

Medicinski fakultet, Niš
 Institut za farmakologiju sa toksikologijom¹
 Medicinski fakultet, Beograd
 Institut za farmakologiju, toksikologiju i kliničku farmakologiju²

Pregledni članak
 Review article
 UDK 615.22:612.014.2
 DOI: 10.2298/MPNS0608335P

DISFUNKCIJA ENDOTELA: MEHANIZMI NASTANKA I TERAPIJSKE MOGUĆNOSTI

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION: MECHANISMS OF DEVELOPMENT AND THERAPEUTIC OPTIONS

Srdan PEŠIĆ¹, Miroslav RADENKOVIĆ² i Leposava GRBOVIĆ²

Sažetak - Endotel krvnih sudova ima jednu od ključnih uloga u održanju homeostaze u kardiovaskularnom sistemu i to lučenjem endotel-zavisnih relaksantnih i kontraktilnih supstancija u jednom dinamički, ravnotežnom odnosu. Poremećaj lučenja relaksantnih faktora, uz istovremeno povećanje sinteze i lučenja kontraktilnih, naziva se disfunkcija endotela i ima inicijalnu ulogu u nastanku ateroskleroze. Ovakva promena praćena je čitavim nizom događaja, koji uključuju hipertrofiju zida krvnog suda, adheziju i agregaciju trombocita i klinički rezultiraju nastankom hipertenzije, infarkta ili šloga. Terapija endotelne disfunkcije je do sada bila usmerena na otklanjanje faktora rizika (hipertenzija, šećerna bolest, pušenje, hiperholesterolemija, pojačana fizička aktivnost, nadoknada estrogena i dr.). Danas se intenzivno istražuju lekovi koji bi mogli zaustaviti endotelnu disfunkciju i tako sprečiti nastanak opasnih kliničkih komplikacija. Čitav niz novih, ali i starijih preparata, kojima je otkriveno novo protektivno dejstvo za endotel, danas se uvode u praksu sa ciljem popravljivanja disfunkcije.

Ključne reči: Vaskularni endotel; Blokatori kalcijumskih kanala; Terapija lekovima; Inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima; Antioksidansi

Disfunkcija endotela

Od potpunog naučnog nihilizma u shvatanju fiziološke uloge endotela krvnih sudova do savremenog načnog koncepta nije prošlo mnogo vremena. Naime, sve do šezdesetih godina prošlog veka se smatralo da je endotel samo fizička barijera između zida krvnog suda i cirkulišuće krvi, bez ikakve fiziološke uloge. Prvu hipotezu o mogućem fiziološkom značaju endotela je postavio lord Florey tek 1966. godine. Po ovoj hipotezi, endotel u vidu celofanskog omotača oblaže krvne sudove iznutra i tako ih štiti od štetnih uticaja iz cirkulišuće krvi. Naučna era u shvatanju funkcije endotela, praktično počinje tek 1980. godine otkrićem Furchgotta i Zawadzskog [1] da se u endotelnim ćelijama stvara neka supstanca koja može da relaksira glatkomišićne ćelije krvnih sudova. Oni su ovu supstanciju nazvali EDRF (*Endothelium-Derived-Relaxing-Factor*), ne poznajući njenu hemijsku strukturu, ali su svojim otkrićem otvorili vrata za dalja intenzivna i mnogobrojna istraživanja na polju uloge endotela u održavanju tonusa krvnih sudova.

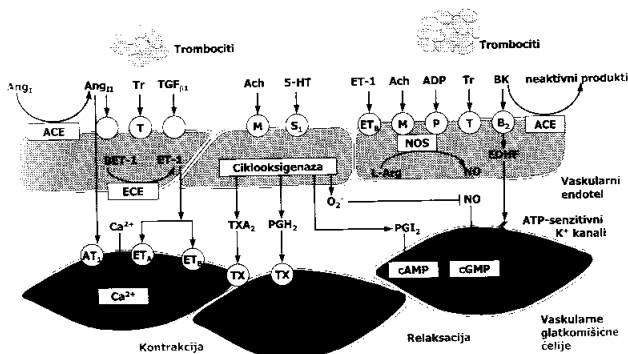
Danas je opšteprihvaćeno da je vaskularni endotel jedan dinamički autokrini i parakrini organ, koji igra glavnu ulogu u lokalnoj regulaciji vaskularnog tonusa, i to oslobađanjem vazodilatatornih (NO, prostaciklin, EDHF, CNP) i vazokonstriktorih (TxA₂, slobodni radikali, endotelini) supstancija i da može biti uključen u etiopatogenezu većeg broja kardiovaskularnih oboljenja. Zahvaljujući svojoj strateškoj lokalizaciji između cirkulišuće krvi i vaskularnog zida, endotel dolazi u dodir sa celularnim i humoralnim medijatorima i na taj način održava vaskularnu homeostazu, regulišući lokalni celularni rast, molekularni transport, koagulaciju, normalno kretanje leukocita kroz krvne sudove i druge važne procese. Kao odgovor na dejstvo mno-

gobrojnih endogenih supstancija (acetilholin, bradikinin, adenozin, ATP, histamin, dopamin, arahidonska kiselina, supstanca P, serotonin i dr.) u endotelnim ćelijama se sintetišu i iz njih oslobađaju endotel-zavisni faktori relaksacije (NO, prostaciklin, EDHF). Učešće pojedinog endotel-zavisnog faktora u relaksaciji izazvanoj nekom od vazodilatatornih supstancija zavisi od tipa stimulusa, veličine i tipa krvnog suda i uslova u kojima se ovaj proces odvija. Sa druge strane neke endogene supstancije dovode do oslobađanja endotel-zavisnih kontraktilnih faktora (superoksidni anjon, vazokonstriktorni prostanoidei, endotelini i dr.) iz endotelnih ćelija. Stalno postojanje jedne dinamičke ravnoteže u oslobađanju endotel-zavisnih kontraktilnih i relaksantnih faktora održava vaskularni tonus u određenoj fiziološkoj situaciji (Slika 1). Svaka promena ove ravnoteže u smislu dugotrajnog poremećaja njegove funkcije naziva se disfunkcija endotela.

Termin "disfunkcija endotela" je upravo i bio uveden u naučnu literaturu da bi se označile prethodno opisane promene. Iako je ovaj termin, verovatno, nedovoljno precizan u objašnjavanju događanja u endotelu, on je danas u širokoj upotrebi. Mehanizam razvoja disfunkcije endotela u različitim oboljenjima je komplikovan i praćen učešćem mnogih faktora, od kojih dominiraju brojni faktori rizika koji dovode do povećanja oksidativnog stresa u vaskularnom endotelu, praćenog sniženjem antioksidativnog kapaciteta vaskularnog zida. Na osnovu retrogradne analize može se pretpostaviti da je za razvoj endotelne disfunkcije potrebno da faktori rizika za kardiovaskularne bolesti budu prisutni kod pacijenta u proseku 6,7 godina [2]. Ovi rezultati idu u prilog teoriji da je popravljavanje disfunkcije endotela važan faktor u redukciji broja kardiovaskularnih bolesnika i popravljaju prognoze kod njih.

Skraćenice

- ICAM-1 - intracelularni cirkulišući adhezivni molekul
 VCAM-1 - vaskularni cirkulišući adhezivni molekul
 ADMA - asimetrični dimetilarginin
 eNOS - endogeni inhibitor endotelne NO-sintetaze
 NAD(P)H - nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat
 EDRF - *Endothelium-Derived-Relaxing-Factor*



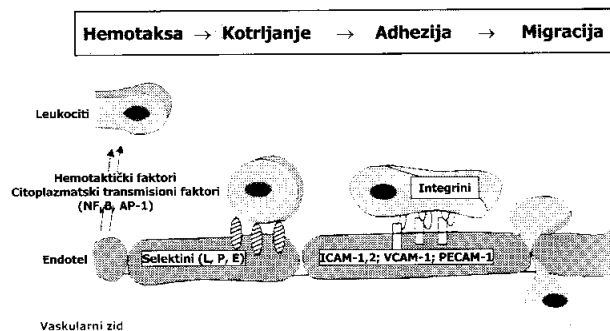
Slika 1. Uloga endotel-zavisnih faktora u regulaciji vaskularnog tonusa (po Lüscheru i Bartonu, 1997)

Fig. 1. The role of endothelial-derived factors in the regulation of the vascular tone (Lüscher and Barton, 1997)

Eksperimentalna i klinička istraživanja disfunkcije endotela

Veliki broj eksperimentalnih radova je potvrdio hipotezu da verovatno najvažniju ulogu u inicijalnim fazama razvoja endotelne disfunkcije ima pojačano sintetisanje i oslobađanje superoksidnih anjona (O_2^-) u endotelnim ćelijama i vaskularnom zidu. Ovakvo stvoreni O_2^- može, s jedne strane direktno inaktivirati NO i tako posredno pojačati dejstvo endotel-zavisnih kontraktilnih faktora, a s druge strane služeći kao supstrat za sintezu H_2O_2 i hidrosilnih radikala, dodatno stimulisati oslobađanje ovih faktora. Činjenica da disfunkcija endotela nastala kod

Adhezija leukocita i njihova migracija u vaskularni zid



Slika 2. Remodeliranje vaskularnog zida kao posledica disfunkcije endotela

Fig. 2. Vascular wall remodeling as a result of endothelial dysfunction

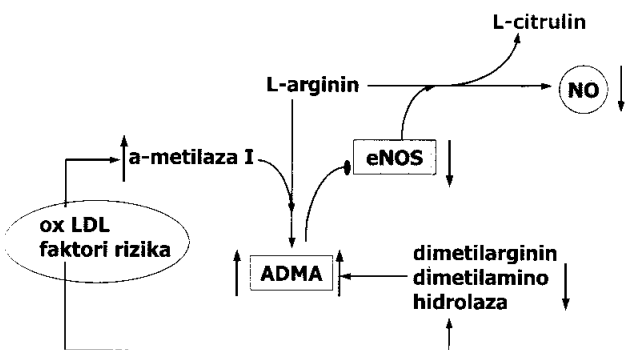
pacijenata sa dokazanom aterosklerozom može biti popravljena primenom superoksid-dismutaze, enzima koji u fiziološkim uslovima kontroliše prekomerno oslobađanje O_2^- , potvrdila je ulogu ovog radikala u nastalim promenama. Pretpostavlja se da je jedan od najvažnijih faktora rizika za razvoj ateroskleroze aktiviranje lokalnog renin-angiotenzin sistema u krvnim sudovima [3]. Povećana koncentracija lokalno oslobođenog angiotenzina-II (Ang-II) posle stimulacije angiotenzinskih AT_1 receptora, dovodi do pojačane aktivnosti NAD(P)H-zavisne oksidaze, enzima za koji se smatra da je najvažniji izvor stvaranja superoksidnih anjona. Ako se ovome doda i eksperimentalno pokazana činjenica da jak oksidativni stres (koji se, na primer, javlja kod pacijenata sa povećanom koncentracijom oksidisanih LDL-lipoproteina) izaziva ushodnu regulaciju angiotenzinskih AT_1 receptora [3], uloga lokalnog renin-angiotenzin sistema u stvaranju superoksidnih anjona dodatno dobija na važnosti. Sintaza superoksidnih anjona kao rezultat aktivacije NAD(P)H-zavisne oksidaze i inaktivacija NO je verovatno najbitniji mehanizam nastanka disfunkcije endotela i u kongestivnoj srčanoj insuficijenciji, kako je to eksperimentalno pokazano [4].

Prihvaćena je pretpostavka po kojoj je jedan od ključnih inicijalnih momenata u nastanku disfunkcije endotela kod pacijenata sa šećernom bolešću pojačana sinteza jednog nuklearnog enzima (poli-(ADP-riboza)-polimeraze-PARP), pa inhibitori PARP-e mogu bar hipotetički dovesti do njenog popravljavanja [5].

Poremećeni odnos u sintezi NO i O_2^- dalje aktivira citoplazmatske transimione faktore (nuklearni faktor kapa B, NkB i aktivacioni protein-1, AP-1), što uzrokuje ubranu ekspresiju adhezionih faktora (selektini L, P i E; intracelularni cirkulišući adhezivni molekul (ICAM-1) i 2. vaskularni cirkulišući adhezivni molekul (VCAM-1) i tromboцитni (PECAM-1) adhezioni molekul i interleukin 8), a to dovodi do gubljenja antiadhezivnog svojstva vaskularnog endotela, adhezije cirkulišućih leukocita i njihovog prodora u subendotelni sloj. Povećanje serumskih koncentracija adhezionih faktora je registrovano kod pacijenata sa anginom pectoris ili aterosklerozom perifernih krvnih sudova [6]. Sve ovo rezultira migracijom makrofaga, pojedinih faktora rasta i proliferacijom glatkih mišićnih ćelija krvnih sudova.

U poslednjih nekoliko godina istraživanja endotelne disfunkcije ukazala su na mogućnost učešća novih mehanizama u njenom nastanku. Tako je kod pacijenata sa hiperholesterolemijom ili aterosklerozom pokazano da L-arginin, donor NO u endotelnim ćelijama, može i alternativno da se metabolise u, na primer, asimetrični dimetilarginin (ADMA), za koji je utvrđeno da je endogeni inhibitor endotelne NO-sintetaze (eNOS) [7]. Osim što može izazvati sintezu endogenih inhibitora NO-sintetaze, povećana koncentracija LDL kod ovih pacijenata inhibiše i enzim (dimetilarginin dimetilamino hidrolaza) koji

inače razgrađuje novonastali inhibitor (ADMA) i tako dodatno sprečava stvaranje NO što može predstavljati ključni mehanizam u nastanku disfunkcije endotela (Slika 3).



Slika 3. Uloga endogenih inhibitora eNOS u nastanku disfunkcije endotela

Fig. 3. The role of endogenous eNOS inhibitors in the development of endothelial dysfunction

Analizom do tada poznatih mehanizama, Mombouli i Vanhoutte su 1999. godine [8] pretpostavili da postoje različiti stepeni i različite forme endotelne disfunkcije, a da je mogući redosled događaja sledeći: 1) poremećaj enotelnih citosolnih proteina; 2) smanjeno oslobađanje NO, prostaciklina i/ili EDHF; 3) povećano oslobađanje prostaglandinskih endoperoksida; 4) povećano stvaranje reaktivnih kiseonikovih radikala; 5) povećano stvaranje ET-1 i 6) smanjena osetljivost vaskularnog glatkog mišića na endotel-zavisne relaksantne faktore.

Ako ovome dodamo još i dokazano angažovanje lokalnog renin-angiotenzin sistema i aldosterona [9], kao i mogućnost nastanka endogenih inhibitora NO-sintetaze, farmakoterapijski koncept popravljivanja poremećene funkcije endotela mogao bi se zasnivati na primeni onih lekova koji mogu imati uticaja na navedene parametre. To su: hipolipemici, ACE inhibitori, Ca antagonisti, estrogen i specifični antagonisti angiotenzinskih AT₁, aldosterinskih i endotelinskih ETA receptora, kao i nefarmakološke procedure: dijeta, prestanak pušenja, pojačana fizička aktivnost, korišćenje L-arginina i antioksidanasa.

Terapijske mogućnosti za popravljivanje disfunkcije endotela

ACE inhibitori

Najveći broj kliničkih studija je posvećen ispitivanju ACE-inhibitora kao potencijalnih lekova za popravljivanje disfunkcije endotela. Imajući u vidu ulogu lokalnog renin-angiotenzin sistema u razvoju disfunkcije endotela logična je i primena ACE inhibitora u pokušaju ponovnog uspostavljanja ili popravljivanja funkcije endotela. ACE inhibitori dovode do smanjene lokalne koncentracije Ang-II, čija je uloga u vazokonstrikciji, stimulaciji oslobađanja

aldosterona i kateholamina, proliferaciji vaskularnog glatkog mišića i hipertrofiji ćelija miokarda dobro poznata. Osim toga, ovi lekovi inhibiraju i kinazu-II, enzim koji je strukturno sličan angiotenzin-konvertirajućem enzimu i odgovoran je za razgradnju bradikina, tako da povišen nivo bradikina popravja endotel-zavisnu relaksaciju. Primena ACE inhibitora sprečava povećano stvaranje superoksidnih anjona i posredno, na taj način povećava sintezu i oslobađanje NO.

Posle dokaza dobijenih dugotrajnom upotrebom kaptoprila u eksperimentalnom modelu srčane insuficijencije na pacovima, postalo je jasno da ACE inhibitori mogu, bar delimično, učestvovati u popravljivanju disfunkcije endotela isključivanjem lokalnog ET-1 puta. Još jedan mogući mehanizam dejstva ovih lekova leži u činjenici da oni mogu ponovo uspostaviti normalno stvaranje hepatocitnog faktora rasta (HGF) čije je lučenje sniženo u nekim patološkim stanjima, a koji je najverovatnije važan protektivni faktor od pojave disfunkcije endotela [10]. Ako ovome dodamo i podatak da fosinopril snižava koncentraciju VCAM-1 [11], može se zaključiti da su mehanizmi kojima ACE inhibitori utiču na funkciju endotela različiti i mnogobrojni. Najnovija istraživanja na životinjskim eksperimentalnim modelima su pokazala da i drugi (ramipril, kvinapril, kaptopril, enalapril) ACE inhibitori značajno popravljaju poremećaj endotel-zavisne relaksacije usled endotelne disfunkcije [12-15].

Poslednjih nekoliko godina započeo je i veći broj opsežnih kliničkih studija radi utvrđivanja mogućnosti popravljivanja endotelne disfunkcije primenom ACE inhibitora. Tako je pokazano da funkcija endotela može biti popravljena posle primene perindopрила kod pacijenata sa hroničnom srčanom insuficijencijom [16], enalapрила kod pacijenata sa dijabetes melitusom tip-II [17], benazeprila kod pacijenata sa hipertenzijom [18] i kvinapрила kod pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću [19].

TREND (Trial on Reversion Endothelial Dysfunction), QASAR (Quinapril Antiischemia and Symptoms of Angina Reduction trial), EUROPA, SCAT (Simvastatin Coronary Atherosclerosis Trial) i PROTECT (Perindopril Regression of Vascular Thickening European Community Trial) studije su pokazale da primena ACE inhibitora značajno popravja disfunkciju endotela kod pušača [20], pacijenata sa ishemijom miokarda i koronarnom bolešću, sa povišenim holesterolom ili sa hipertenzijom [21-23].

Kalcijumski antagonisti

Opsežnim ispitivanjima dejstava Ca-antagonista je utvrđeno da se ona ostvaruju putem modulacije interakcije između endotelinih i glatkih mišićnih ćelija vaskularnog zida. Ovi lekovi mogu smanjiti kontraktilno dejstvo vazokonstrikturnih faktora (Ang-II, ET-1, prostaglandinski endoperoksidi) koji se u disfunkcionalnom endotelu sintetišu u većim

količinama. Oni to pre svega postižu redukcijom ulaznog toka Ca jona i boljim vazodilatatornim efektom NO [24]. Osim ovog "klasičnog" u dejstvo Ca-antagonista mogu biti uključeni i drugi mehanizmi kao što su povećana ekspresija eNOS mRNA [25] ili smanjena ekspresija vaskularnog adhezionog molekula [26]. Smanjujući koncentraciju ET-1 u plazmi bolesnika sa akutnom bubrežnom insuficijencijom, Ca-antagonisti u potpunosti uspostavljaju stanje normalnog renalnog protoka. Povoljni rezultati postignuti su i kod pacijenata posle transplantacije bubrega i onih sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom, jer se smatra da endotelna disfunkcija može biti važan faktor bubrežne insuficijencije [27].

Od svih Ca-antagonista najbolje rezultate u popravljanju endotelne disfunkcije u hipertenziji i u eksperimentalnim modelima i na ljudima pokazao je amlodipin [24], ali i nifedipin i lacidipin [28]. Dobijeni rezultati ispitivanja delotvornosti Ca-antagonista u stanjima sa endotelnom disfunkcijom i činjenica da oni deluju i antioksidantno [29], pokazuju da ovi lekovi mogu biti korisni protektivni agensi u ranim fazama ateroskleroze, ali i drugih stanja kod kojih postoji poremećaj fiziološke funkcije endotela.

Antagonisti AT i ET receptora i direktni aktivatori guanilne ciklaze

Nove perspektive farmakoterapije disfunkcije endotela otvorene su otkrićem specifičnih antagonista angiotenzinskih AT₁ i endotelinskih ETA receptora. Brojna eksperimentalna istraživanja uloge AT₁ antagonista (Bay 10-6734, losartan, valsartan) u popravljanju funkcije endotela su dokazala da oni mogu igrati ključnu ulogu u sprečavanju angiotenzinom-izazvane produkcije superoksidnih anjona u ranom stadijumu ateroskleroze [3,15]. Na osnovu rezultata dobijenih u opsežnoj kliničkoj studiji sa dugotrajnom primenom valsartana kod pacijenata sa hipertenzijom (VALUE, *Valsartane Antihypertensive Long-term Use Evaluation*), zaključeno je da on ima iste antihipertenzivne, ali mnogo bolje protektivne efekte za endotel od vodećeg Ca-antagoniste amlodipina [30].

Slično tome u dugotrajnoj terapiji pacijenata sa hipertenzijom, antagonista endotelinskih ETA/ETB receptora, bosentan, ispoljio je slično dejstvo kao i enalapril [24]. Specifični antagonisti endotelinskih ETA receptora (LU135252) ili se i dalje eksperimentalno ispituju ili su u ranim fazama kliničkih ispitivanja.

Neka jedinjenja mogu direktno aktivirati solubilnu guanilnu ciklazu i na taj način povećati intracelularnu koncentraciju cGMP-a. Jedno takvo jedinjenje je YC-1, koje, nezavisno od NO aktivnosti, povećava koncentraciju cGMP-a, ali istovremeno potencira NO-izazvanu stimulaciju guanilne ciklaze [31]. Ovo je potaklo čitavu seriju istraživanja i

testiranja drugih jedinjenja koja deluju na sličan način, sa ciljem ispitivanja njihove moguće terapijske upotrebljivosti u disfunkciji endotela.

Primena antagonista aldosteronskih receptora, samih ili u kombinaciji sa ACE-inhibitorima može biti korisna u popravljanju vazomotornih poremećaja u hroničnoj srčanoj insuficijenciji [4].

Statini

Važna uloga hiperholesterolemije kao faktora rizika u nastanku disfunkcije endotela predstavlja razlog upotrebe hipolipemika (statina) u pokušaju popravljanja ovog stanja. Dugo je poznato da primena ove grupe lekova može da dovede do popravljanja poremećene funkcije endotela.

U opsežnim kliničkim studijama, kakva je na primer bila WSCP studija (*West of Scotland Coronary Prevention Study*) pokazano je da upotreba statina može popraviti endotelnu disfunkciju i tako značajno redukovati incidenciju infarkta miokarda. Neki od ovih lekova mogu da poprave endotelnu disfunkciju i mehanizmima koji ne uključuju hiperholesterolemijski efekat, kao što je to bilo pokazano za pravastatin kod pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću [32].

Snižavanje koncentracije lipida neće, na žalost, popraviti funkciju endotela kod pacijenata sa loše kontrolisanom šećernom bolešću [33].

Važno je naglasiti da je terapijski uspeh u toku upotrebe statina uslovljen prethodnim stanjem krvnih sudova. Kod pacijenata sa hiperholesterolemijom bez stabilnih aterosklerotskih promena, kod kojih nije došlo do definitivnog remodeliranja mišićnog sloja, moguće je statinima prevenirati trajne posledice endotelijalne disfunkcije. Dugotrajna upotreba ovih lekova izgleda, međutim, da ne popravlja značajno poremećaj koronarne cirkulacije kod pacijenata sa već ustanovljenom koronarnom arterijskom bolešću. Pokazano je takođe da ovi lekovi ne utiču na nivo lipoproteina (a) koji predstavlja nezavisan faktor rizika [34].

Nedavno je pokazano da kod muškaraca sa hiperholesterolemijom i razvijenom koronarnom bolešću ili preležanim infarktom miokarda upotreba statina u toku 6 meseci ne dovodi do značajnog popravljanja poremećene koronarne vazodilatacije [35].

Vrlo je važno naglasiti da rezultati najnovijih istraživanja daju važnu ulogu pokušaju povećanja HDL-holesterola, a sa ciljem popravljanja disfunkcije endotela i prevencije aterosklerotske bolesti. Izgleda da HDL-holesterol, osim što menja način transporta holesterola, prevenira trajne posledice endotelne disfunkcije i, sam po sebi, ima antiinflamatorna, antioksidantna i antitrombotična svojstva. Radi povećanja njegove koncentracije mogu se primeniti različiti antilipemici od kojih se prednost daje statinima, fibratima i nikotinskoj kiselini.

Izgleda da nikotinska kiselina podiže nivo HDL-cholesterola efikasnije nego što to čine statini ili fibrati. Dokazano je da kad se ona primeni u obliku monoterapije dolazi do redukcije incidencije kardiovaskularnih događaja. S druge strane, preliminarne kliničke studije su pokazale da je dodavanje ovog leka pacijentima koji već primaju statine farmakološki i klinički sigurno i da dodatno popravlja poremećaje cirkulacije uzrokovane disfunkcijom endotela. Može se tako zaključiti da ovakav vid terapije može predstavljati važan ateroprotektivni protokol kod pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću ili sa visokim rizikom za njen razvoj [36].

Antioksidansi

Većina faktora rizika za pojavu kardiovaskularnih oboljenja dovodi do jakog oksidativnog stresa usled pojačane produkcije superoksidnih anjona, drugih reaktivnih kiseonikovih radikala i inaktivacije NO. Od kada su prve kliničke studije (CHAOS, *Cambridge Heart Antioxidant Study*) [37] pokazale povoljan terapijski efekat vitamina E kod pacijenata sa koronarnom bolešću, preduzeta su opsežna istraživanja sa ciljem utvrđivanja uloge antioksidanasa u popravljanju endotelne disfunkcije. Korisnost vitamina u popravljanju endotelne disfunkcije pokazana je kod pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću i pušača sa povišenom koncentracijom holesterola u krvi [38]. Slični rezultati dobijeni su i posle dugotrajne primene vitamina C kod pacijenata sa koronarnom bolešću [39]. Kod pacijenata sa familijarnom hiperholesterolemijom dugotrajna terapija folnom kiselinom može popraviti disfunkciju endotela i otkloniti rizik od nastanka ateroskleroze [40]. Dalja ispitivanja sa primenom stobadina [41] i zajedničkom primenom velikih doza vitamina C i E [42] samo su potvrdila opravdanost primene antioksidantnih lekova u otklanjanju disfunkcije endotela ali i pokazala neophodnost opsežnijih i dužih kliničkih studija koje bi tačno definisale njihove mogućnosti.

L-arginin

L-arginin je supstrat za enzim eNOS. Njegovom konverzijom u L-citrulin nastaje NO. Nekoliko radova je pokazalo da aplikacija ovog prekursora NO može da redukuje aterosklerotske promene i disfunkciju endotela na eksperimentalnim modelima. Kasnije sprovedene kliničke studije su potvrdile da primena L-arginina popravlja endotel-zavisnu relaksaciju i kod ljudi. Smatra se da je delotvornost primenu L-arginina bar delimično vezana za kompeticiju između prirodne amino-kiseline i derivata, asimetričnog dimetil L-arginina (ADMA) koji je endogeni inhibitor eNOS aktivnosti [43]. Mora se na ovom mestu, međutim, naglasiti da visoke koncen-

tracije L-arginina u plazmi mogu da dovedu i do niza negativnih efekata kakvi su, na primer, povećanje koncentracije insulina, prolaktina i glukagona kod zdravih osoba ali i onih sa šećernom bolešću ili esencijalnom hipertenzijom [44].

Inhibitori fosfodiesteraze

Fosfodiesteraze su važan enzim u regulaciji intracelijskog nivoa cAMP-a i cGMP-a. Dosadašnja biohemijska i molekularna genetska istraživanja su pokazala da postoji najmanje 11 odvojenih superfamilija ovog enzima, koje su tkivno specifične i različito osetljive na primenu inhibitora. Teorijski gledano neki od inhibitora fosfodiesteraze, kao što je na primer inhibitor PDE V, sildenafil, mogli bi da imaju protektivnu ulogu u toku razvoja disfunkcije endotela, ali za ovo još uvek nema dovoljno kliničkih i eksperimentalnih dokaza.

Beta blokatori

Iako je moguća protektivna uloga ove grupe lekova pod velim znakom pitanja i praćena je kontradiktornim, mora se naglasiti da su neka istraživanja pokazala da je jedan beta blokator, nebivolol, pokazao endotel-protektivna dejstva. Smatra se da se ovaj lek u organizmu metaboliše u jedan metabolit sposoban da, posle simulacije adrenergičkih β_2 receptora, poveća oslobađanje NO-a iz endotelnih ćelija [45]. Još uvek međutim nema direktnih kliničkih podataka koji bi preporučili upotrebu ovog leka u prevenciji i tretmanu disfunkcije endotela.

Organski nitrati

Ovi lekovi deluju direktno na vaskularni zid jer posle enzimске denitracije oslobađaju NO, pa ima logike da bi mogli protektivno delovati u prevenciji endotelne disfunkcije. Iako su neki stariji radovi to zaista i potvrdili, danas se ne može sa sigurnošću govoriti o važnoj ulozi organskih nitrata u terapiji disfunkcije endotela. Verovatno objašnjenje za ovo leži u činjenici da se nitrati ne daju pacijentima duže od 4 do 6 nedelja, što je ipak kratak period za moguću inhibicioni uticaj na progresiju ateroskleroze. Drugi lekovi se ipak upotrebljavaju duže vremena pa ostaje otvoreno pitanje da li primena organskih nitrata u ovako kratkom vremenu može odložiti razvoj ateroskleroze i pomoći u tretmanu disfunkcije endotela.

Ako uzmemo u obzir sve izneto, ali i mogućnost da i drugi nepomenuti lekovi (estrogeni, hidralazin, organski nitrati, L-arginin) mogu popraviti poremećenu funkciju endotela u brojnim patološkim stanjima ili kod pacijenata sa faktorima rizika za razvoj ateroskleroze, možemo zaključiti da su farmakoterapijske mogućnosti ciljane terapije u lečenju disfunkcije endotela mnogobrojne i da se stalno otvaraju nove.

Literatura

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
2. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000;101:1899-906.
3. Warnholtz A, Nickenig G, Shulz E, Macharzina R, Brassen JH, Skatchov M, et al. Increased NADH-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis: evidence for involvement of the renin-angiotensin. *Circulation* 1999;99:2027-33.
4. Bauersachs J, Heck M, Fraccarollo D, Hildemann SK, Ertl G, Wehling M, et al. Addition of spironolactone to angiotensin-converting enzyme inhibition in heart failure improves endothelial vasomotor dysfunction: role of vascular superoxide anion formation and endothelial nitric oxide synthase expression. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:351-8.
5. Pacher P, Liaudet L, Soriano FG, Mabley JG, Szabo E, Szabo C. The role of poly(ADP-Ribose) polymerase activation in the development of myocardial and endothelial dysfunction in diabetes. *Diabetes* 2002;51:514-21.
6. Huo Y, Ley K. Adhesion molecules and atherogenesis. *Acta Physiol Scand* 2001;173:35-43.
7. Kurowska EM. Nitric oxide therapies in vascular diseases. *Curr Pharm Des* 2002;8:155-66.
8. Mambooli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:61-74.
9. Struthers AD. Impact of aldosterone on vascular pathophysiology. *Congest Heart Fail* 2002;80:18-22.
10. Yasuda S, Goto Y, Sumida H, Noguchi T, Baba T, Miyazaki S, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition restores hepatocyte growth factor production in patients with congestive heart failure. *Hypertension* 1999;33:1374-8.
11. Gasic S, Wagner OF, Fasching P, Ludwig C, Veitl M, Kapiotis S, et al. Fosinopril decreases levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 in borderline hypertensive type II diabetic patients with microalbuminuria. *Am J Hypertens* 1999;12:217-22.
12. Linz W, Wohlfart P, Scholkens BA, Malinski T, Wiermer G. Interactions among ACE, kinins and NO. *Cardiovasc Res* 1999;43:549-61.
13. Goetz RM, Holtz J. Enhanced angiotensin-converting enzyme activity and impaired endothelium-dependent vasodilation in aortae from hypertensive rats: evidence for a causal link. *Clin Sci* 1999;97:165-74.
14. Cherrng WJ, Wang CH, Chen SF, Chen JJ, Lee N. The role of endothelin-1 in the aorta of post-infarct left ventricular dysfunction rats treated with captopril. *Chin Med J (Engl)* 1998;111:323-9.
15. Rizzoni D, Agabiti-Rosei E. Endothelial factors and microvascular hypertensive disease. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38(Suppl 2):S15-8.
16. Sami M. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and end-organ damage in heart failure. *Can J Cardiol* 1999;15(Suppl C):19C-23C.
17. O'Driscoll G, Green D, Maiorana A, Stanton K, Colreavy F, Taylor R. Improvement in endothelial function by angiotensin-converting enzyme improvement in endothelial function by angiotensin-converting enzyme inhibition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:1506-11.
18. Nagy L, Tarjan J, Samoczi M, Kovacs I, Takacs J. Effect of benazepril on endothelial function in previously untreated hypertensive patients. The working group of cardiology of the Academic Committee of Veszprem, Hungary. *Am J Ther* 1998;5:233-6.
19. Koh KK, Bui MN, Hathaway L, Csako G, Wacławski MA, Panza JA, et al. Mechanism by which quinapril improves vascular function in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1999;83:327-31.
20. Schlaifer JD, Mancini GB, O'Neill BJ, Pitt B, Haber HE, Pepine CJ. Influence of smoking status on angiotensin-converting enzyme inhibition-related improvement in coronary endothelial function. TREND investigators. Trial on Reversing Endothelial Dysfunction. *Cardiovasc Drugs Ther* 1999;13:201-9.
21. Pepine CJ, Schlaifer JD, Mancini GB, Pitt B, O'Neill BJ, Haber HE. Influence of smoking status on progression of endothelial dysfunction. TREND investigators. Trial on Reversing Endothelial Dysfunction. *Clin Cardiol* 1998;21:331-4.
22. Simoons ML, Vos J, de Feyter PJ, Boots ML, Remme WJ, Grobbee DE, et al. EUROPA substudies. confirmation of pathophysiological concepts. European trial on reduction of cardiac events with perindopril in stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19 (Suppl J): J56-60.
23. Ioannides R, Bizet-Nafeh C, Costentin A, Iacob M, Derumeaux G, Cribier A, et al. Chronic ACE inhibition enhances the endothelial control of arterial mechanics and flow-dependent vasodilatation in heart failure. *Hypertension* 2001;38:1446-50.
24. Schiffrin EL. Endothelin and endothelin antagonists in hypertension. *J Hypertens* 1998;16:1891-5.
25. Kobayashi N, Kobayashi K, Hara K, Higashi T, Yanaka H, Yagi S, et al. Benidipine stimulates nitric oxide synthase and improves coronary circulation in hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1999;12:483-91.
26. Haller H, Ziegler EM, Homuth V, Drab M, Eichhorn J, Nagy Z, et al. Endothelial adhesion molecules and leukocyte integrins in preeclamptic patients. *Hypertension* 1997;29:291-6.
27. Rabelink TJ, Koomans HA. Endothelial function and the kidney: an emerging target for cardiovascular therapy. *Drugs* 1997;53(Suppl 1):11-9.
28. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Sudano I, Salvetti A. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction: clinical implications. *Drugs* 2002;62:265-84.
29. Rathaus M, Bernheim J. Oxygen species in the microvascular environment: regulation of vascular tone and the development of hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:216-21.
30. Julius S. Long-term potential of angiotensin receptor blockade for cardiovascular protection in hypertension: the VALUE Trial. *Cardiology* 1999;91(Suppl.S1):8-13.
31. Stach JP, Becker EM, Alonso-Alija C. NO-independent regulatory site on soluble guanylate cyclase. *Nature* 2001;410:212-5.

32. Masumoto A, Hirooka Y, Hironaga K, Eshima K, Setoguchi S, Egashira K, et al. Effect of pravastatin on endothelial function in patients with coronary artery disease (cholesterol-independent effect of pravastatin). *Am J Cardiol* 2001;88:1291-4.
33. Mansourati J, Newman LG, Roman SH, Travis A, Rafei M, Phillips RA. Lipid lowering does not improve endothelial function in subjects with poorly controlled diabetes. *Diabetes Care* 2001;24:2152-3.
34. Vita JA, Yeung AC, Winniford M, Hodgson JM, Treasure CB, Klein JL, et al. Effect of cholesterol-lowering therapy on coronary endothelial vasomotor function in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;102:846-51.
35. Okura Y, Takao M, Zhang B, Nakashima Y, Saku K. Cardiovascular risk factor profiles and endothelial function in coronary artery disease patients treated with statins. *Hypertens Res* 2004;27:723-9.
36. Wierzbicki AS. Have we forgotten the pivotal role of high-density lipoprotein cholesterol in atherosclerosis prevention? *Curr Med Res Opin* 2005;21:299-306.
37. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge heart antioxidant study (CHAOS). *Lancet* 1996;347:781-6.
38. Heitzer T, Yla Herttuala S, Wild E, Luoma J, Drexler H. Effect of vitamin E on endothelial vasodilator function in patients hypercholesterolemia, chronic smoking or both. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:499-505.
39. Gokce N, Keaney JF Jr, Frei B, Holbrook M, Olesiak M, Zachariah BJ, et al. Long-term ascorbic acid administration reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999;99:3234-40.
40. Verhaar MC, Wever RM, Kastelein JJ, van Loon D, Milstien S, Koomans HA, et al. Effects of oral folic acid supplementation on endothelial function in familial hypercholesterolemia. A randomized placebo-controlled trial. *Circulation* 1999;100:335-8.
41. Sotnikova R, Okruhlicova L, Noskovic P. Endothelial protective effect of stobadine on ischaemia/reperfusion-induced injury. *Gen Physiol Biophys* 1998;17:253-64.
42. Cartier R, Bouchard D. The beneficial effect of natural antioxidants on the endothelial function of regenerated endothelium. *Ann Chir* 1998;52:827-33.
43. Bode-Böger SM, Böger RH, Kienke S, Junker W, Frölich JC. Elevated L-arginine/dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;219:598-603.
44. Böger RH, Bode-Böger SM. The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:79-99.
45. Broeders MAW, Doevendans PA, Bekkers BCAM. Nebivolol: a third generation beta-blockers that augments vascular nitric oxide release and endothelial beta2-adrenergic receptor-mediated nitric oxide production. *Circulation* 2000;102:677-84.

Summary

Introduction

Vascular endothelial cells play a key role in cardiovascular regulation by producing a number of potent vasoactive agents, including the vasodilator molecule nitric oxide (NO) and the vasoconstrictor peptide endothelin (ET).

Endothelial dysfunction

Endothelial dysfunction is recognized as the initial step in the atherosclerotic process. Impairment of NO synthesis, or increased inactivation of NO by superoxide radicals, may account for the increased peripheral vascular tone, as well as contribute to the clinical consequences of different pathophysiological conditions which include vascular hypertrophy, increased platelet and monocyte adhesion to the endothelium, atherosclerosis, myocardial infarction and stroke. To date, most interventions attempting to improve endothelial dysfunction have targeted one or more of the numerous risk factors that can cause endothelial damage: hypertension (ACE inhibitors and calcium antagonists), hypercholesterolemia (lipid-lowering agents), cigarette smoking (cessation), sedentary

lifestyle (increased physical activity), menopause (estrogen replacement therapy), and diabetes mellitus (control of metabolic abnormalities). Several pharmacologic agents have been suggested to achieve vascular protection through mechanisms that go beyond their primary therapeutic actions (ACE and HMG-CoA reductase inhibitors). Beneficial changes to the endothelium might result from promotion of vasorelaxation, inhibition of vasoconstriction, reduction in the production of free radicals, or other mechanisms that protect the endothelium from injury.

Conclusion

This study deals with the results of many experimental and clinical investigations. The possibility of using different classes of drugs was also established, including ACE inhibitors, Ca-antagonists, AT and endothelin receptor antagonists, direct activator of adenylyl cyclase, statins, antioxidants, L-arginine, phosphodiesterase inhibitors, beta-blockers and organic nitrates.

Key words: Endothelium, Vascular; Calcium Channel Blockers; Drug Therapy; Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors; Antioxidants

Rad je primljen 15. III 2004.

Prihvaćen za štampu 24. III 2004.

BIBLID.0025-8105:(2006):LIX:7-8:335-341.