

Disfunción endotelial en la insuficiencia cardíaca, ¿víctima o victimario?

RAÚL OLIVERI

RESUMEN

El endotelio es un órgano regulador que desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis del organismo tanto en la salud como en la enfermedad. El endotelio intacto tiene la facultad de ser estimulado por sustancias como la acetilcolina y la bradiquinina entre otras, para producir una sustancia relajante del músculo liso vascular a la cual se denominó factor de relajación derivado del endotelio (EDRF en inglés). La sustancia vasodilatadora responsable de esta acción podría ser el óxido nítrico (NO).

El NO (EDRF) regula una serie de procesos en el sistema cardiovascular: el tono vascular (vasodilatación), la contractilidad miocárdica, la integridad y la permeabilidad endotelial. Reduce la síntesis de moléculas de adhesión y con ello la adhesión de dichos elementos al endotelio; también disminuye la agregación plaquetaria, la oxidación y la inflamación tisulares, la actividad de los factores trombogénicos y el crecimiento, la proliferación y la migración celular. Favorece la fibrinólisis (efectos antitrombóticos) e incrementa la producción del factor kB (FN-kB) que reduce significativamente la aterogénesis.

La vasoconstricción sistémica constituye un hallazgo constante en las formas avanzadas de insuficiencia cardíaca congestiva y es el resultado de varios mecanismos de compensación. Los elementos capaces de explicar la disfunción del endotelio en la insuficiencia cardíaca son: las anomalías tanto en los receptores muscarínicos de las células endoteliales como en la producción del EDRF, el aumento de la inactivación del EDRF y factores de contracción derivados del endotelio. Es posible afirmar que la reducción del flujo en la insuficiencia cardíaca y el desencadenamiento de diversos mecanismos neurohumorales como respuesta a dicha reducción actúan desfavorablemente sobre el endotelio alterando de manera significativa su respuesta fisiológica.

REV ARGENT CARDIOL 2005;73:53-63.

Palabras clave

> Endotelio - Insuficiencia cardíaca - Óxido nítrico

El endotelio es un órgano regulador que desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis del organismo tanto en la salud como en la enfermedad. En los últimos 15 años, numerosos investigadores han demostrado la existencia de factores endoteliales capaces de modular muchos aspectos de la homeostasis vascular. Libera mensajeros hormonales con funciones paracrinas (comunicación entre diferentes células próximas), autocrinas (de comunicación entre células de la misma estirpe o dentro de la propia célula) y endocrinas (de distribución a todo el organismo).

Las principales funciones del endotelio normal son:

1. Mantener el tono y la estructura vascular.
2. Regular el crecimiento de las células vasculares.
3. Regular las propiedades trombóticas y trombolíticas.
4. Intervenir en los mecanismos inflamatorios e inmunes.
5. Regular la adhesión de plaquetas y leucocitos a su superficie.
6. Modular la oxidación lipídica (actividad metabólica).
7. Regular la permeabilidad capilar.

En 1980, Furchgott y Zawadzki publicaron en la revista *Nature* los resultados de su investigación acerca de la capacidad del endotelio intacto estimulado por sustancias como la acetilcolina y la bradiquinina entre otras, para producir una sustancia relajante del músculo liso vascular a la cual denominaron factor de relajación derivado del endotelio (EDRF en inglés). (1) Los mismos autores sugirieron que la sustancia vasodilatadora podría ser el óxido nítrico (NO) (hecho demostrado en 1987 por Palmer, Ferrige y Moncada) (2) o compuestos estrechamente relacionados. Myers y colaboradores demostraron que la potencia biológica y la vida media del EDRF eran mucho más parecidas a las de la S-nitroso-L-cisteína que a las del NO y propusieron que el EDRF es S-nitroso-L-cisteína. (3) Hay evidencias sustanciales de que los S-nitrosotioles son intermediarios activos en el metabolismo de los nitratos orgánicos (4, 5) y en el metabolismo celular del NO.

En la superficie de las células endoteliales existen receptores cuya estimulación produce EDRF (NO) a partir del sustrato L-arginina por la acción catalítica de diferentes isoformas de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) y con la intervención de varios

cofactores tales como tetrahidrobiopterina, la flavina-adenina-dinucleótido, la calmodulina y la nicotinamida-adenina-dinucleótido fosfato en su forma reducida. (6-8). Las isoformas son tres y derivan de genes separados. La NOS neural (nNOS o 1), la NOS endotelial (eNOS o 2) y la NOS inducible (iNOS o 3). Las dos primeras son enzimas calcio-dependientes y producen pequeñas cantidades de NO en respuesta a estímulos fisiológicos. Están constitutivamente expresadas en el miocardio: la nNOS en las terminaciones nerviosas comprometidas en la neurotransmisión de la NA; la eNOS en células endoteliales, endocárdicas y en los cardiomiocitos. La generación basal de NO por la eNOS desempeña un papel importante en la regulación del tono vascular basal, la presión sanguínea y la perfusión tisular. La isoforma iNOS no está expresada en el miocardio normal pero se sintetiza en respuesta a lipopolisacáridos o citocinas inflamatorias como el TNF- α o la interleucina-6 generando niveles altos de producción miocárdica de NO. A diferencia de las dos anteriores, la iNOS es calcio independiente. La expresión y la actividad de la iNOS están aumentadas en los miocardios insuficientes, lo cual incrementa los niveles circulantes de NO. Dichos niveles pueden deprimir la contractilidad miocárdica y a través de la formación de peroxinitritos ($\text{NO} + \text{O}_2^-$ o anión superóxido) producir daño miocárdico.

Uno de los mecanismos principales por los cuales las enfermedades vasculares pueden influir sobre la producción y liberación de NO por las células es a través de la activación de la proteincinasa C (PQC) que, a su vez, inhibe el aumento del calcio después de la estimulación de los receptores celulares del endotelio y también puede inhibir directamente a la óxido nítrico sintetasa.

El aumento del EDRF estimula la producción de guanilciclase citosólica dentro de las células del músculo liso, la cual incrementa los niveles intracelulares de guanosinmonofosfato cíclico (GMPc); este incremento reduce el Ca^{++} intracelular e induce vasodilatación (Figura 1).

La relajación dependiente del endotelio se ha demostrado en arterias aisladas en la mayoría de las especies de mamíferos, incluido el hombre. (10, 11)

El NO es producido continuamente por las células endoteliales vasculares y esta liberación basal parece regular el tono vascular. (5, 16) Si esta producción es inhibida por la administración de N-monometil-L-arginina (L-NMMA) (inhibidor específico de la síntesis del NO), tanto en forma sistémica como local, puede observarse un claro aumento de la resistencia vascular. (17)

La producción basal de NO por las células endoteliales puede incrementarse como respuesta a estímulos fisiológicos: acetilcolina, productos plaquetarios (ADP y serotonina), neurohormonas (adrenalina, noradrenalina, arginina vasopresina), trombina, bradiquininas, histamina, entre otros. Pero el endotelio es capaz de producir otras sustancias

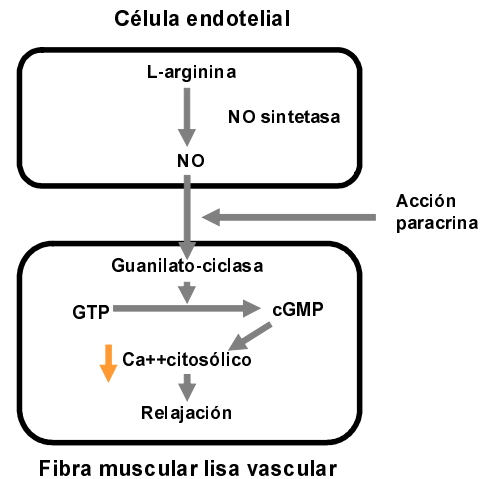


Fig. 1. Mecanismo de relajación de la fibra muscular lisa a partir de la acción paracrina del óxido nítrico (NO = FRED).

vasodilatadoras como la prostaglandina PGI 2 (prostaciclina) y el factor de hiperpolarización derivado del endotelio (EDHF). Las prostaglandinas se producen cuando el calcio activa la fosfolipasa A2, que libera ácido araquidónico. Este ácido graso es convertido a prostaglandinas G2 y H2 por la ciclooxigenasa y luego a productos estables, tales como prostaciclina y otras prostaglandinas. La prostaglandina más abundante (prostaciclina) ha sido reconocida por su capacidad para producir relajación en diferentes lechos arteriales. (18, 19) El EDHF es liberado por las células endoteliales por un proceso dependiente del calcio similar al utilizado para la liberación de NO y prostanoideos. (20, 21) El EDHF produce vasodilatación al hiperpolarizar el músculo liso vascular por estimulación de la salida de potasio a través de los canales iónicos correspondientes. La hiperpolarización de la membrana de la célula muscular lisa probablemente inhiba la entrada de calcio en la célula por la vía de los canales de calcio voltaje-dependientes, causando vasodilatación. (22, 23) El EDRF, la prostaciclina y el EDHF actúan como una triple vía de seguridad que el endotelio pone en funcionamiento en forma simultánea o sucesiva para mantener el tono vascular dentro de límites adecuados a las necesidades de la homeostasis. (16)

El aumento del flujo a través de las grandes arterias produce dilatación vascular transitoria que depende de la integridad del endotelio vascular. Está demostrado que dicha dilatación se debe a que el aumento del estrés de fricción (*shear stress*) sobre la superficie de las células endoteliales incrementa la liberación del EDRF. (24, 25). Este efecto parece estar regulado por un canal de potasio, sensible al calcio, que actúa como un transductor mecánico-químico en el endotelio. (26) Dicho efecto de censo del estrés de fricción comprende la deformación del citoesqueleto, la activación de señalización intracelular (proteincinasas, proteína G y canales iónicos endoteliales) y la liberación de

agonistas endoteliales como la bradiquinina. La actividad del NO es mayor en las arterias de mayor diámetro, ya que están sometidas a mayores variaciones de flujo pulsátil y mayor estrés de fricción. (27) Pero la dilatación dependiente del flujo puede obtenerse también en arterias de resistencia aisladas (de gato o de conejo) contraídas previamente con noradrenalina o prostaglandina F_{2α}. Después de la eliminación mecánica del endotelio, la respuesta vasodilatadora se reduce a la mitad. (28) Otras observaciones demuestran que la liberación del EDRF inducida por el flujo puede modular la respuesta constrictora también en la microcirculación, lo cual probablemente ayude a coordinar la respuesta con las arterias de resistencia. (29)

Los nitrovasodilatadores (nitroglicerina, nitroprusiato de sodio) producen relajación de la pared vascular porque aumentan el contenido de guanosinmonofosfato cíclico (GMPc) en el músculo liso vascular. La actividad farmacológica de los nitrovasodilatadores en tejidos vasculares aislados se correlaciona con la cantidad de óxido nítrico que son capaces de liberar. Por lo tanto, los nitratos emplean el mismo camino metabólico para ejercer sus efectos vasculares que el EDRF a través de la estimulación de la guanilciclase, pero actúan sin la mediación del endotelio (4) (Figura 2).

El NO (EDRF) regula una serie de procesos en el sistema cardiovascular (12-14):

1. Vasodilatación. Regula el tono vascular.
2. Regula la contractilidad miocárdica.
3. Regula la integridad y la permeabilidad endotelial.
4. Reduce la síntesis de moléculas de adhesión y con ello la adhesión de dichos elementos al endotelio.
5. Reduce la agregación plaquetaria.
6. Reduce la oxidación tisular.
7. Reduce la inflamación tisular.
8. Reduce la actividad de los factores trombogénicos.
9. Reduce el crecimiento, la proliferación y la migración celular.

10. Favorece la fibrinólisis (efectos antitrombóticos).
11. Incrementa la producción del factor kB (FN-kB), que reduce significativamente la aterogénesis.

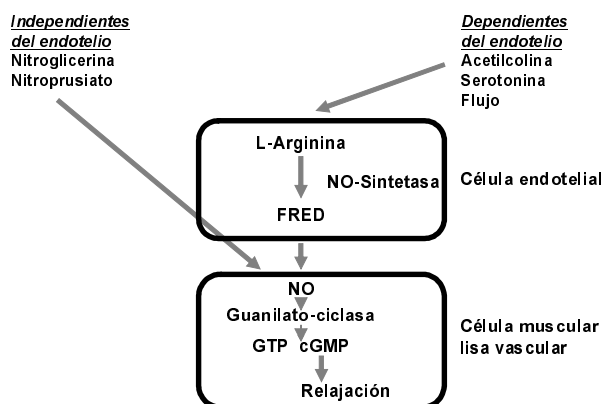
El endotelio actúa también como un modulador de la vasoconstricción. La acción de diversas sustancias sobre el endotelio puede estimular la producción de un factor de contracción derivado del endotelio que se ha identificado como endotelina. (30, 31)

Las endotelinas constituyen una familia de tres isopéptidos (ET-1, ET-2, ET-3) con acciones presoras extremadamente potentes y sostenidas, (30) pero que además poseen propiedades mitogénicas y neuroendocrinas. (32, 33) La endotelina 1 (ET-1) es el péptido predominante en el endotelio vascular y el de mayor relevancia en la regulación del tono vascular. Está constituida por 21 aminoácidos y es detectable en el plasma de hombres sanos y de animales de experimentación normales. La endotelina es generada a partir de moléculas precursoras (preproendotelina y proendotelina). La conversión de endotelina-1 grande (*big endothelin-1*) en ET-1 por una enzima de conversión endotelial es esencial para la expresión de la actividad vascular plena de la endotelina. (34)

Dos tipos de receptores de endotelina (ETa y ETb) median los efectos vasculares de la ET-1. (35) Los receptores ETa tienen mayor afinidad por la ET1, mientras que los ETb tienen la misma afinidad por todas las isoformas de endotelina. (36)

El efecto predominante de la ET en la vasculatura es la contracción como resultado de la estimulación directa de los receptores ETa sobre las células musculares lisas de la pared vascular. Además de sus efectos inmediatos sobre el tono vascular, la exposición prolongada a niveles de ET causa proliferación de las células musculares lisas *in vitro*. De modo que, al igual que la angiotensina y los agonistas α -adrenérgicos, la ET puede hallarse involucrada tanto en la regulación a corto plazo del tono vascular como en la modulación a largo plazo del crecimiento de la pared vascular y la remodelación. (37, 38)

Factores Vasoactivos



Prog Cardiovasc Dis 1995;38:129

Fig. 2. Vasodilatadores endoteliales.

EL ENDOTELIO EN LA INSUFICIENCIA CARDÍACA

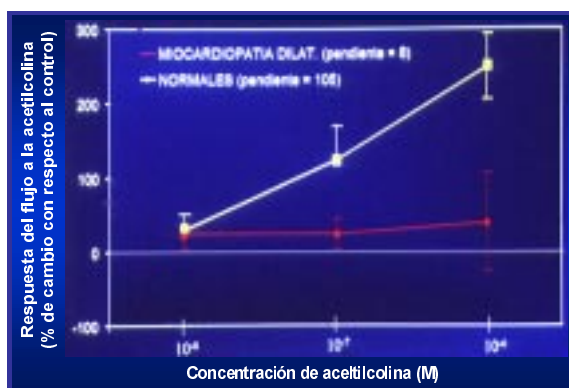
La vasoconstricción sistémica constituye un hallazgo constante en las formas avanzadas de insuficiencia cardíaca congestiva (IC) y es el resultado de varios mecanismos de compensación (neurohormonales, vasculares locales) puestos en juego a partir del momento en que se inicia la caída del volumen minuto cardíaco como consecuencia de la acción de diferentes causas. Los mecanismos neurohormonales se han estudiado extensamente en los últimos 30 años y sus efectos son ampliamente conocidos y han dado origen a muchas de las aproximaciones más exitosas al tratamiento de este síndrome clínico en la actualidad. Por el contrario, el impacto de los factores locales que regulan el tono vasomotor periférico y la perfusión tisular no están todavía totalmente definidos, aunque

la mayor parte de la experiencia publicada, tanto experimental como clínica, sugiere que el endotelio vascular funciona anormalmente en la IC. (39) Diversos estudios han demostrado que la disfunción endotelial en esta afección reduce la producción de NO (EDRF) y aumenta la secreción de endotelina, lo cual altera el flujo sanguíneo tanto en la circulación periférica como en los territorios esplácnicos; de igual modo está alterada la relajación en respuesta a los vasodilatadores dependientes del endotelio en la circulación periférica y coronaria. (40, 41)

Dado que el flujo sanguíneo depende básicamente de la capacidad de dilatación de los vasos de resistencia, surge el interrogante acerca de en qué medida la vasodilatación mediada por el endotelio en dichos vasos está alterada en la IC. Pero es importante recordar que una respuesta atenuada en la producción de EDRF no significa una reducción total en la función dilatadora del endotelio, ya que la síntesis y liberación de otras sustancias (como se vio anteriormente) tales como la prostaciclina y el EDHF pueden mantener cierto efecto vasodilatador al actuar sobre las fibras musculares lisas vasculares. En los últimos años, la importancia de la caída del estrés de fricción como consecuencia de la reducción del volumen minuto, característico de la insuficiencia cardíaca, ha sido cada vez mayor.

En un trabajo publicado por Treasure y colaboradores se estudiaron 8 pacientes con miocardiopatía dilatada en los cuales se analizó la respuesta vasodilatadora en las arterias coronarias a una inyección intracoronaria de acetilcolina y se comparó esa respuesta con la obtenida en controles normales. El máximo incremento de flujo en respuesta a la droga fue de $41\% \pm 24\%$ en los pacientes con miocardiopatía en comparación con el $232\% \pm 40\%$ en los controles (42) (Figura 3).

Respuesta del flujo coronario a infusiones de acetilcolina



Treasure CB, JACC 1994;22:129A

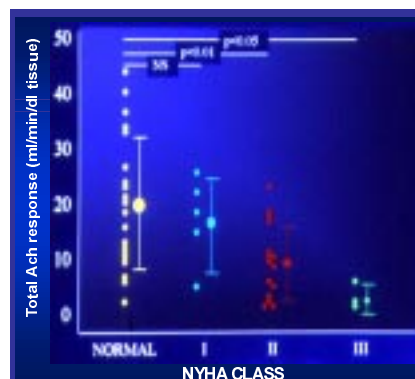
Fig. 3. Respuesta del flujo coronario a infusiones crecientes de acetilcolina expresada como porcentaje de cambio respecto al flujo basal (ref. 44).

Kubo y colaboradores midieron el flujo sanguíneo del antebrazo durante la administración intraarterial de metacolina (dilatador dependiente del endotelio) en 14 pacientes con IC y en 14 controles normales. Los aumentos del flujo en respuesta a la metacolina estaban significativamente reducidos en los pacientes con IC en comparación con los controles normales. Por el contrario, las respuestas del flujo al nitroprusiato de sodio (dilatador independiente del endotelio) eran similares en los dos grupos. (43)

En un estudio de Nakamura se analizó la respuesta vasodilatadora del antebrazo medida por pletismografía antes de la infusión intraarterial de acetilcolina y durante ella, en 23 pacientes con IC en diferentes clases funcionales y en 20 sujetos normales. Los autores observaron que la vasodilatación decreció a medida que aumentaba la magnitud de la IC (44) (Figura 4).

En los últimos años, la incorporación de la ultrasonografía de alta resolución (Doppler vascular) ha facilitado significativamente los estudios de la respuesta endotelial a diferentes estímulos, ya que dicha técnica ha demostrado una correlación alta con las técnicas angiográficas. (45-48) Drexler y colaboradores estudiaron 9 pacientes con insuficiencia cardíaca en clase III (NYHA) tratados con digital, diuréticos e inhibidores de la enzima convertidora y 9 controles normales. Utilizando un equipo de ultrasonografía de alta resolución (Doppler y modo B), analizaron la respuesta microvascular en el antebrazo a la infusión de acetilcolina y de nitroglicerina. La acetilcolina no modificó el flujo del antebrazo ni la resistencia vascular en los pacientes con insuficiencia cardíaca, mientras que en los controles se observó una reducción significativa de la resistencia y un aumento de flujo. En ambas poblaciones la respuesta a la nitroglicerina fue similar, como expresión de un efecto vasodilatador di-

Respuesta a la acetilcolina medida por los cambios en el flujo sanguíneo del antebrazo en sujetos normales y pacientes con IC



Nakamura M, JACC 1994;128:1164

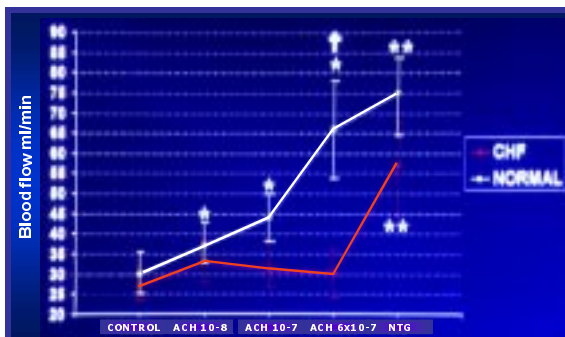
Fig. 4. Respuesta del flujo del antebrazo a la acetilcolina en normales y en distintos grados de insuficiencia cardíaca.

recto, es decir no mediado por el endotelio. (45) (Figuras 5 y 6). Adicionalmente, la infusión del inhibidor de la síntesis de la óxido nítrico sintetasa, N-nometil-L-arginina produjo una reducción exagerada del flujo sanguíneo en los pacientes con insuficiencia cardíaca, lo cual sugiere que la producción basal de EDRF puede estar preservada en esa población. Esta liberación basal del EDRF puede contrabalancear parcialmente los potentes efectos vasoconstrictores de las neurohormonas y de la endotelina, aumentadas en forma significativa en la insuficiencia cardíaca. (40)

MECANISMOS DE LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA INSUFICIENCIA CARDÍACA

¿Cuáles son los mecanismos capaces de explicar la disfunción del endotelio en la insuficiencia cardíaca? Se han planteado diversas hipótesis.

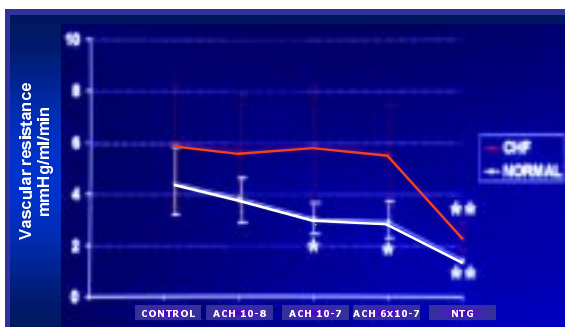
Respuesta del flujo sanguíneo y de la resistencia vascular del antebrazo a dosis crecientes de acetilcolina y a nitroglicerina



Drexler H Am J Cardiol 1992;69:1596

Fig. 5. Respuesta del flujo sanguíneo del antebrazo a dosis crecientes de acetilcolina y nitroglicerina (ref. 45).

Respuesta del flujo sanguíneo y de la resistencia vascular del antebrazo a dosis crecientes de acetilcolina y a nitroglicerina



Drexler H Am J Cardiol 1992;69:1596

Fig. 6. Respuesta de la resistencia vascular del antebrazo a dosis crecientes de acetilcolina y nitroglicerina (ref. 45).

Anormalidades en los receptores muscarínicos de las células endoteliales

Ludmer y colaboradores publicaron en 1986 un estudio en el cual sugerían que la aterosclerosis afecta selectivamente a los receptores en la superficie de las células endoteliales y produce una respuesta paradójica a la estimulación con acetilcolina. (49) Se supone que algo similar puede ocurrir en la IC. En un modelo experimental de IC producida por ligadura de la arteria descendente anterior, Ontkcan y colaboradores observaron una respuesta dilatadora similar ante la infusión de un agente vasodilatador no dependiente del endotelio (ionóforo cálcico 23187) en la aorta torácica de ratas operadas y ratas control (*sham operated*). Pero cuando ambos grupos fueron estimulados con acetilcolina, la respuesta dilatadora en las ratas con IC estuvo francamente deprimida, lo cual indica una disfunción de los receptores en la superficie endotelial. (50)

Forstermann, en experimentos *in vitro* con anillos vasculares de arterias coronarias epicárdicas de pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática, encontró la misma respuesta alterada frente a la estimulación de los receptores muscarínicos con acetilcolina mientras que la capacidad de vasodilatación a dilatadores no dependientes del endotelio estaba preservada. (51)

Anormalidades en la producción del EDRF

Como se comentó en páginas anteriores, la producción del NO (EDRF) requiere la presencia de una cantidad abundante del sustrato L-arginina, de la enzima NO sintetasa y de varios cofactores. (7) Cualquier perturbación de este proceso de producción del NO podría explicar la disfunción endotelial observada en la IC. Panza y colaboradores demostraron que la infusión intraarterial de L-arginina en 12 sujetos normales no cambió significativamente el flujo sanguíneo basal ni la resistencia periférica. (52) En cambio, Koifman y colaboradores pudieron demostrar que la infusión de L-arginina durante una hora, en 12 pacientes con IC (clases II y III de la NYHA), produjo un aumento significativo del volumen sistólico y del volumen minuto sin cambios en la frecuencia cardíaca. La presión arterial media y la resistencia vascular sistémica descendieron significativamente. Una hora después de la interrupción de la droga, las variables medidas volvieron a sus valores basales. (53)

Hirooka describió que el pretratamiento con L-arginina aumentaba de manera significativa la vasodilatación máxima inducida por acetilcolina en los pacientes con insuficiencia cardíaca pero no en los controles normales. (54) Estas observaciones sugieren que el aporte suplementario de L-arginina facilita la producción de NO y aumenta la vasodilatación dependiente del endotelio en los pacientes con IC (independientemente de su etiología), lo cual indicaría una producción menor de NO en esta población. La posibilidad de utilizar la administración parenteral de L-arginina

en el tratamiento de la disfunción vascular de la IC abre una interesante vía de investigación clínica. (55)

Un aspecto muy importante en la producción del EDRF por el endotelio es la influencia del flujo sobre las variaciones del estrés de fricción (*shear stress*). La caída del flujo sanguíneo sistémico reduce el estrés de fricción y en consecuencia la relajación mediada por el endotelio, posiblemente por alteraciones en la actividad de la óxido nítrico sintetasa. Por el contrario, el aumento crónico del flujo (25-27) incrementa la relajación arterial a la acetilcolina, lo cual no depende de cambios en el subtipo de receptores endoteliales muscarínicos ni de la sensibilidad del músculo liso vascular subyacente sino que se relaciona con el incremento en la síntesis y la liberación del EDRF. La disminución crónica del flujo sanguíneo en la IC, especialmente en sus formas avanzadas, explicaría la reducción de la respuesta vasodilatadora mediada por el EDRF y, como se verá más adelante, el aumento del tono vascular como consecuencia del aumento de los niveles de endotelina-1. (56)

Aumento de la inactivación del EDRF

Debido a que el NO tiene una vida media extremadamente corta, ciertos cambios en la estructura histológica de los vasos sanguíneos que aumentan la distancia entre las células endoteliales y el músculo liso subyacente pueden dificultar su difusión y de tal modo limitar sus acciones biológicas. (57) En las arteriolas de resistencia de pacientes con IC congestiva se han descrito hialinosis y engrosamiento de la membrana basal. (58)

La vida media del NO puede ser reducida por la acción del anión superóxido y por otros radicales libres. (59, 60) Hay evidencias indirectas de que la producción del anión superóxido está aumentada en la insuficiencia cardíaca (61-63) y que puede inhibir la relajación mediada por el endotelio en las arterias coronarias de resistencia del conejo. (64) Tanto el NO como el anión superóxido son radicales y cuando se ponen en contacto se desarrolla una reacción radical-radical limitada por la difusión, como consecuencia de la cual se forma el anión peroxinitrito, fuerte oxidante con acción vasodilatadora mínima. Finalmente, el peroxinitrito se degrada a nitrato y nitrito.

Prasad y colaboradores demostraron que la producción de radicales libres de derivados del oxígeno por los leucocitos polimorfonucleares está aumentada 4 veces en los pacientes con IC comparados con los controles. (65) Dhalla y colaboradores demostraron que la producción de superóxido en el tejido cardíaco está aumentada como consecuencia de una reserva antioxidante reducida en la IC. (66) La fuente del aumento de los radicales libres en la IC es incierta, pero podría estar relacionada con la reducción crónica del flujo sanguíneo periférico, con la activación de citocinas y con una reducción de la actividad de la superoxidodismutasa secundaria al desacondicionamiento crónico. Las células endoteliales tienen una capacidad in-

trínseca para inactivar los radicales superóxido. Mugge y colaboradores han demostrado la importancia crítica de la superoxidodismutasa para obtener una relajación mediada por el endotelio de características normales. (67) Por lo tanto, uno de los mecanismos del estado disfuncional del endotelio en la IC podría estar relacionado con el aumento de la actividad de los radicales libres debido a un incremento en la producción, a una disminución de la depuración o a ambos mecanismos simultáneamente. (38)

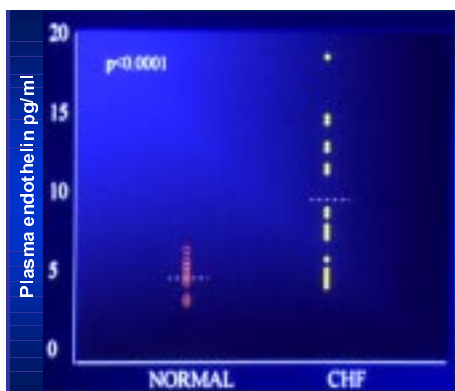
Factores de contracción derivados del endotelio

El deterioro de la relajación endotelial en la IC puede estar relacionado también con el incremento de factores de contracción derivados del endotelio. La endotelina-1, la prostaglandina H2, el tromboxano A2, el anión superóxido y la hipoxia (31) se han descrito como responsables del fenómeno. Sin embargo, de todos ellos la endotelina parece ser el más importante. (35, 37, 68) La producción de endotelina-1 está estrechamente relacionada con la producción de EDRF y de prostaciclina a través de un mecanismo de retroalimentación negativo. (38) La disminución de ambas sustancias en la IC sería uno de los factores capaces de inducir el incremento de la actividad de la endotelina-1. (69)

Cody y colaboradores demostraron un aumento de 3 veces en los niveles plasmáticos de endotelina-1 en pacientes con IC en comparación con sujetos normales (70) (Figura 7). Rodeheffer analizó los niveles de endotelina en 71 sujetos normales y en 56 pacientes con IC congestiva. Los autores comprobaron que la concentración de endotelina-1 estaba aumentada en la IC congestiva y que el nivel se correlacionaba con la gravedad de la enfermedad. (71) Resulta de mucho interés el estudio de Wei y colaboradores pues en él se establece una correlación entre características clínicas de 40 pacientes con IC congestiva (clases I a IV de la NYHA) y los niveles plasmáticos de endotelina-1. Éstos estuvieron aumentados en las formas avanzadas de IC pero especialmente en la clase IV. Puede observarse una correlación inversa entre fracción de eyección y la concentración plasmática de endotelina. (72) Los autores consideran que la misma relación lineal descrita entre flujo sanguíneo y producción de EDRF podría darse en forma inversa entre flujo y producción de endotelina y creen que la elevación de la endotelina plasmática podría estar relacionada con una disfunción generalizada de las células endoteliales.

En la actualidad se está estudiando el papel de la endotelina-1 grande en la insuficiencia cardíaca, ya que el incremento de los niveles del polipéptido activo endotelina-1 estaría relacionado con los niveles de su precursor. (73, 74). De acuerdo con una publicación reciente, los niveles de endotelina-1 grande constituyen un excelente predictor pronóstico en la IC sintomática con valor estadístico tanto en estudios de univariabilidad como de multivariabilidad de un nivel similar al de la clase funcional. (75) El empleo de an-

Niveles de endotelina-1 en sujetos normales
y en pacientes con insuficiencia cardíaca



Cody RJ *Circulation* 1992;85:504

Fig. 7. Comparación de endotelina plasmática en sujetos normales y en pacientes con ICC (ref. 70).

tagonistas específicos de la endotelina ha permitido profundizar el conocimiento acerca de la participación de la endotelina-1 en la regulación del tono vascular. Kiowski y colaboradores utilizaron el antagonista de los receptores ETa y ETb bosentan para estudiar los cambios hemodinámicos sistémicos inducidos por la droga en 24 pacientes con IC de clase III de la NYHA en un estudio doble ciego controlado con placebo. Los pacientes tratados con bosentan mostraron un franco aumento en los niveles plasmáticos de endotelina-1 a los 60 y 120 minutos del comienzo de la infusión con respecto al placebo ($p < 0,01$) y se observó en ellos un descenso significativo de las resistencias vasculares sistémica y pulmonar y un incremento significativo del índice cardíaco y del índice de volumen sistólico. Los autores concluyen que los niveles aumentados de endotelina-1 plasmática están relacionados directamente con algunas de las anomalías circulatorias observadas en los pacientes con IC y que el empleo de los antagonistas de los receptores de endotelina-1 podría tener un lugar en el tratamiento de la IC avanzada con niveles aumentados de endotelina-1 circulante. (76)

Sakai y colaboradores refieren que investigaron la producción de endotelina-1 en el corazón y la densidad de los receptores miocárdicos de endotelina en ratas con IC; también estudiaron los efectos de la infusión endovenosa de BQ-123, un antagonista de los receptores de endotelina ETa, sobre la frecuencia cardíaca y la contractilidad miocárdica. Los autores demostraron que la producción de endotelina-1 cardíaca está francamente aumentada y que la densidad de los receptores de angiotensina está elevada significativamente en las ratas con insuficiencia cardíaca en comparación con ratas control. La administración del BQ-123 redujo de un modo significativo tanto la frecuencia cardíaca como la contractilidad en las ratas con IC, pero no tuvo efecto sobre las ratas control. Por

lo tanto, la producción endógena, a nivel cardíaco, en las ratas con IC podría estar relacionada con el mantenimiento de la función miocárdica. (77) Es interesante la observación de Lerman y colaboradores, quienes encontraron una persistencia de los niveles elevados de endotelina plasmática en un grupo de pacientes con trasplante cardíaco pese a la restauración de una función cardíaca normal y hasta un año después de realizado el procedimiento. (78) Este hallazgo parecería corroborar la hipótesis mencionada previamente por Wei y colaboradores respecto de que el aumento de la endotelina plasmática en la IC podría estar relacionado más con una disfunción generalizada del endotelio que con la disfunción ventricular propiamente dicha. (72)

Estudios recientes han demostrado la ausencia de respuesta clínica con los agentes bloqueadores de los receptores de angiotensina por lo cual su utilización se ha suspendido hasta que el desarrollo de nuevas investigaciones permitan modificar esta perspectiva.

El deterioro de la perfusión de los músculos esqueléticos durante el ejercicio es responsable de la fatiga temprana durante la actividad física, que constituye uno de los síntomas principales de la IC. (10, 79-81) El deterioro de la capacidad vasodilatadora metabólica se ha atribuido en parte al desarrollo de mecanismos compensatorios neurohormonales que se desencadenan a partir de la caída del volumen minuto: incremento del tono simpático y de los niveles de noradrenalina plasmática, activación de los sistemas renina-angiotensina (general y tisular) y aumento de los niveles de arginina-vasopresina. Pero, como se analizó anteriormente, debe recordarse la estrecha correlación entre niveles de flujo y estrés de fricción (*shear stress*) que como se vio, constituye uno de los determinantes principales de la producción de EDRF por las células endoteliales en condiciones fisiológicas. Es interesante señalar que el bloqueo α con fentolamina es incapaz de restaurar el deterioro de la vasodilatación durante el ejercicio en la insuficiencia cardíaca; de igual modo, el tratamiento a corto plazo con inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) no mejora la capacidad vasodilatadora en estos pacientes, a pesar de que se logra una reducción sustancial de la concentración plasmática de angiotensina II y de noradrenalina. Por el contrario, el empleo de IECA durante varios meses puede producir un aumento significativo del flujo sanguíneo femoral durante el ejercicio y un aumento del consumo pico de oxígeno. (82) Hasta hace pocos años el efecto beneficioso de los IECA sobre la disfunción endotelial de la IC se atribuía esencialmente a la acción reductora de los niveles de angiotensina II y de noradrenalina. Pero recientemente se ha demostrado que el aumento en los niveles de bradiquinina se halla directamente involucrado en los efectos beneficiosos de los IECA. La bradiquinina es una sustancia vasodilatadora muy potente que actúa estimulando la liberación endotelial de NO, prostaciclina y EDHF. (83, 84) Pero la activación de la en-

zima de conversión se asocia con una reducción en la disponibilidad de bradiquina (por degradación de ésta a péptidos inactivos), lo cual reducirá la producción de las sustancias vasodilatadoras antes mencionadas. Por lo tanto, la administración de IECA mejorará la respuesta endotelial al aumentar los niveles plasmáticos y tisulares de bradiquinina. (85) Drexler considera que el empleo a largo plazo de los IECA puede revertir, al menos parcialmente, la alteración vasodilatadora de los vasos periféricos. (82)

TRATAMIENTO DE LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA INSUFICIENCIA CARDÍACA

1. Drogas hipolipemiantes
2. Inhibición de la enzima de conversión de la angiotensina
3. Betabloqueantes
4. L-arginina
5. *Scavengers* de los radicales libres de oxígeno (superóxido dismutasa)
6. Antioxidantes (vitaminas C y E)
7. Entrenamiento físico
8. Estrógenos (en mujeres posmenopáusicas)
9. Aceite de pescado

Un estudio reciente de la Universidad de Leipzig demostró que betabloqueantes como el metoprolol o el carvedilol fueron igualmente efectivos para evitar la regulación en baja (*"down regulation"*) de las enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa después de 6 meses de tratamiento. Por lo tanto, se concluyó que el efecto benéfico de los betabloqueantes en la IC se debe en parte al mantenimiento del sistema antioxidante del músculo (cardíaco y esquelético).

CONCLUSIONES

1. La insuficiencia cardíaca crónica es una de las causas que producen disfunción endotelial.
2. El endotelio produce óxido nítrico, que es un potente vasodilatador vascular (FRED).
3. El NO se sintetiza a partir de la L-arginina por acción de la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) y regula el estado de vasodilatación tanto a nivel sistémico como pulmonar.
4. La óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) se produce a través del estímulo de citocinas y genera niveles altos de NO que resultan perjudiciales para el miocardio.
5. El flujo constituye uno de los más potentes estimulantes de la producción de NO; a medida que aumenta su velocidad dentro de la arteria, se produce una vasodilatación cuya magnitud es directamente proporcional a la cantidad de NO liberada por el endotelio.
6. En la IC crónica la reducción del flujo es un factor importante en el desarrollo de disfunción endotelial.

7. El endotelio produce un factor de contracción de las fibras musculares lisas vasculares que es la endotelina, cuyos niveles plasmáticos están aumentados tres veces en la IC.

8. La endotelina ejerce diversos efectos patológicos en la IC por su efecto vasoconstrictor potente; sus niveles se correlacionan con el grado de disfunción ventricular y con las manifestaciones clínicas de IC.

9. En la IC aumenta la producción de radicales de O₂ que inactivan el NO.

10. El aumento de los niveles de angiotensina y la reducción concomitante de bradiquinina también reducen la producción de NO.

11. El incremento en el nivel de citocinas (TNF- α e IL-6) deterioran la síntesis de la NOS endotelial y estimulan la producción de NOS inducible, lo cual incrementa patológicamente los niveles de NO con generación de peroxinitritos que deterioran la función cardíaca.

Por lo tanto, y como respuesta a la pregunta planteada al comienzo, es posible afirmar que la reducción del flujo en la insuficiencia cardíaca y el desencadenamiento de diversos mecanismos neurohumorales como respuesta a dicha reducción actúan desfavorablemente sobre el endotelio alterando de manera significativa su respuesta fisiológica. Una vez producida la disfunción endotelial, aumentará el deterioro hemodinámico generándose de tal modo un mecanismo bidireccional, verdadero círculo vicioso de agravamiento progresivo de la situación.

SUMMARY

Endothelial dysfunction in cardiovascular insufficiency: Victim or victimary?

The endothelium is a regulatory organ which portrays a fundamental role in the bodily homeostasis, be it in sickness or health. The intact endothelium, when stimulated by substances such as acetylcholine and bradykinin produces a vascular smooth muscle relaxing substance called *endothelium-derived relaxin factor* (EDRF). The vasodilator substance involved in this action could be the nitric oxide (NO). The NO (EDRF) regulates a series of processes in the cardiovascular system: vascular tone (vasodilation), myocardial contractility and the integrity and permeability of the endothelium. It reduces the synthesis of adhesive molecules, therefore avoiding the adhesion of such elements to the endothelium, and decreases platelet aggregation, oxidation and tissue inflammation, thrombogenic factor activity and cellular growth, proliferation and migration. It favors fibrinolysis (antithrombotic effects) and increases the production of kB factor (FN-kB) which significantly reduces atherogenesis.

Systemic vasoconstriction is a regular finding in advanced stages of congestive cardiac insufficiency, as a result of several compensating mechanisms. Elements involved in the endothelial dysfunction of cardiac insufficiency are: endothelial cell abnormal muscarinic receptor function and EDRF production and increased EDRF or other endothelial derivative contraction factors deactivation. The flow reduction seen in cardiac insufficiency and the triggering of several neurohumoral mechanisms as a response to that reduction act

disfavorably over the endothelium and produce a significant alteration of its physiologic response.

Key words: Endothelium - Congestive heart failure - Nitric oxide

BIBLIOGRAFÍA

- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
- Myers PR, Minor RL Jr, Guerra R Jr, Bates JN, Harrison DG. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. *Nature* 1990;345:161-3.
- Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, et al. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther* 1981;218:739-49.
- Loscalzo J. N-Acetylcysteine potentiates inhibition of platelet aggregation by nitroglycerin. *J Clin Invest* 1985;76:703-8.
- Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-6.
- Setoguchi S, Hirooka Y, Eshima K, Shimokawa H, Takeshita A. Tetrahydrobiopterin improves impaired endothelium-dependent forearm vasodilation in patients with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39:363-8.
- Cooke JP, Dzau VJ. Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular diseases. *Circulation* 1997;96:379-82.
- Schmidt HH, Pollock JS, Nakane M, Forstermann U, Murad F. Ca²⁺/calmodulin-regulated nitric oxide synthases. *Cell Calcium* 1992;13:427-34.
- Bednarsz B, Jaxa-Chamiec T, Gebalska J, Herbaczynska-Cedro K, Ceremuzynski L. L-arginine supplementation prolongs exercise capacity in congestive heart failure. *Kardiol Pol* 2004;60:348-53.
- Linke A, Recchia F, Zhang X, Hintze TH. Acute and chronic endothelial dysfunction: implications for the development of heart failure. *Heart Fail Rev* 2003;8:87-97.
- Stamler JS, Loh E, Roddy MA, Currie KE, Creager MA. Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation* 1994;89:2035-40.
- Elkayam U, Khan S, Mehboob A, Ahsan N. Impaired endothelium-mediated vasodilation in heart failure: clinical evidence and the potential for therapy. *J Card Fail* 2002;8:15-20.
- Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38:87-104.
- Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994;120:227-37.
- Cohen RA. The role of nitric oxide and other endothelium-derived vasoactive substances in vascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38:105-28.
- Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989;2:997-1000.
- Saito T, Maehara K, Tamagawa K, Oikawa Y, Niitsuma T, Saitoh S, et al. Alterations of endothelium-dependent and -independent regulation of coronary blood flow during heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:H80-6.
- Forstermann U, Hertting G, Neufang B. The role of endothelial and non-endothelial prostaglandins in the relaxation of isolated blood vessels of the rabbit induced by acetylcholine and bradykinin. *Br J Pharmacol* 1986;87:521-32.
- Chen GF, Suzuki H. Calcium dependency of the endothelium-dependent hyperpolarization in smooth muscle cells of the rabbit carotid artery. *J Physiol* 1990;421:521-34.
- Nagao T, Vanhoutte PM. Endothelium-derived hyperpolarizing factor and endothelium-dependent relaxations. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;8:1-6.
- Taylor SG, Weston AH. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a new endogenous inhibitor from the vascular endothelium. *Trends Pharmacol Sci* 1988;9:272-4.
- Weston AH, Edwards G. Recent progress in potassium channel opener pharmacology. *Biochem Pharmacol* 1992;43:47-54.
- Vanhoutte PM, Shimokawa H. Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation* 1989;80:1-9.
- Miller VM, Vanhoutte PM. Enhanced release of endothelium-derived factor(s) by chronic increases in blood flow. *Am J Physiol* 1988;255:H446-51.
- Cooke JP, Stamler J, Andon N, Davies PF, McKinley G, Loscalzo J. Flow stimulates endothelial cells to release a nitrovasodilator that is potentiated by reduced thiol. *Am J Physiol* 1990;259:H804-12.
- Miller VM, Aarhus LL, Vanhoutte PM. Modulation of endothelium-dependent responses by chronic alterations of blood flow. *Am J Physiol* 1986;251:H520-7.
- Bevan JA, Joyce EH, Wellman GC. Flow-dependent dilation in a resistance artery still occurs after endothelium removal. *Circ Res* 1988;63:980-5.
- Griffith TM, Edwards DH, Davies RL, Harrison TJ, Evans KT. EDRF coordinates the behaviour of vascular resistance vessels. *Nature* 1987;329:442-5.
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-5.
- Luscher TF, Boulanger CM, Dohi Y, Yang ZH. Endothelium-derived contracting factors. *Hypertension* 1992;19:117-30.
- Haynes WG, Webb DJ. The endothelin family of peptides: local hormones with diverse roles in health and disease? *Clin Sci (Lond)* 1993;84:485-500.
- Clavell A, Stingo A, Margulies K, Lerman A, Underwood D, Burnett JC. Physiological role of endothelin. Its role in congestive heart failure. *Circulation* 1993;87:V45-V50.
- Kimura S, Kasuya Y, Sawamura T, Shinmi O, Sugita Y, Yanagisawa M, et al. Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity of big endothelin-1. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13:S5-S7.
- Shimoyama H, Sabbah HN, Borzak S, Tanimura M, Shevlyagin S, Scicli G, et al. Short-term hemodynamic effects of endothelin receptor blockade in dogs with chronic heart failure. *Circulation* 1996;94:779-84.
- Sakurai T, Yanagisawa M, Takawa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, et al. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 1990;348:732-5.
- Colucci WS. Myocardial endothelin. Does it play a role in myocardial failure? *Circulation* 1996;93:1069-72.
- Kaiser L, Spickard RC, Olivier NB. Heart failure depresses endothelium-dependent responses in canine femoral artery. *Am J Physiol* 1989;256:H962-7.
- Ferrari R, Bachetti T, Agnoletti L, Comini L, Curello S. Endothelial function and dysfunction in heart failure. *Eur Heart J* 1999; 19:G41-G47.
- Teerlink JR, Clozel M, Fischli W, Clozel JP. Temporal evolution of endothelial dysfunction in a rat model of chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:615-20.
- Haynes WG, Ferro CJ, O'Kane KP, Somerville D, Lomax CC, Webb DJ. Systemic endothelin receptor blockade decreases peripheral vascular resistance and blood pressure in humans. *Circulation* 1996;93:1860-70.
- Treasure CB, Alexander RW. The dysfunctional endothelium in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:129A-134A.

43. Kubo SH, Rector TS, Bank AJ, Williams RE, Heifetz SM. Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. *Circulation* 1991;84:1589-96.
44. Nakamura M, Ishikawa M, Funakoshi T, Hashimoto K, Chiba M, Hiramori K. Attenuated endothelium-dependent peripheral vasodilation and clinical characteristics in patients with chronic heart failure. *Am Heart J* 1994;128:1164-9.
45. Drexler H, Hayoz D, Munzel T, Just H, Zelis R, Brunner HR. Endothelial function in congestive heart failure. *Am Heart J* 1993;126:761-4.
46. Perret F, Mooser V, Hayoz D, Tardy Y, Meister JJ, Etienne JD, et al. Evaluation of arterial compliance-pressure curves. Effect of antihypertensive drugs. *Hypertension* 1991;18:II77-83.
47. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-5.
48. Vilarino JO, Cacharrón JL, Suárez DH, Cura M, Machado R, Bolaño AR y col. Evaluación de la función endotelial por eco-Doppler. Influencia de la edad, sexo y factores de riesgo. *Rev Argent Cardiol* 1998;66:523-32.
49. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986;315:1046-51.
50. Ontkean M, Gay R, Greenberg B. Diminished endothelium-derived relaxing factor activity in an experimental model of chronic heart failure. *Circ Res* 1991;69:1088-96.
51. Forstermann U, Mugge A, Alheid U, Haverich A, Frolich JC. Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res* 1988;62:185-90.
52. Panza JA, Casino PR, Badar DM, Quyyumi AA. Effect of increased availability of endothelium-derived nitric oxide precursor on endothelium-dependent vascular relaxation in normal subjects and in patients with essential hypertension. *Circulation* 1993;87:1475-81.
53. Koifman B, Wollman Y, Bogomolny N, Chernichowsky T, Finkelstein A, Peer G, et al. Improvement of cardiac performance by intravenous infusion of L-arginine in patients with moderate congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1251-6.
54. Hirooka Y, Imaizumi T, Tagawa T, Shiramoto M, Endo T, Ando S, et al. Effects of L-arginine on impaired acetylcholine-induced and ischemic vasodilation of the forearm in patients with heart failure. *Circulation* 1994;90:658-68.
55. Blum A, Hathaway L, Minceyoy R, Schenke WH, Kirby M, Csako G, et al. Oral L-arginine in patients with coronary artery disease on medical management. *Circulation* 2000;101:2160-4.
56. Katz SD. The role of endothelium-derived vasoactive substances in the pathophysiology of exercise intolerance in patients with congestive heart failure. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38:23-50.
57. Longhurst J, Capone RJ, Zelis R. Evaluation of skeletal muscle capillary basement membrane thickness in congestive heart failure. *Chest* 1975;67:195-8.
58. Wroblewski H, Kastrup J, Norgaard T, Mortensen SA, Haunso S. Evidence of increased microvascular resistance and arteriolar hyalinosis in skin in congestive heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1992;69:769-74.
59. Bauersachs J, Bouloumie A, Fraccarollo D, Hu K, Busse R, Ertl G. Endothelial dysfunction in chronic myocardial infarction despite increased vascular endothelial nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase expression: role of enhanced vascular superoxide production. *Circulation* 1999;100:292-8.
60. Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C, et al. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation* 2002;106:3073-8.
61. McMurray J, McLay J, Chopra M, Bridges A, Belch JJ. Evidence for enhanced free radical activity in chronic congestive heart failure secondary to coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1990;65:1261-2.
62. Indik JH, Goldman S, Gaballa MA. Oxidative stress contributes to vascular endothelial dysfunction in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H1767-70.
63. Keith M, Geranmayegan A, Sole MJ, Kurian R, Robinson A, Omran AS, et al. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1352-6.
64. Stewart DJ, Pohl U, Bassenge E. Free radicals inhibit endothelium-dependent dilation in the coronary resistance bed. *Am J Physiol* 1988;255:H765-9.
65. Prasad K, Gupta JB, Kalra J, Bharadwaj B. Oxygen free radicals in volume overload heart failure. *Mol Cell Biochem* 1992;111:55-9.
66. Dhalla AK, Singal PK. Antioxidant changes in hypertrophied and failing guinea pig hearts. *Am J Physiol* 1994;266:H1280-5.
67. Mugge A, Elwell JH, Peterson TE, Harrison DG. Release of intact endothelium-derived relaxing factor depends on endothelial superoxide dismutase activity. *Am J Physiol* 1991;260:C219-25.
68. Galatiús S, Wroblewski H, Sorensen VB, Bie P, Parving HH, Kastrup J. Endothelin and von Willebrand factor as parameters of endothelial function in idiopathic dilated cardiomyopathy: different stimuli for release before and after heart transplantation? *Am Heart J* 1999;137:549-54.
69. Spieker LE, Mitrovic V, Noll G, Pacher R, Schulze MR, Muntwyler J, et al. Acute hemodynamic and neurohumoral effects of selective ET(A) receptor blockade in patients with congestive heart failure. *ET 003 Investigators. J Am Coll Cardiol* 2000;35:1745-52.
70. Cody RJ, Haas GJ, Binkley PF, Capers Q, Kelley R. Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation* 1992;85:504-9.
71. Rodeheffer RJ, Lerman A, Heublein DM, Burnett JC Jr. Increased plasma concentrations of endothelin in congestive heart failure in humans. *Mayo Clin Proc* 1992;67:719-24.
72. Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, et al. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation* 1994;89:1580-6.
73. Schuller M, Stetter R, Skrabal S, Missbichler A, Woloszczuk W, Hartter E. Radioimmunoassay of immunoreactive C-terminal big-endothelin(22-38). *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991;29:147-50.
74. Pacher R, Bergler-Klein J, Globits S, Teufelsbauer H, Schuller M, Krauter A, et al. Plasma big endothelin-1 concentrations in congestive heart failure patients with or without systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1993;71:1293-9.
75. Pacher R, Stanek B, Hulsmann M, Koller-Strametz J, Berger R, Schuller M, et al. Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:633-41.
76. Kiowski W, Sutsch G, Hunziker P, Muller P, Kim J, Oechslin E, et al. Evidence for endothelin-1-mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. *Lancet* 1995;346:732-6.
77. Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, Kasuya Y, Ihara M, Yamaguchi I, et al. Endogenous endothelin-1 participates in the maintenance of cardiac function in rats with congestive heart failure. Marked increase in endothelin-1 production in the failing heart. *Circulation* 1996;93:1214-22.
78. Lerman A, Kubo SH, Tschumperlin LK, Burnett JC Jr. Plasma endothelin concentrations in humans with end-stage heart failure and after heart transplantation. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:849-53.
79. Moyna NM, Thompson PD. The effect of physical activity on endothelial function in man. *Acta Physiol Scand* 2004;180:113-23.
80. Kobayashi N, Tsuruya Y, Iwasawa T, Ikeda N, Hashimoto S, Yasu T, et al. Exercise training in patients with chronic heart failure improves endothelial function predominantly in the trained extremities. *Circ J* 2003;67:505-10.
81. Mo M, Eskin SG, Schilling WP. Flow induced changes in Ca²⁺ signaling of vascular endothelial cells: effects of shear stress and ATP. *Am J Physiol* 1998;260:H1698-H1707.
82. Nakamura M. Pharmacological modulations of the renin-

angiotensin-aldosterone system in human congestive heart failure: effects on peripheral vascular endothelial function. *Curr Vasc Pharmacol* 2004;2:65-70.

83. O'Kane KP, Webb DJ, Collier JG, Vallance PJ. Local L-NG-monomethyl-arginine attenuates the vasodilator action of bradykinin in the human forearm. *Br J Clin Pharmacol* 1994;38:311-5.

84. Mombouli JV, Illiano S, Nagao T, Scott-Burden T, Vanhoutte PM.

Potential of endothelium-dependent relaxations to bradykinin by angiotensin I converting enzyme inhibitors in canine coronary artery involves both endothelium-derived relaxing and hyperpolarizing factors. *Circ Res* 1992;71:137-44.

85. Hornig B, Arakawa N, Drexler H. Effect of ACE inhibition on endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 1998;19:G48-53.