

Endotelio vascular

Vascular endothelium

Duboscq C

*Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Británico de Bs AS*

cduboscq58@hotmail.com



ARTÍCULO
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 19-30
Fisiología de la hemostasia normal
Agosto 2017

Palabras claves: endotelio vascular,
disfunción,
propiedad anticoagulante,
marcadores activación.

Keywords: vascular endothelium,
dysfunction,
anticoagulant properties,
activation markers.

Introducción

El endotelio que forma la capa interna de los vasos sanguíneos pesa aproximadamente 1 Kg en un humano de talla promedio, cubre una superficie entre 4000 y 7000 m² y está compuesto por aproximadamente entre 1 a 6 x 10¹³ células⁽¹⁾. Durante muchos años el endotelio ha sido visto como una membrana inerte cuya función principal era regular la permeabilidad de la pared del vaso sanguíneo. Alrededor de 1800 von Reckinghausen demuestra que los vasos no son sólo túneles sino que están recubiertos por verdaderas células, y en 1891 Heidenhahn lo describe por primera vez como un órgano secretor. Actualmente se considera al endotelio como un órgano dinámico, heterogéneo y diseminado que tiene funciones secretoras, sintéticas, metabólicas e inmuno-

lógicas, y cuya alteración es determinante en el curso de algunas enfermedades⁽¹⁻³⁾. Diversos estudios demuestran que el endotelio participa en una multitud de procesos fisiológicos que incluyen el control del tráfico celular, la regulación del tono vasomotor, el mantenimiento de la fluidez de la sangre y el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos (vasculogénesis y angiogénesis). Todas estas funciones son llevadas a cabo por receptores para diversas moléculas presentes en la sangre y también receptores que median la interacción célula/célula y célula/matriz que están presentes en la superficie de cada célula endotelial. El endotelio es un órgano que está involucrado en numerosos procesos fisiológicos, principalmente el de mantener la fluidez de la sangre. La

tabla 1 muestra la sustancias principales secretadas por el endotelio en forma constitutiva e inducida, agrupadas por su función. **Las células endoteliales no activadas expresan actividad anticoagulante, anti adhesiva y vasodilatadora, mientras que la**

célula endotelial activada expresa actividad procoagulante, proadhesiva y vasoconstrictora. Estas características varían en las distintas zonas del árbol vascular y se expresan en distintos momentos.

Tabla 1. Sustancias liberadas por las células endoteliales⁽¹⁻³⁾

<p>Anticoagulantes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Glicosaminoglicanos • Trombomodulina • Receptor de trombina • Proteína S • TFPI • Prostaciclina 	<p>Profibrinolíticos</p> <ul style="list-style-type: none"> • t-PA • scu-PA • Receptor de Plg • Receptor de uPA 	<p>Adhesión leucocitaria</p> <ul style="list-style-type: none"> • Selectinas (P, E) • ICAM-1 • ICAM-2 • VCAM-1
<p>Procoagulantes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Factor tisular • Factor von Willebrand • Factor act. plaquetaria 	<p>Antifibrinolíticos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inhibidor del t-PA 	<p>Citoquinas</p> <ul style="list-style-type: none"> • IL-1, IL-4, IL-8 • TNFα • Interferón γ
<p>Proteínas vasoactivas</p> <p>Vasodilatadoras</p> <ul style="list-style-type: none"> • Óxido nítrico (NO) • Prostaciclina • Bradiquinina • Factor hiperpolarizante derivado de la CE <p>Vasoconstrictoras</p> <ul style="list-style-type: none"> • Endotelinas • Tromboxano A2 • Angiotensina II • Radicales libres 		<p>Adhesividad: proteínas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Factor von Willebrand • Colágeno tipo IV • Fibronectina • Vitronectina • Trombospondina • Elastina

Rol de la célula endotelial en la regulación del tono vascular^(1,4)

Las células endoteliales (CE) regulan el tono vascular liberando sustancias tanto vasodilatadoras como vasoconstrictoras (**Tabla 1**).

Oxido nítrico (NO). El óxido nítrico es sintetizado por acción de la óxido nítrico sintetasa endotelial por oxidación de L-arginina. Existen tres formas de la ON sintetasa: tipo I o neuronal (nNOS); tipo II o inducible (iNOS), cuya actividad es independiente de la concentración de Ca²⁺, y la tipo III o endotelial (eNO) que es específica del endotelio.

La producción de óxido nítrico, que ocurre en las arterias cerebrales, coronarias, sistémicas, mesentéricas y pulmonares, constituye la base del mecanismo de relajación del endotelio. En las CEs la síntesis de NO es dependiente de la concentración de Ca²⁺ intra-citoplasmática, hecho determinado por la concentración de calmodulina. Si bien eNO

está activa constitutivamente, su actividad puede ser incrementada por diversos factores como el *shear stress*, hipoxia o la acción de agonistas que inducen el aumento de calcio intracitoplasmático (Ej.: trombina o bradiquinina).

Una vez sintetizado el NO difunde hacia las células musculares lisas por difusión, estimulando la guanilato ciclasa la cual aumenta los niveles de cGMP y produce la relajación del músculo liso. Además el NO formado difunde hacia la lumen del vaso donde inhibe la adhesión de leucocitos y plaquetas sobre el endotelio. Los factores que estimulan la liberación de NO son *shear stress*, catecolaminas, vasopresina, bradiquinina, histamina, serotonina y trombina.

Prostaciclina (PGI₂). Es un metabolito del ácido araquidónico producido por la ciclooxigenasa. La PGI₂ no es sintetizada en forma constitutiva por el endotelio por lo que no regula el tono basal. Se libera en sitios de alteración vascular en respuesta al

shear stress o la hipoxia; tiene un efecto sinérgico con el NO. A diferencia del NO, produce su efecto vasodilatador a través de receptores específicos que están presentes en la membrana de los músculos lisos del vaso. Su acción genera un aumento del cAMP facilitando la disminución de Ca^{2+} intracelular, induciendo la relajación muscular y regulando de esta forma la vasoconstricción

Factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF). Bajo esta denominación se incluyen un grupo de compuestos generados por el endotelio que inducen vasorelajación. Si bien la estructura química no está totalmente establecida, esta función es llevada a cabo por los ácidos epoxieicosatrienoicos (EETs) que son metabolitos del AA generados por la enzima P450 epoxigenasa; estos EETs actúan sobre las células del músculo liso abriendo los canales de K^+ dependientes de Ca^{2+} e hiperpolarizando la membrana. La importancia de este factor de relajación se incrementa a medida que el diámetro de las arterias disminuye.

Endotelinas. Son péptidos de 21 aminoácidos, siendo la endotelina 1 (ET-1), sintetizada por el endotelio, el vasoconstrictor endógeno más potente conocido en la actualidad. La mayor parte de la ET-1 es liberada contra la pared del vaso, por lo que los niveles plasmáticos no reflejarían su concentración local. El regulador más potente de la producción y liberación de ET-1 es el flujo sanguíneo. Un incremento en el flujo sanguíneo resulta en vasodilatación porque aumenta la producción y liberación de NO y disminuye la síntesis y liberación de ET-1 por parte de la CE. La insulina, la trombina, las lipoproteínas de baja densidad, la angiotensina II, la vasopresina, la IL-1, la endotoxina, la glucosa, la ciclosporina, la hipoxia, el *shear stress* bajo incrementan la producción de ET-1. Inhiben la producción de ET-1 el *shear stress* alto, el NO, la PGI_2 y la heparina.

Propiedades pro y antiadhesivas del endotelio

Como ya dijimos, el endotelio sano es antiadherente y los elementos formes de la sangre circulan sin adherirse al endotelio, debido a la liberación en forma continua de NO. Pero en presencia de citoquinas pro inflamatorias se exponen un conjunto de receptores, denominados moléculas de adhesión, que mediarán las interacciones CE-CE, CE-matriz, plaquetas-CE y leucocitos-CE⁽¹⁾.

Moléculas de adhesión celular (CAM). Es un sistema formado por proteínas y receptores adhesivos que juegan papeles importantes en los procesos de embriogénesis, crecimiento y diferenciación celular, e inflamación. Estas moléculas de adhesión están aumentadas a nivel plasmático en situaciones inflamatorias, especialmente en sepsis, y se las ha propuesto como marcadores de activación endotelial.

Las CAM se dividen en cuatro grupos principales: a) superfamilia de las inmunoglobulinas; b) integri- nas; c) selectinas; d) caderinas⁽⁵⁾.

Superfamilia de inmunoglobulinas. Es el grupo más grande de CAM. Forman el 50 % de las glicoproteínas de la membrana leucocitaria. Cada proteína contiene una serie de dominios similares a las Ig. Son contra receptores de las integri- nas de los leucocitos. A este grupo pertenecen: moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1, ICAM-2), moléculas de adhesión de células vasculares (VCAM) y las moléculas de adhesión plaquetas-célula endotelial (PECAM). Los receptores ICAM-2 y PECAM (CD31) se expresan en forma constitutivas, y VCAM-1 e ICAM-1 son inducibles por citoquinas. Estas moléculas participan en la activación y migración de los leucocitos a los tejidos

Integrinas. Son proteínas de membrana que tienen dos subunidades, la α y la β , que participan en las interacciones cél-cél y y cél-matriz. Cada integrina puede unirse a más de un ligando. Pertenecen a este grupo la glicoproteína IIB-IIIa (receptor del fibrinógeno), el receptor de vitronectina ($\alpha_v\beta_3$), el receptor de fibronectina ($\alpha_5\beta_1$) y el receptor de colágeno (GP Ia-IIa).

Selectinas. Son moléculas de adhesión que se exponen en las superficies celulares y que se nombran de acuerdo a la célula en que estén presentes: E-selectina (selectina endotelial, sólo presente en CE), P-selectina (selectina plaquetaria, presente en plaquetas y CEs) y L-selectina (selectina leucocitaria). Interaccionan con leucocitos o con oligosacáridos sialilados o fucosilados sobre la superficie de la célula endotelial. La E-sel se expresa cuando la CE es activada por citoquinas inflamatorias e interviene en el *rolling* de los leucocitos.

Caderinas. Promueven la adhesión célula-célula mediada por calcio. La unión se hace entre una molécula de VE-Cad con otra VE-Cad. Es esencial para la estabilidad y el contacto CE-CE.

Junctional Adhesion Molecule (JAM) es una caderina que interviene en el nexo entre las células endoteliales, mientras que CD99 y CD99L intervienen en la extravasación de leucocitos.

Rol de la célula endotelial en el inicio de la coagulación

El factor tisular (TF: *tissue factor*), una proteína transmembrana de 45 kDa sintetizada constitutivamente por numerosas células de organismo que no tienen contacto directo con la sangre, es considerada actualmente como el principal iniciador del sistema de coagulación mediante su unión al factor VIIa⁽⁶⁾. En las células que tienen contacto con la sangre la síntesis y expresión de TF es inducida, *in vitro*, por diversas sustancias como citoquinas proinflamatorias y endotoxinas.

Las citoquinas (TNF alfa, IL-6), la trombina, la hipoxia y las lipoproteínas oxidadas inducen la expresión de factor tisular en las células endoteliales vasculares *in vitro*. Observaciones *ex vivo* apoyan la idea de que la CE está involucrada en la activación del sistema de coagulación mediada por TF durante una infección severa⁽⁷⁾. También se ha demostrado la presencia de CEs circulantes que expresan factor tisular en pacientes con anemia drepanocítica⁽⁸⁾.

La expresión del TF por la CE parece estar confirmada en ciertos órganos y lechos vasculares, pero en función de la heterogeneidad señalada la síntesis varía en tiempo y espacio⁽²⁾. Hasta el momento no se ha demostrado la expresión de TF por la CE *in vivo*, aún ante la presencia de agonistas potentes, lo cual constituye otro ejemplo de las diferencias de comportamiento entre CE *in vivo* y en cultivo.

La CE estimulada por citoquinas también expresa un receptor de proteasas activadas (PAR-1) que une trombina, FIXa, y FXa y aumenta la expresión de TF, amplificando de este modo la activación del sistema de coagulación. Se han descrito diferencias tisulares y de especie en la expresión de los receptores para proteasas⁽⁹⁾.

El factor von Willebrand (FvW) es sintetizado constitutivamente por la CE y es liberado de los cuerpos de Weibel Palade por agonistas como la trombina, IL-1, la vasopresina, la oclusión venosa y el ejercicio físico. Si bien también es sintetizado por las plaquetas, diversos estudios demuestran que la mayoría del FvW plasmático proviene de la síntesis endotelial^(11,12).

Rol de la célula endotelial en la regulación del sistema de coagulación

La generación de trombina es regulada por un conjunto de inhibidores fisiológicos del sistema de coagulación: a) inhibidores de serinoproteasa, como la antitrombina (AT) y el cofactor II de la heparina (HCII), b) el sistema de la proteína C (PC), formado por la proteína C, la proteína S y la trombomodulina, y c) la vía del factor inhibidor del factor tisular (TFPI).

LA CE interviene en los tres sistemas de formas diferentes:

a) **Inhibidores de serinoproteasas.** La matriz que rodea al endotelio contiene heparán sulfato (análogo fisiológico de la heparina) y glicosaminoglicanos relacionados (GAGs) que promueven la actividad de la AT para inhibir trombina. A nivel del subendotelio hay heparán sulfato, principal potenciador del HCII. Existen trabajos que señalan una disminución de la síntesis de GAGs por acción de las citoquinas proinflamatorias, lo cual disminuiría la capacidad anticoagulante del endotelio⁽¹³⁾.

b) **Sistema de la proteína C** (inhibición del FVa y FVIIIa). La CE expresa trombomodulina (TM), cofactor de la PC, que aumenta varias veces la velocidad de activación de PC mediada por trombina. La proteína C activada en presencia de PS inhibe FVa y FVIIIa. La unión de trombina a trombomodulina también disminuye la capacidad de la enzima para activar plaquetas, FV, FXIII, fibrinógeno y promueve la actividad fibrinolítica de la CE. La trombomodulina se expresa en todos los vasos excepto en el cerebro. Las CEs de los grandes vasos también expresan receptores para la proteína C activada (PCa)^(14,15). *In vitro*, las citoquinas pro inflamatorias disminuyen la expresión de trombomodulina, y estudios recientes han demostrado que en pacientes con sepsis severa la expresión de la TM en la superficie de las CEs está descendida⁽¹³⁾. La oclusión venosa aumenta la expresión de trombomodulina soluble en individuos sanos⁽¹⁶⁾.

c) **Inhibidor del camino del factor tisular (TFPI).** Este inhibidor, tipo Kunitz, sintetizado por la célula endotelial, inhibe FXa y FVIIa unido al TF, regulando así la formación de trombina. El TFPI es liberado por las CEs por acción de he-

parina. No hay estudios concluyentes acerca del comportamiento de los niveles de TFPI cuando las CEs son activadas por citoquinas proinflamatorias⁽¹⁷⁾.

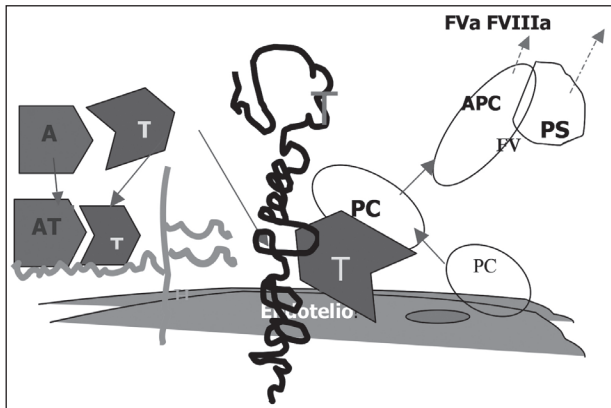


Figura 1. Rol del endotelio en la inhibición del sistema de coagulación

Rol de la célula endotelial en el sistema fibrinolítico.

Las células endoteliales sintetizan activadores e inhibidores del sistema fibrinolítico (activador tisular del plasminógeno: t-PA, inhibidor del activador tisular del plasminógeno: PAI) y receptores de membrana para algunos de sus componentes (receptores para el activador del plasminógeno tipo uroquinasa (u-PAR) y sitios de unión para plasminógeno)⁽¹⁸⁾.

El activador tisular del plasminógeno es secretado en forma constitutiva y aumenta su síntesis como respuesta a la presencia de trombina, la oclusión venosa y la vasopresina; por otro lado la respuesta inicial del endotelio a la endotoxina es un rápido ascenso de los niveles de t-PA que luego son rápidamente inhibidos por un gran incremento en los niveles de PAI⁽¹⁹⁾.

La síntesis de PAI-1 es estimulada por trombina, endotoxina, varias citoquinas (TNF y IL-1); en cambio las CEs en reposo no expresa prácticamente inhibidor sino que el hígado sería la mayor fuente del PAI plasmático⁽²⁰⁾.

Experiencias utilizando CE en cultivo han establecido el concepto de que la superficie del endotelio intacto es profibrinolítica, contribuyendo así a mantener la fluidez de la sangre. Sin embargo, utilizando modelos animales se ha demostrado que esta hipótesis no es observada *in vivo*. La contribución de la célula endotelial al potencial fibrinolítico dependerá fundamentalmente del estado y del tipo de CE en cada instante.

Heterogeneidad

En la práctica diaria se observa que numerosas enfermedades están restringidas a determinados lechos vasculares, por ejemplo, la contribución de las plaquetas a la patogénesis de la trombosis arterial o venosa es diferente. Las células tumorales muestran, para proliferar, predilección por ciertos lechos vasculares específicos. Aun cuando hay presentes factores de riesgo sistémico bien establecidos, como es el descenso de los niveles plasmáticos de los inhibidores fisiológicos del sistema de coagulación, existe una marcada variación regional en la expresión de la enfermedad y, por lo general, el evento trombótico episódico se localiza en un solo vaso^(21,22).

Antes de comenzar a enumerar los conceptos actuales de la biología de la célula endotelial se debe recordar que la mayoría de los estudios de la misma se han realizado con células endoteliales en cultivos (principalmente de la línea HUVEC), por lo que no se puede inferir que el comportamiento de las CEs en el estado de salud y de enfermedad sea el mismo que el de las cultivadas *in vitro*. Por otro lado el endotelio es extraordinariamente adaptativo y el comportamiento está altamente influido por el medio ambiente, es decir que cuando la célula se saca de su medio natural y se cultiva *in vitro* su fenotipo puede cambiar. Por lo tanto, los resultados de los estudios *in vitro* deben ser interpretados con cuidado y validados *in vivo*, hecho que en la mayoría de los reportes de investigación no se ha realizado aún. Estas limitaciones son las que determinan en parte que, si bien se invierten muchos millones de dólares por año en investigar la biología y la bioquímica de la célula endotelial y que existen numerosas publicaciones al respecto, todavía el endotelio no ha tomado un lugar preponderante en la práctica diaria de la medicina clínica^(23,24).

Actualmente se sabe que los fenotipos estructurales y funcionales de la célula endotelial varían en las distintas zonas de la vasculatura. La heterogeneidad de esta célula se da a nivel de su estructura y su función; ocurre entre los diferentes órganos, dentro del *loop* vascular de un mismo órgano, y aun entre células vecinas de un mismo vaso (Tabla 2). Hoy en día se considera que existe una gran diversidad en las células endoteliales y que esta heterogeneidad podría contribuir a esclarecer los mecanismos de las diversas patologías lecho-específicas^(21,25).

Tabla 2. Proteínas sintetizadas por las células endoteliales órgano-específicas.

Gen/ proteína	Distribución
Mac-1 de pulmón	Pulmón
Molécula endotelial específica -1	Pulmón-tracto gastrointestinal-riñón
Dipeptidasa de membrana	Predominante en pulmón y riñón
Glutamil leucotrienasa	Endotelio microvascular excepto en pulmón donde se expresa en grandes, vasos
Factor von Willebrand (FVW)	Mayor expresión en venas que en arterias
Activador tisular de plasminógeno (t-PA)	Altos niveles en cerebro
Inhibidor del camino del factor tisular (TFPI)	Endotelio microvascular
Receptor de la proteína C activada	Endotelio de los grandes vasos
Trombomodulina (TM)	Ausente en cerebro
Óxido nítrico-sintetasa	Mayor en arterias que en venas
Molécula de adhesión vascular	Mayor expresión en corazón que en cerebro e intestino delgado
P-selectina	Mayores niveles en pulmón y menores en músculo y cerebro
Heparán-sulfato	Sitios endoteliales de unión a ATIII, distribuidos con gran variabilidad
p-glicoproteína resistente a multidroga	Barrera hematoencefálica
Eph-2	Arterias
Eph-b4	Venas
CD36	Bajo nivel en cerebro.
NF kB	Se expresa en sitios de arteroesclerosis

Existe suficiente evidencia que indica que la heterogeneidad se desarrolla en parte como resultado de la exposición de la CE a un estímulo ambiental presente a corta distancia o que actúa por contacto célula-célula. Este fenómeno se conoce con el nombre de transdiferenciación. Un ejemplo de este comportamiento está dado por el hecho de que las CEs de aorta cultivadas sobre una matriz extracelular derivada del pulmón expresan Lu-ECAM-1 (molécula de adhesión pulmonar), mientras que si son cultivadas sobre una matriz proveniente de riñón desarrollan el tipo fenestrado característico del riñón. Las CE de la macro y microvasculatura difieren en la propensión a formar estructuras capilares, en la síntesis de PGI₂ y en la expresión de la moléculas de adhesión para linfocitos. Es decir, que la expresión de la heterogeneidad de las CEs depende del tipo y de la concentración de los factores en el entorno y de la respuesta intrínseca de cada CE a ese estímulo. Se puede pensar que cada CE tiene un dispositivo de entrada (*input*) que dispara una salida o respuesta (*output*). El estímulo del microambiente (*input*) incluye fuerzas bioquímicas y biomecánicas como son *shear stress*, estrés longitudinal, hipoxia, concentración de glucosa, citoquinas, lipoproteínas, nucleótidos, óxido nítrico, interacciones célula-célula, hiper o hipotermia. La respuesta del endotelio puede darse a nivel de cada CE (cambio de forma,

flujo de calcio, transducción de proteínas, expresión de genes, apoptosis y migración), a nivel de la monocapa (alteración de la permeabilidad, aumento en la adhesión de leucocitos) y a nivel del vaso sanguíneo (aumento del tono vasomotor, angiogénesis, presentación de antígeno, inflamación, activación del sistema de coagulación y fibrinólisis)^(21,22).

El dispositivo entrada/salida de cada CE es un mecanismo complejo de caminos altamente regulados mediado por receptores.

Si todas las células fueran intrínsecamente idénticas, la relación entre el estímulo y la respuesta debería ser suficiente para explicar el fenómeno de la heterogeneidad endotelial. Si se realizara un cultivo a partir de dos células vecinas en un mismo medio, luego de suficientes pasajes ambas células serían idénticas porque el medio ambiente al que fueron sometidas fue el mismo. No obstante, diversos estudios demuestran que ninguna de las CEs, aun las vecinas, son totalmente idénticas. Así, el microambiente extracelular local induce cambios epigenéticos en el endotelio que se transmiten por herencia mitótica. Si bien se piensa que los cambios epigenéticos ocurren fundamentalmente en la edad embrionaria, también podrían producirse en el período postnatal como consecuencia de la edad o de enfermedades.

Resumiendo, se podría decir que el comportamiento de una célula endotelial será consecuencia de dos efectos: el microambiente en el que se encuentre y la carga epigenética que posea, es decir, ambos mecanismos son operativos y contribuyen a la generación y mantenimiento de la heterogeneidad endotelial (**Figuras 2a y 2b**).

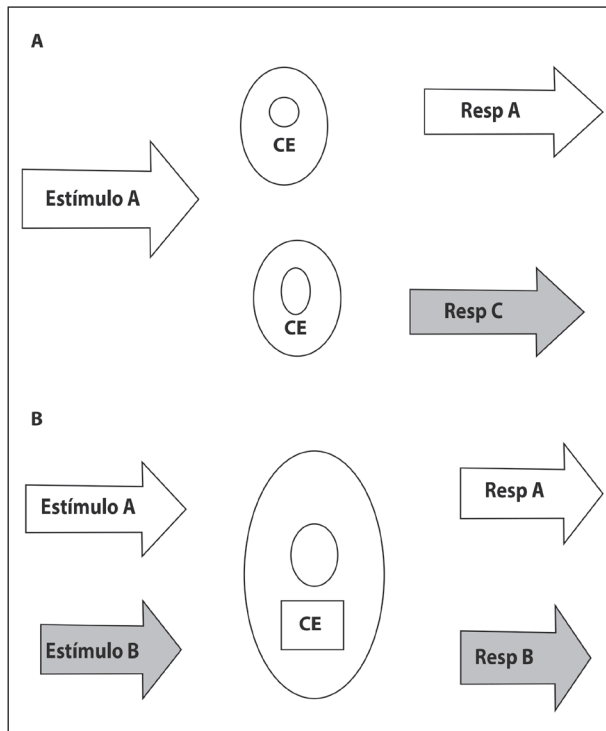


Figura 2. Mecanismos de la heterogeneidad endotelial. Ambos mecanismos operan en el organismo intacto y contribuyen a mantener la heterogeneidad endotelial.

Figura 2a. La respuesta de cada célula endotelial está determinada genéticamente. Para un estímulo dado la respuesta de cada CE es diferente y está determinada genéticamente.

Figura 2b. La respuesta sólo depende del medioambiente en que se encuentra la célula endotelial. Si las células fueran intrínsecamente idénticas originarían una respuesta diferente para cada estímulo de su entorno.

Activación endotelial

El concepto de activación de la CE fue descrito por primera vez en los años 80 a partir de numerosos estudios *in vitro*, asociado generalmente a un estado de enfermedad. Dichas investigaciones demuestran la capacidad de diversas sustancias (endotoxina, TNF alfa, IL-6) para inducir la expresión de moléculas de adhesión, de la actividad pro coagulante y

la presentación de antígenos⁽¹⁻⁴⁾ por parte de la CE en cultivo. Actualmente el término activación se considera como la capacidad de la célula endotelial de adquirir nuevas funciones sin evidencia de daño o división celular.

Se define disfunción endotelial como el conjunto de cambios patofisiológicos en la estructura y función de la CE que ocasionan la pérdida del equilibrio:

- **antitrombótico - protrombótico,**
- **vasorelajación - vasoconstricción,**
- **inhibición y estimulación de los factores de crecimiento y**
- **antinflamatorio y pro inflamatorios.**

La manifestación clínica podría ser la vasoconstricción, la formación del trombo, la hipertensión y/o la arteriosclerosis. Sin embargo, el concepto de que la célula está o no está activada es una simplificación por las siguientes razones: a) la CE tiene un amplio espectro de respuesta, b) la activación de cada CE depende del momento y el lugar en que ocurra (por ejemplo, la P-selectina, que se considera un marcador de activación celular, se expresa constitutivamente en los microvasos dérmicos de la piel no inflamada) y c) los inductores como trombina, lipopolisacáridos y citoquinas proinflamatorias tienen distinto efecto de acuerdo al fenotipo de la CE. Resumiendo, el endotelio, altamente adaptativo, está permanentemente censando y respondiendo a las distintas alteraciones a nivel extracelular y no se debería hablar de un endotelio activado o no activado, sino de un espectro de activación continuo que ocurriría tanto en condiciones fisiológicas como en respuesta a diversos estados de enfermedad. El mecanismo de transición entre una CE funcionando y disfuncionante no está esclarecido aún. La disfunción endotelial usualmente comienza como la respuesta fisiológica a un estímulo dado que luego se torna excesiva o descontrolada por un defecto en la regulación de la cascada inflamatoria^(2,26,27). Mientras que 20 años atrás sólo un número pequeño de patologías se asociaban a alteraciones del endotelio (por ejemplo, arteriosclerosis), actualmente existen diversas enfermedades en las que se considera que el endotelio juega un rol importante, ya sea como determinante primario de la patología o como víctima de un daño colateral. Cáncer, hemoglobinopatía S, síndrome mieloproliferativo, enfermedad injerto contra huésped aguda, infección, sepsis, enferme-

dad coronaria, asma, síndrome de *distress* respiratorio agudo, falla renal aguda, artritis reumatoide, son algunas de las enfermedades que actualmente se relacionan con la alteración de la función endotelial. Hoy se considera que muchas patologías de diversos orígenes (trauma, sepsis, enfermedad injerto contra huésped agudo) coinciden en una activación endotelial descontrolada que contribuiría al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica generalizada (SIRS)⁽²³⁾.

No existe un único marcador bioquímico de activación endotelial^(28,29). Los marcadores clásicos de daño endotelial son E-selectina, el PAI, las moléculas de adhesión como V-CAM y el factor von Willebrand antigénico. Los marcadores clásicos de daño o activación endotelial se han reportado incrementados en sepsis y shock séptico⁽²⁶⁻²⁹⁾, arterosclerosis^(30,31), enfermedad de injerto contra huésped aguda^(32,33), pacientes añosos⁽³⁴⁾, pacientes con hiperhomocisteinemia^(35,36), cáncer^(37,38), enfermedad renal⁽³⁹⁾, hemocromatosis⁽⁴⁰⁾, *stroke*⁽⁴¹⁻⁴²⁾ y diabetes⁽⁴³⁾. Actualmente diferentes estudios señalan que el sistema angiopoyetina/TIE como un marcador de activación endotelial, ya que está restringido a la regulación de la célula endotelial, es no redundante y está involucrado en la señalización de varios caminos de la falla orgánica múltiple⁽⁴⁴⁻⁴⁵⁾.

Otros marcadores de daño endotelial son las denominadas células endoteliales circulantes y los progenitores endoteliales circulantes^(46,47). El concepto de células endoteliales circulantes que potencialmente servirían como marcadores de daño endotelial, incluye a las células progenitoras endoteliales (CPE) y a las células endoteliales descamadas de la pared de los vasos que entran a circulación como resultado de la injuria vascular. El desbalance entre la expresión de células endoteliales circulantes (reflejando daño endotelial inflamatorio) y células progenitoras endoteliales, que reflejan la capacidad de reparación endotelial, contribuiría a la patogénesis y progresión de varias patologías (aterosclerosis, diabetes, enfermedad renal, etc.).

Las micropartículas de células endoteliales se definen como partículas entre 0.1 a 10 μm que expresan los distintos Ag en forma variable de acuerdo a la situación que le dio origen: CD31, CD34, CD51, CD54, CD62 P y CD62 E, CD105, CD146. En apoptosis los marcadores constitutivos se expresan

más (CD31 > CD105). En procesos de activación se expresan más los marcadores inducibles (CD62 E > CD54 > CD106). Recientemente se ha descrito también una actividad proagregante y procoagulante de estas micropartículas de célula endotelial. Diversos estudios han demostrado un incremento en el número de células endoteliales circulantes respecto al valor hallado en voluntarios sanos en patologías como cáncer, sepsis, enfermedad renal, enfermedad cardiovascular. No obstante, la determinación de micropartículas de CE circulante está limitada actualmente por el bajo número de partículas circulantes (1-30 ng/ml) y la falta de métodos de detección apropiados para el diagnóstico clínico⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾.

Las células progenitoras endoteliales (CPE), descritas en 1997 por Asahara et al, constituyen una población heterogénea de células circulantes en la sangre periférica. Los hemangioblastos, precursores no hematopoyéticos, células monocíticas o células tronco residentes en los tejidos han sido señaladas como precursores de la CPE. Estas células, que tienen capacidad de proliferar, migrar, diferenciarse *in vivo* e *in vitro* en células endoteliales e incorporarse al endotelio preexistente, desempeñan una importante función en la reparación vascular y en la formación de nuevos vasos. Por eso, presentan, fenotípicamente, tanto características morfofuncionales de células hematopoyéticas como de células endoteliales maduras. Las CPE, derivadas de la médula ósea, parecen contribuir en la reparación del endotelio dañado, y también a la formación de nuevos vasos. Las células progenitoras endoteliales de la médula ósea forman parte de los procesos de neovascularización de origen fisiológico (placenta, cuerpo lúteo), patológico (neoplasias) o fisiopatológico (cicatrización, regeneración tisular).

Las CPE son raras, representando cerca de 0,01% a 0,0001% de la fracción mononuclear en la sangre periférica. Una vez en la circulación periférica, las CPE secretan factores proangiogénicos, como el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) y el factor estimulante de colonia de granulocitos (G-CSF), capaces de estimular paracrinamente los procesos de neo vasculogénesis y angiogénico. Las CPE se caracterizan por citometría de flujo mediante una serie de marcadores de superficie que determinan sus distintos estadios de diferenciación.

Concepto de trombosis como una enfermedad vascular lecho-específica

Como ya ha sido señalado, la hemostasia es un mecanismo fisiológico representado por un delicado equilibrio entre fuerzas protrombóticas y antitrombóticas.

En condiciones normales este equilibrio está regulado por un conjunto complejo de mecanismos donde la célula endotelial es uno de los principales protagonistas. Estos mecanismos son capaces de integrar múltiples señales para generar una respuesta que varía en tiempo y espacio. Así, en cada segmento del lecho vascular la CE es capaz de cambiar el balance hemostático momento a momento respondiendo a los cambios de su entorno local.

Los estados hipercoagulables congénitos y adquiridos aparecen cuando hay un desbalance entre las actividades antitrombóticas y protrombóticas del plasma, con predominio de esta última^(21,22,25,48,49).

Diversos estudios han demostrado que pacientes con distintas alteraciones protrombóticas, congénitas o adquiridas, presentan trombosis en una localización determinada de la vasculatura^(50,51).

Un interrogante importante es ¿por qué un desbalance de tipo sistémico, como puede ser el déficit de un inhibidor, se expresa fenotípicamente como una trombosis local?

Teniendo en cuenta los conocimientos actuales de heterogeneidad endotelial y que los componentes hemostáticos varían en tiempo y espacio, estos hallazgos clínicos podrían explicarse con el concepto aparecido recientemente de hemostasia específica de lecho vascular^(2,50).

Este modelo propone que el endotelio sería el encargado de integrar las diferentes señales extracelulares y generar una respuesta celular diferente en cada región de la vasculatura. Basada en distintas investigaciones, se podría pensar que en condiciones normales las células endoteliales de distintos sitios expresan diferentes “fórmulas” de fuerzas anticoagulantes y procoagulantes para mantener la hemostasia local. De acuerdo a este modelo, por un lado el hígado sintetiza constantemente serinoproteasas, cofactores FV y FVIII, fibrinógeno e inhibidores del sistema de coagulación, mientras que la médula ósea libera un número constante de monocitos (fuente de TF) y plaquetas (fuente de membranas fosfolipídicas). Las proteínas derivadas del hígado y las células derivadas de la médula son distribuidas

en forma sistémica a los tejidos donde serían integradas dentro de un balance hemostático propio de cada lecho vascular.

Si existiera un cambio en el balance sistémico de proteínas o de componentes celulares (por ejemplo, déficit de PC o monocitos activados en sepsis), el desbalance sistémico podría interactuar con el balance endotelial local, actuando en forma diferente de un sitio a otro de la vasculatura.

Un ejemplo clínico que apoya este modelo es que la necrosis de piel inducida por warfarina o la púrpura fulminans están asociadas a un déficit de PC y a una trombosis de la microvasculatura dérmica⁽⁵¹⁾. El hallazgo podría interpretarse como que el balance hemostático local de las células endoteliales postcapilares dérmicas es desproporcionadamente sensible a los cambios sistémicos de PC⁽⁵⁰⁾.

También, cambios locales en el fenotipo endotelial podrían acentuar la alteración sistémica contribuyendo al fenotipo trombótico.

Existen distintas experiencias con animales cuyos resultados apoyan el modelo de hemostasia lecho-específica: a) se ha observado incremento de la deposición de fibrina en diversos órganos (pulmón, corazón y bazo) pero no en cerebro en ratones *knock-out* para la TM de célula endotelial, lo cual podría interpretarse como que a nivel cerebral la TM prácticamente no interviene en el balance hemostático. Cuando estos ratones son sometidos a hipoxia se produce un incremento de 10 veces en la fibrina depositada en el pulmón, pero no hay variación en los depósitos de los otros órganos^(21,22,50); b) ratones *knock-out* para t-PA y u-PA (activador del plasminógeno tipo uroquinasa) presentan depósitos de fibrina en corazón, bazo y pulmones pero no en cerebro y riñones y c) además, la cantidad de fibrina depositada en los distintos órganos para los distintos déficit es diferente.

Los datos de estos estudios sugieren que la trombosis ocurre en un órgano determinado como resultado de un intrincado mecanismo donde intervienen factores genéticos y ambientales.

El objetivo de las investigaciones futuras será, entonces, decodificar las ecuaciones que gobiernen la hemostasia en cada zona de la vasculatura.

Estas investigaciones deberán tener en cuenta no sólo los componentes clásicos sintetizados por el endotelio, sino la contribución relativa de otros factores locales como el flujo regional, las interac-

ciones con monocitos y plaquetas y la liberación de micropartículas.

Bibliografía

1. Cines D, Pollak E, Buck C, Loscalzo J, Zimmerman G, McEver R et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders (Review). *Blood*. 1998; 91 (10): 3527-3561.
2. Aird WC. Spatial and temporal dynamics of the endothelium. *J Thromb and Haemost*. 2005; 3: 1392-1406.
3. The Margaux III Conference on critical illness: The endothelium an underrecognized organ in critical illness. Ed Dhainaut JF. *Crit Care Medicine*. 2002; 30 (5) Suppl.
4. Pober JS, Cotran RS. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev*. 1990;70:427-51.
5. Mann KG, van't Veer C, Cawthorn K, Butenas S. The role of tissue factor pathway in initiation of coagulation. *Blood coagulation Fibrinolysis* 1998; 9 (Suppl 1): S3-S7.
6. Franco RF, de Jorge E, Dekkers PE, Timmerman JJ, Spek CA, van Deventer SJ et al. The in vivo Kinetics of tissue factor messenger RNA expression during endotoxemia: relationship with activation of coagulation. *Blood*. 2000 Jul 15; 96(2): 554-559.
7. Solovey A, Gui L, Solovey AN, Harkness J, Hebbel RP. Modulation of endothelial cell activation in sickle cell disease: a pilot study. *Blood*. 2001;97:1937-41.
8. Kataoka H, Hamilton JR, McKemy DD, Camerer E, Zheng YW, Cheng A et al. Protease-activated receptors 1 and 4 mediate thrombin signaling in endothelial cells. *Blood*. 2003 Nov 1 102 9):3224-31.
9. Jaffe EA, Hoyer Lw, Nachman R. Synthesis of von Willebrand factor by culture human endothelial cells. *Proc Acad Sci USA*. 1974; 71: 1906-9.
10. Wagner DD, Bonfanti R: von Willebrand and the endothelium. *Mayo Clin Proc*. 1991, 99 1149-64.
11. Bourin M, Lindahl U. Glycosaminoglycans and the regulation of blood coagulation. *Biochem J*. 1993; 289: 313-330.
12. Esmon C. The roles of Protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem*. 1989; 264:4743-46.
13. Moore K, Esmon C, Esmon N. Tumor necrosis factor leads to internalization and degradation of thrombomodulin from the surface of bovine aortic endothelial cells in culture. *Blood*. 1989; 73:159-165.
14. Duboscq C, Lauricella A, Kordich L. Niveles de E- selectina y trombomodulina post oclusión venosa en individuos sanos. *Acta Bioquim Clín Latinoam*. 2001, sup1: 114.
15. Broze G. Tissue Factor Pathway inhibitor and the current concept of blood coagulation. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 1995;6:7-13.
16. Cesarman-Maus G, Hajjar K. Molecular mechanism of fibrinolysis. *British Journal of Haematology*. 2005; 129:307-321.
17. Biemond BJ, Levi M, ten Cate H, Vander Poll, Buller HR, Hack CE et al. Plasminogen activator and plasminogen inhibitor 1 release during experimental endotoxemia en chimpanzee: Effect of interventions in the cytokine and coagulation cascade. *Clin Sci*. 1995; 88(5): 587-94.
18. Rosemberg R, Aird W. Vascular bed specific hemostasis and hypercoagulable states (Revision). *New England J Medicine*. 1999; 340 (20): 1555-1562.
19. Aird W. Endothelial cell heterogeneity. *Crit Care Med*. 2003;31: S221-229.
20. Aird W. Endothelial cell dynamics and complexity theory. *Crit Care Med*. 2002; 30 (5): S180-S201.
21. Wagner D, Frenette P. The vessel wall and its interactions. *Blood*. 2008;111.5271-5281.
22. Duboscq C. Rol de la heterogeneidad endotelial en la regulación de la hemostasia. *Acta Bioquim Latinome*. 2006;40(3):317-25.
23. Rosendaal Fr. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet*. 1999;353:116-73.

24. Reinhart K, Bayer O, Brunkhorst F, Meisner M. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit Care Med.* 2002 Vol 30 (5):S302-312.
25. Kinasewitz G, Yan S, Basson B, Comp P, Russell James, Cariou A et al. Universal changes in biomarkers of coagulation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative microorganism (ISRCTN74215569). *Critical Care.* 2004; Vol 8 (2): R82-R90.
26. Duboscq C, Porterie P, Wainztein N, Kordich L. Interlukine and endothelial damage markers in septic patients. *Blood.* 94; 10 Supl 1:Res Nro 3477.
27. Hack CE, Zeerleder S. The endothelium in sepsis: Source and a target of inflammation. *Crit Care Med.* 2002; 29 (supl): S21-S27.
28. Blann A, Farrel A, Picton A, McCollum C. Relation between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery Disease. *Throm Res.* 2000; 97: 09-216.
29. Bonetti PO, Lerman Lo, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:168-75.
30. Haire W. Multiple organ dysfunction syndrome in hematopoietic stem cell transplantation. *Crit Care Med.* 2002; vol 30 (5):S257-S267.
31. Duboscq C, Bullorsky E, Shanley C, Stemmelin G, Ceresetto J, Rabinovich O. Evaluación del daño endotelial en la enfermedad de injerto contra huésped. *Hematología.* 2001, vol 5 (2): 165.
32. Quintana I, Duboscq C, Murúa A, Galarza C, Cámara M and Kordich L. High dermatan sulphate plasmatic levels in elderly individuals. *British Journal of Haematology.* 1998:102 (1): 357.
33. Upchurch G, Welch G, Loscalzo J. Homocysteine, EDRF and endothelial function. *J.Nutr.* 1996; 126: 1290S-1294S.
34. van Guldener C, Stehouwer C. Hyperhomocysteinemia vascular pathology and endothelial dysfunction. *Sem Throm Hemost.* 2000; 26 (3):128-289.
35. Ruoslati E. Specialization of tumor vasculature. *Nat Rev Cancer.* 2002;2:83-90.
36. St Croix B, Rago C, Velculescu V, Traverso G, Romans KE, Montgomery E et al. Genes expressed in human tumor endothelium. *Science.* 2000; 289:1197-202.
37. Jacobson S, Egberg N, Hylander B, Lundahl J. Correlation between soluble markers of endothelial dysfunction in patients with renal failure. *Am J Nephrol.* 2002; 22: 42-7.
38. Gaenzer H, Marschang P, Sturn W, Neumayr G, Vogel W, Patsch J, Weis G. Association between increased iron stores and impaired endothelial function in patients with hereditary hemochromatosis. *Jam Coll Cardiol.* 2002; 40:2189-94.
39. Targonski P, Bonetti P, Pumper G, Higano S, Holmes D, Lerman A. Coronary endothelial dysfunction is associated with an increased risk of cerebrovascular events. *Circulation.* 2003; 107: 2805-9.
40. Cherian P, Hankey G, Eikelboom J, Thom J, Baker RI, Nac Quillann A et al. Endothelial and platelet activation in acute ischemic stroke and its etiological subtypes. *Stroke.* 2003;34:2132-7.
41. Wheatcroft S, Williams I, Sha A, Kearne M. Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function. *Diabet Med.* 2003;(20):55-68.
42. Brindle NP, Saharinen P, Alitalo K. Signaling and functions of angiopoitin-1 in vascular protection. *Circ Res.* 2006; 98:1014-1023.
43. Jones PF. Not just angiogenesis: wider roles for angiopoietins. *J Patho.* 2003, 201:515-527.
44. Mancuso P, Calleri A, Bertolini F. Circulating endothelial cells and circulating endothelial progenitors. *Recent Results. Cancer Res.* 2012;195:163-70. doi: 10.1007/978-3-642-28160-0_14.
45. Mutunga M, Fulton B, Bullock R, Batchelor A, Gascoigne A, Gillespie JI, Boudouin SV. Circulating endothelial cells in patients with septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163 (1): 195-200.
46. Boldt J, Paspdorf M, Rothe A, Kumle B, Piper S. Changes of the hemostatic network in criti-

- cally ill patients –Is the difference between sepsis, trauma and neurosurgery patients. Crit Care Med. 2000; 28(2):445-450.
47. Jy W, Jimenez J, Horstman L, Mauro L, Bidot C, Yaniz M et al. Microparticles derived from platelets (PMP), endothelial (EMP) and leukocytes (LMP) exhibit distinctive hemostatic and inflammatory activities. Blood. 2005; 106 (11): 1029.
48. Rosenberg R, Aird W. Vascular-bed-specific hemostasis and hypercoagulable states. N England J Med. 1999;340 (20):1555-64
49. Comp P, Elrod J, Karzenski S. Warfarin-induced skin necrosis. Semin Thromb Hemost. 1990; 16: 293-8.
50. Isermann B, Hendrickson SB, Zogg M, Wing M, Cummiskey M, Kisanuki YY et al. Endothelium-specific loss of murine thrombomodulin disrupts the protein C anticoagulant pathway and cause juvenile-onset thrombosis. J Clin Invest. 2001; 108 (4): 537-46.