

I. El óxido nítrico en medicina

Francisco Durazo-Quiroz*

Quest Diagnostic, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 17 de mayo de 2007

Aceptado: 27 de julio de 2007

RESUMEN

Considerado por los químicos y ambientalistas como una molécula tóxica hasta el año de 1980, el óxido nítrico (ON) es esencial para una amplia gama de actividades biológicas. Su primera acción terapéutica se remonta a finales del siglo XIX; a principios del siglo XX se advierte una producción endógena de nitratos y que los pacientes con fiebre y diarrea tienen una excesiva excreción de nitratos. A partir de 1980, Robert Furchgott postuló la existencia de un segundo mensajero, responsable de la vasodilatación arterial: el factor relajante derivado del endotelio (EDRF por sus siglas en inglés), que no pudo identificar. Los trabajos que permitieron identificar al EDRF como óxido nítrico fueron llevados a cabo en forma independiente por tres farmacólogos estadounidenses: Louis Ignarro, Robert Furchgott y Ferid Murad, quienes se hicieron acreedores al Premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1998. El óxido nítrico es sintetizado a partir de la oxidación de la L-arginina, por acción de las sintetasas de óxido nítrico. El óxido nítrico migra hacia la célula blanco y activa la guanilato ciclasa soluble, la cual es activada para la síntesis de guanosin monofosfato cíclico (GMPc), que actúa como un segundo mensajero intracelular. Su acción termina cuando la fosfodiesterasa inactiva al GMPc y cesa la acción relajante. El óxido nítrico se difunde a través de las membranas sin requerir de un receptor específico. Sus funciones, inicialmente identificadas en endotelios, neuronas y macrófagos, se han ampliado al demostrarse su participación en múltiples acciones fisiológicas y patológicas.

Palabras clave:

Óxido nítrico, neurotransmisor, hipertensión arterial, shock séptico

SUMMARY

Considered by chemists and environmentalists as a toxic molecule up to 1980, nitric oxide (NO) is essential for a wide range of biological activities. Its first therapeutic action goes back to the late 19th century. In the early 20th century the endogenous production of nitrates was reported, and researchers noticed that patients with fever and diarrhea had excessive nitrate excretion. In 1950, Robert Furchgott described a second messenger, responsible for vasodilation: the endothelium-derived relaxation factor (EDRF), which at the time was unable to identify. The research that led to the identification of EDRF -as NO was undertaken independently by three American pharmacologists: Louis Ignarro, Robert Furchgott and Ferid Murad, awarded the Medicine and Physiology Nobel Prize in 1998. NO is synthesized from the oxidation of L-arginine through the action of nitric oxide synthase (NOS). NO migrates to target cells and activates soluble guanylate cyclase for the synthesis of cyclic GMP, which acts as an intracellular second messenger. Its action ends when cGMP is inactivated by phosphodiesterase and the relaxing action stops. NO spreads through membranes without the need for a specific receptor. Its functions were initially identified in endothelia, neurons and macrophages but have been extended when its role in multiple physiological and pathological actions was proven.

Key words:

Nitric oxide (NO), neurotransmitter, arterial hypertension, septic shock

Introducción

Hace un poco más de dos décadas hubiera sido difícil aceptar por los bioquímicos que una molécula extremadamente simple y muy reactiva, de naturaleza gaseosa, fuera capaz de transportar información específica de una célula a otra y participar como mediadora en importantes funciones metabólicas. Después de varios años de intensa investigación, empezamos a entender cómo dicha molécula funciona en nuestro organismo.

El óxido nítrico (ON), considerado por los químicos y ambientalistas como una molécula tóxica, se ha convertido en

un gran protagonista en áreas de creciente interés para fisiólogos, farmacólogos y neuroquímicos, entre otros.¹ Ahora que conocemos su mecanismo de acción, sabemos por qué la nitroglicerina, una droga que ha sido utilizada por más de una centuria, puede aliviar sintomáticamente a los pacientes con angor pectoris. En todas las áreas de la biología y de la medicina existen aspectos importantes vinculados con las investigaciones de dicha molécula, considerada como el vasodilatador endógeno más importante. El interés por conocer la acción del ON se ha extendido al estudio de las funciones de esta molécula en otros organismos, incluyendo a otros mamíferos, peces, invertebrados, plantas y bacterias.²

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Francisco Durazo-Quiroz, Director académico, Quest Diagnostic, Frontera 4, Col. Roma, 06700 México D.F., México. Tel.: +52 (55) 5525-7720. Correo electrónico: cli_pat_lab@hotmail.com

Su participación en la fisiología vegetal, se inició cuando se descubrió su intervención en la respuesta de las plantas contra el ataque de agentes patógenos, y en general cuando se presentan condiciones ambientales adversas. Desde principios de 1990, las investigaciones en esta área del conocimiento han aportado nueva información.³

Así mismo, se han estudiado las bacterias patógenas que son resistentes al ON; un ejemplo lo constituye *Helicobacter pylori*, que produce la enzima arginasa, que consume a la arginina del huésped, un precursor en la producción de ON, por lo que no habiendo sustrato para la producción de ON, no hay protección de la mucosa gástrica. De esta forma *Helicobacter pylori* evade uno de los mecanismos de defensa del sistema inmune del huésped.⁴

El ON es un radical libre, gaseoso, involucrado en la génesis de múltiples enfermedades, y cuyo descubrimiento demostró que un gas puede actuar como una molécula que envía señales en el sistema nervioso central; como regulador del tono vascular y su participación en la contractilidad cardíaca; como guardián que controla el flujo sanguíneo en diferentes órganos; y como un arma contra las infecciones, por su participación en la inmunidad no específica y en la agregación plaquetaria, principalmente.⁵ Ninguna molécula de señalización biológica conocida hasta entonces era un radical libre, y menos un gas tóxico.

La información sobre su participación en otras áreas del organismo humano es muy amplia, por lo que nos referiremos a su actuación en los sistemas cardiovascular, nervioso e inmunológico, en los cuales se conoció inicialmente su intervención.

Historia

El hombre sin saberlo ha utilizado el ON desde principios de la civilización; los antiguos sumerios curaban las carnes con sales de nitratos, debido a que producen ON, un potente bactericida que les permitía eliminar el *Clostridium botulinum*.⁶

La primera acción terapéutica del ON se remonta a los trabajos de William Murrell del hospital Westminster de Londres en 1879,⁷ quien reconoció el efecto benéfico de la nitroglicerina en el tratamiento del *angor pectoris* al atribuirle un efecto vasodilatador coronario. Aunque en aquel tiempo se desconocía su mecanismo de acción, se pensaba ya que de alguna forma relajaba los músculos lisos que rodean los vasos sanguíneos, permitiendo un mayor flujo de sangre al corazón. Pasaron más de cien años para que simultáneamente en varios laboratorios se iniciara una apasionante serie de experimentos.

La historia del descubrimiento del ON como una molécula importante en la fisiología del organismo humano es relativamente nueva, comenzó a principios del siglo XX. En 1916 las primeras investigaciones establecen que en el organismo humano existe una producción endógena de nitratos, entonces atribuida a microorganismos intestinales.⁸

A partir de 1980, Robert Furchgott, de la Universidad del estado de Nueva York, pudo demostrar en aorta de conejo, que las células del endotelio vascular respondían con vaso-

dilatación al estímulo con acetilcolina, a través de la producción de un segundo mensajero al que llamó factor de relajación derivado del endotelio (EDRF, por sus siglas en inglés), responsable de la relajación de las células musculares que rodean los vasos sanguíneos; no pudo aislar ni identificar dicho factor.⁹ El trabajo de Furchgott fue determinante para que se incrementaran las investigaciones en todo el mundo tendientes a determinar la identidad del EDRF. Sin embargo, hicieron falta varios años de intensa investigación para descubrir que el EDRF y el ON eran una misma sustancia.

A finales de la década de los setenta, los investigadores consiguieron develar el misterio de la nitroglicerina al darse cuenta de que ésta sufría una serie de reacciones en el organismo para formar una molécula mensajera denominada óxido nítrico (ON).

Ferid Murad, de la Universidad de Texas, demostró en 1977 que el ON activaba la guanilato ciclasa (GC) y relajaba los músculos lisos vasculares. Posteriormente, junto con otros investigadores, descubrió que la relajación de los vasos sanguíneos está asociada con el aumento del guanilo-*monofosfato* cíclico (GMPc).¹⁰

En 1979, Louis Ignarro, de la Universidad de California LA, descubrió que al aplicar ON a una arteria aislada se desencadenaba una reacción de relajación. Posteriormente, en 1981 encontró que el ON evitaba que las plaquetas se agregaran para formar un coágulo.¹¹

Los experimentos decisivos que permitieron identificar al EDRF como ON fueron llevados a cabo en forma independiente por Louis Ignarro, Robert Furchgott, Ferid Murad y Salvador Moncada.¹²⁻¹⁴ Los cuatro investigadores demostraron que el ON es un transmisor de señales en el organismo humano, que lo utiliza para dilatar los vasos sanguíneos, y que la nitroglicerina actúa liberando ON.

En 1985, Steven Tannenbaum y su grupo, del MIT, demostraron que los niveles de nitrato en la orina de humanos aumentaban en forma importante cuando existía una infección,¹⁵ y que se sintetizaban fuera del intestino. Posteriormente, en 1985, Michel Marletta y John Hibbs de la Universidad de Utah mostraron que los macrófagos producían ON, el cual actuaba sobre cualquier bacteria invasora.¹⁶ Salvador Moncada, de los Laboratorios Wellcome Research, demostró que los vasos sanguíneos producían ON a partir del aminoácido L-arginina.¹⁴ En el mismo año, John Garth Waite, de la Universidad de Liverpool, descubrió que una molécula mensajera del cerebro llamada glutamato provocaba que los nervios liberaran ON.¹⁷ Para entonces era imperativo aislar la enzima que convertía a la L-arginina en ON. David Breath y Salomón Snyder, de la Universidad de Johns Hopkins, en 1990 fueron los primeros en extraer una muestra pura de ON (NOS) producida en el cerebro; al año siguiente clonaron el gen que expresaba dicha enzima.¹⁸

En 1998 se concede el premio Nobel de medicina y fisiología a los tres farmacólogos norteamericanos: Robert Furchgott, Louis Ignarro y Ferid Murad.¹⁹ La comunidad científica mostró consternación por la exclusión de Salvador Moncada.

Dicha serie de investigaciones fue recibida con sorpresa en el área biomédica, ya que era difícil aceptar que un gas

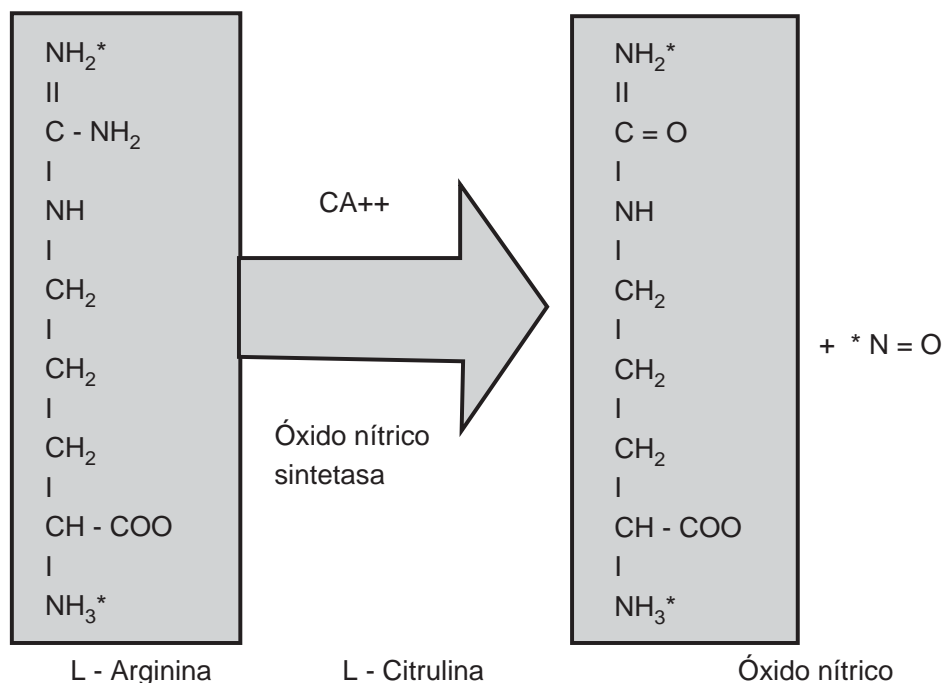


Figura 1. Síntesis del óxido nítrico a partir de L-arginina.

tóxico tuviera funciones regulatorias tan importantes, máxime que en mamíferos no se conocía ninguna vía bioquímica que resultara en la producción de ON. El descubrimiento creó gran interés en el mundo científico y motivó la publicación de numerosos artículos sobre la participación del ON en diferentes procesos biológicos.²⁰⁻²²

Síntesis biológica

El ON es un gas que se forma en el organismo humano en los tejidos que contienen la enzima sintasa de ON (NOS), una enzima oxidativa que se encuentra distribuida en todo el organismo y que actúa sobre el aminoácido L-arginina para

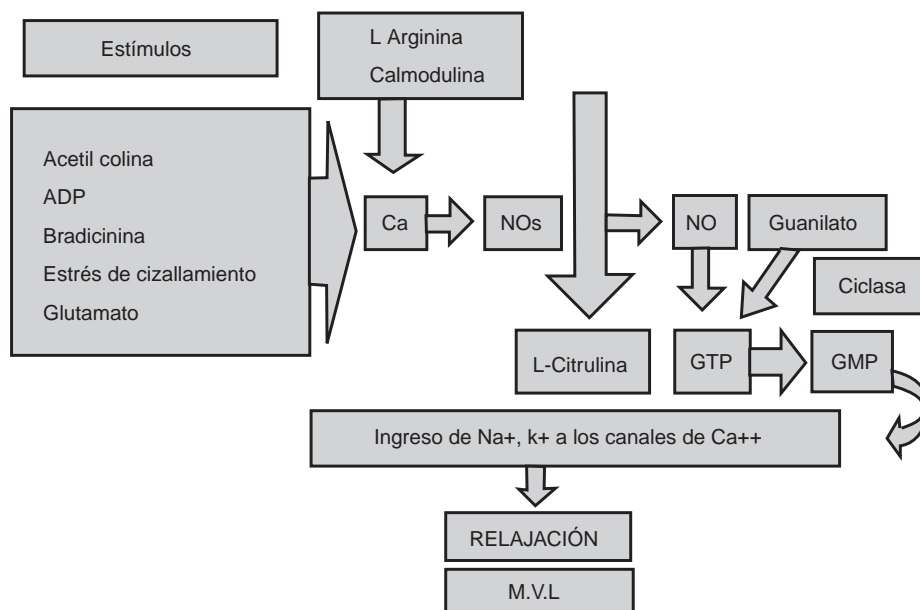


Figura 2. Liberación constitutiva del óxido nítrico.

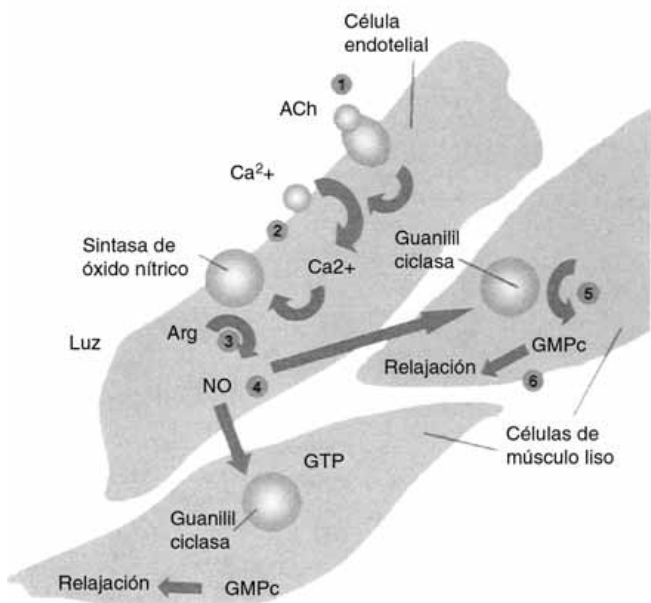


Figura 3. Acción del GMPc sobre el músculo liso.

formar citrulina y ON estequiométricamente en proporción de 1:1²³ (Figura 1).

Hasta la actualidad, de dicha enzima se han identificado dos isoformas: una constitutiva (cNOS) y la otra inducible (iNOS); de la cNOS a la vez se identifican dos isoformas: una endotelial (eNOS), que se encuentra principalmente en las células endoteliales de la pared de los vasos sanguíneos, y la otra ha sido denominada neuronal (nNOS) por encontrarse preferentemente en el sistema nervioso central (cerebelo, hipotálamo, cerebro medio e hipocampo), médula y sistema nervioso periférico. Ambas isoformas son totalmente dependientes de iones de calcio (Ca⁺⁺), el cual se une a la calmodulina y el compuesto así formado es su activador.

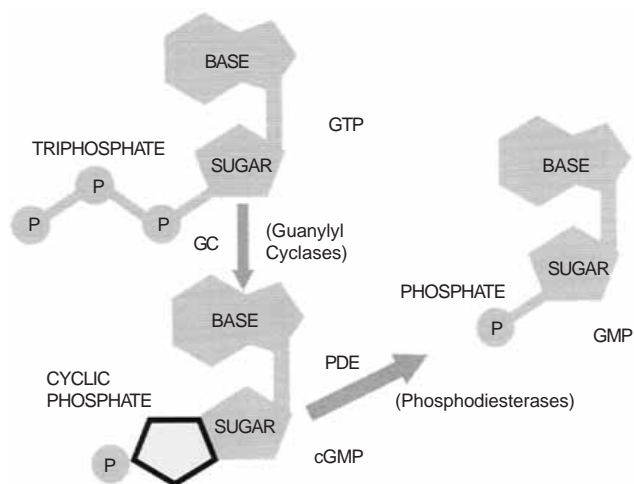


Figura 4. Formación e inhibición del GMPc.

Dichas isoformas constitutivas utilizan nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (NADPH) y oxígeno molecular como sustratos; y dinucleótido de flavinadenina (FAD), mononucleótido de flavina (FMN) y tetrahydro-biopterina (H4B), como cofactores; aunque tienen propiedades similares, muestran diferente localización en las células que las contienen, siendo citosólica para la isoforma neuronal y asociada a la membrana para la forma endotelial.²⁴⁻²⁶ Ambas tienden a tener efectos inmediatos y benéficos.

La isoforma inducible (iNOS), aislada por primera vez en el citosol de los macrófagos y posteriormente en hepatocitos, neutrófilos, músculo liso, células plasmáticas, linfocitos y células endoteliales, no se expresa en las células en reposo, únicamente cuando son activadas por endotoxinas y citocinas proinflamatorias (IFN y TNF) a nivel transcripcional, con producción de grandes concentraciones de ON, que actúa como radical libre y ejerce una acción citotóxica y citostática sobre organismos patógenos y células tumorales.²⁷ Dicha isoforma requiere para su actividad de NADPH, FAD, FMN y en cierta medida de H4B, no así del complejo calcio-calmodulina.

Se ha demostrado que las dos isoformas constitutivas pueden ser inducidas por la gestación; y la isoforma endotelial, por el ejercicio crónico.²⁰

Las localizaciones cromosómicas de los genes de las diferentes isoformas de la NOS han sido determinadas por técnica de Southern Blot; se encuentran dispersas en tres cromosomas: el gen de la nNOS está localizado en el cromosoma 12; el de la eNOS, en el cromosoma 7; y el de la iNOS, en el cromosoma 17.^{28,29}

El ON liberado por las células que contienen alguna isoforma de la NOS, en respuesta a diferentes estímulos, migra hacia las células blanco y activa la forma citosólica de la enzima guanilato ciclasa soluble (GCs), una hemoproteína que es su receptor biológico. Dicha enzima cataliza la síntesis intracelular de GMPc, a partir del guanosin trifosfato (GTP), el que actúa como un segundo mensajero intracelular a través de la proteincinasa (PKG). Esta proteína condiciona la aper-

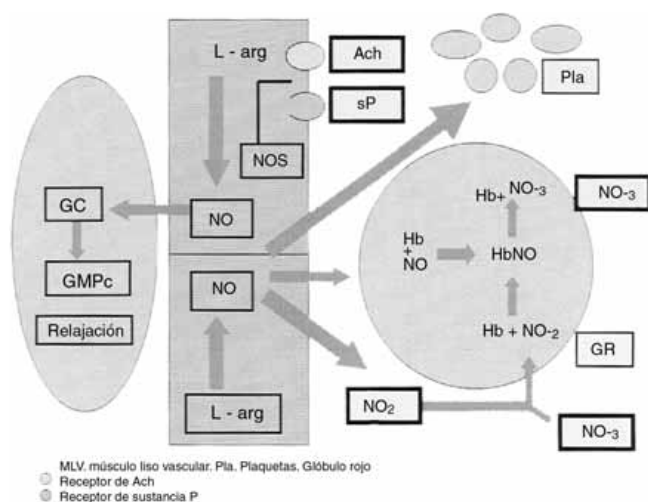


Figura 5. El óxido nítrico se combina con hemoglobina y oxígeno para formar metahemoglobina, nitrito y nitrato.

tura de los canales de potasio y actúa como un potente relajante del músculo liso de arteriolas y arterias, por estimulación de la homeostasis del calcio y disminución del contenido intracelular del mismo³⁰ (Figuras 2 y 3). Su acción cesa cuando la enzima fosfodiesterasa contenida en las células musculares lisas inactiva al GMPc, para producir el cierre de los canales de sodio y agotar la acción relajante (Figura 4).

La vida media del ON es muy breve (unos segundos) y a medida que se difunde se combina con rapidez con otros radicales libres y diferentes grupos afines, como la oxihemoglobina.³¹ Una vez liberado se descompone para producir dos metabolitos estables: los radicales nitrito (NO₂) y nitrato (NO₃), que son los productos finales; la suma de ambos constituye un buen índice de la producción total de ON³² (Figura 5).

La reacción catalizada por la NOS, puede ser inhibida por derivados estructurales de la arginina: N-monometil L-arginina (NMMA); N-nitro L-arginina metil-éster (NAME), y algunas otras sustancias.³³

La síntesis de ON puede ser regulada por glucocorticoides y agentes antiinflamatorios no esteroideos, así como por el mismo ON a través de retroalimentación negativa.³⁴

Indudablemente la obtención de medicamentos que puedan actuar en forma selectiva sobre una de las versiones de la NOS representa un futuro promisorio para la solución de múltiples problemas patológicos.

Referencias

1. **Adams R.** New frontiers in medicine the discovery of endogenous nitric oxide. PROC 12th ACVZM; 1994, pp 750-751.
2. **Vinent SR, Kimura H.** Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. Neuroscience 1992;755-784.
3. **Durner J, Klessing DF.** Nitric oxide as a signal in plants. Current Opin Plant Biol 1999;2:369-374.
4. **Belingni MV, Lamattina L.** Nitric oxide in plants, the history is just beginning. Plant Cell Environ 2001;3:267-278.
5. **Gorocica P, Chávez R, y col.** Óxido nítrico, una molécula multifuncional. México: Rev Inst Nal Enf Resp 1999;12(4):300-304.
6. **Ciencia y Cultura No. 53 Vol. 11. Marzo-Mayo 2004:11-18.**
7. **Fernández AA, Abundara V, Morales FR.** El óxido nítrico como neurotransmisor y neuromodulador. Act Fisiol 1999;5,39,77.
8. **Green-Ruiz de Luzuriaga K, Wagner DA, et al.** Nitrate biosynthesis in mano. Proc Natl Acad Sci USA 1981:78.
9. **Furchgott R, Zawad Ki J.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 1980:288-373.
10. **Murad F, Ishii K, Forstermann U, Gourky L, Kervin JF, Pollok J, et al.** is a intracelular second messenger and antacid to regulate cyclic GMP synthesis in many cells. Phosphoprotein Res 1990;24:441-448.
11. **Ignarro LJ.** Endothelium derived nitric oxide action and properties. FASEB 1989;3-31.
12. **Ignarro LJ.** Biosintesis and metabolism of endothelium derived nitric oxide. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1990;30:535-560.
13. **Furchgott R.** Studies on endothelium dependent vasodilatation and the endothelium derived relaxing factor. Acta Physiol Scand 1990;139:257-270.
14. **Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA.** Biosintesis of nitric oxide from L-arginine a pathway for the regulation of cell function and communication. Biochem Pharmacol 1989;38:1709-1715.
15. http://www.7.nationalacademies.org/spanishbeyonddiscovery/bio_007922-08.html.
16. **J Inf Disc 1997;175:123-129.**
17. **Garthwaite J.** Nitric oxide signaling in the nervous system. Neuroscience 1993;5:171-180.
18. http://www.7.nationalacademies.org/spanishbeyonddiscovery/bio_007922-03html
19. http://db.doyma.es/agi_bin/wdbcgi_exe/doyma/press.plantilla?ident=5275
20. **Knowles R, Moncada S.** Nitric oxide synthesis in mammals. Biochem J 1994;298:249-258.
21. **Ficrobe L, Brunet F, Dhainaut J, et al.** Effect of inhaled nitric oxide on right ventricular function in adult respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med 1995;152:619-624.
22. **Bone R.** Sepsis and its complications; the clinical problem. Crit Care Med 1994;22(7);200-202.
23. **Moncada S, Higgs A.** The L-arginine nitric oxide pathway. N Engl J Med 1993;329,2002-2012.
24. **Moncada S, Higgs A, Furchgott R.** International Union of Pharmacology nomenclature in nitric oxide research. Pharmacol Rev 1997;49:137-142.
25. **Dinerman JL, Dawson TM, Schell MJ, Snowman R, Snyder SH.** Endothelial nitric oxide synthase localized to hippocampal pyramidal cells; implications for synaptic plasticity. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:4214-4218.
26. **Stuehr DJ, Griffith OW.** Mammalian nitric oxide synthases. Adv Enzymol Relat Arcas Mol Biol 1992;65:287-346.
27. **Nathan CF, Hibbs JB.** Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. Curr Opin Immunol 1991;3:65-70.
28. **Bloch KD, Wolfram JR, Brown DM, Roberts JD, Zapol DG, Lepore JJ, et al.** Three members of the nitric oxide synthase II gene family (NOS2a, NOS2b y NOS2e) colocalize to human chromosome 17. Genomics 1995;27:526-530.
29. **Wang Y, Marsden PA.** Nitric oxide synthases gene structure and regulation Adv Pharmacol 1995;34:71-79.
30. **Arnold WP, Mitta LCK, Katsuki S, Murad F.** Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3' 5' cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. Proc Natl Acad Sci 1997;74:3203-3207.
31. **Melis MR, Argiolas A.** Role of central nitric oxide in the control of penile erection and yawning. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 1997;21: 899-922.
32. **Ganong WF.** Fisiología médica. 14a. ed. Universidad de California San Francisco. México: El Manual Moderno; 1992.
33. **Hollenber S.** Inhibition of oxide nitric synthesis in sepsis: A promising strategy. Crit Care Med 1998;26:638-639.
34. **Garthwaite J.** Nitric oxide signaling in the nervous system. Sem Neurosci 1993;5:171-80.11.