

Hospital Pediátrico Docente "Centro Habana", Ciudad de La Habana

## ÓXIDO NÍTRICO/SEPSIS. CONTROVERSIAS EN SU METABOLISMO, FUNCIONES Y UTILIZACIÓN

Dra. Vivian R. Mena Miranda<sup>1</sup> y Dr. Raúl L. Riverón Corteguera<sup>2</sup>

### RESUMEN

---

El óxido nítrico (ON) es un potente vasodilatador endógeno que se estimula por las enzimas óxido nítrico sintetasa constitutiva y óxido nítrico sintetasa inducible a partir del sustrato L-arginina. La enzima óxido nítrico constitutiva es calcio dependiente y mantiene el equilibrio fisiológico en los tejidos donde se libera. La enzima óxido nítrico sintetasa inducible es calcio independiente, se libera en condiciones de estímulo inflamatorio y contribuye a graves cuadros de inestabilidad hemodinámica en relación con la hipotensión refractaria que produce. En la actualidad hay propuestas terapéuticas relacionadas con la regulación en la producción del ON y su administración exógena.

*Descriptores DeCS:* OXIDO NITRICO SINTETASA/metabolismo; OXIDO NITRICO SINTETASA/fisiología; OXIDO NITRICO SINTETASA/uso terapéutico; SEPSIS/quimioterapia.

---

*Furchgott y Zawadski* describieron los diferentes efectos de la acetilcolina en las arterias con afectación del endotelio o no. La presencia del factor de relajación derivado del endotelio (FRDE) fue identificado por *Palmer e Ignarro* en 1987 de manera independiente como óxido nítrico (ON).<sup>1</sup>

El ON es un gas relacionado con múltiples funciones en los diferentes

órganos y sistemas según su producción y vías de estimulación.<sup>2</sup> Se le asocia como uno de los fundamentales mediadores relacionados con la vasorrelajación en la sepsis.<sup>3</sup> Existen estados en que no siempre tiene que mediar la respuesta inmune para encontrarse elevada esta sustancia, como por ejemplo en períodos de hipotensión durante la hemodiálisis, en cuadros cardiovasculares crónicos, por la administración exógena de

---

<sup>1</sup> Especialista de II Grado en Pediatría. Médico Intensivista. Asistente del Departamento de Pediatría de la Facultad "General Calixto García".

<sup>2</sup> Especialista de II Grado en Pediatría y Administración de Salud. Profesor Titular del Departamento de Pediatría de la Facultad "General Calixto García".

ON (por inhalación o por vía endovenosa) y en relación con la excreción disminuida de nitritos y nitratos por afectación hepática y/o renal.<sup>4-7</sup>

## **MECANISMOS DE PRODUCCIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO**

El óxido nítrico se sintetiza por diferentes enzimas que presentan un código genético a través de la estimulación de la vía L-arginina/óxido nítrico, por una enzima constitutiva (isoformas endotelial y neuronal) que se encuentra presente en diferentes tejidos que incluye el endotelio vascular, riñones, y cerebro; su mecanismo de acción es  $Ca^{++}$  dependiente. Esta enzima produce pequeñas cantidades de ON de forma continua e induce vasodilatación y antiagregación plaquetaria en sinergismo con la prostaciclina. Su liberación está también estimulada por la acetylcolina, bradiquinina, sustancia P, histamina y productos derivados de las plaquetas.

El mecanismo de vasodilatación propuesto se activa mediante la unión del grupo heme de la guanilato ciclasa y el consiguiente aumento de la concentración intracelular de calcio/calmodulina con formación de GMP cíclico.

En condiciones de estímulo inflamatorio producido por la endotoxina, el factor de necrosis tumoral (FNT), o la interleucina-1(IL-1) se induce una nueva enzima presente en las células del sistema fagocítico mononuclear y en el endotelio vascular. La enzima óxido nítrico sintetasa inducible libera grandes cantidades de ON y es independiente del calcio. Su actividad metabólica está en relación con el sustrato L-arginina y posee propiedades citotóxicas y bactericidas que inducen a una disminución de la respiración mitocondrial, alteración del DNA y producción de radicales libres de oxígeno.<sup>8,9,10</sup>

## **FUNCIONES DEL ÓXIDO NÍTRICO**

El papel que desempeña el óxido nítrico en la vida celular es ambivalente, pues puede dirigir la citostosis en las células productoras de ON o la citólisis en sus células blanco. La interacción entre el ON y los radicales de oxígeno puede ser protectora, porque barre estos radicales libres de oxígeno o tóxica por la formación de peroxinitritos. Una situación similar se pone de manifiesto paradójicamente en la apoptosis, donde puede ser inducida en células tumorales, macrófagos activados y células endoteliales.<sup>2,11,12</sup>

Se conoce que el ON inhibe la permeabilidad a la albúmina y representa un factor antiadhesivo al endotelio para las plaquetas y leucocitos. En el sistema nervioso central puede actuar como neurotransmisor y/o hormona, donde tiene un amplio rango de funciones que comprenden desde la función periférica de neurotransmisión y secreción hipófisiaria, hasta la memoria.<sup>13,14</sup> Se ha demostrado que es un mensajero que regula el flujo sanguíneo en el sistema nervioso central, aunque también puede inducir la apoptosis de las células del cerebelo. Su citotoxicidad es similar a la liberación excesiva del neurotransmisor, donde se activan las proteasas que son responsables del daño isquémico.<sup>15-17</sup>

Durante una reacción inflamatoria la L-arginina que es un aminoácido semiesencial, puede ser metabolizada por la vía óxido nítrico sintetasa para formar ON y citrulina o por la vía arginasa, otra enzima inducible por el lipopolisacárido, para producir urea y L-ornitina. Estas vías actúan entre sí, pues los macrófagos pueden utilizar la citrulina producida por la óxido nítrico sintetasa para generar arginina a través del ciclo incompleto de la urea.<sup>18</sup> La importancia de los mecanismos fisiológicos en la producción del ON

incluye la reparación de tejidos. La inducción de la vía arginasa permite la inhibición de la óxido nítrico sintetasa inducible. Esta propiedad es utilizada en la protección de los efectos deletéreos de la sobreproducción de ON; sin embargo, teóricamente las consecuencias de la formación de la reacción inflamatoria aguda incluye muerte celular y vasodilatación local. El *shock* séptico es la expresión máxima de la producción inadecuada del ON con sus mayores efectos dañinos asociados con la liberación de citocinas proinflamatorias y sus alteraciones metabólicas consecuentes,<sup>19-22</sup> a los que se le asocia la alteración en la homeostasis del calcio en la pared del músculo liso y el endotelio vascular, la respuesta desorganizada del metabolismo fosfolipídico, el de los nucleótidos cíclicos y el de las proteinoquinasas. Estos fenómenos van acompañados de una disminución de la resistencia vascular periférica con una baja respuesta a los agentes agonistas vasoconstrictores exógenos, lo que traduce la estimulación de la vía de la enzima óxido nítrico sintetasa inducible en los vasos del endotelio y se pone de manifiesto el papel que desempeña la vía L-arginina/óxido nítrico como sustrato metabólico en este proceso.

El ON también se relaciona con la disminución de la contractilidad miocárdica en los pacientes con sepsis y potencializa la acción de las citocinas proinflamatorias (FNT alfa, IL-1, e IL-2).<sup>23-25</sup>

Estudios en vivo indican que durante la sepsis existe una activación inicial de la vía óxido nítrico sintetasa constitutiva seguida de un aumento posterior de la vía inducible en respuesta al lipopolisacárido de la bacteria. Esto puede justificar los efectos deletéreos que aparecen paradójicamente cuando se inhibe la vía óxido nítrico sintetasa.<sup>26,27</sup>

El ON tiene una función protectora en el hígado durante la sepsis. Su mecanismo de acción no está definido, pero se plantea que la inhibición de él disminuye el flujo sanguíneo hepático, lo que condiciona que mejore la irrigación a este nivel y lo protege contra las sustancias vasoconstrictoras. Lo mismo se plantea en relación con el metabolismo de la glucosa, pero se conoce que interviene en la gluconeogénesis.<sup>2,28</sup> En relación con la respuesta del *tractus* gastrointestinal de los pacientes críticos, la fuente del ON en el intestino depende de su tejido intrínseco intestinal, de los neutrófilos, monocitos y de la reducción del nitrato gástrico intestinal. En el intestino se encuentran las 2 enzimas, pero la inducible sólo se activa frente al estímulo inflamatorio.

La vasodilatación fisiológica que se produce a este nivel se debe a la liberación del ON por las células endoteliales, lo que mantiene la perfusión de la mucosa. Durante la inflamación se liberan grandes cantidades de este gas y producen hiperemia de la mucosa y disfunción de la barrera intestinal.

El ON además de los efectos vasculares también regula la peristalsis intestinal y la acción de los neurotransmisores del sistema nervioso entérico, protege a la mucosa intestinal de diferentes daños como la ingestión de cáusticos, del fenómeno de isquemia-reperfusión y en la fase inicial del *shock* endotóxico. Estos efectos beneficiosos se deben fundamentalmente al mantenimiento de la perfusión de la mucosa intestinal, inhibición de la adhesión de los neutrófilos a las células del endotelio del mesenterio y a la inhibición de la agregación y adhesión plaquetaria.

En relación con la inmunidad el ON tiene acciones inespecíficas mediante la regulación de los macrófagos, pero también mediante células no fagocíticas

vasculares y epiteliales. Puede estimular o inhibir la proliferación de los linfocitos T y en ocasiones interviene en los estados de inmunodeficiencia en la infección severa.<sup>28</sup>

El ON también interactúa con los diferentes microorganismos patógenos y presenta una fuerte acción antimicrobiana contra parásitos intracelulares (Plasmodium, Toxoplasma, Tripanosoma), algunas bacterias intracelulares (Salmonella, Legionella) y finalmente contra los virus de la familia de los herpes, herpes simplex-1. También son afectados por su actividad antimicrobiana algunos agentes extracelulares como el Criptococo y la *Candida albicans*. La actividad antimicrobiana contra las bacterias extracelulares responsables de la sepsis y el *shock* séptico todavía no está clara.<sup>29</sup>

## MANEJO DEL ÓXIDO NÍTRICO EN LA SEPSIS

Las diferentes vías de estimulación del ON pueden ser modificadas a diferentes niveles de acción (transcripción, postranscripción y funciones de la enzima óxido nítrico sintetasa inducible, disponibilidad del sustrato y nivel de las moléculas efectoras). El método más utilizado es mediante la regulación de la L-arginina y los niveles de inducción de la enzima óxido nítrico sintetasa. Estos aspectos todavía son muy polémicos con resultados discutidos, debido a la fisiopatología del *shock* séptico, donde intervienen muchos mediadores que en la actualidad no se conoce totalmente la interrelación de sus funciones entre sí.

El uso de esteroides exógenos se propuso como un elemento terapéutico en la regulación de la liberación del ON, pero se ha demostrado que ésta se relaciona con

el balance de la respuesta entre las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias.<sup>29,30</sup>

Otras propuestas terapéuticas son sustancias que inhiben las enzimas óxido nítrico sintetasa tanto constitutiva como inducible, pero aunque en los diferentes ensayos clínicos aumentan la presión arterial en los pacientes con *shock* séptico, su disminución con la mortalidad no está bien establecida. En realidad lo más fisiológico es utilizar la vía L-arginina/óxido nítrico en dependencia de sus propiedades biológicas.

Se conoce que en la sepsis severa hay alteraciones en el metabolismo proteico con un balance de hidrógeno negativo asociado con un estado de inmunodeficiencia, y que un soporte nutricional adecuado reduce tanto su morbilidad como su mortalidad. La solución actual no está dada por una hiperalimentación del paciente crítico, sino con la administración de dosis farmacológicas de aminoácidos individuales, pues éstos pueden modificar el metabolismo celular y la respuesta inmune. En estos casos la administración parenteral con suplemento de arginina puede aumentar la supervivencia de estos pacientes, pero en los casos de malabsorción por fallo del sistema digestivo no se reportan estos resultados.<sup>31-34</sup>

## ADMINISTRACIÓN EXÓGENA DE ÓXIDO NÍTRICO

En los últimos años diversos estudios han demostrado la utilidad de administración de ON inhalado en el tratamiento agudo de pacientes adultos con síndrome de dificultad respiratoria aguda, con hipertensión pulmonar, con hipertensión pulmonar idiopática y en el trasplante cardíaco y pulmonar. En la infancia el ON

ha sido utilizado en pacientes con *distress* respiratorio o enfermedad pulmonar hipoxémica, en niños con hipertensión pulmonar, fundamentalmente en el posoperatorio de cirugía cardíaca y en neonatos con hipertensión pulmonar persistente y/o síndrome de dificultad respiratoria, para lograr en algunos pacientes evitar la aplicación de oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO). Varios estudios también han demostrado que la respuesta al ON puede ser utilizada como prueba de reversibilidad de la hipertensión pulmonar antes de la cirugía cardíaca, debido a que aumenta el

flujo sanguíneo y mejora la oxigenación; sin embargo, en períodos prolongados el efecto de esta terapéutica todavía no está bien establecido.<sup>35-38</sup>

En relación con la toxicidad de este gas inhalado se demostró que a altas concentraciones por errores o accidentes, se producen elevaciones importantes de NO<sub>2</sub> y de metahemoglobinemia con efectos tóxicos al nivel pulmonar y cerebral.<sup>39-41</sup>

En resumen, las vías de estimulación del ON son tan controvertidas como su regulación, acciones y utilización. Los próximos años serán un reto para regular su homeostasis y darle un uso terapéutico racional.

## SUMMARY

---

Nitric oxide(NO) is a powerful endogenous vasodilator which is stimulated by constitutive nitric oxide synthase and inducible nitric oxide synthase enzymes from L-arginine substrate. The constitutive nitric oxide synthase enzyme is dependent calcium and it keeps the physiological balance in those tissues where it is released. On the other hand, the inducible nitric oxide synthase enzyme is independent calcium which is released under inflammatory conditions and contributes to serious hemodynamic instability since it causes refractory hypotension. At present, there are several suggested therapies for controlling NO production and exogenous administration.

*Subject headings:* NITRIC OXIDE SYNTHASE/metabolism; NITRIC OXIDE SYNTHASE/physiology; NITRIC OXIDE SYNTHASE/therapeutic use; SEPSIS/drug therapy.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cuthbertson BH, Webster NR. Nitric oxide in critical care medicine. *Br J Hosp Med* 1995;45(11):579-82.
2. Payen D, Bernard C, Beloucid S. Nitric oxide in sepsis. *Clin Chest Med* 1996;17(2):333-49.
3. Holleberg SM, Cunnion RE. Endothelial and vascular smooth muscle function in sepsis. *J Crit Care* 1994;9(4):262-80.
4. Tiritilli A. Le monoxyde d'azote NO, facteur de protection vasculaire. *Pres Med* 1998;27:1059-60.
5. Yokokawa K, Mankus R, Saklayer M. Increased nitric oxide productions in patients with hypotension during hemodialysis. *Ann Intern Med* 1995;123:35-7.
6. Habib F, Duthna D, Gossman D, Oakley CM, Clelan JC. Enhanced basal nitric oxide production in heart failure: another failed counter regulatory vasodilator mechanism? *Lancet* 1994;344:371-3.
7. Wong HR, Carrillo JA, Burckant G, Kaplan SS. Nitric oxide production in critically-ill patients. *Arch Dis Child* 1996;74:487-9.
8. Hollenberg SM. Inhibition of nitric oxide synthesis in sepsis. A promising strategy. *Crit Care Med* 1998;26(4):638-9.
9. Lorente JA, Ros P, Laudín L. Avances en la fisiopatología del shock séptico en el niño críticamente enfermo. Madrid: Editorial Díaz de Santos,1996:1-7.

10. Ballingard JL, Ungareano-Longreais D, Simmons WW. Induction of NO synthetase in rat cardiac microvascular endothelial cells by IL-1b and interferon gamma. *Physiology* 1995;268:1293-1303.
11. Kilbourn R. Nitric oxide: moving toward the clinic. *Mol Med Today* 1996;28:324.
12. Genaro AM, Hortelano S, Álvarez A. Splenic B<sub>2</sub> lymphocyte programmed cell death is prevented by nitric release through mechanism involving Bcl-2 levels. *J Clin Invest* 1995;95:1884-90.
13. Dawson T, Snyder S. Gases as biological messengers nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J Neurosci* 1994;14:579-80.
14. Cuthbertson BH, Webster NR. Nitric oxide in critical care medicine. *Br J Hosp Med* 1995;54:579-80.
15. Leist M, Volbrach C, Kuhnle S, Fava E, Fernando ME, Nicotera P. Caspase mediated apoptosis in neuronal excitotoxicity trigger by Nitric Oxide. *Mol Med* 1997;3:750-64.
16. Hara H, Friedlander RM, Gagliardi V, Ayata C, Fink K. Inhibition of Interleukin-1 $\beta$  converting enzyme family proteases reduces ischemic and excitotoxic neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94:2007-12.
17. Yakolev AG, Knoblich SM, Fan L, Fox GB, Goodnigg R, Faden AZ. Activation of CPP32 like caspases contributes to neuronal apoptosis and neurological dysfunction after traumatic brain injury. *J Neurosci* 1997;17:7415-24.
18. Tiritilli A. Pathologies cardiovasculaires liées au NO. *Press Med* 1998;27:1065-6.
19. Ialenti A, Iannaro A, Monaco S. Modulation of acute inflammation by endogenous nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 1992;211:177-82.
20. Natham C, Xie QR, Nitric oxide synthases. Roles, tolls and controls. *Cell* 1994;78:915-8.
21. Johnson ML, Billiar TR. Roles of nitric in surgical infection and sepsis. *World J Surg* 1998;22:187-96.
22. Sganga G, Gangery G, Castagretto M. The gut: a central organ in the development of multiple organ system failure. *En: Infection control in the ICU for Saere. Silvestri HKE, Cae MH, eds. Milano: Springer-Verlag; 1998:257-68.*
23. Oberpaur B, Donoso FA, Claverin R, Valverde C, Boza C. Azul de metileno en niños con hipotensión refractaria por choque séptico. *Rev Clin Pediatr* 1997;68:205-9.
24. Landin L, Lorente JA, Rives E, Canas P, Jorge P, Liste D. Inhibition of nitric oxide synthesis improves the vasoconstrictive effect of noradrenaline in sepsis. *Chest* 1994;106:250-6.
25. Tiritilli A. No: rôle dans le vieillissement. *Press Med* 1998;27(2):1071-2.
26. Lefer AM, Lefer DT. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996;32:743-5.
27. Davenpeck KL, Gauthier TW, Lefer AM. Inhibition of endothelial derived nitric oxide promotes P-selectin expression and factors in the rat microcirculation. *Gastroenterology* 1994;104:1050-8.
28. Gauthier TW, Davenpeck KL, Lefer AM. Nitric oxide attenuates leukocyte-endothelial interaction via P-selection in splanchnic ischemia-reperfusion. *Am J Physiol* 1994;267:562-8.
29. Piedrafita D, Liew F. Nitric oxide: a protective or pathogenic molecule. *Rev Med Microbiol* 1998;9:179-89.
30. Liew FY. Regulation of lymphocyte functions by nitric oxide. *Curr Opin Infect Dis* 1995;8:181-5.
31. Roth E. L-arginine-nitric oxide metabolism. Glutamine: a new player in this metabolic game? *Clin Nutr* 1998;17:1-2.
32. Nelly PJD, Kirk SJ, Gardiner KR, Rowlands BJ. The L-arginine/nitric oxide pathway biological properties and therapeutic applications. *Ulster Med J* 1994;63:193-200.
33. Houdjik APJ, Visser JJ, Rijnsburger ER, Teerlink T, Leeuwen PAM Van. Dietary glutamine supplementation reduces plasma nitrate levels in rat. *Clin Nutr* 1998;17:13-16.
34. Chowieny P, Reitter J. Arginina: NO more than a simple amino acid. *Lancet* 1997;350:901.
35. Griffiths RD, Jones C, Palmer. Six month outcome of critically ill patients given glutamine-supplement parenteral nutrition. *Nutr* 1997;13:295-302.
36. Andrade Lopes JM, Carvalho M, Lopes Moreira ME, Cabral JO. Oxido nítrico no tratamento da hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido. *Arch Arg Pediatr* 1997;95:33-7.
37. Puybasset L, Stewart T, Rouby JJ, Cluzel P, Morgeon E. Inhaled nitric oxide reverses the increase in pulmonary vascular resistance induced by permissive hypercapnia in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1994;80:1254-67.
38. Demirakca S, Dötsch J, Knothe C, Magsaam J, Reiter HL. Inhaled nitric oxide in neonatal and pediatric acute respiratory distress syndrome: dose response, prolonged inhalation and pediatric acute respiratory distress syndrome: dose response, prolonged inhalation and weaning. *Pediatr Crit Care* 1996;24:1913-9.

39. López-Herce J, Cueto-Calvo E, Carrillo- Álvarez A, Vázquez-García P, Bustinza Arriontía A. Respuesta aguda a la administración de óxido nítrico. *An Esp Pediatr* 1997;46:581-6.
40. Young JD, Dgar OJ. Delivery and monitorig of inhaled nitric oxide. *Intensiv Care Med* 1996;22:77-86.
41. López-Herce J, Galindo Sánchez A, Ramírez Serña C, Sancho Pérez. Tratamiento con óxido nítrico en niños. Evolución clínica, toxicidad y factores que influyen en la respuesta. *An Esp Pediatr* 1991;40(6):542-8.

Recibido: 15 de febrero de 1999. Aprobado: 30 de marzo de 1999.

Dra. *Vivian R. Mena Miranda*. Calle 15, No. 1209, entre 18 y 20, municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.