la ciclooxigenasa y correspondería a un derivado del ácido araquidónico o al anión superóxido. (49-51)

*Síntesis de endotelina-1. Interacción con otras sustancias*. La endotelina-1 es una proteína constituida por 21 aminoácidos. El gen que codifica la endotelina-1 se encuentra en el cromosoma 6. (52)

El endotelio sintetiza una preproendotelina, que es una proteína de 306 aminoácidos, la cual es transformada en una prohormona de 39 aminoácidos, llama-

da endotelina-1 grande, que por hidrólisis de la cadena peptídica forma endotelina-1, con 21 aminoácidos, siendo ésta 100 veces más potente que la anterior. Ambas son segregadas hacia la circulación en pequeñas cantidades, pero en condiciones fisiológicas la de mayor presencia es la endotelina-1. Las dos son inactivadas en un 75% al pasar por el pulmón. (53)

El paso de endotelina-1 grande a endotelina-1 se produce en la célula endotelial. En ciertas condiciones, como en la insuficiencia cardíaca, en la que las concentraciones de endotelina-1 grande están aumentadas, (54) el pasaje de esta a endotelina-1 puede producirse extracelularmente por una metaloproteasa con estructura homóloga a endopeptidasa. (55)

La síntesis de la preproendotelina y su hidrólisis hasta convertirse en endotelina-1 es estimulada por hormonas, por sustancias vasoactivas y por factores mecánicos que actúan sobre la pared del vaso. (44) De tal modo estimulan su síntesis la angiotensina II, la vasopresina, la trombina, las lipoproteínas HDL y LDL, la insulina, diversos factores de crecimiento, entre ellos el factor B de crecimiento de transformación, el factor I de crecimiento similar a la insulina, el factor epidérmico de crecimiento y el factor básico de crecimiento fibroblástico.

La endotelina-1 puede mediar los efectos de varios péptidos vasoactivos y de factores de crecimiento. Así, por ejemplo, la angiotensina II estimula la hipertrofia del miocardio y de la pared arterial; pero si se inhibe la estimulación de la síntesis de endotelina-1 provocada por la misma angiotensina, o si se inhibe directamente la acción de la endotelina-1, pueden prevenirse los efectos hipertrofiantes de la angiotensina II. (56) La interacción entre estas dos hormonas tiene importancia para explicar el aumento de la sobrevida que producen los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina en pacientes con insuficiencia cardíaca después de un infarto de miocardio. (57)

La hipoxia, la isquemia y el estrés tangencial debido al flujo sanguíneo con su efecto de cizallamiento y fricción sobre la membrana endotelial (*shear stress*), estimulan también la síntesis de endotelina-1. (44) En cambio, las sustancias vasodilatadoras como el ON y la PGI 2, inhiben la síntesis de endotelina-1. (58, 59)

La hormona natriurética atrial (ANH) inhibe la síntesis basal de endotelina-1, y también su estimulación provocada por la angiotensina II y por la trombina. (60, 61) Estas sustancias (PGI 2, ON y ANH) inhiben también la vasoconstricción y la proliferación muscular (factor de crecimiento) mediada por la endotelina-1. El efecto vasodilatador y anti-proliferativo de la PGI 2, del ON y de la ANH puede ser debido, en parte, a la inhibición de la producción y actividad de la endotelina-1.

Estas interacciones pueden prevenir el crecimiento del músculo liso vascular y el desarrollo de la aterosclerosis y disminuir el aumento del tono vascular resultante de la producción de endotelina por hipoxia o por el *shear stress*.

**III. Funciones relacionadas con la citoarquitectura del endotelio. Receptores de adhesión de células endoteliales entre sí y con la matriz subendotelial**

La integridad de la capa endotelial es mantenida por receptores específicos llamados "de adhesión" que regulan la interacción de célula a célula endotelial y de célula a matriz subendotelial. (62)

El tipo de unión de las células endoteliales entre sí es determinante de la permeabilidad endotelial. Estas uniones se diferencian según sus características morfológico-funcionales en: 1) uniones de comunicación; 2) uniones de adhesión; 3) uniones de oclusión. El tipo de uniones de las células endoteliales varía a lo largo del árbol vascular, siendo las uniones más oclusivas las de los vasos de conducción en las que la permeabilidad endotelial es muy reducida; este tipo de unión casi desaparece en capilares y vénulas poscapilares en los cuales la extravasación de constituyentes del plasma y el intercambio con el intersticio deben ser eficientes. (63)

La interacción de las células endoteliales con las proteínas de la matriz subendotelial regula la proliferación y migración de aquéllas. La matriz subendotelial es una superficie trombogénica que promueve la adhesión de las plaquetas y la activación del sistema de coagulación. En condiciones normales, el endotelio protege contra fenómenos de trombosis parietal vascular e infiltración de proteínas del plasma hacia la íntima y media arterial. La capacidad de las células endoteliales de permanecer unidas en la superficie vascular y de proliferar y migrar para cubrir estructuras subendoteliales expuestas a los componentes sanguíneos, es un mecanismo de defensa fundamental en respuesta a una lesión endotelial. (64) Los estudios de biología molecular han permitido ampliar los conocimientos al respecto.

El mantenimiento de la polarización en la función de la célula endotelial es regulado por la interacción de esta con los componentes de la matriz subendotelial, que no actúa sólo como la base o el soporte anatómico del endotelio.

Las proteínas de la matriz subendotelial se ligan a receptores celulares específicos llamados "de adhesión"; así surge una interacción que puede transmitir señales biológicas. De igual modo, la interacción entre las propias células endoteliales se lleva a

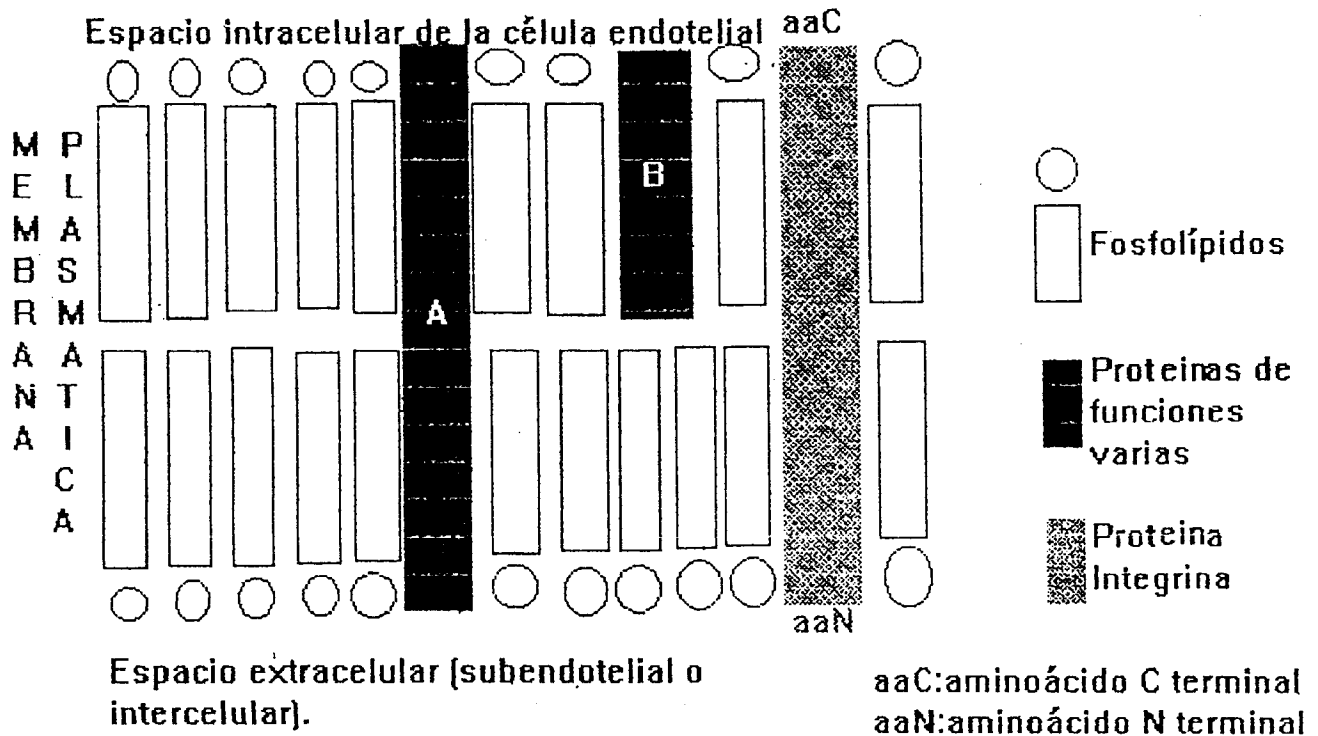


Fig. 1. Membrana de la célula endotelial con su bicapa fosfolipídica y proteínas de membrana que pueden transcurrir del espacio intra al extracelular (A) o sólo abarcar parte de este trayecto (B). La integrina atraviesa todo el espesor de la membrana y tiene su extremo N terminal en el espacio extracelular y el C terminal en el interior de la célula.

cabo por receptores de adhesión. Algunas moléculas de adhesión de las células endoteliales a la matriz subendotelial son también responsables de la unión de estas células entre sí. (64) La mayoría de los receptores endoteliales para las proteínas de la matriz subendotelial corresponden al grupo de proteínas denominadas integrinas, que también se localizan en las uniones entre las células endoteliales y tienen particular implicancia en la regulación de la permeabilidad endotelial. Los receptores para integrinas de las células endoteliales son proteínas integrantes de la membrana de dicha célula con dos subunidades: una más grande o cadena alfa y otra más pequeña o cadena beta. Ambas subunidades forman la proteína integrina, que tiene un extremo terminal C intracitoplasmático y otro más largo, terminal N, extracelular; y entre ambos un segmento transmembrana. De tal modo la integrina va del espacio intra al extracelular formando parte de la membrana plasmática de la célula endotelial (62, 64, 65) (Figura 1).

Otras moléculas halladas en los contactos intercelulares del endotelio son: A) la molécula de células endoteliales y plaquetas [*platelet-endothelial-cell-molecule* (PECM), o endo CAM, o CD31], una proteína integrante de la membrana celular que pertenece a la familia de las inmunoglobulinas, y B) una molécula de adhesión celular dependiente del calcio. (66-68)

La diferente composición química de las cadenas peptídicas alfa y beta de las integrinas les confiere la capacidad de ligarse a diferentes proteínas del plasma y de la matriz extracelular. Se han descrito 8 variedades de cadenas beta y 13 de cadenas alfa. Cada una de ellas se menciona con un número o letra a continuación de la cadena a que corresponde, por ejemplo alfa-1, beta-1, alfa-5, beta-6, etc. Según su composición se ligan, como lo mencionamos, a diferentes proteínas de las células de la matriz extracelular o del plasma; por ejemplo, a la vitronectina, fibronectina, colágeno, laminina, molécula de adhesión intracelular, trombospondina, factor de von Willebrand, fibrinógeno, proteínas que no intervienen en la adhesión celular como la trombina, y a proteínas de unión célula a célula. (65, 69, 70)

Las células endoteliales contienen alta concentración de integrinas con cadenas peptídicas alfa-5 y beta-3. Esta integrina tiene la misma cadena beta que el complejo glicoproteína IIb-IIa plaquetario pero diferente cadena alfa. La integrina alfa-5 beta-3 se liga al fibrinógeno, factor von Willebrand, vitronectina, trombospondina, laminina y trombina. (71-76)

Muchas integrinas reconocen la secuencia de tres aminoácidos (arginina-glicina-aspartico) y se ligan a las proteínas que la poseen, entre ellas a muchas proteínas de la matriz extracelular, fibrinógeno y trombina. (77)

Las proteínas de la matriz subendotelial tienen funciones diversas, y diferentes receptores integrinas de la membrana celular endotelial se ligan a ellas transmitiendo información desde el compartimento extracelular hacia el endotelio y regulando la proliferación de células endoteliales. (72, 78)

Una de las formas por las cuales las integrinas pueden transferir información a la célula es a través de su interacción con las proteínas del citoesqueleto del endotelio. (79) Ya en las primeras horas de fijación de la célula endotelial a la matriz subendotelial, la superficie basal de la membrana celular endotelial forma varios tipos de contacto llamados contactos focales o placas de adhesión. (80) Estas son las zonas de máxima interacción entre la matriz, la membrana celular y los sitios de inserción de las bandas de microfilamentos de actina en la membrana. (81, 82) Hay evidencias experimentales de que las integrinas después de la adhesión a la matriz regulan la organización del citoesqueleto. (80)

La organización del citoesqueleto y en particular el ensamble de los microfilamentos de actina pueden regular la proliferación celular endotelial y es posible que los microfilamentos de actina del citoesqueleto transfieran señales mecánicas al núcleo celular, promoviendo la división celular. (78)

Además de su función en la adhesión a la matriz subendotelial, las integrinas (en especial la alfa-2 beta-1 y la alfa-5 beta-1) han sido halladas en las uniones de células endoteliales entre sí. (83)

En presencia de anticuerpos contra las moléculas de integrinas, se producen aberturas en la capa de células endoteliales, lo que indica la importancia que tienen en el mantenimiento de las uniones de las células endoteliales entre sí. Estos anticuerpos alteran también la permeabilidad de la célula endotelial *in vitro*, disminuyendo su capacidad de restringir el pasaje de macromoléculas. (83)

## **FUNCIONES DEL ENDOTELIO Y ATEROSCLEROSIS**

El endotelio arterial ejerce un efecto antiaterogénico. La lesión física con balón y/o raspado, que puede llegar a la denudación de la íntima arterial, se utiliza en experimentación con el fin de lograr el desarrollo de aterosclerosis rápidamente evolutiva, provocada por la infiltración de monocitos macrófagos, colesterol, lipoproteínas, y otras sustancias contenidas en la sangre circulante, las que penetran en la íntima y son fagocitadas en su mayor parte por los monocitos macrófagos. La superficie subendotelial expuesta a la sangre es altamente trombogénica por promover adhesión y agregación plaquetaria y activar factores de coagulación. Asimismo, el factor de crecimiento liberado por las plaquetas durante sus procesos de adhesión y agregación estimula la

proliferación del músculo liso de la pared arterial con migración del miocito de la túnica media hacia la íntima, y secreción de colágeno. Todo ello lleva al desarrollo de la placa de aterosclerosis. Diversas sustancias químicas circulantes y fuerzas físicas son causa de daño del endotelio, incluyendo entre ellos los llamados factores de riesgo.

Se admite que la aterosclerosis es una enfermedad patogénica plurifactorial. (84, 85) Participan en su complejo mecanismo etiopatogénico: la acción de los llamados factores de riesgo (en especial hipercolesterolemia, hipertensión arterial, tabaquismo, lipoperoxidación, etc.); la lesión endotelial; el papel de los monocitos; el papel de las plaquetas; el papel de las células musculares lisas de la pared arterial; los factores mitogénicos; la síntesis de la matriz colágena, y la formación de trombos, sean o no oclusivos (Figura 2).

En una publicación anterior nos hemos referido a la patogenia de la aterosclerosis; mencionaremos ahora las funciones y elementos del endotelio cuya alteración puede participar en la génesis de la placa y su complicación trombótica. (85)

1) En el estadio inicial ya está presente la alteración funcional del endotelio, que al estar lesionado sintetiza *proteínas quimiotácticas para los monocitos* (MCP 1), los cuales migran hacia la íntima arterial marcando el estadio del comienzo evolutivo de la placa. (84-87) Se generan también especies reactivas de O<sub>2</sub> o radicales libres que pueden oxidar las LDL nativas modificándolas a LDL oxidadas, que son reconocibles por el receptor barrendero de los monocitos-macrófagos que las fagocitan rápidamente. (88, 89)

2) *La permeabilidad endotelial*, que no sólo comprende la de la membrana celular sino también la de la

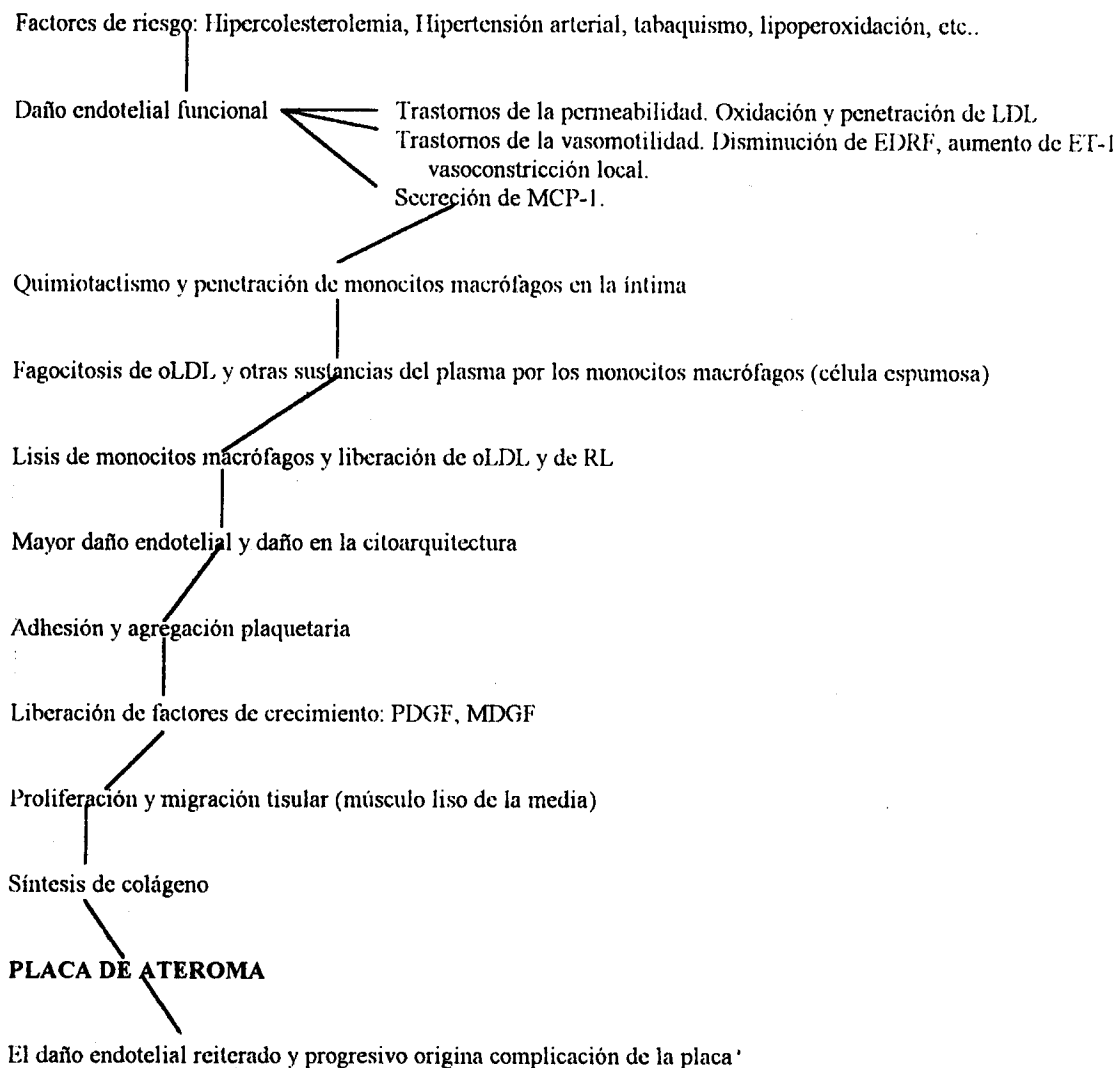


Fig. 2. Resumen gráfico del mecanismo etiopatogénico de la placa de ateroma. EDRF: factor relajante del endotelio. ET-1: endotelina 1. MCP-1: factores quimiotácticos para monocitos. oLDL: LDL oxidada. RL: radicales libres. PDGF: factor de crecimiento plaquetario. MDGF: factor de crecimiento de los monocitos.



superficie endotelial, en la cual tienen importancia los factores de adhesión de las células endoteliales entre sí, en especial *las integrinas*. Todo elemento químico o físico que provoque daño endotelial altera la permeabilidad del endotelio. Experimentalmente, en presencia de anticuerpos contra integrinas se altera marcadamente la permeabilidad endotelial, disminuyendo su capacidad de restringir el pasaje de macromoléculas hacia la íntima arterial. (83)

3) *La trombomodulina*, glicoproteína integrante de la membrana celular endotelial, la que inhibe la coagulación intravascular y la agregación plaquetaria inducida por trombina. (13-16)

4) *El aporte del endotelio a la fibrinólisis endógena*, por la *síntesis endotelial de t-PA*, la cual se incrementa en presencia de fibrina. (18) Es de destacar que las lipoproteínas inhiben este proceso. (21) El PAI-1 sintetizado por el endotelio y su relación con el t-PA hacen al equilibrio óptimo entre riesgo trombótico y hemorrágico. (22) La elevación de la LPA, al competir con el plasminógeno por los sitios de ligadura a la superficie endotelial, lleva a un estado que favorece la trombosis, dado que la unión al endotelio del t-PA y la plasmina los protege de su inactivación por PAI-1 y alfa-2 antiplasmina respectivamente. (23)

5) *La uroquinasa (UP.A)* segregada por el endotelio, que contribuye también al poder fibrinolítico endógeno. Permanece próxima a los receptores endoteliales para plasminógeno, posibilitando la activación de éste a plasmina. La permanencia de la UP.A en la superficie del endotelio mantiene protegida a la plasmina de su inhibición por alfa-2 antiplasmina. (22)

6) *La capacidad del endotelio de sintetizar prostaciclina (PGI 2)*, sustancia vasodilatadora con efecto antiagregante plaquetario e inhibidora de la síntesis de endotelina. (24, 58)

7) *La síntesis del factor relajante derivado del endotelio (EDRF)*, cuyo principio, el ON, es vasodilatador, antiadhesivo y antiagregante plaquetario e inhibidor de la síntesis de endotelina. (25, 35, 36, 38, 58) Las LDL reducen la liberación endotelial del ON. (90, 91) La arteria con aterosclerosis tiene alterada su capacidad de liberar ON. (92) Se ha señalado que por ser estimulada su síntesis, entre otras sustancias, por ADP y serotonina, liberadas durante la agregación plaquetaria, el ON puede favorecer el arrastre de agregados plaquetarios en formación, merced a la vasodilatación que produce, con incremento secundario del flujo circulante. (26)

La inhibición de la adhesividad y agregabilidad plaquetarias a través del ON, de la PGI 2 y de la trombomodulina, tiene no sólo efecto antitrombótico, sino también antimitogénico sobre el músculo liso arterial, dado que el factor de crecimiento plaquetario (PDGF), liberado durante la agregación plaquetaria

no sólo es el de mayor importancia en la proliferación del músculo liso arterial, sino también el único que promueve la migración de la célula muscular lisa desde la túnica media hacia la íntima arterial, constituyéndose la célula mioíntimal ya presente en la placa en estadios precoces de la aterosclerosis. (93)

8) *La endotelina I (ET-1)*, polipéptido de 21 aminoácidos producido por el endotelio, que posee efecto vasoconstrictor intenso y duradero, y también mitogénico sobre el músculo liso arterial. (45, 46) Se ha comprobado que la concentración de endotelina en plasma está aumentada en pacientes con aterosclerosis avanzada y en relación con la extensión de los territorios comprometidos. (94, 95). Igualmente se comprobó su aumento en el plasma de pacientes con infarto agudo de miocardio. (96, 97) Zeiher y colaboradores comprobaron aumento de la concentración de ET-1 en placas ateroscleróticas, especialmente en las complicadas. (98, 99)

9) La capacidad de producir *factores que estimulan la proliferación de las células musculares lisas de la túnica media (PDGF)* y de *factores inhibidores del crecimiento (H.-S. y TGFB)*. (10)

10) También puede participar en el complejo mecanismo patogénico de la aterosclerosis, en lo que a la función endotelial atañe, la alteración del glicocálix de la superficie luminal del endotelio.

## CONCLUSIONES

En las dos últimas décadas se ha producido un notable avance en el conocimiento de las funciones del endotelio arterial, el que ha dejado de ser una simple barrera semipermeable que separa la sangre circulante de la pared arterial, para ser un elemento activo, con numerosas funciones que participan en la biología de la circulación y de la estructura y función de la propia pared arterial. En este sentido, es de interés el papel del endotelio en el proceso de la aterogénesis y su progresión. El problema dista de estar resuelto pero una aproximación al respecto sería la siguiente: en la lesión endotelial tipo I existen sólo alteraciones funcionales sin cambios morfológicos de las células. En esta fase de comienzo de la placa aterosclerótica se alteran la permeabilidad el endotelio, los factores de adhesión de las células endoteliales entre sí (*integrinas*), la síntesis endotelial de factores quimiotácticos para los monocitos (MCP-1), las funciones relacionadas con la vasomotilidad (en especial la liberación de EDRF) y se generan radicales libres de O<sub>2</sub>. En la lesión endotelial tipo II (placa fibrolipídica o ateroma clásico), y en la lesión tipo III (placa complicada) se agregan a las anteriores las siguientes: aumento de la secreción de ET-1; alteración en la capacidad de inhibir la liberación y la síntesis de los factores de crecimiento que estimulan la proliferación de las células musculares lisas

en la túnica media arterial; secreción de colágeno y migración de miocitos hacia la íntima arterial; alteración de las funciones que se relacionan con la coagulación y trombosis; alteraciones de las funciones que contribuyen a mantener la adhesión de las células del endotelio a la matriz subendotelial; y la citoarquitectura del endotelio.

En los estadios evolutivos más avanzados de la placa ateromatosa, todas las funciones del endotelio se encuentran severamente alteradas.

## SUMMARY

### ARTERIAL ENDOTHELIAL FUNCTIONS: ITS RELATIONSHIP WITH ATHEROSCLEROSIS

Arterial endothelium is not a simple barrier that separates the circulating blood from the arterial wall, but, on the other hand, it is an active element that performs several metabolic functions that participate in the biology of circulation and the arterial wall itself. Several functions are described analyzing in particular those related to the coagulation and thrombosis, vasomotility, and those that keep the integrity of the endothelium stratum and its permeability. Endothelial functions are fulfilled depending on some substances that integrate the endothelial cell or are synthesized and released by it: thrombomodulin, tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor type 1, urokinase, prostacyclin, endothelium derived relaxing factor, nitric oxide, endothelins and, in particular, endothelin-1, glycosaminoglycans, endothelium derived hyperpolarizing factor, endothelium derived contracting factor, integrins and others. Several chemical, hormonal, and mechanical stimuli, as the tangential stress of the circulating blood flow (shear stress), can act on the endothelial cell activating or inhibiting the secretion and release of the substances mentioned above. It is suggested a correlation between the alterations of endothelial function and pathogenic aspects of atherosclerosis in its different stages.

*Key words* Endothelial functions - Atherosclerosis

## BIBLIOGRAFIA

- Spark HV. Endothelial cells: not just a cellophane wrapper. *Arch Intern Med* 1987; 147: 569-573.
- Nerem RM, Harrison DG, Taylor WR, Wayne Alexander R. Hemodynamics and vascular endothelial biology. *J Cardiovasc Pharm* 1993; 21 (Suppl 1): S6-S10.
- Nerem RM. Vascular fluid mechanics. The arterial wall and atherosclerosis. *J Biomech Eng* 1992; 114: 274-282.
- Silkworth JB, Stehens WE. The shape of endothelial cells in face preparation of rabbit blood vessels. *Angiology* 1975; 26: 474-478.
- Levesque MJ, Liepsch D, Moravec S, Nerem RM. Correlation of endothelial cell shape and wall shear stress in a stenosed dog aorta. *Atherosclerosis* 1989; 9: 439-445.
- Dewey CF, Bussolari SR, Gimbrone MA Jr, Davies PF. The dynamic response of vascular endothelial cells to fluid shear stress. *J Biomech Eng* 1981; 103: 177-181.
- Levesque MJ, Nerem RM. The elongation and orientation of cultured endothelial cells in response to shear stress. *J Biomech Eng* 1985; 107: 341-347.
- Levesque MJ, Sprague EA, Nerem RM. Vascular endothelial cell proliferation in culture and the influence of flow. *Biomaterials* 1990; 11: 702-707.
- Caldwell PR. Angiotensin-converting enzyme: vascular endothelial localization. *Science* 1976; 191: 1050-1051.
- Lüscher TF, Tanner FC, Tschud MR, Noll G. Endothelium dysfunction in coronary artery disease. *Ann Rev Med* 1992; 44: 395-418.
- Legrand Y, Drouet L. Hémostase et paroi artérielle. Les maladies de la paroi artérielle. Paris. Flammarion. Médecine/Sciences, 1987; 106-119.
- Milei J, Mann J, Storino R. Patología de la aterosclerosis coronaria. *Rev Argent Cardiol* 1984; 51: 436-458.
- Walker FJ, Sexton PW, Esmon CT. The inhibition of blood coagulation by activated protein C through the selective inactivation of activated factor V. *Biochem Biophys Acta* 1979; 571: 332-337.
- Esmon NL, Owen WG, Esmon CT. Isolation of membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *J Biol Chem* 1982; 257: 859-865.
- Mitchell CA, Hau L, Salem HH. Control of thrombin mediated cleavage of protein S. *Thromb Haemost* 1986; 56: 151-157.
- Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 1989; 264: 4743-4749.
- Pearson JD. The control of production and release of haemostatic factors in the endothelial cell. *Baillieres Clin Haematol* 1993; 6: 629-651.
- Kooistra T, Schrawen Y, Arts J, Emeiss JJ. Regulation of endothelial cell t-PA synthesis and release. *Int J Haematol* 1994; 59: 233-255.
- Levin EG, del Zoppo GI. Localization of tissue plasminogen activators in the endothelium of a limited number of vessels. *Am J Pathol* 1994; 144: 855-861.
- Diomedea SL, Eskin SG, McIntire LV. Fluid stimulates tissue plasminogen activator secretion in cultured human endothelial cells. *Science* 1989; 243: 1483-1485.
- Levin EG, Miles LA, Fless GM, Scanu AM, Baynham P, Curtis LK y col. Lipoproteins inhibit secretion of tissue plasminogen activator from human endothelial cells. *Arterioscl Thromb* 1994; 14: 438-442.
- Menashi S, Lu H, Soria C, Legrand Y. Endothelial cells proteases: physiological role and regulation. *Baillieres Clin Haematol* 1993; 6: 559-576.
- Shih GC, Hajjar KA. Plasminogen and plasminogen activator assembly on the human endothelial cell. *Proc Soc Exp Biol Med* 1993; 202: 258-264.
- Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transform prostaglandin endoperoxidase to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976; 263: 663-665.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Relationships between prostacyclin and nitric oxide in the thrombotic process. *Thromb Res* 1990; 11 (Suppl): 3-13.
- Delonca J, Balteaux V, Giraud T, Sánchez RY. EDRF/NO et fonctions endothéliales. *Arch Mal Coeur* 1993; 86: 1617-1624.
- Braquet P, Chabrier PE, Clostre F. Les fonctions de l'endothelium. *La Presse Médical* 1994; 23: 225-227.
- Villardel Latorre E. Biosíntesis y metabolismo de las prostaglandinas. *En: Farreras-Rozman. Medicina Interna* (12°

- ed). Barcelona, España, Doyma SA Ed, 1992; 1956.
29. Moncada S, Vane J. Pharmacology and endogenous role of prostaglandin endoperoxides, tromboxane A2 and prostacyclin. *Pharmacol Rev* 1979; 30: 293-331.
  30. Wallis J, Moses JW, Borer JS, Weksler BB, Goldberg HL, Fisher J y col. Coronary blood flow in coronary artery disease: heparin induced potentiation caused by prostacyclin release. *Circulation* 1982; 66 (Suppl II): 263.
  31. Frangos JA, McIntire LV, Eskin SG, Ives CL. Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells. *Science* 1985; 227: 1477-1479.
  32. Grabowski EF, Jaffe EA, Weksler BB. Prostacyclin production by cultured human endothelial cells exposed to steps increases in shear stress. *J Lab Clin Med* 1985; 105: 36-43.
  33. De Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9797-9800.
  34. Vane JR. Endothelin-1 releases prostacyclin and inhibits *ex vivo* platelets aggregation in the anesthetized rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13 (Suppl 5): S138-S141.
  35. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 299: 373-376.
  36. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release account for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-526.
  37. Broten TP, Miyashiro JK, Moncada S, Feigl EO. Role of endothelium-derived relaxing factor in parasimpatic coronary vasodilatation *Am J Physiol* 1992; 262: H1579-H1584.
  38. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. The antiaggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987; 92: 639-646.
  39. Shah AM y col. Endothelium-derived relaxing modulates the duration of myocardial contraction. *Circulation* 1991; 84: II-308.
  40. Smith JA y col. Factors released from endocardium of the ferret and pig modulate myocardium contraction. *J Physiol* 1991; 439: 1-14.
  41. Rubani GM, Vanhoutte PM. Nature of endothelium-derived relaxing factor: are there two relaxing mediators? *Circ Res* 1987; 61: S61-S67.
  42. Vanhoutte PM. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-415.
  43. Vanhoutte PM, Auch-Schwelk W, Boulanger C. Does endothelin I mediate endothelium-dependent contraction during anoxia? *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13: 124-128.
  44. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333: 356-363.
  45. Clarke JG, Benjamin N, Larkin SW, Webb DJ, Davies GJ, Maseri A. Endothelin is a potent long-lasting vasoconstrictor in men. *Am J Physiol* 1989; 257: H2033-H2035.
  46. Simonson MS, Herman WH. Protein kinase C and protein tyrosine kinase activity contribute to mitogenic signaling by endothelin I: Cross-talk between G protein-coupled receptors and pp60c-src. *J Biol Chem* 1993; 268: 9347-9357.
  47. Goligorsky MS, Tsukahara H, Magazine H, Anderssen TT, Malik AB, Bahou WF. Termination of endothelin signaling: role of nitric oxide. *J Cell Physiol* 1994; 158: 485-494.
  48. Yang Z, Von Segesser L, Bauer E, Stultz P, Tschudi M, Lüscher TF. Different activation of endothelial L-arginine and ciclooxigenase pathway in human internal mammary artery and saphenous vein. *Circ Res* 1991; 68: 52-60.
  49. Miller VM, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions to arachidonic acid are mediated by products of ciclooxigenase. *Am J Physiol* 1985; 248: 432-437.
  50. Rubanyi GM. Vascular effects of oxigen-derived free radicals. *Free Radicals Biol Med* 1988; 4: 107-120.
  51. Katusic ZS, Vanhoutte PM. Superoxide anion is an endothelium derived contracting factor. *Am J Physiol* 1984; 257: H33-H37.
  52. Inoue A, Yanagisawa M, Mitsui Y, Kobashi M, Masaki T. The human prepro-endothelin-1 gene. *J Biol Chem* 1989; 264: 14954-14959.
  53. De Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9797-9800.
  54. Wei CM, Lerman A, Rodecheffer RJ y col. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation* 1994; 89: 1580-1586.
  55. Xu D, Emoto N, Giad A. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalizes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell* 1994; 78: 473-485.
  56. Ito H, Hirata Y, Adachi S. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin-induced hypertrophy in culture rat cardiomyocytes. *J Clin Invest* 1993; 92: 398-403.
  57. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA y col. Effects of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction: results of the survival and ventricular enlargement trial. *N Engl J Med* 1992; 327: 669-677.
  58. Boulanger C, Lüscher TT. Release of endothelin from the porcine aorta: inhibition by endothelium derived nitric oxide. *J Clin Invest* 1990; 85: 587-590.
  59. Prins BA, Hu RM, Nazario B y col. Prostaglandin E2 and prostacyclin inhibit the production and secretion of endothelin from cultured endothelial cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 11938-11944.
  60. Hu RM, Levin ER, Pedram A, Frank HJL. Atrial natriuretic peptide inhibits the production and secretion of endothelin from cultured endothelial cells: mediation through the C receptor. *J Biol Chem* 1992; 267: 17384-17389.
  61. Kohno M, Yasunari K, Yokokawa K, Murakawa K, Horio T, Takeda T. Inhibition by atrial and brain natriuretic peptides of endothelin-1 secretion after stimulation with angiotensin II and thrombin of cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1991; 87: 1999-2004.
  62. Dejana E. Endothelial cell integrin receptors. *En: Gordon JI (ed). Vascular endothelium: interactions with circulating cell.* Amsterdam, Elsevier, 1991; 31-41.
  63. Simionescu M, Simionescu N. Endothelial transport macromolecules. Transcytosis and endocytosis. *Cell Biol Rev* 1991; 25: 5-80.
  64. Dejana E. Endothelial cell adhesive receptors. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 21 (Suppl 1): S18-S21.
  65. Hynes RO. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell* 1986; 48: 549-544.
  66. Newman PJ, Berndt MC, Gorski J. PECAM-1(CD31) cloning and relation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily. *Science* 1990; 247: 1219-1222.
  67. Albelba SM, Oliver PD, Romer LH, Buck CA. Endo CAM: a novel endothelial cell-cell adhesion molecule. *J Cell Biol* 1990; 110: 1227-1237.
  68. Heimark RL, Degener M, Schwarz SM. Identification of a Ca<sup>++</sup> dependent cell-cell adhesion molecule in endothelial cells. *J Cells Biol* 1990; 110: 1745-1756.
  69. Van Mourik JA, Von dem Borne AEGK, Giltay JG. Pathophysiology significance of integrin expression by vascular endothelial cells. *Biochem Pharmacol* 1989; 39: 233-239.
  70. Marchisio PC. Integrins and tissue organization. *Prog Neuroimmunol* 1991; 1: 213-233.
  71. Cheresch D. Human endothelial cell synthesize and express an arg-gly-asp directed adhesion receptor involved in attachment to fibrinogen and von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 6471-6475.

72. Dejana E, Lampugnani MG, Giorgi M y col. Von Willebrand factors promotes endothelial cell adhesion via an arg-gly-asp dependent mechanism. *J Cell Biol* 1989; 109: 367-375.
73. Conforti G, Zanetti A, Pasqual-Ronchetti I, Quaglino D Jr, Meyroz P, Dejana E. Modulation of vitronectin receptor binding by membrane lipid composition. *J Biol Chem* 1990; 265: 4011-4019.
74. Lawler J, Weinstein R, Hynes RO. Cell attachment to thrombospondin: the role of arg-gly-asp; calcium and integrin receptors. *J Cell Biol* 1988; 107: 2351-2361.
75. Kramer RH, Mc Donald KA, Vu MP. Human microvascular endothelial cells use  $\beta 1$  and  $\beta 3$  integrin receptor complexes to attach to laminin. *J Biol Chem* 1989; 264: 15642-15649.
76. Bar-Shabit R, Sabbah V, Lampugnani MG y col. An arg-gly-asp sequence within thrombin promotes endothelial cell adhesion. *J Cell Biol* 1991; 112: 335-344.
77. Ruoslahti E, Piuschbacher MD. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 1987; 238: 491-493.
78. Ingberg DE. Fibronectin controls capillary endothelial cells growth by modulating cell shape. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 3579-3583.
79. Albelba SM, Buck CA. Integrins and other cell adhesion molecules. *FASEB J* 1990; 4: 2860-2880.
80. Dejana E, Colella S, Conforti G, Abbadini M, Gaboli M, Marchisio PC. Fibronectin and vitronectin regulate the organization of their respective arg-gly-asp adhesion receptors in cultured human endothelial cells. *J Cell Biol* 1988; 107: 1215-1223.
81. Burridge K. Substrate adhesion in normal and transformed fibroblast: organization and regulation of cytoskeletal membrane and extracellular matrix components at focal contacts. *Cancer Rev* 1986; 4: 18-78.
82. Burridge K, Fath K, Kelly T, Muckolls G, Turner C. Focal adhesion: transmembrane junctions between the extracellular matrix and cytoskeleton. *Ann Rev Biol* 1988; 4: 487-525.
83. Lampugnani MG, Resnati M, Dejana E, Marchisio PC. The role of integrins in the maintenance of endothelial monolayer integrity. *J Cell Biol* 1991; 12: 479-490.
84. Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH, Badimon L. Coronary atherosclerosis. A multifactorial disease. *Circulation* 1993; 87 (Suppl II): 3-15.
85. Berreta JA Jr, Berreta JA. Atherosclerosis. Aproximación a su patogenia. *Rev Argent Cardiol* 1994; 62: 465-470.
86. Schwartz CJ, Valente AA, Sprague A, Kalley JL, Merem RM. The pathogenesis of atherosclerosis. *An Review CI Card* 1991; 14: 1-6.
87. Berluner JA, Territo M, Almada L, Carter A, Shafonsky E, Fogelman AM. Monocyte chemotactic factor produced by large vessel endothelial cells in vitro. *Atherosclerosis* 1986; 6: 524-528.
88. Milei J, Vila S, Ferreira R. Atherosclerosis y radicales libres de oxígeno. *Rev Argent Cardiol* 1994; 62: 581-587.
89. Berreta JA Jr, Berreta JA, Kociak DE. Inhibición de la oxidación de las LDL plasmáticas. *Geriatría Práctica* 1995; 5: 23-27.
90. Nole G, Süscher TF. Influence of lipoproteins on endothelial functions. *Trombosis Research* 1994; 74 (Suppl I): 545-554.
91. Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K, Cohen RA. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscl Thromb* 1994; 14: 753-759.
92. Tamini H, Mansour M, Wargovich TJ, Hill JA, Kerensky RA, Conti CR y col. Constrictor and dilator response to intracoronary acetylcholine in adjacent segments of the same coronary artery in patients with coronary artery disease. *Endothelial function revisited. Circulation* 1994; 89: 45-51.
93. Clowes AN, Reidy MA, Clowes MM. Mechanisms of stenosis after arterial injury. *Lab Invest* 1985; 59: 139-145.
94. Lerman A, Edwards B, Hallet J, Heublein D, Sandberg S, Burnet J. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *N Engl J Med* 1991; 325: 997-1001.
95. Salomone D, Dashawood D, Kaski JC. Endotelinas y enfermedad coronaria. *Rev Argent Cardiol* 1995; 63: 525-532.
96. Miyachi T, Yanagisawa M, Temizawa T. Increased plasma concentration of endothelin-1 and big endothelin-1 in acute myocardial infarction. *Lancet* 1989; 2: 53-54.
97. Tomada H. Plasma endothelin-1 in acute myocardial infarction with heart failure. *Am Heart J* 1993; 125: 667-672.
98. Zehier AM, Ihling C, Pistorius K. Increased tissue endothelin immunoreactivity in atherosclerotic lesions associated with acute coronary syndromes. *Lancet* 1994; 344: 1405-1406.
99. Zehier AM, Goebel H, Schachinger V, Ihling C. Tissue endothelin-1 immunoreactivity in the atherosclerotic coronary atherosclerotic plaque. *Circulation* 1995; 91: 941-947.