

Hipercolesterolemia, disfunção endotelial e hipertensão arterial

PAULO ROBERTO BARBOSA ÉVORA, FERNANDO NOBRE

Vários estudos experimentais sugerem muitas similaridades entre os efeitos da hipertensão e da hipercolesterolemia na parede arterial, onde ambas têm efeito pró-inflamatório. O processo oxidativo na parede arterial pode ocorrer em ambas, e, portanto, uma reação sinérgica entre a hipertensão e a hipercolesterolemia pode desempenhar um papel no processo aterosclerótico como mecanismos causais comuns. Fica claro, cada vez mais, que esse elo comum pode ser a disfunção endotelial. Assim, definiu-se a estratégia para esta revisão que incluiu: 1) conceituar disfunção endotelial; 2)

apresentar um resumo de idéias relevantes sobre a função parácrina do endotélio na hipercolesterolemia e hipertensão arterial; 3) discutir alguns aspectos clínicos; e, finalmente, 4) discutir as perspectivas terapêuticas relacionadas ao assunto, enfatizando a necessidade de futuras pesquisas para atuar nos mecanismos comuns entre a hipertensão arterial e a hipercolesterolemia.

Palavras-chave: hipercolesterolemia, endotélio, disfunção endotelial, hipertensão arterial, óxido nítrico.

HiperAtivo 1999;2:167-77

Laboratório de Função Endotelial — Departamento de Cirurgia, Ortopedia e Traumatologia — Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto — USP
Unidade de Hipertensão — Divisão de Cardiologia — Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto — USP

Endereço para correspondência:

Rua Rui Barbosa, 367 — ap. 7 — CEP 14015-120 — Ribeirão Preto — SP

Recebido para aprovação: 11/3/1999. Aceito para publicação: 18/5/1999.

INTRODUÇÃO

As primeiras observações de uma aparente ação anômala da acetilcolina no controle do tono vascular, “in vivo” e “in vitro”, foram relacionadas com a integridade do endotélio “in vivo”. Um endotélio intacto, por meio de uma ação parácrina, induz relaxamento da musculatura lisa vascular, enquanto vasos sanguíneos denudados de seu endotélio exibem, freqüentemente, vasoconstrição pela ação dessa mesma acetilcolina. A vasodilatação mediada pelo endotélio é uma consequência das ações sinérgicas do óxido nítrico (NO, “nitric oxide”) e da prostaciclina (PGI₂), por mecanismos dependentes, respectivamente, do GMP cíclico (GMPc) e do AMP cíclico (AMPc). Em adição a esses mecanismos de vasodilatação, as células endoteliais liberam um fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF, “hyperpolarizing endothelium-derived factor”), que regula a abertura de canais de potássio na musculatura lisa vascular. A

natureza química do EDHF ainda é desconhecida. Muitos dos estimulantes da produção dos fatores relaxantes endoteliais são liberados por plaquetas agregadas, e a significância do papel protetor do endotélio torna-se aparente quando os mecanismos e as consequências da aglutinação plaquetária são estudados. A lesão endotelial, ainda que mínima, resulta na perda de sua função protetora e associa-se com um comprometimento da reposta à serotonina e de receptores associados a G-proteínas. Na presença de fatores de risco, como colesterol sérico elevado, as consequências da disfunção endotelial são grandemente exacerbadas. Alterações da função endotelial relacionadas com a idade podem contribuir para a prevalência de doença cardiovascular em humanos com mais de 30 anos de idade⁽¹⁾.

As células endoteliais respondem a forças hemodinâmicas com a expressão de variados fenótipos com propriedades funcionais as mais disparatadas possíveis. No que se refere às tortuosidades e bifurcações, a diferenciação celular induzida

pelo “shear stress” está prejudicada, exibindo fenótipos com aumento da atividade mitótica, diminuição do contato intercelular, aumento da permeabilidade para macromoléculas e aumento da expressão de moléculas que induzem vasoconstrição, adesão e trombose. Regiões arteriais cobertas por essas células são mais vulneráveis aos efeitos aterogênicos da hipercolesterolemia, com comprometimento da liberação de fatores relaxantes⁽²⁾.

A intenção editorial desta revisão é discutir, de maneira integrada, hipercolesterolemia, disfunção endotelial e hipertensão arterial. Essa intenção encontra-se embasada nas similaridades das alterações da parede arterial, determinadas por variados estudos experimentais, entre a hipertensão arterial e a hipercolesterolemia. As duas entidades têm efeitos pró-inflamatórios na artéria. O estresse oxidativo pode ocorrer nas duas doenças e, portanto, pode haver ação sinérgica, por meio de mecanismos causais comuns, no processo aterosclerótico⁽³⁾.

Os conceitos atuais tendem a estabelecer um elo comum, não só entre a hipertensão arterial e a hipercolesterolemia, mas entre todas as modalidades de doenças cardiovasculares. Fica claro, cada vez mais, que esse elo comum pode ser a disfunção endotelial (Fig. 1). Assim, a estratégia definida para esta revisão implicará as seguintes etapas: 1) conceituar disfunção endotelial; 2) apresentar um resumo de idéias relevantes sobre a função parácrina do endotélio na hipercolesterolemia e hipertensão arterial; 3) discutir alguns aspectos clínicos; e, finalmente, 4) discutir as perspectivas terapêuticas relacionadas ao assunto.

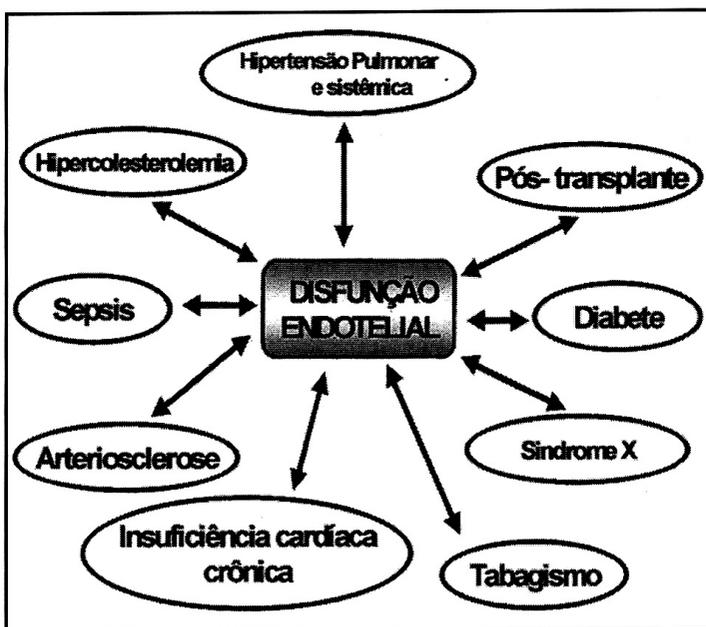


Figura 1. Disfunção endotelial e doenças cardiovasculares. Notar a bidirecionalidade das setas, significando que a disfunção endotelial pode ser causa ou consequência das doenças cardiovasculares.

O CONCEITO DE DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

Lesão ou ativação do endotélio alteram suas funções regulatórias e resultam em função endotelial anormal. A disfunção endotelial tem sido definida como um desequilíbrio entre fatores relaxantes e contráteis, entre mediadores pró-coagulantes e anticoagulantes ou entre substâncias inibidoras e promotoras de crescimento. Clinicamente, a “síndrome” da disfunção endotelial pode ser descrita como vasoespasmolocal ou generalizado, trombose, aterosclerose e reestenose^(4,5).

Curioso notar que a maioria dos textos sobre disfunção endotelial associa sua presença ao comprometimento da liberação de substâncias vasoativas endoteliais sem considerar as situações de vasoplegia causadas pela maior liberação desses fatores vasorrelaxantes.

A leitura corrente de textos sobre alterações funcionais do endotélio, bem como a pesquisa bibliográfica específica, falham na apresentação de uma classificação da disfunção endotelial. É evidente que essa classificação facilitaria a integração de conceitos etiológicos, fisiopatológicos e, conseqüentemente, as considerações sobre as perspectivas terapêuticas dessa condição clínica de importância crescente. Como modelo didático, temos utilizado uma classificação desde 1997, sempre enfatizando a possibilidade de interpretações errôneas de conceitos em evolução. Essa classificação encontra-se representada na Tabela 1. Por meio dela, a hipertensão arterial e a hipercolesterolemia poderiam ser descritas: 1) do ponto de vista etiológico, como disfunção endotelial primária (ou “genotípica”, já que pode ser detectada em jovens normotensos com antecedentes de hipertensão arterial) ou secundária (ou “fenotípica”, como, por exemplo, a hipertensão dos idosos); 2) do ponto de vista funcional, como disfunção vasotônica ou vasoplégica; e 3) do ponto de vista evolutivo, poderia ser reversível, parcialmente reversível ou irreversível. A classificação do ponto de vista evolutivo esbarra no significado da reversibilidade. Se for considerada cura seria difícil considerar as disfunções endoteliais genotípicas e as fenotípicas como reversíveis, já que a modificação do código genético não é ainda uma realidade. E a cura completa das doenças cardiovasculares está longe de ser uma realidade. Ahamos, particularmente, que a única disfunção totalmente reversível é aquela desencadeada agudamente, como pode ocorrer nas disfunções vasoplégicas associadas à anafilaxia e à sepse. Esses conceitos deverão aparecer com freqüência nas revisões dos aspectos fisiopatológicos, clínicos e terapêuticos.

FISIOPATOLOGIA DA DISFUNÇÃO ENDOTELIAL NA HIPERCOLESTEROLEMIA

A literatura médica é rica em demonstrar anormalidades do controle do tono vascular exercido pelo endotélio. Esse comprometimento da liberação de NO pode contribuir para

Tabela I. Proposta de classificação da disfunção endotelial.

<p><i>Classificação etiológica</i></p> <p>— Disfunção endotelial primária ou “genotípica”: demonstrada em crianças homocigóticas portadoras de hemocistinúria e em pacientes normotensos com antecedentes familiares de hipertensão arterial primária.</p> <p>— Disfunção endotelial secundária ou “fenotípica”: presente em todas as doenças cardiovasculares (aterosclerose, coronariopatias, hipertensão arterial, diabetes e outras).</p> <p><i>Classificação funcional</i></p> <p>— Disfunção endotelial “vasotônica”: presente nas doenças cardiovasculares, implicando risco de vasoespasmos e trombose.</p> <p>— Disfunção endotelial “vasoplégica”: presente nos estados de choque distributivos pela ação de citocinas que estimulam o aumento patológico da liberação de fatores relaxantes endoteliais, em especial o óxido nítrico (sepse, choque anafilático, reações anafilatóides e vasoplegias relacionadas com a circulação extracorpórea).</p> <p><i>Classificação evolutiva ou prognóstica</i></p> <p>— Disfunção endotelial “reversível”: mais provável de ocorrer nas fases iniciais das disfunções “vasoplégicas”. As disfunções “vasotônicas” associadas às doenças cardiovasculares dificilmente são completamente revertidas.</p> <p>— Disfunção endotelial “parcialmente reversível” (para incluir a idéia de melhora ou modificação sem completa reversão).</p> <p>— Disfunção endotelial “irreversível”: estados avançados das doenças cardiovasculares e da sepse.</p>
--

umentar o risco de vasoespasmos e trombose em vasos ateroscleróticos e dislipidêmicos. Essas anormalidades foram demonstradas sob o estímulo de acetilcolina, serotonina, exercício, fluxo sanguíneo e teste pressórico com gelo.

Uma revisão da literatura sobre os mecanismos da disfunção endotelial associada à hipercolesterolemia revela: 1) a hiperlipidemia, antecedente da aterosclerose, compromete o relaxamento dependente do endotélio em artérias porcinas⁽⁶⁻⁹⁾, mas não em primatas⁽¹⁰⁾ ou coelhos⁽¹¹⁾; 2) o achado experimental de que lipoproteínas de baixa densidade (LDL) comprometem “in vitro” o relaxamento vascular dependente do endotélio⁽¹²⁾ deve-se, possivelmente, a fosfolípidos no complexo lipoprotéico⁽¹³⁾; 3) fosfolípidos são ricos em ácidos graxos insaturados, os quais inibem relaxamentos vasculares dependentes do endotélio, devido, possivelmente, à diminuição na fluidez da membrana da célula endotelial⁽¹⁴⁾; 4) compostos como o ácido eicosapentaenóico, que supostamente aumenta a fluidez da membrana da célula endotelial, aumentam o relaxamento vascular dependente do endotélio em arté-

rias porcinas epicárdicas e microvasculares⁽⁸⁾, ateroscleróticas e hipercolesterolêmicas⁽⁶⁾, além de potencializar a estimulação da liberação de NO em culturas de células aórticas⁽¹⁵⁾.

Uma verificação experimental de Yates e colaboradores⁽¹⁶⁾, realizada em 1992, demonstra a relação entre LDL, peroxidação lipídica e NO. Esses autores induziram a liberação de NO e a peroxidação lipídica pela ação de citocinas em macrófagos peritoniais de camundongos associados à LDL. A inibição da síntese de NO associou-se à volta da peroxidação lipídica (Fig. 2). Esses autores ressaltam as possíveis ações do NO em relação ao metabolismo lipídico: 1) o NO pode diminuir a peroxidação lipídica; 2) o NO atua na eletromobilidade da LDL, reduzindo suas alterações; e 3) o aumento do NO exerceria efeito protetor contra a peroxidação lipídica da LDL. Esses estudos experimentais e evidências clínicas permitem ressaltar alguns aspectos conceituais relacionados à disfunção endotelial na dislipidemia/aterosclerose: 1) o grau de disfunção endotelial correlaciona-se com o grau de lesão vascular e com o número de fatores de risco coronarianos⁽¹⁷⁾; 2) as respostas vasodilatadoras dependentes do endotélio estão comprometidas mesmo antes de as lesões coronarianas tornarem-se aparentes à angiografia, sugerindo que a disfunção endotelial ocorre, precocemente, devido à dislipidemia⁽¹⁷⁾; e 3) essa anormalidade está presente em microvasos onde não existe evidência de aterosclerose⁽¹⁸⁾. Explicações para o comprometimento de relaxamentos vasculares dependentes do endotélio na hipercolesterolemia incluem alterações na transdução do sinal, deficiências no substrato (arginina) para a enzima óxido nítrico sintetase, alterações dessa enzima ou um de seus co-fatores, e excesso de destruição de óxido nítrico pelo ânion superóxido. O ácido lisofosfatídico é um fosfolípido natural que afeta as vias de sinalização intracelular em situações de alterações da parede vascular, que podem preceder o aparecimento da aterosclerose. Esse fosfolípido induz o aumento do cálcio citosólico na presença ou ausência de cálcio extracelular, estimula marcadamente a troca Na⁺/H⁺, e estimula, também, a proteína quinase mitógeno-ativada. Esses efeitos são bloqueados pela toxina “pertussis”, demonstrando que os efeitos do ácido lisofosfatídico nas vias de transdução do sinal e na ação sobre fatores de crescimento são mediados por G-proteínas⁽¹⁹⁾. Outro dado relevante reside no fato de que a hipercolesterolemia associa-se a uma resposta reduzida da guanilato ciclase pela ação de nitrovasodilatadores na musculatura lisa⁽²⁰⁾. Destacando-se o papel protetor do NO na patobiologia da parede arterial, a Figura 3 assinala os possíveis locais de comprometimento funcional da cascata de sua liberação. Esse esquema é válido também para a hipertensão arterial, ressaltando-se que os mecanismos em comum das doenças cardiovasculares são variados. A visão fornecida por um simples esquema serve apenas para alertar que cada passo da liberação do NO, para uma doença cardiovascular específica, pode ter individuali-

dades ainda não conhecidas, incluindo a função de transdução do sinal pelas G-proteínas.

disfunção desses fatores podem contribuir para a fisiopatologia da hipertensão arterial. A disfunção endotelial que ocorre na

hipertensão arterial é evidente, histologicamente, em vasos sanguíneos de hipertensos. O aumento da densidade de organelas citoplasmáticas e bandas microfilamentares associadas a aumento no volume da célula endotelial são achados precoces na hipertensão. Enquanto um endotélio intacto é preservado, nota-se aumento da razão de replicação associado a aumentos da permeabilidade da íntima e da densidade da célula endotelial durante os processos hipertensivos. Essas alterações morfológicas coincidem com as expressões dos relaxamentos e contrações dependentes do endotélio. Observaram-se comprometimentos dos relaxamentos dependentes do endotélio na aorta e em vasos de resistência em ratos geneticamente hipertensos, sob a ação da acetilcolina e ao ionóforo do cálcio A23187 enquanto o relaxamento independente do endotélio, dado pelo nitroprussiato de sódio, mostrava-se inalterado.

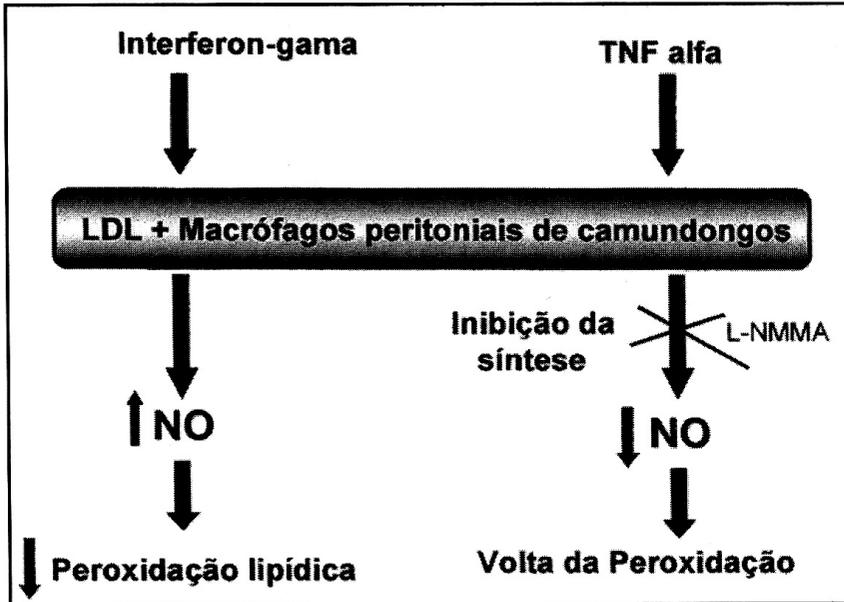


Figura 2. Relação da peroxidação lipídica com o óxido nítrico.

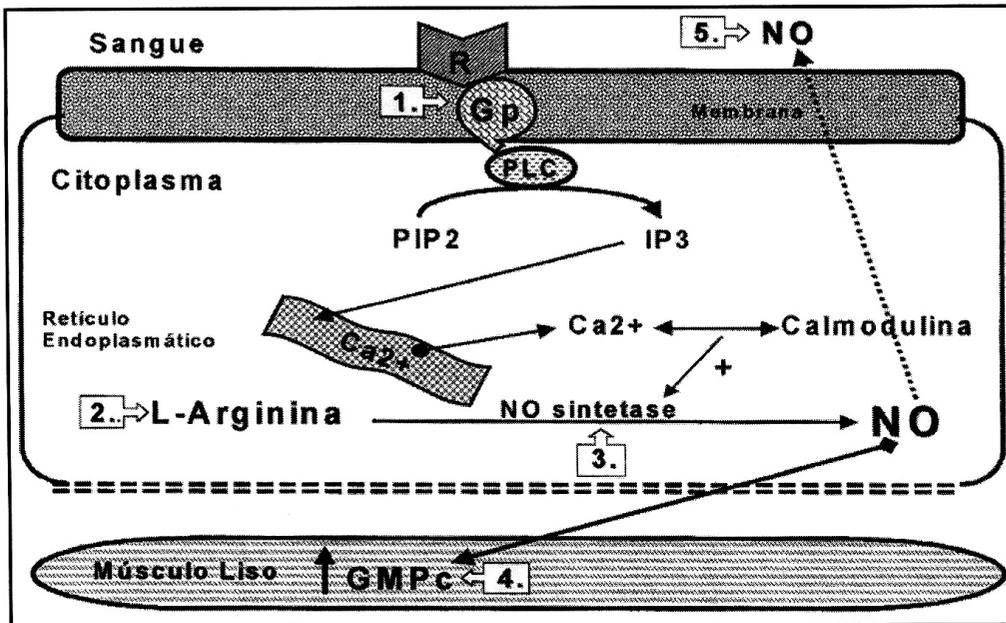


Figura 3. Pontos da cascata do óxido nítrico mais citados na literatura como causas da disfunção endotelial nas doenças cardiovasculares. 1. Transdução do sinal receptor/G-proteína. 2. Substrato L-arginina do óxido nítrico. 3. Atividade da NO sintase. 4. Resposta reduzida da guanilato ciclase. 5) Inativação do NO por radicais livres e outros inibidores endógenos.

FISIOPATOLOGIA DA DISFUNÇÃO ENDOTELIAL NA HIPERTENSÃO ARTERIAL

Como fatores vasoativos derivados do endotélio exercem profundo efeito sobre o tono vascular e a resistência vascular periférica, é natural concluir-se que o comprometimento ou a

disfunção desses fatores podem contribuir para a fisiopatologia da hipertensão arterial. A disfunção endotelial que ocorre na hipertensão arterial é evidente, histologicamente, em vasos sanguíneos de hipertensos. O aumento da densidade de organelas citoplasmáticas e bandas microfilamentares associadas a aumento no volume da célula endotelial são achados precoces na hipertensão. Enquanto um endotélio intacto é preservado, nota-se aumento da razão de replicação associado a aumentos da permeabilidade da íntima e da densidade da célula endotelial durante os processos hipertensivos. Essas alterações morfológicas coincidem com as expressões dos relaxamentos e contrações dependentes do endotélio. Observaram-se comprometimentos dos relaxamentos dependentes do endotélio na aorta e em vasos de resistência em ratos geneticamente hipertensos, sob a ação da acetilcolina e ao ionóforo do cálcio A23187 enquanto o relaxamento independente do endotélio, dado pelo nitroprussiato de sódio, mostrava-se inalterado.

Existem evidências de que o comprometimento dos relaxamentos dependentes do endotélio sejam secundários à hipertensão e não a uma das seguintes etiologias: a) o comprometimento desses relaxamentos pode ser obtido tornando hipertenso o animal normal de experimentação, e depois revertido tornando normotenso o mesmo animal; b) o grau de comprometimento está diretamente ligado ao grau de disfunção endotelial e pode ser modificado com a terapêutica anti-hipertensiva. Esse conceito é amplamente apoiado em dados obtidos em animais com coartação da aorta cirurgicamente induzida, nos quais a função endotelial encontra-se comprometida nos segmentos proximais hipertensivos e mantém-se inalterada no segmento distal. Entretanto, Vanhoutte e Scott-Burden⁽¹⁾ sugerem que o comprometimento dos relaxamentos dependentes do endotélio à acetilcolina, em aortas de ratos SHR, não se deve ao comprometimento da liberação de NO, mas à concomitante produção de fatores contráteis derivados do endotélio (EDCFs). Acresça-se que as propriedades vasoativas, induzidas por agonistas em vasos hipertensos bioensaiados em musculatura lisa, foram comparáveis ao efluente de vasos normais utilizados como controle.

Determinou-se, também, que além de induzir a liberação de NO, a acetilcolina estimula a produção de um fator contrátil lábil dependente da via ciclooxigenase, possivelmente a prostaglandina H_2 .

É interessante notar que a contração ao estiramento dependente do endotélio encontra-se aumentada em vasos sanguíneos de hipertensos, e que a serotonina, que normalmente induz vasodilatação na circulação coronariana do rato, induz vasoconstrição em corações de animais espontaneamente hipertensos. Essa resposta aberrante à serotonina é coincidente com a perda da inibição da contração dependente do endotélio induzida por plaquetas agregadas na aorta desses animais.

Quando se avalia o papel da disfunção dependente do endotélio na hipertensão, é preciso levar em consideração que existem diferentes etiologias, as quais podem se manifestar em padrões únicos de disfunção endotelial. Vanhoutte e Scott-Burden⁽¹⁾ sugerem dois padrões da disfunção endotelial na hipertensão arterial, conforme as etiologias no modelo experimental induzidas por sal ou geneticamente induzidas. Em ratos espontaneamente hipertensos, os relaxamentos dependentes do endotélio estão comprometidos pela concomitante produção de fatores relaxantes e contráteis. Já na hipertensão induzida por sal, a diminuição na produção do NO parece estar relacionada ao comprometimento do relaxamento. A hipótese de que uma diminuição da produção de NO relaciona-se com certos tipos de hipertensão é consistente com o achado do comprometimento "in vivo" da vasodilatação dependente do endotélio produzida pela acetilcolina em membros superiores de humanos hipertensos. Em adição, o achado de que a endotelina induz hiperconstrição na artéria renal de ratos espontaneamente hipertensos indica que peptídeos vasoativos produzidos pelo endotélio podem ter um papel no tono vascular aumentado na hipertensão arterial. Os conceitos atuais sugerem que na hipertensão, assim como em outras doenças cardiovasculares, ocorre comprometimento do natural estado de vasodilatação, com manifestação da atividade de fatores contráteis e pró-coagulantes, entre os quais a endotelina tem sido extensivamente estudada. Os conceitos acima revisados podem ser estudados de maneira mais ampla em artigos publicados na Revista Brasileira de Hipertensão — HiperAtivo, edição do primeiro trimestre de 1995⁽²¹⁻²⁸⁾ e em excelente artigo conceitual publicado por Francischetti⁽²⁹⁾, em 1995.

A liberação do NO ou outros EDRFs, uma vez que se postula a existência de mais de um fator endotelial, pode ocorrer por meio de diferentes vias, envolvendo G-proteínas e mecanismos independentes. As G-proteínas promovem a transdução do sinal a partir de receptores de membrana da célula endotelial. Todas as doenças cardiovasculares apresentam uma característica comum, ou seja, o comprometimento da liberação do NO parece estar relacionado à transdução do sinal gerado a partir de receptores, permanecendo normais os meca-

nismos intracelulares e a função da musculatura vascular. Assim, a função das G-proteínas poderia ser um elo comum, ou uma característica da disfunção endotelial, que pode ser causa ou conseqüência das doenças cardiovasculares. Na hipertensão arterial, a redução crônica da atividade GMP cíclica, com diminuição da liberação de óxido nítrico, levaria à diminuição da ativação das G-proteínas, com aumento da sensibilidade a agonistas vasoconstritores⁽³⁰⁾.

ESTUDO DA HIPERTENSÃO EM HUMANOS

A vasodilatação do antebraço, induzida pela acetilcolina e medida pela pletismografia, é diminuída em indivíduos normotensos com história familiar de hipertensão essencial. Esse dado sugere que a disfunção endotelial pode preceder o aparecimento da hipertensão e que essa anormalidade pode ter um papel na patogênese da hipertensão essencial⁽³¹⁾.

Uma excelente revisão de Drexler⁽⁵⁾, em 1997, discute a disfunção endotelial na hipertensão arterial em humanos. Nessa revisão, reafirma-se que, de maneira consistente com estudos experimentais e clínicos, ocorre redução da vasodilatação dependente do endotélio no antebraço de pacientes portadores de hipertensão essencial. Parece, também, que a produção basal de NO está comprometida em alguns, mas não em todos, pacientes hipertensos. Como fato importante, os efeitos da acetilcolina não são alterados pelo bloqueio da síntese do NO pelo L-NMMA em pacientes hipertensos, indicando alteração do sistema L-arginina/NO, que pode ser por redução da síntese, liberação ou, ainda, aumento da degradação do NO. Em contraste com vários estudos que incluíram pequeno número de pacientes, grandes séries de pacientes com hipertensão não mostraram diminuição do fluxo sanguíneo do antebraço, indicando que a disfunção endotelial em vasos periféricos de resistência pode não ser um fenômeno universal. Esses dados conflitantes são difíceis de reconciliar no presente; entretanto, a duração e a severidade da hipertensão podem desempenhar papel importante. Em comparação com indivíduos normais, pacientes hipertensos têm diminuição do fluxo basal menos pronunciada pelo bloqueio da síntese do NO pelo L-NMMA. Essa diferença sugere que a liberação basal e estimulada do NO está diminuída na hipertensão e, portanto, é menos afetada pela diminuição de sua síntese. Essa função endotelial anormal parece não ser causada por diminuição do substrato para o NO, porque a L-arginina não foi capaz de melhorar as respostas de fluxos sanguíneos induzidas pela acetilcolina. Finalmente, merece menção o fato de que pode haver diferenças entre a hipertensão primária e algumas situações de hipertensão secundárias, tais como o aldosteronismo primário e a hipertensão renovascular. O tratamento com indometacina restaura a vasodilatação dependente do endotélio no antebraço de pacientes com hipertensão primária, mas não em pacientes com hipertensão secundária.

Essa observação sugere que mecanismos vasoconstritores dependentes da ciclooxigenase participam da hiporreatividade dependente do endotélio na hipertensão primária.

ESTUDOS EM HUMANOS COM HIPERCOLESTEROLEMIA

A hipercolesterolemia familiar associa-se à aterosclerose prematura, sendo a disfunção endotelial evento precoce. Um estudo clássico demonstrou que o comprometimento da dilatação dependente do endotélio ocorre, já aos sete anos, em crianças com hipercolesterolemia familiar. O grau desse comprometimento relaciona-se com os níveis de lipoproteína⁽³²⁾.

De acordo com estudos de Casino e colaboradores⁽³³⁾, em 1993, pacientes com hipercolesterolemia têm resposta reduzida a vasodilatadores dependentes do endotélio. Porém, não se sabe qual(is) fator(es) produzido(s) pelo endotélio está(ão), especificamente, envolvido(s) nessa anormalidade. Um estudo realizado em 33 pacientes hipercolesterolêmicos em comparação a 23 pacientes normais revelou que a inibição da síntese do NO pela L-NG-monometil-arginina (L-NMMA) não afetou, significativamente, sua liberação basal nos dois grupos, bem como a resposta ao nitroprussiato de sódio, a qual independe do endotélio. Curiosamente, a resposta dependente do endotélio à acetilcolina mostrou-se alterada nos pacientes normais e inalterada nos pacientes hipercolesterolêmicos, submetidos à inibição da síntese do óxido nítrico. Esses dados sugerem que pacientes com hipercolesterolemia têm alteração da bioatividade do NO⁽³³⁾. Considerando esse aspecto, os mesmos autores prosseguiram nessa linha de investigação, no sentido de avaliar se a disfunção endotelial, nesses pacientes, poderia ser uma decorrência da diminuição da avaliabilidade da L-arginina, que é o substrato do NO. Nessa investigação, doze pacientes hipercolesterolêmicos foram comparados a quinze pacientes que tiveram estudados o fluxo sanguíneo do antebraço. Injetando-se, na artéria radial, acetilcolina e nitroprussiato e infundindo-se L-arginina e D-arginina (que não é precursora do NO), concluiu-se que o aumento da resposta vasodilatadora à L-arginina é defeituoso nos pacientes hipercolesterolêmicos. Isso suporta o conceito de que a diminuição do substrato L-arginina não é o mecanismo do comprometimento das respostas vasodilatadoras dependentes do endotélio nessa condição⁽³⁴⁾. Testou-se a hipótese de que o comprometimento da função endotelial, relacionada com as dislipidemias, pudesse relacionar-se com a inativação extracelular do NO por íons superóxidos. A probabilidade de que esse mecanismo possa ser fundamental foi abalada pelo fato de que pacientes hipercolesterolêmicos, mesmo recebendo doses da ordem de 24.000 U/min de superóxido dismutase, mantiveram sua hiporreatividade vascular à acetilcolina⁽³⁵⁾.

Um estudo comparando o fluxo da artéria radial de oito

pacientes hipercolesterolêmicos com oito pacientes normais revelou comportamentos semelhantes da ação da acetilcolina, do bloqueio da síntese de NO com o L-NMMA e da nitroglicerina. Porém, os efeitos independentes do endotélio desta última apresentaram-se exacerbados nos dois grupos. A resposta reduzida à acetilcolina (em termos de fluxo sanguíneo) no grupo hipercolesterolêmico pode ser uma evidência de disfunção endotelial na microcirculação. O fato de que o L-NMMA provocou diminuição do fluxo sanguíneo nos dois grupos sugere atividade comparável da NO sintase constitutiva nos dois grupos; portanto, a alteração de sua atividade não deve estar associada à disfunção endotelial. Essa disfunção deve estar relacionada com o aumento da responsividade à nitroglicerina e, portanto, à atividade da adenilato ciclase na musculatura vascular⁽³⁶⁾. Esse dado é conflitante com alguns estudos experimentais, que revelam comprometimento da liberação de NO pelo endotélio. É evidente que alguns fatores devam ser considerados para explicar essa aparente discrepância: o número de pacientes estudados, a sensibilidade das medidas de fluxo "in vivo", e, evidentemente, todas as já bem conhecidas críticas na comparação de estudos experimentalmente controlados "in vitro" no laboratório.

ASPECTOS TERAPÊUTICOS

Nos casos da disfunção endotelial primária ou "genotípica", associada a hipercolesterolemia e hipertensão arterial, os conceitos são especulativos e hipotéticos. Na realidade, esse assunto é praticamente inexistente na literatura, tanto do ponto de vista de seu caráter genético como de sua abordagem preventiva e terapêutica. Um problema crucial seria a necessidade de métodos diagnósticos para a detecção precoce desse tipo de disfunção. O passo seguinte seria a definição de estratégias para prevenir a evolução da disfunção primária e, assim, prevenir ou retardar o aparecimento das doenças cardiovasculares.

A utilização dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina parece, no momento, ser a abordagem mais inteligente para o tratamento da disfunção endotelial secundária, podendo, talvez, ser também uma opção para o tratamento da disfunção endotelial primária. Isso porque esse tipo de medicamento, além de inibir a formação da angiotensina II, evita a degradação da bradicinina^(4,5). A bradicinina pode, em determinadas circunstâncias, estimular a liberação de óxido nítrico por meio de vias alternativas distintas, com transdução do sinal dos receptores por G-proteínas distintas da via clássica induzida pela acetilcolina e pelo ADP. Essa via é independente do magnésio. Além disso, a bradicinina pode estimular a liberação de fatores endoteliais não-nítricos, como, por exemplo, o EDHF.

Os íons magnésio (Mg²⁺) têm papel essencial na transferência, armazenamento e utilização de energia (o Mg²⁺ regu-

la e catalisa cerca de 300 sistemas enzimáticos peculiares aos mamíferos). O magnésio é o antagonista natural do cálcio e participa de vários mecanismos intrínsecos da função endotelial. Como existem evidências de que regiões com hábitos alimentares pobres em magnésio apresentam aumento da incidência de moléstias cardiovasculares, esse íon, pela lógica, teria papel preventivo e terapêutico na disfunção endotelial primária^(37, 38)

Os antioxidantes, pelas suas ações anti-radicaais livres, também merecem especulações.

Postula-se que a disfunção endotelial primária precede o aparecimento das doenças cardiovasculares e que a maioria dos modelos experimentais dessas doenças revela comprometimento da liberação dos fatores relaxantes na membrana da célula endotelial. Assim sendo, as G-proteínas passam a ter papel importante na gênese das doenças mencionadas. Drogas que facilitassem sua função de transdução do sinal a partir dos receptores para os processos intracelulares responsáveis por função endotelial fisiológica trariam ótimas perspectivas do ponto de vista preventivo e terapêutico^(39, 40).

Considerando-se a disfunção endotelial primária como genotípica, não seria assombroso delegar um possível papel da engenharia genética em sua prevenção e tratamento.

Em relação ao tratamento da disfunção endotelial secundária, é importante ressaltar que nenhuma droga utilizada na atualidade foi originalmente destinada para o tratamento da disfunção endotelial. Recentes estudos, entretanto, demonstraram que algumas das terapias existentes (como, por exemplo, inibidores da enzima de conversão da angiotensina) podem proteger o endotélio. Estudos clínicos recentes têm sido realizados no sentido de se avaliar uma possível restauração da função endotelial em pacientes, usando intervenções como a L-arginina, drogas hipolipemiantes, drogas hipotensoras, vitamina C, outros antioxidantes e mesmo o exercício. O uso desses medicamentos pode facilitar ou melhorar a disfunção endotelial, mas a recuperação nunca é total, fato esse embasado, inclusive, no ensaio clínico "Trial on Reversing Endothelial Dysfunction" (TREND), que testou droga inibidora da enzima de conversão da angiotensina⁽⁴¹⁾.

Do ponto de vista terapêutico, alguns tópicos merecem destaque, por meio de conceitos com grande margem de controvérsia e, portanto, sujeitos a controvérsias:

1. Os inibidores da enzima de conversão da angiotensina, como já mencionado, além de impedir a formação da angiotensina II, potencializam a bradicinina por diminuição de sua degradação. A bradicinina estimula a liberação de óxido nítrico e outros fatores relaxantes não-nítricos (por exemplo, o EDHF) pelo endotélio. Na circulação coronariana do cão, que tem comportamento fisiológico semelhante ao da raça humana, a bradicinina utiliza via ou vias de liberação independentes do magnésio e, provavelmente, por uma transdução de sinal diferente da via clássica de liberação do óxido nítrico induzida

pela acetilcolina, que é dependente do magnésio. Por essas razões, os inibidores da enzima de conversão da angiotensina, entre as drogas existentes na atualidade, parecem ser as mais importantes do ponto de vista da terapêutica da disfunção endotelial secundária. Em relação especificamente à hipercolesterolemia, demonstrou-se que os inibidores da enzima de conversão da angiotensina protegem o endotélio contra a perda de função e atenuam a deposição de lipídios em vasos de animais com hipercolesterolemia (genética ou adquirida). Evidências circunstanciais de vários experimentos sugerem que a bradicinina possa ser a responsável pela proteção contra a hipercolesterolemia⁽⁴²⁾

2. Drogas doadoras de óxido nítrico em teoria teriam uma opção terapêutica para a disfunção endotelial secundária. A SIN-1 tem sido testada experimentalmente, assim como os nitratos. Estes têm-se mostrado ineficazes na prática clínica, independentemente de sua classe, talvez pela utilização da via oral. A investigação de novos nitratos é uma direção promissora, ressaltando-se que o pentaeritritil-tetranitrato (PETN), o qual não promove o desenvolvimento "in vitro" de tolerância, pode ter papel protetor contra a aterosclerose e a disfunção endotelial. Essa nova classe de nitrovasodilatadores, ainda com desconhecida qualidade farmacodinâmica, poderá contribuir não só para o tratamento a longo prazo da doença coronariana, mas também ter novas implicações terapêuticas para a disfunção endotelial⁽⁴³⁾.

3. A utilização da L-arginina, que é o aminoácido precursor do óxido nítrico, é absolutamente lógica, mas seus resultados terapêuticos têm se mostrado controversos. No futuro, provavelmente poderão ser definidos subgrupos de pacientes e doenças que poderão se beneficiar dessa opção terapêutica ou preventiva. Enquanto a utilização da L-arginina é bastante controversa no tratamento da hipertensão arterial, os resultados clínicos e experimentais atestando sua eficácia na terapêutica da hipercolesterolemia são mais consistentes⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾.

4. Os antagonistas do cálcio apresentam discreto efeito no endotélio, mas facilitam a vasodilatação induzida pelo óxido nítrico e reduzem os efeitos contráteis da endotelina-1⁽⁴⁸⁾.

5. Os bloqueadores da endotelina foram eficientes, experimentalmente, em reverter a vasoconstrição causada por ela. Em humanos (microcirculação da pele e circulação do antebraço), foram eficientes, porém não mostraram grandes vantagens em relação aos antagonistas do cálcio⁽⁴⁸⁾.

6. Outras potenciais intervenções terapêuticas na disfunção endotelial incluem os "seqüestradores" de radicais livres (superóxido dismutase), os antioxidantes (probiol, vitamina E), o óleo de peixe, os estrogênios (mulheres na pós-menopausa) e o exercício físico. Variados relatos experimentais, e alguns clínicos, revelam que as drogas hipolipemiantes conseguem restaurar, ainda que não totalmente, a função endotelial em pacientes e modelos experimentais de hipercolesterolemia⁽²⁾. Pacientes hipercolesterolêmicos que receberam suplementa-

ção diária de vitaminas antioxidantes (betacaroteno/30 mg, vitamina C/1.000 mg e vitamina E/800 IU), durante um mês, tiveram responsividade do fluxo sanguíneo de ambos os antebraços à oxidação da LDL. Apesar da administração de suplementos de vitaminas antioxidantes ter reduzido a suscetibilidade da LDL à oxidação, o comprometimento da função endotelial permaneceu inalterado. O uso de antioxidantes não-vitamínicos ou a concomitante redução nos níveis de LDL, bem como a aquisição de técnicas mais sensíveis para medir a reatividade vascular "in vivo", poderão ser uma necessidade para mostrar os possíveis efeitos desse tratamento na função vasodilatadora endotelial⁽⁴⁹⁾.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Restauração ou reposição de fatores derivados do endotélio, como o óxido nítrico e a prostaciclina, têm se tornado um paradigma do tratamento e da prevenção das doenças cardiovasculares. Esses fatores relaxantes impedem a progressão da doença, ou previnem a ação de mediadores eicosanóides vasoconstritores, da angiotensina II ou da endotelina, que aceleram a progressão da doença cardiovascular. Portanto, o entendimento da fisiologia dos fatores vasoativos derivados do endotélio é parte da educação de cada médico⁽⁵⁰⁾.

Novas técnicas diagnósticas e estratégias terapêuticas direcionadas para a melhora ou preservação da função endotelial serão, sem sombra de dúvida, promissoras na prevenção das doenças cardiovasculares. Conhecimentos adicionais da patobiologia alterada do endotélio poderão revelar alguns mistérios remanescentes das variadas doenças cardiovasculares, e tornarão possíveis a definição de novas terapêuticas para tratá-las ou preveni-las⁽⁵¹⁾. Um parâmetro a ser perseguido pela investigação clínica e laboratorial é a busca de marcadores que possam ser testados para a detecção precoce da disfunção endotelial na hipercolesterolemia. Nesse sentido, estudo experimental sugere que a endotelina pode ser um marcador, já que ela é uma participante precoce da disfunção endotelial na hipercolesterolemia e no processo aterogênico⁽⁵²⁾.

É preciso ressaltar que as alterações endoteliais, na hipercolesterolemia, são mais que uma simples disfunção vasodilatadora. Como ficou bastante claro nesta revisão, a doença vascular oclusiva começa com uma alteração da função endotelial, que se caracteriza por diminuição da atividade

do NO. A diminuição do NO endógeno inibe muitos processos importantes na aterogênese, incluindo aderência de monócitos, ativação plaquetária e proliferação da musculatura lisa. O mecanismo pelo qual a atividade do NO está reduzida na hipercolesterolemia, e em outras doenças metabólicas associadas com a aterogênese, parece ser multifatorial. Esse mecanismo inclui: aumento na produção de radicais livres, alterações da NO sintase e acúmulo de inibidores endógenos da NO sintase. Esse acúmulo de inibidores endógenos, que se encontram elevados em humanos hipercolesterolêmicos, pode ser contraposto pela administração da L-arginina⁽⁵³⁾.

Embora a disfunção endotelial seja característica tanto da hipercolesterolemia como da hipertensão primária, devem existir diferenças na intimidade dos mecanismos que levam a essa disfunção. A maioria dos trabalhos demonstra que a deficiência do substrato L-arginina não é uma característica das duas doenças. No entanto, a resposta ao tratamento com a L-arginina é muito mais consistente nos pacientes hipercolesterolêmicos que nos pacientes hipertensos. Além disso, até o momento, os estudos a respeito do impacto da terapêutica na disfunção endotelial que ocorre na hipercolesterolemia e na hipertensão essencial são pequenos e incompletos. Não se comprovou, ainda, que a terapêutica anti-hipertensiva crônica restaura a função endotelial em pacientes hipertensos. Em contraste, a terapêutica hipolipemiante crônica é efetiva em restaurar a função endotelial na circulação coronariana e periférica em pacientes com hipercolesterolemia. Um benefício com a utilização de estatinas já pode ser sentido após três meses de tratamento, mas completa restauração da função endotelial, se ela é possível, pode demorar mais de um ano⁽⁵⁴⁾.

É curioso notar que a terapêutica hipolipemiante, por si própria, promove melhora dos níveis pressóricos de pacientes hipertensos e hipercolesterolêmicos.

Finalmente, uma palavra de cautela deve ser ressaltada quanto à classificação da disfunção endotelial utilizada nesta revisão. Não existe uma classificação estabelecida; assim, a proposição de uma classificação para a disfunção endotelial, embora possa ser objetivo importante, merece grande senso crítico, porque pode ser inoportuna e interpretada como pretensiosa. A primeira dúvida é filosófica, porque os atuais conceitos sobre disfunção endotelial, provavelmente, mudarão de maneira bastante dinâmica e uma classificação pode ser interpretada como reducionismo prematuro.

Hypercholesterolemia, endothelium dysfunction and arterial hypertension

PAULO ROBERTO BARBOSA ÉVORA, FERNANDO NOBRE

Several experimental studies suggest many similarities between the effects of hypertension and hypercholesterolemia on the arterial wall where both cardiovascular conditions have proinflammatory effects on the artery. The oxidative stress on the arterial wall may occur in hypertension and hypercholesterolemia, therefore a synergistic reaction may play a role in the atherosclerotic process as common causal mechanisms. It is clear that endothelium dysfunction has a mandatory role inside these mechanisms. So, the strategy for this review included: 1) endothelium dysfunction definition; 2) discussion about the endothelium paracrine function in hypertension and hypercholesterolemia; 3) discussion of relevant clinical aspects; and 4) discussion of therapeutics perspectives, emphasizing the need of future researches to include direct attack on these common mechanisms.

Key words: hypercholesterolemia, endothelium, endothelium dysfunction, arterial hypertension, nitric oxide.

HiperAtivo 1999;2:167-77)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vanhoutte PM, Scott-Burden T. The endothelium in health and disease. *Tex Heart Inst J* 1994;21:62-7.
2. Henry PD, Cabello OA, Chen CH. Hypercholesterolemia and endothelial dysfunction. *Curr Opin Lipidol* 1995;6:190-5.
3. Murakami T, Yamada N. Exacerbation of atherosclerosis induced by hypertensive and hypercholesterolemic states — potential mechanisms and therapeutic implications. *Nippon Rinsho* 1997;55(8):2097-102.
4. De Meyer GR, Herman AG. Vascular endothelial dysfunction. *Prog Cardiovasc Dis* 1997;39:325-42.
5. Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis* 1997;39:287-324.
6. Shimokawa H, Aarhus LL, Vanhoutte PM. Dietary 3-polyunsaturated fatty acids augment endothelium-dependent relaxations to bradykinin in coronary microvessels of the pig. *Br J Pharmacol* 1988;95:1191-6.
7. Shimokawa H, Kim P, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets in isolated basilar arteries of control and hypercholesterolemic pigs. *Circ Res* 1988;63:604-12.
8. Shimokawa H, Vanhoutte PM. Hypercholesterolemia causes generalized impairment of endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets in porcine arteries. *J Am Coll Cardiol* 1989;13:1402-8.
9. Shimokawa H, Vanhoutte PM. Impaired endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets and related vasoactive substances in porcine coronary arteries in hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Circ Res* 1989;64:900-14.
10. Freiman PC, Mitchell GG, Heistad DD, et al. Atherosclerosis impairs endothelium-dependent vascular relaxation to acetylcholine and thrombin in primates. *Circ Res* 1986;58:783-9.
11. Verbeuren TJ, Jordaens FH, Zonnekeyn LL, et al. Effect of hypercholesterolemia on vascular reactivity in the rabbit. I. Endothelium-dependent and endothelium-independent contractions and relaxation's in isolated arteries of control and hypercholesterolemic rabbits. *Circ Res* 1986;58:552-64.
12. Andrews HE, Bruckdorfer KR, Dunn RC, et al. Low-density lipoproteins inhibit endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta. *Nature* 1987;327:237-9.
13. Takahashi M, Yui Y, Yasumoto H, et al. Lipoproteins are inhibitors of endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. *Am J Physiol* 1990;258:H1-H8.
14. Furchgott RF. Role of the endothelium in the response of the vascular smooth muscle. *Circ Res* 1983;53:557-73.
15. Boulanger C, Schini VB, Hendrickson H, et al. Chronic exposure of cultured endothelial cells to eicosapentaenoic acid potentiates the release of endothelium-derived relaxing factor(s). *Br J Pharmacol* 1990;99:176-80.
16. Yates MT, Lambert LE, Whitten JP, et al. A protective role for nitric oxide in the oxidative modification of low density lipoproteins by mouse. *FEBS Lett* 1992;309:135-8.
17. Vogel RA. Coronary risk factors, endothelial function, and atherosclerosis: a review. *Clin Cardiol* 1997;20:426-32.
18. Sellke FW, Armstrong ML, Harrison DG. Endothelium-dependent vascular relaxation is abnormal in the coronary microcirculation of atherosclerotic primates. *Circulation* 1990;81:1586-93.
19. Seewald S, Sachinidis A, Dusing R, et al. Lysophosphatidic acid and intracellular signaling in vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 1997;130:121-31.
20. Schmidt K, Klatt P, Mayer B. Hypercholesterolemia is associated with a reduced response of smooth muscle

- guanylyl cyclase to nitrovasodilators. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1159-63.
21. Evora PR. Endotélio e hipertensão arterial. Do laboratório à prática clínica [aceito para publicação]. *HiperAtivo* 1995;1(2):5-7.
 22. Evora PRB, Pearson PJ, Discigil B, Schaff HV. Aspectos históricos e fisiologia da função endotelial. Primeiras idéias relacionando o endotélio com a hipertensão arterial [aceito para publicação]. *HiperAtivo* 1995;1(2):8-20.
 23. Moreno Júnior H, De Nucci G. Hipertensão arterial e inibição crônica da síntese de óxido nítrico. *HiperAtivo* 1995;1(2):31-7.
 24. Carvalho MHC, Nigro D, Scivoletto R. Reatividade vascular, hipertensão e endotélio. *HiperAtivo* 1995;1(2):21-30.
 25. Laurindo FRM, da Luz PL. Espécies ativas de oxigênio podem contribuir para o aumento da resistência vascular periférica na hipertensão: uma hipótese. *HiperAtivo* 1995;1(2):39-45.
 26. Fonseca FHA. Hipertensão arterial, magnésio e endotélio. *HiperAtivo* 1995;1(2):46-51.
 27. Fagundes VGA, França MF, Alvarenga Netto F, et al. Efeitos da L-arginina na pressão arterial, hemodinâmica renal e excreção de sódio de hipertensos essenciais. *HiperAtivo* 1995;1(2):52-8.
 28. Batlouni M, Amodeo C. Mecanismos de ação de drogas anti-hipertensivas dependentes do endotélio. *HiperAtivo* 1995;1(2):59-63.
 29. Francischetti EA. Endotélio vascular. Um importante sistema cibernético vasomodulador e modulador cuja disfunção participa do processo hipertensivo. *Arq Bras Cardiol* 1995;64:53-68.
 30. Kanagy NL, Charpie JR, Webb RC. Nitric oxide regulation of ADP-ribosylation of G proteins in hypertension. *Med Hypotheses* 1995;44:159-64.
 31. Taddei S, Viridis A, Mattei P, et al. Endothelium-dependent forearm vasodilation is induced in normotensive subjects with familial history of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20(Suppl 12):S193-S195.
 32. Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, et al. Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. *J Clin Invest* 1994;93:50-5.
 33. Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, et al. The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. *Circulation* 1993;88:2541-7.
 34. Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, et al. Investigation of decreased availability of nitric oxide precursor as the mechanism responsible for impaired endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:844-50.
 35. Garcia CE, Kilcoyne CM, Cardillo C, et al. Evidence that endothelial dysfunction in patients with hypercholesterolemia is not due to increased extracellular nitric oxide breakdown by superoxide anions. *Am J Cardiol* 1995;76:1157-61.
 36. Munzel T, Hayoz D, Hornig B, et al. Increased vascular sensitivity to nitroglycerin in patients with hypercholesterolemia and peripheral endothelial dysfunction. *Dtsch Med Wochenschr* 1994;119:1065-70.
 37. Altura BM, Altura BT. Role of magnesium in pathophysiological processes and the clinical utility of magnesium ion selective electrodes. *Scand J Clin Lab Invest* 1996;224(Suppl):211-34.
 38. Pearson PJ, Evora PRB, Seccombe J, et al. Hypomagnesemia inhibits nitric oxide release from coronary endothelium. Protective role of magnesium infusion cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1998;65:967.
 39. Evora PRB, Pearson PJ, Schaff HV. Impaired endothelium-dependent relaxation after coronary reperfusion injury: evidence for G-protein dysfunction. *Ann Thorac Surg* 1994;57:1550-6.
 40. Evora PRB. O impacto científico da descoberta do óxido nítrico como vasodilatador e antitrombótico endógeno [editorial]. *Arq Bras Cardiol* 1993;61:3-5.
 41. Mancini GB, Henry GC, Macaya C, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing Endothelial Dysfunction) Study. *Circulation* 1996;94:258-65.
 42. Becker RH. ACE inhibition and atherosclerosis in the animal model. *Z Kardiol* 1994;83(Suppl 4):15-20.
 43. Kojda G, Stein D, Kottenberg E, Schnaith EM. In vivo effect of pentaerythryl-tetranitrate and isosorbide-5-mononitrate on the development of atherosclerosis and endothelial dysfunction in cholesterol-fed rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;25:763-73.
 44. Rossitch Jr E, Alexander E 3d, Black PM, et al. L-arginine normalizes endothelial function in cerebral vessels from hypercholesterolemic rabbits. *J Clin Invest* 1991;87:1295-9.
 45. Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, et al. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 1996;15(97):1989-94.
 46. Cooke JP, Dzau J, Creager A. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is corrected by L-arginine. *Basic Res Cardiol* 1991;86(Suppl 2):173-81.
 47. Creager MA, Gallagher SJ, Girerd X, et al. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1992;90:1248-53.

48. Wenzel RR, Luscher TF. Endothelin receptor antagonists as new tools to inhibit endothelin induced vasoconstriction in humans: comparison with calcium channel blockers. In: Luscher TF, editor. *The endothelium in cardiovascular disease: pathophysiology, clinical presentation and pharmacotherapy*. Berlin/Heidelberg/New York: Springer-Verlag; 1995. p.129-47.
49. Gilligan DM, Sack MN, Guetta V, et al. Effect of antioxidant vitamins on low density lipoprotein oxidation and impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1611-7.
50. Cohen RA. The role of nitric oxide and other endothelium-derived vasoactive substances in vascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38:105-28.
51. Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;22(Suppl 4):A1-14.
52. Lerman A, Webster MW, Chesebro JH, et al. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in hypercholesterolemic pigs. *Circulation* 1993; 88:2923-8.
53. Tsao PS, Cooke JP. Endothelial alterations in hypercholesterolemia: more than simply vasodilator dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32(Suppl 3):S48-S53.
54. Schmieder RE, Schobel HP. Is endothelial dysfunction reversible? *Am J Cardiol* 1995;76:117A-121A.