

Endotélio Arterial e Aterotrombogénese II - Disfunção endotelial e desenvolvimento das lesões aterotrombóticas [87]

J. MARTINS E SILVA, CARLOTA SALDANHA

Unidade de Biopatologia Vascular do Instituto de Medicina Molecular, e
Instituto de Biopatologia Química da Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

Rev Port Cardiol 2006; 25 (12): 1159-1186

RESUMO

Quando prevalecem os factores de risco cardiovascular, o fenotipo endotelial evolui para um estado disfuncional sistémico caracterizado por diminuição da vasodilatação endotelial-dependente e pela expressão de sinais pró-inflamatórios, pró-coagulantes, pró-oxidantes e proliferativos. No conjunto, aquelas alterações originam anomalias da perfusão, favorecem o desenvolvimento e progressão da aterosclerose, e estão na origem de eventos cardiovasculares de natureza aterotrombótica. Há evidência de que a disfunção endotelial é um factor predizente de risco e prognóstico dos eventos cardiovasculares, o que torna muito recomendável a caracterização do estado da função endotelial em todos os indivíduos susceptíveis, como medida preventiva da doença aterosclerótica e ou para orientação e acompanhamento de terapêuticas anti-aterogénicas e das complicações aterotrombóticas.

Palavras-Chave

Disfunção endotelial; Inflamação; Rigidez arterial; Aterosclerose; Trombogénese; Evento cardiovascular

Abreviaturas (ou fórmulas químicas) utilizadas no texto (Nomenclatura anglo-saxónica):

- Akt/PkB: homologue of the Akt oncoprotein viral/protein kinase B
- ET-(1, 2 ou 3) (s): Endothelin-(1, 2 ou 3)
- FgF-β: Fibroblast growth factor-β

ABSTRACT

Arterial Endothelium and Atherothrombogenesis II - The role of endothelial dysfunction in atherothrombotic lesions

When cardiovascular risk factors prevail, the endothelial phenotype evolves to a dysfunctional state that is characterized by decreased endothelial-dependent vasodilation and the expression of proinflammatory, procoagulant, pro-oxidant and proliferation signals. Together, these alterations cause perfusion anomalies, promote the development and progression of atherosclerosis, and lead to atherosclerotic cardiovascular events. There is evidence that endothelial dysfunction is a predictor and prognostic risk factor of cardiovascular events, and characterization of the state of endothelial function in all susceptible individuals is strongly recommended as a preventive measure against atherosclerotic disease and to guide and monitor antiatherogenic treatment and atherosclerotic complications.

Key words

Endothelial dysfunction; Inflammation; Arterial stiffness; Atherosclerosis; Thrombogenesis; Cardiovascular event

Abbreviations used in the text:

- Akt/PKB: homologue of Akt viral oncoprotein/protein kinase B
- ET-1, 2 and 3: Endothelin-1, 2 ou 3
- FgF-β: Fibroblast growth factor-β
- IKB: Inhibitors of KB

- IKB: Inhibitors of KB
- IKK: Inhibitors of KB kinase
- IL: Interleukin (p.ex., IL-1 β , IL-6)
- JNK: c-Jun NH₂ terminal kinase
- LDL (cholesterol): Low density lipoproteins
- LDL ox: Oxidised low density lipoproteins
- MAP3K ou MAPKKK - Mitogenic activated protein 3 kinase (ou kinase kinase kinase)
- MAPK: Mitogenic activated protein kinase
- MCP-1: Monocyte chemoattractant protein-1
- NADP(H): Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced)
- NF-kB: Nuclear factor kinase β
- NO: Nitric oxide (monóxido de azoto)
- NOS: Nitric oxide synthase (eNOS: endothelial; nNOS: neuronal; iNOS: induced)
- O₂⁻: Superoxide anion
- ONOO⁻: Peroxynitrite
- PAF: Platelet activator factor
- PDGF: Platelet derived growth factor
- PDK-1,2: Phosphoinositide-dependent kinases-1 ou 2
- PGH₂: Prostaglandin H₂
- PGI₂: Prostacyclin-2
- P13-K: Phosphatidylinositol 3-kinase
- PKB: Protein kinase B
- Rac: Ras-related C₃ botulinum toxin substrate
- Ras: Rat sarcoma (protein, gene superfamily)
- Rho: Ras homologous
- SAPK: Stress activated protein kinase
- TGF- β : Transforming growth factor- β
- TNF- α : Tumour necrosis factor- α
- TXA₂: Thromboxan A₂
- VEGF: Vascular endothelial growth factor

- IKK: Inhibitors of KB kinase
- IL: Interleukin (p.ex., IL-1 β , IL-6)
- JNK: c-Jun NH₂ terminal kinase
- LDL (cholesterol): Low density lipoprotein
- MAP3K ou MAPKKK - Mitogen-activated protein 3 kinase (ou kinase kinase kinase)
- MAPK: Mitogen-activated protein kinase
- MCP-1: Monocyte chemoattractant protein-1
- NADP(H): Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced)
- NF-kB: Nuclear factor kinase β
- NO: Nitric oxide (monóxido de azoto)
- NOS: Nitric oxide synthase (eNOS: endothelial; nNOS: neuronal; iNOS: induced)
- O₂⁻: Superoxide anion
- ONOO⁻: Peroxynitrite
- oxLDL: Oxidized low density lipoprotein
- PAF: Platelet activating factor
- PDGF: Platelet-derived growth factor
- PDK-1 and 2: Phosphoinositide-dependent kinases 1 and 2
- PGH₂: Prostaglandin H₂
- PGI₂: Prostacyclin-2
- P13-K: Phosphatidylinositol 3-kinase
- PKB: Protein kinase B
- Rac: Ras-related C₃ botulinum toxin substrate
- Ras: Rat sarcoma (protein, and gene superfamily)
- Rho: Ras homologous protein
- SAPK: Stress-activated protein kinase
- TGF- β : Transforming growth factor- β
- TNF- α : Tumor necrosis factor- α
- TXA₂: Thromboxane A₂
- VEGF: Vascular endothelial growth factor

Nesta segunda parte de revisão sobre a participação do endotélio arterial no desenvolvimento das lesões ateroscleróticas será abordado, sucintamente, um conjunto de novos factos e mecanismos potenciais que, centrados na disfunção endotelial ou exercidos a nível mais global, estão a relançar outras possíveis explicações sobre a patogénese da aterosclerose em geral, e da cardiopatia isquémica em particular.

DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

Alterações estruturais e funcionais

O termo *disfunção endotelial* pretende

In the second part of this review, on the role of arterial endothelium in the development of atherosclerotic lesions, we will give a brief overview of new findings that suggest possible mechanisms related specifically to endothelial dysfunction or acting at a wider level that could explain the pathogenesis of atherothrombosis in general and ischemic heart disease in particular.

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

Structural and functional alterations

The term 'endothelial dysfunction' describes changes in the functional expression of the

caracterizar uma mudança na expressão funcional do endotélio, na sequência de um estímulo fisiopatológico^(1,2).

As características fisiológicas e fisiopatológicas do meio modulam a dinâmica e plasticidade do fenotipo (funcional ou disfuncional) do endotélio (*Fig. 1a*)⁽¹⁻³⁾. Além daqueles factores, o estado do endotélio reflecte a predisposição genética de cada indivíduo, pelo que a disfunção endotelial será um factor predizente independente de risco cardiovascular, contudo modificável por estratégias terapêuticas adequadas^(4,5).

Do conjunto de trabalhos desenvolvidos sobre o assunto nas últimas duas décadas, resultou o conceito de que a disfunção endotelial representa um síndrome sistémico⁽⁶⁾ que abrange não só a íntima vascular mas também toda a parede vascular (incluindo a adventícia), a medula óssea e as células endoteliais progenitoras.⁽⁷⁾

Entre as alterações mais comuns da disfunção endotelial (*Quadro I*) destacam-se o aumento da permeabilidade do endotélio às lipoproteínas plasmáticas, a maior adesividade para leucócitos e plaquetas, e o desequilíbrio entre os diversos factores com acção antagónica que são secretados pelo endotélio (p.ex., pró e anti-trombóticos, vasodilatadores, vasoconstritores, inibidores e activadores do crescimento celular)^(7,8). Estas modificações poderão preceder alterações na integridade estrutural do endotélio.

Quadro I

Disfunção endotelial (Principais características e consequências)

- Processo sistémico potencialmente reversível
- Promove o processo inflamatório vascular
- Participa na patogénese das lesões iniciais e na progressão da aterosclerose
- Contribui para a vulnerabilidade da placa de ateroma e respectiva ruptura
- Favorece a trombogénese
- Precipita a vasoconstrição
- Participa no desenvolvimento da rigidez vascular
- Predizente (independente) de factores de risco cardiovascular
- Predizente da evolução desfavorável de eventos cardiovasculares
- Contribui para o aumento da morbidade e mortalidade de causa aterosclerótica

endothelium following a pathophysiological stimulus^(1,2).

The physiological and pathophysiological characteristics of the environment modulate the dynamics and plasticity of functional or dysfunctional endothelium (*Fig. 1a*)⁽¹⁻³⁾. Besides these factors, the state of the endothelium reflects the genetic predisposition of the individual, and hence endothelial dysfunction is an independent predictor of cardiovascular risk, albeit modifiable by appropriate therapeutic strategies^(4,5).

A series of studies on the subject over the past twenty years have led to the conclusion that endothelial dysfunction is a systemic syndrome⁽⁶⁾ that involves not only the intima but the entire vessel wall including the adventitia, bone marrow, and endothelial progenitor cells⁽⁷⁾.

Among the most common alterations in endothelial function (*Table I*) are increased permeability to plasma lipoproteins, enhanced adhesiveness to leukocytes and platelets, and imbalances between the various antagonistic substances secreted by the endothelium, including prothrombotic and antithrombotic factors, vasodilators, vasoconstrictors, and inhibitors and activators of cell growth^(7,8). These changes may precede alterations in the structural integrity of the endothelium.

Table I

Endothelial dysfunction

(Main characteristics and consequences)

- Potentially reversible systemic process
- Promotes vascular inflammation
- Contributes to the pathogenesis of initial lesions and progression of atherosclerosis
- Increases plaque vulnerability and the likelihood of rupture
- Promotes thrombogenesis
- Triggers vasoconstriction
- Contributes to the development of vascular stiffness
- Independent predictor of cardiovascular risk
- Predictor of unfavorable outcome of cardiovascular events
- Contributes to increased atherosclerotic morbidity and mortality

From the moment that the normal adaptive processes become unbalanced and lose their effectiveness, a process is initiated that leads, for example, to increasing procoagulant tendencies at the expense of antithrombotic mechanisms

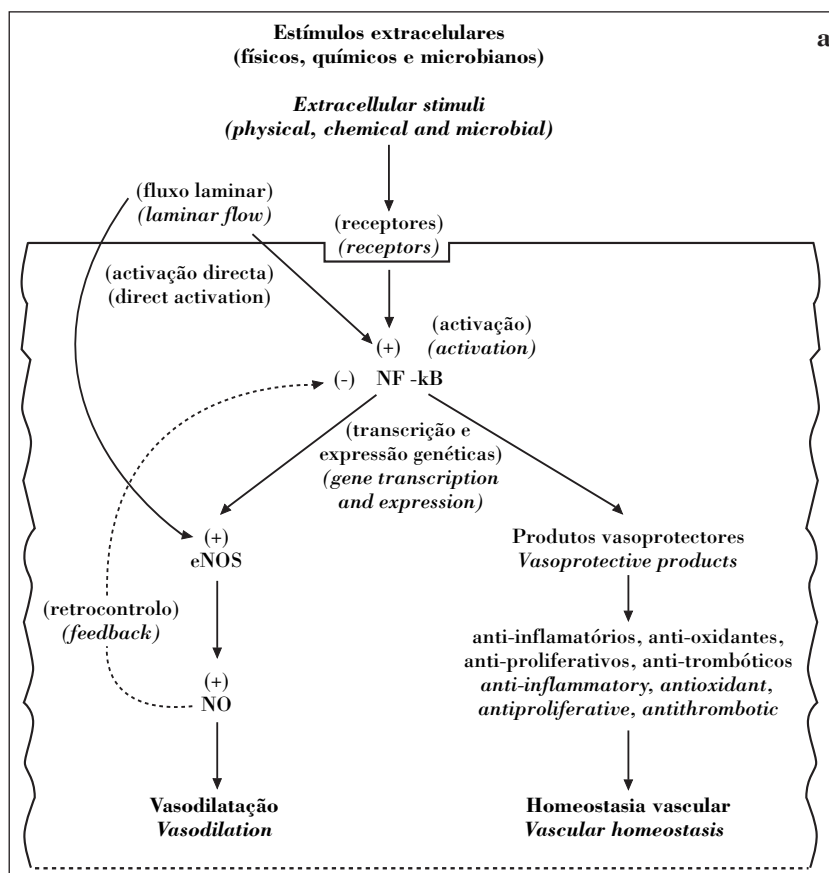


Figura 1. Resposta vascular mediada pelo sistema NF-kB, em condições fisiológicas e na disfunção endotelial

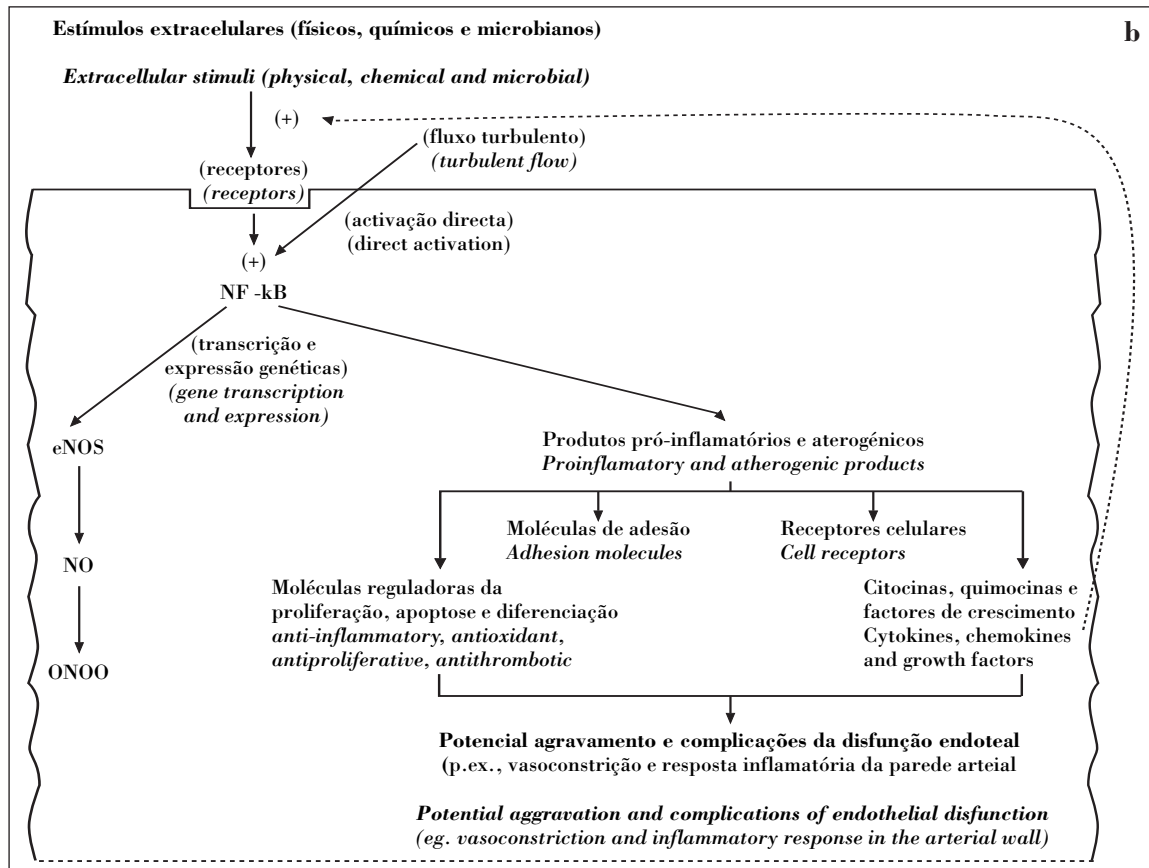
(a) Em condições fisiológicas, o sistema NF-kB ativado por estímulos extracelulares (p.ex., forças hemodinâmicas, citocinas, angiotensina II, produtos da glicosilação avançada das proteínas LDL-ox) induz (transitoriamente) a transcrição e expressão genéticas da eNOS, de que resulta o aumento da formação de NO, com subsequente vasodilatação. A ativação do NF-kB ocorre nas células endoteliais e no músculo liso vascular das artérias. O stress (p.ex., hemodinâmico e outros tipos de agressão ambiental) pode ativar directa e simultaneamente o NF-kB e as formas enzimáticas pré-existentes da eNOS, deste modo potenciando o aumento da produção de NO. Em qualquer dos casos, a concentração de NO inibe, ao fim de alguns minutos (por retrocontrole), a activação da NF-kB. Tem sido proposto que o fluxo laminar também reduz, através da activação da NF-kB, a indução coordenada de um conjunto de genes endoteliais que codificam a expressão de diversas substâncias com acção vasoprotectora (anti-inflamatórias, anti-trombóticas, anti-oxidantes e anti-proliferativas). Porém, devido ao curto tempo de acção e devido à actuação daquele ciclo auto-regulador, a expressão de outros genes dependentes da forma activada da NF-kB é igualmente intermitente.

Figure 1. Vascular response mediated by the NF-kB system in physiological conditions and in endothelial dysfunction

(a) Under normal conditions, the NF-kB system, when activated by extracellular stimuli such as hemodynamic forces, cytokines, angiotensin-II or products of advanced glycosylation of oxLDL proteins, induces transient transcription and expression of eNOS, resulting in increased NO formation and hence vasodilation. NF-kB is activated in endothelial cells and smooth muscle cells in arteries. Stress, whether hemodynamic or arising from environmental factors, can activate NF-kB and pre-existing forms of eNOS directly and simultaneously, thus further potentiating NO production. In all cases, higher NO concentrations inhibit NF-kB activation after a few minutes by a feedback mechanism. It has been suggested that laminar flow also activates NF-kB and induces the coordinated expression of a series of endothelial genes that code for various vasoprotective substances with anti-inflammatory, antithrombotic, antioxidant and antiproliferative properties. However, due to the short duration of the effect and the action of this self-regulating cycle, the expression of other genes that depend on activated NF-kB is also intermittent.

A partir do momento em que os processos adaptativos perdem eficácia, desequilibrando-se num dado sentido, a situação adquire expressão própria, p.ex., aumenta a tendência pró-coagulante em desfavor dos mecanismos antitrombogénicos (Fig. 1b). Neste caso a disfunção endotelial é suficiente para originar um evento trombótico agudo ou evoluir para uma

(Fig. 1b). When this happens, endothelial dysfunction may be sufficient to trigger an acute thrombotic event or may evolve to a chronic, localized or diffuse condition⁽⁹⁻¹¹⁾ by inducing a series of interactions between the intima and blood constituents, followed by activation of coagulation cascade proteins and platelets. Intracoronary thrombosis, leading to acute



(b) Em condições anormais, geradoras de disfunção endotelial, aquele mecanismo de retrocontrolo perde eficácia, por produção de quantidades insuficientes de NO para inibir a activação do NF-kB. Em consequência da activação sustentada pelos sinais extracelulares, prevalece o efeito indutor do NF-kB na transcrição de genes que codificam, designadamente, a expressão de moléculas de adesão, proteínas reguladoras da proliferação celular, receptores celulares, citocinas pró-inflamatórias e quimocinas que, no conjunto, participam no desenvolvimento de diversas doenças cardiovasculares. Os genes vasoprotectores poderão limitar as lesões mas não terão capacidade para contrariar a intensidade dos efeitos dependentes dos genes pró-aterogénicos. Alguns destes produtos, como as citocinas, quimocinas e factores de crescimento, poderão actuar como secreção autócrina, amplificando as repercussões da disfunção endotelial na expressão e progressão das lesões aterogénicas.

(b) In abnormal conditions that produce endothelial dysfunction, this feedback mechanism becomes ineffective, due to insufficient quantities of NO being produced to inhibit NF-kB activation. Sustained activation by extracellular signals means the effect inducing NF-kB prevails in the transcription of genes that code for adhesion molecules, cell proliferation regulatory proteins, cell receptors, proinflammatory cytokines and chemokines that all play a role in the development of various cardiovascular diseases. Vasoprotective genes may limit the damage, but they cannot counteract the effects of proatherogenic genes. Some of these products, including cytokines, chemokines and growth factors, may have autocrine effects, amplifying the effects of endothelial dysfunction in the development and progression of atherogenic lesions.

situação crónica, localizada ou difusa⁽⁹⁻¹¹⁾, ao induzir uma sucessão de interacções entre a íntima e os constituintes do sangue, com subsequente activação das proteínas da cascata da coagulação e das plaquetas. A trombose intracoronária, que está na origem da isquémia aguda do miocárdio, exemplifica a prevalência dos mecanismos da coagulação sobre os da fibrinólise⁽¹²⁾.

A disfunção endotelial pode adquirir outras expressões que afectem mais directamente a vasomotricidade ou conduzam a situações pró-inflamatórias ou pró-aterogénicas, entre outras⁽⁹⁾.

myocardial ischemia, is a classic example of coagulation mechanisms prevailing over fibrinolysis⁽¹²⁾.

Endothelial dysfunction can be expressed in other ways that affect vasomotricity more directly or lead to proinflammatory, atherogenic or other states⁽⁹⁾. Endothelium-dependent vasodilation can be blocked by decreased formation of nitric oxide (NO) or by increased NO breakdown, which reduces its bioavailability. This breakdown is mainly caused by excessive levels of reactive oxygen species such as the superoxide anion (O₂⁻) and oxidized low density lipoprotein

A impossibilidade da vasodilatação dependente do endotélio pode ser causada por diminuição da formação ou aumento da degradação do NO. A degradação acelerada do NO, com subsequente redução da sua biodisponibilidade, é promovida sobretudo por níveis excessivos de espécies reactivas de oxigénio, como o anião superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e a forma oxidada da lipoproteína de baixa densidade (LDL-ox), a par de uma menor capacidade anti-oxidante (Fig. 1b)^(10,13).

O anião superóxido inactiva rapidamente o NO, originando o peroxinitrito (ONOO⁻). Este radical instabiliza a produção de eNOS e desacopla a enzima da sua actividade natural (formação de NO) a favor da produção de mais radicais livres⁽¹⁴⁾. Acresce que devido, à sua maior instabilidade, o peroxinitrito é uma espécie mais lesiva do que o $O_2^{\cdot-}$ ⁽¹⁵⁾. O aumento da produção de $O_2^{\cdot-}$ está fortemente implicado na menor biodisponibilidade de NO e na disfunção endotelial, quer em animais de experiência⁽¹⁶⁾ quer em humanos⁽¹⁷⁾. A vasodilatação endotélio-dependente parece ser restaurada, em animais e humanos com aterosclerose, após a neutralização do anião superóxido⁽¹⁸⁾. Em doentes com cardiopatia isquémica foi evidenciada a diminuição da actividade da enzima superóxido dismutase, que catalisa a inactivação do anião superóxido⁽¹⁹⁾.

A diminuição da biodisponibilidade em NO endotelial, que é uma das características da disfunção endotelial, está envolvida na patogénese das fases iniciais da aterosclerose⁽²⁰⁾. Em humanos recipientes de transplante cardíaco constatou-se que a disfunção endotelial coronária, subsequente aquela intervenção, decorria com desenvolvimento acelerado da aterosclerose local⁽²¹⁾.

A manutenção e progressivo agravamento da disfunção endotelial conduz a lesões da estrutura celular, caracterizadas, p.ex., por abaulamento da superfície luminal, aumento do espaço intercelular, descamação e, por fim, remoção (desnudamento) da camada endotelial nos sectores vasculares mais lesados, com exposição do subendotélio ao contacto dos constituintes do sangue⁽²²⁾. Há evidência de que a disfunção endotelial tende a evoluir para um tipo de anomalia sistémica, com diminuição da capacidade de vasodilatação quer nos territórios centrais quer nos periféricos⁽²³⁾.

(oxLDL), as well as a weakening of antioxidant capacity (Fig. 1b)^(10,13).

The superoxide anion rapidly inactivates NO, producing peroxynitrite (ONOO⁻). This radical interferes with eNOS production and replaces its normal activity, i.e. NO formation, with the production of more free radicals⁽¹⁴⁾. Being more unstable, peroxynitrite is more harmful than $O_2^{\cdot-}$ ⁽¹⁵⁾. Increased $O_2^{\cdot-}$ production has been strongly implicated in reduced NO bioavailability and in endothelial dysfunction in both animal models⁽¹⁶⁾ and in humans⁽¹⁷⁾. Neutralization of superoxide anions appears to restore endothelium-dependent vasodilation in animals and humans with atherosclerosis⁽¹⁸⁾. Patients with ischemic heart disease have been shown to have diminished superoxide dismutase activity; this enzyme catalyzes the inactivation of the superoxide anion⁽¹⁹⁾.

Reduced bioavailability of endothelial NO, a characteristic of endothelial dysfunction, is involved in the pathogenesis of the initial stages of atherosclerosis⁽²⁰⁾. It has been demonstrated that in patients who develop coronary endothelial dysfunction following heart transplantation, this is linked to accelerated local atherosclerosis⁽²¹⁾.

Persistence and progressive worsening of endothelial dysfunction leads to damage to cell structure, including bulging of the luminal surface, enlarged intercellular spaces, desquamation and, eventually, destruction of the endothelial layer (denudation) in the worst-affected areas, which exposes the subendothelium to blood constituents⁽²²⁾. There is evidence that endothelial dysfunction tends to evolve into a kind of systemic disorder, with reduced capacity for vasodilation in both central and peripheral territories⁽²³⁾.

Proinflammatory, pro-oxidant, prothrombotic and vasoconstrictor factors

Endothelial dysfunction leads to the development and progression of various inflammatory and degenerative disorders of the vessel wall that frequently have clinical repercussions^(2,24) and significant effects on morbidity and mortality⁽⁷⁾.

Conversely, endothelial dysfunction may be caused by or associated with acute⁽²⁵⁾ or chronic⁽²⁶⁾ inflammation, which in turn affects the evolution of cardiovascular disease⁽²⁷⁾. Levels

Efectores pró-inflamatórios, pró-oxidativos, pró-trombóticos e vasoconstrictores

A disfunção endotelial está na origem da dissociação e progressão de diversas situações inflamatórias e degenerativas da parede vascular, com tradução clínica frequente^(2, 24) e repercussões evidentes nos riscos da morbidade e mortalidade humanas⁽⁷⁾.

De modo recíproco, a disfunção endotelial pode ser originada ou associar-se a situações de inflamação aguda⁽²⁵⁾ ou crónica⁽²⁶⁾, por sua vez influentes na evolução das doenças cardiovasculares⁽²⁷⁾. Neste aspecto, é de realçar a importância dos níveis de proteína C-reativa que, além de estarem correlacionados com a função endotelial em doentes com cardiopatia isquémica⁽²⁸⁾, constituem um marcador de inflamação e um factor predizente de risco cardiovascular⁽²⁹⁾. A proteína C-reativa exerce efeitos pró-inflamatórios no endotélio humano *in vitro*⁽³⁰⁾ e está associada à disfunção endotelial *in vivo*⁽³¹⁾. Foi sugerido que a proteína C-reativa e as citocinas (em geral), ao alterarem directamente a biodisponibilidade do NO local^(30, 31), contribuiriam para o desenvolvimento da aterosclerose e também para o síndrome metabólico⁽³²⁾.

Enquanto o endotélio normal, exposto à acção de acetilcolina, histamina e serotonina induz uma resposta vasodilatadora, é sabido que na disfunção ou após remoção do endotélio aquelas substâncias originam vasoconstricção acentuada⁽³³⁾. Este comportamento, que resulta da exposição de receptores H₂-histaminérgicos e 5-HT₂ serotoninérgicos presentes na camada de músculo liso vascular, justifica a resposta vasoconstrictora “paroxística” observada em doentes com lesões ateroscleróticas, p.ex., na doença isquémica do miocárdio⁽³⁴⁾ e hipertensão arterial⁽²³⁾.

O aumento da tensão arterial induz a perda, progressiva e heterogénea, da capacidade de vasodilatação mediada pelo endotélio⁽³⁵⁾. Os doentes hipertensos reagem de modo paradoxal aos testes com acetilcolina, com vasoconstricção ou redução do fluxo da perfusão^(23, 36). A situação pode ser restaurada por inibidores da ciclooxigenase que, administrados a doentes com hipertensão primária e secundária, respondem com vasodilatação à acetilcolina⁽³⁶⁾.

of C-reactive protein are particularly relevant here; as well as correlating with endothelial function in patients with ischemic heart disease⁽²⁸⁾, they are markers of inflammation and a predictor of cardiovascular risk⁽²⁹⁾. C-reactive protein has a proinflammatory effect on human endothelium *in vitro*⁽³⁰⁾ and is associated with endothelial dysfunction *in vivo*⁽³¹⁾. It has been suggested that C-reactive protein, and cytokines in general, have a direct effect on local NO bioavailability^(30, 31) and hence promote the development of atherothrombosis and the metabolic syndrome⁽³²⁾.

While normal endothelium exposed to acetylcholine, histamine and serotonin induces a vasodilatory response, it is known that in cases of dysfunction, or following denudation, these substances give rise to marked vasoconstriction⁽³³⁾. This behavior, which results from exposure of H₂-histaminergic and 5-HT₂ serotoninergic receptors in the vascular smooth muscle layer, explains the paradoxical vasoconstriction observed in patients with atherosclerotic lesions, such as in ischemic myocardial disease and hypertension⁽²³⁾.

Elevated blood pressure leads to the progressive and heterogeneous loss of endothelium-dependent vasodilatory capacity⁽³⁵⁾. Hypertensive patients show a paradoxical response in acetylcholine testing, with vasoconstriction or reduced perfusion flow^(23, 36). This can be reversed by cyclooxygenase inhibitors, which cause individuals with primary or secondary hypertension to respond to acetylcholine with vasodilation⁽³⁶⁾.

Experimental studies on animal models of hypertension have suggested other possible mechanisms. Vasoconstriction in resistance arteries could result from increased inactivation of NO despite enhanced NOS activity⁽³⁷⁾, or more vasoconstrictor substances such as PGH₂ or TXR2 could be produced than NO⁽³⁸⁾.

Vasodilatory capacity is diminished in hyperlipidemia and atherosclerosis⁽³⁹⁾. It appears that in hyperlipidemia, endothelial dysfunction is caused by increased deposition of oxLDL, particularly lysophosphatidylcholine, on the vessel wall⁽⁴⁰⁾, where it acts as a proinflammatory effector for initial atherosclerotic lesions^(41, 42). oxLDL is the result of oxidative stress in dysfunctional or damaged endothelium, where it has a proinflammatory and atherogenic effect⁽⁴¹⁾.

Os estudos de hipertensão experimental em modelos animais conduziram a outras hipóteses de mecanismo: a vasoconstrição nos vasos de resistência resultaria de um aumento da inactivação do NO não obstante estar aumentada a actividade da NOS⁽³⁷⁾; em alternativa haveria maior produção de substâncias vasoconstrictoras (p.ex., PGH₂ e TXR₂) do que de NO⁽³⁸⁾.

A capacidade de vaso-relaxamento está diminuída em situações de hiperlipidemia, bem como na aterosclerose⁽³⁹⁾. Aparentemente, nas hiperlipidémias a disfunção endotelial é originada pelo aumento da deposição LDL-ox (em particular, a do seu constituinte lisofosfatidilcolina) na parede vascular⁽⁴⁰⁾, onde contribui como efector pró-inflamatório para as lesões iniciais de aterosclerose^(41, 42). A LDL-ox resulta do *stress* oxidativo a nível da íntima disfuncional ou lesada, tornando-se uma molécula aterogénica com propriedades pró-inflamatórias^(41, 43). Por sua vez, é também um estímulo poderoso para a formação de espécies reactivas de oxigénio⁽⁴⁴⁾, originando um ciclo vicioso de agravamento progressivo da disfunção endotelial, remodelação vascular (proliferação / hiperplasia ou apoptose / necrose celular) e vasoespasm⁽⁴³⁾. A hipercolesterolemia, ao induzir a síntese de O₂⁻ na parede vascular através da activação das enzimas oxidativas NADPH e xantina oxidase, poderá contribuir indirectamente para reduzir a biodisponibilidade em NO^(16, 17).

É discutível se a disfunção conduz à diminuição da síntese do NO (por inibição do NOS ou carência relativa em L-arginina)^(33, 34). Em estados mais avançados de aterosclerose, a síntese do NO também conduz à formação de peroxinitrito e de espécies reactivas muito lesivas para os tecidos envolventes⁽⁴⁵⁾. O aumento da deposição de colesterol transportado pela LDL e, em particular a acumulação de LDL-ox na íntima vascular, activam a acção reguladora da proteína caveolina, que, ao ligar-se à eNOS, limita a síntese de NO⁽⁴⁶⁾.

O aumento da LDL-ox induz a síntese da endotelina vascular em situações de hiperlipidemia e lesão aterosclerótica^(47, 48), embora a expressão dos respectivos receptores esteja diminuída⁽⁴⁹⁾. Nos locais da lesão vascular há libertação de ET-1⁽⁵⁰⁾. Além das células endoteliais também as do músculo liso vascular que migram para a íntima são induzidas a

⁴³. In turn, it is a powerful stimulus for the formation of reactive oxygen species⁽⁴⁴⁾, and thus there is a vicious circle of worsening endothelial dysfunction, vascular remodeling with proliferation and hyperplasia or apoptosis and necrosis, and vasospasm⁽⁴³⁾. By inducing O₂⁻ synthesis in the vessel wall through activation of the oxidizing enzymes NADPH and xanthine oxidase, hypercholesterolemia could indirectly reduce NO bioavailability^(16, 17).

It is unclear whether endothelial dysfunction reduces NO synthesis (by inhibiting NOS or reducing L-arginine)^(33, 34). In advanced stages of atherosclerosis, NO synthesis also leads to the formation of peroxynitrite and other reactive species that can seriously damage surrounding tissue⁽⁴⁵⁾. Increased deposition of cholesterol transported by LDL, and particularly the accumulation of oxLDL in the intima, triggers regulatory action by the protein caveolin which, by binding to eNOS, reduces NO synthesis⁽⁴⁶⁾.

Increased oxLDL induces production of vascular endothelin in the presence of hyperlipidemia and atherosclerotic lesions^(47, 48), although expression of the corresponding receptors is reduced⁽⁴⁹⁾. Endothelin-1 (ET-1) is released at sites of vascular damage⁽⁵⁰⁾. As well as endothelial cells, vascular smooth muscle cells that migrate to the intima are induced to produce ET-1⁽⁵¹⁾, possibly by the same mechanisms that modulate the onset and development of atherosclerosis. Endothelin may contribute to vasoconstriction and proliferation of smooth muscle cells. Significant accumulation of ET-1 has been observed in highly unstable fragments of coronary artery obtained during atherectomy⁽⁵²⁾, which suggests that this peptide plays an important part in the vasomotricity of vessels with atherothrombotic lesions. ET-1 increases the calcium sensitivity of vascular smooth muscle and potentiates coronary vasoconstriction⁽⁵³⁾. Rises in plasma ET-1 levels are proportional to the severity of atherosclerotic lesions⁽⁴⁷⁾, while vascular ET-1 receptor antagonism reduces restenosis following stent implantation⁽⁵⁴⁾.

Endothelial denudation, which is frequently the result of catheterization or transluminal coronary angioplasty and can also occur in the late stages of atherosclerosis at plaque rupture sites, immediately exposes the subendothelium to deposition of platelet and leukocyte aggregates. Within a few days or weeks, intimal hyperplasia

produzir ET-1⁽⁵¹⁾, eventualmente pelos mesmos factores que modulam o início e posterior desenvolvimento da aterosclerose. A endotelina poderá contribuir para a vasoconstrição e proliferação de células musculares lisas. Foi observada grande acumulação de ET-1 em fragmentos muito instáveis de coronárias obtidas por aterectomia⁽⁵²⁾, o que sugere uma relevante participação daquele péptido no comportamento vasomotor dos vasos com lesões aterotrombóticas. A ET-1 aumenta a sensibilidade do músculo liso vascular ao cálcio, potenciando a vasoconstrição coronária⁽⁵³⁾. O aumento dos níveis plasmáticos de ET-1 revelou-se proporcional à gravidade das lesões ateroscleróticas⁽⁴⁷⁾ enquanto, na presença de um antagonista para o receptor vascular de ET-1, diminuía a re-estenose subsequente à implantação da um *stent*⁽⁵⁴⁾.

O “desnudamento” endotelial, que resulta frequentemente da cateterização e angioplastia coronária transluminal (e poderá ainda suceder nas fases tardias de desenvolvimento aterosclerótico em sítios de ruptura da placa), expõe o subendotélio à imediata deposição de agregados de plaquetas e leucócitos. Segue-se, ao fim de alguns dias ou semanas, a hiperplasia da íntima no local lesado. Entretanto, a adesão das plaquetas ao subendotélio ou endotélio disfuncional, com subsequente secreção de tromboxano A₂ e serotonina, induz a vasoconstrição local⁽⁵⁵⁾ e, através da secreção da PAF, estimula a proliferação e migração local de células musculares lisas^(42, 56). Estas interações, não sendo revertidas, tendem a evoluir para o desenvolvimento de lesões aterotrombóticas, com a participação adicional de factores de crescimento e citocinas secretadas pelos monocitos aderentes à zona lesada. Em condições normais, o endotélio tem a capacidade para anular ou reduzir, através da produção de NO e PGI-2, a adesão das plaquetas e dos monocitos, além de inibir (designadamente, pelo sulfato de heparano, NO, TGF-β) a proliferação e migração de células musculares lisas^(57, 58).

A regeneração do endotélio nos locais de desnudamento pode ser feito por células progenitoras derivadas da medula óssea ou a partir das células adjacentes do endotélio pré-existente. Em condições normais⁽⁵⁹⁾ é possibilitada a recuperação da integridade

is found at the damage site. Meanwhile, platelet adhesion to subendothelium or dysfunctional endothelium, with secretion of thromboxane A₂ and serotonin, induces local vasoconstriction⁽⁵⁵⁾ and, through secretion of platelet activating factor (PAF), stimulates proliferation and local migration of smooth muscle cells^(42, 56). Unless reversed, these interactions will tend to evolve towards the development of atherothrombotic lesions, aided by growth factors and cytokines secreted by monocytes adhering to the damaged area. Under normal conditions, the endothelium is able to prevent or reduce platelet and monocyte adhesion by producing NO and PGI-2, as well as inhibiting proliferation and migration of smooth muscle cells, mainly through heparan sulfate, NO, and TGF-β^(57, 58).

Denuded endothelium can be regenerated by progenitor cells from bone marrow or from adjacent cells in intact endothelium. Under normal conditions⁽⁵⁹⁾, recovery of structural and functional integrity is possible. However, although they can recover their endothelium-dependent vasodilatory capacity, the regenerated cells may differ from the original cells, which may be partly due to deficiencies in NO production⁽³⁴⁾. Recovery of vasodilation following denudation may be induced via the vasa vasorum, by direct transfer of eNOS from the adventitia of the host vessel^(60, 61).

DEVELOPMENT OF ATHEROSCLEROSIS AND OCCLUSIVE EVENTS

It is assumed that if the initial causes of atherothrombosis persist, endothelial dysfunction will worsen and vaso-obstructive events will ensue⁽¹²⁾, since degenerative atherosclerotic lesions are the result of endothelial dysfunction that began decades before⁽⁶⁾.

As suggested above, in hypercholesterolemia in humans and animal models, the vasodilatory and anticoagulant functions of normal endothelium are weakened in favor of vasoconstriction in the affected arteries⁽⁵⁵⁾. Impaired coronary reactivity resulting from endothelial dysfunction due to hypercholesterolemia precedes the onset of atherosclerosis, or indicates its presence, even if undetectable by angiography⁽⁶²⁾.

estrutural e funcional do sector lesado. Porém, apesar de recuperarem a capacidade de vasodilatação endotélio-dependente, as células regeneradas poderão diferir das células originais, o que em parte será atribuível a uma deficiente produção de NO⁽³⁴⁾. A recuperação da vasodilatação após desnudamento endotelial poderá ser induzida a partir dos vasa vasorum, por transferência directa de eNOS da adventícia do vaso hospedeiro^(60, 61).

DESENVOLVIMENTO DA ATEROSCLEROSE E EVENTOS OCCLUSIVOS

É admissível que a manutenção das causas aterotrombóticas iniciais tenda a agravar a disfunção endotelial e conduza a posteriores eventos vaso-obstrutivos⁽¹²⁾, na medida em que as lesões ateroscleróticas degenerativas são a consequência da disfunção endotelial iniciada em décadas anteriores⁽⁶⁾.

Conforme foi sugerido anteriormente, em situações de hipercolesterolemia (em humanos ou em animais de experiência) as funções vasodilatadora e anticoagulante do endotélio normal são como que amortecidas, a favor de uma tendência vasoconstrictora das artérias lesadas⁽⁵⁵⁾. A reactividade anormal das coronárias, por disfunção endotelial resultante da hipercolesterolemia, precede o início da aterosclerose ou é um sinal da sua existência, sendo contudo indetectável por angiografia⁽⁶²⁾. Mais recentemente, foi referida a possibilidade da disfunção endotelial ser um factor predizente de futuros eventos cardiovasculares⁽⁶³⁾.

Consequências da modulação da apoptose, proliferação e remodelação vascular

A hipercolesterolemia, associada ou não à hipertensão, influencia as condições de perfusão na microcirculação⁽⁶⁴⁾. O aumento da densidade dos vasa vasorum na adventícia, observado em porcos com hipercolesterolemia experimental, estaria relacionada com a indução da neovascularização na fase inicial da remodelação aterosclerótica que antecede a formação da placa de ateroma⁽⁶⁵⁾. Eventualmente, aquela densificação dos vasa vasorum representa uma resposta compensadora à hipoxémia local, favorável à aterogénese⁽⁶⁶⁾, sendo apoiada pelo

Modulation of apoptosis, proliferation and vascular remodeling

Hypercholesterolemia, whether or not associated with hypertension, influences perfusion in the microcirculation⁽⁶⁴⁾. Increased density of adventitial vasa vasorum, as observed in pigs with experimental hypercholesterolemia, appears to be related to the induction of neovascularization in the initial stage of atherosclerotic remodeling that precedes the formation of atheromatous plaques⁽⁶⁵⁾. This increase in density may be a compensatory response to local hypoxia that promotes atherogenesis⁽⁶⁶⁾; this is supported by rises in levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and nuclear factor kinase β (NF- κ B) as seen in experiments following a high-cholesterol diet⁽⁶⁵⁾. Thickening of the arterial wall, due to accumulation of the constituents of the atheromatous plaque, tends to increase oxygen consumption and the extent to which it diffuses within the wall⁽⁶⁶⁾. The resulting imbalance between oxygen demand and supply in the arterial wall leads to metabolic disorders that aggravate atherosclerotic lesions in a vicious circle that ends in necrosis⁽⁶⁷⁾.

The stability of the endothelial surface and the appropriate development of vessels are modulated by the Akt/protein kinase B (PKB) system via EGF and angiopoietins⁽⁶⁸⁻⁷⁰⁾. These factors also protect cardiomyocytes from apoptosis following ischemia-reperfusion injury *in vivo*⁽⁷¹⁾, as well as triggering production of endothelial NO, for example in response to VEGF and flow shear stress, by eNOS activated by phosphorylation of serine-1177 by Akt kinase^(71, 72).

Shear stress appears to be the essential stimulus regulating the continuous formation of NO and adequate blood flow, by activation of eNOS by the Akt system⁽⁷³⁾. In endothelial cells, Akt is activated by phosphorylation (which is induced by growth factors, cytokines and hormones, among other stimuli) via the phosphatidylinositol 3'-kinase (PI3-K) pathway (Fig. 2)⁽⁷⁴⁾.

eNOS is one of the cellular targets that depend on the Akt/PKB system. Among other functions, this system influences cell growth and apoptosis, and plays a part in regulating endothelial cell migration, which is essential for angiogenesis^(72, 75). The antiapoptotic properties of

aumento dos níveis de VEGF e do factor de transcrição nuclear NF- κ B, observados experimentalmente na sequência de uma dieta hipercolesterolémica⁽⁶⁵⁾. O aumento da espessura da parede arterial pela acumulação dos constituintes da placa de ateroma tende a elevar o consumo de oxigénio, em simultâneo com maior extensão do seu trajecto de difusão intraparietal⁽⁶⁶⁾. O desequilíbrio resultante entre a quantidade de oxigénio exigido e o fornecido à parede arterial originará anomalias metabólicas que agravam, em ciclo vicioso, a progressão das lesões ateroscleróticas até à fase da necrose⁽⁶⁷⁾.

A estabilidade da superfície endotelial, bem como o desenvolvimento apropriado dos vasos, são funções moduladas pelo sistema Akt/proteína cinase B (PKB) através da VEGF e angioapopteínas⁽⁶⁸⁻⁷⁰⁾. Estes factores também protegem os cardiomiócitos da apoptose subsequente a lesões da isquémia-reperfusão *in vivo*⁽⁷¹⁾, além de activarem a produção de NO endotelial (p.ex., em resposta à VEGF e à tensão de cisalhamento do fluxo) pela eNOS activada por fosforilação da serina 1177, pela Akt cinase^(71, 72).

A tensão de cisalhamento parece ser o estímulo essencial que regula a formação contínua de NO e o fluxo sanguíneo adequado, através da activação da eNOS pelo sistema Akt⁽⁷³⁾. Nas células endoteliais a proteína cinase Akt é activada por fosforilação (induzida por factores de crescimento, citocinas e hormonas entre outros estímulos) através da via da fosfatidilinositol 3-cinase (PI3-K) (*Fig. 2*)⁽⁷⁴⁾.

A eNOS está entre os alvos celulares que dependem da regulação do sistema Akt/PkB. Entre outras actividades, o sistema influencia a regulação do crescimento e apoptose celulares e também participa na regulação da capacidade de migração das células endoteliais, crucial para a angiogénese^(72, 75). As propriedades anti-apoptóticas e a de redução da área de enfarte *in vivo*, atribuídas à Akt/PKB⁽⁷⁰⁾, também requerem a sua prévia activação por uma cinase. Esta activação do sistema Akt/PKB citoplasmático baseia-se na fosforilação de determinados aminoácidos (treonina e serina) pela fosfatidilinositol 3-cinase e pelas cinases fosfatidilinositol dependente, 1 e 2 (PDK-1 e PDK-2); enquanto a PDK-1 parece fosforilar a treonina 308 (originando uma activação enzimática parcial), a fosforilação da serina 473

the plasma Akt/PKB system and its ability to reduce infarct size *in vivo*⁽⁷⁰⁾ require it to be activated by a kinase. This activation is based on the phosphorylation of certain amino acids (threonine and serine) by phosphatidylinositol 3'-kinase and phosphoinositide-dependent kinases 1 and 2 (PDK-1 and PDK-2); while PDK-1 appears to phosphorylate threonine-308 and partially activates Akt/PI3-K, phosphorylation of serine-473 fully activates this enzyme system⁽⁷¹⁾.

Another mechanism that has been proposed involves the JNK/SAPK protein kinases (*Fig. 2*), which are one of the three main effector pathways of the MAPK mitogenic factors that regulate the viability of cells such as cardiomyocytes⁽⁷⁶⁾. Activation of the JNK/SAPK system leads to phosphorylation of various cellular factors, some of which, such as Akt/PKB, influence apoptosis⁽⁷⁷⁾. Partial activation of this complex results from the phosphorylation of threonine-450, complete activation of Akt depending on the phosphorylation of threonine-308 and serine-473 by PDK-1 and 2⁽⁷⁸⁾.

Cell survival and growth appear to be affected in different ways depending on whether the Akt/PKB system acts on the nucleus or the cytoplasm. It has been demonstrated that the degree and extent of phosphorylation by this system induced by a particular signal can significantly affect the function and survival of cardiomyocytes⁽⁷⁹⁾, especially following hypoxia-reoxygenation⁽⁸⁰⁾.

Arterial stiffness

If the situation does not return to normal, the signals produced by dysfunctional or damaged endothelium are transmitted to the endovascular layer, where they trigger proliferation of smooth muscle and mesangium and hence atherogenesis. In this stage, particularly after atherosclerosis is established, local vasoconstriction occurs, mainly as a result of increased formation and secretion of endothelin^(47, 81).

In endothelial cultures, hypoxia induces increased expression of the endothelin gene⁽⁸²⁾. High serum endothelin levels have also been detected in patients with myocardial ischemia in the early hours following infarction⁽⁸³⁾. Although there was no direct evidence, ET-1 levels in arterial plasma of patients with ischemic heart disease correlated closely with vessel

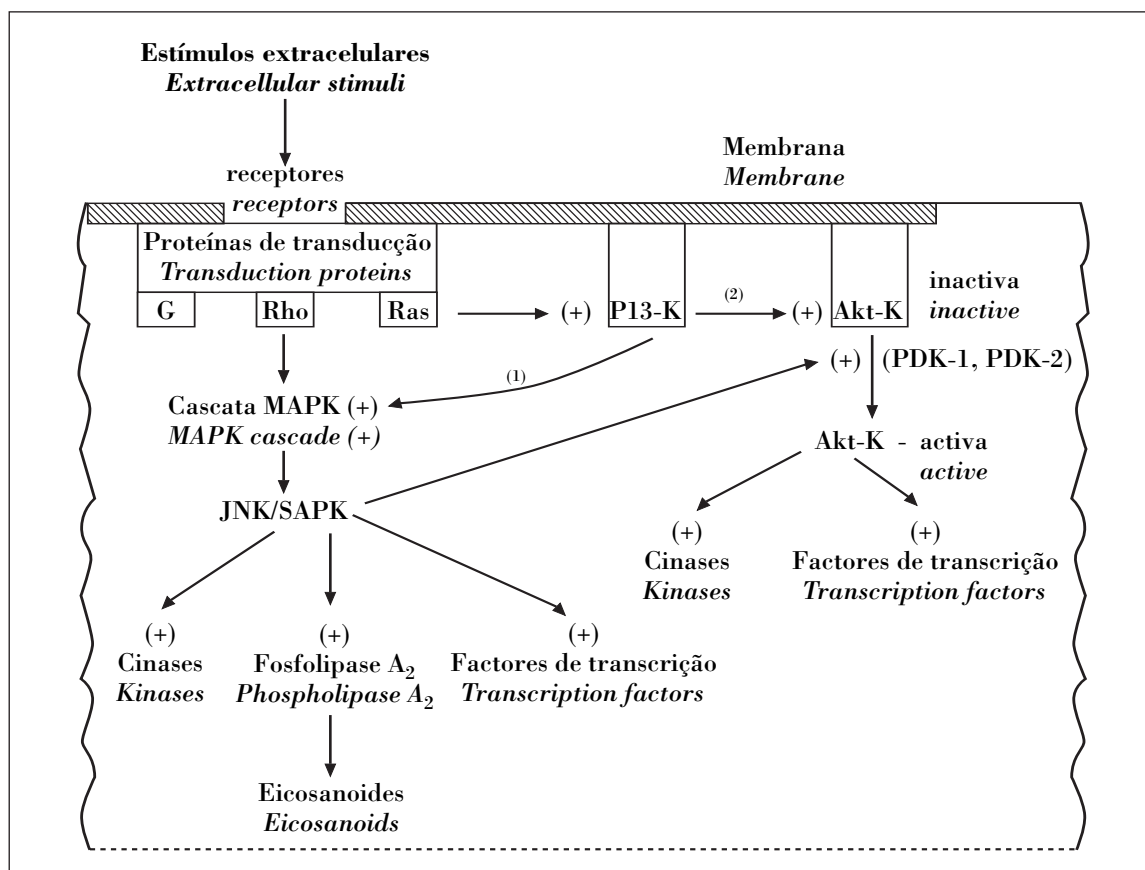


Figura 2. Transdução de sinais extracelulares, através da activação da cascata MAPK e Akt-cinase.

As superfamílias proteicas Ras, Rho e proteína G integram sinais extra-celulares e transmitem-nos (por transdução) à cascata MAPK. Esta é constituída por três tipos de proteínas-cinase, sucessivamente activadas por fosforilação sequencial após a transdução de sinal extracelular. As três cinases (designadas em conjunto também por MAP3Ks) formam um módulo funcional em conjunto com uma proteína de suporte. A cinase terminal da cascata activa o sistema JNK/SAPK que, por sua vez, activa outras cinases factores de transcrição (p.ex., proteínas Ets) ou outras enzimas (p.ex., fosfolipase A₂). Por fosforilação de proteínas-alvo, resulta a formação de moléculas de segundo-mensageiro ou a transcrição de determinados genes (envolvidos, p.ex., na diferenciação, divisão ou apoptose celular). Os genes controlados por factores de transcrição c-Jun são activados na sequência da fosforilação destes factores pelo sistema de cinases JNK/SAPK. Entre os eicosanóides mais importantes que derivam do araquidonato (resultante da acção da fosfolipase A₂ nos fosfolípidos membranares), destacam-se a PGI₂, TXA₂ e diversos leucotrienos.

A família proteica Ras também transmite os sinais extracelulares à proteína cinase PI3-K. Esta enzima possui dois domínios catalíticos, um dos quais (1) activa a via MAPK enquanto o outro (2) associa a Akt cinase à face interna da membrana citoplasmática. A activação da Akt-cinase (que a dissocia da membrana) pode ser iniciada pelo sistema JNK/SAPK e concluída pelas PDK-1 e 2, ou promovida directamente por estas duas cinases.

A Akt cinase (também designada proteína cinase B) é uma proteína-alvo do fosfatidil 3,4,5-fosfato (PIP₃); este composto, que actua como um dos mais importantes segundos-mensageiros intracelulares, é sintetizado a nível da membrana citoplasmática pela enzima fosfatidilinositol 3-cinase (PI3-K).

Figure 2. Transduction of extracellular signals via activation of the MAPK and Akt-kinase cascade

The Ras, Rho and G protein superfamilies relay extracellular signals by transduction to the MAPK cascade. This consists of three protein kinases, activated sequentially by phosphorylation following extracellular signal transduction. These three kinases, together known as MAP3Ks, form a functional module in conjunction with a support protein. The terminal kinase in the cascade activates the JNK/SAPK system, which in turn activates other kinases and transcription factors, such as Ets proteins, and other enzymes such as phospholipase A₂. Phosphorylation of target proteins results in the formation of second-messenger molecules and the transcription of particular genes, such as those involved in cell differentiation, division or apoptosis. Genes controlled by c-Jun transcription factors are activated by phosphorylation of these factors by the JNK/SAPK system. Among the most important eicosanoids derived from arachidonic acid as a result of the action of phospholipase A₂ on membrane phospholipids are PGI₂, TXA₂ and various leukotrienes. The Ras protein family also relays extracellular signals to the protein kinase PI3-K. This enzyme has two catalytic domains, one of which (PI3-K1) activates the MAPK pathway while the other (PI3-K2) associates Akt kinase to the inner surface of the cytoplasmic membrane. Activation of Akt, which dissociates it from the membrane, may be initiated by the JNK/SAPK system and completed by PDK-1 and 2, or it may be triggered directly by these two kinases.

Akt, also known as protein kinase B, is a target protein of phosphatidylinositol 3,4,5-phosphate (PIP₃); one of the main second messengers; this compound is synthesized in the cytoplasmic membrane by phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K).

induz a activação máxima da Akt/PI3-K⁽⁷¹⁾.

Um outro mecanismo proposto incluiu as proteínas cinase JNK/SAPK (*Fig. 2*), que constituem uma das três principais vias efectoras dos factores mitogénicos MAPK intervinientes na regulação da viabilidade celular, p.ex., dos cardiomiocitos⁽⁷⁶⁾. A activação das JNK/SAPK origina a fosforilação de diversos factores celulares, alguns dos quais com acção reguladora na apoptose, como a Akt/PKB⁽⁷⁷⁾. A activação parcial deste complexo basear-se-ia na fosforilação da treonina 450, sendo a activação completa da Akt concluída pela fosforilação da treonina 308 e da serina 473 pelas PDK 1 e 2⁽⁷⁸⁾.

A sobrevivência e/ou crescimento celulares parecem ser afectados de modo diferente conforme o sistema Akt/PKB actua no núcleo ou no citoplasma. Foi verificado que o nível e extensão da fosforilação daquele sistema, induzida por um dado sinal, pode influenciar de forma relevante as funções e a sobrevivência dos cardiomiocitos⁽⁷⁹⁾, sobretudo após hipóxia-reoxigenação⁽⁸⁰⁾.

Rigidez arterial

Se a situação não regressar ao normal, os estímulos gerados pelo endotélio disfuncional ou lesado transmitem-se à camada endovascular, desencadeando a proliferação do músculo liso vascular e do mesângio, com desenvolvimento da aterogénese. Nesta fase, e sobretudo depois da aterosclerose estar estabelecida, é desencadeada a vasoconstricção local, em grande parte atribuível ao aumento da formação e secreção de endotelina^(47, 81).

Em culturas endoteliais a hipóxia induz aumento de expressão do gene da endotelina⁽⁸²⁾. Em doentes com isquémia do miocárdio foi detectada também a elevação dos níveis da endotelina sérica nas primeiras horas da crise⁽⁸³⁾. Embora não houvesse elementos demonstrativos da situação directa, os níveis de ET-1 no plasma arterial de doentes de cardiopatia isquémica estavam correlacionados efectivamente com a rigidez da parede dos vasos⁽⁸⁴⁾. A hipertensão induzida experimentalmente em porcos potenciava o efeito da hipercolesterolemia nos microvasos do miocárdio, o que, a ser extrapolado para o homem, justificaria uma maior incidência de eventos cardíacos em indivíduos com aqueles

wall stiffness⁽⁸⁴⁾. Experimentally induced hypertension in pigs strengthened the effect of hypercholesterolemia on the myocardial microvasculature, which, if extrapolated to humans, would explain the greater incidence of cardiac events in individuals with both these risk factors⁽⁸⁵⁾.

Besides modulating vasomotricity, vascular smooth muscle affects arterial wall stiffness. Until a few years ago it was assumed that the loss of elasticity usually associated with aging was a response of the structural components of the wall, such as collagen and elastin, to distension pressure. Disruption and fracture of the elastic components of the wall transfer the pressure of the pulse wave to collagen fibers, increasing stiffness in the damaged segment; the situation would be aggravated by hypertension⁽⁸⁹⁾.

It has recently been demonstrated that arterial stiffness also depends on functional control, in which the presence or absence of vasoactive substances in the circulation (such as epinephrine, angiotensin II, endothelin-1, and natriuretic peptide) or produced locally (particularly NO) play a part^(87, 89, 90), independently of blood pressure or peripheral vascular resistance^(87, 91).

Arterial stiffness is a dynamic parameter that reflects imbalances between the above factors, especially reduced NO production. The latter may be involved in or precede the development of atherosclerotic lesions in various pathological situations such as hypercholesterolemia⁽⁹²⁾, diabetes⁽⁹³⁾ and hypertension⁽⁹⁴⁾. With advancing age, the effect of ET-1 on vasoconstriction and arterial stiffness in the major arteries such as the aorta outweighs the opposing action of NO⁽⁹⁵⁾.

Arterial stiffness also appears to be proportional to the degree of coexisting inflammation⁽⁹⁶⁾, as assessed by levels of C-reactive protein and interleukin-6⁽⁹⁷⁾, in both apparently healthy individuals⁽⁹⁶⁾ and patients with vasculitis⁽⁹⁷⁾. It has also been demonstrated that it is an independent predictor of all-cause as well as cardiovascular mortality. Although it is not clear which is cause and which effect between inflammation and arterial stiffness, it is known that as well as affecting endothelial function⁽²³⁾, inflammation can cause structural alterations in the vessel wall by changing the balance between elastin synthesis and degradation. Proteolytic enzymes,

dois factores de risco⁽⁸⁵⁾.

Além de modular a actividade vasomotora, o músculo liso vascular também interfere na rigidez (ou perda de elasticidade) da parede arterial. Até há alguns anos atrás admitia-se que aquela característica vascular, tradicionalmente associada ao envelhecimento, representava uma resposta dos componentes estruturais da parede (tais como o colagénio e a elastina) à pressão da distensão. A disrupção e fractura dos componentes elásticos da parede vascular transferem a pressão distensora da onda de pulso para as fibras de colagénio, com subsequente rigidez do segmento lesado, sendo a situação agravada pela coexistência de hipertensão arterial⁽⁸⁹⁾.

Veio a ser demonstrado recentemente, que a rigidez arterial depende também de um controlo funcional, em que participam (pela presença ou ausência) substâncias vasoactivas em circulação (p.ex., epinefrina, angiotensina II, endotelina-1, péptido natriurético) e de produção local (em que se destaca o NO)^(87, 89, 90), que actuam independentemente da pressão arterial ou da resistência vascular periférica^(87, 91).

A rigidez arterial parece ser um parâmetro dinâmico que reflecte o desequilíbrio entre aqueles factores e, em particular, a diminuição da produção de NO. Aquele parâmetro poderá estar envolvido e anteceder o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas em diversas situações patológicas, tais como a hipercolesterolemia⁽⁹²⁾, diabetes⁽⁹³⁾ e hipertensão arterial⁽⁹⁴⁾. Nas principais artérias, como a aorta, o efeito da ET-1 como vasoconstrictor e indutor da rigidez arterial tende a ser, ao longo do envelhecimento, mais poderoso do que a acção contrária do NO⁽⁹⁵⁾.

A rigidez arterial também parece ser proporcional ao grau de inflamação co-existente⁽⁹⁶⁾, avaliada pelos níveis de proteína C-reativa e interleucina-6⁽⁹⁷⁾, quer em indivíduos aparentemente normais⁽⁹⁶⁾ quer em doentes com vasculite⁽⁹⁷⁾. Foi ainda demonstrado que a rigidez arterial é um factor predizente independente da mortalidade, não só de causa cardiovascular mas de todas as causas. Embora não esteja ainda definido o sentido da relação causal que existe entre a inflamação e a rigidez arterial, é um facto que, além de alterar a função endotelial⁽²³⁾, a inflamação pode provocar alterações estruturais na parede vascular, ao modificar o equilíbrio entre a síntese e degradação da elastina. As

particularmente a matrix metalloproteinase-9, são activadas por inflamatórias citocinas^(98, 99) em indivíduos saudáveis e em várias patologias.

Onset and progression of atherosclerosis

Atherosclerosis is an inflammatory disease^(42, 100) characterized by infiltration of monocytes and macrophages⁽¹⁰¹⁾ and T lymphocytes⁽¹⁰²⁾ in atherosclerotic lesions, together with proliferation of smooth muscle cells, production of extracellular matrix, and neovascularization^(42, 100) (Fig. 3). Atherosclerotic manifestations evolve to chronicity and spread throughout the arterial tree, although they tend to occur more in some sites, particularly the coronaries, than in others⁽¹⁰³⁾.

Macrophages are involved in atherogenesis in three main ways: i) by capturing and metabolizing stored lipids; ii) by secreting mitogenic factors similar to platelet-derived growth factor (PDGF), which stimulates proliferation of smooth muscle cells and local neoangiogenesis; and iii) by synthesizing proteinases in the metalloproteinase family that act on the collagen in atheromatous plaques and trigger fissuring of the cap^(24, 102, 104).

In over 60% of cases, the plaque ruptures where the cap is thinnest and where shear stress forces are most consistently exerted⁽¹⁰⁴⁾. The local proinflammatory effect of dysfunctional endothelium destabilizes the plaque, which may then rupture^(101, 105), allowing contact between the procoagulant lipid core and intraluminal blood and triggering thrombosis, which leads to local obstructions⁽¹⁰⁵⁾. Coronary thromboses, most of them occlusive, are found in over 90% of fatal infarctions⁽¹⁰⁶⁾.

Plaque erosion and rupture ensue from various inflammatory mechanisms, including endothelial dysfunction, leukocyte diapedesis, extracellular matrix breakdown and platelet activation⁽¹⁰⁰⁾. The stage of the inflammatory process, the extent of atherosclerotic lesions, and the prognosis of individuals with stable or unstable angina or myocardial infarction can be assessed by measuring levels of circulating inflammatory markers⁽¹⁰⁷⁾, notably interleukin-6 (IL-6)⁽¹⁰⁸⁾, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)⁽¹⁰⁹⁾ and tumor necrosis factor- α (TNF- α)⁽¹¹⁰⁾. Various cytokines, including IL-6, IL-1 β , and TNF α , induce the synthesis of metalloproteinase-9⁽¹¹¹⁾, which explains the increase in its activity

enzimas proteolíticas (designadamente a metaloproteinase-9 da matriz) são activadas pelas citocinas inflamatórias^(98, 99) em indivíduos normais e em diversos estados patológicos.

Início e progressão da aterosclerose

A aterosclerose é considerada uma manifestação (ou doença) inflamatória^(42, 100), caracterizada por infiltração de monocitos-macrófagos⁽¹⁰¹⁾ e linfócitos T⁽¹⁰²⁾ nas lesões ateroscleróticas, a par com a proliferação de células musculares lisas, produção de matriz extracelular e revascularização^(42, 100) (*Fig. 3*). As manifestações ateroscleróticas evoluem para a cronicidade e difundem-se a virtualmente toda a árvore arterial, embora prevalecendo em determinados sectores mais do que noutros, com destaque para os vasos coronários⁽¹⁰³⁾.

Os macrófagos intervêm na aterogénese por três processos principais: (i) captação e transformação metabólica de lípidos armazenados, (ii) secreção de factores mitogénicos semelhantes ao PDGF (factor de crescimento derivado das plaquetas), que estimula a proliferação das células musculares lisas e a neoangiogénese local e (iii) síntese de proteinases (da família das metaloproteinases) que, ao actuarem no colagéneo da placa de ateroma, desencadeiam a sua fissura próximo do respectivo topo^(24, 102, 104).

A ruptura da placa ocorre, em mais de 60% dos casos, na zona onde o revestimento é mais fino e onde se exercem e são mantidas as forças de cisalhamento⁽¹⁰⁴⁾. A acção pró-inflamatória local do endotélio disfuncional converte as placas estáveis em instáveis, susceptíveis à ruptura^(101, 105), e permite o contacto entre o núcleo lipídico pró-coagulante da placa e o sangue intraluminal, dando início à formação trombótica que está na origem de obstruções locais⁽¹⁰⁵⁾. Em mais de 90% dos enfartes fatais são detectados trombos coronários, na maioria oclusivos⁽¹⁰⁶⁾.

A erosão e a ruptura da placa sobrevêm a diversos mecanismos inflamatórios, em que se incluem a disfunção endotelial, diapedese leucocitária, degradação da matriz extracelular e activação plaquetária⁽¹⁰⁰⁾. O desenvolvimento do processo inflamatório, a extensão da lesão aterosclerótica e prognóstico da doença em indivíduos com angina (estável ou instável) e enfarte de miocárdio poderão ser avaliados através do aumento da concentração de

in the circulation in different inflammatory situations. Levels of elastase⁽¹¹²⁾ and particularly metalloproteinases 2 and 9⁽¹¹³⁾ are increased in patients with ischemic heart disease. Metalloproteinase 9 appears to be involved in the destruction of the media, plaque growth⁽¹¹⁴⁾, remodeling of the extracellular matrix⁽¹¹⁵⁾ and arterial stiffness⁽⁹⁹⁾.

High levels of fibroblast growth factor- β (FGF- β) and signs of vascular smooth muscle proliferation have been found in the coronary arteries of patients with unstable angina (but not those with stable angina) and restenosis following coronary angioplasty⁽¹¹⁶⁾. According to this study, muscle cell proliferation would signal expansion of the atheromatous plaque, thus promoting the luminal narrowing and vasospasticity associated with unstable angina.

In this context, it is important to note the role of vascular smooth muscle cells, which maintain the structural integrity of the media and intervene in early vascular remodeling following local lesions. This response seems to be mediated by nuclear transcription factor kB (NF-kB). This pleiotropic protein complex acts on over a hundred genes and at several transcription levels, particularly proinflammatory responses⁽¹¹⁷⁾, matrix remodeling⁽¹¹⁸⁾ and cell survival and proliferation^(118, 119), following induction by various stimuli that promote inflammation and cell aggression (*Fig. 4*).

This factor appears to be involved in regulating the responses of the endothelium and vascular smooth muscle to different vascular pathologies⁽¹²⁰⁾ as part of a self-regulating system together with kB inhibitor proteins (IKB)⁽¹²¹⁾. NF-kB is relatively inactive in normal vessels, but in acute or atherosclerotic lesions of the intima, it is activated in smooth muscle cells, macrophages and endothelial cells⁽¹²²⁾. This activation, together with rapid falls in IKB levels, leads via expression of associated genes to a rapid response of considerable plasticity in the inducing lesion which may also modify the cell phenotype⁽¹²¹⁾. This response, following acute aggression to the vessel wall such as balloon angioplasty^(118, 123), would result in remodeling of the vessel wall⁽¹¹⁸⁾ or the formation of vascular lesions, development and progression of atherosclerosis⁽¹¹⁷⁾, restenosis⁽¹¹⁹⁾ and proliferation and reduced apoptosis of vascular smooth muscle cells⁽¹¹⁸⁾, particularly in more advanced stages of

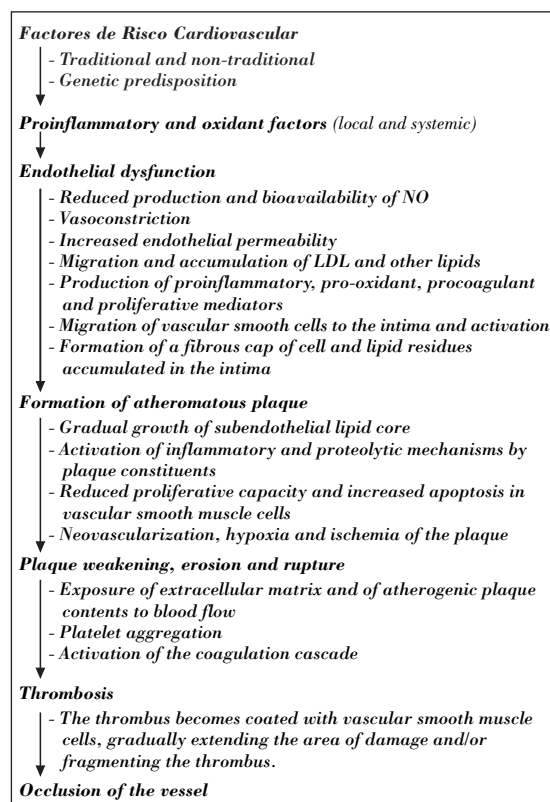
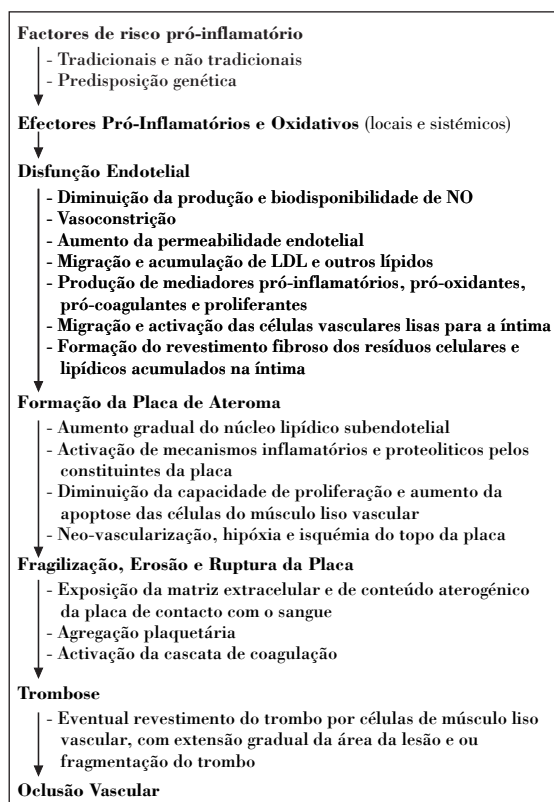


Figura 3. Resumo das fases sequenciais da formação e desenvolvimento da placa de ateroma.

A aterogénese é iniciada pela disfunção endotelial, por sua vez induzida por factores de risco exógenos cuja acção pode ser favorecida por predisposições genéticas do portador. O sinal mais precoce da disfunção endotelial (e também da aterosclerose) é a reduzida produção ou biodisponibilidade em NO, em resposta a estímulos extracelulares de natureza física, química ou microbiana. A disfunção endotelial e lesões ateroscleróticas subsequentes desenvolvem-se particularmente nas regiões arteriais com fluxo mais lento ou turbulento, pela acumulação e infiltração de monócitos, aumento da adesividade do endotélio a leucócitos e plaquetas, perda de propriedades anti-coagulantes e produção de mediadores pró-inflamatórios, proliferativos e oxidantes.

A disfunção ou lesão do endotélio conduz a uma progressiva acumulação lipídica subendotelial (em particular LDL-ox) e à migração de células musculares lisas da média para a íntima, onde formam o revestimento fibroso daquele núcleo lipídico e inflamatório. Enquanto intacta, esta camada de revestimento constitui um mecanismo de defesa contra a progressão da aterosclerose, além de manter o seu núcleo trombogénico separado do sangue de perfusão (e, por conseguinte, das plaquetas e proteínas da cascata de coagulação). À medida que as lesões ateroscleróticas se tornam mais volumosas, o lume vascular e a perfusão sanguínea a juzante tendem a diminuir. A formação de novas zonas de fluxo turbulento subsequentes à obstrução predispõe à extensão da disfunção endotelial e progressão da placa de ateroma ao longo da parede vascular. As placas com revestimento fibroso mais fino e maior infiltração de células inflamatórias são particularmente susceptíveis à erosão e à ruptura, desencadeadas por cisalhamento hemodinâmico tangencial. A fragilização e instabilidade da placa de ateroma resultam da acção local das células inflamatórias, que enfraquecem e destroem a camada de revestimento fibroso. Na origem daquele processo estão diversas citocinas pró-inflamatórias e metaloproteinases (produzidas por linfócitos e macrófagos), e uma neo-vascularização insuficiente para a oxigenação local requerida. A erosão endotelial ou a ruptura da placa originam um processo trombótico local, responsável por uma oclusão vascular (aguda ou gradual) de gravidade variável.

Figure 3. Summary of stages in the formation and development of atheromatous plaque

Atherogenesis begins with endothelial dysfunction, which in turn is caused by exogenous risk factors whose action may be strengthened by genetic predisposition. The earliest sign of endothelial dysfunction, and of atherosclerosis, is reduced production or bioavailability of NO in response to extracellular stimuli that may be physical, chemical or microbial. Endothelial dysfunction and consequent atherosclerotic lesions occur particularly in arterial segments where flow is slow or turbulent, through the accumulation and infiltration of monocytes, increased endothelial adhesiveness to leukocytes and platelets, loss of anticoagulant properties, and production of proinflammatory, proliferative and oxidant factors.

Dysfunctional or damaged endothelium leads to progressive subendothelial accumulation of lipids, particularly oxLDL, and the migration of smooth muscle cells from the media to the intima, where they form a fibrous coating over the inflammatory lipid core. While still intact, this layer acts as a defense against progression of atherosclerosis, as well as keeping the thrombogenic core separate from the blood flow and hence from platelets and proteins of the coagulation cascade. As atherosclerotic lesions increase in size, luminal diameter and downstream perfusion diminish. The obstruction creates new areas of turbulent flow, which worsens endothelial dysfunction and extends the area of plaque along the vessel wall. Plaques with thinner fibrous caps and greater infiltration of inflammatory cells are particularly susceptible to erosion and rupture, triggered by tangential shear stress. As the plaque becomes fragile and unstable, the local action of inflammatory cells weakens and destroys the fibrous cap. This process is caused by various proinflammatory cytokines and metalloproteinases produced by lymphocytes and macrophages, and by the fact that neovascularization is insufficient for local oxygen requirements. Endothelial erosion and/or plaque rupture trigger local thrombogenesis that results in acute or gradual occlusion of the vessel of varying severity.

biomarcadores inflamatórios em circulação⁽¹⁰⁷⁾, designadamente, a interleucina 6 (IL-6)⁽¹⁰⁸⁾, a proteína 1 quimioattractiva dos monocitos (MCP-1)⁽¹⁰⁹⁾ e o factor de necrose tumoral- α (TNF- α)⁽¹¹⁰⁾. Diversas citocinas (como a IL-6, IL-1 β , TNF- α) induzem a síntese da metaloproteinase-9⁽¹¹¹⁾ justificando o aumento da sua actividade em circulação em diversas situações inflamatórias. Os níveis de elastase⁽¹¹²⁾ e, sobretudo, das metaloproteinases -2 e -9⁽¹¹³⁾ estão aumentados em doentes com cardiopatia isquémica. A metaloproteinase -9 parece intervir na destruição da camada média vascular e no crescimento da placa da aterosclerose⁽¹¹⁴⁾, na remodelação da matriz extracelular⁽¹¹⁵⁾ e na rigidez arterial⁽⁹⁹⁾.

Nas coronárias de doentes com angina instável (mas não dos que sofrem de angina estável) e re-estenose (após angioplastia coronária) foram detectados níveis elevados de FGF- β e indícios de proliferação do músculo liso vascular⁽¹¹⁶⁾. De acordo com aquelas observações, a proliferação da camada muscular sinalizaria a expansão da placa de aterosclerose, gerando condições para o estreitamento do lume e para a vasoespasticidade coexistente na angina instável.

É de referir, a propósito, a importância das células do músculo liso vascular, ao assegurarem a integridade estrutural da camada média e, também, pela sua participação rápida na remodelação vascular, subsequente a episódios lesivos localizados. Na origem desta resposta parece intervir o factor de transcrição nuclear kB (NF-kB). Este complexo proteico pleiotrópico actua em mais de uma centena de genes celulares e a vários níveis transcripcionais, designadamente, em programas pró-inflamatórios⁽¹¹⁷⁾, de remodelação da matriz⁽¹¹⁸⁾ e na sobrevivência e proliferação celulares^(118, 119), após indução por diversos tipos de estímulos (pró-inflamatórios e de agressão celular) (Fig. 4).

Aparentemente, aquele factor intervém na regulação da resposta do endotélio e do músculo liso vascular em diferentes patologias vasculares⁽¹²⁰⁾, sob a forma de um sistema auto-regulador, em conjunto com as respectivas proteínas de inibição (IKB)⁽¹²¹⁾. Enquanto nos vasos normais o NF-kB estaria relativamente inactivo, nas lesões da íntima (agudas ou de natureza aterosclerótica) tem sido detectada a activação daqueles factores nas células do músculo liso, macrófagos e do

aterosclerose.

Inhibition by NO of NF-kB transcription (which plays a vital part in regulating various inflammatory proteins involved in atherosclerosis)⁽¹²⁴⁾, by reducing the expression of various inflammatory markers and adhesion molecules, would also diminish plaque vulnerability^(125, 126). Conversely, reduced anti-inflammatory capacity in dysfunctional endothelium contributes to plaque instability and rupture.

Plaque rupture and vascular permeability

Plaque rupture can be triggered by vasoconstriction in a segment with dysfunctional endothelium. Vasoactive substances that normally induce coronary vasodilation^(34, 127, 128) cause local vasoconstriction in patients with coronary atherosclerosis^(1, 34, 127-130). At the same time, coronary arteries with damaged endothelium lose their vasodilatory capacity when subjected to increased local perfusion. As a result, coronary flow is insufficient to meet peripheral demands, due to inadequate vasodilation and inappropriate vasoconstriction, which interferes with the balance of metabolic demands downstream⁽¹³¹⁾.

Under normal conditions, regulation of coronary perfusion depends mainly on the metabolic requirements of the myocardium⁽¹³²⁾, which explains the rapid increase in intracoronary blood flow in normal individuals when myocardial oxygen consumption rises⁽¹³³⁾. The blood flow is regulated by the endothelium at the microcirculation level. The adaptive response of coronary perfusion to greater metabolic demand depends, at least in part, on peripheral oxygenation status. This is why perfusion anomalies may be detected during exercise testing in individuals who do not have significant signs of ischemic heart disease; they may be attributable to latent deficiencies in local circulatory control⁽¹³⁴⁾. Endothelial dysfunction induced in normal subjects⁽¹³⁵⁾ or found in patients with metabolic syndrome⁽¹³⁶⁾ is also associated with myocardial perfusion defects.

In episodes of unstable angina, a transient reduction in blood supply to the myocardium, followed by complete or partial reversal of the occlusion, precedes an increase in myocardial oxygen requirements⁽¹³⁷⁾. This dynamic variation

endotélio⁽¹²²⁾. A activação do NF- κ B (a par com redução rápida dos níveis da I κ B) conduz, pela expressão de genes dependentes, a uma resposta rápida e de grande plasticidade à lesão indutora que, inclusivamente, poderia conduzir a modificação do fenotipo celular⁽¹²¹⁾. Aquela resposta, após agressão aguda da parede vascular (p.ex., pós-angioplastia de balão)^(118, 123), conduziria a remodelagem da parede vascular⁽¹¹⁸⁾ ou, em alternativa, à formação de lesões vasculares, desenvolvimento e progressão da aterosclerose⁽¹¹⁷⁾, à reestenose⁽¹¹⁹⁾ e à proliferação e diminuição da apoptose das células do músculo liso vascular⁽¹¹⁸⁾, em particular nas fases mais avançadas da aterosclerose.

A inibição pelo NO (*Fig. 1a*) da transcrição do factor κ B (que exerce uma acção reguladora essencial sobre várias proteínas inflamatórias que participam na aterosclerose)⁽¹²⁴⁾, ao reduzir a expressão de diversos mediadores inflamatórios e moléculas de adesão, diminuiria também a vulnerabilidade da placa de ateroma^(125, 126). Pelo contrário, a diminuição da capacidade anti-inflamatória do endotélio disfuncional contribuirá para a instabilização e subsequente ruptura da placa.

Placa de ateroma e permeabilidade vascular

A ruptura das placas de ateroma poderá ser precipitada pela vasoconstrição num segmento com disfunção endotelial. As substâncias vasoactivas que, em condições normais, induzem a vasodilatação coronária^(34, 127, 128), provocam vasoconstrição local nos indivíduos com aterosclerose coronária^(1, 34, 127-130). Por outro lado, as artérias coronárias com endotélio lesado perdem a capacidade de vasodilatação quando sujeitas a um aumento da perfusão local. Em consequência, o fluxo sanguíneo coronário tende a ser inferior às necessidades periféricas (por deficiência do mecanismo de vasodilatação e intervenção inapropriada de uma resposta vasoconstrictora), o que compromete a possibilidade de reequilíbrio das exigências metabólicas a juzante⁽¹³¹⁾.

Em condições normais, a regulação da perfusão coronária depende essencialmente das exigências metabólicas do miocárdio⁽¹³²⁾, o que justifica o rápido aumento do fluxo sanguíneo intracoronário nos indivíduos normais quando se acentua o consumo de oxigénio pelo miocárdio

in flow has also been observed experimentally in dogs, obstruction in coronary arteries with endothelial damage causing cyclic flow variations, from minimal values to initial levels after spontaneous recovery. These changes in perfusion are caused by the formation and disintegration of platelet thrombi; these thrombi, and near zero flow, were eliminated by the administration of aspirin⁽¹³³⁾.

Subsequent observations confirmed that platelet activation and adhesion in areas of coronary endothelial damage triggers local vasoconstriction mediated by the secretion of platelet-derived thromboxane A₂ (TXA₂) and serotonin. This is reversed by thromboxane synthase inhibitors and α_2 -adrenergic and serotoninergic receptor antagonists⁽¹³⁹⁾.

Increased TXA₂ and reduced PGI₂ have been detected in areas of experimental coronary stenosis⁽¹⁴⁰⁾. Intracoronary deposition of activated platelets triggers local vasoconstriction mediated by TXA₂ and serotonin⁽¹⁴¹⁾, while local induction of PGI₂ (by transfer of the cyclooxygenase gene using an adenovirus vector) completely blocked the formation of thrombi and cyclic flow variations⁽¹⁴²⁾.

Coronary metabolic self-regulation becomes ineffective in the presence of morphological abnormalities of the arterial wall, which can induce vasoconstriction that reduces downstream perfusion and causes myocardial ischemia. This can be avoided in two ways: by increasing perfusion pressure, or by reducing coronary vascular resistance. It seems that increased perfusion in response to myocardial oxygen demand is an independent predictor of progression to heart failure⁽¹⁴³⁾.

Vascular tone in normal coronary arteries is also sensitive to sympathetic and parasympathetic stimuli^(144, 145). In individuals who have received an allogenic (and hence denervated) heart transplant, and in other patients with or without coronary lesions and intact innervation, around 12% of coronary vascular resistance at rest depends on adrenergic tone. This baseline tone is reduced by a sudden rise in heart rate. A competitive mechanism has been demonstrated in canine coronary circulation between the vasodilatory effect induced by the metabolism and vasoconstriction of β -adrenergic origin, the latter prevailing around 30% of the time⁽¹⁴⁶⁾.

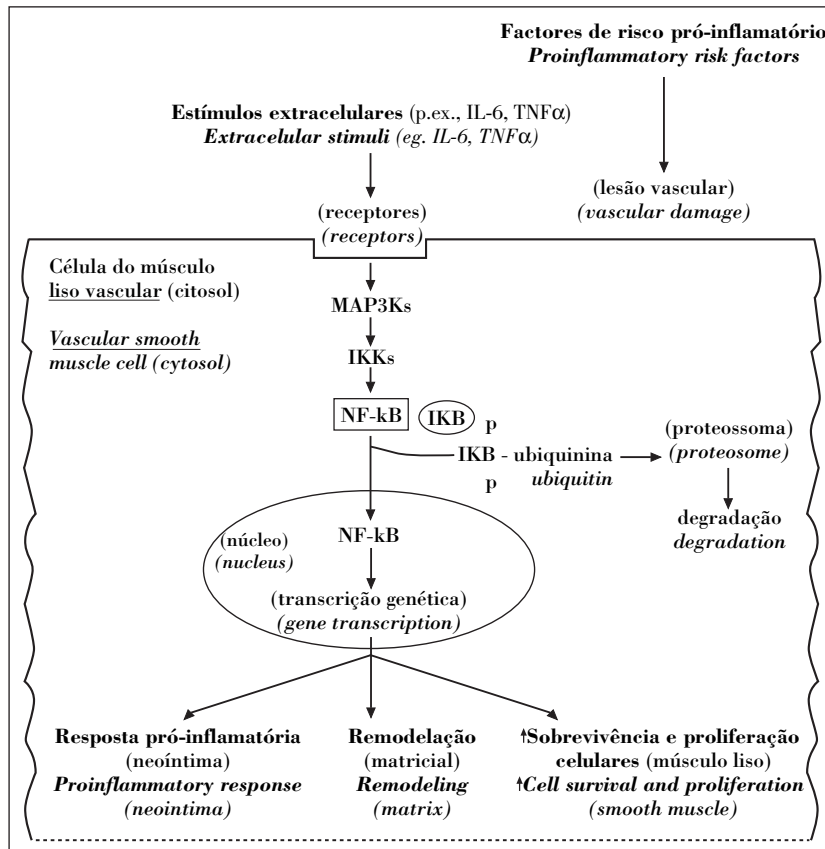


Figura 4. Regulação da transcrição genética pela NF-kB e principais respostas de adaptação vascular desencadeadas por estímulos pró-inflamatórios.

O factor de transcrição nuclear kB (NF-kB) regula a expressão de numerosos genes que participam na resposta imunitária e inflamatória das células. Está também envolvido no controlo da proliferação, desenvolvimento e apoptose celulares. A reactivação é iniciada pela ligação de diversas moléculas (sinais extracelulares) a receptores da membrana citoplasmática, a partir dos quais são accionadas diversas vias de transdução intracelular, sendo a mais comum iniciada pelas MAP3Ks (ou MAPKKK).

O NF-kB engloba vários complexos diméricos (o mais frequente é constituído pelas subunidades proteicas p50 e p65) da família das proteínas Rel, que, em comum, possui um domínio homólogo (com cerca de 300 resíduos de aminoácidos) na extremidade N. Aquele domínio confere à molécula NF-kB a capacidade de se dimerizar, após o que se transloca do citosol para o núcleo celular para se fixar a determinado segmento de DNA, que actua como promotor da transcrição.

Nas células em repouso, a proteína NF-kB está predominantemente localizada no citosol, no estado latente inactivo, enquanto associada as proteínas inibidoras da família IKB (designadamente, IKB α ; IKB- β e IKB- ϵ). Estas proteínas (sobretudo a isoforma β) têm a capacidade de dificultar e impedir a translocação do NF-kB para o núcleo, além de bloquearem a sua ligação ao DNA e, por consequência, a transcrição genética específica.

A NF-kB é activada após se dissociar das IKB (as quais são depois degradadas pela via da ubiquinina - proteossoma). A activação da NF-kB segue-se à sua fosforilação em dois resíduos de serina terminais, por cinases específicas (IKKs). Estas cinases formam um complexo que tem dois domínios catalíticos (α e β) associados a uma subunidade de suporte (γ -NEMO). O complexo IKKs é, por sua vez, activado por outras três cinases dependentes de factores mitogénicos (MAP3Ks). Entre os estímulos (sinais extracelulares) activadores da MAP3Ks e da cascata de NF-kB destacam-se diversos factores de crescimento e citocinas.

A indução em excesso ou desproporcionada da NF-kB está na origem de doenças inflamatórias, cancerígenas e outras patologias.

Figure 4. Regulation of gene transcription by NF-kB and the main vascular adaptive responses triggered by proinflammatory stimuli. Nuclear transcription factor kB (NF-kB) regulates the expression of numerous genes involved in cellular immune and inflammatory responses. It also plays a part in controlling cell proliferation, development and apoptosis. Its activation begins when different molecules that function as extracellular signals bind to cytoplasmic membrane receptors, which activate various intracellular transduction pathways, the most common of which is that triggered by MAP3Ks (MAPKKK).

NF-kB consists of various dimeric complexes (the commonest of which is made up of the protein subunits p50 and p65) of the Rel protein family, which all have a homologous domain of about 300 amino acid residues at the N-terminal. This domain gives NF-kB the ability to dimerize, after which it translocates from the cytosol to the nucleus and binds to a specific DNA segment, which acts as a transcription promoter.

In resting cells, NF-kB is mainly found in the cytosol in a latent state, associated with inhibitory proteins of the IKB family (IKB α , IKB- β and IKB- ϵ). These proteins, particularly the β isoform, hinder or block the nuclear translocation of NF-kB, as well as preventing it from binding to DNA and thus from effecting gene transcription.

NF-kB is activated by dissociation of IKBs, which are then degraded via a ubiquitin-dependent pathway by the proteasome. This activation follows phosphorylation in two terminal serine residues by specific kinases (IKKs). These form a complex with two catalytic domains, α and β , associated with a support subunit (γ -NEMO). The IKK complex is in turn activated by three other mitogen-activated protein kinases (MAP3Ks). Among the extracellular stimuli that activate MAP3Ks and the NF-kB cascade are several growth factors and cytokines.

Excessive or disproportionate induction of NF-kB leads to inflammatory disease, cancer, and other pathologies.

⁽¹³³⁾. O endotélio regula o fluxo sanguíneo nas coronárias a nível da microcirculação. A resposta adaptativa da perfusão coronária às maiores exigências metabólicas do miocárdio depende, pelo menos parcialmente, do estado da oxigenação periférica. Deste modo, justifica-se que em indivíduos sem sinais relevantes de cardiopatia isquémica sejam, por vezes, detectadas anomalias de perfusão durante a prova de esforço, eventualmente atribuídas a uma deficiência latente do controlo circulatório local ⁽¹³⁴⁾. A disfunção endotelial induzida em voluntários normais ⁽¹³⁵⁾ ou existente em doentes com síndrome metabólico ⁽¹³⁶⁾ estava também associada a defeitos de perfusão do miocárdio.

Nas crises de angina instável, a redução transitória da perfusão sanguínea do miocárdio, seguida pela inversão parcial ou total da oclusão, precederia o aumento das exigências do miocárdio em oxigénio ⁽¹³⁷⁾. Aquela variação dinâmica do fluxo foi também verificada experimentalmente em cães em que a obstrução coronária com lesão endotelial originava variação cíclica do fluxo, entre valores mínimos e após recuperação espontânea dos níveis iniciais. As modificações referidas de perfusão resultariam da formação e desintegração de trombos plaquetários; a formação dos trombos plaquetários bem como o fluxo zero eram anulados pela administração prévia de ácido acetilsalicílico ⁽¹³⁸⁾. Observações subsequentes confirmaram que a activação e adesão das plaquetas nas zonas de lesão endotelial das coronárias desencadeava uma vasoconstrição local, mediada pela secreção de TXA₂ e serotonina de origem plaquetária. A situação era revertida por inibidores da tromboxano-sintetase e antagonistas dos receptores serotoninérgicos ou α_2 -adrenérgicos ⁽¹³⁹⁾.

Nas zonas de estenose coronária experimental foi também detectado aumento de TXA₂ e diminuição da PGI₂ ⁽¹⁴⁰⁾. A deposição intracoronária de plaquetas activadas desencadeava vasoconstrição local, mediada pela TXA₂ e serotonina ⁽¹⁴¹⁾, enquanto a indução local da PGI₂ (obtidas por transferência do gene da ciclooxigenase com um vector adenovírus) inibia por completo a formação de trombos e as variações cíclicas do fluxo ⁽¹⁴²⁾.

A auto-regulação coronária de origem metabólica perde eficácia na presença de anomalias morfológicas da parede arterial que, ao

Alterations in coronary vasomotricity also appear to occur in most cases of heart failure ⁽¹³⁷⁾. In patients with coronary atherosclerosis, various physiological stimuli, including mental stress ⁽¹⁴⁷⁾, physical exercise ⁽¹⁴⁸⁾, exposure to cold ⁽¹⁴⁹⁾ or smoking a cigarette ⁽¹⁵⁰⁾, can trigger vasoconstriction in damaged or stenosed segments. Vasoconstriction induced by cold or exercise is associated with adrenergic stimulation and with circulating catecholamines. When it occurs in stenosed coronaries, it can lead to myocardial ischemia ⁽¹³³⁾.

Although, as noted previously, it can be difficult to visualize early atherosclerotic lesions by angiography ⁽¹⁵¹⁾, it is not impossible that myocardial ischemia in patients with Prinzmetal's angina or with angiographically normal coronaries is due to local vasoconstriction ⁽¹⁵²⁾. Overall, these studies show that angina in patients with coronary heart disease is a consequence of changes in intracoronary blood flow caused by vasoconstriction rather than of the metabolic demands of peripheral tissues.

Acute coronary events are multifactorial in origin; they can occur following thrombosis, plaque rupture, inflammation, progressive mechanical obstruction or dynamic occlusion ⁽¹⁵³⁾.

In the initial stages of atherosclerosis, the coronary arteries undergo a compensatory increase in diameter as the internal elastic membrane stretches. So long as there is no narrowing of the lumen, there will be no symptoms of angina. Myocardial infarction often results from stenosis in a smaller artery, which can be less than 50% occluded ⁽¹⁵¹⁾. When an atheromatous plaque occupies 40-50% of an artery's cross-section, which can take decades, the artery loses its ability to compensate for hyperemia ⁽¹⁵⁴⁾ and symptoms appear as a result of reduced local blood flow, usually triggered by exercise ⁽¹⁵⁵⁾. When stenosis reaches 90% of the vessel's diameter, blood flow is reduced even at rest. Multiple plaques are observed by angiography in over 50% of patients with ischemic heart disease; these appear to be behind the high incidence of recurrent atherothrombotic events ⁽¹⁵⁶⁾.

Around three-quarters of occlusive coronary thrombi are formed by layers of different ages, confirming that they develop in recurring spurts ⁽¹⁵⁷⁾. The oldest sediments, rich in platelets that plug the fissure, would date from the first

induzirem uma resposta vasoconstrictora e a redução da perfusão a juzante, originariam isquémia do miocárdio. Esta anomalia será evitada sob duas condições: aumento da pressão de perfusão ou diminuição da resistência vascular coronária. Aparentemente, o aumento da perfusão sanguínea em resposta às exigências metabólicas do miocárdio em oxigénio constitui um factor predizente, independente para a progressão da falência cardíaca⁽¹⁴³⁾.

O tónus vascular das artérias coronárias normais é também sensível a estímulos simpáticos e parassimpáticos^(144, 145). Em indivíduos que haviam recebido transplante cardíaco alogénico (que, por isso, estavam desinervadas), e em outros doentes, com e sem lesões coronárias e inervação intacta, cerca de 12% da resistência vascular coronária em repouso dependeria do tónus adrenérgico. Este tónus basal seria minimizado pelo aumento súbito da frequência cardíaca. Na circulação coronária de cães foi evidenciado um mecanismo competitivo entre o efeito vasodilatador induzido pelo metabolismo e a vasoconstricção de origem β -adrenérgica, com predominância desta última em cerca de 30%⁽¹⁴⁶⁾.

As alterações da vasomotricidade coronária também parecem existir na generalidade dos síndromas de insuficiência coronária⁽¹³⁷⁾. Em doentes com aterosclerose coronária, diversos estímulos fisiológicos, como o stress mental⁽¹⁴⁷⁾, o exercício físico⁽¹⁴⁸⁾, a exposição ao frio⁽¹⁴⁹⁾ e o fumar um cigarro⁽¹⁵⁰⁾ tendem a desencadear vasoconstricção em sectores lesados ou estenosados. O efeito vasoconstrictor induzido pelo frio e pelo exercício está associado à estimulação adenérgica e à concentração de catecolaminas em circulação. A sua ocorrência em coronárias estenosadas poderá originar isquémia do miocárdio⁽¹³³⁾.

Com as reservas referidas a propósito da difícil visualização das lesões ateroscleróticas iniciais por angiografia⁽¹⁵¹⁾, não se pode excluir que a isquémia do miocárdio, observada em doentes com angina Prinzmetal ou com coronárias angiograficamente normais, seja atribuível também a uma vasoconstricção local⁽¹⁵²⁾. No conjunto, os estudos anteriores referem que os sintomas anginosos em doentes com coronariopatia seriam devido mais às alterações (por vasoconstricção) da perfusão sanguínea intracoronária do que às exigências

episode of unstable angina, after which the coronary lumen would have suddenly narrowed⁽¹⁰⁶⁾. These findings suggested that the platelet-rich 'head' of the thrombus would be linked to a 'tail' containing more fibrin⁽¹⁵⁸⁾. Subsequent studies showed that this structure was in fact found in only 15-25% of cases, most thrombi being a mixture of types with many red blood cells, although half arose from mural platelet thrombi^(159, 160).

A coronary artery may be reasonably permeable despite the presence of medium-sized lesions and lipid deposits in the form of atheromatous plaques, until one of these plaques ruptures⁽¹⁶¹⁾. Autopsy findings show that the extent and stability of intraluminal thrombi, and the severity of symptoms, are not proportional to the amount of endothelial damage. In turn, the severity of damage to the intima is not proportional to the size, composition or thickness of the resulting coronary thrombus^(157, 158). Slight intimal damage, such as a 0.1 mm deep fissure, can provoke a significant occlusive response. This type of lesion, which frequently leads to myocardial infarction and sudden death, is the first manifestation of coronary atherosclerosis in 50% of cases; two-thirds of patients have no recorded coronary disease before they die⁽¹⁶²⁾.

Ischemic heart disease and sudden cardiac death are not predictable, nor are they necessarily associated with significant obstruction of the coronary arteries⁽¹⁶³⁾. There is mounting evidence that hardening of the arteries is not only a cardiovascular risk marker but also directly affects the evolution of atherosclerotic plaques⁽⁹⁰⁾. It is therefore the composition and stability of plaques rather than their size or the degree of resulting stenosis that mainly determines whether there are atherothrombotic complications⁽¹⁶⁴⁾.

Patients with established atherosclerotic coronary disease have a 5- to 7-fold greater probability of suffering myocardial infarction than those with no apparent coronary lesions⁽¹⁶⁵⁾. Just as endothelial dysfunction appears to indicate the likelihood of cardiovascular complications⁽⁴⁾, the progression of coronary atherosclerosis is a strong independent predictor of thrombotic events⁽¹⁶⁶⁾. Cardiovascular events are equally predictable on the basis of endothelial dysfunction, both coronary and peripheral, which confirms the systemic nature

metabólicas dos tecidos periféricos.

Os eventos coronários agudos têm origem multifactorial, podendo ocorrer na sequência de uma trombose, ruptura da placa de ateroma, inflamação, obstrução mecânica progressiva ou obstrução dinâmica⁽¹⁵³⁾.

Nos períodos iniciais da aterosclerose as artérias coronárias apresentam um alargamento compensatório do seu diâmetro, por distensão da membrana elástica interna. Enquanto não houver estreitamento do lume vascular não há sintomatologia anginosa. O enfarte agudo do miocárdio resulta frequentemente de estenose numa artéria de calibre mais reduzido, por vezes com oclusão inferior a 50% da área de secção⁽¹⁵¹⁾. Quando a placa de ateroma ocupa cerca de 40 a 50%, ou mais, da área de corte transversal de uma dada artéria (o que poderá acontecer ao fim de décadas), deixa de haver capacidade de compensação à hiperémia⁽¹⁵⁴⁾ e sobrevêm os principais sintomas, provocados pela redução do fluxo sanguíneo local e desencadeados principalmente pelo exercício físico⁽¹⁵⁵⁾. Quando a estenose progride até cerca de 90% da área da secção vascular há limitação do fluxo sanguíneo, mesmo em repouso. Em mais de 50% dos doentes com cardiopatia isquémica foram observadas, por angiografia, múltiplas placas de ateroma, aparentemente na origem de uma elevada incidência de eventos aterotrombóticos recorrentes⁽¹⁵⁶⁾.

Cerca de 3/4 dos trombos coronários oclusivos serão formados por camadas de idades diferentes, confirmando o seu desenvolvimento por surtos recorrentes⁽¹⁵⁷⁾. Os “sedimentos” mais antigos, ricos em plaquetas que tapavam a fissura, teriam a data da primeira crise de angina instável de que havia resultado uma súbita redução do lume coronário⁽¹⁰⁶⁾. Na sequência daqueles resultados foi proposto que a “cabeça do trombo”, rico em plaquetas, seria continuada por um “cauda” com maior abundância de fibrina⁽¹⁵⁸⁾. Estudos posteriores demonstraram que aquela composição existiria em somente 15 a 25% dos casos, sendo a maioria representada por trombos mistos com muitos eritrócitos, embora metade destes fossem iniciados por um trombo plaquetário mural^(159, 160).

O trajecto coronário poderá configurar-se razoavelmente permeável apesar de apresentar lesões e depósitos lipídicos de dimensões médias (placas de ateroma) e, num dado momento,

of the disorder^(5, 62, 167). On the same basis, there is an increased risk of cerebrovascular events in patients with coronary endothelial dysfunction⁽⁵⁾.

GENERAL CONCLUSIONS

The loss of the endothelium's natural characteristics and functions leads to systemic alterations in cellular phenotype, which contributes to the development of atherosclerosis and its main complications. Thus, endothelial dysfunction, both in the coronary arteries and in peripheral arteries and resistance vessels, is an independent predictor of risk for atherothrombotic cardiovascular events.

ACKNOWLEDGEMENTS

Our thanks to Sra. D. Emília Alves for her careful typing of the text.

sobrevir a ruptura de uma dessas placas ⁽¹⁶¹⁾. De acordo com observações de autópsia, a extensão e estabilidade do trombo intraluminal e a sintomatologia registada em vida não seriam proporcionais à extensão do endotélio lesado. Por sua vez, a gravidade das lesões da íntima (p.ex., uma fissura com 0,1 mm de profundidade) também não seria proporcional à extensão, composição e espessura do trombo coronário formado ^(157, 158). Lesões mínimas da íntima poderiam estar associadas a uma resposta oclusiva relevante. Este tipo de situações, que frequentemente origina um enfarte agudo do miocárdio e morte súbita, constitui em 50% dos casos a primeira manifestação clínica da aterosclerose coronária, em que 2/3 dos doentes não possuíam qualquer registo de doença coronária antes de falecerem ⁽¹⁶²⁾.

A cardiopatia isquémica e morte súbita de causa cardíaca não são previsíveis nem estão, necessariamente, associadas a obstrução relevante das artérias coronárias ⁽¹⁶³⁾. Há evidência crescente de que o endurecimento arterial é um factor directamente interveniente na evolução das placas ateroscleróticas e não só um marcador de risco cardiovascular ⁽⁹⁰⁾. Por consequência, a composição e a estabilidade da placa de ateroma, mais do que a gravidade da estenose produzida ou a dimensão da placa, seriam os principais factores determinantes das complicações aterotrombóticas associadas ⁽¹⁶⁴⁾.

Os doentes com coronariopatia aterosclerótica estabelecida têm 5 a 7 vezes mais probabilidade de serem afectados por enfarte do miocárdio do que os doentes sem lesão coronária aparente ⁽¹⁶⁵⁾. Assim como a disfunção endotelial parece assinalar a futura ocorrência de complicações cardiovasculares ⁽⁴⁾, também a progressão da aterosclerose coronária é um forte factor predizente e independente de futuros eventos trombóticos ⁽¹⁶⁶⁾. Igualmente, os eventos cardiovasculares parecem ser previsíveis, com igual potencialidade, a partir de disfunção endotelial quer coronária quer periférica, o que confirmaria a natureza sistémica daquela anomalia ^(5, 62, 167). Na mesma base deverá ser interpretada a ocorrência de eventos cerebrovasculares em doentes em que havia sido diagnosticado disfunção endotelial coronária ⁽⁵⁾.

CONCLUSÕES GERAIS

A perda das características e funções naturais do endotélio tende a tornar-se uma alteração sistémica do fenotipo celular, que contribui para o desenvolvimento da aterosclerose e das suas principais complicações. Deste modo, a disfunção endotelial, tanto a nível dos vasos coronários como das artérias periféricas e vasos de resistência, representa um factor predizente independente de risco e evolução de eventos cardiovasculares de natureza aterotrombótica.

AGRADECIMENTOS

O nosso reconhecimento à Sra. D. Emília Alves pelo cuidadosa preparação dactilográfica do texto.

Pedidos de separatas para:

Address for reprints:

J. MARTINS E SILVA
Unidade de Biopatologia Vascular
Instituto de Medicina Molecular
Faculdade de Medicina de Lisboa
Av. Prof. Egas Moniz
1649-028 LISBOA
email: jsilva@fm.ul.pt

BIBLIOGRAFIA / REFERENCES

- 1 - Gimbrone M.A.Jr. - Vascular endothelium in health and disease. In: "Molecular Cardiovascular Medicine", E. Haber (ed), New York: Scientific American Inc, 1995; pp. 49-61.
- 2 - Gimbrone M.A. Jr. - Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherogenesis. *Am. J. Pathol.* 1999; 155:1-5.
- 3 - Garcia-Cardena G., Comander J., Anderson K.R., Blackman B.R., Gimbrone M.A.Jr. - Biomechanical activation of vascular endothelium as a determinant of its functional phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 2001; 98:4478-4485.
- 4 - Bonetti P.O., Lerman L.O., Lerman A. - Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23:168-175.
- 5 - Targonski P.V., Bonetti P.O., Pumper G.M., Higano S.T., Holmes D.R.Jr., Lerman A. - Coronary endothelial dysfunction is associated with an increased risk of cerebrovascular events. *Circulation* 2003; 107:2805-2809.
- 6 - Anderson T.J., Gerhard M.D., Meredith I.T., Charbonneau F., Delagrangue D., Creager M.A., Selwyn A.P., Ganz P. - Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.* 1995; 75:71B-74B.
- 7 - Lerman A., Zeiher A.M. - Endothelial function: cardiac events. *Circulation* 2005; 111:363-368.
- 8 - Simionescu N., Simionescu M. - "Endothelial Cell Biology in Health and Disease", New York: Plenum Press, 1988.
- 9 - Davignon J., Ganz J. - Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation.* 2004; 109:III27-III32.
- 10 - Harrison D.G. - Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J. Clin. Invest.* 1997; 100:2153-2157.
- 11 - Esmon C.T. - The interaction between inflammation and coagulation. *Br. J. Haematol.* 2005; 131:417-430.
- 12 - Saigo M., Hsue P.Y., Waters D.D. - Role of thrombotic and fibrinolytic factors in acute coronary syndromes. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2004; 46:524-538.
- 13 - Kojda G., Harrison D. - Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc. Res.* 1999; 43:562-571.
- 14 - Laursen J.B., Somers M., Kurz S., McCann L., Warnholtz A., Freeman B.A., Tarpey M., Fukai T., Harrison D.G. - Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation.* 2001; 103:1282-1288.
- 15 - Rubanyi G.M., Vanhoutte P.M. - Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.* 1986; 250:H822-H827.
- 16 - Ohara Y., Peterson T.E., Harrison D.G. - Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J. Clin. Invest.* 1993; 91:2546-2551.
- 17 - Guzik T.J., West N.E., Black E., McDonald D., Ratnatunga C., Pillai R., Channon K.M. - Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase: association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. *Circ. Res.* 2000; 86:E85-E90.
- 18 - Mugge A., Elwell J.H., Peterson T.E., Hofmeyer T.G., Heistad D.D., Harrison D.G. - Chronic treatment with polyethylene-glycolated superoxide dismutase partially restores endothelium-dependent vascular relaxations in cholesterol-fed rabbits. *Circ. Res.* 1991; 69:1293-1300
- 19 - Landmesser U., Merten R., Spiekermann S., Buttner K., Drexler H., Hornig B. - Vascular extracellular superoxide dismutase activity in patients with coronary artery disease: relation to endothelium-dependent vasodilation. *Circulation* 2000; 101:2264-2270.
- 20 - Vanhoutte P.M. - Endothelial dysfunction and inhibition of converting enzyme. *Eur. Heart. J.* 1998; 19 (Suppl J):7-15.
- 21 - Hollenberg S.M., Klein L.W., Parrillo J.E., Scherer M., Burns D., Tamburro P., Oberoi M., Johnson M.R., Costanzo M.R. - Coronary endothelial dysfunction after heart transplantation predicts allograft vasculopathy and cardiac death. *Circulation.* 2001; 104:3091-3096.
- 22 - French J.E. - Atherosclerosis in relation to the structure and function of the arterial intima, with special reference to the endothelium. *Int. Rev. Exp. Path.* 1966; 5:253-353.
- 23 - Agewall S., Henareh L., Kublickinene K. - Endothelial function in conduit and resistance arteries in men with coronary disease. *Atherosclerosis.* 2006; 184:130-136.
- 24 - Fuster V., Moreno P.R., Fayad Z.A., Corti R., Badimon J.J. - Atherosclerosis and high risk plaque. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 46:937-954.
- 25 - Hingorani A.D., Cross J., Kharbanda R.K., Mullen M.J., Bhagat K., Taylor M., Donald A.E., Palacios M., Griffin G.E., Deanfield J.E., MacAllister R.J., Vallance P. - Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation.* 2000; 102:994-999.
- 26 - Bacon P.A., Raza K., Banks M.J., Townend J., Kitas G.D. - The role of endothelial cell dysfunction in the cardiovascular mortality of RA. *Int. Rev. Immunol.* 2002; 21:1-17.
- 27 - Wissberg P.L., Bennett M.R. - Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340:1928-1929.
- 28 - Fichtlscherer S., Breuer S., Schachinger V., Dimmeler S., Zeiher A.M. - C-reactive protein levels determine systemic nitric oxide bioavailability in patients with coronary artery disease. *Eur. Heart. J.* 2004; 25:1412-1428
- 29 - Ridker P.M. - High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation.* 2001; 103:1813-1818.
- 30 - Pasceri V., Willerson J.T., Yeh E.T. - Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation.* 2000; 102:2165-2168.
- 31 - Venugopal S.K., Devaraj S., Yuhanna I., Shaul P., Jialal I. - Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2002; 106:1439-1441.
- 32 - Devaraj S., Xu D.Y., Jialal I. - C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation.* 2003; 107:398-404.
- 33 - Shimokawa H., Vanhoutte P.M. - Impaired endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets and related vasoactive substances in porcine coronary arteries in hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Circ. Res.* 1989; 64:900-914.
- 34 - Ludmer P.L., Selwyn A.P., Shook T.L., Wayne R.R., Mudge G.H., Alexander R.W., Ganz P. - Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1986; 315:1046-1051.
- 35 - Lüscher T.F. - Heterogeneity of endothelial dysfunction in hypertension. *Eur. Heart. J.* 1992; 13(suppl. D):50-55.
- 36 - Panza J.A., Quyyumi A.A., Brush J.J., Epstein S.E. - Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323:22-27.
- 37 - Naya E., Noll G., Lüscher T.F. - Increased cardiac activity of nitric oxide synthase in spontaneous hypertension. *Circulation*

- 1995; 91:2310-2313.
- 38 - Küng C.F., Lüscher T.F. - Different mechanisms of endothelial dysfunction with aging and hypertension in rat aorta. *Hypertension* 1995; 25:194-200.
- 39 - Harrison D.G., Freiman P.C., Armstrong M.L., Marcus M.L., Heistad D.D. - Alterations of vascular reactivity in atherosclerosis. *Circ. Res.* 1987; 61:1174-1180.
- 40 - Murohara T., Kugiyama K., Ohgushi M., Sugiyama S., Ohta Y., Yasue H. - LPC in oxidized LDL elicits vasoconstriction and inhibits endothelium-dependent relaxation. *Am. J. Physiol.* 1994; 267:H2441-H2449.
- 41 - Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T.E., Khao J.C., Witztum J.L. - Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.* 1989; 320:915-924
- 42 - Ross R. - Atherosclerosis an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340:115-126.
- 43 - Galle J., Hansen-Hagge T., Wanner C., Seibold S. - Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells. *Atherosclerosis.* 2006; 185:219-226.
- 44 - Cominacini L., Garbin U., Pasini A.F., Davoli A., Campagnola M., Pastorino A.M., Gaviraghi G., Lo Cascio V. - Oxidized low-density lipoprotein increases the production of intracellular reactive oxygen species in endothelial cells: inhibitory effect of lacidipine. *J. Hypertens.* 1998; 16:1913-1919.
- 45 - Minor R. Jr., Myers P.R., Guerra R. Jr., Bates J.N., Harrison D.G. - Diet-induced atherosclerosis increases the release of nitrogen oxides from rabbit aorta. *J. Clin. Invest.* 1990; 86:2109-2116.
- 46 - Blair A., Shaul P.W., Yuhanna I.S., Conrad P.A., Smart E.J. - Oxidized low density lipoprotein displaces endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) from plasmalemmal caveolae and impairs eNOS activation. *J. Biol. Chem.* 1999; 274:32512-32519.
- 47 - Lerman A., Edwards B.S., Hallett J.W., Heublein D.M., Sandberg S.M., Burnett J.J. - Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325:997-1001.
- 48 - Boulanger C.M., Tanner F.C., Bea M.L., Hahn A.W., Werner A., Lüscher T.F. - Oxidized low density lipoproteins induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. *Circ. Res.* 1992; 70:1191-1197.
- 49 - Winkles J.A., Alberts G.F., Brogi E., Libby P. - Endothelin-1 and endothelin receptor mRNA expression in normal and atherosclerotic human arteries. *Biochem. Biophys Res. Commun.* 1993; 191:1081-1088.
- 50 - Hasdai D., Holmes Jr.D.R., Garratt K.N., Edwards W.D., Lerman A. - Mechanical pressure and stretch release endothelin-1 from human atherosclerotic coronary arteries in vivo. *Circulation.* 1997; 95:357-362.
- 51 - Hahn A.W., Resink T.J., Scott-Burden T., Powell J., Dohi Y., Bühler F.R. - Stimulation of endothelin mRNA and secretion in rat vascular smooth muscle cells: a novel autocrine function. *Cell Regul.* 1990; 1:649-659.
- 52 - Zeiher A.M., Ihling C., Pistorius K., Schächinger V., Schaefer H-E. - Increased tissue endothelin immunoreactivity in atherosclerotic lesions associated with acute coronary syndromes. *Lancet* 1994; 344:1405-1406.
- 53 - Yang Z., Richard V., von Segesser L., Bauer R., Stulz P., Turina M., Lüscher T.F. - Threshold concentrations of endothelin-1 potentiate contractions to norepinephrine and serotonin in human arteries. A new mechanism of vasospasm? *Circulation* 1990; 82:188-195.
- 54 - McKenna C.J., Burke S.E., Oppenorth T.J., Padley R.J., Camrud L.J., Camrud A.R., Johnson J., Carlson P.J., Lerman A., Holmes D.R.Jr., Schwartz R.S. - Selective ET(A) receptor antagonism reduces neointimal hyperplasia in a porcine coronary stent model. *Circulation* 1998; 97:2551-2556.
- 55 - Cohen R., Zitnay K.M., Haudenschild C.C., Cunningham L.D. - Loss of selective endothelial cell vasoactive function caused by hypercholesterolemia in pig coronary arteries. *Circ. Res.* 1988; 63:903-910.
- 56 - Ninio E. - Phospholipid mediators in the vessel wall: involvement in atherosclerosis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2005; 8:123-131.
- 57 - Cohen R.A., Shepherd J.T., Vanhoutte P.M. - Inhibitory role of the endothelium in the response of isolated coronary arteries to platelets. *Science* 1983; 221:273-274.
- 58 - Garg U.C., Hassid A. - Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.* 1989; 83:1774-1777.
- 59 - Hristov M., Weber C. - Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance. *J. cell. Mol. Med.* 2004; 8:498-508.
- 60 - Heistad D.D., Marcus M.L., Larsen G. E., Armstrong M.L. - Role of vasa vasorum in nourishment of the aortic wall. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 1981; 240:H781-H787.
- 61 - Onoue H., Tsutsui M., Smith L., Stelzer A., O'Brien T., Katusic Z.S. - Expression and function of recombinant endothelial nitric oxide synthase gene in canine basilar artery after experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1998; 29:1959-1965.
- 62 - Ganz P., Vita J.A. - Testing endothelial vasomotor function: nitric oxide, a multipotent molecule. *Circulation.* 2003; 108:2049-2053.
- 63 - Patti G., Pasceri V., Melfi R., Goffredo C., Chello M., D'Ambrosio A., Montesanti R., D'Sciascio G. - Impaired flow-mediated dilation and risk of restenosis in patients undergoing coronary stent implantation. *Circulation.* 2005; 111:70-75.
- 64 - Stokes K.Y., Granger D.N. - The microcirculation: a motor for the systemic inflammatory response and large vessel disease induced by hypercholesterolaemia? *J. Physiol.* 2005; 562:647-653.
- 65 - Galili O., Sattler K.J., Herrmann J., Woodrum J., Olson M., Lerman L.O., Lerman A. - Experimental hypercholesterolemia differentially affects adventitial vasa vasorum and vessel structure of the left internal thoracic and coronary arteries. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2005; 129:767-772.
- 66 - Gainer J.L. - Hypoxia and atherosclerosis: re-evaluation of an old hypothesis. *Atherosclerosis* 1987; 68:263-266.
- 67 - Levin M., Leppänen O., Evaldsson M., Wiklund D., Bundjers G., Björnheden T. - Mapping of ATP, glucose, glycogen, and lactate concentrations within the arterial wall. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23:1801-1807.
- 68 - Fujio Y., Walsh K. - Akt mediates cytoprotection of endothelial cells by vascular endothelial growth factor in an anchorage-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 1999; 274:16349-16354.
- 69 - Kim I., Kim J.A., Moon S.O., Kwak H.J., Kim N.G., Koh G.Y. - Angiotensin-2 at high concentration can enhance endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. *Oncogene.* 2000; 19:4549-4552.
- 70 - Carmeliet P. - Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature.* 2005; 438:932-936.
- 71 - Matsui T., Rosenzweig A. - Convergent signal transduction pathways controlling cardiomyocyte survival and function: the role of PI 3-kinase and Akt. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2005; 38:63-71.
- 72 - Dimmeler S., Dernbach E., Zeiher A.M. - Phosphorylation of the endothelial nitric oxide synthase at ser-1177 is required for

- VEGF-induced endothelial cell migration. *FEBS Lett.* 2000; 477:258-262.
- 73 - Dimmeler S., Fleming I., Fisslthaler B., Hermann C., Busse R., Zeiher A.M. - Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999; 399:601-605.
- 74 - Downward H. - Mechanisms and consequences of activation of protein kinase B/Akt. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 1998; 10:262-267.
- 75 - Morales-Ruiz M., Fulton D., Sowa G., Languino L.R., Fujio Y., Walsh K., Sessa W.C. - Vascular endothelial growth factor-stimulated actin reorganization and migration of endothelial cells is regulated via the serine/threonine kinase Akt. *Circ Res.* 2000; 86:892-896.
- 76 - Baines C.P., Molkentin J.D. - STRESS signaling pathways that modulate cardiac myocyte apoptosis. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2005; 38:47-62.
- 77 - Manning A.M., Davis R.J. - Targeting JNK for therapeutic benefit: from junk to gold? *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2003; 2:554-565.
- 78 - Shao Z., Bhattacharya K., Hsieh E., Park L., Walters B., Germann U., Wang Y.M., Kyriakis J., Mohanlal R., Kuida K., Namchuk M., Salituro F., Yao Y.M., Hou W.M., Chen X., Aronovitz M., Tschlis P.N., Bhattacharya S., Force T., Kilter H. - c-Jun N-terminal kinases mediate reactivation of Akt and cardiomyocyte survival after hypoxic injury in vitro and in vivo. *Circ. Res.* 2006; 98:111-118.
- 79 - Shiraishi I., Melendez J., Ahn Y., Skavdahl M., Murphy E., Welch S., Schaefer E., Walsh K., Rosenzweig A., Torella D., Nurzynska D., Kajstura J., Leri A., Anversa P., Sussman M.A. - Nuclear targeting of Akt enhances kinase activity and survival of cardiomyocytes. *Circ Res.* 2004; 94:884-891.
- 80 - Shaw J., Kirshenbaum A.A. - Prime time for JNK-mediated Akt reactivation in hypoxia-reoxygenation. *Circ. Res.* 2006; 98:7-9.
- 81 - Toyo-Oka T., Aizawa T., Suzuki N., Hirata Y., Miyauchi T., Slin W.S., Yanagisawa M., Masaki T., Sugimoto L. - Increased plasma levels of endothelin-1 and coronary spasm induction in patients and vasospastic angina pectoris. *Circulation* 1991; 83:476-483.
- 82 - Kourembanas S., Marsden P.A., McQuillan L.P., Fuller D.V. - Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium. *J. Clin. Invest.* 1991; 88:1054-1057.
- 83 - Stewart D., Kubac G., Costello K.B., Cernacek P. - Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1991; 18:38-43.
- 84 - Heintz B., Dorr R., Gillensen T., Walkenhorst F., Krebs W., Hanrath P., Sieberth H.G. - Do arterial endothelin 1 levels affect local arterial stiffness? *Am. Heart. J.* 1993; 126:987-989.
- 85 - Wannamethee G.S., Shaper A.G., Lennon L., Morris R.W. - Role of the metabolic syndrome in risk assessment for coronary heart disease. *Arch. Intern. Med.* 2005; 165:2644-2650.
- 86 - Liao D. - Arterial stiffness and the development of hypertension. *Ann. Med.* 2000; 32:383-385.
- 87 - Wilkinson I.B., Franklin L.S., Cockcroft J.R. - Nitric oxide and the regulation of large artery stiffness: from physiology to pharmacology. *Hypertension.* 2004; 44:112-116.
- 88 - Vaitkevicius P.V., Fleg J.L., Engel J.H., O'Connor F.C., Wright J.G., Lakatta L.E., Yin F.C., Lakatta E.G. - Effects of age and aerobic capacity on arterial stiffness in healthy adults. *Circulation.* 1993; 88:1456-1462.
- 89 - Schmitt M., Qasem A., McEniery C., Wilkinson I.B., Tatarinoff V., Noble K., Klemes J., Payne N., Frenneaux M.P., Cockcroft J., Avolio A. - Role of natriuretic peptides in regulation of conduit artery distensibility. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2004; 287:H1167-H1171.
- 90 - Wilkinson I.B., McEniery C.M. - Arterial stiffness, endothelial function and novel pharmacological approaches. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2004; 31:795-799.
- 91 - McEnery C.M., Qasem A., Schmitt M., Avolio A.P., Cockcroft J.R., Wilkinson I.B. - Endothelin-1 regulates arterial pulse wave velocity in vivo. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 42:1975-1981.
- 92 - Lehmann E.D., Watts G.F., Gosling R.G. - Aortic distensibility and hypercholesterolaemia. *Lancet* 1992; 340:1171-1172.
- 93 - Lehmann E.D., Gosling R.G., Sonksen P.H. - Arterial wall compliance in diabetes. *Diabet. Med.* 1992; 9:114-119.
- 94 - Arnett D.K., Boland L.L., Evans G.W., Riley W., Barnes R., Tyroler H.A., Heiss G. - Hypertension and arterial stiffness: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *ARIC Investigators. Am. J. Hypertens.* 2000; 13:317-323.
- 95 - Avolio A.P., Chen S-G., Wang R-P., Zhang C-L., Li M-F., O'Rourke M.F. - Effects of aging on changing arterial compliance and left ventricular load in a northern Chinese urban community. *Circulation.* 1983; 68:50-58.
- 96 - Yasmin C.M. McEniery, Wallace S., Mackenzie I.S., Cockcroft J.R., Wilkinson I.B. - C-reactive protein is associated with arterial stiffness in apparently healthy individuals. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24:969-974.
- 97 - Booth A.D., Wallace S., McEniery C.M., Yasmin, Brown J., Jayne D.R., Wilkinson I.B. - Inflammation and arterial stiffness in systemic vasculitis: a model of vascular inflammation. *Arthritis. Rheum.* 2004; 50:581-588.
- 98 - McDonnell S., Morgan M., Lynch C. - Role of matrix metalloproteinases in normal and disease processes. *Biochem. Soc. Trans.* 1999; 27:734-740.
- 99 - Yasmin, C.M. McEniery, Wallace S., Dakham Z., Pulsalkar P., Maki-Petaja K., Ashby M.J., Cockcroft J.R., Wilkinson I.B. - Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25:372-378.
- 100 - Libby P. - Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420:868-874.
- 101 - Lendon C.L., Davies M.J., Born G.V., Richardson P.D. - Atherosclerotic plaque caps are locally weakened when macrophages density is increased. *Atherosclerosis.* 1991; 87:87-90.
- 102 - Van der Wal A.C., Becker A.E., van der Loos C.M., Das P.K. - Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation.* 1994; 89:36-44.
- 103 - Vink A., Schoneveld A.H., Poppen M., de Kleijn D.P., Borst C., Pasterkamp G. - Morphometric and immunohistochemical characterization of the intimal layer throughout the arterial system of elderly humans. *J. Anat.* 2002; 200:97-103.
- 104 - Richardson P.D., Davies M.J., Born G.V. - Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. *Lancet.* 1989; 2:941-944.
- 105 - Chyu K.Y., Shah P.K. - The role of inflammation in plaque disruption and thrombosis. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2001; 2:82-91.
- 106 - Chandler A.B., Chapman I., Erhardt L.R., Roberts W.C., Schwartz C.J., Sinapius D., Spain D.M., Sherry S.W., Ness P.M., Simon T.L. - Coronary thrombosis in myocardial infarction. Report of a workshop on the role of coronary thrombosis in the pathogenesis of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 1974; 34:823-833.
- 107 - Armstrong E.J., Morrow D.A., Sabatine M.S. - Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes. Part I:

- introduction and cytokines. *Circulation* 2006; 113:e72-e75.
- 108 - Lindmark E., Diderholm E., Wallentin L., Siegbahn A. - Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease. *Jam. Med. Assoc.* 2001; 286:2107-2113.
- 109 - de Lemos J., Morrow D., Sabatine M., Murphy S., Gibson M., Antman E., McCabe C., Cannon C., Braunwald E. - Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107:690-695.
- 110 - Ridker P., Rifai N., Pfeffer M., Sacks F., Lepage S., Braunwald E. - Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000; 101:2149-2153.
- 111 - Borden P., Heller R.A. - Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene. Expression.* 1997; 7:159-178.
- 112 - Bizliz L., Bonithon-Kopp C., Ducimetiere P., Berr C., Alperovitch A., Robert L. - Relation of serum elastase activity to ultrasonographically assessed carotid artery wall lesions and cardiovascular risk factors. The EVA study. *Atherosclerosis.* 1996; 120:47-55.
- 113 - Altieri P., Brunelli C., Garibaldi S., Nicolino A., Ubaldi S., Spallarossa P., Olivotti L., Rossettin P., Barsotti A., Ghigliotti G. - Metalloproteinases 2 and 9 are increased in plasma of patients with heart failure. *Eu. J. Clin. Invest.* 2003; 33:648-656.
- 114 - Ducharme A., Frantz S., Aikawa M., Rabkin E., Lindsey M., Rohde L.E., Schoen F.J., Kelly R.A., Werb Z., Libby P., Lee R.T. - Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction. *J. Clin. Invest.* 2000; 106:55-62.
- 115 - Luttun A., Lutgens E., Manderveld A., Maris K., Collen D., Carmeliet P., Moons L. - Loss of matrix metalloproteinase-9 or matrix metalloproteinase-12 protects apolipoprotein E-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially affects plaque growth. *Circulation.* 2004; 109:1408-1414.
- 116 - Flugelman M., Virmani R., Correa R., Yu Z.X., Farb A., Leon M.B., Elami A., Fu Y.M., Casscells W., Epstein S.E. - Smooth muscle cell abundance and fibroblast growth factors in coronary lesions of patients with nonfatal unstable angina. A clue to the mechanism of transformation from the stable to unstable clinical state. *Circulation* 1993; 88:2493-2500.
- 117 - Zeiffer U., Schober A., Lietz M., Liehn E.A., Erl W., Emans N., Yan Z.Q., Weber C. - Neointimal smooth muscle cells display a proinflammatory phenotype resulting in increased leukocyte recruitment mediated by P-selectin and chemokines. *Circ. Res.* 2004; 94:776-84.
- 118 - Breuss J.M., Cejna M., Bergmeister H., Kadl A., Baumgartl G., Steurer S., Xu Z., Koshelnick Y., Lipp J., De Martin R., Losert U., Lammer J., Binder B.R. - Activation of nuclear factor-kappa B significantly contributes to lumen loss in a rabbit iliac artery balloon angioplasty model. *Circulation.* 2002; 105:633-638.
- 119 - Bellas R.E., Lee J.S., Sonenshein G.E. - Expression of a constitutive NF-kappa B-like activity is essential for proliferation of cultured bovine vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.* 1995; 96:2521-2527.
- 120 - Collins T., Cybulsky M.I. - NF-kappaB: pivotal mediator or innocent bystander in atherogenesis? *J. Clin. Invest.* 2001;107:255-264.
- 121 - Raines E.W., Garton K.J., Ferri N. - Beyond the endothelium: NF-kappaB regulation of smooth muscle function. *Circ. Res.* 2004; 94:706-708.
- 122 - Band K., Page S., Rogler G., Bartsch A., Brandl R., Kneuchel R., Page M., Kaltschmidt C., Baeuerle P.A., Neumeier D. - Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J. Clin. Invest.* 1996; 97:1715-1722.
- 123 - Zuckerbraun B., McCloskey C., Mahidhare R., Kim P., Taylor B., Tzeng E. - Overexpression of mutated IkappaBalpha inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and intimal hyperplasia formation. *J. Vasc. Surg.* 2003; 38:812-819.
- 124 - Barnes P.J., Karin M. - Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336:1066-1071.
- 125 - Kubes P., Suzuki M., Granger D.N. - Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991; 88:4651-4655.
- 126 - De Catarina R., Libby P., Peng H.B., Thannickal V.J., Rajavashisth T.B., Gimbrone Jr M.A., Shin W.S., Liao J.K. - Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J. Clin. Invest.* 1995; 96:60-68.
- 127 - Lerman A., Burnett J. - Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation* 1992; 86 (Suppl. III):III.12-III.19.
- 128 - Golino P., Piscione F., Willerson J.T., Cappelli-Bigazzi M., Foraccio A., Vilarì B., Indolfi C., Russolillo E., Condorelli M., Chiariello M. - Divergent effects of serotonin on coronary-artery dimensions and blood flow in patients with coronary atherosclerosis and control patients. *N. Engl. J. Med.* 1991; 324:641-648.
- 129 - Lerman A. - Reestenosis: another "dysfunction" of the endothelium. *Circulation* 2005; 111:8-10.
- 130 - Vita J., Treasure C.B., Yeung A.C., Vekshtein V.I., Fantasia G.M., Fish R.D., Ganz P., Selwyn A.P. - Patients with evidence of coronary endothelial dysfunction as assessed by acetylcholine infusion demonstrate marked increase in sensitivity to constrictor effect of catecholamines. *Circulation* 1992; 85:1390-1397.
- 131 - Mudge G.J.Jr., Golderg S., Gunther S., Mann T., Grossman W. - Comparison of metabolic and vasoconstrictor stimuli on coronary vascular resistance in man. *Circulation* 1979; 59:544-550.
- 132 - Berne R.M. - Regulation of coronary blood flow. *Physiol Rev.* 1964; 44:1-29.
- 133 - Konidala S., Gutterman D.D. - Coronary vasospasm and the regulation of coronary blood flow. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2004; 46:349-373.
- 134 - Zeiher A.M. Krause T., Schachinger V., Minners J., Moser E. - Impaired endothelium-dependent vasodilation of coronary resistance vessels is associated with exercise-induced myocardial ischemia. *Circulation.* 1995; 91:2345-2352.
- 135 - Hasdai D., Gibbons R.J., Holmes D.R. Jr., Higano S.T., Lerman A. - Coronary endothelial dysfunction in humans is associated with myocardial perfusion defects. *Circulation.* 1997; 96:3390-3395.
- 136 - Panting J.R., Gatehouse P.D., Yang G.Z., Grothues F., Firmin D.N., Collins P., Pennell D.J. - Abnormal subendocardial perfusion in cardiac syndrome X detected by cardiovascular magnetic resonance imaging. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346:1948-1953.
- 137 - Maseri A., Pesola A., Marzilli M., Serevi S., Parodi O., L'Abbate A., Ballestra A.M., Maltinti G., Des Nes D.M., Biagini A. - Coronary vasospasm in angina pectoris. *Lancet* 1977; 1:713-717.
- 138 - Folts J.D., Crowell E.B.Jr., Rowe G.G. - Platelet aggregation in partially obstructed vessels and its elimination with aspirin. *Circulation.* 1976; 54:365-370.

- 139 - Bush L.R., Campbell W.B., Kern K., Tilton G.D., Apprill P., Ashton J., Schmitz J., Buja L.M., Willerson J.T. - The effects of alpha 2-adrenergic and serotonergic receptor antagonists on cyclic blood flow alterations in stenosed canine coronary arteries. *Circ. Res.* 1984; 55:642-652.
- 140 - Hirsh P.D., Hillis L.D., Campbell W.B., Firth B.G., Willerson J.T. - Release of prostaglandins and thromboxane into the coronary circulation in patients with ischemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1981; 304:685-691.
- 141 - Golino P., Ashton J.H., Buja L.M., Rosolowsky M., Taylor A.L., McNatt J., Campbell W.B., Willerson J.T. - Local platelet activation causes vasoconstriction of large epicardial canine coronary arteries in vivo. Thromboxane A2 and serotonin are possible mediators. *Circulation.* 1989; 79:154-166
- 142 - Zoldhelyi P., McNatt J., Xu X.M., Loose-Mitchell D., Meidell R.S., Clubb F.J., Buja L.M., Willerson J.T., Wu K.K. - Prevention of arterial thrombosis by adenovirus-mediated transfer of cyclooxygenase gene. *Circulation.* 1996; 93:10-17.
- 143 - Neglia D., Michelassi C., Trivieri M.G., Sambuceti G., Giorgetti A., Pratali L., Gallopin M., Salvadori P., Sorace O., Carpeggiani C., Poddighe R., L'Abbate A., Parodi O. - Prognostic role of myocardial blood flow impairment in idiopathic left ventricular dysfunction. *Circulation.* 2002; 105:186-193.
- 144 - Feigl E.O. - Sympatetic control of coronary circulation. *Circ. Res.* 1967; 20:262-271.
- 145 - Feigl E.O. - Coronary physiology. *Physiol. Rev.* 1983; 63:1-205.
- 146 - Mohrman D.E., Feigl E.O. - Competition between sympathetic vasoconstriction and metabolic vasodilation in the canine coronary circulation. *Circ. Res.* 1978; 42:79-86.
- 147 - Yeung A., Vekshtein V.I., Krantz D.S., Vita J.A., Ryan T.J.Jr., Ganz P., Selwyn A.P. - The effect of atherosclerosis on the vasomotor response coronary arteries to mental stress. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325:1151-1156.
- 148 - Gordon J.B., Ganz P., Nabel E.G., Fish R.D., Zebede J., Mudge G.H., Alexander R.W., Selwyn A.P. - Atherosclerosis influences the vasomotor response of epicardial coronary arteries to exercise. *J. Clin. Invest.* 1989; 83:1946-1952.
- 149 - Nabel E.G., Ganz P., Gordon J.B., Alexander R.W., Selwyn A.P. - Dilation of normal and constriction of atherosclerotic coronary arteries caused by the cold pressor test. *Circulation.* 1988; 77:43-52.
- 150 - Celermajer D.S., Sorensen K.E., Georgakopoulos D., Bull C., Thomas O., Robinson J., Deanfield J.E. - Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation.* 1993; 88:2149-2155.
- 151 - Little W.C., Downes T.R., Applegate R.J. - The underlying coronary lesion in acute myocardial infarction: implications for coronary angiography. *Clin. Cardiol.* 1991; 14:868-874.
- 152 - Meller J., Pichard A., Dack S. - Coronary arterial spasm in Prinzmetal's angina: a proved hypothesis. *Am. J. Cardiol.* 1976; 37:938-940.
- 153 - Braunwald E. - Unstable angina: on etiologic approach to management. *Circulation* 1998; 98:2219-2222.
- 154 - Gould K.L., Lipscomb K., Hamilton G.W. - Physiologic basis for assessing critical coronary stenosis. Instantaneous flow response and regional distribution during coronary hyperemia as measures of coronary flow reserve. *Am. J. Cardiol.* 1974; 33:87-94.
- 155 - Mintz G.S., Painter J.A., Pichard A.D., Kent R.V., Satler L.F., Popma J.J., Chuang Y.C., Bucher T.A., Sokolowicz L.E., Leon M.B. - Atherosclerosis in angiographically "normal" coronary artery reference segments: an intravascular ultrasound study with clinical correlations. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995; 25:1479-1485.
- 156 - Rioufol G., Finet G., Ginon I., André-Fouet X., Rossi R., Vialle E., Desjoyaux E., Convert G., Huret J.F., Tabib A. - Multiple atherosclerotic plaque rupture in acute coronary syndrome: a three-vessel intravascular ultrasound study. *Circulation.* 2002; 106:804-808.
- 157 - Davies M.J., Thomas A.C. - Plaque fissuring—the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br. Heart. J.* 1985; 53:363-373.
- 158 - Fuster V., Badimon L., Cohen M., Ambrose J.A., Badimon J.J., Chesebro J. - Insights into the pathogenesis of acute ischemic syndromes. *Circulation.* 1988; 77:1213-1220.
- 159 - Sinapius D. - Zur morphologie verschliessender koronar thromben. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1972; 97:544-551.
- 160 - Falk E. - Unstable angina with fatal outcome: dynamic coronary thrombosis leading to infarction and/or sudden death. Autopsy evidence of recurrent mural thrombosis with peripheral embolization culminating in total vascular occlusion. *Circulation.* 1985; 71:699-708.
- 161 - Topol E.J., Nissen S.E. - Our preoccupation with coronary luminology. The dissociation between clinical and angiographic findings in ischemic heart disease. *Circulation* 1995; 92:2333-2342.
- 162 - Myerburg R.J., Interian Jr:A., Mitrani R.M., Kessler K.M., Castellanos A. - Frequency of sudden cardiac death and profiles of risk. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80:10F-19F.
- 163 - Naghavi M. e 57 Cols. - From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: II. *Circulation.* 2003; 108:1772-1778.
- 164 - Dupuis J. - Mechanisms of acute coronary syndromes and the potential role of statins. *Atheroscler. Suppl.* 2001; 2:9-14.
- 165 - Pekkanen J., Linn S., Heiss G., Suchindran C.M., Leon A., Rifkind B.M., Tyroler H.A. - Ten-year mortality from cardiovascular disease in relation to cholesterol level among men with and without preexisting cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322:1700-1707.
- 166 - Azen S.P., Mack W.J., Cashin-Hemphill L., LaBree L., Shircore A.M., Selzer R.H., Blackenhorn D.H., Hodis H.N. - Progression of coronary artery disease predicts clinical coronary events. Long-term follow-up from the Cholesterol Lowering Atherosclerosis Study. *Circulation* 1996; 93:34-41.
- 167 - Schachinger V., Britten M.B., Zeiher A.M. - Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation.* 2000; 101:1899-1906.