

Estrés oxidativo, disfunción endotelial y aterosclerosis

Oxidative stress, endotelial dysfunction and atherosclerosis

Lic. Jorge Lozano Casanova, Dr Andrés Pedrosa Amado

Facultad de Medicina ISCM-Camagüey Carlos J. Finlay. Camagüey, Cuba.

RESUMEN

Esta revisión bibliográfica se realizó con el objetivo de discutir los principales mecanismos bioquímicos que vinculan el estrés oxidativo con la disfunción endotelial, además de ver como esta última a su vez se relaciona con la etiopatogenia de la aterosclerosis. Puede decirse que en los últimos años ha quedado demostrado que la disfunción endotelial es tal vez el elemento más importante entre aquellos que participan en el inicio y desarrollo de la aterosclerosis.

DeCS: ESTRÉS OXIDATIVO; ATEROSCLEROSIS.

ABSTRACT

In the last few years, it has been proved that endothelial dysfunction is maybe the most important element among those that participate in the beginning and ending of atherosclerosis. In this study, a bibliographic review of the role of free radicals of oxygen and of oxidative stress in the occurrence of an endothelial dysfunction and relationships with atherosclerosis.

DeCS: OXIDATE STREES; ATEROSCLEROSIS.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se han venido acumulando evidencias que soportan fuertemente la existencia de una estrecha relación entre diversos estados patológicos del sistema cardiovascular, con anomalías de la relajación vascular endotelial dependiente.

En el período comprendido desde que Furchgott y Zawadzky (1) demostraron que la relajación de las células musculares lisas de las arterias en respuesta a la Acetil Colina era dependiente de la integridad anatómica del endotelio, hasta nuestros días, fueron apareciendo en la literatura científica internacional, múltiples hallazgos que modificaron significativamente el concepto que sobre la función del endotelio vascular se había mantenido históricamente, pasando de ser considerado una simple barrera física entre el torrente sanguíneo y la pared vascular, a ser reconocido como responsable primario en la manutención de la hemostasia, mediante la regulación del tono vascular, y la adhesión y crecimiento celular (2). Demostrándose además que la disfunción endotelial constituye el centro de múltiples desórdenes del sistema cardiovascular, entre ellos, la hipertensión y la aterosclerosis.

La aparición de un estado de disfunción endotelial tiene un origen multifactorial. Entre los diversos factores que han sido sugeridos como iniciadores del mismo se encuentra el estrés oxidativo inducido por una sobreproducción de radicales del oxígeno (3). El propósito de esta revisión es precisamente, discutir los principales mecanismos bioquímicos que vinculan el estrés oxidativo con la disfunción endotelial y cómo esta última a su vez se relaciona con la etiopatogenia de la aterosclerosis.

Funciones reguladoras del endotelio vascular

El endotelio vascular desempeña su función reguladora mediante la conservación del equilibrio entre la secreción de sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadoras, factores procoagulantes y anticoagulantes, y agentes estimulantes y depresores de la proliferación celular (4, 5)

De los diferentes tipos de células que integran los vasos sanguíneos, las únicas que están en contacto directo con la sangre son las células endoteliales y por ello reciben la acción directa de estímulos químicos y físicos provenientes de ella, secretando sustancias que por mecanismo autocrino actúan sobre sí mismas o sobre las células musculares lisas vecinas, desencadenando la respuesta necesaria para cada estímulo. De esta forma las células endoteliales constituyen los mediadores esenciales en el proceso de conservación de la hemostasia circulatoria y el tono vascular.

Entre las sustancias vasoactivas que son sintetizadas y secretadas por las células endoteliales encontramos:

- Las Endotelinas ET1, ET2 y ET3, péptidos de 21 aminoácidos con dos puentes disulfuro intracatenarios, las cuales promueven la vasoconstricción estimulando en las células musculares lisas la apertura de canales de voltaje para el calcio y activando la fosfolipasa C (6,7).
- Los productos del metabolismo del ácido araquidónico, a través de la vía de la ciclooxigenasa como son las Prostaglandinas, PGH₂, PGF₂ y PGE₂, y la Prostaciclina PGI₂. Algunas de ellas, como la PGH₂, ejerce un efecto vasoconstrictor, mientras que otras, como la PGI₂, son vasodilatadoras (7).
- Los factores de constricción derivados del endotelio (EDCF-1 y EDCF-2) ambos con efecto vasoconstrictor, y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF) de efecto vasodilatador y de naturaleza química desconocida.
- El factor de relajación derivado del endotelio (EDRF), cuya naturaleza química hoy se conoce y se corresponde con el Oxido Nítrico (ON), el cual constituye el principal relajante vascular sintetizado por el endotelio (7,8).
- El anión superóxido que constituye un poderoso agente vasoconstrictor. (6).

En adición a los efectos de estas sustancias sobre el tono vascular, ellas pueden ejercer otros efectos igualmente importantes sobre la proliferación de las células musculares lisas y sobre la adhesión de monocitos o plaquetas al endotelio vascular. El Oxido Nítrico y la Prostaciclina inhiben la adhesión y la agregación plaquetarias, el primero es además un inhibidor de la proliferación de las células musculares lisas. (9).

Las células endoteliales igualmente producen la proteína inhibidora del activador del Plasminógeno y el propio activador del Plasminógeno, o sustancias con actividad semejante al Factor de Crecimiento Plaquetario que estimulan la proliferación de las células musculares lisas.

Por último, las células endoteliales mediante la expresión en su superficie de moléculas de adhesión (VCAM) o por la secreción de factores quimiotácticos, modulan la interacción entre la pared vascular y los elementos formes de la sangre (10).

Una revisión detallada de los mecanismos de acción de cada una de estas sustancias y de la compleja interacción que entre ellas se establece durante la regulación del tono vascular y la hemostasia circulatoria, se escapa al propósito de este artículo. ONs referimos exclusivamente al papel del Óxido Nítrico y a las consecuencias de su interacción con el anión Superóxido, proceso que es considerado en estos momentos como el más importante dentro del mecanismo de la relajación vascular endotelio dependiente.

Funciones reguladoras del Oxido Nítrico

El ON es sintetizado en las células endoteliales por la oxidación NADPH dependiente de un nitrógeno guanidínico del aminoácido L-Arginina.

$L\text{-Arginina} + O_2 + NADPH \rightarrow ON + \text{Citrulina} + NADP^+$

Esta reacción es catalizada por la enzima Oxido Nítrico Sintetasa (ONS). En las células endoteliales se han identificado dos isoformas diferentes de la enzima, una de ellas, la isoforma ONS-III, es constitutiva y dependiente del sistema calcio/calmodulina, mientras que la otra isoforma, la ONS-II, es inducible y ON dependiente del sistema calcio/calmodulina. La ONS III es constantemente expresada en las células endoteliales, aunque su actividad depende de las concentraciones intracelulares de calcio, y es responsable de la síntesis de los niveles basales de ON(11-13). No obstante, a pesar de que la ONS-III es categorizada como una enzima constitutiva, se ha descubierto que su expresión es modulada por varios factores como es el caso de la hipoxia, el Factor de Crecimiento Transformante (TGF) y el Shear Stress, los cuales estimulan la expresión de la enzima. La isoforma ONS-II ON se expresa normalmente a no ser que las células endoteliales sean estimuladas por células del sistema inmune, en un mecanismo mediado por la estimulación de receptores para las Interleukinas.

Otros agentes químicos como la Acetil Colina, la Endotelina 3, la Bradikinina y la sustancia P han mostrado igualmente que estimulan la producción de ON por el endotelio, aunque no se conoce con exactitud cual tipo específico de isoforma media en estos efectos.

El ON actúa como un mensajero químico en la transducción de señales y puede estimular, por un mecanismo autocrino, procesos bioquímicos en las propias células endoteliales o difundir a través de las membranas biológicas y por un mecanismo paracrino estimular diversos procesos en las células musculares lisas vecinas. Entre las proteínas blanco para el ON se encuentran un grupo de componentes de las cascadas de biotransducción de señales, tal es el caso de la Guanidilo Ciclasa soluble, las MAP quinasas, la Proteinkinasa C, y la tirosínquinasa p56lck, su acción sobre ellas eleva los niveles de GMP cíclico y el grado de fosforilación de proteínas en la célula, lo cual conduce a que se modifique la actividad de algunas de ellas, produciendo los efectos fisiológicos inducidos por el ON.

El efecto vasodilatador del ON es atribuido a la modificación funcional de dos sistemas proteicos del retículo endoplásmico de las células musculares lisas, el primero de ellos la ATPasa de calcio, es activada por el aumento del GMP cíclico, incrementando el paso del calcio del citoplasma al interior del retículo; el segundo de ellos, un canal catiónico ON selectivo, el cual se cierra interrumpiendo la salida del calcio del retículo hacia el citoplasma. La acción combinada de ambos sistemas

produce una reducción rápida del calcio citoplasmático y con ello la relajación. Este efecto vasodilatador es reforzado por el hecho de que el ON activa las enzimas ciclooxigenasas I y II en las propias células endoteliales, incrementando la síntesis y secreción de Prostaciclina, la cual induce la relajación en las células musculares lisas.

Algunas proteínas que actúan como reguladoras de la expresión genética son fosforiladas por el sistema de biotransducción de señales activado por el ON, entre ellas el NF Kappa B, c-fos, c-jun, AP-1 y CREB.

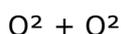
La modificación en la actividad de estos factores conducen a diversos efectos biológicos, tanto en las células del propio endotelio, como en las musculares lisas. De esta forma las células endoteliales disminuyen la síntesis de moléculas de adhesión celular como las V-CAM y I-CAM y de factores estimulantes de la proliferación celular, con lo que se inhibe la capacidad de adhesión al endotelio vascular de los monocitos y las plaquetas y la proliferación de las células musculares lisas. (10, 14, 15)

Otras enzimas como la Citocromo c Oxidasa, la Aconitasa y la Gliceraldehido 3 Fosfato Deshidrogenasa ven disminuida su actividad por el ON, con lo cual se inhibe el metabolismo energético al disminuir la intensidad de la respiración mitocondrial y de la Glicólisis.

En sentido general, el ON tiene un marcado efecto antiaterogénico, no sólo por su efecto vasorrelajante, sino también por inhibir procesos fuertemente asociados a la aterogénesis, como son la proliferación de las células de músculo liso, la adhesión y agregación plaquetarias y la adhesión y migración de los monocitos hacia la íntima vascular.

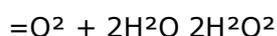
Formación de especies reactivas del oxígeno en el endotelio vascular.

Se consideran como especies reactivas del oxígeno al radical anión Superóxido, al peróxido de hidrógeno y al radical hidroxilo. (16) El primero es formado por la reducción monovalente del oxígeno molecular.



El peróxido de hidrógeno es formado a partir del anión superóxido por la acción de la enzima Superóxido Dismutasa (SOD).

Existen dos isoformas de esta enzima, la SOD1 localizada en el citoplasma celular, enzima soluble que contiene en su composición:



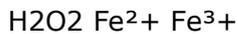
Cu⁺⁺ y Zn⁺⁺, mientras que la SOD2 contiene en su estructura Mn y se localiza en el interior de las mitocondrias.

El Peróxido de Hidrógeno, es eliminado por dos sistemas enzimáticos, la Catalasa, localizada en las mitocondrias y en los peroxisomas y la Glutatión Peroxidasa Selenio dependiente, las cuales transforman el peróxido en agua.

El radical hidroxilo es formado por dos vías ON enzimáticas, la primera de ellas a partir del anión superóxido y el peróxido (reacción de Haber Weiss)



Y la segunda por la reducción del peróxido en presencia del ión ferroso (reacción de Fenton).



El radical hidroxilo constituye un poderoso agente, cuya formación en la célula es sumamente dañina, provocando lesiones estructurales y funcionales que conducen a la muerte celular, y su generación se ve limitada a aquellos estados en los cuales por déficit en los sistemas enzimáticos antioxidantes o por un exceso en la generación del anión superóxido, se produce un incremento de las concentraciones de este anión y del período de hidrógeno.

En las células endoteliales existen varios procesos capaces de generar el radical anión superóxido, entre ellos la propia cadena respiratoria mitocondrial, y las reacciones de las enzimas Ciclooxygenasas y Xantina Oxidasa. Más recientemente ha quedado demostrado la existencia en la membrana externa de las células endoteliales de una enzima oxidasa que emplea al NADH o el NADPH como substratos para transferir electrones al oxígeno molecular, generando con ello el radical anión superóxido (3). Una enzima semejante se encuentra igualmente en las membranas de las células musculares lisas de la pared vascular. Ambas tienen gran similitud con la NADPH Oxidasa de los Neutrófilos, aunque presentan menos actividad, que algunos autores consideran que en condiciones normales esta oxidasa de membrana constituye la principal fuente de producción del anión superóxido citoplasmático. La actividad de esta oxidasa es aumentada por la Angiotensina II.

Las especies reactivas del oxígeno y en especial al anión superóxido, producen efectos contrarios a los del ON sobre el tono vascular, la proliferación de células musculares lisas o la adhesión de los elementos formes de la sangre al endotelio vascular. Algunos de estos efectos están mediados por mecanismos de transducción de señales que se regulan atendiendo a las condiciones de oxido-reducción a nivel celular, pero otros son el resultado de la interacción que se establece entre el ON y el anión Superóxido.

Interacción entre el Oxido Nítrico y el Anión Superóxido

Ha sido demostrado que el Óxido Nítrico y el anión superóxido reaccionan entre sí, a una velocidad que supera la de la reacción de la SOD, formando el anión radical peroxinitrito



Ello significa que en un compartimento celular, con presencia de ambas especies químicas, en concentraciones apropiadas, el anión superóxido reacciona preferentemente con el Oxido Nítrico. Ello puede tener importancia especial en algunas regiones celulares, como es el caso de las zonas próximas a la membrana celular donde las concentraciones de la SOD-1 están disminuidas, por las fuerzas de repulsión entre las cargas eléctricas negativas que poseen tanto la enzima como la superficie externa de la membrana (3, 17)

La interacción entre el Oxido Nítrico y el Superóxido, genera un poderoso agente oxidante, el radical peroxinitrito, el cual a su vez puede protonarse formando el ácido peroxinitroso, el cual se descompone espontáneamente en Dióxido de Nitrógeno y radical hidroxilo.



Independientemente de que esta interacción ha sido relacionada fuertemente con la etiopatogenia de las enfermedades cardiovasculares, recientemente se ha sugerido la posibilidad de que la misma constituya un mecanismo de regulación del tono vascular, al garantizar en condiciones normales el adecuado balance entre ambas especies químicas.

Varios estudios han demostrado que la aprobación de superóxido es capaz de regular la bioactividad del oxido nítrico, tanto de producción endógena, como de fuente exógena.

Igualmente se ha sugerido como una función del óxido nítrico la de secuestrante de radical superóxido.

Recientemente Harrison y colaboradores (3) demostraron que la actividad de la enzima SOD-1 del endotelio vascular, aumenta en respuesta al shear stress de la misma forma que la enzima NOS-III. La activación de la SOD-1 en estas condiciones contribuye a lograr una mayor vasorrelajación al garantizar una mayor concentración de Óxido Nítrico.

Disfunción endotelial y estrés oxidativo

Es un hecho universalmente reconocido que la reducción en la actividad del Óxido Nítrico derivado del endotelio vascular está relacionado con la aterosclerosis. Condiciones reconocidas como principales factores de riesgo de esta enfermedad, como son la hipercolesterolemia (18), la diabetes Mellitus (19, 20), la hipertensión (21, 22, 23) y el hábito de fumar (24, 25), cursan con un estado de disfunción endotelial que se caracteriza por disminución en la actividad del óxido nítrico.

Estudios más precisos han demostrado que esta disminución ON se debe generalmente a una menor producción del mismo, sino a un incremento en su degradación producto de su reacción con el superóxido.

Estudios desarrollados en aortas de conejos hipercolesterolémicos demostraron una mayor producción de óxido nítrico asociada con una disminución en la relajación endotelio dependiente. La causa de ello fue la inactivación del mismo por el anión superóxido. La aorta de los conejos hipercolesterolémicos sintetizaba tres veces más superóxido que los normales. La fuente del radical en esta experiencia resultó ser la enzima Xantina Oxidasa. (18)

Estudios realizados, tanto en modelos experimentales, como en sujetos hipertensos esenciales, encontraron asociación entre el incremento de la presión sanguínea y la producción de superóxido. (22). La vía principal de formación en este caso parece ser la vía de las Ciclooxygenasas.

La relación de la disfunción endotelial con las complicaciones vasculares de la Diabetes Mellitus, han sido igualmente intensamente estudiadas. Varios bioquímicos estrechamente relacionados con la Hiperglicemia, como son la glucosilación de proteínas, y la autoxidación de la glucosa, constituyen fuentes importantes de radicales libres. La exposición de células endoteliales en cultivo a altas concentraciones de glucosa, induce en ellas la producción de anión superóxido. Esta observación unida a la de que la producción basal de Oxido Nítrico ON disminuye en individuos con Diabetes Tipo II, apoya el criterio del estrés oxidativo como causa primaria de la disfunción endotelial en estos pacientes. (26).

En el caso del hábito de fumar, está suficientemente documentado el hecho de que los radicales libres presentes en el humo del cigarro son capaces de provocar lesión y disfunción del endotelio. Células endoteliales en cultivo incubadas en plasma de individuos fumadores o expuestas directamente al humo del cigarro, muestran cambios bioquímicos atribuibles a un estado de Estrés Oxidativo, como son el aumento de la vía de las pentosas y la síntesis de Glutación y disminución del ATP, aunque ON se observa un incremento en la producción del anión superóxido. La disminución de la actividad del óxido nítrico en estas condiciones ON es atribuible entonces a su inactivación por el superóxido. Se ha sugerido un bloqueo en la ruta de transducción de la señal, por la oxidación de grupos SH en la molécula de Guanidilato Ciclasa (24).

El aumento en la formación del anión superóxido trae como consecuencia la inactivación de una cantidad apreciable del óxido nítrico producido a partir de la L-Arginina y con ello dos efectos importantes.

- . Disminución de la actividad anti aterogénica del ON.
- . Aumento en la formación del radical Peroxinitrito.

El peroxinitrito es un poderoso oxidante capaz de modificar químicamente las proteínas, por nitración de los restos de Tirosina o por oxidación de los grupos SH, esta última puede estimular la formación de enlaces cruzados entre ellas, provocando la modificación en la actividad biológica de enzimas o proteínas transportadoras o estructurales. Los lípidos de membrana también constituyen un blanco importante para este radical, iniciándose el proceso de peroxidación de los lípidos de membrana, el cual constituye una fuente de nuevos radicales que amplifican el proceso. Los daños inducidos en los lípidos y las proteínas de la membrana pueden alterar las propiedades de permeabilidad de la misma.

El peroxinitrito, además, puede ser protonado formándose ácido peroxinitrito, el cual se descompone espontáneamente en dióxido nitrógeno y radical hidroxilo, este último puede formarse además a partir de las otras especies reactivas del oxígeno, las que en condiciones de estrés se ven aumentadas, a partir de las reacciones de Fenton y de Heber-Weiss, la primera de ellas favorecida por la reducción y separación del átomo de hierro de las proteínas Transferrina, Lactoferrina o Ferritina, por la acción del anión superóxido (16).

El radical hidroxilo es un agente oxidante más energético, incluso que el peroxinitrito y desencadena los mismos efectos deletéreos que éste. La suma del efecto de ambos radicales puede producir además de la disfunción, lesiones en el endotelio y éstas son punto de partida para el desarrollo de la placa de ateroma, al comenzar el proceso de adhesión leucocitaria, el cual a su vez genera más radicales a partir de las oxidasas NADH o NADPH dependientes de sus membranas. (2, 16, 23)

Es un hecho demostrado que las fuerzas hemodinámicas influyen sustancialmente en el desarrollo de la placa de ateroma (27, 28). En humanos, las regiones de bajo shear stress son más propensas a desarrollar aterosclerosis que las regiones expuestas a shear stress elevados. Esta observación es fácilmente explicable a partir del efecto inductor del shear stress sobre las enzimas ONS III y SOD-1, combinándose con este efecto la mayor producción del Oxido Nítrico con la disminución del Superóxido.

Recientemente ha quedado demostrado que las especies reactivas del oxígeno estimulan la expresión de genes sensibles al estado de óxido reducción de la célula, entre ellos proteínas de adhesión celular y factores quimiotácticos para monocitos. Los monocitos una vez en la íntima del vaso, fagocitan las LDL oxidadas por los radicales peroxinitrito o hidroxilo, formándose las células esponjosas características de la estría grasa, estadio primario en la formación del ateroma. (29, 30).

La disminución de la actividad del óxido implica igualmente una pérdida de la inhibición que el mismo ejerce sobre la proliferación de las células lisas, proceso

que por otro lado es activado por factores secretados por los leucocitos adheridos al endotelio lesionado.

CONCLUSIONES

El estado de estrés oxidativo desencadenado por el desbalance entre la producción y eliminación de las especies reactivas del oxígeno, constituye uno de los mecanismos más importantes en la génesis de un estado de disfunción endotelial y por ello están estrechamente relacionados con el desarrollo de la aterosclerosis. Los datos acumulados en la literatura científica internacional así lo demuestran. Por lo tanto, combatir el estrés oxidativo constituye una necesidad en la prevención de esta enfermedad, sin embargo ¿Cómo hacerlo? La suplementación con antioxidantes como son, las vitaminas C y E o provitaminas como los carotenoides, alabadas por algunos y criticada por otros, ON parece ser, por sí sola, una medida útil; los resultados reportados en la literatura sobre los ensayos clínicos realizados hasta el presente así lo indican. (31, 32). La utilización de otros antioxidantes más potentes, que han demostrado ser útiles en estados de estrés oxidativo temporales, ON son tan prometedores en un proceso que cursa durante toda la vida, para el cual se requería de una suplementación periódica, con el consiguiente riesgo de efectos colaterales acumulativos. Por el momento, a la luz de lo que actualmente sabemos, las únicas medidas posibles son, una nutrición adecuada y la eliminación de hábitos tóxicos como el fumar o la ingestión excesiva de alcohol. ON obstante, este campo de investigación se encuentra aún en la infancia, podemos esperar nuevos descubrimientos que permitan quizás establecer nuevas estrategias terapéuticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Furchgott A., Zawadsky FL. Nature, 1980, 286; 373-376
2. García- Palmieri MR. The endothelium in health and in cardiovascular disease. Health Science J 1997; (2): 136-141.
3. Harrison DG, Endothelial function and Oxidante Strees. Clin Cardiol 1997; (20):11-17.
4. Masaki T, Yanagisawa F. Physiology and Pharmacology of Endothelins. Med Res. Rev. 1992; (4):391- 141
5. Henderson AH. Endothelium in control. Br. Heart J 1991; (65): 116-125.
6. Schiffrin. El. Endothelin, potential role in hypertension and vascular hypertrophy. Hypertension 1995; (25):1135-1143.

7. Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction and atherosclerosis. Arch Mal. Coeur. Vaiss. 1997; (90): 9-19.
8. Armal JF. Nitric Oxide and circulatory homeostasis. ANN. Cardiol. Angiol 1997; (7): 420-425.
9. Peiro C. Influence of endothelium on cultured Vascular Smooth Muscle Cell proliferation. Hypertension 1997; 25 (2): 748- 751.
10. Marui N. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. J. Clin. Invest. 1993; (92): 1866-1874.
11. Mathen C. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. J. Biol. Chem. 1994; (269):13725-13728.
12. Nathan C. Inducible nitric oxide synthase: Regulation subserve function. Curr. Top. Microbiol. Inmunol 1995; (196): 1-4.
13. Kane BC. Nitric Oxide in renal health and disease. An J. Kidney Disease. 1997; (30): 311-333.
14. Grisham MB. Modulation of leukocyte-endothelial interaction by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. Free. Radic. Biol. Med. 1998; (4-5):404-433.
15. Garg VC. Nitric Oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosin monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. J. Clin. Invest 1998; (83):1774-1777.
- 16 Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. Ann Rev. Biochem 1989; (58): 79-110.
17. Munzel T. The physiology and pathophysiology of the nitric oxide/superoxide system Herz 1997; (3):158-172.
18. White CR. Circulating plasma Xanthine Oxidase contributes to vascular dysfunction in hypercholesterolemic rabbits. Proc. Natl. Acad. Sci USA 1996;(93):8745-8749.
19. Giugliano D. Oxidative stress and diabetes vascular disease. Diabetes Care 1996; (3):257-267.
20. Traub O. Role of nitric oxide in insulin dependent diabetes mellitus-related vascular complication. West J. Med. 1995; (5): 439-445.
21. Mattei P. Endothelial function in hypertension J. Nephrol. 1997; (4): 192-197.
22. Noll G. Endothelium and high blood pressure. Int. J. Microcirc. Cli. Exp. 1997; (5):273.279.
23. Romero-Alivira D. High blood pressure, Oxygen Radicals and antioxidants: Etiological relationships. Medical Hypothesis 1996; (46):414-420.

24. Noronha-Dutra AA. Effect of cigarette smoking on cultured human endothelial cells. *Cardiovascular Res.* 1993;(27):774-778.
25. Nagy J. Induction of endothelial cell injury by cigarette smoke. *Endothelium* 1997;(4):251-263.
26. Catalano M. Basal nitric oxide production is not reduced in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Vasc. Med* 1997;(4):303-305.
27. Glagov S. Hemodynamic and atherosclerosis: insights and perspectives gained from studies of human arteries. *Arch. Pathol. Lab. Med* 1988;(112):1018-1031.
28. Sawchuk AP. A prospective in vivo study of the relationships between blood flow hemodynamics and atherosclerosis in a hyperlipidemic swine model. *J. Vasc. Surg* 1994;(19):58-63.
29. Ruschitzka FT. The endothelium in coronary artery disease. *Cardiology* 1997;(88):3-19.
30. Freedman JE. Endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Drugs* 1997; (54):41-49.
31. Gaziano JM. Antioxidants in cardiovascular disease: randomized trials. *Nutrition.* 1996; (9): 583-588.
32. Lohn EM. Is there a role for antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease? An update on epidemiological and clinical trials data. *Can J Cardiol.* 1997;(10):957-965.

Lic. Jorge Lozano Casanova. Lic en Bioquímica. Profesor Auxiliar Dpto Bioquímica. ISCM-C. Facultad de Medicina ISCM-Camagüey Carlos J. Finlay. Camagüey, Cuba.