

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y TROMBOSIS

Dra Cecilia Carrizo

Prof Adj Clínica Médica, UdeLAR.

Hematóloga – Internista.

El endotelio vascular es un epitelio plano simple que tapiza la cara interna del corazón y de todos los vasos sanguíneos, tiene una superficie de 350 m² con una masa de 110 G.9 siendo su estructura diferente en distintos lugares del cuerpo. Puede ser continuo con uniones estrechas entre las células, en el centro sistema nervioso, los ganglios linfáticos y los músculos; fenestrado, con las funciones de absorción, secreción, filtración, como en las glándulas endocrinas, el tracto gastrointestinal, y los riñones, o discontinua, con brechas intercelulares como se ve en los sinusoides del hígado, médula ósea y el bazo, así como es diferente el endotelio de las venas.

De ser considerado un recubrimiento pasivo interpuesto entre la sangre y el árbol vascular, el endotelio ha pasado a ser considerado en los últimos 25 años el órgano más extenso y con un papel más determinante en el correcto funcionamiento de nuestro organismo. El rango de órgano lo adquiere ante la evidencia de una función perfectamente coordinada de las células endoteliales con la pared vascular y la adventicia. Cada célula endotelial actúa como un detector de señales capaz de generar respuestas y transmitir las al entorno vascular y a distancia a través de la circulación sanguínea. Actualmente no existen dudas de que el endotelio es un órgano activo que participa en: a) la regulación del tono vascular; b) el crecimiento y migración de la fibra muscular lisa vascular subyacente; c) el mantenimiento y la renovación de la arquitectura vascular (angiogénesis); d) la regulación de la composición de la matriz subendotelial; e) la permeabilidad a sustancias y células durante la respuesta inflamatoria; y f) la regulación del balance entre coagulación y fibrinólisis.

La integridad tanto funcional como estructural del endotelio por lo tanto garantiza el correcto funcionamiento de los diferentes sistemas en nuestro organismo.(1)

Actualmente se sabe que los fenotipos estructurales y funcionales de la célula endotelial varían en las distintas zonas de la vasculatura. La heterogeneidad de esta célula se da a nivel de su estructura y su función; ocurre entre los diferentes órganos, dentro del loop vascular de un mismo órgano, y aún entre células vecinas de un mismo vaso. (2,3)

Proteína	Distribución
Factor de von Willebrand (FVW)	mayor en endotelio de pulmón y cerebro mayor expresión en el arterial que en el venoso
Activador tisular de plasminógeno (t-PA)	altos niveles en cerebro
Inhibidor del Factor Tisular (TFPI)	endotelio microvascular
Trombomodulina (TM)	ausente en cerebro
Receptor de la prot. C activada	endotelio de los grandes vasos
Óxido Nítrico Sintetasa	mayor en arterias que en venas

La plasticidad funcional de esta capa de células, se basa en la capacidad de cada una de las células endoteliales para la integración y la transducción de estímulos tanto humoral como biomecánicos en su microambiente. Son capaces de reaccionar a los mediadores de la inflamación por la expresión de moléculas de adhesión celular y quimiocinas en el contexto de una reacción inflamatoria en desarrollo.(5)

Las células endoteliales (CE), mediante un programa de expresión génica y una síntesis y procesamiento de proteínas altamente regulable, son capaces de detectar los cambios tanto físicos (estrés mecánico hemodinámico) como químicos (liberación de moléculas en su entorno) y transformarlos en respuestas funcionales adaptativas. (6)

Esta capacidad de adaptación le confiere un papel clave en la regulación de la homeostasis vascular. El endotelio tiene funciones antitrombóticas (inhibe la adhesión plaquetaria y la coagulación, y regula el sistema fibrinolítico), controla la actividad de las células musculares lisas (CML) de la capa media (tono vascular/ proliferación) y modula el tránsito de macromoléculas, como las lipoproteínas, y la adhesión de leucocitos(monocitos/linfocitos T) a la pared arterial. Diversos factores pueden modificar las funciones del endotelio y provocar lo que se conoce como disfunción endotelial.

La disfunción endotelial se considera en la actualidad una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular y la arteriosclerosis, puede definirse como un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y el incremento de la permeabilidad vascular, y que puede facilitar el desarrollo de arteriosclerosis, agregación plaquetaria y trombosis.

En las últimas décadas se ha demostrado que factores de riesgo coronario bien conocidos (el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad [cLDL], el tabaquismo, la diabetes, la hipertensión,etc.) y otros factores emergentes (radicales libres de oxígeno, homocisteína, infecciones, déficit estrogénico, etc.) producen disfunción endotelial.

El óxido nítrico (NO) es una de las moléculas sintetizadas por el endotelio que regula un mayor número de procesos homeostáticos locales, molécula ateroprotectora: vasodilatador, antiagregante plaquetario, inhibidor de la proliferación de las CML, antioxidante e inhibidor de la expresión de moléculas de adhesión (CAM) y de la adhesión de monocitos. Por tanto, a través de la alteración de la producción de NO endotelial se perturba profundamente la homeostasis vascular y se potencia el desarrollo de lesiones ateroscleróticas.

La disminución de la dilatación dependiente de NO es la manifestación más temprana de la disfunción endotelial.

La disminución de la producción de NO por las LDL puede ser el resultado de la acción de las LDL en diferentes ámbitos: a) una reducción neta de la actividad de la enzima que regula la producción de NO, la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), debido a una inhibición de los valores de ARNm y la proteína de esta enzima, como se ha observado *in vitro* en respuesta a LDLox y valores aterogénicos de LDL nativas b) un aumento de la fracción de eNOS unida a caveolina 1 y, por tanto, insensible a regulación por la calcio-calmodulina; c) un incremento en la degradación de NO y finalmente, d) un aumento de la inhibición competitiva de la formación de NO por un inhibidor endógeno (dimetilarginina asimétrica [ADMA]), cuyos valores se encuentran elevados en pacientes hipercolesterolémicos y cuyo efecto puede ser superado

mediante la adición de L-arginina.

El endotelio produce otras moléculas vasoactivas, la prostaciclina (PGI₂) (vasodilatador/antitrombótico) y el factor activador de plaquetas (PAF) (vasoconstrictor/trombótico), que se sintetiza a partir del ácido araquidónico, y que ejercen efectos antagónicos.

La hipercolesterolemia se acompaña de un aumento de los valores plasmáticos de endotelina 1 y del número de receptores de la angiotensina II. Además, con la oxidación se incrementa la capacidad de las LDL de inducir la producción de endotelina 1 en CE de aorta humana y, por tanto, se potencia un estado proconstrictor.

El endotelio normal tiene propiedades trombocitorresistentes, es decir, no induce coagulación ni activa las plaquetas. El NO producido actúa de manera sinérgica con la PGI₂ como antiagregante plaquetario.

El NO inhibe la adhesión, la activación, la secreción y la agregación plaquetaria, en parte a través de un mecanismo dependiente del guanidil monofosfato (GMP), inhibe el cambio conformacional dependiente del calcio necesario para que el heterodímero de la glucoproteína IIb-IIIa se una al fibrinógeno. Además

las CE producen trombospondina, una molécula con actividad heparina, ADP-asa (hidroliza el adenosín difosfato [ADP]) y componentes del sistema fibrinolítico, como el activador tisular del plasminógeno (t-PA), la urocinasa y el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1). Como agentes protrombóticos en situaciones de disfunción secreta PAF, moléculas de adhesión para las plaquetas, como el factor de Von Willebrand (vWF), fibronectina y trombospondina, y factores de coagulación como el factor V, así como puede expresar factor tisular. En un endotelio con una función normal predomina la actividad antitrombótica y anticoagulante, situación que se altera en un endotelio disfuncional, donde el balance de estas actividades puede inclinarse a favor de un estado protrombótico (7)

La interacción entre la hemodinámica y el endotelio es un determinante importante de la función cardiovascular. La tensión de corte es la fuerza por unidad de área creada cuando una fuerza tangencial (flujo sanguíneo) actúa sobre una superficie (endotelio), donde el flujo se produce, existe esfuerzo cortante. (8) En este modelo fisiología y patología convergen con la dinámica de fluidos, biomecánica, biología celular y molecular. La fuerza cortante inducida por mecanotransducción (la conversión de las tensiones mecánicas a las respuestas bioquímicas) es particularmente importante en las arterias, el flujo de sangre en el que regula el tono vascular y la estructura. Esta regulación se produce a través de la liberación del endotelio factores como nitrovasodilatadores, prostaglandinas, lipoxigenasas, los factores de hiperpolarización, los factores de crecimiento y otras moléculas relacionadas. En contraste con los cambios en los vasos visto durante vasoregulación aguda, sostenida los cambios de la hemodinámica local de promover la remodelación de adaptación estructural de la pared de la arteria a través del endotelio dependiente de regulación de la expresión de genes y proteínas.

En la circulación arterial, las fuerzas hemodinámicas, la tensión de corte tiene un papel crítico en la determinación de la mayoría de la patología vascular. El esfuerzo cortante está implicado en el desarrollo de los cambios fenotípicos de las células endoteliales asociadas con la susceptibilidad a la iniciación, desarrollo y aumento de las lesiones ateroscleróticas donde los cambios fenotípicos se convierte de protectora en patológicos.

Cuando las tensiones de cizalla deforman el endotelio, una perturbación mecánica que se comunica a través del citoesqueleto a múltiples sitios de mecanotransducción, que incluyen la célula-matriz de los lugares de adhesión, las uniones intercelulares y la membrana nuclear

Los patrones de flujo y las fuerzas hemodinámicas no son uniformes en el sistema vascular. En tramos rectos del árbol arterial, el flujo de sangre es generalmente laminar y la tensión de cizallamiento es alta, y en las bifurcaciones y curvaturas, el flujo sanguíneo se altera y la distribución es irregular, de baja tensión de cizallamiento. Flujo laminar sostenido con tensión de cizallamiento alta, regula la expresión de genes de la CE y proteínas, que tienen un efecto protector contra la aterosclerosis, mientras que la alteración del flujo con tensión de cizallamiento bajo, aumenta la expresión de genes y proteínas de la CE que promueven la aterogénesis. Estos resultados han llevado al concepto de que el patrón de flujo alterado en los puntos de ramificación y curvatura las hace una localización preferente de las lesiones ateroscleróticas. La comprensión de los efectos de la alteración del flujo en la CE, puede dar una idea mecanicista en la patogénesis de las enfermedades vasculares y puede ayudar a dilucidar las diferencias fenotípicas y funcionales entre los genes inactivos (noaterogénicos / notrombogénicos) y activos (aterogénico / trombogénico) de la CE.

El modelo de mecanotransducción descentralizado propone que, si bien la tensión de cizallamiento actúa inicialmente en la superficie de la célula luminal (apical) la deformación de la superficie también se transmite a través del cuerpo de la célula de tal manera que varios elementos situados fuera de la superficie luminal puede, de forma independiente o en conjunto, permitir la transducción de las señales mecánicas en actividades químicas en sitios distantes subcelulares. En este modelo, toda la célula puede considerarse como un conjunto de sitios de mecanotransducción conectados principalmente por el

citoesqueleto. La membrana nuclear también está sujeta al citoesqueleto y forman un sistema continuo, conectado a través de sitios de adhesión en la envoltura nuclear constituyendo un mecanismo de regulación mecánica de la expresión génica.

Estos efectos se producen a través de la inducción de ciertos genes flujo dependientes como el Factor 2 Kruppel. El shear stress (tensión de cizallamiento) induce la expresión de KLF2, que a su vez regula la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS).(10)

Estudios recientes han demostrado que el factor potenciador de los miocitos (MEF2), se puede unir a la fracción promotora del KLF2 y estimular su expresión. Por el contrario, las histonas deacetilasa 5 (HDAC5), sirve como un regulador negativo de la actividad transcripcional de MEF2 en los cardiomiocitos y células del músculo esquelético. Se sugiere que aunque HDAC5 puede reprimir la expresión KLF2 en condiciones estáticas, el flujo induce la expresión KLF2, eliminando el efecto inhibitorio de HDAC5. El HDAC5 no puede ser fosforilada por un shear stress bajo, pero frente a un shear estrés alto estimula la fosforilación del HDAC5, liberando al MEF2 para activar KLF2 y su expresión en genes aguas

abajo, promoviendo la actividad protectora de las CE. Una función esencial de KLF2 mediada por el flujo, es la expresión de eNOS.

El flujo laminar constante tiene efectos beneficiosos sobre la función celular endotelial incluyendo la inhibición de la agregación plaquetaria, la captación de lipoproteínas de baja densidad, la expresión de moléculas de adhesión y la proliferación del músculo liso vascular, así como la mejora de la supervivencia de las células endoteliales. Muchos de estos efectos están relacionados con el aumento óxido nítrico (NO) por CE expuestas al flujo. Una disminución en la biodisponibilidad de NO es un rasgo característico en los pacientes con enfermedad arterial coronaria y agrava el desarrollo de lesiones ateroscleróticas. El flujo estimula la producción de NO a través de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), tanto en cultivos de CE y en los vasos intactos. Se ha demostrado previamente que el shear stress estimula la activación de la eNOS en forma aguda y crónica. Sin embargo, los mecanismos por los cuales el flujo laminar constante media la expresión de la eNOS y la atero protección han permanecido poco conocidos.

En conclusión podemos decir que existe evidencia sustancial que sugiere que el shear Una función esencial de KLF2 mediada por el flujo, es la expresión de eNOS. estrés regula la homeostasis vascular y la distribución central de la aterosclerosis, influyendo en la expresión de genes endoteliales. Entre los muchos genes inducidos por el flujo, KLF2 y eNOS se han convertido en los principales mediadores de los efectos del estrés, ateroprotector. Se define una vía HDAC5 y en conjunto, se identifica la importancia del eje de HDAC-MEF2 como esencial en la coordinación de la expresión KLF2 y eNOS que promueve el efecto anti-inflamatorio endotelial. Estos estudios revelan la importancia de la regulación de HDAC5 función de la CE en respuesta a las fuerzas hemodinámicas, y así sentar las bases para nuevos enfoques para el tratamiento de estados de la enfermedad que se caracterizan por la disfunción endotelial.

BIBLIOGRAFIA:

1)Kwaan H, Samama M, · Seminars in thrombosis and hemostasis/volume 36, number 3 2010.

- 2)Sagripantil A, Carpi A Antithrombotic and prothrombotic activities of the vascular endothelium *Biomed & Pharmacother* 2000 ; 54 : 107-11
- 3)Farré A Disfunción endotelial y metabolismo del corazón en la insuficiencia cardíaca *haematologica/edición española* | 2008; 93
- 4)Duboscq C. Hemostasia y Trombosis Rol de la heterogeneidad endotelial en la regulación de la Hemostasia *Acta bioquím. clín. latinoam. v.40 n.3 Acta bioquím. clín. latinoam. v.40 n.3 La Plata jul./sep. 2006*
- 5) Parmar KM, Larman HB, Dai G, Zhang Y, Wang ET, Moorthy SN, et al Integration of flow-dependent endothelial phenotypes by Kruppel-like factor 2. *J Clin Invest.* 2006 Jan;116(1):49-58. Epub 2005 Dec 8.
- 6)Badimón L y Martínez-González Disfunción endotelial *J Rev Esp Cardiol Supl.* 2006;6:21A-30
- 7)Passerini A, Polace D, Shi C, Francesco N, Manduchi E, Grant G, et al. Coexisting proinflammatory and antioxidative endothelial transcription profiles in a disturbed flow region of the adult porcine aorta. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0305938101
- 8)Davies P Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2009 January; 6(1): 16–26. Jeng-Jiann Chiu and
- 9) Chiu JJ, Chien S.Effects of Disturbed Flow on Vascular Endothelium: Pathophysiological Basis and Clinical Perspectives *Physiol Rev* January 2011 vol. 91 no. 1 327-387
- 10)Wang W, Chang H, Bong Sook J, Chelsea W, Mukesh K. J, and Zheng-Gen J Fluid shear stress stimulates phosphorylation-dependent nuclear export of HDAC5 and mediates expression of KLF2 and eNOS *Blood* April 8, 2010 vol. 115no. 14 2971-2979