

Alteraciones endoteliales en el envejecimiento

R. Maeso, N. de las Heras, J. Navarro-Cid, S. Vázquez-Pérez, E. Cediél, V. Lahera y M.^a V. Cachafeiro

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina. Universidad Complutense, Madrid.

INTRODUCCION

El sistema vascular participa de forma decisiva en el mantenimiento de la homeostasis vascular, ya que los vasos sanguíneos no son sólo simples conductos que transportan la sangre y con ella los nutrientes y el oxígeno a los tejidos, sino que las distintas estructuras que componen la pared vascular participan activamente en importantes funciones fisiológicas que van a regular tanto el tono vasomotor, como el crecimiento de las células del músculo liso, los procesos de agregación plaquetaria y coagulación, la permeabilidad o las interacciones de los leucocitos con la pared vascular. Desde un punto de vista histológico, la organización básica de la pared arterial está formada por tres capas celulares dispuestas de manera concéntrica: la íntima, la media y la adventicia. a) La túnica íntima es la más interna, se encuentra en contacto directo con la sangre circulante y está constituida por una monocapa de células endoteliales unidas firmemente entre sí, con su eje mayor orientado longitudinalmente y por una lámina basal muy fina. Además en las arterias de gran calibre existe una capa subendotelial compuesta por haces de colágeno, fibras elásticas, células musculares lisas y algunos fibroblastos. b) La capa media o túnica media está compuesta fundamentalmente por células musculares lisas fusiformes que se disponen en espiral o circularmente formando varias capas alrededor de la circunferencia del vaso, haces de colágeno, fibras elásticas y otros componentes de la matriz extracelular intersticial. c) La capa más externa corresponde a la túnica adventicia. La adventicia es una capa poco definida de tejido conectivo constituida por fibroblastos y haces de colágeno orientados longitudinalmente, así como por una red laxa de fibras elásticas delgadas por donde penetran las terminaciones nerviosas y los capilares.

ENDOTELIO VASCULAR Y FACTORES ENDOTELIALES

La cara luminal de los vasos sanguíneos, como ya hemos mencionado, está tapizada por una capa de células endoteliales continua que constituye el endotelio vascular. El endotelio vascular está situado en una

posición anatómica estratégica entre la sangre y la pared vascular que le permite actuar como receptor y transmisor de señales entre la sangre y el músculo liso vascular. Las células endoteliales son capaces de detectar variaciones de tipo mecánico como cambios hemodinámicos de la presión o las fuerzas de cizallamiento de la sangre, químico como la presión de oxígeno, humorales como las modificaciones de los factores circulantes o locales y cambios en sus interacciones con las plaquetas o los leucocitos. El endotelio va a traducir dichas modificaciones respondiendo a ellas mediante la síntesis y liberación de numerosos factores biológicamente activos. Entre éstos cabe destacar distintos factores vasoactivos como la prostaciclina (PGI_2), el óxido nítrico (NO), el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF), el tromboxano A_2 (TXA_2), la prostaglandina H_2 (PGH_2) o la endotelina-1 (ET-1). Las células endoteliales también constituyen una fuente de producción de distintas especies reactivas del oxígeno (aniones superóxido e hidroxilo, o peróxido de hidrógeno), de diversos factores de crecimiento como el factor de crecimiento transformante β ($\text{TGF}\beta$), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) o el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), heparinoides, el activador del plasminógeno tisular (t-PA), el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), quimiocinas, interleucinas, moléculas de adhesión de monocitos (ICAM-1, VCAM-1, ELAM o E-selectina) y otros. De esta forma, la organización de la pared del vaso, donde el endotelio vascular se encuentra entre la sangre y el músculo liso, hace posible por una parte la modulación por las células endoteliales de la respuesta de contracción-relajación o de los procesos de crecimiento de la capa muscular adyacente, y por otra parte al endotelio interactuar con la sangre regulando la adhesión de las células sanguíneas a la pared y los procesos de agregación plaquetaria y coagulación (fig. 1) a través de las acciones vasodilatadoras, antiagregantes y antiproliferativas de factores como la PGI_2 , el NO o el EDHF, y de las acciones vasoconstrictoras, proagregantes y proliferativas de factores como el TXA_2 , la PGH_2 , la ET-1, los radicales libres, los factores de crecimiento o las moléculas de adhesión¹. Debido a estas caracte-

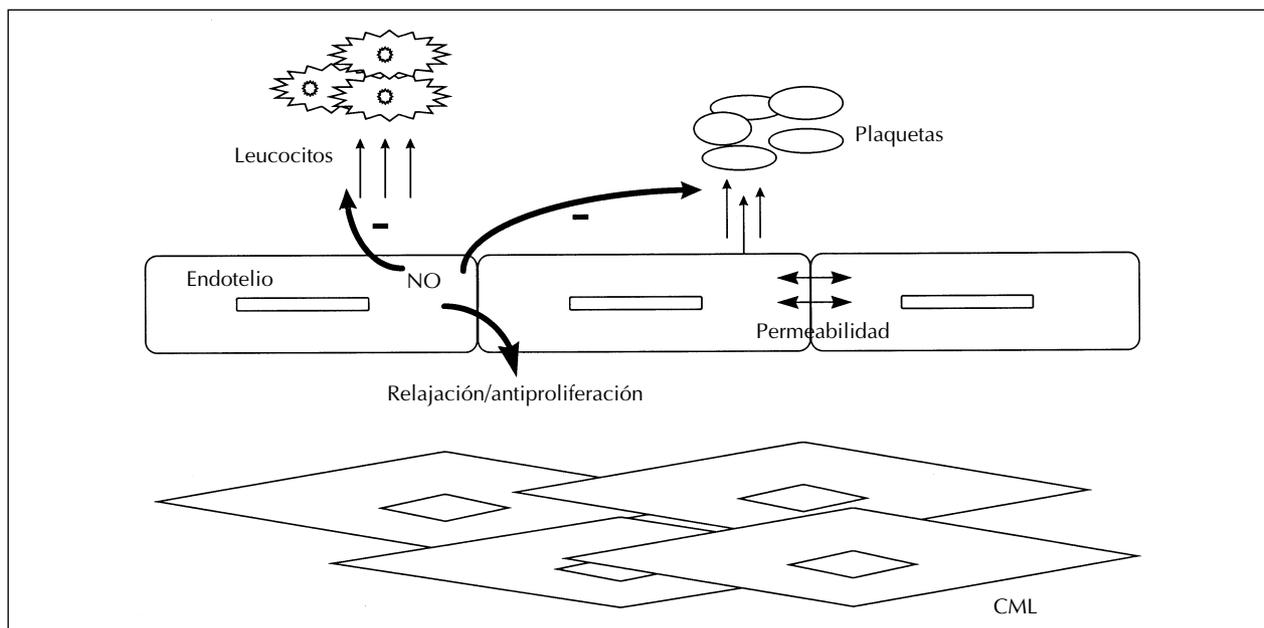


Fig. 1.—Funciones del endotelio en condiciones fisiológicas. NO: óxido nítrico; CML: células del músculo liso.

terísticas el concepto de endotelio, considerado clásicamente como una simple barrera física que separa la sangre de la pared vascular, ha cambiado sustancialmente en los últimos años, y actualmente es considerado como un auténtico «órgano» de regulación vascular con acciones exocrinas, paracrinas y autocrinas, que está implicado en diversos procesos vasoactivos, metabólicos e inmunes.

De todos los factores derivados del endotelio mencionados anteriormente destaca el NO por su participación en prácticamente todas las funciones relacionadas con la homeostasis vascular y el papel fundamental que desempeña en el mantenimiento de ésta. El NO actúa de forma paracrina produciendo la relajación del músculo liso de la media, inhibiendo el crecimiento y la proliferación de las células del músculo liso, endoteliales y fibroblastos, la inhibición de la agregación plaquetaria, y la inhibición de la adhesión de los leucocitos al endotelio. Como consecuencia el endotelio representa un importante papel protector en la circulación manteniendo un tono vasodilatador y previniendo la aparición de vasoespasmos o la formación de trombos.

MODIFICACIONES DE LA FUNCION VASCULAR Y CONCEPTO DE DISFUNCION ENDOTELIAL

En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre las acciones antagónicas de los distintos fac-

tores mencionados del que va a depender en gran medida el mantenimiento de la homeostasis vascular². El endotelio vascular contribuye a esta homeostasis vascular al actuar como una barrera eficaz, y al mantener el equilibrio entre la respuesta de contracción y relajación del músculo liso vascular, así como también el equilibrio entre la estimulación y la inhibición de su crecimiento y la modulación de la función plaquetaria y la adhesión de monocitos (fig. 1), por lo que la integridad del endotelio es esencial para el funcionamiento normal de la pared vascular^{3,4}. Sin embargo, en determinadas situaciones en las que las condiciones ambientales que rodean a las células endoteliales se modifican, como consecuencia de un aumento de la presión arterial o por la existencia de concentraciones plasmáticas anormalmente altas de lípidos, de glucosa o productos derivados del tabaco, este equilibrio puede alterarse conduciendo al predominio de las acciones de los factores vasoconstrictores, proliferativos y proagregantes en detrimento de las acciones de los factores vasodilatadores, antiproliferativos y antiagregantes. En estas condiciones el endotelio ya no tiene una función homeostática, sino que ejerce acciones deletéreas para la pared vascular. Esta situación se conoce como disfunción endotelial y se manifiesta como una reducida respuesta vasodilatadora dependiente de endotelio y/o una mayor respuesta constrictora dependiente o independiente de endotelio, una pérdida de la función de barrera selectiva, una

mayor tendencia a la agregación plaquetaria y a la trombosis, y una mayor tendencia a la adhesión de leucocitos, proliferación y migración de las células musculares lisas y los fibroblastos^{5,6} (fig. 2). Estas alteraciones funcionales y/o estructurales del endotelio vascular están presentes en numerosas situaciones patológicas⁷, entre las que se incluyen la hipertensión arterial, la aterosclerosis, la hipercolesterolemia, la diabetes o el tabaquismo y pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo y mantenimiento de las complicaciones de estas patologías. La disfunción endotelial está mediada por cambios en el patrón de síntesis, liberación, difusión o degradación de los diversos factores derivados del endotelio. Los mecanismos responsables de dichas alteraciones pueden ser originados tanto por cambios en los receptores para los agentes vasoactivos, como en las señales intracelulares de transducción o incluso por modificaciones en la respuesta de las células diana de dichos factores. Por último habría que destacar que la disfunción endotelial no es homogénea en sus características y su distribución, y que va a variar en función del proceso patológico asociado, así como con el lecho vascular que se considere⁷.

EFFECTOS VASCULARES DEL ENVEJECIMIENTO

El progresivo envejecimiento de la población en los países desarrollados es uno de los hechos demográficos de mayor relevancia en el último cuarto de siglo. El incremento de la expectativa de vida se ha acompañado de un aumento entre la población mayor de 65 años, cada vez más numerosa, de la prevalencia de las enfermedades dependientes de la edad y en particular de las enfermedades cardiovasculares, ya que uno de los sistemas clásicamente afectados por el proceso fisiológico de envejecimiento es el sistema vascular, que además está implicado de manera principal entre las primeras causas de morbi-mortalidad en los ancianos. Es por tanto, un hecho conocido que la edad supone un factor de riesgo para la incidencia de problemas cardiovasculares, como la hipertensión, la enfermedad coronaria o la insuficiencia cardíaca⁸. Como ya hemos mencionado el endotelio activamente en múltiples procesos fisiológicos y patológicos del sistema cardiovascular, y el envejecimiento no es una excepción. Así, en los últimos años se han ido acumulando evidencias que suscitan la posibilidad de que el endotelio tenga un papel signifi-

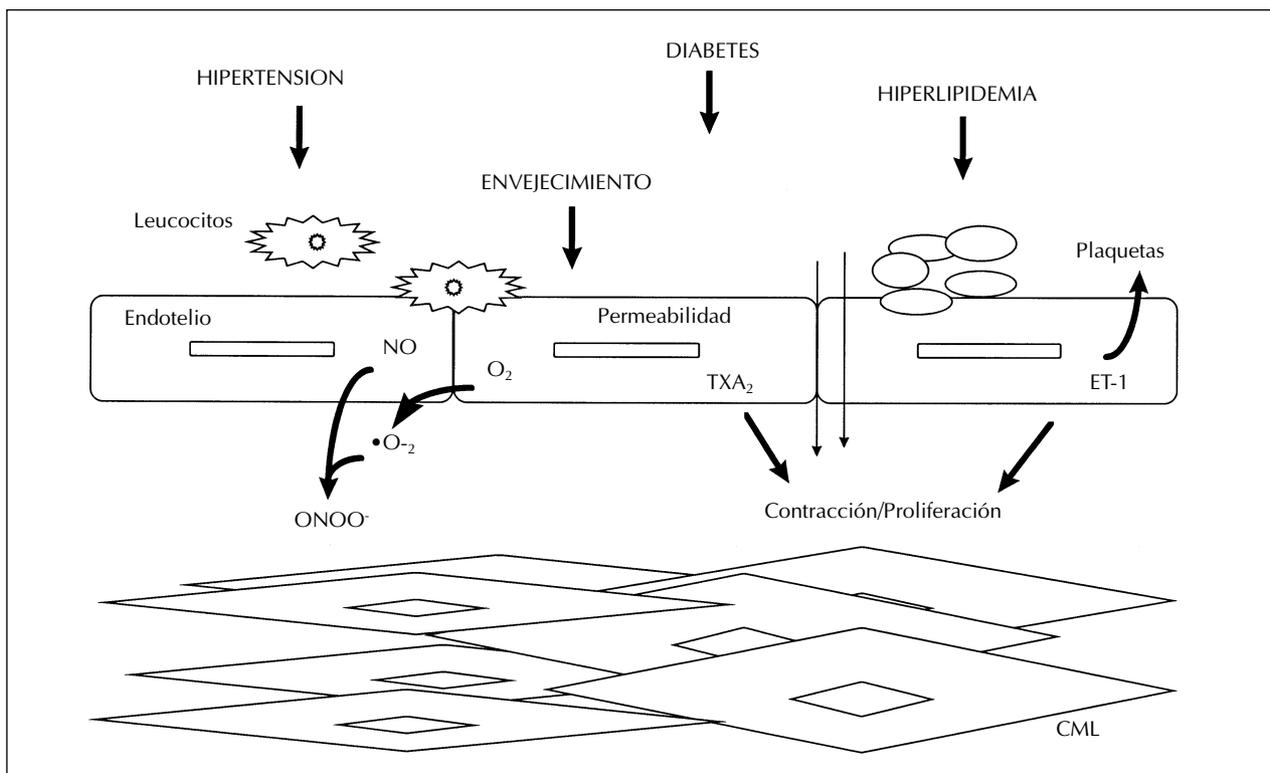


Fig. 2.—Efecto de los factores de riesgo cardiovascular sobre las funciones del endotelio. NO: óxido nítrico; CML: células del músculo liso; TXA₂: tromboxano A₂; ONOO \cdot : peroxinitrito; ET-1: endotelina; O₂ \cdot : superóxido.

cativo en el envejecimiento vascular, ya que también se ha visto que existe una disfunción endotelial asociada al proceso de envejecimiento, que se inicia en la edad adulta temprana (al principio de la fase post-madurativa) y se va agravando progresivamente con la edad⁹⁻¹². La aparición de esta disfunción endotelial derivada del proceso de envejecimiento además parece estar retrasada en las mujeres en comparación con varones de su misma edad, aunque se iguala con la entrada en la menopausia¹². Este desplazamiento en el tiempo dependiente del sexo posiblemente pueda explicarse por el papel protector que tienen los estrógenos sobre el sistema vascular, que estarían previniendo la aparición de estos cambios en la función endotelial. La edad se revela además como el predictor más importante de la función endotelial cuando se compara con otros factores de riesgo cardiovasculares como los niveles de colesterol total y LDL o la presión arterial, por lo que puede representar un buen marcador de la disfunción endotelial⁹. Así, se ha propuesto que la disfunción endotelial que acompaña al envejecimiento podría desempeñar un papel clave para explicar cómo la edad puede favorecer el desarrollo de distintas patologías cardiovasculares y ser también el vínculo de unión entre ellas.

La pérdida de la función endotelial, por tanto, no es sólo característica de patologías como la hipertensión o la aterosclerosis, sino que también el envejecimiento tiene efectos deletéreos directos sobre la vasculatura, tanto a nivel funcional como morfológico (fig. 2). Numerosos estudios experimentales indican que independientemente de la existencia de otras patologías, la edad parece empeorar la relajación dependiente de endotelio en ratas en distintos territorios vasculares y en respuesta a diferentes agonistas como la acetilcolina¹³⁻¹⁹, la bradicinina, la histamina, los agonistas β -adrenérgicos, y otros agentes que producen vasodilatación dependiente de endotelio²⁰⁻²⁴. Asimismo, el envejecimiento reduce la vasodilatación renal, así como la respuesta natriurética y diurética a un vasodilatador dependiente de endotelio en la arteria braquial y en las arterias coronarias^{9-12, 25-28}, así como una menor vasodilatación renal dependiente de endotelio en el hombre^{29,30}. Sin embargo, la mayoría de los estudios experimentales realizados hasta la fecha no encuentran cambios importantes con el envejecimiento en la relación independiente de endotelio a nitrovasodilatadores en ratas, ya sea en arterias de conducción o de resistencia^{13, 14, 16, 20, 21, 31}, ni tampoco modificaciones de la vasodilatación renovascular y de la respuesta natriurética y diurética a nitroprusiato sódico²⁵. De igual forma tampoco se han observado grandes diferencias en la respuesta vasodilatadora independiente de endotelio a nitroprusiato sódico con el envejecimiento en la arteria braquial

en el hombre^{9-12, 26}. Esto estaría sugiriendo que el empeoramiento de la respuesta vasodilatadora que se produce con el envejecimiento es debido principalmente a alteraciones del endotelio, más que a modificaciones del músculo liso vascular. Sin embargo, no puede descartarse que los mecanismos a nivel del músculo liso vascular puedan estar afectados, ya que en algunos casos se ha encontrado que tanto la relajación dependiente como independiente de endotelio podrían estar reducidas con el envejecimiento^{23, 32}.

Las consecuencias del envejecimiento sobre la respuesta constrictora no son tan homogéneas como en el caso de la respuesta vasodilatadora, ya que la edad parece producir alteraciones específicas de las respuestas a determinados vasoconstrictores. Así, los efectos del envejecimiento sobre la respuesta α -adrenérgica observados en animales de experimentación como la rata son contradictorios, observándose un incremento de la contracción a estos agentes^{18, 22, 33, 34}, pero también una respuesta reducida^{32, 35-37} o no modificada^{19, 31, 38}. Aunque tampoco está claro lo que ocurre con la respuesta α -adrenérgica en el hombre con el envejecimiento, en general parece que las respuestas mediadas por los receptores α_1 -adrenérgicos están bien preservadas, con un número y una afinidad de los receptores normal^{8, 39} mientras que las respuestas mediadas por los receptores α_2 -adrenérgicos se ven atenuadas tanto a nivel pre como postsináptico o no sufren variaciones con la edad⁴¹. Tampoco existe una uniformidad de resultados en los efectos derivados del envejecimiento sobre la respuesta contráctil inducida por la angiotensina II en animales de experimentación, ya que no se han encontrado alteraciones de ésta con la edad en diferentes arterias de distintos animales^{38, 42, 43}, aunque también se ha observado una reducción⁴⁴ y un incremento¹⁸ de su respuesta en la aorta de rata vieja, así como un aumento de la reactividad vascular renal a este péptido en ratas asociado con la edad⁴⁵. La respuesta vasoconstrictora a la angiotensina II en el hombre⁴⁶, así como la afinidad por su receptor no parecen verse alteradas, mientras que la densidad de los receptores de la angiotensina II en plaquetas humanas incrementa con la edad⁴⁷. A la vista de todos estos resultados parece difícil extraer una conclusión clara de los efectos del envejecimiento sobre la respuesta vasoconstrictora, aunque parte de las contradicciones encontradas pueden explicarse en base a las diferencias en el territorio vascular y en la edad de los animales utilizados en los distintos estudios que suponen un factor de divergencia importante a la hora de analizar los resultados.

Al contrario de esto, sí parece haber un efecto claro de envejecimiento, sin embargo, sobre la contracción dependiente de endotelio a agonistas como la acetilcolina, ya que en la mayoría de los estudios realiza-

dos se observa un incremento de ésta con la edad, tanto en aorta como en arterias de resistencia en ratas^{13,14,19} y en el hombre¹¹. La información recopilada hasta el momento sobre los efectos del envejecimiento en la contracción a ET-1 también parece indicar que en la mayoría de los casos existe una clara disminución de su respuesta con la edad. Esto se ha observado en aorta^{19,33,36} y en arterias mesentéricas³¹ de ratas. Además también se ha observado un menor efecto modulador del endotelio sobre las contracciones inducidas por agonistas α -adrenérgicos, serotonina y ET en arterias mesentéricas y en aorta de rata con el envejecimiento^{31,48}, que podrían explicar también algunas de las discrepancias encontradas en los efectos de la edad sobre la respuesta vasoconstrictora a algunos de estos agentes.

En general podemos decir por tanto, que el envejecimiento va a afectar fundamentalmente a la función endotelial, ya que la principal alteración vasomotora que se produce con el envejecimiento es un deterioro de la relajación dependiente de endotelio, así como un incremento de las contracciones dependientes de endotelio y un empeoramiento de la capacidad del endotelio para modular la respuesta vasoconstrictora. Aunque todavía se mantienen sin esclarecer por completo las causas y la naturaleza del daño endotelial en el envejecimiento se han propuesto varios mecanismos que podrían estar implicados en la reducción de la respuesta vasodilatadora que acompaña al envejecimiento (fig. 2). Entre ellos, se ha sugerido que las alteraciones en la relajación dependiente de endotelio con la edad podrían deberse a una menor producción de factores vasodilatadores como el NO principalmente²², pero también a una menor biosíntesis de PGI₂, como se ha observado que ocurre en células endoteliales humanas con la edad⁴⁹ o a una menor liberación de EDHF^{15,17} en determinados territorios vasculares. De hecho se ha observado una menor liberación basal de NO, así como una menor actividad y una menor expresión de la NO sintasa constitutiva en células endoteliales aórticas con la edad^{33,50,51}. Además, no sólo una menor síntesis de NO puede reducir la disponibilidad de este factor, ya que también una mayor producción de radicales libres como aniones superóxido durante el envejecimiento pueden producir disfunción endotelial. Estos aniones superóxido se producen normalmente en todos los tejidos como resultado del metabolismo oxidativo en las mitocondrias, o de actividades enzimáticas como las oxidasas dependientes de NADH/NADPH, la xantina oxidasa, la ciclooxigenasa, la citocromo P450 reductasa, o la lipooxigenasa, y tienen la capacidad de oxidar el NO, inactivándolo y formando también aniones peroxinitritos que carecen de la actividad relajante del NO, y presentan

una potente acción oxidante, participando en procesos de peroxidación lipídica, nitrosación de proteínas y alteraciones del ADN y de la expresión génica. En este sentido se ha demostrado que el estrés oxidativo^{53,53} y la producción de distintas especies reactivas de oxígeno está incrementada durante el envejecimiento⁵⁴, así como también parece estar disminuida con la edad la actividad antioxidante plasmática de enzimas como la superóxido dismutasa, que degrada los aniones superóxido³³.

También se ha sugerido que esta hiporrespuesta relajante dependiente de endotelio, así como el incremento de las contracciones dependientes del endotelio podrían ser consecuencia de una estimulada producción o liberación de eicosanoides vasoconstrictores como el TXA₂ o la PGH₂ por el endotelio, que estarían sobreexpresando su acción a nivel local antagonizando las acciones del NO^{11,19}. De acuerdo con esta hipótesis se ha demostrado que los inhibidores de la ciclooxigenasa, como la indometacina, o los antagonistas de los receptores de TXA₂/PGH₂ mejoran tanto la relajación como la contracción dependientes de endotelio en animales de experimentación y en el hombre^{11,19}. Esto podría explicar también la disminución de la relajación dependiente de endotelio aunque la producción de los factores vasodilatadores no estuvieran afectada por la edad.

Por otro lado, la disfunción endotelial que se produce con el envejecimiento como la asociada a otras situaciones patológicas, no sólo se manifiesta en una alteración vasomotora, sino que también se va a acompañar de toda una serie de cambios que van a afectar tanto a la permeabilidad vascular y la adhesión de los leucocitos a la pared vascular, como a los procesos de agregación y coagulación, y al crecimiento y la migración de las células del músculo liso. Así el envejecimiento va a conducir a un incremento de la permeabilidad endotelial y por tanto a modificaciones en el transporte de macromoléculas del plasma, favoreciéndose la entrada de éstas a la pared arterial, mientras que su paso a través de la media parece verse impedido, lo que puede contribuir así a su acumulación en el espacio subendotelial⁵⁵. De hecho se ha observado que el envejecimiento facilita la acumulación de componentes lipídicos y/o proteínicos del plasma en el espacio subendotelial, lo que constituye un punto de unión entre la edad y el proceso ateromatoso^{56,57}. Además se ha observado un aumento del número de células acumuladas en el espacio subendotelial en la aorta con la edad⁵⁸⁻⁶¹, la mayoría de las cuales presentan características morfológicas de células mononucleares sanguíneas y de células musculares lisas^{59,60}. También la adherencia de las células sanguíneas como plaquetas y leucocitos a la íntima parece que se encuentra estimulada

con la edad^{30,59,60,62}. De acuerdo con este hecho se ha pensado que podría haber una mayor expresión de moléculas de adhesión en la superficie de las células endoteliales que favoreciera la adhesión de las células sanguíneas a la pared vascular, como la ICAM-1 y la VCAM-1 (cuyas isoformas solubles en plasma) han sido consideradas como marcadores relacionados íntimamente con la formación de lesiones ateroscleróticas tempranas. Corroborando esta hipótesis se ha publicado la existencia de un incremento en los niveles plasmáticos de la isoforma soluble sVCAM-1 a medida que aumenta la edad⁶³. El deterioro de la función endotelial con el envejecimiento también parece estar asociado con un incremento de la peroxidación lipídica y con determinados productos de ésta como el malondialdehído, cuyos niveles en suero se han encontrado incrementados en ratas con la edad³⁴.

El envejecimiento además está asociado con procesos de proliferación celular de la íntima y la media, y un enriquecimiento en fibras de colágeno, que va a producir un progresivo engrosamiento miointimal asociado tanto con cambios en el componente celular como extracelular de la pared arterial⁵⁸⁻⁶¹. Por tanto, la edad también va a estar asociada con marcados cambios en la estructura del sistema vascular. Las arterias empiezan a ser menos elásticas, con la pérdida de fibras elásticas y la mayor acumulación de colágeno y minerales como el calcio que conduce a procesos de fibrosis, calcificación y esclerosis que reducen la distensibilidad arterial⁶². Asimismo el aumento en el grosor de la pared de las grandes arterias⁶¹, así como el estrechamiento vascular que se produce en los pequeños vasos de resistencia como consecuencia principalmente de procesos de remodelado vascular, van a conducir a la disminución de la relación lumen/pared que puede contribuir también el aumento de las resistencias periféricas.

Todas estas alteraciones de la función y la estructura de la pared arterial que tienen lugar con el envejecimiento y principalmente las del endotelio debido a su papel protector en el sistema cardiovascular, van a modificar la homeostasis vascular, teniendo importantes implicaciones clínicas, ya que como comentábamos al principio pueden contribuir a la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares, especialmente a la aterosclerosis y a la hipertensión que se encuentran íntimamente asociadas con la edad.

EFFECTOS VASCULARES DEL ENVEJECIMIENTO EN LA HIPERTENSION

Las alteraciones funcionales asociadas a la hipertensión que se producen en la vasculatura son similares en su mayoría a las que han sido descritas como

consecuencia de la edad, ya que la hipertensión, como la edad, parece causar principalmente un decremento de las relajaciones y un incremento de las contracciones dependientes de endotelio en distintos modelos de hipertensión experimental^(19,64) y en el hombre⁽¹⁰⁻¹²⁾. Lo mismo ocurre con los cambios en la estructura vascular que se producen en la hipertensión, ya que también son muy semejantes a los mencionados anteriormente para el envejecimiento y parecen causar daños sinérgicos en la pared arterial⁽⁵⁹⁻⁶⁰⁾. Por estas razones algunos autores han postulado que la hipertensión podría ser considerada como un proceso prematuro de envejecimiento de los vasos sanguíneos⁽¹¹⁾.

Por otro lado, uno de los principales cambios funcionales asociados al envejecimiento que se producen en el sistema vascular es el aumento del tono vascular. Se sabe que la presión arterial sistólica incrementa con la edad, mientras que la diastólica tiende a alcanzar un máximo estable e incluso a decaer en una edad avanzada^(65,66). Además, el envejecimiento se acompaña de una serie de modificaciones hemodinámicas entre las que destaca un aumento de las resistencias vasculares periféricas que finalmente tiene su traducción clínica en una mayor prevalencia de hipertensión arterial^(67,68). Así, el envejecimiento y la hipertensión aparecen íntimamente relacionados, ya que generalmente, como ocurre un gran número de veces, se encuentran asociados, sumando sus efectos. La marcada estimulación de las complicaciones vasculares relacionadas con la edad que existe en la hipertensión sugiere también una importante interacción entre los dos procesos. De esta forma, los procesos normales de la edad parecen afectar al sistema cardiovascular en mayor grado en individuos hipertensos que en normotensos⁽¹⁰⁻¹²⁾ y esto se acentúa sobre todo en varones⁽¹²⁾. De la misma manera, el riesgo de complicaciones cardiovasculares en pacientes hipertensos ancianos es significativamente más alto que en jóvenes con los mismos niveles de PA⁽⁶⁹⁾. La combinación de ambos factores, la edad y la hipertensión, puede por tanto causar un incremento de las alteraciones del sistema cardiovascular. Por esta razón, y debido a la interrelación mutua que existe entre los dos procesos tiene una especial relevancia el estudio de las consecuencias vasculares de la edad en la hipertensión. Sin embargo, la mayoría de los trabajos de investigación realizados sobre el envejecimiento, se han llevado a cabo en animales normotensos y hay relativamente poca información disponible sobre los posibles efectos sinérgicos, aunque no siempre paralelos de ambas situaciones.

En estudios recientes realizados en ratas espontáneamente hipertensas, SHR, que representan un modelo de hipertensión genética experimental que reproduce muchas de las características de la hipertensión esen-

cial en el hombre y que también está asociada con una disminución de la relajación dependiente de endotelio, hemos observado que el envejecimiento produce una marcada reducción de la respuesta vasodilatadora dependiente de endotelio a la acetilcolina tanto en aorta como en vasos de resistencia como el hecho vascular mesentérico en animales de 24 meses de edad cuando se compara con ratas adultas de 6 meses de edad (fig. 3). Esta disminución en la relajación dependiente de endotelio se observaba, a pesar de que las cifras de la presión arterial no estaban incrementadas con la edad, sugiriendo que sería el envejecimiento y la duración de la hipertensión en el tiempo, y no un mayor incremento de los niveles de la presión arterial los responsables del deterioro de la función endotelial. Así, la reducción en la relajación dependiente de endotelio con el envejecimiento en la SHR parece ser dependiente de una disminución de la disponibilidad de NO en el caso de la aorta, donde el NO es el principal mediador de la respuesta vasodilatadora a la acetilcolina, ya que esta respuesta relajante se anula completamente en presencia de LNAME. Sin embargo, en otros territorios vasculares de resistencia, como es el caso del lecho vascular mesentérico la disminución de la relajación dependiente de endotelio que se produce con el envejecimiento ocurre a expensas de una reducción en la participación del EDHF, que es el mediador principal de la respuesta relajante a la acetilcolina en este tipo de vasos⁽¹⁷⁾. De

esta forma, parece que el envejecimiento estaría afectando principalmente al componente mayoritario responsable de la relajación dependiente de endotelio en función del tipo de lecho vascular estudiado.

La disminución de la disponibilidad de NO responsable de la menor respuesta a la acetilcolina en la aorta que se produce con el envejecimiento en estos animales, no parece deberse a una menor producción de NO, ya que a diferencia de lo que ocurre en animales normotensos, no se han encontrado diferencias en la actividad o la expresión de la NOS en la aorta de ratas SHR con la edad⁽⁵¹⁾. Asimismo, no hemos observado diferencias en los niveles plasmáticos de nitratos y nitritos, que representan un índice indirecto de la producción de NO, entre ambos grupos de edad. De acuerdo con estas evidencias, se ha pensado que podría haber un aumento de radicales libres y/o una disminución de la capacidad antioxidante con el envejecimiento en la rata SHR que estuviera favoreciendo la degradación del NO y que podría ser la causa de la reducida disponibilidad de NO con la edad. En este sentido se ha observado una menor actividad de la superóxido dismutasa (SOD), en el corazón hipertrofiado de las SHR con la edad⁽⁷⁰⁾. Además la producción de aniones superóxido parece tener una especial importancia en la hipertensión y en la rata SHR, donde se ha detectado una mayor producción de aniones superóxido que en animales normotensos que podrían contribuir a la

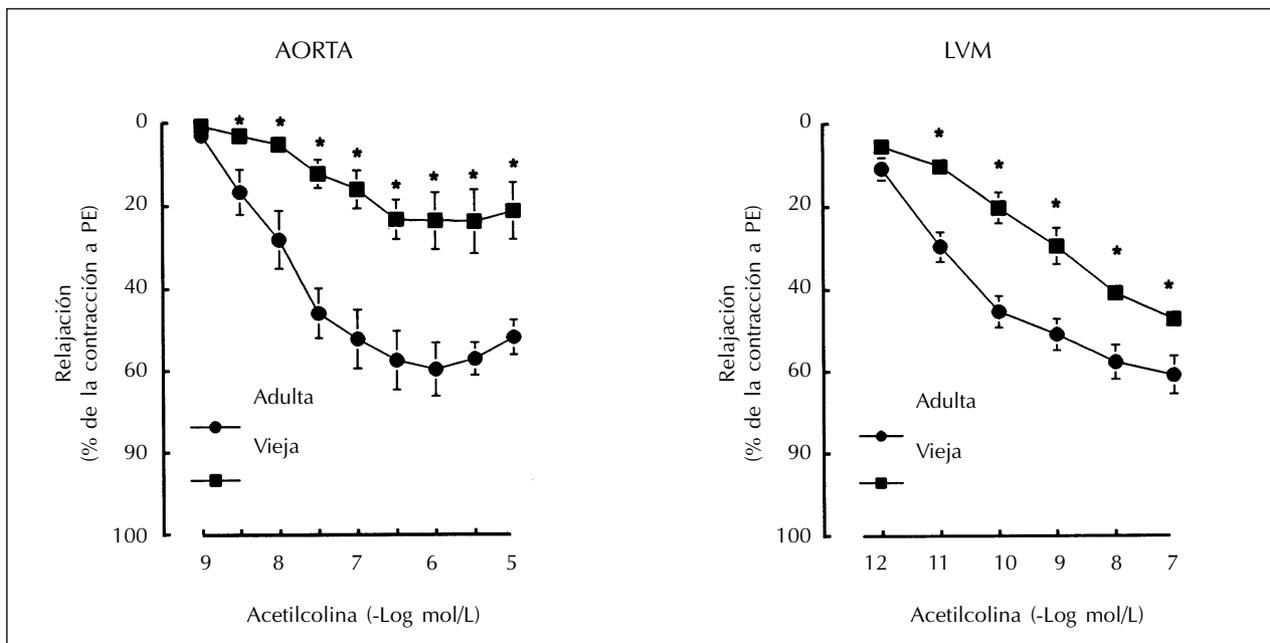


Fig. 3.—Respuesta vasorrelajante a la acetilcolina en anillos de aorta (panel izquierdo) o lechos mesentéricos aislados (LVM, panel derecho) de ratas adultas (6 meses) y viejas (24 meses). * $p < 0,05$ vs ratas adultas.

disfunción endotelial que presenta la rata SHR⁽⁷¹⁾. Se ha demostrado también que tanto la administración de un inhibidor de la xantina oxidasa, como la administración intravenosa de SOD produce una disminución de la presión arterial, que no se observa en ratas normotensas⁽⁷²⁾. Todos estos datos parecen indicar que el envejecimiento podría reducir la disponibilidad de NO en la aorta o en los grandes vasos de conducción al estimular las consecuencias de estos procesos ya alterados en la hipertensión. Respecto al EDHF todavía se conoce relativamente poco sobre su naturaleza o su mecanismo de acción. Se sabe que este factor endotelial produce relajación vascular al producir la hiperpolarización de la membrana de las células del músculo liso como consecuencia de la activación de determinados canales de potasio, que según los estudios más recientes, parecen ser los canales de potasio dependientes de calcio. También se ha hipotetizado acerca de su naturaleza y algunos autores han propuesto que podría tratarse de algún metabolito del ácido araquidónico por la vía del citocromo P450, y en concreto los ácidos epoxieicosatrienoicos parecen ser los candidatos más probables. Debido por tanto a la escasa información que se tiene sobre el EDHF resulta difícil especular sobre las causas de la reducción de su disponibilidad o de su participación que produce el envejecimiento en vasos de resistencia de ratas SHR. Sí se conoce, sin embargo, que la participación de este factor también se ha visto afectada por la hipertensión en ratas SHR cuando se compara con su control normotenso⁽⁷³⁾ por lo que este efecto observado ya con la hipertensión también podría verse estimulado durante el envejecimiento en estos animales.

Además en ratas SHR de 24 meses de edad hemos observado también que no sólo la respuesta vasodilatadora dependiente de endotelio, sino que también está reducida específicamente la respuesta de agentes vasoconstrictores derivados del endotelio como la ET-1, o un análogo del TXA₂, así como la contracción dependiente de endotelio a la acetilcolina en presencia de LNAME, mientras que la respuesta a vasoconstrictores con acciones sistémicas como la angiotensina II, o la fenilefrina, un agonista α_1 -adrenérgico, parecen estar potenciadas con el envejecimiento en anillos aórticos aislados de estos animales.

Tratamiento de la disfunción endotelial en el envejecimiento

El tratamiento con fármacos antihipertensivo especialmente los fármacos que inhiben el sistema renina-angiotensina han demostrado ser eficaces mejorando la disfunción endotelial que acompaña a la hiperten-

sión tanto en animales de experimentación⁽⁷⁴⁾ como en pacientes hipertensos. Existe muy poca información acerca de los efectos del tratamiento antihipertensivo sobre la disfunción endotelial asociada al envejecimiento, pero los datos disponibles hasta el momento parecen indicar que el tratamiento con fármacos que bloquean el SRA también mejora la disfunción endotelial que se produce con la edad. Atkinson y cols.⁽⁷⁵⁾ observaron que el tratamiento crónico con un inhibidor de la enzima de conversión de angiotensina (ECA) incrementaba la respuesta máxima inducida por el carbacol, un agonista muscarínico, sobre la contracción a noradrenalina en lechos mesentéricos de ratas normotensas de 30 meses de edad. También el tratamiento crónico con un antagonista de los receptores AT₁ de angiotensina II, es capaz de prevenir la disminución de la relajación dependiente de endotelio que se produce con el envejecimiento, tanto en aorta como en el lecho vascular mesentérico de ratas SHR de 24 meses de edad (fig. 4). Además este efecto beneficioso parece ser dependiente de NO, ya que éste era bloqueado en presencia de LNAME, el inhibidor de la síntesis de NO, tanto en aorta como en lecho vascular mesentérico, y estaba asociado con un incremento de las concentraciones plasmáticas de nitratos y nitritos. Esto parece indicar que el tratamiento con el antagonista de los receptores AT₁ de angiotensina II podría estar incrementando la disponibilidad de NO, lo que contribuiría a aumentar la relajación dependiente de endotelio, independientemente de si es el NO o el EDHF el componente principal afectado por el proceso de envejecimiento en aorta o en lecho mesentérico, respectivamente. En este sentido se ha publicado también que el tratamiento crónico con un antagonista de los receptores de AT₁ incrementa los niveles de GMPC en aorta de ratas SHR con predisposición al accidente cerebrovascular (stroke prone)⁽⁷⁶⁾. En este sentido, se ha sugerido que este tipo de fármacos podrían estimular la síntesis de NO a través de los receptores AT₂ libres que se ha demostrado que pueden mediar algunos de los efectos beneficiosos de losartán sobre la función vascular y renal y que son capaces de estimular la síntesis de NO⁽⁷⁷⁾. Además los antagonistas de los receptores de angiotensina II también podrían aumentar la disponibilidad de NO disminuyendo su degradación, ya que se ha descrito que la angiotensina II es capaz de estimular la producción vascular de aniones superóxido a través de la activación de la NADH/NADPH oxidasa de la membrana⁽⁷⁸⁾. Este efecto parece ser dependiente de los receptores AT₁, ya que los antagonistas normalizan la producción de aniones superóxido y la disfunción endotelial en ratas⁽⁷⁹⁾. Estas evidencias sugieren que el tratamiento con fármacos que inhiben la angiotensina II, cuya respuesta parece estar incrementada con el envejecimiento, puede disminuir

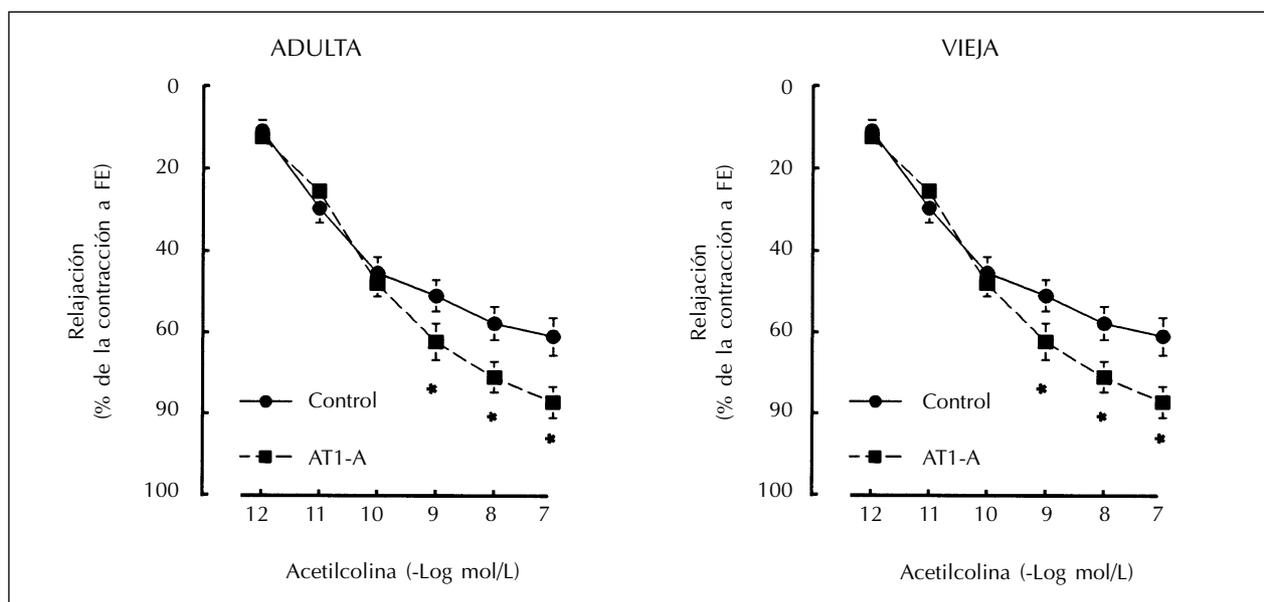


Fig. 4.—Respuesta vasorrelajante a la acetilcolina en lechos mesentéricos aislados de ratas adultas (panel izquierdo) y viejas (panel derecho), tratadas o no con un antagonista de los receptores AT_1 de angiotensina II (AT_1 -A). * $p < 0,05$ vs ratas sin tratar.

la producción de radicales libres, evitando la degradación del NO, y contribuyendo así a incrementar la relajación dependiente de endotelio.

Por último habría que añadir que estos efectos beneficiosos de los antagonistas de los receptores AT_1 de angiotensina II en la SHR previniendo las alteraciones de la edad sobre la función vasomotora parecen ser, en gran parte, independientes de la disminución de la presión arterial que produce el tratamiento, puesto que la preincubación de los anillos aórticos de animales sin tratamiento, directamente con el fármaco (10^{-5} mol/l) es capaz de mejorar también, aunque en menor medida, estas alteraciones que se producen con el envejecimiento. Esto estaría indicando no sólo la existencia de efectos directos de este tipo de fármacos derivados del bloqueo de los receptores AT_1 de la angiotensina II sobre la función vasomotora, sino también la implicación de la angiotensina II en las alteraciones de la función vascular que se producen con el envejecimiento. El sistema renina-angiotensina participa decisivamente en el desarrollo y las complicaciones de diversas patologías cardiovasculares y renales como la hipertensión arterial, la insuficiencia cardíaca, la insuficiencia renal, la aterosclerosis o la nefropatía diabética. De la misma forma también parece que está implicado en las consecuencias vasculares derivadas del proceso de envejecimiento. Existen varias evidencias que podrían apoyar este hecho, ya que parece haber una estimulación de la actividad del sistema renina-angiotensina vascular durante el envejecimiento. Así,

se ha encontrado que mientras la actividad de la ECA aparece reducida en plasma, su actividad está significativamente incrementada en aorta de ratas normotensas viejas⁽⁵⁰⁾. También parece haber un aumento de la actividad de la ECA en lecho vascular mesentérico de ratas hipertensas con el envejecimiento⁽³⁸⁾. Además se ha detectado un incremento en la densidad de receptores de la angiotensina II con la edad⁽⁴⁷⁾, que podría explicar el incremento en la respuesta a la angiotensina II observado con el envejecimiento. Por ello, la inhibición de las acciones del sistema renina-angiotensina tendría una gran importancia clínica en el tratamiento no sólo de la mayoría de las enfermedades cardiovasculares como se ha venido demostrando en los últimos años, sino también en la prevención de las alteraciones del sistema vascular producidas por el proceso de envejecimiento.

En resumen, el endotelio desempeña un papel clave en la regulación de la función vascular ya que es capaz de liberar diversos factores vasoactivos, de acción tanto paracrina como autocrina, en respuesta a diferentes estímulos. En condiciones fisiológicas, el endotelio regula el tono vascular, controla el crecimiento de las células musculares, e inhibe la agregación plaquetaria y la adhesión de monocitos. Este equilibrio puede verse alterado no sólo en situaciones patológicas como la hipertensión, la aterosclerosis y la diabetes, sino también por el envejecimiento dando lugar a una situación que se conoce como disfunción endotelial.

BIBLIOGRAFIA

1. Firchgott RF, Vanhoutte PM: Endothelium-derived relaxing factors and contracting factors. *FASEB J* 3: 2007-2018, 1989.
2. Raij L: Mechanisms of vascular injury: the emerging role of endothelium. *J Am Soc Nephrol* 2: S2-S8, 1991.
3. Lüscher TC, Vanhoutte PM: The endothelium, modulator of cardiovascular function. Boca Ratón. *CRC Press* 1990.
4. Haller H: Endothelial function: general considerations. *Drugs* 10: 129, 1997.
5. Lahera V, Navarro-Cid J, Cacetylcolinaoheiro V, García-Estaño J, Ruilope LM: Nitric oxide, the kidney and hypertension. *Am J Hypertens* 10: 129-140, 1997.
6. Vane JR: Impacto de los factores de riesgo sobre el endotelio. *Cardiovascular Risk Factors* (Ed. española) 3: 208-221, 1994.
7. Lüscher TF, Tanner FC, Dohi Y: Age, hypertension and hypercholesterolaemia alter endothelium-dependent vascular regulation. *Pharmacol Toxicol* 70: S32-S39, 1992a.
8. Docherty JR: Cardiovascular responses in ageing: A review. *Pharmacol Rev* 42: 103-125, 1990.
9. Gerhard M, Roddy MA, Creager SJ, Creager MA: Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans. *Hypertension* 27: 849-853, 1996.
10. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Gennari A, Fasolo CB, Sudano I, Salvetti A: Aging and endothelial function in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *Circulation* 91 (7): 1981-1987, 1995.
11. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Fasolo CB, Sudano I, Salvetti A: Hypertension causes premature aging of endothelial function in humans. *Hypertension* 29: 736-743, 1997.
12. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Mattei P, Sudano I, Bernini G, Pinto S, Salvetti A: Menopause is associated with endothelial dysfunction in women. *Hypertension* 28: 576-582, 1996.
13. Koga T, Takata Y, Kobayashi S, Takishita S, Yamashita Y, Fujishima M: Ageing suppresses endothelium-dependent relaxation and generates contraction mediated by the muscarinic receptors in vascular smooth muscle of normotensive Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 6 (Supl. 4): S243-S245, 1998.
14. Koga T, Takata Y, Kobayashi K, Takishita S, Yamashita Y, Fujishima M: Age and hypertension promote endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the rat. *Hypertension* 14: 542-548, 1989.
15. Fujii K, Ohmori S, Tominaga M, Abe I, Takata Y, Ohya Y, Kobayashi K, Fujishima MM: Age-related changes in endothelium-dependent hyperpolarization in the rat mesenteric artery. *Am J Physiol* 265: H509-H516, 1993.
16. Tominaga M, Fujii K, Abe I: Hypertension and ageing impair acetylcholine-induced vasodilatation in rats. *J Hypertens* 12: 259-268, 1994.
17. Mantelli L, Amerini S, Lleda F: Roles of nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor in vasorelaxant effect of acetylcholine as influenced by aging and hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 25: 595-602, 1995.
18. Maeso R, Rodrigo R, Muñoz-García R, Navarro-Cid J, Ruilope LM, Cachofeiro V, Lahera V: Chronic treatment with losartan improves vascular dysfunction induced by aging in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 16: 665-672, 1998.
19. Küng CF, Lüscher TF: Different mechanisms of endothelial dysfunction with aging and hypertension in rat aorta. *Hypertension* 25: 194-200, 1995.
20. Katano Y, Ishihata A, Morinobu S: Modulation by aging of the coronary vascular response to endothelin-1 in the rat isolated perfused heart. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 348: 82-87, 1993.
21. Mayhan WG, Faraci FM, Baumbacetylcolina GL, Heistad DD: Effects of aging on responses of cerebral arterioles. *Am J Physiol* 258: H1138-H1143, 1990.
22. Moritoki H, Hosoki E, Ishida Y: Age-related decrease in endothelium-dependent dilator response to histamine in rat mesenteric arterial. *Eur J Pharmacol* 126: 61-67, 1986.
23. Amerini S, Mantelli L, Filippi S: Effects of aging and hypertension on vasorelaxant activity of calcitonin gene-related peptide: a comparison with other vasodilator agents. *J Cardiovasc Pharmacol* 23: 432-437, 1994.
24. Arribas S, Marín J, Ponte A: Norepinephrine-induced relaxations in rat aorta mediated by endothelial beta-adrenoreceptors. Impairment by ageing and hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 270: 520-527, 1994.
25. Tan D, Cernadas MR, Aragoncillo P, Castilla MA, Alvarez Arroyo MV, López Farré AJ, Casado S, Caramelo C: Role of nitric oxide-related mechanisms in renal function in ageing rats. *Nephrol Dial Transplant* 13594-601, 1998.
26. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ: Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 24: 471-476, 1994.
27. Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Kai H, Sugimacetylcolina M, Suzuki S, Kuga T, Urabe Y, Takeshita A: Effects of age on endothelium-dependent vasodilation of resistance coronary artery by acetylcholine in humans. *Circulation* 88 (1): 77-81, 1993.
28. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG: Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 81: 491-497, 1990.
29. Higashi Y, Oshima T, Ozono R, Matsuura H, Kajiyama G: Aging and severity of hypertension attenuate endothelium-dependent renal vascular relaxation in humans. *Hypertension* 30 (Pt. 1): 252-258, 1997.
30. Hollemberg NK, Douglas FA, Solomon HS, Rashid A, Abrams HL, Merrill J: Senescence and the renal vasculature in normal man. *Circ Res* 34: 309-316, 1974.
31. Dohi Y, Lüscher TF: Aging differentially affects direct and indirect actions of endothelin-1 in perfused mesenteric arteries of the rat. *Br J Pharmacol* 100: 889-93, 1990.
32. Atkinson J, Tatchum-Talom R, Capdeville-Atkinson C: Reduction of endothelial function with age in the mesenteric arterial bed of the normotensive rat. *Br J Pharmacol* 111: 1184-1188, 1994.
33. Barton M, Cosentino F, Brandes RP, Moreau P, Shaw S, Lüscher TF: Anatomic heterogeneity of vascular aging role of nitric oxide and endothelin. *Hypertension* 30: 817-824, 1997.
34. Davidge ST, Hubel CA, McLaughlin MK: Impairment of vascular function is associated with an age-related increase of lipid peroxidation in rats. *Am J Physiol* 271: R1625-R1631, 1996.
35. Feletou M, Moreau N, Boulanger M: Effect of aging and drug-induced weight reduction on rat vascular reactivity. *J Cardiovasc Pharmacol* 21: 120-127, 1993.
36. Filipelli A, Palla A, Lampa E: Aging and in vitro vascular responses to endothelin-1 in several rat strains. *Pharmacol Res* 28: 193-202, 1993.
37. Wanstall JC, O'Donnell SR: Inhibition of norepinephrine contractions by diltiazem on aorta and pulmonary artery from young and aged rats: influence of alpha-adrenoreceptor reserve. *J Pharmacol Exp Ther* 245: 1016-1020, 1988.
38. Lang M, Noll G, Luscher TF: Effect of aging and hypertension on contractility of resistance arteries: modulation by endothelial factors. *Am J Physiol* 269: H837-H844, 1995.
39. Scott PJW, Reid JL: The effect of age on the responses of human isolated arteries to noradrenaline. *Br J Clin Pharmacol* 4: 388-392, 1982.
40. Hyland L, Docherty JR: An investigation of age-related changes in pre- and post-junctional alpha-adrenoreceptors in human saphenous veins. *Eur J Pharmacol* 110: 241-246, 1985.

41. Featherstone LA, Veith RC, Flatness D, Murburg MM, Villacres EC, Halter JB: Age and alpha-2 adrenergic regulation of plasma norepinephrine kinetics in humans. *J Gerontol* 42: 271-276, 1987.
42. Toda N, Shimizu I: Neuroeffector function in mesenteric arteries isolated from beagles of different ages. *J Pharmacol Exp Ther* 240: 223-227, 1987.
43. Hynes MR, Duckles SP: Effect on increasing age on the endothelium-mediated relaxation of rat blood vessels *in vitro*. *J Pharmacol Exp Ther* 241: 387-392, 1987.
44. Wakabayashi I, Sakamoto K, Hatake K, Yoshimoto S, Kurahashi M: Effect of age on contractile response to angiotensin II in rat aorta. *Life Sci* 47 (9): 771-779, 1990.
45. Tank JE, Vora JP, Houghton DC, Anderson S: Altered renal vascular responses in the aging rat kidney. *Am J Physiol* 266: F942-F948, 1994.
46. Hogikyan RV, Supiano MA: Arterial alpha-adrenergic responsiveness is decreased and SNS activity is increased in older humans. *Am J Physiol* 266 (1): E717-E724, 1994.
47. Duggan J, Kilfeater S, O'Brien E, O'Malley K, Nussberger J: Effects of aging and hypertension on plasma angiotensin II and platelet angiotensin II receptor density. *Am J Hypertens* 5: 687-693, 1992.
48. Vanhoutte PM: Aging and vascular responsiveness. *J Cardiovasc Pharmacol* 12: S11-S18, 1988.
49. Tokunaga O, Yamada T, Fan J, Watanabe T: Age-related decline in prostacyclin synthesis by human aortic endothelial cells: qualitative and quantitative analysis. *Am J Pathol* 138: 941-949, 1991.
50. Challah, Nadaud S, Philippe M, Battle T, Subrier F, Corman B, Michel JB: Circulating and cellular markers of endothelial dysfunction with aging in rats. *Am J Physiol* 273: H1941-1948, 1997.
51. Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA: Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension* 31: 643-648, 1998.
52. Stadman TC: Protein oxidation and aging. *Science* 257: 1220-1224, 1993.
53. Ames BN, Shigenaga MK: Oxidants are a major contributor to aging. *Ann N Y Acad Sci* 663: 85-96, 1992.
54. Kukovetz EM, Bratschitsch G, Hofer HP, Egger G, Schaur RJ: Influence of age on the release of reactive oxygen species by phagocytes as measured by a whole blood chemiluminescence assay. *Free Radical Biology & Medicine* 22: 433-438, 1997.
55. Belmin J, Corman B, Merval T, Tedgui A: Age-related changes in endothelial permeability and distribution volume of albumin in rat aorta. *Am J Physiol* 264: H679-H685, 1993.
56. Abrams WB: Pathophysiology of hypertension in older patients. *Am J Med* 85 (Supl. 3B): 7-13, 1988.
57. Wadsworth RM: Calcium and vascular reactivity in ageing and hypertension. *J Hypertens* 8: 975-983, 1990.
58. Gerrity RG, Cliff WJ: The aortic intima in young and aging rats. *Exp Mol Pathol* 16: 382-402, 1972.
59. Haudenschild CC, Chobanian AV: Blood pressure lowering diminishes age-related changes in the aortic intima. *Hypertension* 6 (Supl. 1): 162-168, 1984.
60. Haudenschild CC, Prescott MF, Chobanian AV: Aortic endothelial and subendothelial cells in experimental hypertension and aging. *Hypertension* 3 (Supl. 1): I-148-I-153, 1981.
61. Michel JB, Heudes D, Michel O, Poitevin P, Philippe M, Scalbert E, Corman B, Levy BI: Effect of chronic ANG I-converting enzyme inhibition on aging processes. II. Large arteries. *Am J Physiol* 267: R124-R135, 1994.
62. Wei JY: Age and the cardiovascular system. *N Engl J Med* 327 (24): 1735-1739, 1992.
63. Morisaki N, Saito I, Tamura K, Tashiro J, Masuda M, Kanazaki T, Watanabe S, Masuda Y, Saito Y: New indices of ischemic heart disease and aging: studies on the serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in patients with hypercholesterolemia and ischemic heart disease. *Atherosclerosis* 131: 43-48, 1997.
64. D'Uscio LV, Moreau P, Shaw S, Takase H, Barton M, Lüscher TF: Effects of chronic ETA-receptor blockade in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension* 29 (part 2): 435-441, 1997.
65. Kannel WB: Hypertension and other risk factors in coronary heart disease. *Am Heart J* 114: 918-925, 1987.
66. Byyny RI: Hypertension in the elderly. Hypertension: Pathophysiology, diagnosis and management. Laragh JH and Brenner BM (eds). *Raven Press* 227-251, 1995.
67. Applegate WB: Hypertension in elderly patients. *Ann Intern Med* 110 (11): 901-915, 1989.
68. Frischman WH: Epidemiology, pathophysiology and management of isolated systolic hypertension in the elderly. *Am J Med* 90 (Supl. 4B): S21-S27, 1991.
69. Vokonas PS, Kannel WB, Cupples LA: Epidemiology and risk of hypertension in the elderly: the Framingham study. *J Hypertens* 6 (Supl. 1): S3-S9, 1988.
70. Ito H, Torii M, Suzuki T: Decreased superoxide dismutase activity and increased superoxide anion production in cardiac hypertrophy of spontaneously hypertensive rats. *Clin And Exper Hypertension* 17 (5): 803-816, 1995.
71. Tschudi MR, Mesaros S, Lüscher TF, Malinski T: Direct *in situ* measurement of nitric oxide in mesenteric resistance arteries. Increased decomposition by superoxide in hypertension. *Hypertension* 27: 32-35, 1996.
72. Nakazono K, Watanabe N, Matsuno K, Sasaki J, Sato T: Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc Natl Acad Sci* 88: 100045-100048, 1991.
73. Fujii K, Tominaga M, Ohmori S, Kobayashi K, Koga T, Takata Y, Fujishima M: Decreased endothelium-dependent hyperpolarization to acetylcholine in smooth muscle of the mesenteric artery of spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 70: 660-669, 1992.
74. Rodrigo E, Maeso R, Muñoz-García R, Navarro-Cid J, Ruilope LM, Cachafeiro V, Lahera V: Endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats: Consequences of chronic treatment with losartan or captopril. *J Hypertens* 15: 613-618, 1997.
75. Atkinson J, Tatchum-Talom R, Corman B: Effect of chronic ANG I-converting enzyme inhibition on aging processes. III. Endothelial function of mesenteric arterial bed of rat. *Am J Physiol* 267: R136-R143, 1994.
76. Gohlke P, Linz W, Schölkens BA, Wiemer G, Unger T: Cardiac and vascular effects of long-term losartan treatment in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 28: 397-402, 1996.
77. Muñoz-García R, Maeso R, Rodrigo E, Navarro J, Ruilope LM, Casal MC y cols.: Acute renal excretory actions of losartan in spontaneously hypertensive rats: role of AT₂ receptors, prostaglandins, kinins and nitric oxide. *J Hipertens* 13: 1779-1784, 1995.
78. Griendling K, Ollerenshaw JD, Minieri CA, Alexander RW: Angiotensin II stimulates NADH and NADPH activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Cir Res* 74: 1141-1148, 1994.
79. Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griendling KK, Harrison D: Angiotensin II mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 97: 1916-1923, 1996.