



Artículo de revisión

Óxido nítrico, estrés nitrosante y función mitocondrial

Alberto M Guzmán Grenfell,* Angélica Velázquez González,** Martha Patricia Sierra Vargas***

- * Investigador en Ciencias Médicas.
Departamento de Bioquímica y Medicina Ambiental, INER.
- ** Departamento de Bioquímica y Medicina Ambiental, INER.
- *** Investigadora en Ciencias Médicas.
Departamento de Bioquímica y Medicina Ambiental, INER.

Abreviaturas:

ADP: Difosfato de adenosina
ERO: Especies reactivas del oxígeno
ERON: Especies reactivas de los óxidos de nitrógeno
GMP: Monofosfato de guanosina
NOS: Óxido nítrico sintasa
UCP: Proteínas desacoplantes

Correspondencia:

Dr. Alberto M Guzmán Grenfell
Departamento de Investigación
en Bioquímica y Medicina Ambiental
Dirección de Investigación
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
Calzada de Tlalpan Núm. 4502
Col. S XVI, 14080
Del. Tlalpan, México, D.F.
E-mail: aguzman@iner.gob.mx

Fecha de recepción: 16-Mayo-2006
Fecha de aceptación: 10-Diciembre-2006

Resumen

El óxido nítrico ($\text{NO}^\bullet$) es un radical libre formado enzimáticamente a partir del aminoácido L-arginina y uno de los factores que controlan el tono vascular. Adicionalmente, el $\text{NO}^\bullet$ ejerce diversos efectos tanto fisiológicos como patológicos. Los efectos fisiológicos del $\text{NO}^\bullet$ se presentan cuando éste es producido en pequeñas cantidades por las óxido nítrico sintasas constitutivas; en contraste, los efectos patológicos se generan cuando el $\text{NO}^\bullet$ se produce en cantidades mayores, generalmente por la óxido nítrico inducible. La producción excesiva de $\text{NO}^\bullet$ induce la formación de diversas especies reactivas de los óxidos de nitrógeno (ERON) y una disfunción mitocondrial, la cual está asociada a diversas patologías, tales como la diabetes mellitus, la isquemia-reperfusión y diversos procesos inflamatorios.

Palabras clave: Óxido nítrico, especies reactivas de los óxidos de nitrógeno, estrés nitrosante, disfunción mitocondrial.

Revista de Endocrinología y Nutrición 2006; 14(4): 227-232.

Abstract

Nitric oxide ($\text{NO}^\bullet$) is a free radical, synthesized from L-arginine, and an important vascular tone regulator. In addition, $\text{NO}^\bullet$ has other physiological and pathological effects. Physiological effects of $\text{NO}^\bullet$ take place when it is produced in minute quantities by constitutive nitric oxide synthases. On the other side, pathological effects are induced when $\text{NO}^\bullet$ is produced in higher quantities by inducible nitric oxide synthase so it achieves high concentrations. Excessive $\text{NO}^\bullet$ production induces reactive nitrogen oxide species formation, and mitochondrial dysfunction, a condition associated to some pathologies such as diabetes mellitus, ischemia-reperfusion and several inflammatory process.

Key words: Nitric oxide, reactive oxide nitrogen species, nitrosative stress, mitochondrial dysfunction.

Revista de Endocrinología y Nutrición 2006; 14(4): 227-232.

INTRODUCCIÓN

El óxido nítrico ($\text{NO}^\bullet$), uno de los factores relajantes del músculo liso vascular, es un monóxido de nitrógeno y radical libre producido a partir del aminoácido L-arginina por un grupo de enzimas conocidas como óxido nítrico sintasas (NOS, por sus siglas en inglés). Existen tres isoenzimas con esta actividad: la neuronal

(nNOS o tipo 1), la inducible (iNOS, o tipo 2) y la endotelial (eNOS, o tipo 3).^{1,2} Adicionalmente a éstas, recientemente se ha descrito la existencia de otra enzima localizada en la mitocondria, por lo cual se le ha denominado la NOS mitocondrial (mitNOS).³ A excepción de la iNOS, todas las óxido nítrico sintasas son constitutivas, es decir, se encuentran presentes en cantidades constantes en los tejidos y sus actividades dependen

fundamentalmente de las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} libre.²

Adicionalmente al efecto vasorrelajante, el óxido nítrico tiene otros efectos diversos, tanto fisiológicos como patológicos, los cuales dependerán de la reacción en que participe, de las moléculas con las que reacciona y del tipo celular en donde actúe. Por otro lado, el tipo de reacciones en las que el $\text{NO}^\bullet$ participa, dependerá de sus concentraciones con respecto al tiempo en un ambiente químico específico, es decir, de sus velocidades de formación y de inactivación en un sitio determinado. Es importante señalar que a diferencia de otras moléculas de señalización, la inactivación del $\text{NO}^\bullet$ depende sólo de su reactividad química (estequiométrica, no enzimática) con otras moléculas; estas reacciones

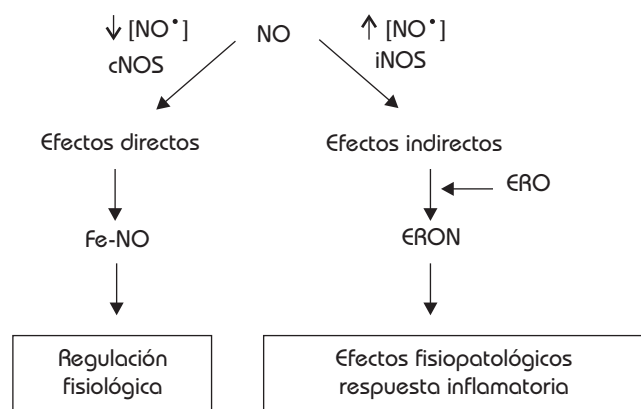


Figura 1. Efectos biológicos del óxido nítrico. Los efectos directos se presentan a bajas concentraciones del óxido nítrico ($\downarrow[\text{NO}^\bullet]$) producidas por las óxido nítrico sintasas constitutivas (cNOS); mientras que los efectos indirectos se manifiestan a concentraciones elevadas del óxido nítrico ($\uparrow[\text{NO}^\bullet]$) debidas a la actividad de la óxido sintasa inducible (iNOS). En estas condiciones, las especies reactivas del oxígeno (ERO) reaccionan con el óxido nítrico para formar las especies reactivas de los óxidos de nitrógeno (ERON).

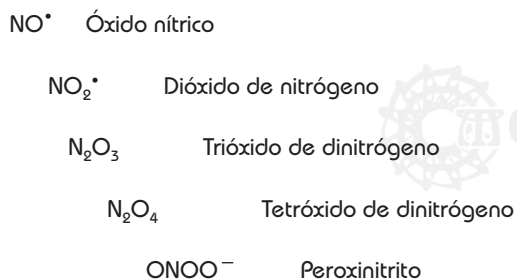


Figura 2. Especies reactivas de los óxidos del nitrógeno (ERON).

son fundamentalmente de oxidación con el oxígeno, pero también con otras biomoléculas. Tomando en cuenta lo anterior, podemos clasificar los efectos biológicos del $\text{NO}^\bullet$ en dos tipos: los efectos directos que son producidos por la reacción del $\text{NO}^\bullet$ directamente con ciertas moléculas blanco, y los efectos indirectos, los cuales se producen por la interacción de compuestos reactivos derivados del $\text{NO}^\bullet$ (comúnmente óxidos de nitrógeno) con otras moléculas (Figura 1). Los efectos directos del $\text{NO}^\bullet$ son producidos fundamentalmente por la reacción del $\text{NO}^\bullet$ con el grupo hemo de diversas proteínas que lo poseen, formando el aducto nitrosil-hierro (Fe-NO). Este tipo de reacciones, conocidas como nitrosilaciones, son generalmente muy rápidas y las responsables de la mayoría de los efectos fisiológicos del $\text{NO}^\bullet$, cuando éste es producido en pequeñas cantidades por las óxido nítrico sintasas constitutivas para generar concentraciones nanomolares de $\text{NO}^\bullet$ por períodos cortos de tiempo. El ejemplo más conocido de este tipo de acción lo constituye la activación de la guanilil ciclasa soluble (una enzima formadora de GMP cíclico); sin embargo, existen otras proteínas capaces de ser modificadas mediante este tipo de reacción. Los efectos indirectos del $\text{NO}^\bullet$ se presentan cuando éste es producido en grandes cantidades (generalmente por la iNOS), alcanzando concentraciones locales del orden de hasta $10 \mu\text{M}$ por períodos prolongados. En estas condiciones, se propicia la formación considerable de otros productos reactivos, tales como las especies reactivas de óxidos de nitrógeno (ERON, RNOS en inglés), los cuales participan en los procesos fisiopatológicos relacionados con la producción excesiva del $\text{NO}^\bullet$ y/o de especies reactivas del oxígeno (ERO)³ (Figura 1).

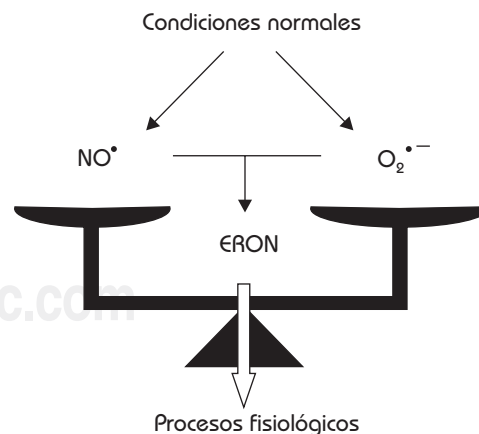


Figura 3. Producción de especies reactivas de los óxidos de nitrógeno (ERON) en condiciones fisiológicas.

ESTRÉS NITROSANTE

Las especies reactivas de los óxidos de nitrógeno (ERON) comprenden, además del óxido nítrico, al dióxido de nitrógeno ($\text{NO}_2^\bullet$), trióxido de dinitrógeno (N_2O_3),

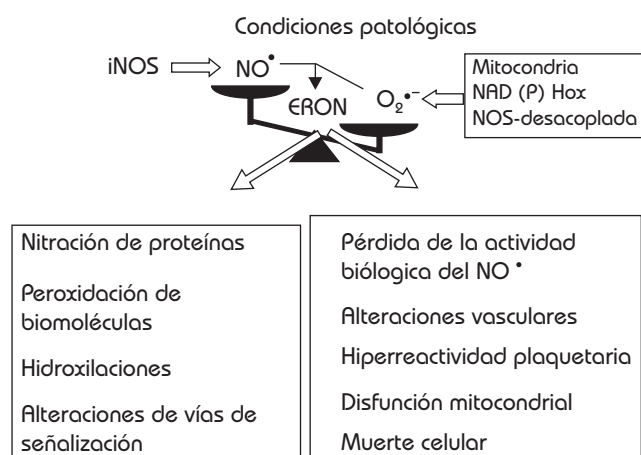


Figura 4. Alteraciones bioquímicas en el estrés nitrosante. La producción exacerbada de ERON conduce a la condición de estrés nitrosante con las concomitantes alteraciones bioquímicas. El estrés nitrosante se induce por la sobreproducción de óxido nítrico ($\text{NO}^\bullet$) y de anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$).

tetróxido de dinitrógeno (N_2O_4) y al peroxinitrito (ONOO^-) (Figura 2). Las ERON son capaces de realizar diversas reacciones, tales como nitrosación, oxidación, hidroxilación y nitración de diversas biomoléculas. Estas modificaciones se realizan durante el metabolismo normal de las células y forman parte de diversos procesos fisiológicos (Figura 3); sin embargo, en ciertas condiciones, la formación de las ERON y/o de ERO puede estar exacerbada, superando a los mecanismos de protección del organismo contra ellas. Bajo estas circunstancias pueden establecerse unas condiciones patológicas conocidas como estrés, las cuales pueden ser de tipo oxidante o nitrosante, dependiendo de las reacciones que predominen (Figura 4).

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL INDUCIDA POR LA HIPERGLUCEMIA

La mitocondria es el orgánulo celular donde no solamente se realiza la respiración celular que permite la síntesis de la mayor parte del ATP necesario para los procesos que requieren energía, sino que también es el sitio donde se llevan al cabo diversas reacciones bioquímicas importantes del metabolismo intermediario celular. Sin embargo, como parte del proceso de la respiración, también se forman especies reactivas del oxígeno, ya que aproxi-

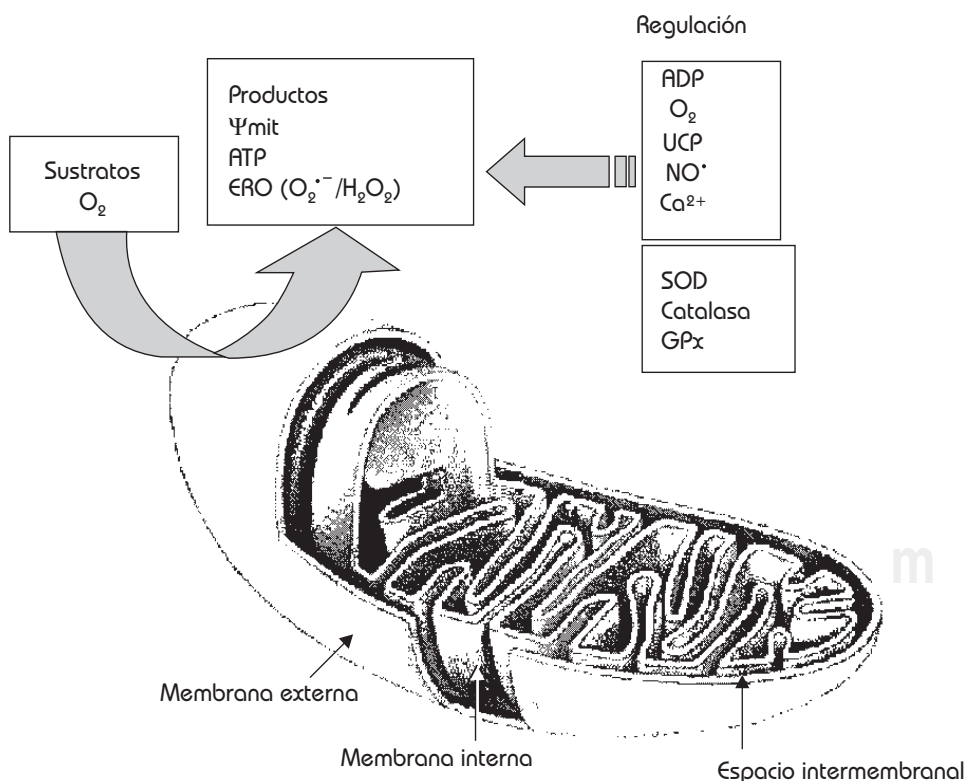


Figura 5. Mecanismos de control de la actividad mitocondrial. La actividad mitocondrial es regulada por las concentraciones de ATP, ADP, fosfato, oxígeno, óxido nítrico y calcio, así como por la actividad de proteínas desacoplantes (UCP). Las especies reactivas del oxígeno son inactivadas por las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GPx).

madamente un 2% del oxígeno utilizado en este proceso “escapa” en forma de anión superóxido. Este radical es susceptible de convertirse en precursor de otras ERO y/o ERON, lo cual sucede a pequeña escala en condiciones normales; pero si existen alteraciones en las funciones

mitocondriales, la formación de ERO y/o ERON puede incrementarse con consecuencias nocivas para la célula. Para prevenir esto, la mitocondria posee diversos mecanismos y sistemas que controlan su actividad y por lo tanto, la formación de ERO y ERON.

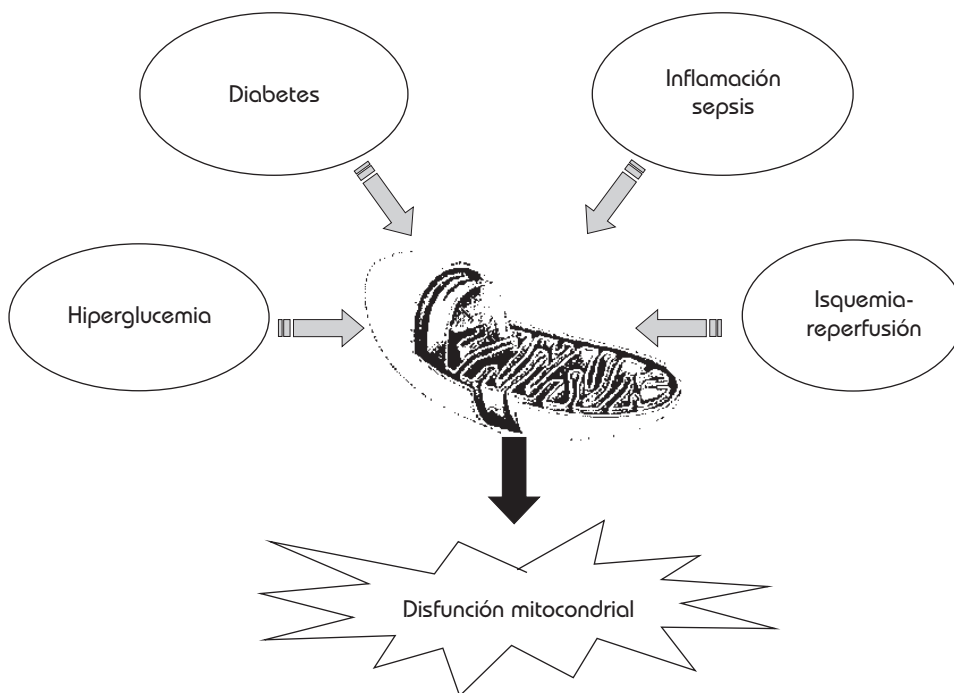


Figura 6. Algunas condiciones patológicas que pueden inducir alteraciones en la función mitocondrial.

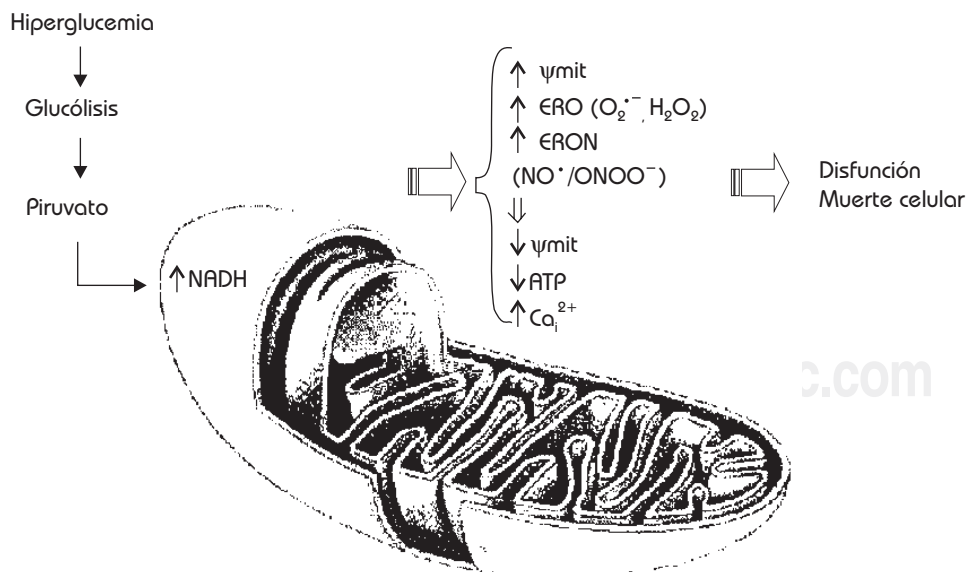


Figura 7. Hiperglucemia y disfunción mitocondrial. Las concentraciones elevadas de glucosa inducen alteraciones mitocondriales, tales como el aumento temporal en el potencial mitocondrial ($\uparrow\psi_{mit}$) y en la formación de ERO y ERON, lo cual produce posteriormente el colapso del potencial ($\downarrow\psi_{mit}$), disminución de la producción de ATP y la elevación del calcio libre citosólico. Estas alteraciones pueden inducir la muerte celular.

La respiración mitocondrial, depende de la actividad de la cadena transportadora de electrones, la cual es regulada por la disponibilidad de oxígeno, ADP, fosfato inorgánico, la magnitud del potencial mitocondrial (Ψ_{mit}), la actividad de un tipo de proteínas conocidas como Proteínas Desacopla-
ntes (UCP, por sus siglas en inglés) y, como recientemente se ha demostrado, por el óxido nítrico (Figura 5).^{4,5}

La actividad mitocondrial puede modificarse por diversos factores, entre los que destacan los estados de hiperglucemia crónicos, la diabetes mellitus,⁶ la isquemia-reperfusión y diversos procesos inflamatorios, dentro de los cuales destaca la sepsis³ (Figura 6). La hiperglucemia provoca un incremento en el flujo glucolítico y por lo tanto el aumento en la concentración de piruvato, el cual, al metabolizarse en la mitocondria, aumenta la concentración de las coenzimas reducidas NADH y FADH₂.^{7,8} En estas condiciones, el potencial mitocondrial (Ψ_{mit}) primero aumenta temporalmente, así como la producción de ERO y ERON , con la concomitante inhibición de la cadena transportadora de electrones y posteriormente el colapso del Ψ_{mit} , lo que finalmente induce la disfunción de este orgánulo y eventualmente la muerte celular, frecuentemente por procesos apoptóticos⁹ (Figura 7).

Durante la isquemia, también se induce el aumento de las coenzimas reducidas, ya que el oxígeno, que es el aceptor final de los electrones, se encuentra disminuido. La reperfusión trae consigo el restablecimiento del oxígeno y una producción incrementada de las ERO y ERON , lo cual induce el daño por estrés oxidante y nitrosante.

En los procesos inflamatorios, la disfunción mitocondrial también se manifiesta de manera importante, especialmente en la sepsis. El mecanismo aceptado responsable de esta condición radica en que el óxido nítrico, el cual es producido en forma exacerbada por la iNOS, inhibe a la cadena transportadora de electrones mitocondrial con las consecuencias antes mencionadas.

Adicionalmente a los mecanismos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos de protección, la mayoría de las células poseen la capacidad de realizar modificaciones en su metabolismo, esto con el propósito de compensar la deficiencia energética producida por la disfunción mitocondrial. Estas modificaciones metabólicas, fundamentalmente consisten en la activación del metabolismo anaeróbico (fundamentalmente por glucólisis) y en una disminución de aquellas vías metabólicas que consumen energía (por ejemplo, las vías biosintéticas). Con este ajuste ahorrativo de energía, las células que tienen esta capacidad, pueden sobrevivir en la condición de disfunción mitocondrial¹⁰ (Figura 8). Recientemente se ha demostrado que en este proceso participa de manera fundamental la enzima conocida como proteína cinasa activada por AMP (AMPK), la cual funciona como un sensor del estado energético celular.¹¹ Por la importancia que este hecho tiene, recientemente ha surgido el interés de estudiar a la AMPK en diversas patologías, así como las posibles implicaciones farmacológicas, ya que medicamentos antidiabéticos como la metformina tienen un efecto activador de este sistema enzimático.¹²

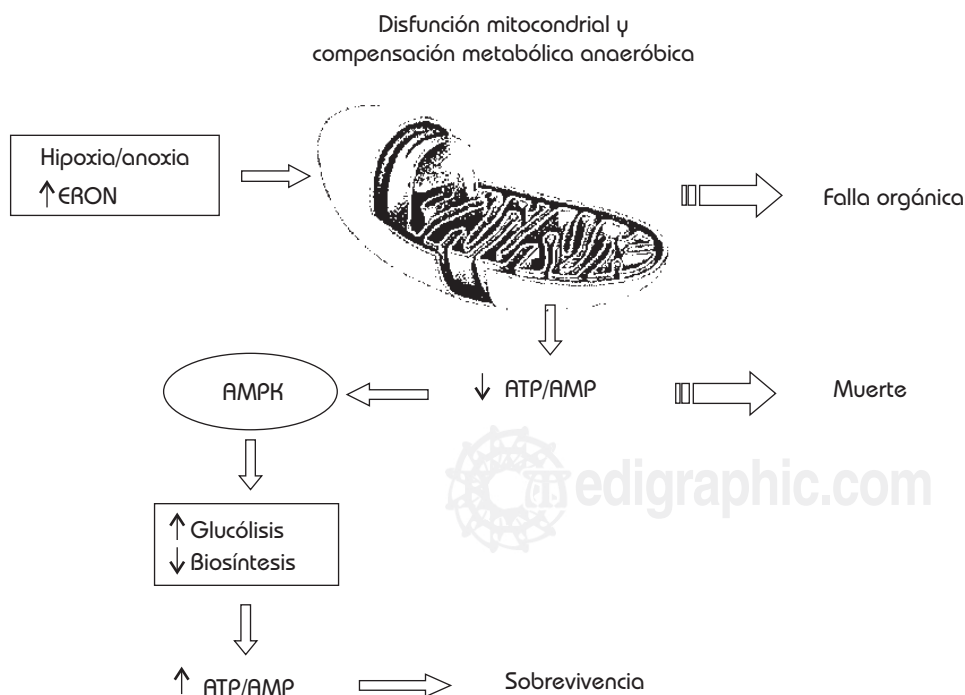


Figura 8. Modificaciones metabólicas asociadas a la disfunción mitocondrial. Ante la condición de falla mitocondrial, muchas células tienen la capacidad de activar su metabolismo anaeróbico (glucólisis) y con ello, compensar su deficiencia energética ($\downarrow \text{ATP/AMP}$) y sobrevivir. Esta respuesta es mediada por la proteína cinasa AMPK, la cual, una vez activada, logra restablecer la deficiencia energética ($\uparrow \text{ATP/AMP}$). Las células que no tienen este mecanismo de protección, comúnmente mueren.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 175-195.
2. Stuehr DJ. Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 339-359.
3. Boveris A, Alvarez S, Navarro A. The role of mitochondrial nitric oxide synthase in inflammation and septic shock. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1186-1193.
4. Duchon AM. Section III: Mitochondria, β -cell function, and type 2 diabetes. Roles of mitochondria in health and disease. *Diabetes* 2004; 53(Suppl. 1): S96-S102.
5. Rousset S, Alves-Guerra M-C, Mozo J, Miroux B, Cassard-Doulcier A-M, Bouillaud F, Ricquier D. The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes* 2004; 53(Suppl. 1): S130-S135.
6. Lowell BB, Shulman IG. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 2005; 307: 384-387.
7. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-819.
8. Díaz-Flores M, Baiza-Gutman LA, Ibáñez-Hernández MA, Pascoe-Lira D, Guzmán-Grenfell AM, Kumate-Rodríguez J. Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gac Méd México* 2004; 140: 437-447.
9. Ortega-Camarillo C, Guzmán-Grenfell AM, García-Macedo R, Rosales-Torres AM, Ávalos-Rodríguez A, Durán-Reyes G, Medina-Navarro R, Cruz M, Díaz-Flores M, Kumate J. Hyperglycemia induces apoptosis and p53 mobilization to mitochondria in RINm5F cells. *Mol Cell Biochem* 2006; 281: 163-171.
10. Almeida A, Moncada S, Bolanos JP. Nitric oxide switches on glycolysis through the AMP protein kinase and 6-phosphofructo-2-kinase pathway. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 45-51.
11. Hardie DG, Hawley SA, Scott JW. AMP-activated protein kinase-development of the energy sensor concept. *J Physiol* 2006; 574: 7-15.
12. Davis BJ, Xie Z, Viollet B, Zou MH. Activation of the AMP-activated kinase by antidiabetes drug metformin stimulates nitric oxide synthesis *in vivo* promoting the association of heat shock protein 90 and endothelial nitric oxide synthase. *Diabetes* 2006; 55: 496-505.