

*Cristina T. Arranz, Rosana Elesgaray,
María de los Ángeles Costa*

Palabras clave

Endotelio; función endotelial; homeostasis; biomarcadores; disfunción.

Abreviaturas utilizadas

AMP: adenilil-monofosfato cíclico
CEC: células endoteliales circulantes
CPE: células progenitoras endoteliales
cGMP: guanilil-monofosfato cíclico
ICAM: molécula de adhesión intercelular
NO: óxido nítrico
PGI₂: prostaciclina
tpA: activador del plasminógeno tisular
TXA₂: tromboxano A₂
VCAM: molécula de adhesión celular vascular
VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

Síntesis Inicial

El endotelio juega un papel fundamental en la homeostasis vascular, en el control del tono vascular y en la regulación de la respuesta inmunológica, la inflamación y la angiogénesis.

Las células endoteliales presentan una gran versatilidad, ya que deben detectar y adaptarse a las necesidades de sus células vecinas, y a microambientes diversos.

La disfunción endotelial está presente en diferentes patologías y en muchas de ellas es considerada partícipe de la etiopatogenia de la enfermedad.

Es de importancia el estudio de biomarcadores endoteliales para el diagnóstico temprano de la disfunción endotelial.

El endotelio, una monocapa de células planas de origen mesodérmico, constituye el revestimiento interior de los vasos sanguíneos (arterias, venas y capilares) y el sistema linfático, y por lo tanto está en contacto directo con la sangre, la linfa y las células circulantes en ellas. Desde su descubrimiento, allá por el año 1865, hasta la década del 70, fue considerado una simple barrera o membrana semipermeable que permite el transporte de macromoléculas desde la sangre al espacio intersticial. Sin embargo, hoy en día se reconoce el papel fundamental que juega en el control de la fluidez de la sangre, la agregación plaquetaria y el tono vascular, así como en la regulación de la respuesta inmunológica, la inflamación y la angiogénesis.

El endotelio se apoya sobre la lámina basal. Las células endoteliales pueden sintetizar prácticamente todas las proteínas que constituyen la lámina basal y producir las enzimas relevantes que intervienen en su remodelado. Entre ellas ciertas metaloproteinasas que degradan la matriz extracelular y tienen un papel relevante en la plasticidad de los vasos sanguíneos y la angiogénesis. La forma de las células endoteliales varía a través del árbol vascular, pero en general son delgadas y ligeramente alargadas. En la pared vascular, están orientadas a lo largo del eje del vaso, para minimizar las fuerzas de rozamiento ejercidas por la sangre que fluye a través de los vasos. Aunque el endotelio está constituido por una sola capa de células, aproximadamente 10 trillones de células

endoteliales del cuerpo humano ocupan una superficie que mide entre 300 a 1000 m², con un peso aproximado de 1kg. Estos datos morfológicos indican que las células endoteliales juegan un papel estructural y funcional importante en el organismo. Sin embargo, existen diferencias fenotípicas, estructurales y fisiológicas en el endotelio a lo largo del árbol arterial, así como en el venoso.¹

La heterogeneidad estructural del endotelio se observa en los distintos lechos vasculares, ya que en algunos es continuo (cerebro, corazón, etc.), mientras que en otros es fenestrado (glomérulo renal, glándulas exócrinas y endócrinas, etc.), y, en otros, discontinuo (sinusoides hepáticos). Esta heterogeneidad también incluye diversas formas celulares y cambios en la composición celular.

Las células endoteliales están involucradas en diferentes funciones, que incluyen a todo el endotelio en su conjunto, o que se refieren a órganos o lechos vasculares específicos. Por ejemplo, las células endoteliales, en general, participan de la regulación de la hemostasia. Sin embargo, ciertos derivados endoteliales, que mantienen la fluidez sanguínea y, por otro lado, están involucrados en la cascada de coagulación y en la formación del coágulo, no están uniformemente distribuidos en el lecho vascular. Observaciones similares podrían hacerse para otras funciones importantes del endotelio tales como la permeabilidad, el tráfico leucocitario, la regulación del tono vascular, la angiogénesis, la inmunidad, etc. Incluso células endoteliales contiguas pueden presentar mecanismos de señalización y propiedades funcionales diferenciales. Por ejemplo, las células endoteliales marcapasos son capaces de generar espontáneamente aumentos de calcio intracelular que se transmiten a las células contiguas “no marcapasos” induciendo “ondas de calcio” interendoteliales.²

Esta heterogeneidad en las células endoteliales está fuertemente vinculada a factores intrínsecos (por ej., factores genéticos) como a factores extrínsecos, tales como la localización anatómica, los mediadores solubles, el contacto célula-célula, las interacciones célula-matriz, el pH, la pO₂, las fuerzas mecánicas, etc. La plasticidad de las células endoteliales puede ser vista como su característica principal, ya que cada una de los trillones de células endoteliales presentes en nuestro organismo es fenotípicamente distinta, y tiene que detectar y adaptarse a las necesidades de sus células vecinas, y en muchos microambientes diferentes.²

Es por todo esto que el endotelio puede ser estudiado bajo diferentes miradas.

Desde el punto de vista funcional, puede analizarse al endotelio como una superficie permeable, en la que se destacan diferentes mecanismos de transporte.

Transporte de glucosa

En la actualidad se conocen 14 transportadores de la familia GLUT, pero sólo GLUT-1 y GLUT-4 se expresan en las células endoteliales. Se han detectado en gran cantidad en la barrera hematoencefálica.³

Transporte de aminoácidos

Se han identificado numerosos transportadores de aminoácidos en las células endoteliales, destacándose el sistema

transportador de aminoácidos catiónicos, particularmente el de la L-arginina, sustrato para la síntesis de NO.⁴

Caveolas y caveolinas

Juegan un papel importante en la regulación de la señalización y funciones de las células endoteliales, y por consiguiente en la función cardiovascular y pulmonar a nivel sistémico y celular. Además del papel fisiológico, las caveolas y las caveolinas, en particular la caveolina-1 que se expresa en las células endoteliales, tienen un importante papel regulador en la angiogénesis patológica y en las enfermedades vasculares, por ejemplo, en la aterosclerosis, la hipertrofia cardíaca, la hipertensión pulmonar, etc. Las caveolas son necesarias para la adecuada organización de vías de señalización que comprenden numerosos pasos, a través del secuestro de receptores de la membrana y la compartimentalización de diversas moléculas de señalización.⁵

Uniones estrechas

Si bien la permeabilidad vascular depende de 2 vías endoteliales, una es la vía paracelular, a través de las uniones estrechas, y otra, la vía transcelular mediada por las caveolas, la disfunción en las uniones intercelulares origina, por ej., edemas.⁶

El endotelio también puede ser analizado observando el papel que juega en la **regulación del tono vascular**. En este sentido, es considerado un tejido paracrino, ya que produce numerosas sustancias que afectan directamente el estado de relajación/contracción del músculo liso adyacente. Sintetiza sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras.

Factores vasodilatadores

El endotelio produce y libera varias sustancias vasodilatadoras, dentro de los cuales se encuentran el NO, la PGI₂ y un factor hiperpolarizante derivado del endotelio. Estas sustancias pueden ser producidas y liberadas a través de la estimulación de las células endoteliales por fuerzas mecánicas (tensión de cizallamiento) o la activación de receptores de superficie por agonistas específicos (acetilcolina, bradiquinina, adenina nucleótido difosfato, sustancia P, etc.).¹

Merece la pena observar que los mediadores endoteliales, en especial el NO y la PGI₂, no solo son potentes agentes relajantes, sino que pueden inhibir también la agregación plaquetaria, la proliferación de las células musculares lisas y la migración de monocitos, ejerciendo así un efecto protector complejo sobre la pared de los vasos.¹

Factores vasoconstrictores

El endotelio puede producir sustancias vasoconstrictoras, como la prostaglandina H₂, la endotelina-1, el TXA₂, o los aniones superóxido.¹

También se puede analizar el papel que juega el endotelio en la **hemostasia** y la **coagulación**.

La liberación del factor tisular por el endotelio inicia la cascada de coagulación, además de participar como receptor para la activación del factor VII. También libera factor VIII, cofactor en la activación del factor X. La célula endotelial

expresa en su membrana, trombomodulina, sobre la cual se ancla el complejo Proteína C-Proteína S, que en conjunto inhiben la activación de los cofactores V y VIII necesarios en la cascada de coagulación.

En condiciones fisiológicas normales, las células endoteliales participan en el mantenimiento de la fluidez sanguínea y evitan la formación de trombos, por sus acciones anticoagulantes, antiagregantes plaquetarias y fibrinolíticas. El NO y la PGI₂ aumentan los niveles intracelulares de cGMP y cAMP, respectivamente, inhibiendo así, la adhesión y la agregación plaquetarias. El tPA, también sintetizado por el endotelio, promoviendo así la fibrinólisis mediante la activación del plasminógeno a plasmina.

Por otra parte, el endotelio también sintetiza el factor de von Willebrand, el TXA₂, la fibronectina, el factor V y el inhibidor del tPA, que tienen actividad proagregante, pro-trombótica y antifibrinolítica.⁷

Finalmente, analizamos cómo participa el endotelio en la **angiogénesis**.

La activación de las células endoteliales es esencial en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de un lecho vascular preexistente. La célula endotelial sintetiza diversos factores de crecimiento, entre ellos el VEGF. También participan en este proceso mediadores plaquetarios y el NO, entre otros.⁸

Por consiguiente, el endotelio juega un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis vascular. Cuando el endotelio se activa como consecuencia del rozamiento de la sangre, la presencia de citoquinas, una injuria o la hipoxia, entre otros estímulos, se altera la síntesis, la liberación y/o la degradación de los diversos factores endoteliales, y cambia la funcionalidad de la célula. Las alteraciones estructurales y/o funcionales del endotelio vascular están presentes mucho antes de que se identifiquen patologías, como la arteriosclerosis, la hipertensión arterial, la hipercolesterolemia y la diabetes.¹

Dada la aparición temprana de la disfunción endotelial en numerosas enfermedades, actualmente el estudio de marcadores para su diagnóstico temprano es un campo de investigación en continua expansión. La funcionalidad endotelial se suele estudiar utilizando diferentes métodos que evalúan la vasodilatación dependiente del endotelio. Los primeros métodos utilizados eran invasivos, y evaluaban la respuesta vascular a la infusión de acetilcolina por cateterización o pletismografía venosa. Posteriormente, se desarrollaron técnicas no invasivas, que son ampliamente utilizadas. La vasodilatación mediada por flujo es muy utilizada, ya que las fuerzas de cizallamiento son un estímulo para la liberación de NO endotelial. Las arterias son brevemente ocluidas y la magnitud de la vasodilatación luego de la restauración del flujo sanguíneo es examinada por ultrasonido. Otras técnicas no invasivas son la pletismografía de la yema de los dedos, y la medición de la velocidad de la onda de pulso en la arteria aorta y el espesor íntima-media de la carótida. Cada una de estas técnicas presenta limitaciones, en particular con respecto a la estandarización. Con estos métodos la evaluación funcional del endotelio puede identificar el daño endotelial y

predecir el riesgo cardiovascular, sin embargo, la evaluación de éste proporciona poca información sobre los mecanismos que subyacen al desarrollo de disfunción endotelial.⁹

En contraste, la evaluación de biomarcadores químicos o celulares presentes en la sangre podría revelar los mecanismos por los cuales se origina la patología endotelial, así como proporcionar información sobre el estado funcional del endotelio.

Actualmente se analizan:

Biomarcadores bioquímicos circulantes

Son aquellos que pertenecen a los mecanismos moleculares relacionados con la fisiología endotelial, y reflejan la bio-disponibilidad del NO, los niveles de estrés oxidativo, la homeostasis en la coagulación y el estado de inflamación endotelial. Se determinan, por ej., los niveles plasmáticos de nitritos, nitratos y nitrosotioles, la producción del inhibidor endógeno de la NOS la dimetilarginina asimétrica, los metabolitos de la PGI₂, las especies reactivas del oxígeno, marcadores de la peroxidación lipídica, los niveles circulantes de mediadores inflamatorios, los índices de coagulación, moléculas de adhesión, VCAM, ICAM y E-selectinas solubles, etc. Los biomarcadores han demostrado que se correlacionan bien con medidas funcionales, como la vasodilatación mediada por flujo, sin embargo, el uso combinado de múltiples biomarcadores de la función endotelial proporciona una evaluación más amplia del estado de las células endoteliales, aunque no proporciona información sobre las contribuciones de cada uno de los procesos biológicos involucrados.¹⁰

Biomarcadores celulares

Marcadores celulares, como micropartículas, CEC y CPE surgen en la actualidad como potentes biomarcadores de la funcionalidad del endotelio vascular.

Micropartículas: las micropartículas son fragmentos celulares anucleados, que contienen proteínas de la superficie y el material citoplasmático de las células parentales. Se identifican en el plasma por citometría de flujo sobre la base de su tamaño, la externalización de fosfatidilserina y la presencia de antígenos de superficie específicos. Dado que las micropartículas se liberan en condiciones de daño o estrés celular, no es sorprendente que los niveles plasmáticos de micropartículas aumenten en la mayoría de las enfermedades cardiovasculares. Existe una fuerte evidencia para sugerir que las micropartículas endoteliales, plaquetarias y de leucocitos ponen de manifiesto la disfunción endotelial. Es necesario realizar más estudios que correlacionen la presencia de las micropartículas con biomarcadores bioquímicos circulantes.

Células endoteliales circulantes: las CEC son células endoteliales. Se piensa que su presencia en circulación es consecuencia de una lesión vascular, ya que se observan aproximadamente 5 células/mL de sangre en un adulto sano. Los niveles de CEC se incrementan en numerosas patologías asociadas con la disfunción endotelial, incluyendo la hipertensión, la diabetes, la preeclampsia y la insuficiencia renal crónica. Ya ha sido demostrada la correlación existente entre estos marcadores y los resultados obtenidos utilizando méto-

dos no invasivos en algunas de estas patologías. Sin embargo, aún restan realizar nuevos estudios.¹⁰

Células progenitoras endoteliales: las CPE son células precursoras inmaduras pequeñas y se detectan en el plasma y en la médula ósea. A diferencia de las micropartículas y las CEC, que reflejan el estrés y/o el daño endotelial, la presencia de CPE indica la capacidad del endotelio de regenerarse. Tanto el número absoluto como la capacidad funcional de las CPE, se encuentran disminuidos en distintas patologías, incluyendo la diabetes, la hipertensión, la hipercolesterolemia, el envejecimiento, y la enfermedad renal crónica.¹⁰

Si bien todos estos biomarcadores celulares, que son derivados directos de las células endoteliales, proporcionan mucha información sobre el estado y la funcionalidad del endotelio, todavía resta ajustar la reproducibilidad y la exactitud de los métodos de detección, así como demostrar que los cambios en estos biomarcadores celulares están directamente relacionados con cambios en la función endotelial.¹⁰

Bibliografía sugerida

1. Triggle CR, Samuel SM, Ravishankar S, Marei I, Arunachalam G, Ding H. The endothelium: influencing vascular smooth muscle in many ways. *Can J Physiol Pharmacol* 2012; 90 (6):713-738.
2. Pries AR y col. Normal endothelium. En: Moncada S, Higgs A (Eds) *Handbook of Pharmacology: The vascular endothelium I*. 2006 pp. 2-40.
3. Thorens B, Mueckler M. Glucose transporters in the 21st Century. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010;298 (2):E141-E145.
4. Mann GE, Yudilevich DL, Sobrevia L. Regulation of amino acid and glucose transporters in endothelial and smooth muscle cells. *Physiol Rev* 2003;83 (1):183-252.
5. Sowa G. Caveolae, caveolins, cavins, and endothelial cell function: new insights. *Front Physio*. 2012; 2:120.
6. Sawada N, Murata M, Kikuchi K y col. Tight junctions and human diseases. *Medical Electron Microscopy* 2003, 36 (3), 147-156.
7. Baker DC, Brassard J. Review of continuing education course on hemostasis. *Toxicol Pathol* 2011 ;39(1):281-288.
8. Yamashita T, Abe K. Mechanisms of endogenous endothelial repair in stroke. *Curr Pharm Des* 2012;18(25):3649-3652
9. Deanfield J, Donald A, Ferri C y col. Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2005;23(1):7-17.
10. Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2012 6(2):85-99.