

Interrogando al endotelio

RICARDO J. ESPER

RESUMEN

El endotelio es una delgada capa monocelular que cubre la superficie interna de los vasos sanguíneos, separando la sangre circulante del intersticio tisular. No es un órgano inerte y, por el contrario, funciona como receptor efector y ante cada estímulo físico o químico responde con la liberación de la sustancia adecuada para mantener el equilibrio vasomotor y la homeostasis vascular-tisular. Presenta la característica de producir independientemente sustancias agónicas o antagónicas que contribuyen al equilibrio y su función no es sólo autocrina sino paracrina y endocrina. De esta manera, modula el tono de las células musculares lisas de la pared vascular provocando su relajación o contracción, condicionando vasodilatación o vasoconstricción, regula la hemostasia controlando la producción de protrombógenos o antitrombógenos, y de fibrinolíticos y antifibrinolíticos; interviene en la proliferación y migración celular, en la adhesión y activación leucocitaria y en los procesos inflamatorios e inmunitarios. Los factores de riesgo cardiovascular provocan un estrés oxidativo que altera la capacidad de la célula endotelial y conduce a la llamada "disfunción" endotelial, reduciendo su capacidad de mantener la homeostasis humoral tisular y termina con la instalación de procesos patológicos que instaurarán la enfermedad vascular. En la presente revisión se comenta el mecanismo íntimo y la biología molecular de la función endotelial y se reseñan las técnicas utilizadas para la evaluación de su capacidad funcional. Estas se basan en la magnitud de producción de óxido nítrico y la consiguiente vasodilatación. El porcentaje de vasodilatación respecto de los valores basales indica la capacidad funcional endotelial. Teniendo en cuenta que la presión de rozamiento (*shear stress*) es uno de los estímulos más importantes para la producción/liberación de óxido nítrico, la técnica incruenta más empleada es la consideración de la vasodilatación posisquemia transitoria, realizada por lo general sobre arterias de conductancia accesibles al examen físico, como la humeral, la radial o la femoral. Como esa vasodilatación depende de la capacidad del endotelio de liberar óxido nítrico, se ha nominado "endotelio dependiente". Esa vasodilatación se confronta con la provocada por la administración de fármacos dadores de grupos nitro, como la nitroglicerina, a la que se denomina "endotelio independiente". La magnitud de la vasodilatación se considera con la medición del diámetro arterial por medio de ultrasonografía de alta resolución. REV ARGENT CARDIOL 2000; 68: 429-439.

Palabras clave Endotelio - Aterosclerosis - Vasodilatación - Ultrasonografía - Ecocardiografía - Factores de riesgo

"La explicación sencilla sigue siempre a la solución compleja"

LUNSFORD

Durante muchos años se consideró al endotelio como una cubierta endovascular cuya única función era impedir la coagulación intravascular. Sin embargo,

en las últimas décadas, el reconocimiento de sus múltiples funciones lo destacan como un verdadero regulador del flujo sanguíneo y de la homeostasis humoral-tisular. Está constituido por una delgada capa unicelular, pero considerada en su totalidad pesa más que un hígado, tiene una masa semejante a la de cinco corazones y, extendida en superficie, pue-

Profesor de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Profesor de Cardiología, Universidad del Salvador. Ex Presidente, Sociedad Argentina de Cardiología. Fellow, American College of Cardiology. Fellow, American Heart Association. Interamerican Representative, Executive Board, World Heart Federation

Trabajo recibido para su publicación: 3/2000. Aceptado: 4/2000

Dirección para separatas: Virrey Loreto 2111, (1426) Buenos Aires, Argentina - E-mail: ricardo.esper@mundomail.net

de cubrir media docena de canchas de tenis. Por esta razón se puede asumir que el endotelio es la glándula más grande e importante del organismo. (1)

Características morfológicas de la célula endotelial

Básicamente, la célula endotelial presenta las mismas características fundamentales de toda célula del organismo humano; tiene un núcleo central rodeado por el citoplasma con sus organelas y cubierto por el sarcolema o membrana celular. Sin embargo, muestra algunos atributos que le son propios. La membrana está constituida por bicapas fosfolipídicas separadas por compartimientos acuosos y atravesadas por proteínas complejas que funcionan como receptores o canales iónicos. Se calcula que cada célula posee aproximadamente unos 10.000 receptores específicos diferentes. El citoplasma está surcado por distintos tipos de proteínas contráctiles: actina, miosina, tropomiosina, α -actina y otras, que permiten actividades motoras. (2) Algunas están organizadas en estructuras, como la membrana cortical, el sistema de filamentos de actina relacionados con la unión intercelular, y las fibras estriadas de tensión (Figura 1).

La *membrana cortical (cortical web)* rodea la superficie interna del sarcolema y es la responsable de la

forma y elasticidad celular. Es sensible a los cambios de tensión intravascular e incrementa su rigidez con el aumento de la presión dentro del vaso. Además, se encarga del anclaje de las diversas proteínas de la membrana, entre ellas la anexina, que regula la exocitosis y la endocitosis, las E-selectinas y la caderina, relacionadas con la adherencia de leucocitos y plaquetas. La adherencia de los elementos formes y su pasaje a través de la célula endotelial dependen de la integridad de esta membrana cortical (Figura 1).

El sistema de *filamentos de actina en relación con la unión intercelular (function-associated actin filament system)*, conocido como sistema FAU, se encuentra en los espacios intercelulares y su contracción-relajación controla la dimensión del espacio intercelular. De esta manera, regula el pasaje de solutos y micromoléculas entre sangre y espacio subendotelial. Su funcionamiento es accionado por las concentraciones de Ca^{2+} , segundo mensajero intracelular de la función externa de las células con actividades intermitentes o cíclicas, y la energía es proporcionada por el trifosfato de adenosina (ATP). Las citoquinas proinflamatorias, los radicales libres oxidantes, la trombina, el factor de activación plaquetaria, el incremento de las concentraciones de Ca^{2+} en los esta-

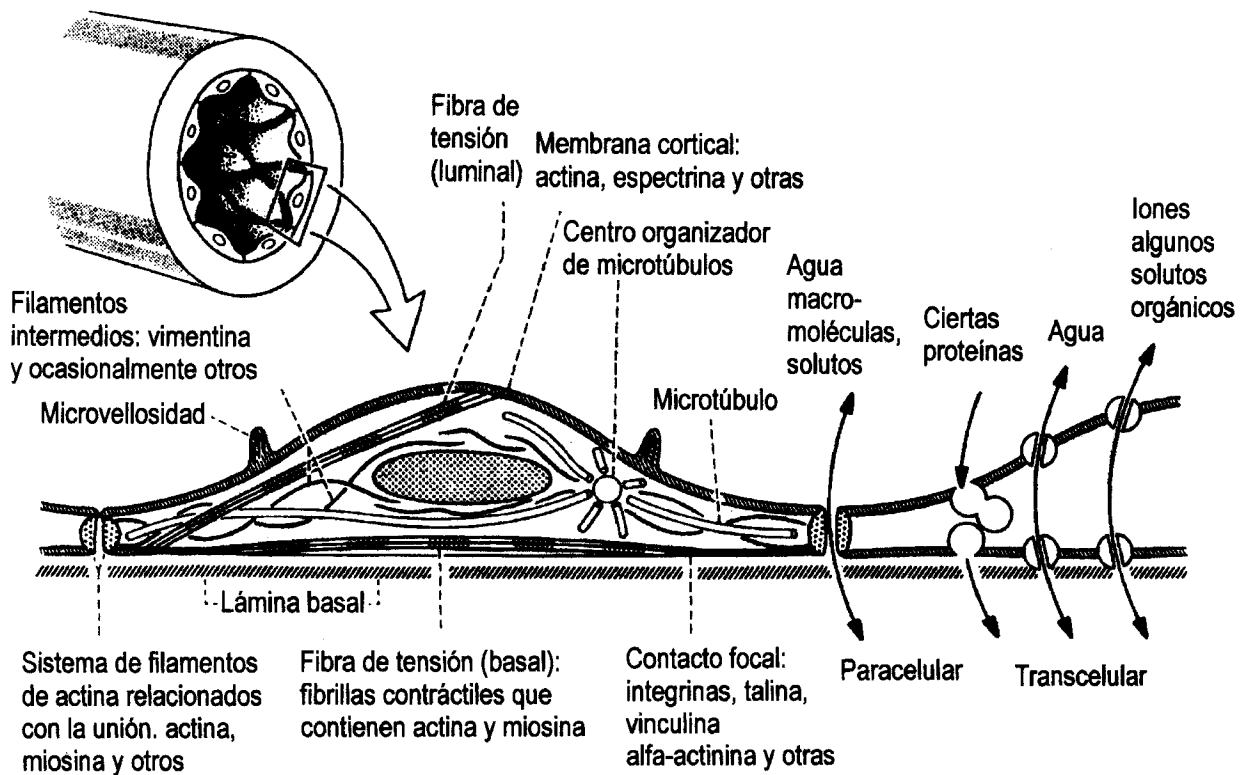


Fig. 1. Esquema de organización de las estructuras de la célula endotelial vascular. Modificado de Drenckhahan D, Ness W. (2)

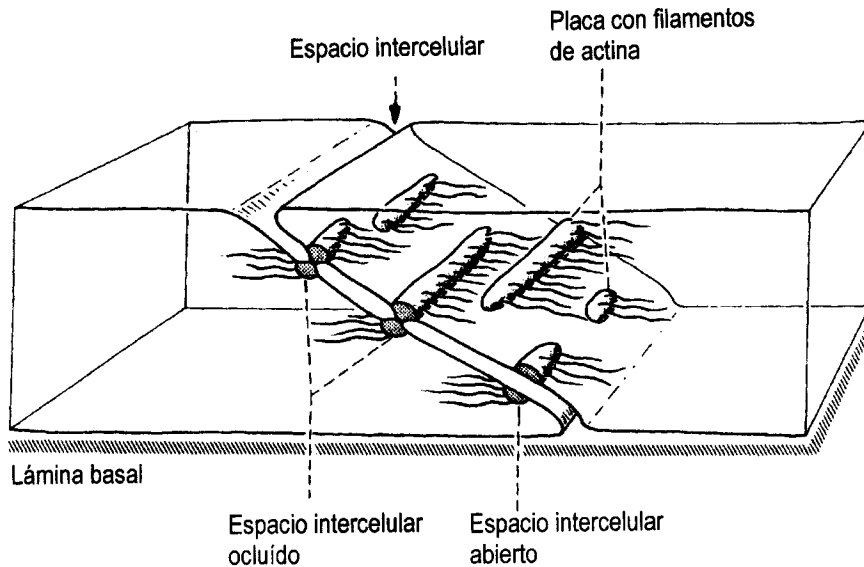


Fig. 2. Espacio intercelular entre células del endotelio vascular. Sistema de filamentos de actina intercelular (sistema FAU). Modificado de Drenckhahan D, Ness W. (2)

dos isquémicos, el agotamiento del ATP y otras sustancias tóxicas alteran sus funciones esenciales, permitiendo un ensanchamiento del espacio intercelular y, con ello, de la permeabilidad endotelial. El sistema FAU está estrechamente ligado a las moléculas de adhesión intercelular, en especial con la VE-caderina, manteniendo un equilibrio entre las fuerzas de adhesión y las contráctiles. Tanto el monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), originado por vía de las prostaciclina, como el monofosfato de guanosina (cGMP), generado por medio del óxido nítrico (NO), son segundos mensajeros que estabilizan el sistema FAU y contrarrestan la inducción de separación intercelular. De igual manera se comportan los nitritos, fármacos donantes de NO. La activación de la proteinquinasa C tiene efectos opuestos (Figura 2).

Las *fibras estriadas de tensión (stress fibers)* están constituidas por filamentos de actina y miosina intercalados en forma semejante al músculo estriado, y cruzan el citoplasma en todos los sentidos (Figura 1). Son más abundantes en las células sometidas a regímenes de mayor presión y fricción por la sangre circulante. Como todo tejido muscular, su contracción y relajación dependen de las concentraciones de Ca^{2+} intracelular y de la presencia de ATP. Su principal función es la de ayudar a adaptar la forma celular a las fuerzas mecánicas del flujo de la sangre y de la distensión de las paredes, reduciendo la posibilidad de lesión celular. Cuando aumenta el flujo se incrementa la presión de rozamiento (*shear stress*) y las células se aplanan y alinean en el sentido de la corriente, mientras que cuando disminuye el flujo la presión de rozamiento se reduce y las células se engruesan, pierden su alineación y semejan un piso empedrado irregular. Los cambios morfológicos ad-

quieran envergadura en el flujo capilar, porque pueden llegar a retardar e incluso impedir el flujo, como se observa bajo la acción de la serotonina, la histamina, la noradrenalina y la trombina.

Es destacable el mecanismo de circulación de los elementos formes de la sangre a través de los capilares, teniendo en cuenta que sus diámetros suelen ser mayores que los de la luz capilar. Esto se debe a dos mecanismos; por una parte, a la flexibilidad y la capacidad de deformación de ambas células, tanto las endoteliales como los corpúsculos sanguíneos y, por otra, que ambas superficies tienen carga electrostática negativa y se rechazan facilitando su desplazamiento. Las células endoteliales tienen una carga electrostática negativa producida por altas concentraciones de ácido siálico electronegativo en su superficie, y su disminución o eliminación por diversas toxas entorpece o impide la microcirculación y predispone a la trombosis.

La membrana celular está sembrada de pequeñas cavidades con formas variadas, que por momentos semejan un saco o bolsillo, en otros protruyen fuera de la membrana, a veces son aplanados y no se distinguen de ella, pero que tienen en común su riqueza en lípidos, siringomiélin, estructuras proteicas complejas y múltiples receptores. Los receptores son del tipo acoplados a la proteína G, con 7 dominios que atraviesan la membrana y dejan asas extracelulares e intracitoplasmáticas. La estimulación de estos receptores provoca la degradación del trifosfato de inositol a diacilglicerol y monofosfato cíclico de inositol y este último, como segundo mensajero, activa diferentes tirosinquinasa con diversas acciones biológicas. Estas cavidades son tan abundantes que se supone que ocupan entre el 5% y el 10% de la superficie total de la membrana. (3) Se las ha denomi-

nado "cavéolas" y se presume que son áreas receptoras-efectoras de la membrana celular (Figura 1).

Fisiopatología del endotelio

La célula endotelial se comporta como una estructura receptora-efectora. Sensa los distintos estímulos físicos y químicos que producen los diversos fenómenos en el interior del vaso y, en consecuencia, modifica su morfología o libera sustancias adecuadas que contrarrestan el fenómeno para mantener la homeostasis del medio. Es capaz de producir un sinnúmero de moléculas, pero con la característica de que siempre genera agonistas y antagonistas, de manera de

poder equilibrar el fenómeno en ambas direcciones. De esta forma, produce sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, procoagulantes y anticoagulantes, inflamatorias y antiinflamatorias, fibrinolíticas y antifibrinolíticas, oxidantes y antioxidantes, y muchas otras que se resumen en la Tabla 1. (1, 4) Cuando la célula endotelial pierde su capacidad para mantener este delicado equilibrio, se crean las condiciones que facilitan su penetración por los lípidos y los leucocitos iniciando la estría grasa, primer paso de la formación de la placa aterosclerosa o genera los fenómenos inflamatorios que contribuyen a su ruptura, o posibilita la trombogénesis y la oclusión del vaso, o bien

Tabla 1
Algunas de las sustancias que libera la célula endotelial

Sustancias vasoactivas

Vasodilatadores

Oxido nítrico
Factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF)
Prostaciclina
Bradiquinina
Acetilcolina
Serotonina*
Histamina
Sustancia P

Vasoconstrictores

Endotelina
Angiotensina II
Tromboxano A₂
Acido araquidónico
Prostaglandina H₂
Trombina
Acetilcolina*
Nicotina
Serotonina*

Moduladores/mediadores del crecimiento

Estimulantes del crecimiento

Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)
Factor básico de crecimiento fibroblástico
Factor de crecimiento insulinoide-1
Interleuquina L-1
Endotelina
Angiotensina II

Inhibidores del crecimiento

Sulfato de heparán
Factor de transformación del crecimiento β
Oxido nítrico
Prostaciclina
Bradiquinina

Moduladores/mediadores de la inflamación

Adherencia molecular

Moléculas de adherencia leucocito-endotelial (ELAM)
Moléculas de adherencia intercelular (ICAM)
Moléculas de adherencia celular (VCAM)
Citoquinas proinflamatorias: TNF-α, IL-1, IL-6, NF-κB, interferón γ*
Citoquinas antiinflamatorias: IL-10, IF-κB, interferón γ*

Antígenos

Complejos mayores de histocompatibilidad II (MHC-II)

Factores hemostáticos y trombolíticos

Activador tisular del plasminógeno (t-PA)
Inhibidor del activador tisular del plasminógeno 1 (PAI-1)
Trombina
Factor tisular
Factor de von Willebrand
Trombomodulina

Citoquinas

Proaterogénicas

Factor de necrosis tumoral α (TNF-α)
Factor nuclear κB (NF-κB)
Interleuquinas IL-1, IL-6
Interferón γ*

Antiaterogénicas

Inhibidor del TNF-α
Inhibidor del NF-κB (IFκ-B)
Interleuquina IL-10
Interferón γ*

Modulación del sistema REDOX

* En diferentes circunstancias.

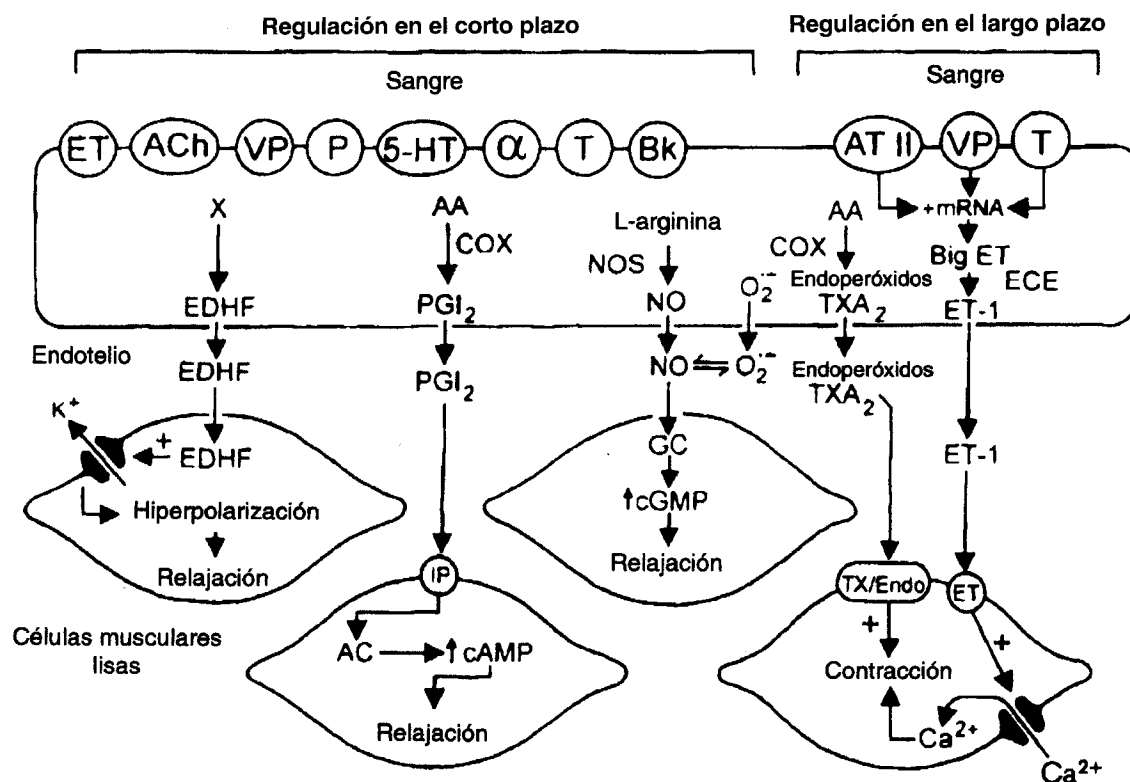


Fig. 3. La activación de los receptores endoteliales de la óxido nítrico sintetasa (NOS) produce óxido nítrico (NO), y de la ciclooxigenasa (COX) prostaciclina (PGI₂) a partir del ácido araquidónico (AA), el cual puede liberar el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF). El NO genera vasodilatación por la liberación de monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) a partir del trifosfato de guanosina por acción de la guanilatociclasa (GC). La PGI₂ genera vasodilatación por la acción de la adenilciclasa (AC) que libera AMP cíclico (cAMP). El EDHF provoca relajación por la apertura de los canales del potasio (K⁺). Cualquier incremento del calcio (Ca²⁺) citosólico provoca liberación de sustancias relajantes de la fibra muscular lisa. Los aniones superóxidos (O₂⁻), el tromboxano A₂ (TXA₂), los endoperóxidos y la endotelina-1 (ET-1) producen contracción a través de la activación de los receptores específicos (TX/Endo). La producción de ET-1 aumenta por la angiotensina II (ATII), la vasopresina (VP) o la trombina (T). Otros mediadores neurohumorales son la acetilcolina (ACh), la bradiquinina (BK), la serotonina (5HT), la adrenalina (α). Modificado de Vanhoutte PM. (4)

aumenta la resistencia periférica que provocará hipertensión, etc., situaciones éstas que conducen a la enfermedad vascular (Figura 3).

El óxido nítrico

La casi totalidad de los estímulos que producen vasodilatación se manifiestan por la liberación de NO. Este es un gas volátil, biológicamente activo, presente en casi todas las células del organismo, y gracias a su bajo peso molecular y su naturaleza lipofílica se difunde fácilmente a través de las membranas celulares. El NO endotelial alcanza el tejido muscular liso de la pared arterial y, a través de la nitrosilación del hemo de la enzima guanilatociclasa, degrada el trifosfato de guanosina liberando cGMP, molécula que regula la concentración del Ca²⁺ citosólico y provoca la relajación de la fibra muscular lisa, lo que conduce a la vasodilatación. (5)

El NO se genera por la acción de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) sobre el aminoácido L-arginina, que así produce NO y L-citrulina, requiriéndose además O₂ y nicotinamida-adenina-

dinucleótido-fosfato reducido (NADPH), coenzima primordial en los procesos de oxidorreducción. La tetrahydrobiopterina acelera esta síntesis y la favorecen otros cofactores como el dinucleótido flavina-adenina y los grupos tioles como la cisteína y el glutatión reducido. Se conocen tres isoenzimas NOS, dos constitutivas de baja producción, la NOS-I del tejido neurológico y la NOS-III de la célula endotelial que responden a los agonistas que elevan el Ca²⁺ intracelular, y la NOS-II inducible de alta producción y a nivel transcripcional. Esta última se expresa especialmente en los macrófagos por la acción de citoquinas proinflamatorias y puede llegar a producir 10 veces más NO que las constitutivas. Ambas NOS, la NOS-III constitutiva y la NOS-II inducible coexisten en la célula endotelial. La constitutiva libera NO por períodos breves cuando es estimulada por sustancias vasodilatadores, como la acetilcolina o la bradiquinina, y la inducible produce NO en forma prolongada cuando el estímulo parte de citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α). (5, 6)

El estímulo físico de mayor envergadura para la liberación de NO es la presión de rozamiento (*shear stress*) que se genera por el aumento del flujo dentro del vaso y que conduce a una vasodilatación cuya magnitud es directamente proporcional a la cantidad de NO liberado por el endotelio, luego es una vasodilatación "endotelio dependiente" mediada por el flujo. Los nitritos, ya sea por vía sublingual, oral, parenteral o transdérmica, son dadores de grupos nitro que liberan NO en la circulación, y provocan una vasodilatación independiente del endotelio, es decir "endotelio independiente" y sin relación con el flujo. (7)

El NO, además de ser vasodilatador, reduce la permeabilidad vascular, la síntesis de moléculas de adherencia leucocitaria y con ello la adherencia de estos elementos al endotelio, la oxidación tisular, la actividad de los factores trombogénicos, la inflamación tisular, el crecimiento, la proliferación y la migración celular, inhibe la expresión de citoquinas proaterogénicas y proinflamatorias y, además, favorece la trombólisis, factores todos que impiden la aterogénesis y sus complicaciones. Por esa razón el NO se considera la molécula antiaterogénica por excelencia. (8)

Como antagonista del NO, la célula endotelial libera angiotensina II (A_{II}) a consecuencia de la hidrólisis de la angiotensina I por acción de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA). A través de los receptores AT1, la A_{II} produce vasoconstricción y tiene acciones protrombogénicas, oxidantes, antifibrinolíticas, favorece la expresión de moléculas de adherencia y la adherencia leucocitaria, estimula los factores de crecimiento y la proliferación celular, activa la inflamación y expresa las citoquinas inflamatorias y proaterogénicas, todas acciones que facilitan la instalación de la aterosclerosis y sus complicaciones. Además, degrada la proendotelina (*big-endothelin*) liberando endotelina, el vasoconstrictor más poderoso de la economía. (9-11)

Como puede observarse, depende hacia dónde se incline el equilibrio entre estas dos moléculas, NO y A_{II} , para que prevalezca una acción vasodilatadora y antiaterogénica o vasoconstrictora y proaterogénica. No hace falta mayor producción de una de ellas, puede ser simplemente la menor síntesis de una que permita la prevalencia de cantidades habituales de la opuesta (Figura 3). El endotelio es el encargado de mantener una homeostasis que impida la instalación de la enfermedad, y ello depende de su capacidad de producir mayor cantidad de una u otra sustancia. Cuando declina o pierde esta capacidad en dirección a la enfermedad, se dice que existe "disfunción endotelial". Los factores de riesgo cardiovascular clásicos (hipercolesterolemia, hipertensión arterial, tabaco, diabetes, sedentarismo, etc.) y

los llamados nuevos factores de riesgo, como la lipoproteína Lp(a), hiperhomocisteinemia, las infecciones bacterianas por *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Cytomegalovirus*, virus del herpes zoster, o las bacterias responsables de la parodontosis, tienen todas un común denominador: la producción de un estado de estrés oxidativo que estimula la expresión del factor nuclear kappa B (NF- κ B) que conduce a la génesis de citoquinas proaterogénicas como el TNF- α , las interleukinas IL-1, IL-6, etc., las cuales provocan inhibición de la actividad de la NOS-III y con ello de la liberación de NO, mientras favorecen la síntesis y la actividad de la A_{II} . (12-16)

Es útil considerar la otra gran fuente de vasodilatación por la cascada de las prostaglandinas que terminan en la prostaciclina, la cual actuando sobre el trifosfato de adenosina libera monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), que regula el Ca^{2+} citosólico como el cGMP y provoca relajación y vasodilatación. Es un mecanismo alternativo que cobra significación en circunstancias especiales.

También es importante recordar que el sistema renina-angiotensina consiste en una cascada de reacciones enzimáticas que culminan con la formación de A_{II} , que se forma primordialmente por la hidrólisis de la A_I provocada por la ECA humoral o tisular, pero también se puede generar a partir de la A_I por otras enzimas independientes de la ECA, como la quimostatina y la catepsina, o directamente desde el angiotensinógeno con enzimas no renínicas, como el activador tisular del plasminógeno (t-AP), la catepsina G y la tonina. La ECA también degrada otros péptidos que son sustratos de esta enzima, como la sustancia P, la taquinina y la bradiquinina. Esta última actúa sobre la óxido nítrico-sintetasa e induce la génesis de NO y estimula la producción de prostaciclina, provocando efectos antagónicos a la A_{II} . Como se puede apreciar, la interrelación de agonistas y antagonistas es muy compleja y requiere un delicado equilibrio, que es la función primordial del endotelio. (18-20)

Evaluación de la función endotelial. Técnicas cruentas e incruentas

La disfunción endotelial, es decir la reducción de su capacidad de defensa ante los factores proaterogénicos, se puede considerar evaluando cualquiera de sus funciones. Por ejemplo, el dosaje de las moléculas de adherencia circulante, la consideración de las sustancias proaterogénicas y antifibrinolíticas, la evaluación de los marcadores séricos de inflamación, son elementos que indican, indirectamente, si el endotelio está ejerciendo una protección adecuada contra la instalación de las lesiones aterosclerosas o, al menos, si está en condiciones de proteger a las lesiones existentes para evitar accidentes. Todas son formas de eva-

luar lo que se ha dado en llamar la "función endotelial". Indudablemente, la función más fácil de evaluar y, hasta cierto límite, de poder cuantificar es la vasodilatación endotelio dependiente.

Las primeras experiencias para evaluar la vasodilatación arterial endotelio dependiente se realizaron con métodos cruentos a través de la *cateterización de las coronarias*. Consistía en la administración de sustancias vasodilatadoras en la circulación coronaria que indujeran la liberación de NO, como la acetilcolina, la metacolina, la papaverina, la sustancia P, etc. y la medición posterior del porcentaje de vasodilatación. Ludmer y colaboradores, (7) empleando esta técnica, comprobaron que la inyección de dosis crecientes de acetilcolina en arterias coronarias normales provocaba vasodilatación endotelio dependiente, mientras que en arterias coronarias con obstrucciones moderadas o severas se producía vasoconstricción paradójica, indicando el grado de disfunción endotelial. En cambio, si inyectaban nitroglicerina, donante exógeno de NO, se observaba siempre vasodilatación, en este caso endotelio independiente. La vasoconstricción paradójica se debe a la estimulación de los receptores muscarínicos del músculo liso por acción directa de la acetilcolina. Vita y colaboradores, (20) utilizando la misma metodología, comunicaron que el grado de vasodilatación coronaria provocada por la acetilcolina disminuía en razón inversa con el aumento de la concentración plasmática de colesterol total y su fracción LDL. Observaron también que la presencia de factores de riesgo cardiovascular, solos y en mayor razón asociados, guardaba una relación lineal inversa con la respuesta vasodilatadora endotelio dependiente, evidenciando la capacidad de generar disfunción endotelial y con efectos aditivos.

Posteriormente se utilizó la *pletismografía del antebrazo*. Esta técnica se puede considerar semiincruenta, o moderadamente incruenta. Consiste en colocar el antebrazo en un pletismógrafo de impedancia venosa e inyectar en la arteria humeral el mismo el fármaco que se ha de investigar, por lo general acetilcolina o metacolina. Panza y colaboradores (22, 23) estudiaron pacientes hipertensos y comprobaron en ellos una respuesta vasodilatadora menor en comparación con los controles. Además, los hipertensos mostraban un aumento de la resistencia periférica en relación con los normotensos que sería facilitada por la disfunción endotelial. Ello los condujo a postular que la disfunción endotelial podría ser uno de los factores que provocara la hipertensión arterial. Posteriormente, otros grupos de trabajo concluyeron que probablemente fuera la consecuencia de la hipertensión arterial y no su causa.

En la última década, Celermajer y colaboradores, (24) que habían comenzado sus experiencias con ple-

tismografía, concibieron la posibilidad de medir el grado de vasodilatación por *ultrasonografía*. Es una técnica no invasiva, fácil de repetir, y a través de los cambios que se producen en el tiempo permite conocer la evolución natural del padecimiento o evaluar las modificaciones que provocan las diferentes terapéuticas. Consiste en producir isquemia del antebrazo y observar el grado de vasodilatación posisquémica. La isquemia se provoca comprimiendo el brazo con un manguito de tensiómetro convencional insuflado a una presión superior en unos 30 mm Hg a la sistólica arterial durante 5 minutos. El desinflado del manguito induce un aumento marcado del flujo hacia las arterias periféricas que genera un incremento de la presión de rozamiento (*shear stress*), factor que estimula la liberación de NO que produce vasodilatación. El grado de vasodilatación es directamente proporcional al monto de NO que libera el endotelio y permite conocer la función endotelial. El aumento de flujo y el grado de vasodilatación se miden con ecografía y Doppler de la arteria humeral, y se expresan como porcentaje de incremento respecto de los valores basales. (25) También se puede realizar en el miembro inferior sobre la arteria femoral. (24)

Con esta técnica se ha descrito reducción gradual de la respuesta endotelio dependiente con la edad, por pérdida progresiva de la capacidad de producción de NO de las células endoteliales a través de los años. (26-28) También en los que presentan aterosclerosis de cierta magnitud sintomáticos o asintomáticos. (29, 30) De igual manera, en las mujeres menopáusicas por el déficit estrogénico, (31, 32) y en presencia de factores de riesgo cardiovascular como hipercolesterolemia, (33) hipertensión arterial, (34) tabaquismo activo (35, 36) o pasivo, (37) obesidad, (38) diabetes, (39) sedentarismo, (40) hiperhomocisteinemia, (41) y la mejora de la respuesta luego de la supresión o el control del defecto. Así, la disminución de la hipercolesterolemia, (42-45) el control de la hipertensión arterial, (34, 46) la eliminación del tabaco (35-37) la adecuación del peso corporal, (38) el control de la glucemia en el diabético (39) y el ejercicio físico (47) incrementan la respuesta vasodilatadora endotelio dependiente, lo cual indica una producción mayor de NO o, lo que es más apropiado, una función endotelial mejor. Además, la administración de L-arginina, precursor del NO, mejora la vasodilatación. (48-50) Como se explicó anteriormente, todos estos factores de riesgo actúan con un mecanismo común, el aumento de la oxidación tisular y celular, con una producción mayor de aniones oxidrilos y radicales peróxidos y superóxidos, (51-53) habiéndose observado mejoría con la administración de las vitaminas antioxidantes C y E, (54-56) incluso administradas antes de una comida grasa copiosa para evitar la acción oxidante

de los ácidos grasos y triglicéridos posprandiales, (57) y antes del acto de fumar. (58) Recientemente se comunicó la capacidad de generar efectos aditivos por el agregado de una estatina y un inhibidor de la ECA en pacientes coronarios e hipercolesterolémicos. (59)

El programa nacional de educación del colesterol de los Estados Unidos de Norteamérica (NECP) recomienda valores límites de colesterol LDL ≤ 160 mg/dl en los sujetos sanos que no presentan factores de riesgo, ≤ 130 mg/dl para prevención primaria y ≤ 100 mg/dl en la prevención secundaria. Sin embargo, Steinberg y colaboradores (60) realizaron estudios de evaluación de la función endotelial con esta técnica en jóvenes sanos, sin factores de riesgo y con cifras de colesterol total entre 140 y 180 mg/dl y LDL entre 82 mg/dl y 128 mg/dl, observando que cuanto más bajo es el colesterol total o la fracción LDL, mayor es la respuesta vasodilatadora, indicando mejor función endotelial, lo que conduce a la presunción de que cuanto más se reduce el colesterol mejor es la respuesta endotelial. (45)

Valor pronóstico de la prueba de vasodilatación posisquémica. Nuevos hallazgos

Mucho se ha publicado sobre la prueba de vasodilatación posisquémica para valorar la función endotelial, pero siempre subsistieron las mismas dudas: ¿Es comparable la respuesta de la arteria humeral a la de las arterias coronarias? ¿Tiene valor pronóstico esta técnica?

La medición de la función endotelial de la arteria humeral ha demostrado estrecha correlación con las coronarias en el mismo paciente y en el mismo momento, tanto con la respuesta a la acetilcolina como con otros métodos, lo que ha llevado a que la arteria humeral se considere "subrogante" de las coronarias. (61, 62) En cuanto a la sensibilidad del método, utilizando transductores de 7,5 MHz o más, se pueden medir confiablemente cambios tan modestos como de 0,1 mm, y además ha probado que es reproducible. (28) Incluso, las diferencias de mediciones entre observadores independientes familiarizados con esta metodología ha sido $\leq 0,1$ mm. (25, 28)

En cuanto a su valor pronóstico, por tratarse de una técnica reciente no ha habido tiempo suficiente para la evaluación. (63) Sin embargo, se ha observado que guarda una excelente relación con la severidad de las lesiones vasculares, aun siendo asintomáticas y no detectables por los medios clínicos habituales. Se ha comunicado que pacientes sin enfermedad cardiovascular y con factores de riesgo, tenían una respuesta vasodilatadora de la arteria humeral disminuida en relación con la población normal, pero si además padecían de enfermedad vascular periférica (claudicación intermitente) mostraban una respuesta vasodilatadora más deprimida en relación con

otro grupo, lo que lleva a suponer que a medida que aumenta la severidad de las lesiones vasculares mayor es el grado de disfunción endotelial. (64)

Otros autores relacionaron la masa ventricular izquierda con la función endotelial, y observaron que los pacientes con remodelado concéntrico del ventrículo izquierdo tenían una depresión de la función endotelial mayor que los controles, y en los que tenían remodelado excéntrico, la depresión era mayor aun. (65) La capacidad funcional considerada por ergometría también está relacionada con la función endotelial en los pacientes coronarios. Aquellos con prueba ergométrica con una capacidad funcional que permitía alcanzar 100 y 150 watts tenían una respuesta vasodilatadora endotelio dependiente semejante a los controles, pero cuando la capacidad funcional era < 75 watts, la respuesta vasodilatadora endotelial se encontraba deprimida. Por el contrario, la respuesta vasodilatadora endotelio independiente, es decir bajo los efectos de la nitroglicerina, mostraba una respuesta similar en ambos grupos de pacientes.

Schachinger y colaboradores, (66) en un seguimiento promedio de 82 meses, documentaron 14 eventos cardiovasculares mayores (muerte súbita, infarto, angina inestable, accidente cerebrovascular o procedimientos de revascularización) en los pacientes situados en el tercio inferior de respuesta vasodilatadora, y sólo 5 eventos en el grupo con respuesta vasodilatadora en el tercio superior. Ambas respuestas, la vasodilatación dependiente como la independiente del endotelio y la relación entre ambas (VDE/VIE) estaban fuertemente relacionadas con eventos cardiovasculares futuros. Neunteufl y colaboradores, (67) en un seguimiento a 5 años, observaron que la respuesta vasodilatadora deprimida predice el riesgo de eventos cardiovasculares en el largo plazo. Entre los pacientes con respuesta vasodilatadora normal *versus* anormal, la necesidad de angioplastia coronaria o cirugía de revascularización coronaria difería significativamente, con una tendencia mayor al infarto de miocardio en los que exhibían pobre respuesta vasodilatadora. Teniendo en cuenta los eventos totales, la prueba de vasodilatación posisquémica con ecocardiografía Doppler de la arteria humeral mostró una sensibilidad del 86% y una especificidad del 51%, con un muy importante valor predictivo negativo de 93%.

Al Suwaidi y colaboradores (68) estudiaron pacientes con enfermedad coronaria leve ($< 30\%$ de estenosis) con cinecoronariografía cuantitativa y un seguimiento de 8 meses, y observaron que los pacientes con disfunción endotelial severa con la prueba de acetilcolina tenían un incremento significativo de eventos. Schroeder y colaboradores (69) compararon la vasodilatación posisquémica de la arteria humeral con el valor predictivo de la angina y la

ergometría. Observaron que la prueba mostró una sensibilidad del 71%, una especificidad del 81% y un valor predictivo positivo del 95%, con valores similares a los otros dos elementos diagnósticos.

Esper y colaboradores (70) observaron que la función vasodilatadora endotelio dependiente durante la angina inestable es prácticamente nula, creando el interrogante de "si la disfunción endotelial es producto del accidente de placa o existía previamente y facilitó el accidente en una placa vulnerable". Sobre la base de este estudio, y remedando lo que sucede en el miocardio isquémico, crearon el concepto de endotelio "atontado" para explicar la baja respuesta vasodilatadora en los cuadros agudos, y de endotelio "hibernado", cuando la baja respuesta vasodilatadora es consecuencia de un padecimiento crónico, como se observa en la hipercolesterolemia y otros factores de riesgo.

La lesión aterosclerosa comienza siempre con disfunción endotelial y progresa en razón de la persistencia de esa disfunción. (71) A los fines prácticos, la observación de imágenes de lesión aterosclerosa establecida tanto por cinecoronariografía como por ultrasonografía intravascular, resonancia magnética nuclear, tomografía computarizada con haz de electrones, etc., podría considerarse como la lectura del electrocardiograma en la cardiopatía isquémica, mientras que las técnicas de evaluación de la función endotelial se asemejarían a las conclusiones de una prueba ergométrica.

Corolario

En el momento actual se cuenta con suficientes comprobaciones vinculadas a la disfunción endotelial como para suponer que su evaluación tiene valor diagnóstico y significación pronóstica de largo plazo. Además, indica que la función endotelial alterada contribuye indiscutiblemente a la iniciación y progresión de la enfermedad aterosclerótica y hasta se podría considerar un factor de riesgo independiente de enfermedad arterial coronaria. Aunque son necesarios estudios clínicos aleatorizados y suficientemente extensos para tener evidencia científica indiscutible, (62) todo apunta a considerar que los métodos de valoración de la disfunción endotelial son altamente útiles en la práctica clínica y que han superado la etapa de la experimentación, con el valor agregado de su característica de incruentos, que facilita el seguimiento de la enfermedad natural y la consideración de los efectos de la terapéutica.

SUMMARY

ASSESSING THE ENDOTHELIUM

Vascular endothelial cells form a continuous

monolayer that covers the inner surface of the entire vascular system, thereby representing the primary anatomical site that separates the blood compartment from the body's interstitium. Due to its position, the endothelium is permanently exposed to hemodynamic stress exerted by blood flow, blood pressure, and wall distention. In addition to these mechanical stimuli, the endothelium receives a variety of chemical signals, both blood-borne and tissue-derived, which may elicit endothelial responses acting on the vessel wall itself or on more distant target sites. Because of its key localization and numerous physiologic and pathologic functions, the vascular endothelium is recognized as a regulatory organ that plays an important role in cardiovascular function in health and disease. The endothelium modulates vascular smooth-muscle tone and mediates hemostasis, cellular proliferation, and inflammatory and immune mechanisms in the vessel wall. The endothelial cell modulates the tone of underlying vascular smooth-muscle cells by the production of relaxing and constricting factors in response to physiologic or pathologic stimuli. The normal endothelium maintains a nonadhesive luminal surface and has anticoagulant, fibrinolytic, and antithrombotic properties. Injury or activation of the endothelium disrupts its normal regulatory properties and results in abnormal endothelial cell function (endothelial dysfunction). Clinically, endothelial cell dysfunction can be manifested as vasoospasm, thrombus formation, atherosclerosis, or restenosis. Endothelial cells undergo morphologic and functional alterations in response to cytokines, which may contribute to the pathogenesis of vasculitis and atherosclerosis. In this review, a noninvasive technique for assessment of endothelial function is presented, that is basically a noninvasive translation of the approach used in coronary circulation, contrasting vascular responses to endothelium-dependent and endothelium-independent stimuli and using high-resolution external ultrasound, and restricted to the study of large and medium-sized superficial arteries such as the brachial, femoral and radial arteries.

Key words Endothelium - Atherosclerosis - Vasodilatation - Ultrasonography - Echocardiography - Risk factors

BIBLIOGRAFIA

1. Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22 (Suppl 4): S1-S14.
2. Drenckhahan D, Ness W. The endothelial contractile cytoskeleton. *En: Born GVR, Schwartz CJ (eds). Vascular endothelium. Physiology, pathology, and therapeutic opportunities.* Stuttgart, Schattauer-Verlag 1997; pp 1-25.
3. Andersen RGW. Caveolae: Where incoming and outgoing messengers meet. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10909-

- 10913.
4. Vanhoutte PM. How to assess endothelial function in human blood vessels. *J Hypertens* 1999; 17: 1047-1058.
 5. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis* 1995; 38: 87-104.
 6. Jones CJH, Kuo L, Davis MJ y col. Role of nitric oxide in coronary microvascular responses to adenosine and increased metabolic demand. *Circulation* 1996; 91: 1807-1813.
 7. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL y col. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerosis coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046-1051.
 8. Cooke JP, Tsao PS. Is NO and endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 753-759.
 9. Dzau VJ. Vascular angiotensin pathways: A new therapeutic target. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 10 (Suppl 7): S9-S16.
 10. Johnston CJ. Renin-angiotensin system: A dual tissue and hormonal system for cardiovascular control. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 (Suppl B): S1-S5.
 11. Kawano H, Do YS, Kawano Y y col. Angiotensin II has multiple profibrotic effects in human cardiac fibroblast. *Circulation* 2000; 101: 1130-1137.
 12. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G y col. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996; 94: 874-877.
 13. Kacimi R, Long CS, Karliner JS. Chronic hypoxia modulates the interleukin-1 β -stimulated inducible nitric oxide synthase pathway in cardiac myocytes. *Circulation* 1997; 96: 1937-1943.
 14. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J y col. Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium. *Circulation* 1995; 92: 1487-1493.
 15. Smith SC, Allen PM. Neutralization of endogenous tumor necrosis factor ameliorates the severity of myosin-induced myocarditis. *Circ Res* 1992; 70: 856-863.
 16. Matsumori A, Yamada T, Suzuki H y col. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Br Heart J* 1994; 72: 561-566.
 17. Dalager-Pederson S, Pederson EM, Ringgaard S y col. Coronary artery disease; plaque vulnerability, disruption, and thrombosis. *En: Fuster V* (ed). *The vulnerable atherosclerotic plaque*. New York, Futura Publishing Inc 1999; pp 1-23.
 18. Libby P. Molecular basis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844-2850.
 19. Ross R. Atherosclerosis - An inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.
 20. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG. Coronary vasomotor response to acetylcholine relate to risk factor for coronary artery disease. *Circulation* 1990; 81: 491-498.
 21. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr y col. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22-27.
 22. Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM y col. Role of the endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *Circulation* 1993; 87: 1468-1474.
 23. Panza JA, Quyyumi AA, Callahan TS y col. Effect of anti-hypertensive treatment of endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 1145-1151.
 24. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM y col. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adult in risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111-1115.
 25. Corretti MC, Plotnik GD, Vogel RA. Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. *Am J Physiol* 1995; 268: H1397-H1404.
 26. Zeiher AM, Drexler H, Saurier B y col. Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans: Effect of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. *J Clin Invest* 1993; 92: 652-662.
 27. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ y col. Ageing is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 471-476.
 28. Vilariño JO, Cacharrón JL, Suárez DH y col. Evaluación de la función endotelial por eco-Doppler. Influencia de la edad, sexo y factores de riesgo. *Rev Argent Cardiol* 1998; 66: 523-532.
 29. Gordon JB, Ganz P, Nabel EG y col. Atherosclerosis and endothelial function influence the coronary vasomotor response to exercise. *J Clin Invest* 1989; 83: 1946-1952.
 30. Nabel EG, Selwyn AP, Ganz P. Large coronary arteries in humans are responsive to changing blood flow: An endothelium-dependent mechanism that fail in patients with atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 349-356.
 31. Williams JK, Adams MR, Klopfenstein HS. Estrogen modulates responses of atherosclerotic coronary arteries. *Circulation* 1990; 81: 1680-1687.
 32. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A y col. Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1994; 121: 936-941.
 33. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME y col. Impaired vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228-234.
 34. Panza JA, Canon III RO (eds). *Endothelium, nitric oxide, and atherosclerosis*. New York, Futura Publishing Inc 1999.
 35. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D y col. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88 (part 1): 2149-2155.
 36. Zeiher A, Schächinger V, Minners J. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary vasodilator function. *Circulation* 1995; 92: 1094-1100.
 37. Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P y col. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med* 1996; 334: 150-154.
 38. Mark AL, Correia M, Morgan DA y col. Obesity-induced hypertension. New concepts from the emerging biology of obesity. *Hypertension* 1999; 33 (part II): 537-541.
 39. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM y col. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993; 88: 2510-2516.
 40. Snell PG, Mitchell JH. Physical inactivity. An easily modified risk factor? *Circulation* 1999; 100: 2-4.
 41. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M y col. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 854-858.
 42. Egashira K, Hirooka Y, Kai H y col. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* 1994; 89: 2519-2524.
 43. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS y col. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 481-487.
 44. Waters D. Cholesterol lowering. Should it continue to be the last thing we do? *Circulation* 1999; 99: 3215-3217.
 45. Esper RJ. The role of lipid-lowering therapy in multiple risk factor management. *Drugs* 1998; 56 (Suppl 1): 1-7.
 46. Webb D, Vallance P (eds). *Endothelial function in hypertension*. Berlin, Springer-Verlag 1997.
 47. Horning B, Maier V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1996; 93: 210-214.

48. Creager MA, Gallagher SJ, Girerd XJ y col. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1992; 90: 1248-1253.
49. Drexler H, Zeiher AM, Meinertz T y col. Correcting endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991; 338: 1546-1550.
50. Clarkson D, Adams MR, Powe A y col. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 1996; 97: 1989-1994.
51. Griendling KK, Alexander RW. Oxidative stress and cardiovascular disease. *Circulation* 1997; 96: 3264-3265.
52. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ y col. Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336: 973-979.
53. Ridker PM. Inflammation, infection and cardiovascular risk. How good is the clinical evidence? *Circulation* 1998; 96: 1671-1674.
54. Levine GN, Frei B, Koulouris SN y col. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1996; 93: 1107-1113.
55. Gokce N, Keaney JF Jr, Frei B y col. Long-term ascorbic acid administration reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999; 99: 3234-3240.
56. Solzbach U, Hornig B, Jeserich M y col. Vitamin C improves endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries in hypertensive patients. *Circulation* 1997; 96: 1513-1519.
57. Plotnick GD, Corretti MC, Vogel RA. Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelial-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal. *JAMA* 1997; 278: 1682-1686.
58. Heitzer T, Just H, Munzel T. Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation* 1996; 94: 6-9.
59. Esper RJ, Machado R, Vilariño J y col. Endothelium-dependent response in hypercholesterolemic coronary artery disease patients under the effects of simvastatin and enalapril, either separately or combined. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33 (Suppl A): 271A (abstract).
60. Steinberg HO, Bayazeed B, Hook G y col. Endothelial dysfunction is associated with cholesterol levels in the high normal range in humans. *Circulation* 1997; 96: 3287-3293.
61. Anderson TJ, Uehata A, Gerard MD y col. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulation. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235-1241.
62. Sorensen KE, Kristensen IB, Celermajer DS. Atherosclerosis in the human brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 318-322.
63. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: Does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 325-333.
64. Yatacco R, Corretti M, Garder A y col. Endothelial reactivity an cardiac risk factors in older patients with peripheral arterial disease. *Am J Cardiol* 1999; 83: 754-758.
65. Perticone F, Maio R, Ceravolo R y col. Relationship between left ventricular mass and endothelium-dependent vasodilation in never treated hypertensive patients. *Circulation* 1999; 99: 1991-1996.
66. Schächinger V, Britten M, Zeiher AM y col. Impaired epicardial coronary vasoreactivity predicts for adverse cardiovascular events during long-term follow-up. *Circulation* 1999; 100 (Suppl I): I-54 (abstract).
67. Neunteufl T, Heher S, Katzenschlager R y col. Long-term prognostic value of flow-mediated vasodilation in the brachial artery of patients with angina pectoris. Results of a 5-year follow-up study. *Circulation* 1999; 100 (Suppl I): I-48 (abstract).
68. Al Suwaidi J, Hamasaki S, Higano ST y col. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000; 101: 948-954.
69. Schroeder SC, Enderle M, Ossen R y col. Influence of vessel size on the flow mediated dilation (FMD%) of the brachial artery. *Circulation* 1999; 100 (Suppl I): I-102 (abstract).
70. Esper RJ, Vilariño JO, Cacharrón JL y col. Impaired endothelial function in patients with rapidly stabilized unstable angina: Assessment by noninvasive brachial artery ultrasonography. *Clin Cardiol* 1999; 22: 699-703.
71. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK y col. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 316: 1371-1375.