



## Óxido Nítrico, Endotelio y función cardiovascular

El endotelio es un órgano ampliamente distribuido en el organismo, con un peso aproximado de 1.5 kg. y que está profundamente involucrado en múltiples funciones, sintetizando, metabolizando y liberando un número de sustancias que ejercen efectos de modo autocrino, paracrino, o epicrino (Bassenge, 1996). Entre dichas sustancias se destaca el NO, por su papel central y fundamental en varias funciones endoteliales, tales como la regulación del tono vasomotor, la inhibición de la actividad plaquetaria, el mantenimiento del balance entre los procesos de trombosis y fibrinólisis y la regulación del reclutamiento de células inflamatorias dentro de la pared vascular (Vallance y Collier, 1994; Court y col., 2002).

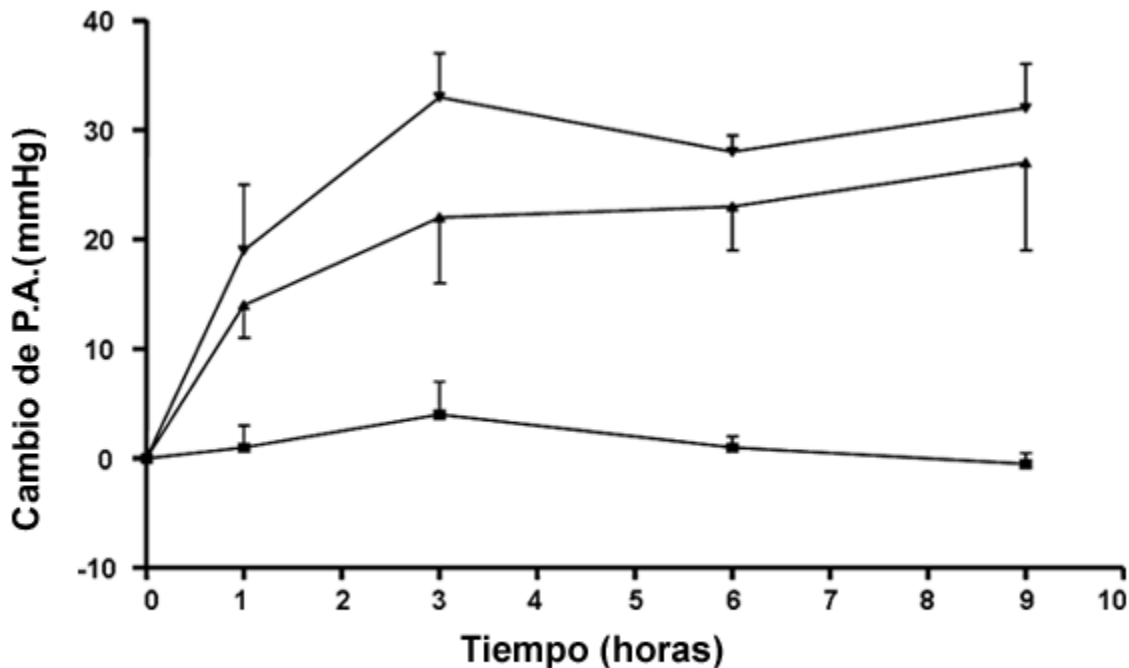
Como ya se explicó, el NO y otros factores endoteliales son continuamente sintetizados y liberados a un nivel denominado "basal"; adicionalmente pueden liberarse en mayor cantidad como consecuencia de la acción de desencadenantes locales o circulantes (bradikina, serotonina, norepinefrina), mediante un proceso de comunicación bioquímica y endocrina; adicionalmente el endotelio responde a señales hemodinámicas, como el incremento del estrés de roce producido por el aumento de la velocidad del flujo sanguíneo; este efecto se observa, por ejemplo, durante la realización de ejercicio, induciendo cambios agudos y crónicos en la producción y liberación de NO (Lamontagne y col., 1992; Nishida y col., 1992), aspecto que será discutido mas adelante.

La alteración del funcionamiento normal del endotelio se ha denominado "disfunción endotelial" y está claramente presente en la hipertensión arterial y en la aterosclerosis, y ha sido implicada en otras patologías como la isquemia miocárdica en pacientes con enfermedad coronaria estable, en el síndrome coronario inestable (López-Jaramillo y col., 1995), y en la diabetes mellitus (Wu y Meininger, 1995). También se ha demostrado que, en ausencia de una función endotelial intacta, o inclusive durante el proceso normal de envejecimiento, la capacidad de sintetizar y liberar NO y otros autacoides endoteliales se ve disminuida, y en consecuencia la capacidad de vasodilatar las arterias se reduce (Vanhoutte, 1991; Raj, 1991).

Se sabe que los incrementos de la presión arterial, bien sean agudos o crónicos producen, entre otras cosas, deterioro del endotelio y cambios morfológicos de la íntima arterial (Luscher y Noll, 1995); durante la hipertensión crónica se produce crecimiento del endotelio hacia el lumen y el engrosamiento del espacio subendotelial; esto podría reducir el acceso del NO derivado del endotelio hacia el músculo liso vascular, lo cual produciría mas hipertrofia e hipertensión (Berrazueta, 1995). Bien sea que el deterioro endotelial sea un fenómeno primario o secundario, está claro que exacerba las anormalidades vasculares y contribuye de modo inequívoco a la patogénesis de la hipertensión.

Son clásicos los experimentos en los cuales al interferir con la síntesis o la acción del NO se logra un incremento de la PA en animales (Breslow y col., 1993; Brady y col., 2002) o en humanos (Gardiner y col., 1990; Vallance, 1998; Huynh y Tayek, 2002) (FIGURA). La inhibición crónica de la producción de NO rápidamente conduce a todas las consecuencias orgánicas de una hipertensión arterial severa, con arteriosclerosis y pérdida de vascularidad en SNC y en riñón (Moncada y col., 1991; Calver y col., 1993; Moncada y Higgs, 1993).

En la clínica, se ha demostrado que existen menores niveles de NO en sujetos normotensos que son hijos de individuos hipertensos (Taddei y col., 1996). Esto sugiere que algún paso del proceso de síntesis o de liberación del NO estaría en parte regulado genéticamente, explicando la causa del mayor riesgo cardiovascular en sujetos con hipertensión familiar. Por otra parte la hipertensión arterial se asocia con otros factores de riesgo, tales como la dislipidemia (MacMahon y col., 1985), la resistencia insulínica (hiperinsulinemia) (Hanson y col., 2002) y la sensibilidad a la sal (Weinberger, 1991).



**Figura 5**  
La presión arterial de animales aumenta de manera dosis dependiente al recibir un inhibidor de la síntesis de NO.

Es importante destacar que la mayoría de los factores de riesgo, como los mencionados anteriormente, no producen síntomas llamativos en los sujetos que los padecen, lo cual dificulta su detección precoz. Por este motivo es necesario informar y educar a la población acerca de la importancia de la prevención, detección temprana y tratamiento adecuado de los factores modificables que incrementan el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular o metabólica. Con esta finalidad, entre otras, se funda el "Centro para la Detección y Tratamiento de Factores Silentes de Riesgo Cardiovascular y Metabólico" (SIL-DETECT), en la Unidad de Farmacología Clínica, de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central Venezuela. Entre los objetivos del estudio, actualmente en desarrollo, se encuentra el de determinar la proporción de sujetos cuya presión arterial sufre cambios según su ingesta de sal (sensibilidad a sal) en una población venezolana adulta aparentemente sana y estudiar, en dichos sujetos, la posible relación entre la sensibilidad a la sal y la producción de NO; los resultados de este estudio se discuten en breve (Cubeddu y col., 2000).

#### **Cambios de la presión arterial en relación con la ingesta de sal: papel del NO**

Desde hace medio siglo se conoce la relación directa entre el consumo de sal, el incremento de la presión arterial y el riesgo de enfermedad cardiovascular (Dahl, 1957; Dahl, 1960). Diferentes estudios epidemiológicos han comparado los niveles de presión arterial sistólica en poblaciones con ingestas bajas y altas en sal. Los resultados han demostrado que existe una mayor incidencia de hipertensión arterial, así como de morbilidad y mortalidad cardiovascular, en poblaciones que consumen alta cantidad de sal (Page y col., 1974; Stamler y col., 1978; MacMahon y col., 1990).

Varios estudios de migración apoyan dichos resultados. Por ejemplo, los sujetos provenientes de poblaciones con dietas tradicionalmente bajas en sal experimentaron incrementos significativos de sus cifras tensionales al migrar a zonas urbanas donde su ingesta de sal fue mayor y comparable a la de los países occidentales (Forte y col., 1989; Carvalho y col., 1989).

Cerca de un 50% de los pacientes con hipertensión arterial y de un 30% de los sujetos normotensos, parecen ser sensibles a los cambios en la ingesta de sal (o "sal sensibles", SS). Esta sensibilidad se manifiesta como aumentos de su presión arterial media (PAM) de al menos 10 mm Hg. durante una dieta de sal de 200 mEq/d (alta sal) en comparación con su PAM durante una dieta de solo 10-20 mEq/d de sal (baja sal). Por otra parte, se considera que un sujeto es "sal resistente" (SR) cuando su PAM experimenta cambios menores de 3 mm Hg al ser sometido a una dieta alta en sal, como la antes descrita (Campese, 1994; Morimoto y col., 1997). Es un hecho que, en comparación con los sujetos hipertensos-SR, los individuos hipertensos-SS tienen mayores incrementos de presión arterial con la edad (Weinberger y col., 1991), tienen una mayor incidencia de hipertrofia ventricular izquierda y de microalbuminuria (Bigazzi y col., 1994; Morimoto y col., 1997; Musiari y col., 1999), así como mayores niveles de marcadores de lesión endotelial (Ferri y col., 1988) y de eventos cardiovasculares fatales y no fatales (Morimoto y col., 1997).

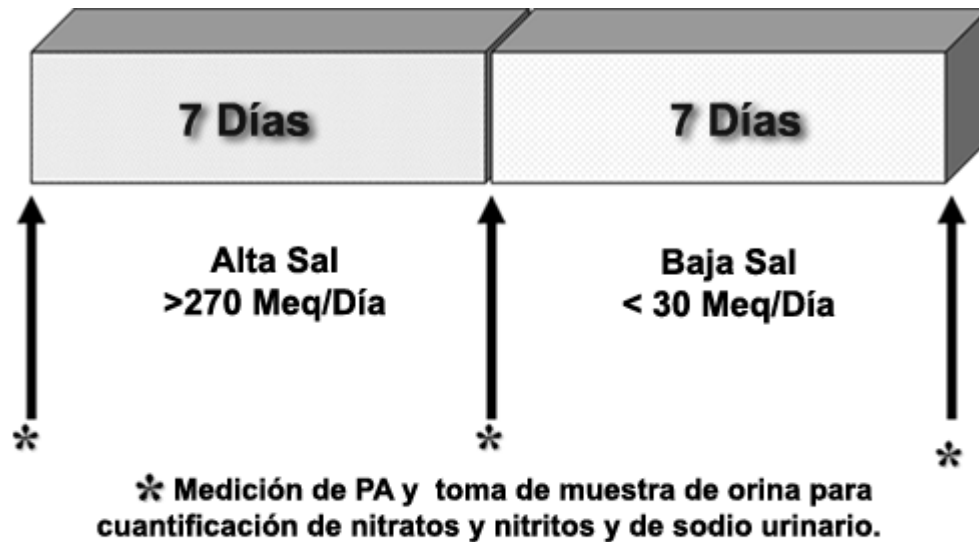
A pesar del interés en el área y de su importancia clínica, aún no conocen con certeza los factores determinantes de la sensibilidad a la sal en humanos, y las implicaciones del NO en la aparición de la misma. Han sido publicados algunos estudios realizados en animales de experimentación, en los cuales se había demostrado que el NO juega un papel importante en el control de la excreción de sodio y en la hemodinamia renal (Ikenaka y col., 1993; Patel y col., 1994; Bech y col., 1998). Por ejemplo, en ratas obesas Zucker, se había demostrado un aumento en los niveles de NO en la médula renal al incrementar la presión de perfusión renal. Ellos concluyeron que dichos incrementos del NO permiten la eliminación del sodio sin cambios importantes de la presión arterial. Este sería uno de los motivos por los cuales dichos animales producen menor cantidad de NO medular, lo cual podría ser responsable de su sensibilidad a la sal. Paralelamente, dichas ratas mejoraron su resistencia a la insulina después de ser tratadas con troglitazona. Esta mejoría estuvo acompañada por una reducción de la presión arterial y de la sensibilidad a la sal, y por un aumento en la producción de NO en la médula renal (Fujiwara y col., 1998). En concordancia, ya otros grupos habían demostrado previamente que la administración de L-arginina a ratas SS previene el desarrollo de hipertensión arterial y reduce la respuesta hipertensora a la sal (Chen y Sanders, 1991; Patel y col., 1994).

Esta evidencia experimental indica que una producción alterada de NO puede estar asociada a sensibilidad a la sal, por lo cual en SIL-DETECT evaluamos el efecto de dietas altas y bajas en sodio sobre la producción endógena de NO en sujetos SS y en sujetos SR (Cubeddu y col, 2000). En dicho estudio se incluyeron 89 sujetos aparentemente sanos que asistieron al SIL-DETECT, a los cuales se les evaluó su sensibilidad a la sal y la excreción de metabolitos del NO. Una vez realizada la prueba de sensibilidad a la sal, se seleccionaron del total a los sujetos Sal-Sensibles (N=23) y a los Sal-Resistentes (N=25).

Determinación de sensibilidad a la sal:

- Los sujetos fueron sometidos durante 7 días a una ingesta elevada de sodio (200 mEq/día). Durante los siguientes siete días, los sujetos siguieron una dieta con restricción severa de sodio (20-40 mEq/día).
- Antes de iniciar la dieta y en 7° día de ambas dietas, los pacientes volvieron al Centro para los procedimientos siguientes: medición de la presión arterial sistólica (PAS), de la presión arterial diastólica (PAD), de la frecuencia cardiaca (FC), obtención de orina de 24 horas para la cuantificación posterior de nitratos + nitritos y de creatinina urinaria. El cumplimiento de la ingesta alta o baja en sodio fue corroborada al cuantificar el sodio urinario al final de cada periodo de siete días.

- Según los cambios en las cifras de PA registradas después de la ingesta elevada o restrictiva de sal, los pacientes eran clasificados como SS o SR, siguiendo los criterios anteriormente explicados. De la población estudiada, 23 resultaron ser SS y 25 resultaron ser SR. El resto de los sujetos era clasificado como "sal intermedio" (SI), con cambios en su PAM que oscilaron entre 4 y 9 mm de Hg, al pasar de una dieta alta a una baja en sal.



**Figura 6**

**Representación esquemática de la prueba de Sensibilidad a la sal.**  
 Los sujetos siguen durante 7 días a una dieta con alto contenido de sodio (200 mEq/día). A continuación, y durante los siguientes 7 días, siguen una dieta con restricción severa de sodio (20-40 mEq/día). Los cambios de PAM entre las dietas alta y baja en sodio permite clasificar a sujeto en Sal-Sensible (>10 mm Hg) o Sal-Resistente (<3 mm Hg).

**Cuantificación de nitritos y nitratos:**

Se utilizó el método de Phizackerly y Al Dabbagh (1983), modificado en nuestro laboratorio. Brevemente, el día del ensayo las proteínas presentes en las muestras de orina son precipitadas con ZnSO<sub>4</sub>. Posteriormente, los nitratos urinarios son transformados a nitritos mediante reducción química con perlas de cadmio. Una vez que todos los nitratos se transforman a nitritos, los mismos son cuantificados por espectrofotometría a 540 nm, utilizando el reactivo de Griess (ácido sulfanílico 1%, en ácido fosfórico al 15% y N-(1-naftil)-etilendiamino 0,1%).

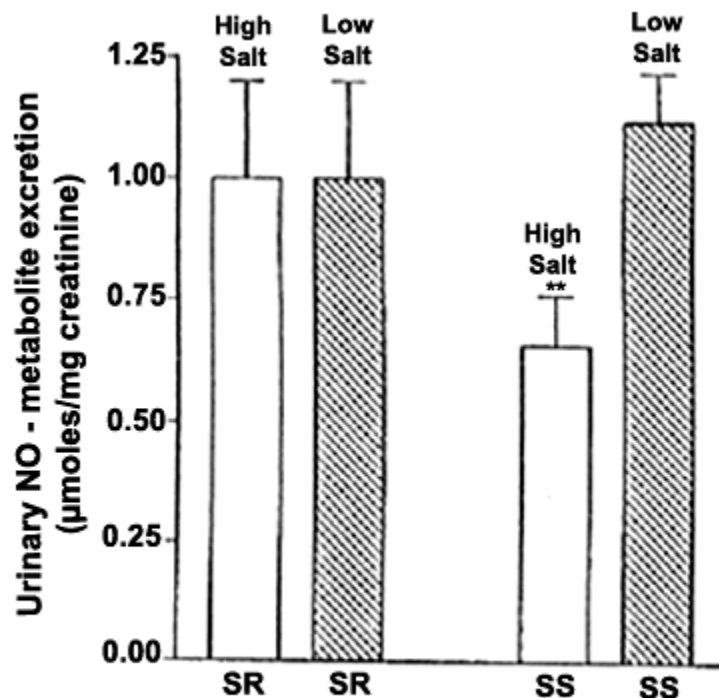
En la población de sujetos sanos estudiada, el 26% resultó ser SS; el 28% resultó ser SR; el resto (46%), tuvo una sensibilidad intermedio a la sal. Es importante destacar que los sujetos SS eran más viejos, más pesados y tenían una tendencia a una mayor relación cintura-cadera. También tenían una PA basal más elevada (**Tabla 3**).

	<b>Sal sensibles</b>	<b>Sal resistentes</b>
<b>Edad (Años)</b>	46.7± 2.1**	38.2 ± 1.9
<b>Peso (Kg)</b>	79.1± 3.0 **	71.7± 2.6
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	31 ± 1.0 *	26.6 ± 0.8
<b>RCC</b>	0.94 ± 0.02 *	0.88 ± 0.02

<b>PAS (mmHg)</b>	131 ± 3.9 **	111 ± 2.2
<b>PAD (mmHg)</b>	84.3 ± 2.6 **	75 ± 1.4
<b>PAM (mmHg)</b>	100 ± 2.7 **	87.1 ± 1.6
<b>Ins ayunas (uUI-ml)</b>	21.1 ± 2.6	22.6 ± 3.0
<b>Ins 2hrs (uUI-ml)</b>	126.8 ± 17.4	116.2 ± 15.5
<b>Glu ayunas (mg/dl)</b>	94.2 ± 4.3	88 ± 2.7
<b>Glu 2 hrs (mg/dl)</b>	125 ± 10.1	104.3 ± 6.1

**Tabla 3:** Datos demográficos y valores de presión arterial, insulina y glucosa en los grupos de sujetos sal-sensibles y sal-resistentes.  
(Cubeddu y col., 2000).

En los sujetos SS, la PAM disminuyó significativamente y la excreción de metabolitos del NO aumentó significativamente ( $p < 0.001$ ), cuando fueron sometidos a la dieta baja en sal. En dichos sujetos, la excreción urinaria de metabolitos del NO durante la ingesta alta en sal, fue 45% menor que la excreción durante la dieta baja en sal ( $p < 0.001$ ) (Fig. 7). En los individuos SR, los cambios en la ingesta de sal no se asoció con cambios en PA o en la excreción urinaria de metabolitos del NO (Cubeddu y col, 2000).



**Figura 7**  
Cambios en la excreción urinaria de metabolitos del NO, en sujetos Sal-Sensibles (SS) y Sal-Resistentes (SR), después de una semana de ingesta alta o baja en sal. (Cubeddu y col., 2000)

Los resultados de este estudio nos permitieron concluir que la carga de sal no modifica la excreción urinaria de los metabolitos del NO en los sujetos SR, pero si lo hace en modo significativo en los sujetos SS, quienes excretan menores niveles de metabolitos urinarios del NO durante la dieta alta en sal. Al pasar de una ingesta alta a una ingesta baja en cloruro de sodio, los sujetos SS incrementan la producción de NO, sugiriendo que en dichos sujetos la alta sal (o el incremento en la presión arterial producido por la alta sal) frena reversiblemente la producción del NO, lo cual se corrige (al igual que la presión arterial) al reducir la ingesta de sal. Adicionalmente, estos resultados, junto con otra evidencia relacionada (Fujiwara y col., 1998) nos permitieron sugerir que existe una importante interacción entre la hiperinsulinemia, la hiperglicemia, la disfunción endotelial y la sensibilidad a la sal, y aunque se han propuesto diversas teorías para explicar esta relación, actualmente se desconoce el mecanismo fisiopatológico preciso por el cual se producen estas asociaciones, ni cual es la secuencia de las mismas. Algunos estudios señalan que la hiperinsulinemia aguda ejerce un poderoso efecto antinatriurético (De Fronzo y col., 1975) que persiste aun durante la hiperinsulinemia crónica asociada con obesidad, a pesar de la resistencia periférica de los tejidos a la acción de la insulina (Rocchini, 1994). En este caso, el papel del NO en la modulación renal del manejo de sodio es determinante; el mecanismo de incremento de la producción de NO al aumentar la cantidad de sodio en el organismo sería el modo directo para facilitar la natriuresis; esta habilidad parece estar alterada en los sujetos sal-sensibles. Con la finalidad de contribuir al esclarecimiento de algunas incógnitas en esta área, en SIL-DETECT prosiguen diversos estudios sobre factores de riesgo cardiovascular y metabólicos, con especial énfasis en hiperinsulinismo, sensibilidad a sal y disfunción endotelial.