

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
"Dr. JOSÉ ASSEF YARA"
CIEGO DE ÁVILA

**Biología molecular y funcional del Óxido Nítrico.
Molecular and functional Biology of the nitric oxide.**

Neyma Bruce Diago(1), Michel Coello Dávila (2), Maylín Moro (3), Juan R. Buchillón Hernández (4).

RESUMEN

La intervención del monóxido del nitrógeno comúnmente llamado óxido nítrico en numerosas funciones del organismo, hacen que el conocimiento de este tema obtenga una importancia para el estudio y comprensión del metabolismo. Se abordan las características fisicoquímicas, las síntesis y sus funciones. Se exponen además eventos relacionados con el daño celular a través de las especies reactivas del oxígeno que origina.

Palabras clave: PARACRINAS, RADICALES LIBRES, ISOENZIMA, CALMODULINA DEPENDIENTE, GLUTATIOADENILACIÓN.

1. Especialista de 1er grado en Bioquímica Clínica. Profesora Asistente.
2. Especialista de 1er grado en Bioquímica Clínica. Profesor Instructor.
3. Residente de 3er Año de Bioquímica Clínica.
4. Especialista de 2do grado en Fisiología Clínica. Profesor Asistente

INTRODUCCIÓN

El monóxido de nitrógeno u óxido nítrico (ON) es una pequeña molécula, de acción breve que se produce por diferentes células del organismo.

En 1980 Furchgott observó que la vasodilatación inducida por la Acetil colina requería de un endotelio intacto.

En respuesta a estos agentes vasodilatadores la célula endotelial produce un factor que distiende o relaja el músculo liso de la pared vascular.

Moncada y colaboradores compararon las propiedades farmacológicas del factor de relajación derivados del endotelio (EDRF) y el ON y concluyeron que sus propiedades físicas y biológicas son las mismas confirmando que el EDRF se libera en forma de ON.

En nuestros días se ha profundizado en el estudio de los eventos moleculares donde intervienen este mediador químico.

Esta revisión bibliográfica tiene como objetivo profundizar en el metabolismo y las funciones del ON.

DESARROLLO

Características Fisicoquímicas del NO

El oxido nítrico es una pequeña molécula de 30 Da difusible en líquidos y tejidos corporales con una vida media muy corta de aproximadamente 5 segundo, por esta causa sus funciones son paracrinias.

Se comporta como un gas a presión y temperatura normal .

Es considerado como un radical libre por los derivados que origina.

Metabolismo del óxido nítrico

Se sintetiza en el endotelio vascular, mácula densa, neuronas, plaquetas, médula suprarrenal, macrófagos y células meseniales, donde se almacena en el citoplasma.

Su síntesis ocurre desde el nitrógeno terminal de la L-Arginina, obteniéndose como productos de esta reacción la citrulina y ON, durante esta reacción se oxidan 5 electrones. La reacción es catalizada por

una óxido reductasa, la enzima Óxido Nítrico sintetasa (NOS) que utiliza como cofactor al FAD, FMN, TH₄ e Intervienen en la reacción el citocromo P₄₅₀ con un hierro hemínico.

El proceso de síntesis es regulado por la proteína quinasa A, C y GMP_c dependiente.

Existen mediadores químicos como la Acetil colina y la Adrenalina que activan a la enzima, mientras que su inhibición se puede producir a través de análogos de la L- Arginina como la N^g-metil- L- Arginina, N^g-nitro L- Arginina y N^g-

Existen tres formas isoenzimáticas de la NOS, de acuerdo a su origen y sus características bioquímicas.

Estas isoenzimas son codificadas por tres genes diferentes.

La NOS puede inhibirse también a través de sustancias que eliminan o contrarrestan a la calmodulina, flavoproteínas, TH₄ o el grupo HEMO. Actualmente se busca una inhibición selectiva y se conoce que para la NOS neuronal existe el 7-nitroindazol y para la iNOS aminoguanidina, L- N₆ lisina y derivados de la isotiourea.

Regulación de las isoformas de la NOS

En las células endoteliales y en las neuronas el incremento del calcio intercelular es el estímulo para incrementar la producción del ON, con la diferencia que en las neuronas va precedido de la llegada de un potencial de acción, el calcio se une a la proteína calmodulina formando un complejo que se une a su vez a las enzimas c NOS que sintetiza ON, este difunde libremente por las membranas llegando a las células vecinas y uniéndose al hierro del centro activo de la Guanilciclase, aumentando su actividad 50 veces, transformándose el GTP en GMP_c segundo mensajero que participa en diferentes procesos fisiológicos.

La acción del ON dura de 5 a 10 segundos y después se oxida a nitrito o nitratos.

Existen otros mecanismos independientes del calcio que regulan la acción de la eNOS, como los estrógenos y el estrés. Mientras la lesión nerviosa puede modular la actividad de la n NOS.

Por otra parte la i NOS en condiciones fisiológicas sus concentraciones son bajas o ausentes. Existen factores como el liposacárido bacteriano, I I -1, IFN gamma, TNF- alfa, factor de crecimiento plaquetario y fibroblástico, agentes estimuladores de la proteína quinasa C y A, que incrementa su actividad generando grandes cantidades de ON de forma mantenida. La actividad es inhibida por I I₄ y δ entre otros .

El ON como radical libre

El ON es considerado funcionalmente como un radical libre por los derivados que surgen en su metabolismo, estos presentan un comportamiento muy tóxico lesionando diferentes epitelios.

Dentro de los derivados del ON tenemos:

- § Dióxido de nitrógeno (NO₂)
- § Trióxido de dinitrógeno (N₂O₃)
- § Tetraóxido de dinitrógeno (N₂O₄)
- § Peroxinitritos (ONOO⁻)

El exceso de ON compete por el sitio de fijación del oxígeno a nivel de oxidasa terminal de la cadena respiratoria. Esta inhibición conduce a una depleción del pool de ATP y altera la homeostasia del calcio. Secundarios al aumento de NO ocurre un incremento en la producción de ONOO⁻ que contribuye también a la disminución de la formación de ATP al inactivar las enzimas con grupos sulfidrilos como la gliceraldehído P dehidrogenasa de la glucólisis y a proteínas con centros FeS como la aconitasa del ciclo de Krebs, inhibiendo la respuesta celular . La repercusión que trae a nivel celular la inhibición del transporte electrónico está determinada por la no reducción completa del oxígeno, lo que conlleva a la formación de productos muy reactivos que son capaces de destruir grupos funcionales presentes en la biomoléculas.

Recientemente investigadores utilizando como modelo al dominio de unión al DNA del factor de transcripción C Jun han observado que el ON induce la Glutatioadenilación selectiva de cisteína , confiriéndole sensibilidad redox.

Esta modificación se correlaciona con la inhibición de la unión al DNA, considerando que la Glutatioadenilación puede ser el mecanismo bioquímico por el que las especies reactivas del nitrógeno

y el oxígeno acopla la señales generadas por el estrés oxidativo a la activación o inactivación de rutas específicas de la transcripción

Biología Funcional del Óxido Nítrico.

Desde el punto de vista tisular, la mayoría de las células del organismo son capaces de producir óxido nítrico teniendo esta multiplicidad de utilización :

- A nivel vascular

§ Regula la circulación sanguínea

§ Controla la tensión arterial

§ Inhibe la agregación plaquetaria y la adhesión de los neutrófilos

- En el sistema nervioso central

§ Participa en la coordinación entre la actividad neuronal y el débito sanguíneo.

§ Modula el dolor

- En el sistema nervioso periférico

§ Neurotransmisor sináptico no adrenérgico, no colinérgico.

- En las mucosas

§ Incrementa la vascularización y producción de moco .

- En el pulmón

§ Regula la circulación pulmonar

§ Acción broncodilatadora.

De todas estas funciones las mejores definidas son: La regulación: del tono vascular, la neurotransmisión y la participación en la inmunidad no específica.

Regulación de la actividad neuronal

La actividad del ON se ha encontrado en las

neuronas del plexo mesentérico Auerbach, en las ganglionares que inervan las células cromafines de la médula suprarrenal , en el 2 % de la corteza y en los núcleos hipotalámicos supraópticos y para ventricular.

Donde el ON es considerado como un neurotransmisor diferente porque se sintetiza en milisegundos y no se almacena en las vesículas sinápticas por su acción paracrina activando diferentes enzimas.

En algunas sinápsis el ácido glutámico liberado por las vesículas actúa sobre un tipo especial de receptor postsináptico, se abren los canales del calcio y se produce la entrada de este a las neuronas, activando a través de la calmodulina a la NOS constitutiva que aumenta la síntesis de ON.

Efecto del ON en el sistema Inmunitario

En el sistema inmunológico el ON participa de diversas formas con efectos tan diversos como agentes tóxicos frente a organismos infecciosos e inductor o supresor de la apoptosis e inmunoregulador.

Las células inmunes expresan actividad i NOS, Incluyendo monocitos, macrófagos, células presentadoras de antígenos y las células NK.

Debido a las características del sistema inmune

que tiene una capacidad de reacción prolongada de días o semanas la producción de ON se realiza de forma intensa y continuada y es la isoforma i NOS la que entra en actividad en esta situación.

Van der Veen y colaboradores demostraron a nivel experimental que ON de origen macrófágico presentó en cultivo una inhibición de la proliferación de los linfocitos T. Estudios posteriores en ratones han demostrado que el ON inhibe selectivamente a los linfocitos Th 1 y de manera autocrina promueve la respuesta de los Th 2, conduciendo de esta manera a la producción de IgE y de las enfermedades en que está implicada esta inmunoglobulina.

Se ha descrito que el hecho histológico cardinal de las enfermedades inflamatorias de la mucosa es el reclutamiento de los leucocitos hacia las áreas inflamadas continuando con su adhesión a la células del endotelio vascular seguido de la migración hacia el compartimiento intersticial.

Hickey y colaboradores observaron en ratones con déficit en la síntesis de i NOS una mayor capacidad de adhesión de leucocitos a las células del endotelio vascular lo que surge que el ON en los procesos inflamatorios efectúa un control homeostático que frena el reclutamiento leucocitario hacia los tejidos inflamados.

Los factores que desencadenan la adherencia de los neutrófilos provocan la activación de las células del endotelio y la liberación de radicales libres capaces de dañar el endotelio vascular. La adherencia dificulta el flujo sanguíneo por obstrucción de los capilares con la consiguiente isquemia y disminución de la capacidad defensiva de la mucosa. Para prevenir en una primera etapa esta lesión endotelial el ON podría disminuir el reclutamiento y adherencias de leucocitos junto a otras sustancias vasodilatadoras favoreciendo el aporte sanguíneo a dichas mucosas. Por otra parte el ON es capaz de inhibir la actividad de los mastocitos y de la producción de sustancias proinflamatorias por parte de ellos. Además inhibe la agregación plaquetaria favoreciendo la acción antiinflamatoria de este elemento.

De forma general podemos señalar que a bajas concentraciones el ON es proinflamatorio favoreciendo la vasodilatación y el reclutamiento de neutrófilos mientras que a concentraciones elevadas disminuye la capacidad de adhesión celular e induce la apoptosis de las células inflamadas.

Regulación de Tono Vascular

Existen dos factores mecánicos que desempeñan un importante papel en el control del tono vascular de los vasos sanguíneos y su influencia participativa en la regulación de la presión arterial. Los estímulos mecánicos como el flujo pulsátil la presión de rozamiento de la sangre por las paredes de los vasos y los niveles de calcio en el líquido extracelular, constituyen los factores reguladores de la producción del ON.

El aumento de la síntesis del ON producido en el endotelio vascular, difunde al músculo liso vascular al incrementar los niveles de GMP c provocando relajación del tono vascular y vasodilatación endógena lo que disminuye la RPT y por consiguiente provoca disminución de la presión arterial.

Se ha demostrado que la inhibición con Monometil L-arginina de la NOS provoca un incremento notable de la presión arterial al invertir la función vasodilatadora del ON.

El ON no posee solamente esta acción vascular, que desde hace algunos años se involucra en la Fisiopatología de la HTA sino aumentan la síntesis de prostaglandinas y la síntesis de antiagregantes plaquetarios.

La acción betabloqueadora sobre vasos sanguíneos y el corazón, inhiben el tono simpático al bloquear los receptores beta 2 adrenergicos presinápticos, inhibiendo la liberación de reninas, reduce la frecuencia cardíaca, la fuerza de contracción y la presión de pulsos. Todos estos efectos cardíacos tienden a disminuir la TA.

Los efectos hipotensores de los betabloqueadores sobre la función cardíaca descritos anteriormente se potencian con la liberación de prostaglandinas I2 y ON con su marcada acción vasodilatadora que se conjugan y favorecen su acción cardioprotectora del ON y su destacado papel en la Fisiopatología de la HTA.

CONCLUSIONES

1.El ON constituye un vasodilatador endógeno, con actividad paracrina.

3. Se sintetiza por la enzima NOS, que tiene tres formas isoenzimáticas, dos inducidas y una constitutiva.

4. El ON por sus funciones y los derivados que surgen de su metabolismo es considerado un radical libre, provocando su incremento destrucción de los grupos funcionales de las biomoléculas.
5. El ON tiene multiplicidad de funciones, siendo las mejores estudiadas las relacionadas con la regulación :del tono vascular, de la actividad neuronal y la participación en la inmunidad .

ABSTRACT

The intervention of nitrogen monoxide commonly called nitric oxide in several organic functions make that knowledge of this topic be important for the study and comprehension of metabolism. In this paper the physical and chemical characteristics, synthesis and its functions. Beside events related to celular damage are presented the reactive species of oxygen it originate.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Goodman Gilman. Gases terapéuticos. En: Goodman Gilman. Bases farmacológicas de la terapéutica. La Habana: ECIMED: 2000. pp. 381, 1998.
2. Gayton. Mecanismo de acción hormonal. En: Fisiología humana. La Habana:ECIMED: 1999. pp.823-36.
3. Robbin. Inflamación Aguda y Crónica. En: Robbin. Patología Estructural y Funcional. 6ta ed. La Habana: ECIMED; 2000.pp. 53-93.
4. Robbin. Inflamación Aguda y Crónica. En: Robbin. Patología Estructural y Funcional. 5taEd. La Habana: ECIMED; 1998. pp.80-81.
5. Cecil. Asma. En: Cecil. Tratado de Medicina Interna .20ª ed. La Habana: ECIMED: 1998. pp. :427-32.
6. García JC. Radicales libres ¿Sueños moleculares o realidades clínicas? Rev Cubana Invest Biomed 1994; 12-19.
7. García Onel H. Enzimas generadoras de especies reactivas del oxígeno. Mieloperoxidas. Rev Cubana Invest Biomed 1998; 190-197.
8. Pérez Andres. Estudio de los factores endoteliales antitromboticos. Revi Cubana Invest Biomed 1997: 84–93.
9. <http://www.Geocitos.com/duralmasduro>
10. <http://www.Uanl.mx/publicaciones/respyn/especiales/Fisiologia/cartel/cardiovascular.html>.

ANEXOS

ANEXO 1

Formas isoenzimáticas de la NOS.

	Tipo 1	Tipo	Tipo 3
	Constitutiva (c)	Inducible (i)	constitutiva
Localización	Neuronal (n)	Macrófago	Endotelial
Calmodulina	Dependiente	Independiente	Dependiente