

DISFUNCTIA ENDOTELIALĂ

LIGIA PUIU

Spitalul de Pneumoftiziologie Baia-Mare

Rezumat

Disfuncția endotelială, definită ca o diminuare a răspunsului vasodilatator la acetilcolină, este factor de risc cardiovascular. Progresele din domeniul biologiei celulare și moleculare au permis o mai bună înțelegere a leziunilor endoteliului vascular. Endoteliul, alcătuit dintr-un monostrat de celule endoteliale pavimentoase, ce tapisează suprafața întregului sistem cardiovascular, reacționează la modificările fizice, chimice și umorale din mediul său prin sinteza și eliberarea de numeroși factori cu rol în modularea angiogenezei, hemostazei, vasomotricității și permeabilității vasculare. Are rol de barieră metabolică, controlând homeostazia internă a organismului prin interacțiunile dintre sânge, endoteliu și celulele musculare netede. Endoteliul menține echilibrul vascular, prin eliberarea factorilor vasorelaxanți și vasoconstricțanți. Oxidul nitric este factorul vasorelaxant principal produs de către endoteliu. Stresul oxidant și inflamația vasculară alterează funcțiile endoteliului vascular, favorizând formarea radicalilor liberi oxigenați la nivelul lanțului respirator mitocondrial, prin mecanisme intra- și extracelulare, ce interacționează cu oxidul nitric formând produși toxici, cum este peroxinitritul, care reduce biodisponibilitatea oxidului nitric endotelial, alterând efectul său vasoprotector și anionul superoxid, care inițiază peroxidarea lipidelor membranare și intervenția superoxidismutazei, a glutatationului și a vitaminei C. Factorul vasoconstrictor endoteliu-dependent este endotelina-1 care crește acțiunea substanțelor vasoactive (angiotensina II, norepinefrina, serotonină), participă la activarea leucocitelor și plachetelor sanghine și are rol în menținerea tonusului vascular periferic și a presiunii sistemice sangvine. Toți factorii de risc cardiovasculari au același efect asupra peretelui arterial, determinând creșterea producerii radicalilor liberi, cu diminuarea vasodilatației endoteliu-dependente, creșterea permeabilității endoteliului cu oxidarea lipoproteinelor cu densitate scăzută și ateroscleroză. Disfuncția endotelială recunoscută ca marker precoce aterogen este implicată în patogenia numeroaselor boli cardiovasculare, renale, pulmonare, cancer, diabet, boli ale țesutului conjunctiv. Factorii de risc ca ateroscleroza, hiperlipidemia, fumatul, hipertensiunea arterială, obezitatea, diabetul se asociază cu disfuncția endotelială.

Cuvinte cheie: disfuncție endotelială, endotelina-1, oxidul nitric, peroxidare lipidică, ateroscleroză.

THE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

Abstract

The endothelial dysfunction defined as a mitigation of the vasodilative response to acetylcholine is a cardiovascular risk factor. Progress in the field of cellular and molecular biology triggered a better understanding of the lesions of the vascular endothelium. The endothelium, made up of a single pavement layer of cells which line the surface of the cardiovascular system, reacts to the physical, chemical and humoral changes in its environment through the synthesis and releasing of many factors acting in the modulation of angiogenesis, hemostasis, vasomotion and vascular permeability. It acts as a metabolic barrier controlling the internal homeostasis of the organism through the interactions between blood, endothelium and smooth muscle cells. The endothelium maintains the vascular balance by releasing vasorelaxing

and vasoconstrictive factors. Nitric oxide is the main vasorelaxing factor produced by the endothelium. The oxidative stress and the vascular inflammation altering the functions of the vascular endothelium thus favouring the formation of reactive oxygen species in the respiratory mitochondria chain, through intra- and extracellular mechanisms. These radicals interact with nitric oxide forming toxic products such as peroxynitrite which reduces the bioavailability of endothelial nitric oxide altering its vasoprotective effect, as that of the superoxide anion which initiates the membrane lipid peroxidation and the intervention of superoxide dismutase, glutathione and vitamin C. The endothelium-dependent vasoconstrictive factor is endothelin-1, which enhances the action of vasoactive substances such as angiotensin II, norepinephrine, serotonin, it takes part in the activation of leucocytes and platelets and it plays a role in maintaining the peripheral vascular tonus and the systemic blood pressure. All cardiovascular risk factors have the same effect on the arterial wall, determining an increase in the production of free radicals while diminishing the endothelium-dependent vasodilation, and an increase of the endothelial permeability with the oxidation of low density lipoproteins and atherosclerosis. The endothelial dysfunction is known as an early marker for atherosclerosis as it is involved in the pathogenesis of a number of cardiovascular, renal and pulmonary diseases, cancer, diabetes, diseases of the conjunctive tissue. Risk factors such as atherosclerosis, hyperlipidaemia, smoking, arteriale hypertension, obesity, diabetes are associated with the endothelial dysfunction.

Keywords: endothelial dysfunction, endothelins-1, nitric oxide, lipid peroxide, atherosclerosis.

Termenul de “**disfuncție endotelială**” a fost folosit prima oară de către M. Ludmer în 1983, care a arătat alterarea vasodilatației endoteliiu-dependente și legătura cu ateroscleroza.

Cu excepția capilarelor sangvine, ansamblul vaselor de sânge este compus dintr-un **perete vascular** organizat în trei straturi distincte dinspre interior spre exterior: **intima**, stratul intern format dintr-un monostrat de **celule endoteliale** care sunt în contact direct cu sângele și elementele plasmatice figurate (plachete, globule roșii și albe), se continuă cu limitanta elastică internă ce formează un strat subintimal; apoi **media**, în care se găsesc celulele musculare netede cu rol în modificările tonusului vascular și, în exterior, **adventicea**, care înconjoară celulele musculare netede vasculare și conține fibroblaste și adipocite. Pe această structură se bazează numeroasele funcții fiziologice ale vaselor sangvine. Cu toate că endoteliul este un monostrat continuu de-a lungul circuitului sangvin, el nu este omogen. Există diferențe structurale în joncțiunile endoteliale, în interacțiunile cu membrana bazală și cu alte celule ale peretelui vascular, ca și în natura receptorilor exprimați. Mai mult, celula endotelială are funcții enzimactice specifice după tipul de endoteliu din care provine.

1. Structura endotelului

Endoteliul este o barieră metabolică de 5000 m² și o interfață dinamică cu proprietăți structurale și funcționale

prin care răspunde stimulilor locali și sistemici. Endoteliul asigură o permeabilitate selectivă ce limitează transferul pasiv de fluide, soluții, macromolecule și elemente celulare între sânge și spațiul interstițial. Endoteliul este alcătuit din celule endoteliale, membrana bazală și subendoteliu. **Celula endotelială** are caracteristicile tuturor celulelor din organism, citoplasma și organele ce înconjoară nucleul fiind delimitate de membrana celulară. Funcția lor principală este de a adapta forma celulei la forțele mecanice ale fluxului de sânge și la distensia peretelui, reducând astfel posibilitatea producerii leziunilor celulare. În momentul în care fluxul crește “**shear stress wall**” și exercită o acțiune paralelă cu axul longitudinal al vasului, celulele se aplatizează și se aliniază în direcția fluxului de sânge, iar când fluxul scade celulele cresc în volum, părăsesc alinierea și iau forma pietrelor de pavaj. Celula endotelială are 0,3-0,5 μm grosime, 100 μm lungime și 10 μm lățime. Are formă romboidală și formează un covor în mozaic. Celulele endoteliale sunt celule alungite orientate în direcția debitului sangvin și se comportă ca o structură receptor - efector față de stimulii fizici și chimici din interiorul vasului de sânge, având rol în menținerea homeostaziei.

Subendoteliul formează o matrice de molecule perfect organizate, care conține collagen, elastină, fibronectină, laminină, trombospondină, integrină, vibronectină, factorul von Willebrand și glicozaminoglicanii, ca dermatan-sulfatul, heparin-sulfatul și condroitin-sulfatul. Subendoteliul are rol în menținerea integrității structurale, a tensiunii mecanice și a elasticității vaselor. Colagenul secretat de către celulele endoteliale este unul din componenții fundamentali ai

Articol intrat la redacție în data de: 20.11.2009

Primit sub formă revizuită în data de: 13.05.2010

Acceptat în data de: 01.06.2010

Adresa pentru corespondență: ligia.puiu@yahoo.com

subendoteliului. Colagenul se leagă de suprafața endotelială prin interacțiuni cu $\beta 1$ -*integrinele*, *VLA-2* și *VLA-3* (very late activation antigen-2, 3), exprimate de către celulele endoteliale la nivelul tuturor situsurilor de legare. Aceste integrine sunt implicate, atât în adeziunea celulelor între ele, cât și cu proteinele matricei extracelulare.

2. Funcțiile endoteliului

Funcțiile celulei endoteliale sunt: • *de menținere a impermeabilității celulei* • *de sinteză a moleculelor procoagulante, anticoagulante și antitrombotice* • *de sinteză a membranei bazale* • *de modulare a fluxului de sânge și a reactivității vasculare* • *de interacțiune cu celulele inflamatoare și imunocitele* • *de eliberare a factorilor de creștere și oxidare a lipoproteinei cu densitate scăzută, LDL* (low density lipoprotein). Deci, endoteliul produce o mare varietate de molecule, agonști și antagonști, cu rol în echilibrarea efectelor din ambele direcții. Acestea sunt: • *substanțe vasodilatatoare și vasoconstrictoare* • *procoagulante și anticoagulante* • *inflamatoare și antiinflamatoare* • *fibrinolitice și antifibrinolitice* • *oxidanți și antioxidanți*. În momentul în care celula endotelială nu are capacitatea de a menține acest echilibru, apar condiții ce favorizează traversarea ei de către lipide și leucocite (monocite și limfocite T), ceea ce duce la amplificarea răspunsului inflamator și infiltrația cu lipide, prima treaptă în formarea plăcii de ateroscleroză.

Funcția principală a endoteliului este de a menține echilibrul tonusului vascular.

2.1. Tonusul vascular este reglat de *factori vasodilatatori și vasoconstrictori*.

2.1.1. Factorii vasorelaxanți sunt monoxidul de azot (NO), prostaciclina (PGI₂), factorul hiperpolarizant derivat din endoteliu (EDHF).

2.1.1.1. Monoxidul de azot (NO): în anul 1980, R. F. Furchgott și J. V. Zawadzki descoperă existența unui factor difuzibil neprostanoid eliberat ca răspuns al celulei endoteliale la acetilcolină, capabil să determine relaxarea celulelor musculare netede [1]. Această relaxare dependentă de endoteliu mai poate fi indusă de bradikinină, histamină, ATP și ionoforul de calciu. În anul 1986, T. F. Lüscher și P. M. Vanhoutte descoperă că există o diminuare a vasodilatației arteriale dependente de endoteliu determinată de acetilcolină. Grupul L. J. Ignarro, în anul 1988 și S. Moncada în anul 1991 au identificat faptul că factorul de relaxare derivat din endoteliu (**EDRF**) (endothelium derived relaxing factor) este monoxidul de azot, gaz difuzibil implicat în numeroase procese biologice la nivel cardiovascular, imunitar și nervos. NO prin acțiunea vasorelaxantă are rol cheie la nivel vascular [2].

NO este principalul *agent de vasorelaxare endoteliu-dependent din interiorul* arterelor, însă controlează și agregarea plachetară, adeziunea leucocitelor, proliferarea mușchiului neted vascular, transmisia sinaptică, acțiunea

citotoxică a macrofagelor, apoptoza celulelor endoteliale, tromboza și angiogeneza. Datorită ușurinței cu care difuzează, NO este un mesager foarte bun intracelular. NO este sintetizat de către enzima oxid nitric sintetază, sNOS (nitric oxide synthase), ce catalizează oxidarea *L-argininei* în *L-citrulină* [3]. Există trei izoformi ai acestei enzime sNOS, două constitutive (NOS1 și NOS3) și una inductibilă (NOS2): NO sintetază endotelială (*eNOS*) (*NOS1*) (NOS endothelial), NO sintetază neuronală (NOS neuronal) (*nNOS*) (*NOS3*) și NO sintetază inductibilă (NOS inducible) (*iNOS*) (*NOS2*).

Concentrația de NOS de la suprafața endoteliului este rezultatul activității NOS constitutive, a transportorilor care aduc substratul pentru L-arginină, a arginazelor care îl convertesc în uree și ornitină, ca și a reacției NO cu anionii superoxizi. eNOS este exprimată constitutiv la nivelul celulei endoteliale din artere și vene, în celula musculară netedă vasculară, în miocitele cardiace, plachete, celulele tubulare renale și anumiți neuroni. NO este sintetizat în mod continuu de către eNOS [4]. **Sinteza** este indusă de stimuli fizici și chimici. Între stimulii fizici, forțele de tăiere "*shear stress*" constituie unul din principalii factori care reglează eliberarea locală de NO. **Mecanismele de activare** a eNOS prin „shear stress” sunt complexe, cu intervenția rapidă a canalelor ionice și a căilor de semnalizare ce duc la fosforilarea eNOS și/ sau la creșterea expresiei eNOS [5].

NO eliberat este apoi *degradat* pe mai multe căi metabolice prin interacțiuni cu: • *oxigenul* formând nitriți/nitrați (NO₂/NO₃), doi metaboliți inactivi • *anionul superoxid, O₂⁻* formând peroxinitritul ONOO⁻, un produs foarte reactiv ce determină oxidarea lipidelor și nitrozilarea acizilor aminați cum sunt tirozina și cisteina • *moleculele de fier* prezente în hemul hemoglobinei. **NO** are rol în controlul tonusului vascular, a trombozei și hemostazei, în proliferarea celulelor musculare netede, a apoptozei celulare vasculare [6].

2.1.1.2. Factorul hiperpolarizant derivat din endoteliu (EDHF) (endothelium derived hyperpolarizing factor) apare odată cu hiperpolarizarea celulei ca urmare a activării canalelor calcice potasiu-dependente cu conductanță scăzută și medie, localizate la nivelul celulei endoteliale. Aceste canale sunt activate de creșterea calciului intracelular. **EDHF** poate fi asimilat cu acizii epoxieicosatrienoici (EETs) (epoxyeicosatrienoic acids) din unele paturi vasculare, derivați ai acidului arahidonic. **Hiperpolarizarea membranelor** este legată de • *celula musculară netedă* și transmisă prin joncțiunile gap mioendoteliale • *canalele de potasiu*, deoarece ionii de K⁺ care provin din curenții canalelor potasice calciu-dependente endoteliale activează Na⁺/ K⁺ -ATPaza și canalele de potasiu în sensul de intrare în celula musculară netedă și • *H₂O₂*. În toate cazurile, hiperpolarizarea se opune activării canalelor calciu-dependente de potențial, ceea ce determină scăderea sau chiar blocarea intrării calciului în celulă și astfel relaxarea ei [7].

2.1.1.3. Prostaciclina

Prostanoizii sunt acizi grași hidroxiilați ciclici și, în funcție de configurația părții ciclice, se împart în: **prostaglandine** (prostaciclone ce conțin cinci carboni) și **tromboxani** ce conțin un heterociclu cu oxigen și cinci carboni. Celula endotelială sintetizează **prostaciclina** (PGI_2) (prostacyclin) din acidul arahidonic și apoi îl excretă în sânge. Această moleculă este un vasodilatator și antiagregant puternic, care se leagă de un receptor specific de pe suprafața plachetelor, stimulând adenilat-ciclaza și formarea adenosin-monofostafului ciclic (**AMPc**) (adenosine monophosphate cyclic), care la rândul său inhibă modificarea de formă, secreție și agregare plachetară, ca și legarea fibrinogenului de receptorii membranari.

Sinteza și secreția de **prostaciclina** sunt modulate de **trombină**, **histamină**, adenozinidifosfat (**ADP**) (adenosine diphosphate), adenozintrifosfat (**ATP**) (adenosine triphosphate), **citokine**, ca și de **variatiile forțelor "shear stress"** și de **alterarea endotelului**.

Disfuncția endotelială nu înseamnă doar pierderea funcției vasodilatatoare NO-dependente ca răspuns la stimuli ca acetilcolina, ci și diminuarea producției sau biodisponibilității NO, asociată sau nu dezechilibrului balanței dintre vasodilatatoare și vasoconstrictoare [8].

2.1.2. Factorii vasoconstrictori sunt: endotelina-1 (ET-1), tromboxanul (TxA_2), prostaglandina H_2 (PGH_2).

2.1.2.1. Endotelina-1 (ET-1), membru al familiei endotelinelor, de la identificarea ei ca peptid vasoconstrictor derivat din endotelium, a suscitat un interes deosebit în lumea medicală. ET-1 este un neuropeptid secretat de către endotelium vascular cu efect vasoconstrictor puternic asupra celulelor musculare netede. A fost identificat în anul 1988 ca un peptid cu 21 acizi aminați, alături de alte două peptide, endotelina-2 (ET-2) și endotelina-3 (ET-3). Progresele biologiei moleculare au dus la descoperirea rapidă de către M. Yanagisawa a **căii de sinteză**, a **receptorilor membranari** implicați în răspunsul celular și a **inhibitorilor sintezei sau a antagoniștilor receptorilor endotelinelor** cu noi perspective terapeutice [9]. Endotelina-1 a fost inițial identificată în celulele endoteliale aortice porcine. La om, aparține unei familii ce codează trei izoforme, ET-1, ET-2 și ET-3, fiecare provenind dintr-o genă distinctă ce codează pentru un precursor specific. Endotelina este alcătuită din 21 acizi aminați, care conțin două lanțuri disulfurice și o extremitate C-terminală identică cu șase acizi aminați necesari activității sale biologice [10]. Produsul inițial al genei endotelinei este un prepropeptid constituit din 212 acizi aminați, numit **preproendotelina-1**, clivată apoi de endopeptidaza neutră în proendotelina-1 (**proET-1**), apoi bigendotelina-1 (**bigET-1**), pe care enzima de conversie a endotelinei (**ECE**) (endothelin converting enzyme) o transformă în **endotelina-1** cu activitate vasculară [11]. Au fost clonați doi receptori pentru fiecare tip de endotelină, care se disting prin afinitățile lor față de izoformii enzimei. ET-1 are afinitate pentru ET_a și ET_b , și ET-3 pentru ET_b .

Receptorul ET_a este exprimat predominant pe celulele musculare netede din bronșii, plămâni, artera pulmonară, miocard, sistem atrioventricular, artera coronariană, uter, vase ombilicale, creier, tiroidă, piele, stomac și mai puțin în ficat, rinichi, glande suprarenale. Receptorul ET_b este exprimat pe celulele endoteliale și musculare netede în cantitate mare în placentă, cortexul renal, glanda paratiroidă, bronșii, ficat, piele, miocard, creier, artera coronară, splină, rinichi, sistem suprarenal, și în cantitate mai mică în aortă, piele, plămâni, stomac [12]. Endotelina-1 are efecte biologice multiple vasculare, cardiace, pulmonare, cerebrale, hepatice, renale. ET-1 are rol important în menținerea tonusului vascular bazal și în reglarea presiunii arteriale. În concentrații scăzute, ET-1 determină vasodilatație prin activarea receptorilor endoteliali ET_b , cuplați la eliberarea de NO, prostaciclina, EDHF. În concentrații crescute, determină o contracție susținută asupra mușchiului neted vascular prin activarea receptorilor ET_a și în unele vase sangvine chiar și a receptorilor ET_b [13]. În condiții fiziologice, nivelul endotelinei circulante este scăzut, ceea ce sugerează că există fie o producere discretă datorită mecanismelor inhibitoare puternice (NO), fie o eliberare abluminală înspre celulele musculare netede vasculare [14].

Factorul fiziologic cel mai important în producerea și eliberarea endotelinei-1 sunt forțele de tăiere "**shear stress**". La nivelul bifurcației arteriale turbulențele fluxului sangvin exercită forțe de tăiere care activează endotelium [15]. Celulele endoteliale activate exprimă **moleculele de adeziune** celulară din familia **selectinelor E- și P** care favorizează chimiotactismul **monocitelor și limfocitelor** sangvine prin diminuarea sintezei NO [16]. În condiții fiziologice, activarea mecanoreceptorilor localizați în endotelium ca răspuns la forțele mari de tăiere $> 5 \text{ dyn/cm}^2$ determină producerea și eliberarea oxidului nitric NO din celula endotelială și diminuarea eliberării endotelinei-1. Astfel, apare vasodilatația vasului de sânge. Fenomenul produce scăderea tonusului vascular din sistemul arterial și venos cu scăderea întoarcerii venoase și creșterea extravazării plasmatică la nivel capilar. Toate aceste evenimente au ca rezultat scăderea debitului sangvin [17].

2.1.2.2. Tromboxanul A_2 (TxA_2): vasoconstricția endotelium - dependentă determină eliberarea substanțelor ca PGH_2 , radicali liberi oxigenați, angiotensina II, endotelina-1 și tromboxanul. Endotelium intervine și în modularea interacțiunii dintre constituenții sangvini, mai ales a plachetelor cu peretele vascular. În cazul alterării intimei, endotelium pierde rolul protector și tromboza stimulează în mod direct plachetele, determinând adeziunea și agregarea lor cu eliberarea tromboxanului A_2 [18].

2.2. Endotelium, fiind o barieră dinamică, are rol foarte important în **menținerea integrității** peretelui vascular prin: • **adeziunea dintre celule** • **adeziunea celulelor la matricea subendotelială** și • **interacțiunea celulelor**

endoteliale cu celulele imunitare.

Agresiunea ţesuturilor se face prin intermediul endoteliului, care reacţionează prin creşterea expresiei receptorilor de adeziune pentru interacţiunile imunitare efectoare. **Leucocitele** aderă la endoteliu printr-o succesiune de **legături intercelulare**, prin intermediul **receptorilor membranari**, cum sunt **selectinele**, dar şi prin **membrii superfamiliei imunoglobulinelor**. Majoritatea leucocitelor exprimă **selectina-L**. Endoteliul exprimă **selectina-E**. Aceste molecule sunt specializate în captarea leucocitelor dinspre fluxul sanguin înspre peretele vasului. Contactul iniţial dintre leucocit şi celula endotelială este urmat de încetinirea migrării leucocitelor circulante şi rularea lor pe celula endotelială, urmat de o cascadă de reacţii moleculare care permite migrarea transendotelială a leucocitelor [19]. Plachetele sangvine sau celulele endoteliale stimulate pot mobiliza şi selectina-P intracelulară către suprafaţa celulelor. Unele **molecule de adeziune aparţin superfamiliei imunoglobulinelor**, cum sunt **moleculele de adeziune intercelulară-1, 2 (ICAM1, ICAM2)** (intercellular adhesion molecules), moleculele de adeziune celulară vasculară (**VCAM1**) (vascular cellular adhesion molecule 1) şi **MadCAM1** (mucosal addressin cellular adhesion molecule 1). În acest proces este mobilizată şi **PECAM1** (platelet endothelial adhesion molecule-1), care ajută leucocitele să migreze printre celulele endoteliale, prin modificarea joncţiunilor celulare (diapedeza celulară). În cazul presiunilor intravasculare mari apar **disjoncţiuni**, numite "intracellular openings" între celulele endoteliale ale capilarelor cu deschiderea lor, ceea ce duce la creşterea bruscă a infiltraţiei cu fluide.

3. Disfuncţia endotelială - mecanisme

3.1. Speciile oxigenate reactive constituie mecanismul prin care factorii de risc recunoscuţi clinic determină **disfuncţie endotelială**.

Celulele endoteliale, datorită contactului direct cu sângele, sunt foarte expuse speciilor oxigenate reactive care se formează din metabolismul normal al oxigenului, xenobioticelor sau al exploziei respiratorii din lanţul mitocondrial. Celulele endoteliale formează chiar ele, în condiţii de anoxireoxigenare, specii oxigenate reactive, cum este şi peroxidul de hidrogen. Datorită expunerii crescute a celulelor endoteliale la speciile oxigenate reactive, ele devin reglatori importanţi ai funcţiilor fiziologice normale şi patologice [20]. Speciile oxigenate reactive formate de celulele endoteliale după reoxigenare sunt responsabile de creşterea permeabilităţii endoteliului, de creşterea aderenţei neutrofilelor şi de inhibiţia sintezei prostaglandinelor [21]. Pierderea funcţiei homeostatice şi a integrităţii barierei endoteliale, eveniment precoce în secvenţa toxicităţii datorată stresului oxidativ, duce la manifestările fiziopatologice ale diverselor boli [22]. **Fumatul** intervine ca factor complementar în agravarea disfuncţiei endoteliale a vaselor sangvine prin intermediul

oxidării LDL colesterolului [23].

3.2. Creşterea permeabilităţii endoteliale determină disfuncţia endotelială, **stadiul precoce al aterosclerozei** şi corespunde trecerii prin endoteliu a moleculelor de LDL colesterol. În anul 1985, **OMS** descria ateroscleroza ca "fiind o asociere de remanieri ale intimei arterelor de calibru mare şi mediu, cu acumulare focală de lipide, glucide complexe, sânge şi depozite calcare şi remanieri ale mediei". În prezent se descriu şase etape în formarea plăcii ateromatoase, de la penetrarea LDL colesterolului în peretele vasului, până la formarea plăcii complicate [24]. Formarea plăcii de aterom trece de la stadiul de striu lipidic, la leziunea fibro - lipidică, ajungând în final, la stadiul de placă complicată. În evoluţia aterosclerozei un rol important îl au lipoproteinele, alături de alte patru tipuri principale de celule: **macrofagele, celulele endoteliale, celulele musculare netede şi limfocitele** [25]. Se pare că intervin multe mecanisme care duc la formarea plăcii de aterom, începând de la penetrarea lipoproteinelor în intima arterială, recrutarea monocitelor şi transformarea lor în celule spumoase, reacţia inflamatorie, până la formarea învelișului fibros sau fibromuscular. Prima etapă în dezvoltarea aterosclerozei începe cu **acumularea lipoproteinelor** cu densitate scăzută (**LDL colesterolul**) [26]. Este un fenomen pasiv, secundar dezechilibrului dintre intrări şi ieşiri, cantitatea de LDL colesterol din circulaţie fiind elementul determinant în formarea plăcii de ateroscleroză. **Faza de infiltraţie lipidică** este urmată de **modificările oxidative ale LDL şi prezenţa macrofagelor în peretele vascular**. **Oxidarea LDL** se face in situ la nivelul spaţiului subintimal, cu intervenţia diferitelor **mecanisme enzimactice şi neenzimactice**, urmată de **faza de recrutare a monocitelor sangvine şi transformarea lor în macrofage** şi apoi în **celule spumoase**. Este faza ce implică prezenţa monocitelor sangvine, care aderă la suprafaţa endoteliului pe care îl traversează, după care se transformă în celule spumoase [27]. Endoteliul normal are capacitatea de a inhiba aderenţa monocitelor sangvine, însă disfuncţia endotelială sau activarea endotelială favorizează recrutarea lor [28]. Această recrutare duce la creşterea expresiei moleculelor de adeziune la suprafaţa endotelială, fiind legată de prezenţa LDL oxidate în intimă, datorită citokinelor inflamatorii exprimate de către celulele din placă. Moleculele de adeziune au capacitatea de a se lega de liganzii familiei integrinelor, care sunt prezenţi pe membrana leucocitelor, în timp ce unele monocite sangvine aderă la suprafaţa endoteliului vascular. După adeziune, **monocitele** pătrund în spaţiul subintimal, unde se transformă în **macrofage**. Această etapă necesită intervenţia proteinei chemotactice a monocitelor-1 (**MCP-1**) (monocyte chemotactic protein-1), care înlesneşte trecerea monocitelor printre celulele endoteliale şi a factorului de stimulare a monocitelor în colonii (**M-CSF**) (monocyte colony stimulating factor), ce favorizează diferenţierea monocitelor în macrofage şi proliferarea lor. **Macrofagele**

prezente în spațiul subendotelial au rol cheie în etapele aterosclerozei, în producerea de citokine inflamatoare și de metaloproteinaze. La început, unele macrofage, prin captarea LDL oxidate prin intermediul **receptorilor "scavenger"** se transformă în celule spumoase și apoi, prin infiltrația peretelui arterial, determină, printr-un **fenomen de autoamplificare**, o reacție inflamatorie cronică importantă cu creșterea plăcii de aterom [29]. Macrofagele produc foarte multe **citokine proinflamatoare** ce amplifică fenomenul de activare endotelială, favorizând din nou atât adeziunea monocitelor între ele, cât și trecerea lor printre joncțiunile endoteliale. Citokinele proinflamatoare, ca factorul de necroză tumorală α (**TNF α**) (tumoral necrosis factor α), interleukina-1 (**IL-1**) (interleukin 1) din celulele plăcii ateromatoase, cresc expresia metaloproteinazelor cu activitate de degradare a matricei extracelulare, ducând la fragilizarea plăcii. Toate aceste reacții sunt rezultatul echilibrului dintre citokinele cu acțiune proinflamatorie și cele cu acțiune antiinflamatorie. Activitatea metaloproteinazelor este inhibată de inhibitorii metaloproteinazelor-1,2, respectiv **TIMP-1** și **TIMP-2** (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1, 2). Lipidele din placa de aterom se regroupează pentru a forma **centrul lipidic sau ateromatos** în lumenul arterial izolat de un înveliș fibromuscular. **Învelișul fibros este compus din celule musculare netede și proteine ale matricei extracelulare (colagen, elastină, proteoglicani)**. Celulele musculare netede provin din media arterei care migrează prin limitanta elastică internă înspre intima arterială, unde proliferază sub influența unor factori de creștere, cum este factorul de creștere derivat din plachete (**PDGF**) (platelet derived growth factor). Această reacție de favorizare a creșterii se datorează modificării fenotipului celulelor musculare netede, care trec de la **fenotipul contractil la fenotipul secretor**. Integritatea învelișului fibros este foarte importantă pentru stabilitatea plăcii de ateroscleroză. Placa de ateroscleroză poate evolua timp de mai mulți ani, până ajunge la o stenoză mai mare de 50 % din diametrul lumenului arterial. **Progresia plăcii de ateroscleroză** înspre stenoză este un fenomen foarte lent și, de obicei, consecința încorporării materialului trombotic format după o ruptură silențioasă. **Vulnerabilitatea plăcii de aterom** este în funcție de compoziția în lipide și țesut fibros. Plăcile cele mai vulnerabile cu risc mare de ruptură sunt cele care conțin un centru lipidic important și un înveliș fibros subțire. **Matricea extracelulară a părții fibroase** este produsă de către celulele musculare netede, care migrează și proliferază în intima vasculară. Se pare că producerea matricei extracelulare are un efect benefic, deoarece favorizează formarea învelișului fibros solid, cu rol stabilizator al plăcii [30].

Totuși, se pare că **creșterea în volum a plăcii** nu are neapărat efecte asupra lumenului arterial, deoarece până într-un stadiu avansat dezvoltarea plăcii poate fi compensată, fie de o **remodelare compensatorie** prin creșterea în volum a vasului, fie de o **remodelare constrictivă** cu diminuarea

vasului.

3.3. Ateroscleroza se dezvoltă, atât la nivelul zonelor de constrângere mecanică de la nivelul ramurilor de diviziune, bifurcații, curburi arteriale, cât și la nivelul arterelor supuse constrângerilor mecanice externe, cum sunt arterele coronare epicardice care suferă mișcările sistolei ventriculare [31].

Mecanismele fiziopatologice care explică formarea ateromului și a complicațiilor sale sunt în principal, **LDL colesterolul, agenții infecțioși și posibilele mecanisme inflamatorii**. **Disfuncția endotelială** este prima etapă a aterosclerozei, urmată de formarea plăcii, care sub influența diverșilor factori se poate complica cu fenomene de tromboză. Fenomenele inițiale de ateroscleroză depind de anomaliile endotelului. Endotelul devine foarte permeabil pentru elementele figurate ale sângelui, monocite și macrofage [32]. În condiții fiziologice, LDL colesterolul pătrund în peretele arterial, sunt captate de monocitele și macrofagele rezidente în peretele arterial și de celulele musculare netede, și apoi suferă un catabolism prin care sunt degradate și evacuate prin intermediul lipoproteinelor cu densitate crescută (HDL) (high density lipoprotein) [33]. **În momentul în care crește permeabilitatea endotelială**, LDL colesterolul este reținut în matricea extracelulară și supus alterărilor oxidative, cu formare de numeroase lipide oxidate proinflamatorii și cu modificări covalente ale apolipoproteinei B (apoB) (apolipoprotein B) [34]. Simultan, celulele endoteliale exprimă proteinele de adeziune care se leagă de monocitele ce traversează endotelul și se transformă în macrofage la nivelul intimei. La rândul lor, macrofagele recunosc LDL oxidate (sau receptorii scavenger), facilitând internalizarea lor cu acumularea intracelulară de colesterol și formare de celule spumoase [35].

Aterogeneza este un proces inflamator cronic care necesită **interacțiunea complexă dintre elementele circulante (lipoproteine și celule) și celulele peretelui vascular** [36].

Chiar și procesul de **îmbătrânire** se asociază cu leziunea celulelor endoteliale și acumularea lipoproteinelor LDL [37]. Studiile epidemiologice arată existența asocierii dintre **poluarea atmosferică** și alterarea funcției endoteliale [38]. Poluarea cu gaze cum sunt NO₂ și SO₂ se asociază cu alterarea funcției endoteliale la nivelul arterelor de calibru mare, în timp ce poluarea cu particule Diesel, PM_{2,5} și PM₁₀ cu alterarea funcției endoteliale de la nivelul arterelor de calibru mic [39].

3.4. În insuficiența cardiacă, endotelina are **efecte vasoconstrictoare directe și indirecte**, prin creșterea tonusului simpatic, proliferarea mușchiului neted vascular prin mecanisme de hipoxie și activare neurohormonală ce activează sistemul renină/angiotensină cu modificări pulmonare și sistemice [40,41,42,43,44].

3.5. În hipertensiunea arterială, efectul vasoconstrictor al endotelinei se leagă de creșterea sensibilității vaselor la endotelină sau de răspunsul alterat la stimularea receptorilor endotelinei [45,46,47,48,49].

3.6. În hipertensiunea arterială pulmonară, tonusul vascular este reglat de endotelina-1, a cărei concentrație crește, determinând îngustarea arterelor pulmonare mici, ceea ce duce la creșterea rezistenței la fluxul de sânge, obligând inima să lucreze mai mult pentru a pompa sângele înspre plămâni și având ca rezultat creșterea presiunii sangvine din arterele pulmonare [50].

4. Evaluarea funcției endoteliale

Disfuncția endotelială este implicată precoce în fiziopatologia numeroaselor boli, cum sunt și bolile cardiovasculare [51,52,53,54]. Explorarea sa permite identificarea subiecților cu **risc de boală cardiovasculară** și se face prin dozarea markerilor circulanți de origine endotelială. Markerii nu sunt specifici și indică mai degrabă o stare de activare endotelială decât o disfuncție endotelială. Funcția endotelială se poate studia prin metode funcționale, ca răspuns la stimuli farmacologici sau fiziologici. Existența disfuncției endoteliale se asociază cu prezența factorilor de risc vasculari și apare chiar din stadiul precoce al bolii, sugerând o implicație fiziopatologică. Atingerea endotelială constituie un marker de risc predictiv pentru apariția evenimentelor și a complicațiilor cardiovasculare [55]. **Metodele** folosite pentru evaluarea disfuncției endoteliale sunt: **metode funcționale**, care studiază în mod direct endoteliul unui segment vascular dat, **metode biologice**, care evaluează endoteliul vascular cu ajutorul indicatorilor circulanți și **metode farmacologice**.

Progresele ultimelor decenii arată că endoteliul vascular, considerat inițial ca o barieră inertă, este implicat precoce în inițierea și progresia numeroaselor boli. **Disfuncția endotelială** dată de acumularea de **lipide** în intima arterială cu recrutarea de monocite și diferențierea lor în macrofage și celule spumoase, **fumatul, poluarea, stresul** determină o **reacție inflamatorie** la nivelul peretelui arterial, ce participă la formarea **plăcii de aterom**. **Disfuncția endotelială are o valoare predictivă pentru depistarea aterosclerozei subclinice și apariția evenimentelor cardio-și cerebrovasculare.**

Lista de abrevieri

Apo B (apolipoprotein B)
ADP (adenosine diphosphate)
AMPc (adenosine monophosphate cyclic)
ATP (adenosine triphosphate)
BigET1 (bigendothelin-1)
ET (endothelin)
ECE (endothelin converting enzyme)
EDHF (endothelium derived hyperpolarizing factor)
EDRF (endothelium derived relaxing factor)
EETs (epoxyeicosatrienoic acids)

eNOS (endothelial NOS)
ET-1 (endothelin-1)
GMPc (guanosine monophosphate cyclic)
HDL (high density lipoprotein)
H₂O₂ (hydrogen peroxide)
ICAM1, ICAM2 (intercellular adhesion molecules 1, 2)
IL-1 (interleukin 1)
iNOS (NOS inducible)
LDL (low density lipoprotein)
MadCAM1 (mucosal addressin cellular adhesion molecule 1)
MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1)
M-CSF (monocyte colony stimulating factor),
nNOS (NOS neuronal)
NO• (nitric oxide)
sNOS (nitric oxide synthase)
O₂⁻ (anion superoxide)
ONOO• (peroxynitrite)
PDGF (platelet derived growth factor)
PECAM-1 (platelet endothelial adhesion molecule-1)
PGH₂ (prostaglandine H₂)
PGI₂ (prostacyclin I₂)
proET1 (proendothelin 1)
TIMP-1 și TIMP-2 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1, 2)
TNFα (tumoral necrosis factor α)
TxA₂ (thromboxan A₂)
VCAM1 (vascular cellular adhesion molecule 1)
VEGF (vascular endothelial growth factor)
VLA-2 și VLA-3 (very late activation antigen-2, 3)

Bibliografie

1. Furchgott R F, Zawadzki J V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle to acetylcholine. *Nature*. 1980; 288: 373-376
2. Moncada S, Higgs A: The L-arginine-NO pathway. *N Engl J Med*. 1993; 329: 2002-12
3. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991; 43: 109-142
4. Blaise G MD. Endothelium derived relaxing factor/ nitric oxide. *Can J Anaesth*. 1992; 39: 8:65-769
5. Vadon Nicolas Sennequier Sandrine Le Goff. Biosynthèse du monoxide d'azote (NO): mecanisme, régulation et controle. *Médecine/Sciences*. 1998; 14: 1185-1195
6. Harrison DG: Endothelial control of vasomotion and nitric oxide production. *Cardiol Clin*. 1996; 14: 1-15
7. Corda Stefano, Mebaza Alexandre. L'homeostasie calcique de la cellule endothéliale: physiologie et physiopathologie. *CAT. INIST. Thèse de doctorat*. 1998
8. Cosentino F, Luscher T F. Maintenance of vascular integrity: role of nitric oxide and other bradykinin mediators. *Eur Heart J*. 1995; 16(K): 4-12
9. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y etc. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988; 332: 411-415
10. Asahara T, Masuda H, Takahashi T et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis of functional endothelial precursors. *Blood*. 2000; 95: 952-958
11. Jafei Farahdiba, Adviye Ergul. Nuclear localization of

- endothelin-converting enzyme-1. Arteriosclerosis, Thrombosis and vascular biology. 2003; 23: 2191-2196
12. Haynes WG, Strachan FE, Webb DJ: Endothelin ETa and ETb receptors mediate vasoconstriction of human resistance and capacitance vessels in vivo. *Circulation*. 1995; 92: 357-363
13. Cazaubon Sylvie, Frederique Deshayes, Pierre-Olivier Couraud, Clara Nahmias. Endotheline-1, angiotensine II et cancer. *Médecine/ Sciences*. 2006; vol.22, nr.4: 416-422
14. Clozel M, S Roux. La pharmacologie de l'endothéline et de son antagoniste bosentan. *Annales d'Endocrinologie*. 2000; vol 61,nr 1: 75
15. Clozel Martine, Lewis J Rubin . The Pathophysiology of endothelin in The endothelin system in cardiopulmonary diseases, Actelion Pharmaceuticals Ltd .2005: 17-97
16. McNeill J Robert. Role of endothelin in regulation of resistance, fluid-exchange, and capacity functions of the systemic circulation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2003; vol.81, nr.6: 522-532(11)
17. D'Orleans-Juste Pedro, Jean-Philippe Gratton, Richard Leduc, Ghassan Bkaily, Audrey Claing. L'endothéline: pharmacologie cardiovasculaire et considerations physiopathologiques. *Médecine/ Sciences*. 1996; 12: 563-74
18. Pitre Christophe, Alain Cardon, Jean-Louis Beaudeux, Jacqueline Peynet: Physiopathological aspects of the atherothrombogenicity of lipoprotein(a). *Sang Thrombose Vaisseaux*. 1998; vol10, nr. 1: 29-38
19. Celermajer DS: Endothelial dysfunction. Does it matter? Is it reversible? *JACC*. 1997; 30: 325-333
20. Esper J Ricardo, Roberto A Nordaby, Jorge O Vilarino, Antonio Paragano.etc. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovascular Diabetology*. 2006; 5: 4-8
21. Beckman J. S.: Reactions between nitric oxide, superoxide and peroxynitrite footprints of peroxynitrite in vivo. *Adv Pharmacol*. 1995; 34: 17-43
22. Beckman J. S, Beckman T. W, Chen J. et al.: Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite implication for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990; 87: 1620-4
23. Bailliart Olivier. Le tabac et les vaisseaux. *www.tabacologie.globallink*. 2005: 277-287
24. Bonetti Piero, Lilach O Lerman and Amir Lerman. Endothelial dysfunction: A marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23:168-175
25. Boss J Christofer, Andrew Blann, Gregory Lip. Circulating Endothelial Cells in Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48: 1538-1547
26. Elwakkad A S, S I Mohamed Fathalla. Relation between hypercholesterolemia and vascular endothelial microinflammation. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 2007; vol 13, nr 3: 11-15
27. Steinberg HO, Tarshoby M, Monestel R, Hook G.etc. Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilatation. *J clin Invest*. 1997 Sep 1; 100(5): 1230-1239
28. Thorne Sara, Michael J Mullen, Peter Clarkson, Ann E Donald and John E Deanfield. Early endothelial dysfunction in adults at risk from atherosclerosis: different responses to L-arginine. *J Am Coll Cardiol*. 1998; 32: 110-116
29. Goldstein J L, Brown M S et al. Atherosclerosis: the low density lipoprotein receptor hypothesis. *Metabolism*. 1997; 26: 1257-1275
30. Miller VM, Aarhus LL, Vanhoutte PM. Modulation of endothelium-dependent responses by chronic alterations of blood flow. *Am J Physiol*. 1986, 251: H520-H527
31. Ross R. Atherosclerosis-An inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999, 340: 115-126
32. Berg K, Dahlen G, Krick MH. Lipoprotein Lp(a) excess and pre beta-1-lipoprotein in patients with coronary heart disease. *Clin Genet*. 1974; 6: 230-5
33. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986; 232: 34-47
34. Carreiro-Lewandowski Eileen. Update on selected markers used in risk assessment for vascular disease. *Clin Lab Sci*. 2004; 17(1): 43
35. Schiffrin EL: A critical review of the role of endothelial factors in the pathogenesis of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001; 38[suppl 2]: S3-S6
36. Shimokawa Hiroaki, MD., PhD. Clinical assessment of endothelial function. *Japanese Circulation Society*. 2000; 2: 24-29
37. Vanhoutte P M. Endothelium-derived free radicals: for worse and for better. *J Clin Invest*. 2001; 107: 23-25
38. Briet M, et al. Même a un niveau ambiant, la pollution atmosphérique altère la fonction endothéliale. *Hypertension*. 2007; 50: 970-6
39. Faisy C , E. Naline, J-L Diehl, T Chinet, C Advenier. Role de l'endothéline dans la physiologie et la physiopathologie des voies aeriennes respiratoires. *Rev Mal Resp*. 2002; vol 19, nr 3: 273-394
40. Vita Joseph A MD; Keaney John F Jr MD. Endothelial function: A barometer for cardiovascular risk? *Circulation. Journal of the American Heart Association*. 2002; vol 106(6): 640-642
41. Yang Li L, Sara Arab, Peter Liu, J Stewart, and Mansoor Husain. The role of endothelin-1 in myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: old lessons and new insights. *Can J Physiol Pharmacol*. 2005, 83: 47-62
42. Lewis MS et al. Hydrogen peroxide stimulates the synthesis of platelet-activating factor by endothelium and induces endothelial cell-dependent neutrophil adhesion. *J Clin Invest*. 1988; 82(6): 2045-2055
43. Cai H, Harrison DG: Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res*. 2000; 87: 840-4
44. Blann Andrew: Assessment of endothelial dysfunction: focus on atherothrombotic disease. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2003/2004; 33: 256-261
45. Antony Isabelle. Dysfonction endothéliale coronaire dans l'hypertension artérielle: mécanismes et consequences. *Sang Trombose Vaisseaux*. 1998; Vol 10, Nr 4: 230-8
46. Cracowski Jean-Luc, Françoise Stanke-Labesque, Germain Bessard. Endothelin antagonists, cardiac failure and hypertension: a perspective. *Sang Thrombose Vaisseaux*. 2000; vol 12; nr.1: 33-39
47. Donald E Ann, AVS, Marietta Charakida, MD, Tim J Cole, ScD, Peter Froberg, MD, PhD. etc. Clinical research: endothelial function: Non-invasive assessment of endothelial function. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48: 1846-1850
48. Duwall W Lane, M.D. Endothelial dysfunction and antioxidants. *The Mount Sinai Journal of Medicine*. 2005; vol 72, nr.2: 71-80
49. Lip Y H, Gregory, Andrew Blann. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? *Cardiovascular research*. 1997; 34: 255-265
50. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, et al: Non-

invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses; accuracy and reproductibility. Br Heart J. 1995; 74: 247-253

51. Kasprzak D Jaroslaw, Magadalena Klosinska, Jaroslaw Drozd. Clinical Aspects of assessment of endothelial function. Pharmacological Reports. 2006; 58: 33-40

52. Mullen MJ, S A Thorne, J E Deanfield and C J Jones: Non-

invasive assessment of endothelial function. Heart. 1997; 77: 297-298

53. Endermann H Dierk and Ernesto L Schiffrin. Endothelial dysfunction. J Am Soc Nephrol. 2004; 15: 1983-1992

54. Anderson J Todd: Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. J. Am. Coll. Cardiol. 1999; 34: 631-638

55. Endo-PAT2000-assesing endothelial function-74th Annual Meeting of the German Cardiac society-2008