

TRABAJO DE REVISIÓN

Instituto Superior de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"

EL ÓXIDO NÍTRICO: IMPLICACIONES FISIOPATOLÓGICAS EN LA PREECLAMPSIA

Dra. Delia Mercedes Rojo Domínguez, Lic. Lourdes García Bacallao, Ing. Sonia Clapés Hernández y Lic. Mayra Silvia Álvarez Corredera

RESUMEN

Se hizo una revisión de la preeclampsia, uno de los problemas de salud más significativos en el embarazo humano, que complica aproximadamente de 6 a 8 % de los embarazos y además causa retardo del crecimiento fetal, morbilidad y mortalidad infantil, nacimientos prematuros y muerte materna. Estudios recientes han reportado que hay un desbalance en el *status* oxidativo, aumentados los sistemas oxidantes y los sistemas antioxidantes disminuidos en mujeres con preeclampsia y que este factor pudiera contribuir a la patogénesis de esta enfermedad. El óxido nítrico es un factor vasodilatador y antiagregante plaquetario que puede desempeñar un papel importante al inducir cambios hemodinámicos durante el embarazo. Se trató acerca de la bioquímica del óxido nítrico y sus posibles interacciones con otros radicales libres. Estudios en ratas muestran que el embarazo está asociado con un aumento en la producción y respuesta al óxido nítrico. En humanos se han encontrado contradicciones acerca del papel del óxido nítrico en la adaptación materna al embarazo. Esto sugiere que el óxido nítrico, puede ser uno de los múltiples sistemas que actúan en el mantenimiento de la relación simbiótica entre la madre y el feto. Sin embargo la función de cada sistema puede estar determinada genéticamente.

DeCS: OXIDO NITRICO/ química; OXIDO NITRICO/ farmacología; PREECLAMPSIA/ fisiopatología; ESTRÉS OXIDATIVO; RADICALES LIBRES; COMPLICACIONES CARDIOVASCULARES DEL EMBARAZO; GESTOSIS POR GPH.

La eclampsia, acompañada de convulsiones, es una de las más dañinas complicaciones en las mujeres embarazadas.¹ Esta condición fue conocida por los griegos,

quienes la llamaron eclampsia. Antes del siglo XVIII, el término eclampsia fue usado solo para referir el fenómeno visual de aspectos neurológicos que le acompañaba.

En 1839-1841 Rayers Landmarck dio la primera evidencia de que los riñones estaban involucrados a la absorción de proteínas de las embarazadas edematosas. En 1843, Lever reportó el hallazgo de proteinuria.² Aunque por muchos siglos fue considerada como desórdenes renales o hipertensivos, hoy está considerado unánimemente como un desorden multisistémico con disfunción vascular en el centro del problema.

Existen evidencias de que el estrés oxidativo (un desvalance entre los sistemas oxidantes y antioxidantes a favor de los oxidantes) ocurre en la preeclampsia y se han establecido hipótesis de que esto promueve un ciclo de eventos que comprometen la “defensa” vasodilatadora, antiagregante y la barrera funcional del endotelio vascular. El estrés oxidativo puede ser el punto en el cual múltiples factores convergen, resultando en las manifestaciones clínicas de la preeclampsia.^{3,4}

En este trabajo se discute el papel del óxido nítrico en el contexto del estrés oxidativo y el papel que desempeña en la preeclampsia.

DESARROLLO

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL ÓXIDO NÍTRICO

El óxido nítrico ($\cdot\text{ON}$) es una molécula pequeña compuesta por 2 átomos, uno de nitrógeno y el otro de oxígeno, lo que determina un número total de 15 electrones.⁵ Este número impar de electrones implica la existencia de un electrón desapareado ubicado en el orbital molecular más externo, lo que le da su carácter de radical libre y una especie biológica relativamente estable con una vida media en medios biológicos, de entre 1 a 60 s.⁶ El $\cdot\text{ON}$ es una molécula apolar que se particiona bien

en medios hidrofóbicos, lo que le permite concentrarse y difundir a través de membranas biológicas.⁷ Esta propiedad es importante para el entendimiento de sus funciones biológicas, porque funciona en muchas ocasiones como mensajero intercelular, que puede difundir rápidamente de un tipo celular a otro, por mecanismos pasivos que no requieren transportadores de membrana. Desde el punto de vista redox, es un débil agente oxidante y algo mejor reductor.

SÍNTESIS BIOLÓGICA DEL $\cdot\text{NO}$

El $\cdot\text{ON}$ es sintetizado enzimáticamente por intermedio de una familia de enzimas denominadas colectivamente NO sintetasa (NOS), ampliamente distribuidas en tejidos de mamíferos.⁸

Existen diferentes variedades de NOS , pero todos comparten las características siguientes:

1. Presentarse en forma de dímero, con PM de 130 y 150 kDa por monómero.
2. Poseen en su sitio activo flavina y hemo.
3. Poseen en su sitio activo un sitio de unión para el complejo Ca-calmodulina.
4. Muchas de las NOS requieren la presencia de tetrahidrobiopterina como cofactor para su acción.

Las NOS catalizan la reacción siguiente:



La reacción determina la oxidación del grupo guanidino de la arginina a $\cdot\text{NO}$.

Han sido identificadas y clonadas 3 tipos de isoformas de NOS :

1. La variedad neuronal (nNOS o tipo I).
2. La variedad macrofágica o citoquina-inducible (iNOS / mNOS o tipo II).

3. La variedad endotelial (eNOS o tipo III).

Las eNOS y nNOS son variedades constitutivas de la NOS y su actividad se regula por activación calcio-calmodulina dependiente.

La iNOS es inducida por citoquinas (IFN y TNF), lipopolisacáridos inflamatorios y endotoxina (LPS) al nivel transcripcional; en células no estimuladas su expresión es muy baja o ausente.

La inducción de iNOS está disparada también por un mecanismo de *feedback* durante los períodos de deficiencia de ·NO (en condiciones experimentales el análogo de la arginina N⁶-nitro-L-arginina metil éster [L-NAME] inhibió la síntesis de ·NO, por inhibición competitiva de NOS. La inhibición crónica de NOS con L-NAME disparó la inducción compensatoria de la expresión de los genes iNOS y los promotores de activación de IFN-8 y lipopolisacáridos).

La actividad NOS también es inhibida por el ·NO en exceso, probablemente por un efecto de *feedback* del ·NO en la NOS regulado genómicamente.

Estudios recientes demuestran que la hipoxia es un inductor de iNOS en macrófagos, en presencia de INF-g, indicando que la disminución de los caracteres de O₂ estimulan la expresión transcripción. Además, las células gliales expuestas a la hipoxia expresan iNOS-mRNA y proteína iNOS.

BIOQUÍMICA DEL NO

El ·NO ejerce sus acciones biológicas a través de reacciones con un número limitado de biomoléculas.

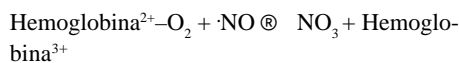
I. Reacciones con metaloproteínas.

La mayor parte del papel fisiológico del ·NO se cumple mediante su unión con una hemoproteína, la guanilato ciclasa, que luego de su interacción con el ·NO para for-

mar el complejo guanilatociclasa-·NO, es activada para la síntesis de GMP_c a partir de GTP.

Otras reacciones importantes incluyen su unión a otras hemoproteínas, como la citocromooxidasa mitocondrial o el citocromo P-450 microsomal. Otras proteínas que contienen hierro formando parte de centros ferrosulfurados interaccionan con ·NO, como la aconitasa, enzima del ciclo de Krebs.⁹

Una mención especial se refiere a la reacción del ·NO con oxihemoglobina, que representa la ruta principal de eliminación del ·NO al nivel del espacio intravascular, y que asegura que el ·NO actúe como una señal local al nivel de los tejidos que la producen. Esta reacción es muy rápida ($k = 2 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$) y resulta en la oxidación del ·NO a nitrato y la conversión de oxihemoglobina a metahemoglobina.



Otra reacción de interés es la reacción de la desoxihemoglobina con el ·NO.



Esta reacción, que es controlada por difusión, resulta en la formación de nitrosil-hemoglobina, complejo estable y cuya presencia indica la formación de ·NO, el nivel de nitrosil-hemoglobina circulante aumenta y puede ser utilizado para monitorear la formación de ·NO en distintas condiciones fisiopatológicas.

II. Reacción con sulfhidrilos.

La interacción de ·NO con sulfhidrilos lleva a la formación de nitrosotioles (RSNO). Los nitrosotioles, en particular la nitrosoalbúmina y nitrosoglutatión, representan formas de almacenamiento de ·NO.¹⁰ Además, la formación de nitrosotioles está involucrada en la modulación de actividad de enzimas y transportadores que contie-

GMPC, molécula que, a su vez, participa en procesos de modulación de la función celular y, en particular, en la homeostasis del calcio.

El ·NO endotelial, funciona como un mensajero intercelular que determina la relajación vascular al nivel local.

“Diversos mediadores” como: bradikinina, ATP, acetil colina e ioróforos del calcio, estimulan la síntesis endotelial del ·NO, que una vez producido, difunde a través de las membranas hasta llegar a las células subendoteliales de músculo liso. Una vez en estas células, el ·NO activa la guanilato ciclasa, con la consecuente producción de GMPC, que participa en la activación de las bombas de calcio del sarcoplasma. Esta activación resulta en un secuestro sarcoplásmico de calcio y en su disminución intracelular, con lo que el músculo liso se “relaja”.

Sus acciones locales son aseguradas por el hecho de que el ·NO que haya difundido al espacio intravascular será rápidamente eliminado por la oxihemoglobina eritrocitaria, de acuerdo con la reacción 2 ya mencionada.

Participan en la regulación de la expresión genética, por ejemplo el ·NO inhibe la expresión de proteínas de adhesión en el endotelio vascular, a través de su interacción con el factor de transcripción nF-KB.

Al nivel del sistema inmunológico (macrófagos, neutrófilos), el ·NO participa como molécula efectora citotóxica, sobre las bacterias, virus, parásitos y células tumorales. Esta actividad está relacionada a su interacción con enzimas del metabolismo energético, inhibiendo este y a una inhibición de la síntesis de ADN de la célula blanco.

Funciones fisiológicas:^{17,18}

– Vasodilatación.

- Inhibición de la agregación plaquetaria.
- Neurotransmisión.
- Modulación de la actividad cardíaca.
- Modulación de la respuesta inmune.

·NO y procesos patológicos

¿Por qué el ·NO es tóxico cuando existe una sobreproducción?

La sobreproducción del ·NO puede activar la respuesta fisiológica mediada por el ·NO, como puede ser la sobreestimulación de la actividad guanilato ciclasa.

Este fenómeno puede estar vinculado a la hipotensión refractaria observada en la sepsis, en donde una vasodilatación persistente, en parte mediada por un exceso de producción intravascular de ·NO, genera la caída sostenida de la presión arterial en la periferia.

Un exceso de ·NO también conduce a la inhibición de la respuesta celular, porque el ·NO compite por el sitio de fijación del oxígeno al nivel de la oxidasa terminal de la cadena respiratoria.¹⁹⁻²⁰ Esta inhibición conduce a una depleción del *pool* de ATP y alteraciones de la homeostasis de calcio. Por otra parte, un exceso de producción de ·NO resulta en la generación de otros óxidos de nitrógeno, de mayor actividad y poder oxidativo que el ·NO *per se*, lo que lleva a la toxicidad por procesos de daño oxidativo.

En particular es muy importante la formación de peroxinitrito, que aparece secundaria a un exceso de formación tisular de ·NO. Las acciones tóxicas que el peroxinitrito puede causar *in vivo* son varias, pero se destaca la inactivación de componentes de transporte electrónico mitocondrial, inactivación de enzimas con grupos sulfidrilos como la gliceraldehído-fosfato deshidrogenasa de la glicólisis, inactivación de enzimas con centros ferrosulfurados como la aconitasa del ciclo

Krebs; todo esto lleva a una inhibición persistente de la respuesta celular y los procesos de formación de ATP.²¹

La interacción de ·NO y peroxinitrito con la cadena de transporte de electrones resulta en un incremento de la formación mitocondrial de superóxido, el que a su vez puede participar en procesos de daño mediado por radicales libres del oxígeno.

El peroxinitrito causa también la nitración de tirosinas críticas de diversas proteínas substratos de tirosina-quinasa que participan en mecanismos de transducción de señales y crecimiento y diferenciación celular a través de la formación de fosfotirosinas. La nitración de tirosinas representa una modificación covalente que impide la fosforilación de ese residuo y la inhibición de cascadas de transducción y ha sido invocado como uno de los mecanismos centrales para los fenómenos de apoptosis inducidos por peroxinitritos.²² La nitración de tejidos expuestos a niveles patológicos de ·NO constituye una huella de que el peroxinitrito fue formado y reaccionó en el compartimiento celular estudiado.

FARMACOLOGÍA

El ·NO desempeña un papel dual en biología humana. Por un lado, cumple funciones centrales en varios órganos y sistemas, en lo que se puede llamar en el nivel fisiológico un homeostático. Este nivel de ·NO en los tejidos es importante para su normal función. Por otra parte están los niveles suprafisiológicos o tóxicos, vinculados a la aparición de patología. Este componente en exceso se debe inhibir, para lograr volver la función del órgano a su normalidad.

Existen claros antecedentes en la literatura de fármacos como los nitrovasodilatadores (nitroprusiato, nitroglicerina), que a la luz de los descubrimientos sobre la

acción del ·NO sobre la tensión de la pared vascular, se ha demostrado que ejercen su acción a través de la liberación del ·NO, por lo tanto pueden corregir fenómenos biológicos en aquellas condiciones de baja producción o respuesta tisular al ·NO.

En una línea de acción contrapuesta a la anterior, se están desarrollando y ensayando en modelos experimentales, diferentes inhibidores de la ·NO sintetasa, con la finalidad de disminuir el ·NO. Para entonces es crítico considerar:

1. Que existen diferentes NOS en distintos tejidos y que interesa la inhibición del tipo específica de NOS con actividad aumentada.
2. Que es necesario mantener, luego de la inhibición, un nivel de producción de ·NO para el desarrollo de sus acciones fisiológicas.

En conclusión, en relación con la farmacología del ·NO es importante considerar que existe un delicado balance tisular entre la producción, respuesta tisular, y consumo de ·NO, y que la farmacología puede lograr aumentar o disminuir sus niveles, según se esté en una situación de déficit o exceso. El objetivo final debe ser retornar el nivel de ·NO a sus valores homeostáticos, que funcionan en un rango relativamente estrecho de concentraciones (10 nM-1 mM).^{23,24}

Fisiopatología de la preeclampsia

Placentación: la mayoría de los autores concuerdan en que al entender los procesos de placentación con sus hallazgos específicos en la especie humana y estudiar las alteraciones en estos procesos, se entendería la preeclampsia.

Durante la placentación normal en humanos, las células citotrofoblásticas

extravellosas en las primeras semanas de gestación, colonizan la decidua y el miometrio adyacente del lecho placentario. Este torrente citotrofoblástico en los vasos espirales, destruye y finalmente reemplaza el endotelio de los vasos maternos. El proceso continúa por la invasión de las paredes arteriales, donde también destruyen la estructura elástica muscular de los vasos maternos. Después, entre las 14 y 16 semanas de gestación, hay una segunda migración trofoblástica endovascular; dentro de este tiempo la porción intramiométrica de las arterias espirales, se extiende desde su origen hacia los vasos radiales. Al final del proceso las paredes gruesas de los vasos maternos son convertidas en vasos conductores uteroplacentarios, desprovistos del componente muscular. Estos vasos remodelados son capaces de dilatarse pasivamente y acomodarse al incremento del flujo sanguíneo para el desarrollo del embarazo normal y no responde a estímulos hormonales o neurogénicos en el sentido de proteger al feto.²⁵⁻²⁷

Existen muchas evidencias que apoyan que el fallo de este proceso normal de placentación ocurre en mujeres destinadas al desarrollo de la preeclampsia, mucho antes del desencadenamiento del síndrome clínico. En estas mujeres, una porción significativa de arterias del lecho placentario muestran una ausencia completa de trofoblasto endovascular.²⁸ Además, hay un fallo completo del trofoblasto para avanzar en la porción miométrica de los vasos, los cuales resultan en la persistencia de su pared muscular, potencial para la vasoconstricción y restricción del flujo sanguíneo materno de la placenta.²⁹⁻³¹

EL SISTEMA DE LA ·NO EN LA PREECLAMPSIA

¿Deficiencia o exceso?

Con el descubrimiento del ·NO como vasodilatador endógeno, una hipótesis atractiva emergió en relación con la preeclampsia: ¿la disminución en la producción de ·NO en mujeres con hipertensión inducidas por el embarazo puede explicar los hallazgos clínicos?

Hasta hoy, muchos grupos de investigadores han cuantificado los niveles de metabolitos de ·NO (nitritos y nitratos) circulantes y urinarios y el GMPc en mujeres con preeclampsia, considerando este como una reflexión acerca de la actividad del sistema del ·NO.³² Sin embargo, estos resultados son contradictorios y algunos confusos. Algunos autores han encontrado disminución de los metabolitos de ·NO en suero y orina, pero no en el plasma de mujeres con preeclampsia. También se han reportado diferencias no significativas en los nitritos y nitratos en la sangre venosa materna de embarazadas normales y con preeclampsia.³³⁻³⁵ También se encontró que el sistema de GMPc estaba disminuido en la orina o incrementado en plasma de mujeres con preeclampsia comparados con los controles.^{36,33} En la circulación fetoplacental (vena umbilical) se encontró que la concentración de ·NO era invariable o incrementada en la preeclampsia.³⁴ En todos los estudios se encontró que en las embarazadas normales tenía una mayor concentración de los metabolitos del sistema de ·NO, comparada con el estado de no embarazadas tanto en animales como en humanos.³⁷ Recientes estudios también han demostrado que el plasma o suero de mujeres con preeclampsia contienen factores que activan la producción de mediadores vasoactivos como el ·NO, prostaciclina o endotelina en células endoteliales cultivadas *in vitro*. La exposición de células endoteliales humanas al suero de mujeres con preeclampsia o plasma, induce un incremento de la generación de ·NO *in vitro* y un incremento de la expresi-

sión de NOS. La producción de prostaciclina también se incrementó después de 24 h de exposición al plasma de mujeres con preeclampsia.

El factor estimulante de la producción de $\cdot\text{NO}$ parece ser diferente del que estimula la producción de prostaciclina. La generación de $\cdot\text{NO}$ puede ser estimulada por lipoproteínas o agregados de lipoproteínas, mientras que las prostaciclina son inducidas por una molécula de bajo peso molecular en fracción acuosa.³⁸

Una explicación es que el daño endotelial inicial en la preeclampsia dispara un mecanismo compensatorio, el cual induce enzimas ciclooxigenasa (COX) y NOS para incrementar la producción de mediadores de la vasodilatación. En consecuencia, tejidos de mujeres con preeclampsia, cuando se aislaron en cultivo, produjeron menos $\cdot\text{NO}$ después de la estimulación, comparados con tejidos similares de embarazadas normales. Este mecanismo de *feedback* positivo es probablemente mantenido por factores circulantes y podrían estar causados por la carencia de respuesta del lecho endotelial, debido a la disminución del número de células viables en la preeclampsia.³⁹

Este mecanismo compensatorio puede operar eficientemente *in vivo* por un período extendido de tiempo y demorar entonces el cuadro clínico de la preeclampsia. Esta teoría podría explicar los resultados contradictorios vistos en la cuantificación de nitritos y GMPc en suero y orina durante el embarazo. De esta forma, el suero de pacientes en el *bordenline* puede inducir la producción de sustancias vasodilatadoras (ejemplo $\cdot\text{NO}$ y prostaciclina) y disminuir los vasoconstrictores (endotelina) cuando están en contacto con células de respuesta normal *in vitro*. Otra hipótesis es que en el contexto del estrés oxidativo, el incremento del oxígeno reactivo y la producción de lipoperóxidos en la pre-eclampsia, el $\cdot\text{NO}$ es

desviado de la vía de la guanilato ciclasa y consumido en la reacción con la superóxido.⁴⁰

MODELO HIPOTÉTICO DE LA PREECLAMPSIA COMO UN PROCESO PATOLÓGICO

La complejidad de la preeclampsia como un proceso morboso proviene de la complejidad del cuerpo humano como un sistema biológico y el número extremadamente grande de posibles interacciones entre sus subsistemas y un mecanismo de retroalimentación. Es posible que el embarazo cambie el punto del equilibrio del cuerpo a un nuevo estado estable. Durante el proceso patológico, algunos mecanismos adaptativos de *feedback* pueden ser llevados a sus límites fisiológicos, cambiando internamente el mecanismo de *feedback* positivo o disparando un mecanismo contrarregulatorio con consecuencias catastróficas para el organismo. Hipotéticamente, entonces existen 4 tiempos diferentes formulados, en el curso del embarazo destinado a la preeclampsia:

1. El primer período incluye el tiempo antes de que ocurra el daño causante presumido (disfunción o insuficiencia) y está caracterizado por la relación armoniosa entre la madre y el feto.
2. El segundo tiempo formulado comienza después de la disfunción y está caracterizado por la operación de mecanismos específicos compensatorios, los cuales son capaces de mantener la relación armoniosa entre la madre y el feto sin signos clínicos o síntomas detectables.
3. En el tercer tiempo formulado comienzan a aparecer signos clínicos benignos en la madre, los cuales reflejan que los mecanismos compensatorios operantes han sido llevados a sus límites. En

estas condiciones la relación simbiótica entre la madre y el feto es aún mantenida sin mucho costo para su organismo.

4. El cuarto período es donde los mecanismos compensatorios se vuelven insuficientes, disparando sistemas que empeoran la situación. Por ejemplo: mientras que el intento primario para incrementar el número de células citotrofoblásticas que están mejorando la placentación y la oxigenación fetal, complicaciones de la interfase materna-fetal pueden empeorar el estado de hipoxia. Además, las anomalías sintotiales, vistas en la preeclampsia, son casi idénticas en las que se ven en la vellosidad placentaria mantenida en cultivo, en condiciones de hipoxia. También es probable que durante este tiempo formulado ocurra el daño endotelial y los síntomas clínicos como la proteinuria comienzan a aparecer. El flujo uteroplacentario reducido también trae retardo del crecimiento fetal.

A la luz de este modelo, el sistema ·NO probablemente actúa como *buffer* que trata de compensar y adaptar el sistema biológico a esta nueva condición, la cual puede desestabilizarlo ¿Cuánto y en qué dirección son necesarios los cambios del ·NO? es probablemente dependiente de la viabilidad de otros mediadores vasoactivos tanto como la predisposición genética de cada organismo. Esto puede explicar las discrepancias entre los múltiples estudios clínicos acerca de los metabolitos sanguíneos y urinarios en las mujeres con preeclampsia. Al igual

que la variabilidad genética entre las diferentes colonias de ratas, la variabilidad en la población humana puede dar cuenta de las diferencias en el funcionamiento del sistema de ·NO.

En algunos pacientes una buena vía operacional del ·NO, puede ser capaz de compensar, mientras que en presencia de disfunción genética del sistema de ·NO, el rendimiento del ·NO puede ser invariable o disminuido. Se podría especular también que el daño inicial no tiene que ser idéntico en todos los casos. Entonces, si esta hipótesis es verdadera, un incremento en la expresión de los NOS puede ser esperado al menos en algunas embarazadas, las cuales podrían involucrar una u otra, sin complicaciones o acompañadas de preeclampsia.⁴¹ Recién se encontró que pacientes con preeclampsia tienen significativamente aumentada la tinción de eNOS de la vellosidad endotelial de los vasos placentarios. Además, pacientes con CIUR y sin preeclampsia tienen un incremento mucho mayor. Es posible que en el último grupo, un aumento de la actividad compensatoria NOS previene la preeclampsia. A la luz de esta hipótesis, la definición de concentración “normal” de ·NO o “apropiada” de NOS, es un serio problema, especialmente para estudios que comparan grupos pequeños de controles y pacientes. Solo un estudio longitudinal durante el embarazo puede ser capaz de detectar cuándo cada mecanismo de *feedback* compensatorio comienza a activarse y prevenir o acelerar, enmascarar o desenmascarar la ocurrencia de los síntomas.

SUMMARY

A review of pre-eclampsia, one of the most significant health problems in human pregnancy that complicates approximately 6 to 8 % of pregnancies and causes fetal growth retardation, infant morbidity and mortality, premature births and maternal death, was conducted. Recent studies have reported that there is an unbalance in the oxidative status, an increase of the oxidant systems and a decrease of the antioxidant systems in women with pre-eclampsia, and that this factor may contribute to the pathogenesis of this disease. The nitric oxide is a vasodilative factor and a platelet anti-aggregant that may play an important role on

inducing hemodynamic changes during pregnancy. The biochemistry of nitric oxide and its possible interactions with other free radicals was dealt with. Studies conducted with rats show that pregnancy is associated with a rise in the production and response to nitric oxide. Contradictions have been found among humans as regards the role of nitric oxide in the maternal adaptation to pregnancy. This suggests that nitric oxide may be one of the multiple systems acting in the maintenance of the symbiotic relation between mother and fetus. However, the function of each system may be genetically determined.

Subject headings: NITRIC OXIDE/ chemistry; NITRIC OXIDE/ pharmacology; PRE-ECLAMPSIA/ physiopathology; OXIDATIVE STRESS; FREE RADICALS; PREGNANCY COMPLICATIONS, CARDIOVASCULAR; GESTOSIS, GPH.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Irina A, Buhimschi GR, Saade KC, Garfield Robert E. The nitric oxide pathway in pre-eclampsia: pathophysiological implications. *Hum Reprod Update* 1998;4(1):25-42.
2. Purkerson ML, Vekerdy L. A history of eclampsia, toxemia and the kidney in pregnancy. *Nephrology* 1999;19 (2):313.
3. Scott W, Walsh: maternal- placental interations of oxidative stress and antioxidants in pre-eclampsia. *Sem Reprod Endocrinol* 1998;16:1.
4. Shaamash AH, Elsonosy ED, Zakhari MM, Radwan SH, EL-Dien HM. Placental nitric oxide synthase (NOS) activity and nitric oxide (NO) production in normal pregnancy, pre-eclampsia and eclampsia. *Gynaecol Obstet Feb* 2002;72 (2):123-33.
5. Radi R. Reactions of nitric oxide with metallo proteins. *Chem Res Toxicol* 1996;9:828-35.
6. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide as a signal in blood vessels. *Trends Biochem Sci* 1993;17: 399.
7. Denicola A, Souza J, Radi R, Lissi E. Nitric oxide diffusion in membranes determined by fluorescence quenching. *Arch Biochem Biophys* 1996;208-12.
8. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Revs* 1991;43:109-141.
9. Castro L, Rodríguez M, Radi R. Aconitase is readily inactivated by peroxynitrite, but not by its precursor, nitric oxide. *J Biol Chem* 1994;209:29409.
10. Scharfstein JS, Keaney JF, Slivka A, Welch G, Vita JA, Stambler JS, et al. In vivo transfer on nitric oxide between a plasma protein-bound reservoir and low molecular weighth thiols. *J Clin Invest* 1994;94:1432-9.
11. Wink DA, Darbyshire JF, Nims RW, Saavedra JE, Ford PC. Reactions of the bioregulatory agent nitric oxide in oxygenated aqueous media. Determination of the kinetics for oxidation and nitrosation by intermediates generated in the NO/O₂ reaction. *Chem Res Toxicol* 1993;6:23.
12. Padmaja S, Huie RE. Reaction of NO with O₂⁻. *Free Radicals Res Commun* 1993;18:195.
13. Beckman JS, Beckman TW, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite. Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1620.
14. Radi R, beckamn JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulphhydryls. *J Biol Chem* 1991;266:4244.
15. Ischiropoulos H, Zbu L, Chen J, Tsai M, Martin JC, Smith CD, Beckman JS. Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalyzed by superoxide dismutase. *Arch Biochem Biophys* 1992;298:431.
16. Rubbo H, Radi R, Trujillo M, Telleri R, Kalyanaraman B, Barnes S, et al. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation-formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J Biol Chem* 1994;269:26066.
17. Stuehr DJ, Gross SS, Sakuma I, Levi R, Nathan CF. Activated murine macrophagus secrete a metabolite of arginine with the bioactivity of endothelium-derived relaxing factor and the chemical reactivity of nitric oxide. *J Exp Med* 1989;169:1011.
18. Hibbs JB, Taintor RR, Vaurin Z, Racblin EM. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophagus effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;157:87.
19. Brown GC, Copper CE. Nanomolar concentrations of nitric oxide reversibly inhibit synaptosomal respiration by competing with oxygen at cytochrome oxidase. *Febs Lett* 1994;356:295-8.

20. Cassina A, Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Arch Biochem Biophys* 1996;328:309-16.
21. Poderoso JJ, Carreras Mc, Lisdero C, Riobó N, Schoper F, Boveris A. Nitric oxide inhibits electron transfer and increases superoxide radical production in rat heart mitochondrial and submitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys* 1996;328:85-92.
22. Estévez AG, Radi R, Barbeito L, Thomson JA, Beckman JS. Peroxynitrite-induced cytotoxicity in PC12 cells: evidence for an apoptotic mechanism differentially modulated by neurotrophic factors. *J Neurochem* 1995;65:1543-50.
23. Reif DW, McCreedy SA. N-nitro-L-arginine and N-nanomethyl-L-arginine exhibit a different pattern of inactivation over the three nitric oxide synthases. *Arch Biochem Biophys* 1995;320:170-6.
24. Wolf DJ, Vmansky. The inhibition of the constitutive bovine endothelial nitric oxide synthase by imidazole and indazole agents. *Arch Biochem Biophys* 1994;314:360-6.
25. Harris TWS, Ramsey EM. The morphology of the human uteroplacental vasculature. *Contrib Embryol Carnegie Inst Washington* 1996;38:43.
26. Wolf F de, Wolf-Peters C de, Brosens I. Ultrastructure of the spiral arteries in the human placental bed at the end of normal pregnancy. *Am J ObstetGynecol* 1973;117:833-48.
27. Pijnenborg R, Robertson WB, Brosens I, Dixon G. Trophoblast invasion and the establishment of haemochorial placentation in man and laboratory animals. *Placenta* 1981;2:71-91.
28. Khong TY, Wolf F de, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *J Obstet Gynaecol* 1996;93:1049-59.
29. Brosens I. A study of the spiral arteries of the decidua basalis in normotensive and hypertensive pregnancies. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1964;17:222-30.
30. Gerretsen G, Huisjes HJ, Elena JD. Morphological changes of the spiral arteries in the placental bed in relation to pre-eclampsia and fetal growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol* 1981;88:876-81.
31. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *J Obstet Gynaecol* 1995;101:669-74.
32. Seligman SP, Buyon JP, Clancy RM. The role of nitric oxide in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Am Obstet Gynaecol* 1994;171:944-8.
33. Lyall F, Young A, Greer IA. Nitric oxide concentrations are increased in the fetoplacental circulation in pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynaecol* 1995;173:714-8.
34. Boccardo P, Soregaroli M, Aiello S. Systemic and fetal maternal nitric oxide synthesis in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:879-86.
35. Silver RK, Kupferminc MT, Russell TL. Evaluation of nitric oxide as a mediator of severe pre-eclampsia. *Am Obstet Gynaecol* 1996;175:1013-7.
36. Begum S, Yamasaki M, Mochisuki M. The role of nitric oxide metabolites during pregnancy. *Kobe T. Med Sci* 1996;42:131-41.
37. Shaamash AH, Elsnosy ED, Makhbuz. Maternal and fetal serum nitric oxide (NO) concentrations in normal pregnancy, pre-eclampsia and eclampsia. *J Gynaecol Obstet* 2000;68(3):207-14.
38. Davidge ST, Stranko CP, Roberts JM. Urine but not plasma nitric oxide metabolites are decreased in women with pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynaecol* 1996;174:1008-83.
39. Orpana, AK, Avela K, Ranta V. The calcium-dependent nitric oxide production of human vascular endothelial cells in pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynaecol* 1996;174:1056-60.
40. Carl A Hubel. Dislipidemia, iron, and oxidative stress in Pre-eclampsia: Assessment of Maternal and Feto-Placental Interactions. *Sem Reprod Endocrinol* 1998;16(1):75-92.
41. Myatt L, Eis ALW, Brockman DE. Endothelial nitric oxide synthase in placental villous tissue from normal, pre-eclamptic and intrauterine growth restricted pregnancies. *Hum Reprod* 1997;12:167-72.

Recibido: 3 de septiembre de 2002. Aprobado: 18 de febrero de 2003.

Dra. *Delia Mercedes Rojo Domínguez*. Avenida 21 No. 4011, San Antonio de los Baños, La Habana, Cuba.