

Disfuncția endotelială – Legătura între insulinorezistență, diabet zaharat și ateroscleroză

Alin Știrban, Monica Negrean, Simona Petrulă

Rezumat

De mult timp se crede că la baza insulinorezistenței, a diabetului zaharat și a aterosclerozei stau mecanisme patogenetice comune. În centrul acestei “teorii unificatoare” stă acum disfuncția endotelială, care nu numai că ar putea explica apariția fiecăreia dintre aceste stări patologice, cât și trecerea lor ulterioară în stadii mai avansate. Măsurarea funcției endoteliale ca marker timpuriu al aterosclerozei este una dintre marile provocări ale medicinei moderne. Găsirea unor metode clinice aplicabile de evaluare a acesteia este îngreunată de multitudinea de investigații disponibile, cât și de lipsa unor valori normale clar definite. Variațiile fiziologice ale funcției endoteliale între diferite teritorii vasculare și mecanismele de reglare ale acesteia fac și mai dificilă găsirea unor metode clinice de evaluare. Cu toate acestea, măsurarea funcției endoteliale rămâne un instrument foarte valoros pentru cercetare, având și un mare potențial clinic.

Pacienții cu diabet zaharat tip 2 au în comparație cu cei nediabetici un risc de două până la cinci ori mai mare de moarte printr-o complicație cardiovasculară¹. Aceasta se datorează în principal unui proces de ateroscleroză accelerată, modificărilor patologice în teritoriul microcirculației, cât și riscului ridicat de tromboză. Un rol central în apariția acestor modificări îl joacă endoteliul vascular.

Disfuncția endotelială este un marker timpuriu al aterosclerozei și o cauză a permeabilității vasculare crescute², a riscului de tromboză, adeziune leucocitară, proliferare a musculaturii netede vasculare³ și, totodată, favorizează un status vasoconstrictiv și proinflamator⁴. Disfuncția endotelială este definită ca un dezechilibru între factorii vasodilatatori și cei vasoconstrictori produși de celulele endoteliale, sau cu efect asupra acestora⁵. Disfuncția endotelială însoțește diferite stări cu risc înalt cardiovascular, cum ar fi fumatul activ⁶ sau pasiv⁷, hiperhomocisteinemia⁸, boala coronariană⁹, insuficiența cardiacă¹⁰, dislipidemia¹¹, hipertensiunea arterială¹² și diabetul zaharat tip 1¹³. Secvența clasică supraponderă¹⁴, insulinorezistență¹⁵, diabet zaharat tip 2¹⁶ este însoțită și ea de disfuncție endotelială, deși mai există și alți factori de risc ai diabetului: ovarul polichistic¹⁷, diabetul gestațional¹⁸, sau anamneză familială pozitivă pentru diabet de tip 2¹⁹.

În ultimii ani a devenit tot mai clar că disfuncția endotelială nu este doar o urmare a stărilor patologice amintite anterior, ci este și o cauză a unor boli cum ar fi insulinorezistența și diabetul zaharat. În acest fel se formează un cerc vicios de condiționare reciprocă. Disfuncția endotelială a fost pusă în centrul "teoriei unificatoare", care explică dependența între adipozitate, insulinorezistență, diabet zaharat și ateroscleroză.

Disfuncția endotelială ca efect al adipozității, insulinorezistenței și diabetului zaharat

Mecanisme

Adipozitatea conduce la dezvoltarea unui status inflamator subclinic²⁰, creșterea nivelului parametrilor disfuncției endoteliale²¹, insulinorezistență și dislipidemie²².

Țesutul adipos conține un număr reprezentativ de macrofage, care se corelează în mod direct cu gradul adipozității²³. Macrofagele sunt modificate morfologic (sub forma celulelor gigante) și au un grad înalt de activare, cu producerea marcată de citokine. Markerii ai inflamației de tipul TNF- α și IL-6 se corelează în mod direct cu gradul adipozității și al insulinorezistenței²⁰. Macrofagele reprezintă celulele cu cea mai mare producție de TNF- α și sunt responsabile de aproximativ 50% din secreția de IL-6²⁴.

Adipocitele sunt celule secretorii-active, unele din principalele proteine secretate fiind adiponectina, leptina, rezistina, adipsina și visfatina.

Adiponectina este citokina secretată de adipocite, care poate fi pusă în evidență în cea mai mare concentrație. Ea reglează insulinosensitivitatea²⁵, reduce exprimarea moleculelor de adeziune endotelială de tipul ICAM-1 și VCAM-1²⁶ și are acțiuni antiinflamatorii. Acest ultim efect apare prin inhibarea factorului nuclear kB (NFkB), care conduce la scăderea sintezei de IL-6²⁷. Interesant este faptul că secreția adiponectinei nu crește odată cu gradul adipozității. Din contră, la pacienții obezi s-a pus în evidență chiar o scădere a concentrației de adiponectină, pe când pacienții suferind de anorexie au concentrații mult crescute^{28,29}. TNF- α scade concentrația de adiponectină și poate explica parțial efectul menționat mai sus. În ansamblu, adiponectina îmbunătățește insulinosensitivitatea, acționează antiinflamator și reduce exprimarea markerilor disfuncției endoteliale.

Leptina joacă un rol esențial în reglarea comportamentului alimentar prin inhibarea apetitului. Pe lângă aceasta are acțiuni antiapoptotică asupra limfocitelor T și le reglează proliferarea și activarea și stimulează fagocitoza și producția de citokine prin activarea monocitelor. Leptina acționează ca imunomodulator, un deficit al acesteia fiind asociat cu o susceptibilitate față de infecțiile bacteriene și virale³⁰. La nivelul celulelor endoteliale, leptina

induce stres oxidativ și exprimarea moleculelor de adeziune³¹. Supraponderea este caracterizată de o creștere marcată a concentrației de leptină.

Rezistina este produsă nu numai de adipocite, cât mai ales de către macrofage. Ea acționează proinflamator și conduce la insulinorezistența asociată sepsisului sau altor stări inflamatorii, în modele animale și la om³³.

Adipsina și visfatina sunt alte două adipokine a căror roluri nu sunt încă deplin înțelese²³.

Acizii grași liberi (AGL) sunt prezenți în concentrații crescute asociat adipozității. Aceștia reduc transportul glucozei asociat insulinei în musculatura scheletică și inhibă supresia gluconeogenezei hepatice, conducând așadar la insulinorezistență³⁴. Aceasta este și mai mult accentuată datorită depunerilor de țesut adipos. S-a dovedit de asemenea că AGL induc disfuncție endotelială atât acut³⁵ cât și cronic³⁶.

Adipozitatea conduce așadar la un status inflamator subclinic și disfuncție endotelială datorită secreției crescute de leptină, rezistină și acizi grași liberi și a concentrației scăzute de adiponectină.

Inflamația și disfuncția endotelială conduc la modificări aterosclerotice în teritoriul macrocirculației³⁷. La nivelul microcirculației împiedică reglarea mediată de insulină a recrutării de noi capilare³⁸, având drept urmare o nutriție deficitară a celulelor musculare active metabolic. Tulburările de permeabilitate endotelială reduc și mai mult biodisponibilitatea insulinei și a altor factori nutritivi. În timp aceste modificări conduc la insulinorezistență și mai târziu la diabet zaharat.

Argumente din studiile clinice

Diabetul gestațional a fost descris ca un stadiu preliminar al diabetului zaharat de tip 2. Un studiu condus de Anastasiou et al. a arătat că femeile cu un test de toleranță la glucoză normal la 6 luni după ce au dezvoltat diabet gestațional, au totuși o disfuncție endotelială, indiferent de statusul ponderal¹⁸. S-a dovedit că există o corelație negativă între vasodilatația mediată de flux („flow-mediated dilatation“ -FMD) și gradul de insulinorezistență. Concluzia trasă a fost că insulinorezistența reprezintă cauza principală a disfuncției endoteliale la femeile care au prezentat diabet gestațional.

S-a discutat de asemenea că hiperglicemia apărută în timpul sarcinii crează modificări măsurabile chiar și după 6 luni postpartum. Un anumit grad de limitare a FMD s-a pus în evidență chiar la un an după diabetul gestațional, iar o altă echipa de cercetători a dovedit

existența unor disfuncții ale microcirculației în condiții de normoglicemie chiar după 8 ani de la diagnosticarea diabetului gestațional³⁹.

Numeroase alte studii au arătat că adipozitatea¹⁴, insulinorezistența^{15,40} și diabetul zaharat sunt însoțite de disfuncție endotelială.

Disfuncția endotelială ca și cauză de insulinorezistență și diabet zaharat

De-a lungul anilor 90 Baron a studiat efectele vasodilatatoare ale insulinei⁴². Aceasta stimulează nitric oxid-sintetaza endotelială și determină astfel creșterea producției de NO, un factor deosebit de important care duce la creșterea fluxului sangvin la nivel muscular. Pe această cale este crescută disponibilitatea glucozei și a insulinei la nivel muscular, iar acțiunea insulinei în periferie crește și ea. Insulina scade rezistența vasculară periferică cu consecințe la nivelul microcirculației⁴³.

La nivel muscular nu toate capilarele sunt perfuzate la fel. Arteriolele precapilare se contractă în mod alternativ, astfel încât fluxul sangvin este dirijat înspre teritorii capilare diferite⁴⁴. Au fost descrise două categorii de capilare: **capilarele nutritive** sunt mai lungi și spiralate și stau în strâns contact cu miocitele pentru a asigura schimbul de substanțe nutritive și hormoni și **capilarele nenutritive**, fără contact cu celulele musculare, care irigă țesutul conjunctiv și adipocitele din vecinătate. Acestea reprezintă o rezervă de flux sangvin, care poate fi folosită în caz de nevoie (activitate musculară, status postprandial).

Receptorii pentru insulină se găsesc la suprafața celulelor endoteliale, dar și a celulelor musculare netede din peretele vascular și a miocitelor. Cel mai probabil insulina acționează la nivelul tuturor acestor receptori determinând schimbarea fluxului sangvin pe seama capilarelor nenutritive⁴⁵.

Pătrunderea mediată de insulină a glucozei în celule se corelează mult mai bine cu concentrația tisulară a insulinei, decât cu cea plasmatică. Transportul transendotelial de insulină joacă un rol esențial în limitarea concentrației interstițiale a insulinei⁴⁶. Celulele endoteliale au așadar un rol de barieră, care în cazul disfuncției endoteliale limitează accesul insulinei la celulele musculare, agravând astfel insulinorezistența.

Disfuncția endotelială în teritoriul microcirculației reduce recrutarea mediată de insulină a noilor capilare și produce o alterare a permeabilității vasculare. Prin aceste mecanisme biodisponibilitatea insulinei și a altor substanțe la nivel muscular este redusă și poate anunța instalarea insulinorezistenței. Astfel se închide un cerc vicios. Deoarece insulinorezistența sistemică presupune și un grad de insulinorezistență a celulelor endoteliale, capacitatea insulinei de a recruta noi capilare nutritive este în continuare afectată⁴⁷ și astfel fluxul sangvin

și aportul de glucoză la nivel muscular sunt mult reduse. Hiperglicemia apărută în acest fel reprezintă o sursă de radicali de oxigen⁴⁸ cu acțiune toxică asupra celulelor endoteliale.

S-a arătat pe modele animale că arteriolele prezintă o modalitate dublă de reglare prin intermediul insulinei. Aceasta stimulează atât vasoconstricția mediată de ET-1, cât și vasodilatația mediată de NO. În arteriolele șoarecilor supraponderali sinteza mediată de insulină a NO este redusă, ceea ce conduce la vasoconstricție mediată de ET-1. Un rol important îl joacă și adipocitele care înconjoară arteriolele și care prin secreția de TNF- α contribuie la realizarea acestor efecte. Efecte asemănătoare au fost descrise și pentru adipocitele periarteriale și viscerale⁴⁹.

Se știe că activitatea glucokinazei, o enzimă cu rol central în secreția de insulină stimulată de glucoză a celulelor β pancreatice, este controlată de NO endotelial⁵⁰. Acest mecanism explică parțial de ce substanțele care restabilesc funcția vasculară (de exemplu pravastatin, sau ramipril), reduc și riscul pentru diabet zaharat tip 2^{51,52}. Acest lucru este valabil și pentru tiazolidindione, care nu numai că îmbunătățesc funcția endotelială, ci și împiedică progresia spre diabet zaharat manifest⁵³. Deci nu doar sinteza de NO este reglată de insulină, ci și invers.

Un studiu al lui Bradley a arătat că celulele endoteliale și NO afectează în mod decisiv metabolismul muscular. Prin inhibarea sintezei de NO s-a obținut și inhibarea captării de glucoză în timpul activității musculare⁵⁴.

Un rol decisiv în apariția insulinorezistenței i s-a atribuit și nitric oxid-sintetazei inductibile (iNOS), o enzimă care apare în multiple țesuturi și celule (printre care și adipocitele⁵⁵) și care este supraexprimată în caz de inflamație. Aceasta duce la o sinteză marcată de NO, care conduce la neutralizarea radicalilor liberi de oxigen. Se produce astfel peroxinitrit (ONOO-), care participă la nitrozarea diferitelor proteine (printre care și a receptorilor de insulină) și facilitează astfel insulinorezistența⁵⁶.

Disfuncția endotelială nu este însoțită doar de scăderea vasodilatației mediate de NO (ceea ce poate conduce la hipertensiune arterială), sau de insulinorezistență, ci și de fibrinoliză, microalbuminurie și de disfuncția lipoprotein lipazei insulino-dependente (ceea ce conduce la creșterea trigliceridelor și scăderea HDL). Toate aceste efecte se regăsesc și în caracteristicile sindromului de insulinorezistență⁵⁷.

Studii clinice

În ultimii ani a devenit tot mai clar faptul că disfuncția endotelială conduce la insulinorezistență și diabet zaharat. Argumente în acest sens au fost aduse de Took et al.³⁹. Numeroase date dovedesc că disfuncția endotelială precede cu mult insulinorezistența și diabetul zaharat.

Rudele de gradul întâi ale pacienților cu diabet zaharat tip 2 prezintă disfuncție endotelială, chiar dacă testul de toleranță la glucoză este nemodificat¹⁹.

Într-un grup mic de indieni Pima cu toleranță normală la glucoză, apariția diabetului zaharat a putut fi prezisă cu ajutorul prezenței vWF, dar nu și a E-Selectinei, CRP, sau a IL-6⁵⁸. O subanaliză a studiului Nurses' Health a arătat că dintre 32.826 probanzi 737 au dezvoltat în timp diabet⁵⁹. Markerii ai disfuncției endoteliale de tipul E-Selectinei și ICAM-1 au fost factori predictivi excelenți, independent de prezența factorilor de risc clasici.

Un alt studiu efectuat asupra a 840 de femei sănătoase, normoponderale aflate postmenopauză, cu test de toleranță la glucoză în limite normale, le-a urmărit evoluția de-a lungul a 3,9 ani. S-a arătat că fiecare unitate de FMD măsurat inițial s-a asociat cu o creștere de 32% (22-48%) a *multiplen adjustierten RR-Inzidenz für Diabetes*⁶⁰.

Un studiu efectuat de Balletshofer et al. a inclus rude de gradul întâi ale pacienților cu diabet zaharat, care aveau un test de toleranță la glucoză normal și a arătat o corelație între capacitatea de dilatare a arterei brahiale și nivelul insulinorezistenței⁶¹.

Un alt argument în favoarea existenței primordiale a disfuncției endoteliale înainte de apariția diabetului este faptul că aceasta există în mod constant la pacienții cu diabet și nu invers.

Metode de măsurare a funcției endoteliale

Deoarece funcția endotelială a devenit un punct central în explicarea mecanismelor patogenetice ale adipozității, insulinorezistenței, diabetului zaharat și aterosclerozei, a apărut necesitatea determinării cât mai exacte a acesteia. Pe de o parte, măsurarea funcției endoteliale ar permite descoperirea precoce a pacienților la risc, iar pe de altă parte ar reduce timpul necesar investigării efectelor diferitelor substanțe asupra acesteia. Dacă se urmăresc de exemplu efectele statinelor asupra grosimii intimă-medie sunt necesare 6 luni pentru a fi văzute rezultatele⁶², pe când efectele asupra funcției endoteliale sunt deja vizibile după 3 zile⁶³.

Totuși măsurarea funcției endoteliale nu a fost încă introdusă ca metodă de rutină din mai multe motive.

În primul rând funcția endotelială este un parametru cu o variabilitate foarte mare de la o zi la alta⁶⁴ și prezintă oscilații semnificative chiar în cadrul unei singure zile^{65,66} sub influența unor factori cum ar fi statusul hormonal⁶⁷, activitatea fizică⁶⁸, sau calitatea somnului⁶⁹. Totuși, cel mai important rol pare să îl aibă statusul postprandial, deoarece disfuncția endotelială nu apare doar la pacienții suferind de boli cardiace⁷⁰, sau diabet⁷¹, ci a fost pusă în evidență și la probanzi sănătoși⁷². Există numeroase date care arată sumarea efectelor⁷¹ hiperglicemiei⁷³ și hipertrigliceridemiei⁴⁸ la disfuncția existentă postprandial. Așadar pentru a genera rezultate reproductibile pentru măsurarea funcției endoteliale este necesar ca statusul bazal al celor examinați să fie asemănător, ceea ce nu este întotdeauna ușor de obținut.

O a doua problemă este reprezentată de lipsa valorilor de referință bine definite⁷⁴ pentru diferitele examinări, cât și dificultatea de a standardiza examinările în sine⁷⁵.

O a treia problemă este existența a numeroase metode de examinare a funcției endoteliale diferite de la un sistem vascular la altul. Aceste sisteme sunt reglate prin mecanisme diferite și stau în mod diferit sub influența proceselor aterosclerotice. De aceea se pune întrebarea dacă disfuncția endotelială măsurată la antebraț are aceeași relevanță prognostică precum cea măsurată la gambă, unde, se știe, că modificările aterosclerotice apar precoce.

Metode de laborator de măsurare a disfuncției endoteliale

Cele mai importante proprietăți ale endoteliului, adică proprietatea antitrombotică, cea de reglare a adeziunii și cele modulatorii vasculare pot fi cuantificate prin intermediul markerilor chimici determinați în laborator.

Statusul protrombotic poate fi cauzat de inhibarea fibrinolizei, de exemplu prin intermediul PAI-1 (plasminogen activator inhibitor), care acționează asupra enzimelor fibrinolitice de tipul t-PA (tissue-type plasminogen activator), sau u-PA (urokinase-type plasminogen activator). PAI-1 este în mod fiziologic secretat de către celulele hepatice, celulele musculare netede ale vaselor, adipocite și trombocite. În condiții patologice celulele endoteliale pot și ele să producă PAI-1, dacă sunt activate de către citokine inflamatorii⁷⁶. Studiile in vivo au sugerat că nivelul de PAI-1 din circulație se corelează cu incidența complicațiilor aterosclerotice și cu mortalitatea, și că reprezintă un factor de risc independent pentru boala coronariană⁷⁷. La pacienții cu diabet zaharat, concentrațiile ridicate de PAI-1 pot fi răspunzătoare de statusul protrombotic și de frecvența decesului prin complicații aterosclerotice⁷⁸.

Factorul von Willebrand (vWF) mediază adeziunea trombocitelor la stratul subendotelial, cât și interacțiunea între trombocite. Celulele endoteliale pot secreta vWF cu rol protrombotic sub acțiunea stimulului inflamator, a IL-1, TNF- α , lipopolizaharidelor sau a LDL-ului oxidat⁷⁹. Astfel vWF reprezintă un parametru de laborator al disfuncției endoteliale⁵⁸.

Factorul activator al plachetelor (PAF) poate fi sintetizat de către celulele endoteliale și facilitează procesul de activare și agregare a trombocitelor, cât și vasoconstricția⁸⁰.

Adeziunea leucocitară la celulele endoteliale și migrarea lor în peretele arterial este unul din factorii determinanți în apariția aterosclerozei și este facilitată de molecule de adeziune de tipul ICAM-1 (intercellular cell adhesion molecule 1), VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1), sau E-Selectină (endothelial-leukocyte adhesion molecule-1). Nivele înalte ale concentrației moleculelor de adeziune în plasmă sunt considerate markeri ai disfuncției endoteliale^{81,82}. Expresia moleculelor de adeziune celulară (CAM) este crescută de următoarele substanțe: citokine proinflamatorii (TNF- α , IL-6, CRP)⁸³, acizi grași liberi, LDL-oxidat, radicali liberi de oxigen, sau AGE (advanced glycation endproducts).

Activitatea vasomodulatorie a endoteliului este asigurată de balanța dintre substanțele cu efect vasodilatator (NO, prostaciclina și EDHF - endothelium derived hyperpolarizing factor) și cele cu efect vasoconstrictor (endotelina 1, tromboxanul A₂ și prostaglandina H₂).

În timp ce măsurarea concentrației de prostaciclina⁸⁴ se poate face direct, în cazul NO ea este mai dificilă. Acesta eliberează un radical cu un timp de înjumătățire foarte scurt, iar cuantificarea metabolismului NO se poate face doar indirect prin măsurarea metaboliților acestuia: nitriți, nitrați în urină și nitrotirozină în plasmă⁶³. Nitrotirozina se formează prin acțiunea peroxinitriților (produși în reacția dintre radicalii de oxigen și NO) asupra aminoacidului tirozină. Astfel, nitrotirozina este un marker atât al producției de NO, cât și al stresului oxidativ.

Endotelina 1 (ET-1) este cea mai puternică substanță vasoconstrictoare secretată de celulele endoteliale³. Producția ei este în condiții normale antagonizată și modulată de către NO. O disfuncție endotelială este însoțită de o concentrație crescută de ET-1.

Valori crescute ale dimetil argininei asimetrice (ADMA), un potențial inhibitor al NO-sintetazei, sunt întâlnite frecvent la persoanele cu risc cardiovascular crescut⁸⁵. ADMA reprezintă în populații selecționate un predictor independent al riscului cardiovascular și al mortalității totale. Mai multe studii au arătat că ADMA este un marker circulator al aterosclerozei în stadiu subclinic⁸⁶.

A fost făcută o corelație între FAD și markeri serologici ai disfuncției endoteliale^{19, 81}.

Metode clinice

A. Tehnici neinvazive

1. Flow-mediated dilatation (FMD) – vasodilatația dependentă de flux- măsurată la nivelul arterei brahiale este cea mai frecvent utilizată metodă neinvazivă de estimare a disfuncției endoteliale. A fost pentru întâia dată descrisă de Celermajer et al.⁸⁷. Metoda presupune ischemierea la o presiune suprasistolică a antebrațului pentru 4,5 minute urmată de eliberarea de către celulele endoteliale ale arterei brahiale a NO datorită hiperemiei reactive⁸⁸. NO are acțiune relaxantă asupra celulelor musculare netede din peretele vascular și conduce astfel la vasodilatație. Gradul măsurat de vasodilatație reflectă gradul de producere al NO.

Cu ajutorul unui ecograf de înaltă rezoluție se măsoară diametrul arterei brahiale în condiții de repaus cât și la 60-90 de secunde după desfacerea garoului care a produs ischemia. Modificarea procentuală a diametrului arterial între cele două faze este numită FMD.

Vasodilatația independentă de flux (măsurată la 5 minute după administrarea a 0,4 mg nitroglicerină sublingual) se folosește în mod curent ca metodă de control a capacității de dilatare a sistemului vascular examinat. Aceasta are ca rol excluderea modificărilor morfologice preexistente (plăci aterosclerotice, mediascleroză) drept cauză a limitărilor funcționale.

Au fost publicate recent îndrumări pentru folosirea FMD în cercetare⁷⁵. Se pornește de la premisa că vasodilatația dependentă de flux a arterei brahiale este produsă în principal datorită eliberării de NO. S-a stabilit de asemenea și o legătură între FMD și gradul bolii cononariene^{89,90}.

2. Metoda Laser-Doppler presupune măsurarea neinvazivă a microcirculației la nivel cutanat. În mod normal se determină viteza de curgere și volumul sângelui. Reacția apărută la folosirea locală a substanțelor vasodilatatoare (de exemplu iontoforeza acetilcolinei sau a nitroprusiatului de sodiu) oferă informații folositoare despre funcția endotelială în acest sector vascular. Dacă este folosit curentul electric apare atât o vasodilatație nespecifică mediată de către acesta, cât și o componentă mediată neuronal⁹¹. A fost dezvoltată o metodă alternativă cu grad mai mare de reproductibilitate, care seamănă metodei FMD, cuantifică creșterea fluxului vascular la nivelul palmei după o ischemiere de 4,5 minute a antebrațului⁹². Această valoare este calculată ca un raport între valoarea fluxului după ischemiere și valoarea măsurată bazal.

Deși a fost arătată o corelație între această metodă și FMD la artera brahială⁹³, există dovezi că procesele evaluate prin cele două metode au la bază aspecte relativ diferite ale funcției endoteliale. În timp ce FMD apare în principal datorită eliberării de NO, reglarea microcirculației este mai degrabă cauzată de eliberarea unor prostaglandine vasodilatatoare⁹⁴.

3. Pletismografia venoasă computerizată măsoară permeabilitatea în teritoriul microcirculației membrelor inferioare⁹⁵. Metoda presupune aplicarea a două garouri la nivelul coapselor pacientului aflat în clinostatism. Cu ajutorul acestora se crează lent o ischemiere cu 10 mm Hg la fiecare 4 minute. La nivelul gambelor se plasează senzori foarte sensibili care determină în mod continuu creșterea în circumferință a membrului, datorită vasodilatației și trecerii lichidului vascular în interstițiu. Garoul cauzează distal o creștere a presiunii venoase și capilare, ceea ce are ca efect extravazarea lichidiană în țesuturile înconjurătoare. Pentru fiecare nivel de creștere a presiunii se va exprima modificarea circumferinței membrului în ml/100 ml țesut și valoarea obținută va fi trecută într-o diagramă în relație cu timpul exprimat în minute. Astfel se realizează un răspuns volumetric caracteristic, bifazic: o fază inițială, rapidă, ce prezintă o curbă de evoluție exponențială, corespunzătoare umplerii venoase și o fază finală, exprimată ca funcție liniară și dată de trecerea lichidului vascular din vase în țesuturile perivasculare.

4. Metoda BOLD (Blood oxygen level dependent) are la bază principiul că hemoglobina dezoxigenată din sânge modifică în așa fel semnalul dat de protoni, încât gradul de oxigenare al țesuturilor poate fi măsurat prin intermediul rezonanței magnetice nucleare. Astfel este posibilă evidențierea zonelor de miocard aferente unor ramuri coronariene stenozate, după injectarea de adenzină sau dipiridamol și măsurarea creșterii oxigenării miocardice⁹⁶.

Această metodă permite evaluarea oricărui areal vascular și astfel este posibilă măsurarea hiperemiei reactive după ischemiere sau administrare intraarterială de substanțe vasodilatatorii (acetilcolină) atât la antebraț⁹⁷ cât și la gambă⁹⁸. Metoda este cu siguranță foarte interesantă, dar încă nu și-a câștigat un loc sigur în practică.

5. Tomografia emisiei de protoni (PET) este o metodă de măsurare a perfuziei miocardice în condiții bazale⁹⁹ și folosește drept traser amoniacul marcat N¹³. După administrarea adenozinei este evaluată capacitatea vasodilatatorie a patului coronarian prin doi parametri: creșterea fluxului sangvin coronarian și indicele de rezistență vasculară coronariană minimă. Acest indice este calculat ca raportul între tensiunea arterială medie de perfuzie după

administrarea de adenzină între minutul 3 și 6 de perfuzie. Creșterea fluxului sangvin indusă de adenzină reflectă funcția celulelor endoteliale coronariene¹⁰⁰.

6. Măsurarea amplitudinii undei de puls (PWA) la deget se realizează cu ajutorul unui pletismometru și reprezintă creșterea amplitudinii undei de puls în cadrul hiperemiei reactive după ischemiere¹⁰¹.

B. Tehnici invazive

1. Injectarea intracoronariană de acetilcolină reprezintă standardul de aur pentru determinarea directă a funcției endoteliale la nivel coronarian. Metoda conduce la modificarea diametrului coronarelor, a fluxului și a rezistenței vasculare¹⁰². Dacă endoteliul este intact, administrarea intracoronariană de acetilcolină are un efect vasodilatator și duce la creșterea fluxului sangvin miocardic¹⁰³. În cazul unei disfuncții endoteliale, administrarea duce la o reacție paradoxală, vasoconstricție și scăderea fluxului. Acțiunea acetilcolinei este așadar un marker al disponibilității NO, o reacție patologică avertizând asupra unei disfuncții endoteliale.

2. Pletismografia este o altă metodă frecvent utilizată de determinare a vasodilației dependente de endoteliu în teritoriul microcirculației antebrațului. Sub anestezie locală se realizează o cale de acces la artera brahială, prin care vor fi introduse diferite substanțe agoniste respectiv antagoniste ale funcției endoteliale (acetilcolină, nitroprusiat de sodiu, fentolamină, N-monometil L-arginină). Modificările fluxului sangvin în teritoriul antebrațului vor fi cuantificate cu ajutorul pletismografiei venoase¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Fluxul sangvin trebuie măsurat bilateral și rezultatele trebuie exprimate în timp, astfel încât posibilele modificări ale fluxului datorate variațiilor tensionale să fie eliminate.

S-a demonstrat că măsurarea vasodilației dependente de acetilcolină în teritoriul antebrațului este un factor de predicție independent al evenimentelor cardiovasculare la pacienții cu boală coronariană¹⁰⁷.

3. Metoda termodiluției¹⁵ măsoară vasodilația mediată de endoteliu la nivelul extremităților inferioare. În vena femurală se introduce un cateter de termodiluție, care măsoară fluxul sangvin. În artera femurală se introduce un cateter biluminal prin care se măsoară invaziv tensiunea arterială și se injectează substanțe vasodilatatoare (metacolină). Cu ajutorul curbelor de termodiluție se va exprima creșterea procentuală a fluxului după injectarea substanțelor vasodilatatoare în raport cu valoarea bazală.

ATENȚIE: În măsurarea vasodilatației dependente de endoteliu la nivelul membrelor inferioare este necesară foarte multă precauție. Deoarece aici modificările aterosclerotice sunt mai accentuate, fiecare măsurătoare a hiperemiei reactive va reda nu doar vasodilatația dependentă de endoteliu, ci și eventualele stenoze preexistente.

Regula de bază în timpul măsurătorii este că trebuie ținut cont de tot mai multe variabile cu cât distanța între locul de aplicare a stimulului vasodilatator și locul de efectuare a măsurătorii este mai mare. Astfel precizia de măsurare a hiperemiei reactive în teritoriul arterei femurale după ischemierea gambei este mai mare și mai specifică pentru funcția endotelială decât metoda termodiluției, sau pletismografia venoasă care sumează efectele asupra întregului sistem artere-arteriole-capilare, plus o parte a sistemului venos, și astfel intervenția modificărilor aterosclerotice și de microcirculație este mult mai mare.

În concluzie, măsurarea funcției endoteliale reprezintă o metodă posibilă de apreciere a riscului cardiovascular la persoanele asimptomatice, cât și o metodă foarte sensibilă de control a evoluției după introducerea unei terapii. Pentru aceasta trebuie ținut cont de particularitățile fiecărui sistem vascular în parte. O standardizare a metodelor de investigare, cât și stabilirea valorilor normale sunt absolut necesare.