

Óxido nítrico: puesta al día

C. López-Espada

ÓXIDO NÍTRICO: PUESTA AL DÍA

Resumen. Objetivo. Ofrecer una visión global de las cuestiones más importantes que se conocen con relación al papel del óxido nítrico (NO) en la patología vascular actual. Desarrollo. El NO es una pequeña molécula altamente reactiva y lipofílica que puede difundir fácilmente a través de las membranas sin la necesidad de receptores activos. Su importancia radica en sus cuatro propiedades fisiológicas: su capacidad de producir vasodilatación, su actividad antiagregante/antiadhesión plaquetaria, inhibidora de la proliferación y migración de células musculares lisas e inhibidora de la activación leucocitaria. La disfunción endotelial presente en diversas patologías vasculares hace que la producción de NO por el organismo se altere, de lo que se deriva la pérdida de sus propiedades fisiológicas y la aparición de enfermedades como: hipertensión, arteriosclerosis, vasoespasmo y trombosis. Muchos de los procedimientos terapéuticos vasculares (bypass, angioplastias, stent, endarterectomías, etc.) provocan un daño endotelial que repercute en los niveles de producción del NO. Estos tratamientos promueven la capacidad trombogénica del organismo e inducen la expresión de moléculas vasoactivas, citocinas y factores de crecimiento que pueden llevar al fracaso del procedimiento. La aplicación terapéutica del NO en este contexto puede disminuir la hiperplasia intimal, evitar la trombosis y aumentar la permeabilidad de la reparación. La investigación desarrollada actualmente en este campo aplica donantes de NO, L-arginina, técnicas de transferencia genética y revestimientos protésicos con NO, para aprovechar las magníficas propiedades fisiológicas del NO y, en un futuro, conseguir que el NO entre a formar parte del arsenal terapéutico habitual del cirujano vascular. Conclusiones. El NO es una molécula esencial para una correcta actividad vascular. Sus futuras aplicaciones terapéuticas para contribuir a la reparación endotelial tras angioplastias, endoprótesis, bypass o en la hiperplasia intimal, es un campo abierto a la investigación. [ANGIOLOGÍA 2005; 57: 253-8]

Palabras clave. Arteriosclerosis. Disfunción endotelial. EDRF. L-arginina. Óxido nítrico. Óxido nítrico sintasa.

Introducción

A lo largo de nuestra vida profesional aparecen novedades farmacológicas, nuevos criterios diagnósticos o enfermedades que nos obligan a mantenernos al día de forma continua. Nos sorprende de forma diaria la gran cantidad de publicaciones sobre el papel que desempeña el endotelio en la etiopatogenia de muchas de las enfermedades que tratamos.

Durante la pasada década, se ha admitido que el

endotelio funciona como un órgano dinámico que regula el tono vascular mediante la síntesis y liberación de distintas sustancias vasoactivas como la prostaciclina, la bradicinina, la angiotensina II y la endotelina. Pero sin duda, el factor sintetizado por el endotelio que más relevancia ha adquirido en los últimos años ha sido el óxido nítrico (NO) [1].

Las preguntas que, entre otras cuestiones, nos haríamos serían: ¿qué necesito saber sobre el NO?; o bien: ¿qué se está investigando sobre esta molécula en los últimos años?, ¿qué aplicaciones clínicas tiene el NO? La importancia del NO en medicina ha multiplicado exponencialmente el número de publicaciones sobre el mismo, y es difícil mantenerse al día y responder a estas preguntas de forma concisa.

Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.

Correspondencia: Dra. C. López Espada. Canadá, 11. E-18198 Huétor-Vega (Granada). E-mail: cle@valnet.es

© 2005, ANGIOLOGÍA

El objetivo de la presente revisión es ofrecer una visión global de las cuestiones más importantes que debemos conocer con relación al papel del NO en la patología vascular actual.

La molécula de óxido nítrico

El NO es un gas que se produce en todos los procesos de combustión, desde el motor de un automóvil hasta el humo de un cigarrillo. Forma parte de la polución ambiental, por lo que hasta hace poco se consideraba una molécula tóxica [2].

Sin embargo, recientes investigaciones han puesto de manifiesto que el NO desempeña muchas y diversas funciones gracias a su estructura molecular. El enlace de un único átomo de nitrógeno con uno de oxígeno da lugar a la molécula más pequeña de las células de los mamíferos [3], con dos electrones muy reactivos y una vida media extremadamente corta, de segundos o incluso menos.

Al contrario que otras muchas moléculas mensajeras altamente complejas, el NO es un gas simple, lipofílico, radical libre y que puede difundir fácilmente a través de las membranas sin la necesidad de receptores activos.

Descubrimiento del óxido nítrico

Dos circunstancias casuales permitieron a Furchtgott [4] realizar el importante descubrimiento. Una fue el cambio de técnica de trabajo en su laboratorio: pasó del análisis de tiras arteriales al de anillos arteriales; la otra, el hecho de que uno de sus técnicos de laboratorio inyectó accidentalmente acetilcolina en un anillo de aorta previamente contraído, y observó que se produjo relajación en lugar de la contracción esperada. Estas observaciones le permitieron sugerir, en 1980, la existencia de algo que denominó EDRF (del inglés *endothelium-derived relaxing factor*) [5].

Después de algunas especulaciones que asociaban al EDRF con un radical libre, en 1987, Palmer et al [6] y Moncada et al [7], simultáneamente, demostraron que el EDRF era el NO.

Cómo y dónde se sintetiza el óxido nítrico

Prácticamente todas las células del organismo tienen capacidad para sintetizar NO. El NO se forma mediante la conversión metabólica de L-arginina en L-citrulina y esta reacción es específica, y se cataliza por una familia de enzimas denominadas NO sintasas (NOS) [8], de la que existen tres isoformas: nNOS (neuronal), eNOS (endotelial) e iNOS (inducible).

La nNOS y la eNOS son enzimas constitutivas (cNOS) que generan pequeñas cantidades de NO durante períodos de tiempo cortos, estimuladas por una gran variedad de agentes como: la bradiquinina, el ADP, la sustancia P, el ejercicio crónico, el estrés en la pared vascular, la hipoxia, etc.

La isoforma iNOS prácticamente no se expresa en condiciones fisiológicas, pero se induce –de ahí su nombre– por citocinas, como la interleucina 1 β (IL-1 β), el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y endotoxinas, generando cantidades elevadas de NO durante períodos de tiempo prolongados. Cuando esta inducción aparece, refleja una situación fisiopatológica de inmunoactivación celular secundaria a procesos inflamatorios, sépticos, etc.

Propiedades fisiológicas del óxido nítrico

El mejor fármaco para un cirujano vascular podría ser: una molécula que produjera vasodilatación, si fuera posible también antiagregación/antiadhesión plaquetaria, que pudiera inhibir la proliferación de células musculares lisas en lesiones ateromatosas y que inhibiera la activación leucocitaria presente en la disfunción endotelial. El organismo tiene esta molé-

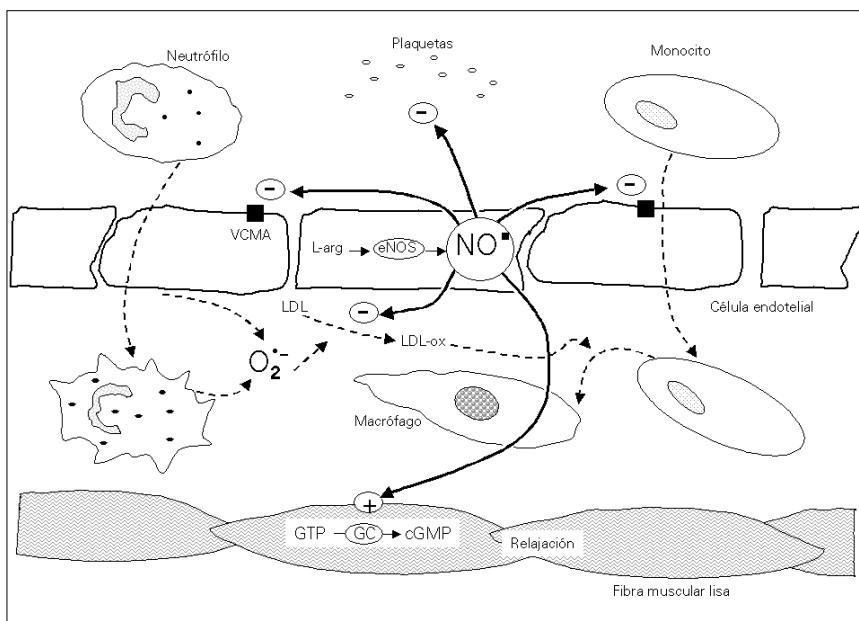


Figura. El NO inhibe la adhesión de leucocitos y monocitos, así como la migración al espacio subendotelial. Mediante esta acción y la inhibición de la oxidación de las LDL, el NO previene la transformación de los macrófagos en células espumosas. Modificado de [11].

cula que de forma fisiológica desarrolla todas estas funciones: el NO. Por lo tanto, es la molécula ideal y su déficit se implica en la mayoría de las enfermedades arterioscleróticas que se tratan.

Arterialmente, el NO actúa como un potente vasodilatador, y es responsable de mantener el sistema vascular en estado de vasodilatación y, por tanto, de regular la presión arterial.

El NO es sinérgico con la prostaciclina en su acción inhibidora de la agregación plaquetaria, diferenciándose de ella en que es también un inhibidor eficaz de la adhesión plaquetaria; los mecanismos celulares subyacentes a las acciones del NO y la prostaciclina son los sistemas GMPc y AMPc, respectivamente [9].

El NO también tiene capacidad de inhibir la activación de leucocitos y la proliferación de células musculares lisas (CML) en la pared vascular; para ello, inhibe la expresión de proteínas de adhesión, como la P-selectina para las plaquetas y las β -integrinas para los leucocitos, e impide así la activa-

ción y liberación de factores de crecimiento que puedan cambiar el fenotipo de las CML de ‘contráctiles’ a ‘secretores’, que, a su vez, producen la matriz de las placas de ateroma [10]. Además, el NO puede reducir el estrés oxidativo al neutralizar el radical superóxido (O_2^-) y evitar la peroxidación de las membranas celulares [11] (Figura).

En el sistema inmunológico, la producción de NO tiene un papel en la defensa no específica del organismo, y es responsable de la actividad citotóxica de los macrófagos. En el sistema

nervioso central, el NO actúa de neurotransmisor.

Patologías vasculares en relación con el óxido nítrico

En aquellas circunstancias en las que la capacidad del endotelio para producir NO, prostaciclina, etc., disminuye, aparece la denominada ‘disfunción endotelial’. Con ello, se pierden todas las importantes propiedades fisiológicas de estas moléculas y aparecen una serie de enfermedades ampliamente conocidas como: hipertensión, arteriosclerosis, vasospasmo, trombosis, etc. [12].

Hipertensión

La producción de NO disminuye y, aunque el mecanismo exacto todavía se desconoce, la hipertensión arterial (HTA) puede deberse a esa pérdida o disminución de la capacidad de vasorrelajación dependiente del endotelio (EDRF).

Hiperlipemia

En humanos con alteraciones lipídicas se ha demostrado que existe una alteración de la vasodilatación, incluso antes de que aparezcan cambios estructurales en la pared del vaso. De hecho, se ha demostrado que esta disfunción endotelial –con el consiguiente descenso de NO–, puede revertirse con la administración exógena del precursor del NO, que es la L-arginina, y también disminuyendo los niveles plasmáticos de colesterol.

Tabla. Propiedades fisiológicas y terapéuticas del óxido nítrico.

Propiedades fisiológicas	Líneas de investigación	Aplicaciones terapéuticas
Vasodilatación	Administración de L-arginina	Vasoespasmos
Antiagregación/antiadhesión plaquetaria	Administración de donantes de NO	Trombosis arteriales
Inhibición de la proliferación y la migración de CML	Técnicas de transferencia genética	Hipertensión arterial
Inhibición de la activación leucocitaria	Técnicas de revestimiento de prótesis o <i>stents</i>	Hiperlipemias
		Diabetes mellitus
		Claudicación intermitente
		Isquemia crítica
		Síndrome de isquemia/reperfusión

Diabetes

Del mismo modo, en los diabéticos existe una disfunción endotelial, ya que el metabolismo de la glucosa produce gran cantidad de radicales libres que tienden a reaccionar con el NO. Esta situación produce un alto consumo de NO y, por tanto, un déficit continuo junto con una acumulación de aniones superóxido.

Arteriosclerosis

En pacientes con enfermedad arterial periférica (EAP) se ha demostrado unos niveles basales de NO menores que los controles, y este déficit es mayor cuanto mayor es el grado de isquemia, según la escala de Fontaine [13]. Por otro lado, se ha podido evidenciar que el NO impide el desarrollo de la arteriosclerosis.

Las intervenciones terapéuticas sobre los factores de riesgo (suspender el tabaco, controlar la hiperlipemia, etc.) han demostrado su utilidad reduciendo la morbilidad y la mortalidad de la arteriosclerosis; igualmente, con esas medidas se ha comprobado una cierta mejoría de la disfunción endotelial, con recuperación de los niveles basales de NO [14].

¿Cómo evita el NO el desarrollo de la arteriosclerosis? Inhibiendo la expresión genética de moléculas de adhesión vascular (como la VCAM-1) y de citocinas, reduciendo de este modo la interacción endotelio-monocito. Entre otros múltiples mecanismos, también inhibe la proliferación de CML al evitar la agregación plaquetaria y la liberación por parte de ésta de múltiples factores de crecimiento, mitógenos y citocinas que contribuirían al desarrollo de la placa de ateroma (Tabla).

Aplicaciones terapéuticas del óxido nítrico

La realización de un *bypass*, una angioplastia, una endarterectomía o implantar una endoprótesis, provoca un daño endotelial. Este daño se sobreañade sobre la disfunción endotelial basal que poseen esas arterias enfermas que vamos a tratar. El endotelio arteriosclerótico no tiene capacidad de reaccionar ante esta agresión. En condiciones normales, liberaría sustancias protectoras, entre las que se incluye

el NO. Estos procedimientos vasculares promueven la capacidad trombogénica del organismo e inducen la expresión de moléculas vasoactivas, citocinas y factores de crecimiento [15], lo que puede llevar al fracaso del procedimiento.

Para evitar esta respuesta vascular patológica, se está investigando en varias líneas que permitan utilizar las propiedades protectoras del NO [16]:

- Utilizar donantes de NO de forma sistémica. Sustancias como el SIN-1 o el RSNOs, que, tras su administración, tienen capacidad de liberar NO y, de esta manera, inhibir la adhesión plaquetaria y la proliferación de CML subsiguiente a un procedimiento vascular, evitando la reestenosis [17,18].
- Aumentar la producción endógena de NO mediante el precursor del NO, la L-arginina. Estudios preliminares mediante dietas enriquecidas con L-arginina, o bien administrada intravenosamente, han conseguido aumentar el flujo en la musculatura de la pantorrilla, incrementar la distancia de claudicación e inhibir la agregación plaquetaria en pacientes con EAP [19,20].
- Técnicas de transferencia genética que aumentan la producción de NO mediante la sobreexpresión retroviral de eNOS en CML o mediante vectores transferidores de genes de iNOS. Estas técnicas

han demostrado reducir la hiperplasia intimal tras angioplastias en modelos experimentales [21,22].

– Técnicas de revestimiento de prótesis o *stent* vasculares con polímeros liberadores de NO o células endoteliales tratadas genéticamente. Al incorporar estas moléculas en la propia prótesis, actuarían de forma directa en el sitio de la lesión, favorecería su efecto antitrombótico, disminuiría la hiperplasia intimal y aumentaría la permeabilidad [23,24].

Conclusiones

El NO es una molécula esencial para una correcta actividad vascular. Su capacidad protectora endotelial, al inhibir factores de crecimiento, citocinas, etc., junto con su efecto antiagregante, hace que el conocimiento de sus propiedades más elementales sea básico para un cirujano vascular.

Sus futuras aplicaciones terapéuticas para contribuir a la reparación endotelial tras angioplastias, endoprótesis, *bypass* o en la hiperplasia intimal, es un campo abierto a la investigación. Es mucho lo que queda por conocer hasta conseguir que el NO se convierta en un elemento más de nuestro arsenal terapéutico habitual.

Bibliografía

1. López-Farré A, Farré J, Sánchez-de Miguel L, Romero J, González-Fernández F, Casado S. Disfunción endotelial: una respuesta global. *Rev Esp Cardiol* 1998; 51 (Supl 6): 18-22.
2. Rovira I. Óxido Nítrico. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 1995; 42: 15-23.
3. Barbosa-Barros M. Óxido nítrico: un campo abierto para la Angiología y Cirugía Vascular. *Angiología* 2002; 54: 472-91.
4. Furchtgott RF. Endothelium-Dependent relaxation in systemic arteries. In Vanhoutte PM, ed. Relaxing and contracting factors. Biological and clinical research. New Jersey: Humana Press; 1988. p. 1-21.
5. Berrazueta JR, López-Jaramillo P, Moncada S. El óxido nítrico: de vasodilatador endógeno a mediador biológico. *Rev Esp Cardiol* 1990; 43: 421-31.
6. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
7. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-42.
8. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-12.
9. Dusting GJ. Nitric oxide in cardiovascular disorders. *J Vasc Res* 1995; 32: 143-61.
10. Maxwell AJ, Cooke JP. The role of nitric oxide in atherosclerosis. *Coronary Artery Disease* 1999; 10: 277-86.
11. Eberhardt RT, Loscalzo J. Nitric oxide in atherosclerosis. In Loscalzo J, Vita JA, eds. Nitric oxide and the cardiovascular system. New Jersey: Humana Press; 2000. p. 273-96.

12. Makhoul RG, Fields CHE, Cassano AD. Nitric oxide and the vascular surgeon. *J Vasc Surg* 1999; 30: 569-72.
13. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Fröhlich J. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1997; 95: 2068-74.
14. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Eng J Med* 1995; 332: 481-7.
15. Ross R. Atherosclerosis and inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-26.
16. Vural KM, Bayazit M. Nitric oxide: implications for Vascular and Endovascular Surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001; 22: 285-93.
17. Lablanche JM, Grollier G, Lusson JR, Bassand JP, Drobinski G, Bertrand B, et al. Effect of the direct nitric oxide donors linsidomine and molsidomine on angiographic restenosis after coronary balloon angioplasty. The ACCORD Study (Angioplastic Coronaire Corvasal Diltiazem). *Circulation* 1997; 95: 83-9.
18. Marks DS, Vita JA, Folts JS, Keaney JF, Welch GN, Loscalzo J. Inhibition of neointimal proliferation in rabbits after vascular injury by a single treatment with a protein adduct of nitric oxide. *J Clin Invest* 1995; 96: 2630-8.
19. Bode-Böger SM, Böger RH, Alfke H, Heinzel D, Tsikas D, Creutzig A, et al. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia. A randomized, controlled study. *Circulation* 1996; 93: 85-90.
20. Hamon M, Vallet B, Bauters C, Wernet N, McFadden EP, Lablanche JM, et al. Long-term oral administration of L-arginine reduces intimal thickening and enhances neoendothelium-dependent acetylcholine-induced relaxation after arterial injury. *Circulation* 1994; 90: 1357-62.
21. Chen L, Daum G, Forough R, Clowes M, Walter U, Clowes AW. Overexpression of human endothelial nitric oxide synthase in rat vascular smooth muscle cells and in balloon-injured carotid artery. *Circ Res* 1998; 82: 862-70.
22. Janssens S, Flaherty D, Nong Z, Varenne O, van Pelt N, Haustermans C, et al. Human endothelial nitric oxide synthase gene transfer inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation after balloon injury in rats. *Circulation* 1998; 97: 1274-81.
23. Pulfer SK, Ott D, Smith DJ. Incorporation of nitric oxide releasing crosslinked polyethyleneimine microspheres into vascular grafts. *J Biomed Mater Res* 1997; 37: 182-9.
24. Holmes DR, Camrud AR, Jorgenson MA, Edwards WD, Schwartz RS. Polymeric stenting in the porcine coronary artery model: differential outcome of exogenous fibrin sleeves versus polyurethane-coated stents. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 525-31.

NITRIC OXIDE: AN UPDATE

Summary. Aim. *To present an overall view of the most important issues concerning the role of nitric oxide (NO) in vascular pathology today.* Development. *NO is a small molecule with highly reactive and lipophilic properties that can extend quickly across membranes without the need for active receptors. Its importance lies in its four physiological properties, namely, its capacity to produce vasodilatation, its activity as a platelet antiaggregating/antiadherence agent, as an inhibitor of smooth muscle cell proliferation and migration, and as an inhibitor of leukocyte activation. The endothelial dysfunction present in diverse vascular pathologies leads to alterations in the production of NO by the organism, which in turn gives rise to a loss of its physiological properties and the appearance of diseases such as hypertension, arteriosclerosis, vasospasm and thrombosis. Many of the vascular therapeutic procedures used today (bypasses, angioplasties, stents, endarterectomies, etc.) cause endothelial damage that affects the levels of NO production. These forms of treatment boost the thrombogenic capacity of the organism and induce the expression of vasoactive molecules, cytosines and growth factors, which can lead to failure of the procedure. The therapeutic application of NO in this context can reduce intimal hyperplasia, prevent thrombosis and increase the patency of the repair. Research presently being carried out in this field involves the application of NO donors, L-arginine, genetic transfer techniques and prosthetic linings with NO so as to take full advantage of the magnificent physiological properties of NO and, in the future, allow NO to become a commonplace part of the therapeutic arsenal available to the vascular surgeon.* Conclusions. *NO is a molecule that plays an essential role in proper vascular activity. Its future therapeutic applications as an aid in endothelial repair after angioplasties, stents, bypasses or in intimal hyperplasia constitute a rich field of research.* [ANGIOLOGÍA 2005; 57: 253-8]

Key words. Arteriosclerosis. EDRF. Endothelial dysfunction. L-arginine. Nitric oxide. Nitric oxide synthase.