

## CONFERENCIA

### OXIDO NITRICO: DE LA FISIOLOGIA A LA TERAPEUTICA

JUAN JOSE PODEROSO

*5ª Cátedra de Medicina Interna y del Laboratorio de Metabolismo del Oxígeno.  
Hospital de Clínicas José de San Martín. UBA. Buenos Aires. Argentina*

En 1989, dos grupos de investigación independientes liderados por Ignarro y Moncada identificaron al factor de relajación endotelial o EDRF como óxido nítrico (NO). Una década después, Ignarro, Murad y Furchsgott recibieron el Premio Nobel de Medicina por estas investigaciones. El NO es un radical libre del nitrógeno con un electrón no apareado en su orbital externo producido por un grupo de enzimas conocidas como óxido nítrico sintetas o NOS. En las arterias, la vasodilatación consecutiva a mediadores endógenos como acetil colina y bradiquinina depende de la liberación endotelial de NO; la remoción del endotelio determina la ausencia del efecto vasodilatador. Asimismo, los nitritos y nitratos y la nitroglicerina, son compuestos que, metabolizados por las estructuras vasculares, finalmente liberan NO y así ejercen su actividad vasodilatadora. En otros tejidos el NO ejerce funciones diversas como regulador de la sinapsis, modulador de la respuesta hipofisaria, antiagregante plaquetario, modulador de la filtración glomerular, inductor de la erección peneana e integrante de la respuesta inmune así como en la fisiología del dolor y en la osteogénesis. Estas actividades son sustentadas por diferentes isoformas de la NOS; el tipo I o neuronal, el tipo II o macrófagica y el tipo III o endotelial. Estas denominaciones se refieren al tejido en el que fueron inicialmente halladas aunque hoy se sabe que isoformas I y III pueden coexistir en el músculo esquelético y el miocárdico con diferente localización y función. En todos los casos, el NO es sintetizado en la conversión de L-arginina a L-citrulina; las enzimas son hemoproteínas y requieren cofactores como NADPH, FAD, FMN, tetrahidrobiopterina y calmodulina. Las NOS I y II son activables por  $Ca^{2+}$  y la NOS II es independiente del catión. Asimismo, las primeras son en general constitutivas y ligadas a membranas por proteínas específicas (PDZ, caveolina) y la última es inducible por lipopolisacárido, citoquinas como TNF $\alpha$ , IL-1 e IL-6 e interferón  $\gamma$  en el proceso inflamatorio. La inducción de NOS II se realiza a través de la activación de su región promotora por factores de transcripción como NF $\kappa$ B y AP-1. El gen de la NOS es uno de los

más complejos que se conocen y encierra según las especies 20-22 exones y otros tantos intrones y existen diferentes formas de expresión proteica a través de *splicing* alternativo. Uno de los hallazgos recientes fue la descripción de una forma o variante de NOS localizada en la mitocondria y realizada por nuestro grupo en el Hospital de Clínicas en colaboración con la Universidad de Southern California. Esta isoforma o variante (mtNOS) se halla en el cerebro, hígado, músculo esquelético y tiroides de rata y ratón y reúne características de las otras isoformas porque es constitutiva, es reconocida por anticuerpos antiNOS I (cerebro) y antiNOS II (hígado) y es dependiente de  $Ca^{2+}$  pero también es modulada en el crecimiento y resulta inducible por endotoxina. La mtNOS tiene distinto peso molecular y propiedades cinéticas que las formas clásicas y hallazgos preliminares sugieren que puede ser producto de *splicing* alternativo aunque puede hallarse en ratones knock-out para NOS II y III. Los mecanismos fisiológicos que justifican la acción del NO son diferentes en cada caso. En el endotelio, el NO actúa activando la guanilil-ciclasa del músculo vascular adyacente lo que lleva a desplazar el  $Ca^{2+}$  hacia el retículo endoplásmico promoviendo la relajación vascular. En el cerebro, el NO es liberado por las terminales glutamatérgicas postsinápticas y recaptado por el pie presináptico, facilita la liberación de glutamato y la sinapsis. El mismo efecto sobre la guanilil ciclasa inhibe la agregación plaquetaria. La liberación de NO por neutrófilos y macrófagos contribuye a la actividad bactericida y fagocítica de estas células. En los últimos tiempos, hemos observado que el NO puede inhibir selectivamente el consumo de oxígeno mitocondrial en forma reversible. La acción del NO se debe a la unión al hemo de la citocromo oxidasa: el NO tiene gran afinidad por los grupos hemo como el de las peroxidasa, citocromo oxidasa, guanilil ciclasa, mioglobina y hemoglobina. La reversibilidad de las reacciones del NO con la citocromo oxidasa se debe a la producción de anión superóxido ( $O_2^-$ ) estimulada por el mismo NO en la mitocondria que reacciona con este formando peroxinitrito ( $NO + O_2^- \rightarrow$

ONOO<sup>-</sup>), un poderoso oxidante que daña proteínas, lípidos y ADN. En la fisiología, pulsos de NO producidos por el endotelio o la sinapsis tras la entrada de Ca<sup>2+</sup>, son removidos por el O<sub>2</sub>; formando pequeñas cantidades de peroxinitrito. La disminución del consumo de O<sub>2</sub> mitocondrial puede ser útil para distribuir mejor el menor O<sub>2</sub> disponible tras la isquemia coronaria, una situación además acompañada de liberación de NO endotelial y que determina vasodilatación y antiagregación plaquetaria. En condiciones de inflamación como en la sepsis, el NO producido es mayor y, en esta circunstancia, se formará mucho más peroxinitrito y se dañaran las estructuras celulares, incluyendo las mitocondrias. Este hecho puede ser la base de la falla multiorgánica observada en la sepsis grave. El exceso de NO contribuye a la vasodilatación del shock séptico y a la vasodilatación terminal del shock hemorrágico. En otras enfermedades neurológicas como la enfermedad de Parkinson, hay evidencias de un aumento de la formación de NO y peroxinitrito que pueden dañar la *pars compacta* de la

sustancia nigra. La formación de peroxinitrito a través de un aumento de la concentración en el estado estacionario de NO aumenta la producción mitocondrial de especies activas de oxígeno. Las especies involucradas pueden oxidar y dañar las bases nucleotídicas del ADN nuclear y mitocondrial e intervenir en procesos de proliferación, oncogénesis y apoptosis. Los efectos regulatorios y tóxicos del NO y el peroxinitrito se han aprovechado para diseñar terapéuticas modernas para distintas afecciones. El extraordinario éxito del NO en aumentar el flujo peneano y disminuir la presión pulmonar en infantes con cardiopatías congénitas ya forma parte del arsenal terapéutico corriente. Nuevas experiencias para transfectar NOS II y III en pacientes con cardiopatía coronaria parecen promisorias. La utilización de inhibidores selectivos de NOS II puede disminuir la morbilidad del shock séptico. La utilización de inhibidores selectivos de NOS I contribuirá seguramente en un futuro no lejano al tratamiento y/o prevención de las enfermedades neurodegenerativas.