

Laços históricos entre circulação sanguínea, endotélio e hipertensão arterial

211

PAULO ROBERTO BARBOSA ÉVORA

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP — Ribeirão Preto — SP

Contar qualquer história recente é uma tarefa muito difícil, e injustiças podem ser cometidas. A globalização e a conseqüente avalanche de informações dos conhecimentos, além da salutar tendência das instituições de sobrepesar o indivíduo, dificultam a identificação pioneira de fatos históricos. Talvez esse seja um dos aspectos mais fascinantes sobre a proposição do fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF, "endothelium derived relaxing factor"), por Robert Furchgott, pois, em uma época de avançada tecnologia, toda essa fantástica era de pesquisas nasceu da simples observação de traçados de esforço isométrico, e tornou-se uma das peças científicas mais importantes deste século que está próximo de seu fim. A idéia editorial inicial era "Do descobrimento do papel do endotélio na gênese e sustentação da hipertensão arterial sistêmica". Se considerarmos como ponto de referência a proposição do EDRF pelo Dr. Furchgott, em 1980, evidencia-se uma história bastante recente, bastante conhecida e que já vem sendo abordada com certa freqüência. Como História implica resgate de informações através de períodos abrangentes, optamos, após pesquisa bibliográfica tão completa quanto possível, ampliar a idéia com a busca de elos históricos entre circulação sanguínea, endotélio e hipertensão arterial. A seqüência e o planejamento dessa revisão seguiram e atualizaram a estratégia adotada por Alfred P. Fishman, que foi o editor do simpósio sobre "Endotélio", publicado sob os auspícios da Academia de Ciências de Nova York, em 1982.

Ressalte-se que, nesse volume da Academia de Ciências de Nova York, editado após dois anos da clássica publicação de Furchgott sobre as ações dependentes do endotélio da acetilcolina, não há menção desse trabalho nem menção ao EDRF. Fala-se em "denudação espontânea do endotélio" relacionada com a hipertensão e a aterosclerose e encontram-se assertivas como esta:

"Existem pelo menos três maneiras pelas quais alterações funcionais de um número de células endoteliais possam levar à proliferação da musculatura lisa: alteração do transporte de fatores de crescimento plasmáticos, interações

plaquetárias não-trombóticas e controle alterado da produção de fatores de crescimento".

A CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA

Por mais de um milênio antes de William Harvey descobrir que o sangue circula, permaneceu vigente o conceito galênico de que o fluxo do sangue era controlado, como se fosse um motocontínuo de marés altas e baixas. De acordo com o conceito estabelecido por Galeno, o fígado seria o local onde o sangue afluía e era imbuído de um espírito natural ("pneuma"), essencial para apropriada nutrição e crescimento. O quilo era trazido para processamento no fígado pela veia porta. A partir do fígado, parte do sangue fluía para o ventrículo direito e de lá para a artéria pulmonar ("vena arterialis"), com ventilação de impurezas pela respiração. Dessa maneira, sangue venoso para nutrição era gerado e purificado. Parte desse sangue alcançava o ventrículo esquerdo através de poros hipotéticos do septo interventricular. Na cavidade do ventrículo esquerdo, esse sangue venoso, misturado com ar, entrava nos pulmões através da veia pulmonar ("arteria venalis") e era carregado com espírito vital (um segundo tipo de "pneuma"). Esse sangue enriquecido fluía para frente e para trás no lado arterial, favorecendo, dessa forma, cada órgão em sua função particular. Alcançando o cérebro, o sangue enriquecido era submetido a melhora-mento final pela adição do espírito animal. Esse supremo "pneuma" era, então, distribuído pelo buraco dos nervos para segurança das funções sensoriais e motoras do corpo (Figura 1).

A publicação de William Harvey "De Motu Cordis" desferiu um golpe mortal nesse conceito imaginativo. Alfred Fishman, editor do volume do "Annals of the New York Academy of Sciences", dedicado ao Endotélio, em 1982, escreveu:

"Embora possa parecer inapropriado recontar, neste ponto, a descoberta da circulação do sangue, é relevante ressaltar que o leito capilar era o elo perdido da descrição da circulação feita por Harvey. Em 1660, três anos após a morte de Harvey, Malpighi completou a lacuna pela des-

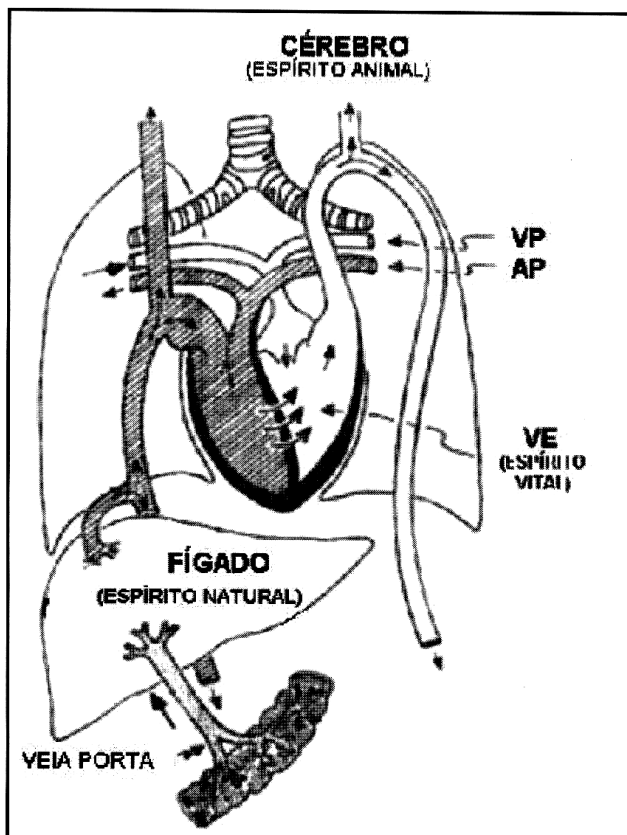


Figura 1. Concepção de Galeno do fluxo sanguíneo e espíritos (adaptado de Singer e Fishman).

crição da circulação capilar do pulmão do sapo”.

É importante notar que, pouco antes da publicação de “De Motu Cordis”, Aselli já havia descoberto os linfáticos contendo quilo no mesentério e no intestino. A descoberta era consistente com a visão prevalente de que o quilo movia-se para o fígado para ser convertido em sangue. Como o quilo nos linfáticos parecia chegar lá por absorção dos intestinos após alimentação gordurosa, foi razoável para ele concluir que linfáticos em qualquer localização tinham a mesma função de absorção. Somente no século 18 desenvolveu-se o conceito de que a linfa derivava do plasma sanguíneo.

O ENDOTÉLIO DO PONTO DE VISTA ANATÔMICO

A primeira descrição do endotélio é atribuída a Malpighi, em 1660. A palavra “endotélio” foi introduzida pelo anatomista alemão His, em 1865, combinando as palavras gregas “endon”, significando interior, e “thele”, significando mamilo, subentendendo-se revestimento com características papilares. Essa terminologia foi proposta como complemento anatômico do termo “epitélio” (“acima ou externo ao mamilo ou papilas”), usado pela primeira vez por Ruysch em torno de 1700 para

descrever a camada celular que recobria a língua e outras áreas com estruturas papilares. Henle expandiu a utilização do termo epitélio, incluindo-o como denominação das superfícies celulares, incluindo os tratos respiratório, gastrointestinal e urinário. Como sugere a monografia pioneira de Altschul, “endotélio” é um termo controverso, mas acabou sendo consagrado pelo uso para descrever-se a camada celular de revestimento interno de todo o sistema circulatório, incluindo os vasos linfáticos. Nesse contexto, do ponto de vista anatômico e embriológico, o endocárdio também faz parte do revestimento endotelial. Fica claro que no início e em meados do século 20, o endotélio vascular tinha, primariamente, apenas interesse anatômico. Os estudos histológicos do endotélio aórtico realizados por Langhans, em 1866, serviram de base para pesquisas subseqüentes, como as de O’Neil, em 1947, que realizou estudos anatômicos de patologia vascular induzida por alterações do fluxo sanguíneo.

O ENDOTÉLIO COMO ÓRGÃO ENDÓCRINO

Há algumas décadas, o endotélio pulmonar capilar foi um alvo natural para a suspeição de sua provável função metabólica: 1) está situado perto da saída dos pulmões, na entrada para os órgãos sistêmicos vitais; 2) o débito cardíaco atinge por completo toda sua vasta extensão; 3) é um filtro para todo tipo de matéria, como, por exemplo, coágulos de fibrina, que retornam ao coração através do sistema venoso; e 4) evidências históricas sugeriam que os pulmões estão envolvidos no processamento de materiais biologicamente ativos. Acresça-se que quando os detalhes de ultra-estrutura começaram a aparecer, o endotélio tornou-se bastante atrativo como o local dos pulmões que abrigaria a maquinaria metabólica necessária.

As pistas históricas eram impressionantes. No início do século 20, já em 1914, os pulmões começaram a ser incluídos no circuito para perfusão renal por Bainbridge & Evans. Inicialmente, foram incluídos apenas com o objetivo de melhorar a oxigenação e a hemodinâmica. Mais tarde, Starling & Verney, em 1925, consideraram que os pulmões pudessem sustentar a vida do rim pela remoção de substâncias nocivas do sangue. Em 1948, essa substância foi identificada por Rapport, Greeney e Page como sendo a 5-hidroxitriptamina; em 1953, Gaddun e colaboradores demonstraram, em gatos, que ela era inativada pelos pulmões. Ressalte-se que, nos

anos 40, mesmo o maior esforço de imaginação possível não seria capaz de prever um papel importante do endotélio pulmonar. Mas, nos anos 60, as técnicas de cateterismo cardíaco e canulação arterial trouxeram a circulação tão próxima das mãos, que a entrada e a saída do sangue na região de maior extensão endotelial do organismo puderam ser amostradas à vontade sob condições naturais. Precedendo esse grande avanço, é importante ressaltar os estudos de microscopia eletrônica da estrutura endotelial iniciados, em 1953, por Howard Florey, George Palade e Guido Majno. Florey já havia mostrado grande habilidade científica estudando, entre 1939 e 1943, o muco e as placas endoteliais. Em 1945, dividiu o Prêmio Nobel com Alexander Fleming e Ernst Chain pela descoberta e utilização clínica da penicilina. Foi após o final da ativa participação de Florey na história da penicilina que seu interesse no endotélio retornou, incrementando seus estudos por meio da microscopia eletrônica.

Ainda como fato da evolução histórica do endotélio, de barreira inativa para interface ativa, até ser considerado órgão metabólico, merecem destaque alguns fatos antes do advento do cateterismo cardíaco e da microscopia eletrônica. Ludwig, na década de 1850, considerava o endotélio uma barreira entre o sangue e outros compartimentos tissulares. O endotélio seria uma membrana inerte através da qual a linfa se formava passivamente pela inter-relação entre as pressões osmótica e hidrostática. Esse conceito foi contestado por Heidenhain, que postulou, com base em seus dados experimentais, que o endotélio apresentava secreção ativa. Ao final do século 19, Starling começou a repetir os experimentos de Heidenhain e concluiu que a teoria de Ludwig era correta. Assim, Starling, que tantas contribuições trouxe à fisiologia cardiovascular, retardou, pelo seu prestígio, a idéia do endotélio como órgão funcional e popularizou sua "Lei da Troca Capilar", porque estava convencido de que o endotélio só servia para manter as características de permeabilidade da parede capilar. Mas, pode-se atribuir a Heidenhain, em 1891, a primeira defesa dessa idéia. Em 1929, August Frogé já mencionava idéias sobre a possível porosidade das células endoteliais. Após a Segunda Guerra Mundial, observando o movimento transcapilar de variados solutos, Pappenheimer e colaboradores comprovaram a existência dos poros endoteliais.

Como curiosidade, a pesquisa bibliográfica para a elaboração desta resenha histórica mostrou algumas pérolas isoladas, mas que se en-

caixam perfeitamente no contexto da presente matéria. Um antigo livro, publicado no início da década de 50, selecionou uma matéria sob o título de "Conferências sobre alguns problemas da patologia interna" (pronunciadas nas universidades portuguesas, em Outubro de 1952, pelo prof. C. Jimenez Diaz). Nesse livro, o capítulo V tem o expressivo título de "A função endócrina das artérias na regulação da pressão arterial". No texto, são descritas primorosas experiências animais envolvendo secção medular, estimulação vagal, estudo dos efeitos da injeção de masserados de vasos arteriais, sendo essas injeções aplicadas com técnicas semelhantes às utilizadas por Braun Menéndez para extrair a renina.

O CONTROLE PARÁCRINO DO TONO VASCULAR PELO ENDOTÉLIO

Como ficou claro até este ponto, o endotélio de artérias e veias já vinha sendo considerado, há muito tempo, por médicos e pesquisadores que lidam com as doenças cardiovasculares ou complicações cardiovasculares da idade avançada. Entretanto, a visão global da função endotelial só foi possível duas décadas atrás, que testemunhou a descoberta da produção da prostaciclina e a subsequente descoberta do óxido nítrico derivado do endotélio (NO) e outros fatores vasoativos. Longe de ser uma barreira passiva de interface entre o fluxo sanguíneo e o corpo, o endotélio passou a ser considerado um sistema orgânico, cuja função é crítica na manutenção da anticoagulação sanguínea "in vivo", na manutenção do tono vascular e na regulação da perfusão. Acresça-se que a lesão ou a disfunção endotelial são vias comuns a uma gama de doenças cardiovasculares, incluindo a aterosclerose, as doenças vasoespásticas e a hipertensão arterial.

Investigadores também notaram que alterações do fluxo sanguíneo alteravam o tono vascular, e alguns deles aventaram a hipótese de que isso se devia à produção de algum autacóide produzido localmente. Ultimamente, a resposta vascular à acetilcolina representou papel essencial na delineação do mecanismo do controle do tono vascular pela célula endotelial, mecanismo esse tão importante que se manifesta mesmo na filogenia precoce dos animais vertebrados.

Já se conhecia, há longo tempo, que a acetilcolina podia, sob certas condições, induzir relaxamento vascular. Jelliffe, em 1966, demonstrou que a acetilcolina promovia relaxamento em ti-

ras de aorta de coelho pré-contraídas. Dez anos mais tarde, estudando a liberação de compostos das células endoteliais, Buonassisi & Venter, em 1979, sugeriram que seria possível as células endoteliais liberarem fatores que poderiam regular, local e sistemicamente, o tono vascular. Toda, em 1979, estudando os efeitos da acetilcolina em artérias cerebrais de cão, propôs que esse neurotransmissor poderia liberar um polipeptídeo vasodilatador.

A descoberta da prostaciclina (PGI₂) abriu um novo capítulo na fisiologia do endotélio e das plaquetas. Moncada e colaboradores descobriram que um preparado de microssomos, obtidos a partir de aortas de coelhos e porcos, não formava tromboxane A₂ a partir de endoperóxidos, como as plaquetas o fazem. Ao contrário, esses microssomos contêm uma enzima que converte endoperóxidos a uma prostaglandina instável que previne ou reverte a agregação plaquetária e relaxa variados vasos sanguíneos. Esse composto foi, inicialmente, denominado "prostaglandina X", posteriormente alterado para prostaciclina, após determinações estruturais mostrarem que ela apresentava um anel não encontrado nas prostaglandinas. Mais recentemente, a prostaciclina passou a ser designada como PGI₂, de acordo com a nomenclatura adotada para todas as prostaglandinas como um todo. Na segunda metade da década de 1970, merece destaque a contribuição de Ferid Murad, que firmou a descoberta de que os nitratos agiam através do óxido nítrico, o qual estimulava a guanilato ciclase, que, aumentando os níveis de GMP cíclico, relaxava a musculatura lisa vascular. Murad demonstrou que esse efeito poderia ser bloqueado pelo azul de metileno.

Em 1980, Furchgott & Zawadzki, devido a um erro experimental, descobriram um fato que durante muitos anos foi um grande enigma da farmacologia: o porquê de a acetilcolina em algumas situações ser um vasoconstritor e em outras agir como vasodilatador. A simples e elegante verificação de que a acetilcolina só age como vasodilatador na presença do endotélio desencadeou uma era de intensos trabalhos na década de 80, a qual estabeleceu o endotélio como a sede do início da maioria das doenças cardiovasculares. Assim resumiram essa verificação capital:

"Apesar da sua potente ação vasodilatadora 'in vivo', a acetilcolina (ACh) nem sempre promove relaxamento em preparações isoladas de vasos sanguíneos 'in vitro'. Por exemplo, na tira helicoidal da aorta torácica descendente de coe-

lhos, a única resposta descrita à ACh tem sido contrações graduais, ocorrendo em concentrações acima de 0,1 μ M e mediada por receptores muscarínicos. Recentemente, observamos que em uma preparação de anéis de aorta torácica de coelhos, a ACh produziu acentuado relaxamento a concentrações mais baixas que aquelas necessárias para produzir contração (confirmando relato anterior de Jelliffe). Investigando essa aparente discrepância, descobrimos que a perda do relaxamento pela ACh no caso das tiras era o resultado não intencional da fricção da sua íntima contra diferentes superfícies durante a sua preparação. Tomando-se cuidado para evitar fricções da superfície íntima durante a preparação, o tecido, seja anel, tira transversa ou tira helicoidal, sempre exibiu relaxamento à ACh, e considerou-se a possibilidade de que a fricção da superfície íntima houvesse removido células endoteliais. Demonstramos, aqui, que o relaxamento pela ACh de preparações isoladas de aorta torácica de coelho e outros vasos sanguíneos requer a presença de células endoteliais, e que a ACh, atuando em receptores muscarínicos dessas células, estimula a liberação de substância(s) que causa(m) relaxamento da musculatura lisa vascular. Nós propomos que este pode ser um dos principais mecanismos da vasodilatação induzida 'in vivo' pela ACh. Relatos preliminares sobre esses aspectos do trabalho têm sido mostrados em outros locais".

São curiosas e merecem destaque histórico as dificuldades que o Dr. Furchgott teve para divulgar esse achado de capital importância, cuja publicação na "Nature" deve estar entre as mais citadas nas últimas décadas. Essas dificuldades foram, posteriormente, relatadas pelo Dr. Furchgott, em meados da década de 90, antes da premiação Nobel. Os que conhecem pessoalmente a simpatia e a humildade do Dr. Furchgott não enxergarão no depoimento abaixo revanchismo ou mágoa, mas é, sem dúvida alguma, uma lição para todos aqueles em que a soberba, a vaidade ou a incapacidade de entendimento do novo possam prejudicar a salutar troca de informação científica. As cartas dos revisores e do editor da "Nature", seguramente, são, ou seriam, valiosos documentos históricos. Pena que, provavelmente, nunca serão divulgadas, se é que o Dr. Furchgott não as jogou no lixo.

"O primeiro rascunho do trabalho titulado 'The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine' foi submetido para publicação no jornal 'Nature' em abril de 1980. Não havia a intenção da aceitação

imediate para publicação. Um dos dois revisores do trabalho expressou considerável dúvida sobre a validade dos nossos procedimentos experimentais e conclusões. Após considerar os comentários dos revisores e do editor, eu revisei o trabalho e em julho de 1980 retornei-o, com uma longa resposta às críticas do revisor cheio de dúvidas. O editor então escreveu-me, no início de agosto de 1980, para dizer que o trabalho poderia ser publicado na 'Nature', desde que fosse encurtado. Mencionou que 'o presente manuscrito é ainda bastante discursivo e anedótico e na nossa opinião poderia ser beneficiado se fosse escrito em estilo mais sucinto, como uma carta à Nature'. Como editor daquela revista, ele estava certo em aconselhar-me, e eu segui seu conselho na realização da revisão final do trabalho, o qual foi publicado em novembro de 1980."

Postulou-se, então, a existência de um fator relaxante derivado do endotélio, que, em 1982, foi denominado de "endothelium-derived relaxing factor" — EDRF (essa sigla será mantida por tratar-se de uma denominação universal altamente difundida). Nesses trabalhos pioneiros, determinou-se que o EDRF não era um prostanóide, pelo fato de que a indometacina, um bloqueador da via ciclooxigenase, não inibia o relaxamento dependente do endotélio produzido pela acetilcolina e por uma série de outros agonistas, tais como ADP, serotonina, histamina e muitos outros. Determinou-se, ainda, que o EDRF era difusível e dependente de íons cálcio. Uma grande contribuição do ponto de vista científico ocorreu em 1985, quando Cocks & Angus foram capazes de cultivar células endoteliais e instalá-las em um circuito de perfusão. Isso permitiu a obtenção de grandes quantidades de EDRF para manipulação bioquímica e farmacológica. Descobriu-se, então, que o relaxamento dependente do endotélio associava-se à elevação de GMP cíclico na musculatura lisa vascular, podendo ser inibido pelo azul de metileno e pela hemoglobina ("sequestrador" ou "scavenger" do EDRF). Descobriu-se, também, que o EDRF podia ser destruído por ânions superóxidos e outros radicais livres, suportando o conceito de que o EDRF, por si só, era um radical. Com o acúmulo de evidências de que o EDRF tinha muitas das características dos nitrovasodilatadores, Furchgott e Ignarro propuseram, independentemente, no quarto simpósio sobre "Mecanismos de Vasodilatação", realizado na Mayo Clinic, em 1986, que o EDRF era o óxido nítrico ("nitric oxide" — NO). Essa reunião científica pode, portanto, ser considerada um marco histórico. Os trabalhos e as idéias desse sim-

pósio foram editados, em 1988, por Paul Vanhoutte, sob o título "Relaxing and Contracting Factors — Biological and Clinical Research". No prefácio desse livro, o Dr. Vanhoutte escreveu:

"A tarefa de ser o editor da primeira monografia cobrindo uma nova área das ciências biomédicas é excitante. Desde o primeiro relato, em 1980, de Furchgott e colegas, sobre as evidências de relaxamento dependente do endotélio em artérias isoladas, existe um sempre crescente número de fisiologistas vasculares e farmacologistas que estão removendo o endotélio para observar seu papel no controle cardiovascular. E quanto mais se observa, mais se descobre. Não é somente a lista de substâncias que podem induzir relaxamentos dependentes do endotélio, mas essas intrigantes células podem também secretar substâncias vasoconstritoras. A habilidade do endotélio de modular o grau de contração da camada muscular lisa subjacente é uma propriedade ancestral da parede do vaso sanguíneo, ilustrando a lógica da natureza, uma vez que as células endoteliais estão situadas na melhor localização estratégica possível para monitorar continuamente as propriedades (químicas ou físicas) do sangue. E mais e mais dados aparecem, sugerindo que em várias doenças cardiovasculares alterações das respostas dependentes do endotélio são um dos primeiros sinais do processo anormal. Dessa forma, a importância das respostas dependentes do endotélio, despertada pela curiosidade intelectual de um dos pioneiros da fisiologia e farmacologia vasculares, é agora reconhecida não somente por cientistas básicos, mas também por todos os interessados nas doenças cardiovasculares".

As pesquisas direcionaram-se, então, no sentido de se determinar como o endotélio produz o radical, e culminaram com a proposição de Palmer e Moncada, que postularam ser a L-arginina a fonte de óxido nítrico sob a ação de uma enzima, a óxido nítrico sintetase. O bloqueio da síntese de NO pelo L-NMMA tornou-se um novo modelo experimental de hipertensão arterial.

Variados sistemas de ensaios biológicos sugeriram a presença de outros fatores vasodilatadores e vasoconstritores, estes englobados sob a sigla de EDCF ("endothelium-derived contracting factor"). Merece destaque o interesse e a firme insistência da escola do Dr. Paul Vanhoutte, embasada em profícua produção científica na Mayo Clinic, durante a década de 80, sobre a importância dos fatores contráteis derivados do endotélio e da existência de outros fatores relaxantes endoteliais diferentes do EDRF/NO. Mui-

tos desses fatores permanecem em situação não muito clara, mas um fator vasoconstritor foi revelado para o mundo como uma peça impressionantemente completa da ciência, publicada em 1988, quando Ynagizawa, Masaki e colegas demonstraram a síntese de um peptídeo de 21 aminoácidos, responsabilizado pela atividade vasoconstritora do sobrenadante de células endoteliais. Eles identificaram a estrutura, sintetizaram o peptídeo, mostraram sua atividade biológica e clonaram e seqüenciaram seu gene, chamando-o de endotelina. Esse peptídeo abriu um leque de pesquisas impressionante, porque agora o mundo científico tinha em mãos uma ferramenta farmacológica vasoconstritora para novos estudos sobre mecanismos da hipertensão arterial, e surgia um real ocupante do outro "prato da balança", que, do ponto de vista fisiológico, deve manter equilíbrio com os fatores relaxantes derivados do endotélio. Em tempo, o Dr. Paul Vanhoutte volta, neste fim de século, a brindar a comunidade científica com a edição de um livro intitulado "EDHF". Trata-se de uma obra que reúne o que há de melhor sobre esse fator não-nítrico de relaxamento derivado do endotélio, sempre ressaltando sua não identidade e a possibilidade da existência de outras substâncias desconhecidas que possam interferir na biologia vascular, e, conseqüentemente, no processo fisiopatológico das doenças cardiovasculares.

O ENDOTÉLIO E A HIPERTENSÃO ARTERIAL

Rudolf Altschul publicou, em 1954, uma monografia pioneira intitulada "Endothelium: Its Development, Morphology, and Pathology". Nesse livro, encontram-se as primeiras teorias ligando o endotélio à hipertensão arterial, ressaltando que "o papel do endotélio na hipertensão tem sido negligenciado pela maioria dos patologistas". Existiam, nessa época, relativamente poucos autores que discutiam a participação do endotélio na hipertensão arterial. Heimberg, na década de 20, pensava que na hipertensão "avermelhada" existia uma alta disposição contrátil do tubo endotelial e dos pericitos (células mesenquimais relativamente indiferenciadas que podem transformar-se em fibroblastos, macrófagos ou células musculares lisas), que ele considerava como primeiro estágio. No segundo estágio, poderia ainda ser uma distinta contração avermelhada do tubo endotelial e pericitos, porém com o início de enfraquecimento do endotélio, reconhecível pela tendência a hemorragias. Acreditava-se que as

hemorragias ocorriam somente se a circulação fosse retardada, e que mais tarde elas ocorreriam por estagnação. Em um terceiro estágio, poderia ocorrer diminuição da contração "avermelhada" do tubo endotelial e, em menor grau, do sistema pericito. A "fraqueza" endotelial acentuasse, aumentando a tendência para hemorragias. Essa fraqueza endotelial indica, em geral, mau prognóstico.

Wendt, na década de 40, explicava o aumento da pressão arterial na hipertensão essencial como um distúrbio da permeabilidade. Em idades avançadas, no diabetes e na poliglobulia, a permeabilidade endotelial estaria diminuída e os efeitos clínicos seriam compensatórios. Na hipertensão, de acordo com Heimberger, ocorreria diminuição da permeabilidade à água; no diabetes, diminuição da permeabilidade à glicose; e na poliglobulia, diminuição da permeabilidade ao oxigênio. Pontos de vista semelhantes foram apresentados por Bartels, Kimmestiel, Vanotti e Müller nessa mesma década. Outros autores, como Smirnova-Zamkova e Melnitschenko, afirmaram que a hipertensão seria, primariamente, devida a uma alteração da membrana filtrante dos capilares, ou, em outras palavras, aumento numérico e de adesão juntamente com células argentofílicas. Acreditava-se que isso ocorresse, em particular, na nefroesclerose, opinião manifestada anteriormente por McGregor. O aumento pronunciado da membrana basal na nefrose lipóide e nas toxemias da gravidez foi descrito por Bell. Scheinker descreveu alterações dos capilares e arteríolas cerebrais nos estágios precoces da hipertensão arterial, alterações essas que acreditava ser uma forma especial de arteriopatologia hipertensiva, acompanhada de hipertrofia e hiperplasia das células endoteliais. Esses são, provavelmente, os primeiros trabalhos que relacionaram a hipertensão arterial à disfunção endotelial.

A consulta da literatura médica clássica das primeiras três décadas do século 20 demonstra textos interessantes sobre o tratamento da hipertensão arterial, como se lê, por exemplo, na segunda edição do clássico alemão "Tratado de Patologia Médica", editado na Alemanha por Bergmann e outros, na década de 30:

"No tratamento da hipertensão, os medicamentos hipotensores desempenham grande papel. Entretanto, é possível que, mediante seu emprego, haja alterações grosseiras de mecanismos reguladores importantes. O melhor será evitar os medicamentos que atuam muito intensa e rapidamente. São recomendáveis a diuretica (sa-

licilato de sódio e teobromina) em comprimidos de 0,5 g (um comprimido três vezes por dia após as refeições) e também o iodo. A sangria está indicada em muito poucos casos, e em pacientes pletóricos ou descompensados. Os nitritos são medicamentos hipotensores de ação intensa: pode-se prescrever, por exemplo, em forma de mistura nítrica de Lauder-Brunton: bicarbonato de sódio + nitrato de sódio 10,0 g + nitrito de sódio 0,5 g, uma polegada em água, duas vezes por dia. Pode-se empregar, também, o nitroescleran (sal de ácido nítrico), que pode ser administrado por ingestão ou em forma de injeções (ampolas de 0,02 a 0,1 g), lentamente. Prescreve-se, frequentemente, Pacyl, um derivado da colina, na dose de 2 a 3 comprimidos por dia. A colina é, de certo modo, antagonista da adrenalina e estimula o sistema parassimpático. No entanto, as diminuições da pressão arterial conseguidas com esse derivado da colina são muito fugazes. Sem dúvida nenhuma, o mais importante na terapêutica da hipertensão é o tratamento geral. Muito recomendável é a utilização de medicamentos que diminuem a excitabilidade do sistema nervoso, como brometos, adalian (0,1 g três vezes por dia), luminal (0,1 g uma ou duas vezes por dia). Sua administração deve ser feita ao longo do tempo em forma de cura sistemática”.

É clara, já nessa época, a utilização de nitratos e nitritos como vasodilatadores na hipertensão arterial. A acetilcolina, cuja ação viria a desempenhar papel fundamental no estabelecimento do papel parácrino do endotélio no controle do tono vascular, era considerada um antagonista direto da adrenalina. Quando se toma conhecimento de medicações como o derivado da colina Pacyl, mencionado anteriormente, os elos entre endotélio, EDRF, óxido nítrico e hipertensão arterial aparecem de maneira muito clara.

PRIMEIRAS OBSERVAÇÕES RELACIONANDO ENDOTÉLIO, EDRF/NO E HIPERTENSÃO ARTERIAL

Como os 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 hipertensos. O aumento da densidade de organelas citoplasmáticas e bandas microfilamentares associado ao aumento do volume da célula

endotelial são achados precoces na hipertensão. Enquanto um endotélio intacto é preservado, nota-se aumento na razão de replicação associado a aumento da permeabilidade da íntima e aumento 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 sob a ação da acetilcolina e ao ionóforo do cálcio A23187 e vasos de resistência em ratos geneticamente hipertensos, enquanto o relaxamento independente do endotélio ao nitroprussiato de sódio mostrava-se inalterado. Existem evidências de que o comprometimento dos relaxamentos dependentes do endotélio sejam secundários à hipertensão e não uma etiologia desta: 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 hipertensão; e c) a disfunção endotelial pode ser revertida com a terapêutica anti-hipertensiva. Esse conceito é amplamente apoiado em dados obtidos em animais com coarctação 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 colaboradores sugerem que o comprometimento dos relaxamentos dependentes do endotélio à acetilcolina em aortas de ratos SHR não se deve ao comprometimento da liberação de EDRF, 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 EDRF, a acetilcolina estimula a produção de um fator contrátil lábil dependente da via ciclooxigenase, possivelmente a prostaglandina H_2 .

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

Em adição, o ânion superóxido produz aumento da constrição da aorta de animais hipertensos, que pode ser mediado por um receptor da prostaglandina H_2 .

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 ou diferente de disfunção endotelial. Vanhoutte e colaboradores sugerem dois padrões da disfunção endotelial na hipertensão arterial, conforme a etiologia no modelo experimental seja induzida por sal ou geneticamente induzida. 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 EDRF parece estar relacionada ao comprometimento do relaxamento. A hipótese de que a diminuição da produção de EDRF 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 papel no tono vascular aumentado na hipertensão arterial.

Como já foi dito, citar nomes na evolução de uma História recente é uma árdua tarefa nestes tempos de globalização das informações, uma vez que um levantamento bibliográfico, tão amplo quanto possível, mostra uma infinidade de trabalhos contemporâneos. As principais idéias que ficam são: 1) o endotélio tem papel fundamental na regulação parácrina do tono vascular; 2) existe disfunção endotelial na hipertensão arterial; e 3) a "palavra" final sobre os mecanismos endoteliais nos diversos tipos de hipertensão arterial ainda não foi dada, sendo certo que existem mecanismos diferentes de acordo com o tipo de hipertensão. Neste quesito (endotélio — EDRF/NO — hipertensão arterial) saltam à vista vários nomes, principalmente dos doutores Paul Vanhoutte e Thomas Lüscher, que têm editado o maior número de monografias, permanecendo um clássico o esquema em que existem pelo menos dois mecanismos endoteliais diferentes quando se comparam os dados experimentais das hipertensões essencial e induzida por sal. (Figura 2).

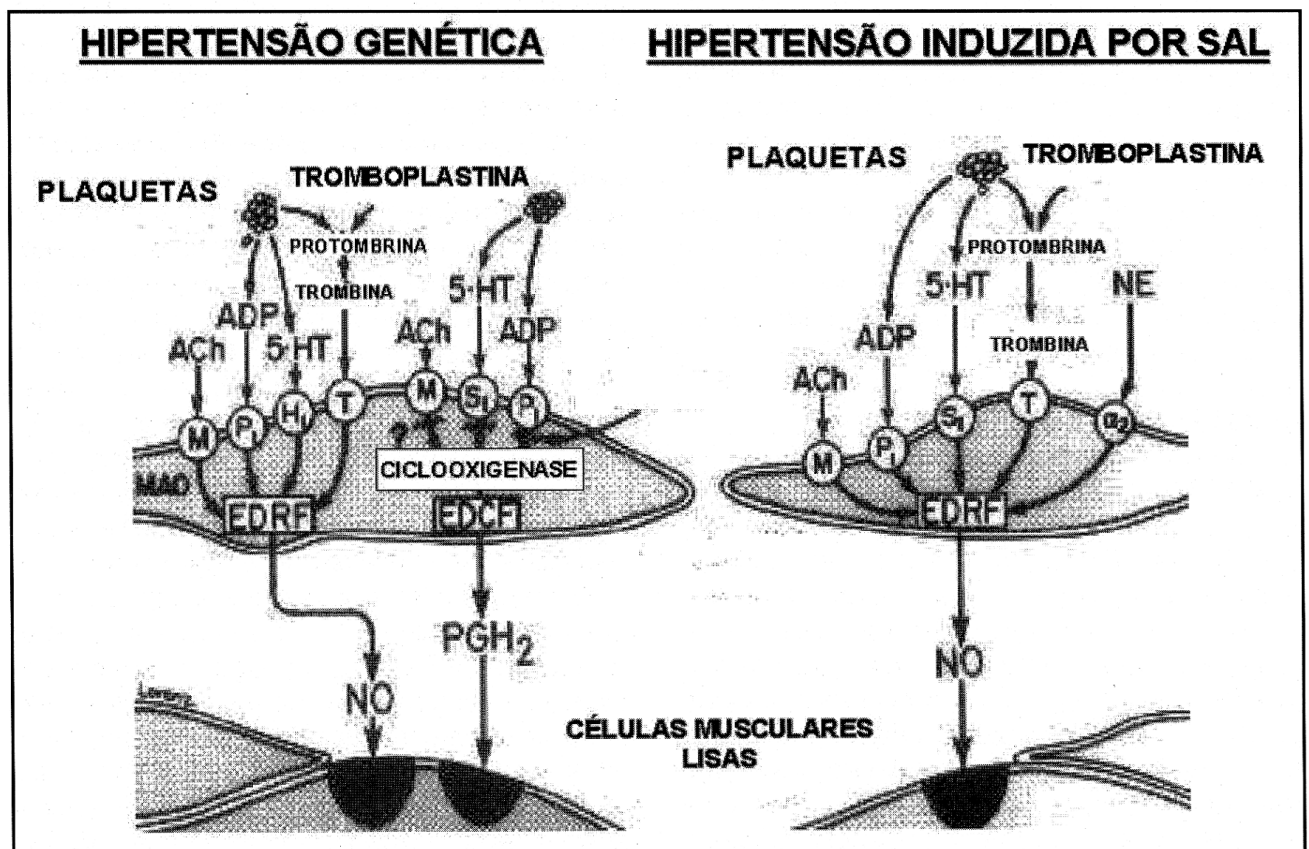


Figura 2. Mecanismos diferentes de disfunção endotelial na hipertensão genética e na hipertensão induzida por sal (adaptado de Lüscher e Vanhoutte, 1988).

CONCLUSÃO

Como já apresentado em outros textos, nunca é demais ressaltar a citação o Dr. Salvador Moncada ("Paul Dudley White International Lecture", "Scientific Sessions of the American Heart Association", realizada em Anaheim/Califórnia — Novembro de 1991):

"O estado normal do sistema cardiovascular é o de constante e ativa vasodilatação. Se isso é verdade, teremos, então, que rever a fisiologia cardiovascular normal, levando-se em consideração esse tono vasodilatador. Além disso, nos próximos anos, teremos que rever alguns dos nossos conceitos de fisiopatologia. Provavelmen-

te, teremos que, inclusive, mudar o nome de algumas afecções; por exemplo, hipertensão poderá ser mais bem descrita como hipovasodilatação".

Do ponto de vista científico e histórico, essa citação é clássica e define, perfeitamente, o que representam as pesquisas sobre o endotélio vascular no cenário científico internacional. Dado seu aspecto futurista e sua abrangência, a citação é sempre útil para se iniciar ou encerrar uma discussão relacionada a esse palpitante assunto sobre a importância da função endotelial.

Finalmente, a inclusão da tradução do Boletim do Instituto Karolinska, concedendo o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia de 1998, é pertinente para concluir este texto.

PRÊMIO NOBEL DE FIOLOGIA E MEDICINA DE 1998

Instituto Karolinska, 12 de Outubro de 1998

A Assembléia Nobel realizada hoje no Instituto Karolinska decidiu conceder o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina a

ROBERT F. FURCHGOTT,

LOUIS J. IGNARRO E

FERID MURAD

por suas descobertas relativas a:

"O óxido nítrico como molécula sinalizadora no sistema cardiovascular"

Resumo

O óxido nítrico (NO) é um gás que transmite sinais no organismo. A transmissão de sinal por um gás, que é produzido por uma célula, penetra através de membranas e regula a função de outra célula, representa um princípio totalmente novo de sinalização em sistemas biológicos. As descobertas do NO como molécula sinalizadora foram agraciadas com o Prêmio Nobel deste ano.

Robert F. Furchgott, farmacologista em Nova York, estudou o efeito de drogas em vasos sanguíneos, mas sempre encontrou resultados contraditórios. A mesma droga algumas vezes causava contração e em outras ocasiões, dilatação. Furchgott ponderou que essa variação poderia depender de as superfícies celulares (endotélio), dentro dos vasos, estarem intactas ou lesadas. Em 1980, demonstrou, em um experimento engenhoso, que a acetilcolina dilatava os vasos sanguíneos somente se o endotélio estivesse intacto. Concluiu que os vasos sanguíneos dilata-

vam porque as células endoteliais produziam uma molécula sinalizadora desconhecida que relaxa a célula muscular lisa vascular.

Ferid Murad, médico e farmacologista agora em Houston, analisou como a nitroglicerina e os vasodilatadores semelhantes atuam, descobrindo, em 1977, que liberavam óxido nítrico, o qual relaxa a musculatura vascular. Estava fascinado pelo conceito de que um gás poderia regular importantes funções celulares e especulou que fatores endógenos, como os hormônios, poderiam também atuar por meio do óxido nítrico. Entretanto, não havia evidência experimental para suportar essa idéia àquela época.

Louis J. Ignarro, farmacologista em Los Angeles, participou do desafio de descobrir a natureza química do fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF, "endothelium derived relaxing factor"). Realizou brilhantes séries de análises, concluindo, em 1986, junto com e independentemente de Robert Furchgott, que o NO era idêntico ao EDRF. O problema estava resolvido e o fator endotelial de Furchgott, identificado.

Quando Furchgott e Ignarro apresentaram suas conclusões em uma conferência, em Julho de 1986, iniciou-se uma avalanche de atividades de pesquisa em muitos laboratórios em todo o mundo. Essa foi a primeira descoberta de que um gás pode atuar como molécula sinalizadora no organismo.

Base científica

O óxido nítrico protege o coração, estimula o cérebro, mata bactérias, etc.

Foi uma sensação o fato de que essa simples molécula, poluidora comum do ar ambiente, que se forma quando o nitrogênio se queima, como, por exemplo, quando automóveis exalam fumaça, poderia exercer funções importantes no organismo. É particularmente surpreendente, uma vez que o NO é totalmente diferente de qualquer outra molécula sinalizadora e tão instável que é convertida em nitrato e nitrito dentro de 10 segundos. Sabia-se que o NO era produzido em bactérias, mas não se esperava que essa simples molécula pudesse ser tão importante em animais maiores como os mamíferos.

Vários resultados de pesquisas confirmaram, rapidamente, que o NO é uma molécula sinalizadora de importância chave para o sistema cardiovascular, e que também exerce uma série de outras funções. Sabe-se que o NO atua como molécula sinalizadora no sistema nervoso, como uma arma contra as infecções, como um regulador da pressão arterial e como uma ponte responsável pelo fluxo sanguíneo entre diferentes órgãos. O NO está presente na maioria dos seres vivos e é produzido por diferentes tipos de células.

Quando o NO é produzido por uma camada interna das artérias, o endotélio espalha-se rapidamente através de membranas celulares para as células musculares subjacentes. Sua contração é bloqueada pelo NO, resultando em dilatação das artérias. Desse modo, o NO controla a pressão arterial e sua distribuição, além de prevenir a formação de trombos.

Quando o NO é formado nas células nervosas, ele se espalha rapidamente em todas as direções, ativando todas as células em sua vizinhança. Isto pode modular muitas funções, desde o comportamento até a motilidade gastrointestinal.

Quando o NO é produzido por glóbulos brancos (como os macrófagos), enormes quantidades são liberadas e tornam-se tóxicas para bactérias e parasitas invasores.

Importância na Medicina atual e futura

Coração

Na arteriosclerose, o endotélio tem sua capacidade de produzir NO diminuída. Entretanto, o NO pode ser fornecido pelo tratamento com nitroglicerina. Grandes esforços no descobrimento de drogas têm por objetivo, atualmente, gerar drogas cardiovasculares mais potentes e seletivas,

com base no conhecimento do NO como molécula sinalizadora.

Choque

Infecções bacterianas podem levar a sepse e choque circulatório. Nessa situação, o NO representa um papel muito importante. Células sanguíneas brancas reagem aos produtos bacterianos, liberando enormes quantidades de NO que dilatam os vasos sanguíneos. A pressão arterial cai e o paciente pode tornar-se inconsciente. Nessa situação, inibidores da síntese do NO podem ser úteis no tratamento intensivo.

Pulmões

Pacientes de cuidados intensivos podem ser tratados pela inalação gasosa de NO. Isso tem gerado bons resultados e mesmo salvo vidas. Por exemplo, o NO inalado tem sido usado para reduzir perigosas hipertensões pulmonares de recém-natos. Mas as doses do gás são críticas, uma vez que pode ser tóxico em doses altas.

Câncer

Células sanguíneas brancas usam o NO não só para matar agentes infecciosos, como bactérias, fungos e parasitas, mas também para defender o organismo contra tumores. Cientistas estão atualmente testando se o NO pode ser usado para parar o crescimento de tumores, uma vez que o gás pode induzir morte celular programada (apoptose).

Impotência

O NO inicia a ereção do pênis pela dilatação dos vasos sanguíneos dos corpos eréteis. Esse conhecimento já levou ao desenvolvimento de novas drogas contra a impotência.

Análises diagnósticas

Doenças inflamatórias podem ser reveladas pela análise da produção de NO, por exemplo, pelos pulmões e intestinos, sendo utilizado para diagnosticar asma, colite e outras doenças.

O NO é importante para o senso olfatório e nossa capacidade de reconhecer diferentes cheiros. Pode ser importante até para a nossa memória.

Nitroglicerina

Alfred Nobel inventou a dinamite, um produto no qual a capacidade de explosão da nitroglicerina é controlada por ser absorvida em um tipo de solo poroso rico em conchas e diatomáceas ("kieselguhr").

Quando Nobel foi acometido de doença cardíaca, seu médico prescreveu nitroglicerina. Nobel recusou-se a tomá-la, sabendo que causava cefaléias, e afastou a possibilidade de que a nitroglicerina pudesse eliminar a dor torácica. Em uma carta, Nobel escreveu: "...é irônico que meu

médico, agora, me recomende tomar nitroglicerina". Os efeitos benéficos da nitroglicerina contra a angina são conhecidos desde o século passa-

do; entretanto, foram necessários 100 anos até se descobrir que a nitroglicerina age pela liberação do gás NO.

Muitos não entenderam a ausência de outros nomes na premiação, principalmente do Dr. Salvador Moncada e mesmo do Dr. Paul Vanhoutte, pesquisadores de extrema importância nesse campo de pesquisa. Parece-nos que não foi o óxido nítrico "per se" o motivo da premiação, mas o fato de ele ser um gás difusível que representa um novo mecanismo de sinalização, exercendo controle local do tono vascular por ação parácrina. Além disso, os membros do Instituto ressaltam a curiosidade histórica de que Alfred Nobel, descobrindo a nitroglicerina, foi, na realidade, o precursor desse fantástico capítulo científico.

Considerando-se: 1) que a idéia original do

Editor era "Do descobrimento do papel do endotélio na gênese e sustentação da hipertensão arterial sistêmica" e que, com sua anuência, foi ampliada para "Laços históricos entre circulação sanguínea, endotélio e hipertensão arterial"; 2) que os inibidores da enzima conversora da angiotensina parecem, no momento, ser as drogas mais lógicas a beneficiar a função endotelial no tratamento da hipertensão; e 3) que essas drogas, além de inibir a enzima conversora da angiotensina, evitam a inativação da bradicinina, não poderia faltar uma menção à escola de Ribeirão Preto, capitaneada por Maurício Rocha e Silva, Sérgio Henrique Ferreira e Eduardo Moacyr Krieger.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bergmann GV, Doerr R, Eppinger H, et al. Enfermedades de los vasos. In: Tratado de Patología Médica. 2ed. Barcelona: Editorial Labor S.A.; 1936. p.410.
- Jimenez Diaz C. Algunos problemas de la patología interna. Madrid: Editorial Paz Montalvo; 1953.
- Altschul R. Endothelium. Its Development, Morphology, Function, and Pathology. New York: The MacMillan Company; 1954.
- Singer C, Underwood EA. A Short History of Medicine. 2ed. New York: Oxford University Press; 1962.
- Thorgeirsson G, Robertson AL. The vascular endothelium — pathobiologic significance. Am J Path 1978;93(3):803-48.
- Fishman AP. Endothelium. Annals of the New York Academy of Sciences, v. 401. Symposium on Endothelium, New York Academy of Sciences, May 19-21, 1982.
- Vanhoutte PM. Relaxing and Contracting Factors. Biological and Clinical Research. Clifton, NJ: The Humana Press Inc.; 1988.
- Évora PRB. O impacto científico da descoberta do óxido nítrico como vasodilatador e anti-trombótico endógeno (Editorial). Arq Bras Cardiol 1993;61:3-5.
- Lüscher T. The Endothelium in Cardiovascular Disease. Berlin/Heidelberg/New York: Ed. Springer-Verlag; 1995.
- Évora PRB, Pearson PJ, Discigil B, Schaff HV. Aspectos históricos e fisiologia da função endotelial. Primeiras idéias relacionando o endotélio com a hipertensão arterial. Rev Bras Hipertens 1995;2:8-20.
- Évora PRB, Pearson PJ, Discigil B, Seccombe JF, Oeltjen M, Schaff HV. Óxido nítrico e substâncias vasoativas derivadas do endotélio: papel no controle do tônus vascular. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 1996;6:129-37.
- Born JVR, Schwartz CJ. Vascular Endothelium. Physiology, Pathology and Therapeutic Opportunities. Stuttgart/New York: Ed. Schattauer, New Horizon Series; 1997.
- Webb D, Vallance P. Endothelial Function in Hypertension. Berlin/Heidelberg/New York: Ed. Springer-Verlag; 1997.