

A utilização da endotelina-1 como marcador de risco cardiovascular

The use of endothelin-1 as a marker of cardiovascular risk

Line Caroline M R Theodoro^a; Marco Aurélio F. Federige^a.

^a Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas
Campus Santo Amaro
Av. Santo Amaro, 1.239
Vila Nova Conceição – São Paulo – SP - Brasil

RESUMO

Atualmente se sabe que a disfunção endotelial ocorrer no início de doenças cardiovasculares em resposta a estímulos nocivos. Hoje com a ajuda de vários estudos se presume que a disfunção e a inflamação endotelial estão envolvidas com a produção excessiva de ET-1, corroborando o aumento das concentrações de ET-1 em pacientes com disfunção endotelial durante a evolução dos processos aterogênicos. Estas observações evidenciam fortemente o papel da ET-1, não apenas como um marcador precoce de disfunção endotelial, mas também como um componente essencial nos estágios iniciais do desenvolvimento da Aterosclerose. Esta revisão de literatura objetivou elucidar o papel da endotelina-1 como um marcador de risco cardiovascular para diagnóstico precoce do desenvolvimento da Aterosclerose em humanos.

Palavras-chaves: Aterosclerose, Disfunção endotelial, Endotelina-1, Marcador de risco Cardiovascular.

ABSTRACT

It is now known that endothelial dysfunction occurs in the early cardiovascular disease in response to noxious stimuli. Today, with the help of several studies it is assumed that endothelial dysfunction and inflammation are involved in the overproduction of ET-1, confirming the concentrations of ET-1 in patients with endothelial dysfunction during the development of the atherogenic process. These observations strongly demonstrate the role of ET-1, not only as an early marker of endothelial dysfunction, but also as an essential component in the initial stages of the development of atherosclerosis. This literature review aimed to elucidate the role of endothelin-1 as a cardiovascular risk marker for early diagnosis of the development of atherosclerosis in humans.

Keywords: Atherosclerosis, endothelial dysfunction, Endothelin-1 cardiovascular risk marker.

Introdução

A aterosclerose é uma doença inflamatória progressiva crônica de origem multifatorial, possuindo como característica a formação de ateromas no interior de todos os vasos sanguíneos. Os ateromas, também conhecidos como placas ateromatosas ou ateroscleróticas são constituídas principalmente de lipídios, cálcio e tecido fibroso, que se alojam no interior dos vasos ¹.

Para que haja a formação dos ateromas, é necessário que se inicie uma agressão na parede interna das artérias chamada de lesão endotelial. Esta lesão ocorre devido a vários fatores de riscos como, elevação de lipoproteínas aterogênicas (principalmente a LDL), diabetes, tabagismo, sedentarismo, hipertensão arterial ou obesidade ².

Como consequência, essas células agredidas associadas aos fatores de risco aumentam a produção e a utilização de endotelina que tem ação vasoconstritora (aterogênica), diminuem a produção e a utilização de Óxido Nítrico (NO) que tem ação vasodilatadora (antiaterogênica) e diminuem também a produção e utilização de substâncias que previnem a adesão de plaquetas e monócitos, sendo a endotelina e (NO) produzidos pelas próprias células endoteliais ³.

Com isso, aumenta-se a permeabilidade da camada íntima arterial para as lipoproteínas plasmáticas, favorecendo assim a sua concentração no espaço subendotelial. Retidas, neste espaço as LDLs sofrem oxidação e expressam diversos neo-epítomos que realizam a ativação do sistema imunológico ¹⁻².

O depósito de lipoproteínas na parede interna das artérias ocorre de maneira proporcional à concentração das mesmas no plasma. Além do aumento da permeabilidade das lipoproteínas, outra manifestação da disfunção endotelial é o aparecimento de moléculas que estimulam a adesão leucócitos na superfície endotelial, processo que ocorre pela presença de LDL oxidada. As citocinas

são responsáveis pela atração de monócitos e linfócitos para a parede da artéria. Induzidos por proteínas quimiotáticas, os monócitos migram para o espaço subendotelial onde se diferenciam em macrófagos, que por sua vez captam as LDL oxidadas. Como o LDL oxidado é uma substância tóxica para os macrófagos, eles acabam morrendo, formando assim, as estrias gordurosas, chamados de células espumosas, indicando o início da formação da placa de ateroma ⁴.

Contudo, para que essa lesão ateromatosa evolua, existem mediadores de inflamação que estimulam a migração e proliferação de células musculares lisas da camada média para a camada íntima arterial. Essas células passam a produzir fatores de crescimento e se multiplicam por divisão celular, produzindo matriz extracelular e o crescimento do ateroma. As células musculares lisas também podem se transformar em fagócitos e junto com os macrófagos sanguíneos produzir proteinases e collagenases que atuam na fragilização da membrana basal, facilitando a ruptura e exposição da placa de ateroma na luz arterial ²⁻³.

O núcleo desta placa é constituído de tecido necrótico rico em células espumosas e colesterol que são envolvidos por uma capa de tecido fibroso rico em colágeno. Podem ser classificadas como ateromas moles ou instáveis ou ateromas duros ou estáveis. Esse depósito de lipídios e proliferação celular pode tornar-se tão grande que as placas começam a se destacar na luz da artéria reduzindo muito o fluxo de sangue chegando, às vezes até obstruir completamente o vaso ⁵.

As placas estáveis são envolvidas por colágeno, que se apresentam primeiramente com uma capa fibrosa espessa na sua superfície, inúmeras células inflamatórias na sua parte mediana e com núcleo lipídico de proporção menor, sendo a capa de tecido fibroso espesso gerador da estabilidade. Já as placas instáveis apresentam primeiramente em sua borda lateral, intensa atividade inflamatória, alta atividade proteolítica em sua camada mediana e um

núcleo lipídico evidente envolto por uma capa de tecido fibroso, sendo essa intensa atividade inflamatória a causa da instabilidade da placa ⁶.

Dessa maneira as artérias ateroscleróticas perdem sua distensibilidade vascular, devido às áreas de degeneração na camada íntima, podendo sofrer rompimentos, formação de trombos ou coágulos. Esta patologia se torna fatal quando atinge locais do corpo humano que resistem por poucos minutos sem a presença de oxigênio como:

- Obstrução das artérias carótidas, podendo causar acidente vascular cerebral (Derrame).
- Obstrução das artérias coronárias, podendo causar dor no peito, angina ou infarto.
- Obstrução das artérias que irrigam as pernas (femoral, poplítea, tibial), podendo causar dor ao caminhar, claudicação intermitente, gangrena.
- Obstrução das artérias que irrigam os rins podendo causar serias complicações, inclusive à morte ⁵⁻⁶.

Esta revisão de literatura objetivou elucidar o papel da endotelina-1 como um marcador de risco cardiovascular para diagnóstico precoce do desenvolvimento da Aterosclerose em humanos.

Metodologia

Este estudo foi construído através do levantamento de dados encontrados na literatura já existente. Foram realizadas pesquisas bibliográficas por meio de artigos dispostos na Biblioteca da Faculdade Metropolitanas Unidas FMU, campus Santo Amaro, nas bases de dados da SCIELO, PUBMED E BIREME onde foram consultados artigos originais e de revisão sobre o tema Endotelina-1 e sua utilidade como marcador de risco cardiovascular, revistas online e Internet.

Características das endotelinas

A endotelina (ET) foi identificada pela primeira vez em 1.985 e sequenciada no ano de 1.988, desde então vários estudos são feitos para se descobrir mais sobre sua função e seu envolvimento em algumas doenças ⁷.

Segundo Yanagisawa em 1.988, et al, a ET possui 21 -peptídeo aminoácido, sendo considerado um potente vasoconstritor, seu efeito é grandioso comparando com angiotensina II. Atualmente se sabe da existência de três isoformas (ET-1, ET-2 e ET-3), esta família de peptídeos vasoconstritores é produzida em vários tecidos, com a função de moduladores do tônus vascular, proliferação celular e produção hormonal ⁷⁻⁸.

Já a ET-2 é sintetizada primordialmente nos rins e em pequena quantidade no intestino, no miocárdio, placenta e útero. Porém sua função em seres humanos não está bem esclarecida. A isoforma ET-3 é sintetizada em maior quantidade no cérebro e em menor quantidade no trato gastrointestinal, pulmões e rins. Tem função reguladora dos neurônios e dos astrócitos ⁸⁻⁹.

Apenas a ET-1 é produzida pelas células endoteliais sendo ela a pioneira na disfunção endotelial. Em pequena quantidade a ET-1 é produzida também por células musculares lisas. Estudos mostram que estímulos como fatores de risco para aterosclerose, hipertensão, diabetes ou tabagismo, induzem em minutos a produção e liberação deste peptídeo ¹⁰.

Dentre os outros, a ET-1 é o único que possui liberação por duas vias secretoras:

Uma ocorre pelas células endoteliais, que liberam continuamente ET-1 para manutenção do tônus vascular endógeno e o restante da ET-1 que não foi utilizada é armazenado em células endoteliais na forma de grânulos, sendo eles liberados quando se tem um estímulo fisiológico, estímulo esse que contribui para uma maior vasoconstrição quando associados ¹¹⁻¹².

A concentração plasmática da ET-1 é muito baixa. Muitos estudos correlacionam os níveis de ET-1, apesar de serem baixos, com a presença de diversas doenças como DM tipo2, doenças cerebrovasculares, entre outras e seu papel como biomarcador precoce para doenças cardiovasculares ¹².

Para que as ETs atinjam tecido-alvos, elas necessitam de sinalizadores que são os receptores. Os receptores do tipo A (ET-A) são abundantes em células do músculo liso vascular e nos miócitos cardíacos. Apresentando afinidade 10x maior com a ET-1 do que para as outras isoformas, sendo por meio deste receptor que a ET-1 age, produzindo vasoconstrição e proliferação celular das células musculares lisas do vaso. Os receptores do tipo B (ET-B) tem predominância nas células endoteliais e em menor proporção em células do músculo liso vascular, apresentando afinidade pelas três isoformas de ET. Este receptor ET-B quando ativado libera em primeiro momento substâncias vasodilatadoras, como óxido nítrico (NO) e a prostaciclina, levando inicialmente a uma vasodilatação e em seguida a uma vasoconstrição, como mostra a Figura1 ¹¹⁻¹²⁻¹³.

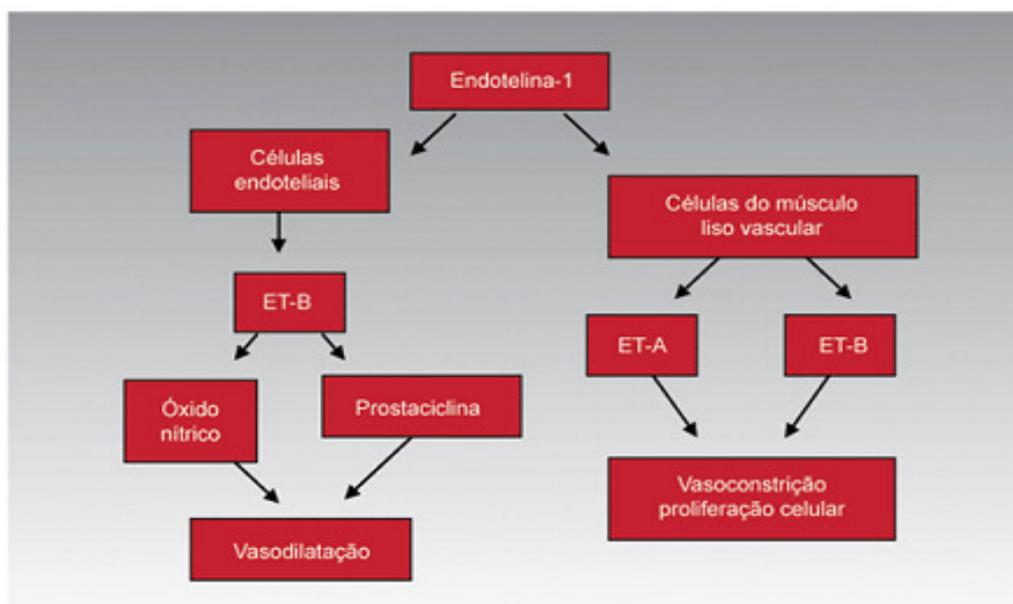


Figura 1. Ação da endotelina pelos receptores ET-B das células endoteliais causando vasodilatação, e pelos receptores ET-A e ET-B das células do músculo liso vascular causando vasoconstrição.

O papel da endotelina-1 na aterosclerose

Já se sabe que a disfunção endotelial ocorrer no início de doenças coronarianas em resposta a estímulos nocivos. Além desta disfunção, a inflamação é também compreendida a ter um papel muito importante nesta fase, fazendo com que dure por longos períodos a precocidade da doença e os sintomas agravantes ¹⁴.

Hoje com a ajuda de vários estudos se presume que a disfunção endotelial e a inflamação estão envolvidas com a produção excessiva de ET-1. Estímulos como a concentração de LDL-colesterol e glicose, obesidade, envelhecimento, fatores pro-coagulantes entre outros, induzem os receptores de ET-1 a realizar a vasoconstrição, a estimular células como macrófagos para o endotélio vascular e a estimular ainda mais a síntese de ET-1 ¹⁵⁻¹⁶.

Níveis elevados de ET-1 têm sido documentados em doentes com aterosclerose – especialmente na doença coronária - com elevações normalmente decorrentes nos estágios iniciais da doença ¹⁶.

Em um estudo de pacientes com aterosclerose coronariana precoce, Lerman et al, em 2010, investigaram a disfunção endotelial quantificando a resposta vasoconstritora do endotélio vascular em 20 pacientes submetidos ao diagnóstico de angiografia. Eles relataram que concentrações elevadas de ET foram associadas com o aumento do dano endotelial. Além disso, a disfunção endotelial aumentou ainda mais as concentrações de ET que foi associado com a vasoconstrição coronária ¹⁶⁻¹⁷.

Estas observações evidenciam fortemente o papel da ET não apenas como um marcador precoce de disfunção endotelial, mas também é um componente essencial nos estágios iniciais da aterosclerose. Porém, ainda existem poucos dados que descrevem o papel da ET na aterosclerose ¹⁸.

A utilização da endotelina-1 como marcador de risco cardiovascular.

O aumento das concentrações de ET-1 em pacientes com disfunção endotelial pode representar aumento da produção e liberação de ET-1 pela parede vascular durante a evolução do processo aterogênico. Esta observação é suportada por estudos in vitro que demonstraram que fatores pró-aterogênicos, tais como o LDL oxidado pode induzir a produção e liberação de ET-1, que são fatores que se elevam nas lesões ateroscleróticas ¹⁹.

Este peptídeo tem meia vida plasmática que dura cerca de 4 a 7 minutos. Para realizar a dosagem da ET-1 sérica, é necessária ter uma coleta cuidadosa da amostra para evitar a degradação deste peptídeo ¹⁸⁻¹⁹.

Para realizar a dosagem deste peptídeo utilizava-se a técnica de radioimunoensaio. Atualmente se utiliza a técnica de ELISA, Kit High Sensitivity (Phoenix Pharmaceuticals INC, USA) para obter dosagens dos níveis plasmáticos de ET-1 ²⁰.

Embora tenhamos cada vez uma melhor compreensão do papel causal das ETs em doenças que envolvam vasoconstrição anormal, estudos fornecem uma visão mais biológica para um novo alvo de intervenção terapêutica, tais como os antagonistas dos receptores de ET-1 e inibidores específicos da enzima conversora de ET-1. Apoiando fortemente o papel da ET-1 como um participante no início e marcador de aterosclerose e disfunção endotelial em humanos ²⁰⁻²¹.

Discussão

Este estudo demonstra que a presença de aterosclerose precoce e fatores de risco cardiovasculares são características de uma disfunção endotelial arterial coronariana e resistência coronariana. No entanto, os mecanismos exatos da danificação do endotélio não podem ser deduzidos neste estudo ^{14, 15, 19}.

De acordo com Zeiher e Egashira, 2009, sugeriram que a agressão a função endotelial coronária pode ser secundário a um aumento das concentrações de substâncias vasoconstritoras que podem ser ativadas nas lesões ateroscleróticas ou, alternativamente, que o efeito dilatador de substâncias como as prostaciclina e acetilcolina são contrabalançadas pela liberação permanente de um fator inibidor derivado do endotélio^{20, 22}. As observações em nosso estudo estão de acordo com estes mecanismos sugestivos. Pode-se especular que, durante a aterosclerose coronária precoce, um desequilíbrio entre a produção e liberação de moléculas vasoconstritoras e vasodilatadoras ocorre levando à produção aumentada e liberação de endotelina-1 e potencialização de suas ações vasoconstritoras²¹.

Uma das hipóteses alternativas é que a endotelina-1 pode ser liberada secundariamente a vasoconstrição coronariana induzida pelas moléculas vasodilatadoras, prostaciclina, e podem estar relacionadas com a hipóxia do tecido, diminuindo a tensão cisalhamento e isquemia do miocárdio que estimulam a liberação de endotelina-1 a partir do leito vascular coronário¹².

O aumento nas concentrações de endotelina-1 após a disfunção do endotélio arterial pode desempenhar um papel fisiológico e fisiopatológico importante na regulação do fluxo coronário, porque uma dose baixa de endotelina-1 intracoronária produz constrição coronária significativa e isquemia miocárdica. Parece razoável considerar que endotelinas agem principalmente como hormônios locais, e que os níveis plasmáticos circulantes observados em nosso estudo subestimam as concentrações locais de endotelinas e de tecido coronariano^{9,10,15}. Embora tenhamos uma cada vez melhor compreensão do papel causal das endotelinas em doenças que envolvam vasoconstrição anormal, o estudo fornece uma visão mais biológica para um novo alvo para intervenção terapêutica, tais como os antagonistas dos receptores de endotelina e inibidores específicos da enzima conversora de endotelina^{11, 16,18}.

Conclusão

Em resumo, o presente estudo demonstra que a aterosclerose coronária precoce em humanos é caracterizada por um aumento da circulação de endotelina-1 e diminuição de mensageiros vasodilatadores como as prostaciclina que são associados com a disfunção endotelial coronária. Este estudo avança o conceito de que a disfunção endotelial e a aterosclerose são caracterizadas por um desequilíbrio entre vasodilatador derivado do endotélio e fatores vasoconstritores. Este estudo também apoia fortemente o papel da endotelina como um participante no início e marcador de aterosclerose coronariana e disfunção endotelial coronariana em humanos. Em resposta a estas afirmações podemos afirmar que este tema necessita de muita pesquisa e atenção. Atualmente não se existe valores de referencias exatos para a dosagem deste peptídeo e claro, ele ainda não é utilizado na rotina laboratorial. Metodologias futuras iram surgir e verão que este assunto pode servir de auxilio importante na descoberta precoce de doenças coronarianas, trazendo não só benefícios para os pacientes, como também para os profissionais da área da saúde.

Referencias

1. Raichlin JR; Rossi PM; Colonna S; Pavan A; Albertin G; Rocca DF; Gerosa DE; et al, Evaluation of Multiple Biomarkers of Cardiovascular Stress for Risk Prediction and Guiding Medical Therapy in Patients with Stable Coronary Disease, American Heart Association. 2008; 34: 389-400.
2. Neto MN; Gottlieb MA; Bonardi FA, Plasma Endothelin-1 Level Is a Predictor of 10-Year Mortality in a General Population, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2007; 4: 200-215.
3. Dhaun LO; Welty F; Raichlin AB; Prasad A; Mathew V; Kent B; et al, IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, São Paulo, 2009.
4. Maranhão HN; Holmes EA; Pumper AME, C-reactive protein promotes vascular endothelial dysfunction partly via activating adipose

tissue inflammation in hyperlipidemic rabbits, *International Journal of Cardiology*. 2013; 9: 2003-2010.

5. Abdel-Sayed S, Zanatta MC, Silveiro SP, Canani LH, Burttet L, Nabinger G, et al. Measurement of plasma endothelin-1 in experimental hypertension and in healthy subjects. *Journal of the Hypertension*. 2009; 16: 515-522.

6. Rossi, GP; Gross LM, Endothelin-1 and Its mRNA in the Wall Layers of Human Arteries Ex Vivo, *American Heart Association*. 2009; 99: 1147-1155.

7. Böhm, F; Pernow J, The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease, *Cardiovascular Research*, 2007; 76: 80- 85.

8. Xiao HY; Chang FY; Zhang WD; Yin K; Tang K C, Foam cells in atherosclerosis, *Clinical Chimica Acta*. 2013; 20: 245-252.

9. Lerman A ; Souza AI; Lottenberg AMP; Chacra AP; Faludi AA; Loures-Vale AA; et al, Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in hypercholesterolemic pigs, *American Heart Association*. 1993; 88: 2923-2928.

10. Milnerowicz S; Wu E; Gomez ED, Plasma Endothelin-1 Levels in Pancreatic Inflammations, *Rev. Clinical Exp. Medical*. 2013; 3: 361-368.

11. Loomis ED; Sullivan AL; Osmond ED; Pollock DM; Pollock JS, Endothelin Mediates Superoxide Production and Vasoconstriction through Activation of NADPH Oxidase and Uncoupled Nitric-Oxide Synthase in the Rat Aorta, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2005; 5: 1058-1064.

12. Fiuzza M; Carvalho AC; Duncan B; Gelonese B; Polanczyk C; Scherr C; et al, Metabolic syndrome and coronary artery disease, *Portuguese Journal of Cardiology*. 2012; 12: 779-782.

13. Kitada K; Armaganijan CKD; Moriguchi E; Saraiva F; Pichetti G; Toros HX; et al, Inhibition of Endothelin ETB Receptor System Aggravates Neointimal Hyperplasia after Balloon Injury of Rat Carotid Artery, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2009; 9: 331- 346.

14. Davenport J; Borges JL; Diament J; Guimarães JI; Santos JE; Lima JG; et al, Increased response to big endothelin-1 in atherosclerotic human coronary artery: functional evidence for up-regulation of

endothelin-converting enzyme activity in disease, *British Journal of Pharmacology*. 1998; 125: 238-240.

15. Miralles JH; Vieira JL; Novazzi EA; Rocha FNJ; Bricarello LP; Bodanese LC; et al, Onset of peripheral arterial disease: role of endothelin in endothelial dysfunction, *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2010; 10: 760-765.

16. Krinsk EL; Introcaso EA; Malachias EC, Plasma C-Terminal Pro-Endothelin-1 is Associated with Left Ventricular Mass Index and Aortic Root Diameter in African American Adults with Hypertension, *Journal of Hypertension*. 2007; 25: 106-113.

17. Bourque SL; Magalhães MAI; Schmidt ME; Scartezini MN; Foppa FB; Forti NA; et al, The interaction between endothelin-1 and nitric oxide in the vasculature: new perspectives. *Journal International Comp. Physiology*. 2011; 30: 1100-1295.

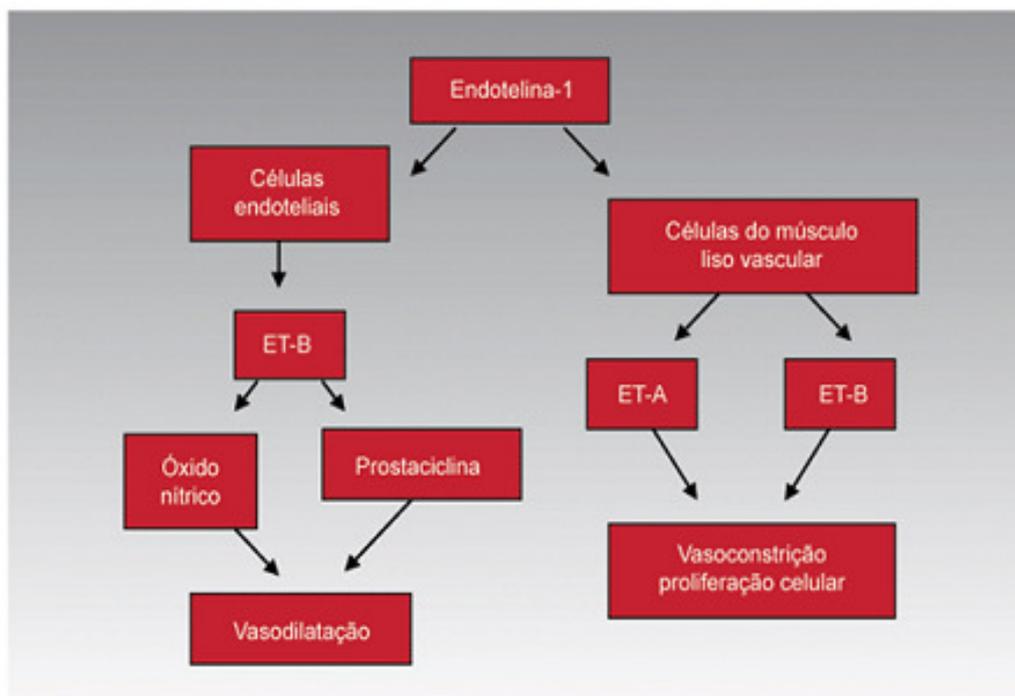
18. Jankowska EA; Berwanger, Identification of chronic heart failure patients with a high 12- month mortality risk using biomarkers including plasma C-terminal pro-endothelin-1. *Rev. Drug Discov*. 2008; 10: 986-1001.

19. Iglarz M; Gebara GE; Rizzi OC; Maranhão RC; Perim TE; Kaiser e; et al, Pharmacology of macitentan, an orally active tissue-targeting dual endothelin receptor antagonist. *Journal Pharmacol Exp Ther*. 2008; 32: 736-745.

20. Dimitrijevic I; Ihara M; Carvalho T; Martinez LRT; Relvas WAL; Salgado W; et al, Increased expression of vascular endothelin type B and angiotensin type 1 receptors in patients with ischemic heart disease, *BMC Cardiovasc Disord*. 2009; 9: 40-45.

21. Jin Z; Luxiang C; Sposito AH; Caramelli AE; Fonseca FAH; Bertolami MC; et al, C-338A polymorphism of the endothelin-converting enzyme-1 gene and the susceptibility to carotid atherosclerosis. *Microvasc, Rev. International cardiologic*. 2009; 78: 128- 131.

22. Zeiher AM, Drexler H, Wollschäger H. Modulação do tônus vasomotor coronariano em humanos: a disfunção endotelial progressiva, com diferentes estágios precoces da aterosclerose coronária. *Rev. Circulation* . 2009 ;83 : 391 -401.

**FIGURA 1**

13. Kitada K; Armaganijan CKD; Moriguchi E; Saraiva F; Pichetti G; Toros HX; et al, Inhibition of Endothelin ETB Receptor System Aggravates Neointimal Hyperplasia after Balloon Injury of Rat Carotid Artery, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2009; 9: 331- 346.