MEDICAS UIS
REVISTA DE LOS ESTUDIANTES DE LA UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

Artículo de revisión

Esenciales en biología, patobiología y bioclínica del óxido nítrico

Grégory Alfonso García *
Ómar Ramón Mejía **
Ananías García Cardona ***
Álvaro Andrés Gaitán ****

RESUMEN
El óxido nítrico es un regulador multifuncional, fundamental para diversos procesos incluyendo la inflamación, vasoregulación, señalización intra e intercelular, apoptosis y carcinogénesis. La falla en la síntesis y/o la pérdida de la biodisponibilidad de óxido nítrico es la principal característica de muchas enfermedades. La comprensión de los mecanismos subyacentes a los efectos del óxido nítrico a nivel celular y tisular, permitirá el desarrollo de nuevas terapias para balancear los efectos del óxido nítrico in vivo. El objetivo de esta revisión es mencionar los principales hallazgos en el campo de investigación relativo a este gas diatómico y su dinámica biológica. (MÉD. UIS. 2009;22(1):41-54).
Palabras clave: Antioxidante. Especies reactivas del nitrógeno. Especies reactivas del oxígeno. Óxido nítrico. Señalamiento celular.

*MD. Docente Experto Genética, Bioquímica, Biología Celular y Molecular Humana. Docente Experto Farmacología y Toxicología Humana. Facultad de Medicina. Grupo de Medicina Translacional. Instituto de Investigación. Unisánitas. Docente. Especialización Laboratorio Inmunología Clínica. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.

**MD. Docente. Facultad de Medicina, y Facultad de Rehabilitación, Terapia y Desarrollo Humano. Instituto de Ciencias Básicas. Universidad del Rosario. Docente. Facultad de Medicina. Escuela Colombiana de Medicina. Universidad El Bosque. Bogotá. Colombia.

***DDC. Docente. Coordinador Unidad de Morfología. Facultad de Medicina, y Facultad de Rehabilitación, Terapia y Desarrollo Humano. Instituto de Ciencias Básicas. Universidad del Rosario. Bogotá. Colombia.

****Interno Senior. XII Semestre. Facultad de Medicina. FUSM (Fundación Universitaria San Martín). Res. Sch. Department of Medicine/Infectious Diseases. UTHSCSA. USA.

Correspondencia: Dr. García. Avenida 68 No. 22A-30. Fundación Universitaria Sánitas. Bogotá. Colombia. e-mail: jupiterodingregoryalfonso@hotmail.com

Artículo recibido el 8 de noviembre de 2008 y aceptado para publicación el 20 de marzo de 2009.

Introducción

El trabajo coordinado de células para generar estructuras biológicas neguentrópicas, es la base de la vida en nuestro planeta y esto sólo se logra por medio de interacciones con mediadores de comunicación celular[1,2].

En la década del ochenta del siglo XX, aparecen los gases en el escenario de la citocomunicación, con la entrada en escena del Óxido Nítrico (NO), con una andanada de investigaciones que comenzaron en 1987 y llevaron a esta molécula en 1992 a ser proclamada la molécula del año[3-9].

Posteriormente aparece el Monóxido de Carbono (CO) de producción endógena a partir del catabolismo del grupo prostético HEMO[10] y finalmente surge el ácido sulfhídrico derivado del metabolismo de los sulfoaminoácidos[11]. Con ellos se abre el abanico de la "Gasocrinidad" y los mediadores "Gasocrinos"[12]. El caso del NO es curioso, pues si bien su descubrimiento

fue relativamente temprano, actualmente posee gran impacto ya que existe actualmente una revista exclusiva para la difusión y publicación de las temáticas más relacionadas con él, la cual es el periódico oficial de la *Nitric Oxide Society*[13].

No se debe olvidar que el mismo dióxido de carbono (CO_2) es un mensajero que media acciones sobre los quimiorreceptores y actualmente hay evidencia de un control incluso neuroendocrino mediado por él[14].

El NO es un sensor y regulador maestro de una gran diversidad de fenómenos biológicos y procesos patobiológicos. El conocimiento del rol del NO en la fisiología, la fisiopatología y la patogenia humana, es escencial en una aproximación fármaco-terapeútica más lógica, o por decirlo en otras palabras "más biológica" a la historia natural de la enfermedad[15,16]. El conocimiento por parte del personal de salud médico tanto de pregrado como de postgrado, del rol del NO faculta una mayor posibilidad de abarcar los procesos biológicos, patobiológicos, bioclínicos y fármaco-terapeúticos. El objetivo, por medio del presente trabajo de investigación formativa, es ofrecer una visión actual, clara y útil del estado del arte en el campo dinámico del NO.

Metodología, estrategia de búsqueda y fuentes bibliográficas

El tipo de revisión que se realizó es del tipo narrativa y descriptiva. Esta búsqueda se sustentó en dos campos: los bancos de genética, genómica, proteómica y enzimológica; y los bancos de bibliografía científica.

En el primer caso se consultó el banco de Genética y Genómica Humana MIM (del inglés *Mendelian Inheritance McKusick*)[17], el HUGO (del inglés *Human Genome Organization*)[18] y el IUMBM (del inglés *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*)[19]. Se utilizará la nomenclatura y codificación para genes, proteínas y enzimas, asignada por estas tres bases informáticas.

Para la búsqueda de bibliografía y literatura científica médica humana, se consultó los dos principales bancos electrónicos: el banco norteamericano PUBMEDLINE (del inglés *National Library of Medicine database*)[20] y el banco europeo EMBASE (del inglés *The bibliographic database for biomedical and pharmacological information*)[21]. La matriz de búsqueda que se aplicó para PubMed y EMBASE fue "*human nitric oxide review*" con los campos "*biology, biochemistry, molecular cell biology, immunology, hematology, immunobiology, pathobiology, pathology, pharmacology, toxicology*", con conectores "*OR, AND, OR/AND*", con los límites de fecha "2007-presente", aunque se tomó en cuenta y se citaron algunas referencias clásicas anteriores e históricas.

En este artículo sólo se analizará el campo de eventos fisiológicos y patofisiológicos del NO, y no se abordará la temática química y bioquímica del NO y de las NO-sintetasas (NOS), y para tal finalidad se recomienda consultar un artículo de profundidad previo de los autores[22].

Definiendo el problema del NO

El NO es un reconocido gas de polución ambiental, y un mediador de comunicación celular que ejerce acciones celulares autocrinas, tisulares paracrinas y sistémicas endocrinas. Su dinámica endocrina depende de que puede ser transportado por proteínas plasmáticas como la albúmina y hemoglobina, desde un sitio primario de biosíntesis siendo el principal productor plasmático el parénquima pulmonar a sitios blancos que estén irrigados. Son también transportadores plasmáticos la proteína membranal eritrocitaria AE1 (intercambiador aniónico) y la gamma-glutamil-cisteína-transpeptidasa (en la nomenclatura de antígenos inmunológicos, respectivamente son CD233-molécula que también acarrea el grupo antigénico sanguíneo Diego y CD224)[23].

La complejidad en la actividad del NO surge a partir de las siguientes situaciones: la bioquímica estructural y funcional de las enzimas NO-sintetasas; gracias al ciclo nitrito-nitrato y reacciones de óxido-reducción de metabolitos intermediarios; el umbral de concentración, ya que dependiendo las

concentraciones ejerce funciones distintas y antagónicas; el microambiente celular y tisular, ya que modula y es modulado por otros mediadores, como citoquinas, neurotransmisores, hormonas y factores de crecimiento. Esta modulación en muchas ocasiones se explica como la sumatoria de eventos agonistas y antagonistas; el momento celular y tisular, ya que puede tener efectos disímiles entre células en plena diferenciación o ya diferenciadas (Figura 1).

EL CICLO NITRITO-NITRATO

Los aniones inorgánicos nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) clásicamente se han considerado productos finales del metabolismo del NO, sin embargo hoy es evidente que dentro de la economía, ellos pueden ser reciclados para liberar NO y son por tanto una fuente no enzimática del mismo, en especial en estados hipóxicos.

El nitrito (NO_2^-) se forma a partir de: autoxidación a una tasa relativamente lenta; oxidación plasmática por la cuproenzima ceruloplasmina; y por la reducción dependiente de la nitrato-reductasa bacteriana comensal de la cavidad oral y el tracto gastrointestinal.

El nitrito puede sufrir reducción por acción dependiente de las globinas (hemoglobina, mioglobina y neuroglobina); por la acción de la xantina-óxido-reductasa; por reducción acídica, es decir por protonación. Ésta colateralmente libera óxidos del nitrógeno, tanto nitrosantes (N_2O_3) como nitrantes (dióxido de nitrógeno y $\bullet NO_2$); por la catálisis directa mediada por la vitamina C; y por polifenoles dietarios.

El nitrito igualmente puede ser oxidado por la actividad de las globinas, resultando la formación de metahemoglobina y nitrato. Dentro del ciclo del nitrito-nitrato se ha encontrado la existencia de una ruta de circulación entero-salivar, en la cual el nitrato inorgánico ingerido a partir de fuentes dietarias es rápidamente absorbido en el intestino delgado y de este pool el 75% se excreta por orina, y un 25% es activamente extraído en las glándulas salivares y concentrado en la saliva. En la boca, los comensales facultativos anaeróbicos reducen efectivamente el nitrato a nitrito por la acción de la nitrato-reductasa. En el estómago, el medio ácido descompone espontáneamente el nitrito en NO y otros intermediarios bioactivos. El nitrato y el nitrito provenientes tanto de la dieta como de la ruta salivar-entérica, pueden ser absorbidos intestinalmente hacia la circulación y pueden ser convertidos en NO en la sangre y en los tejidos, especialmente bajo hipoxia fisiológica[24] (Figura 2).

Considerando lo antes expresado y luego de la afanosa investigación de estos últimos años, queda claro que la dinámica del NO en biología ha cambiado desde el efecto vasodilatador inicialmente descubierto, hasta hoy donde se ha encontrado que es clave como neurotransmisor de aprendizaje, memoria y de la fase cefálica de la excitación sexual; panregulador de músculos

Figura 1. Complejidad del Óxido Nítrico.

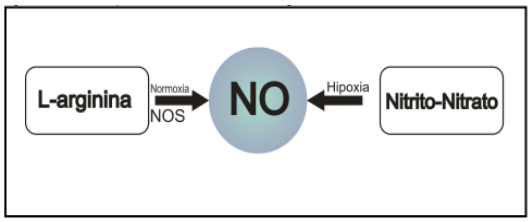

Figura 2. Síntesis del NO dependiendo de las concentraciones de oxígeno.

lisos: vasodilatación, vaciamiento gástrico, erección peneana, entre otros; regulador cardiorenovascular; regulador hemato-inmune (inmunidad, tolerancia, inflamación, agregación plaquetaria); regulador de la liberación hormonal y de neurotransmisores; e inmunorregulador[25].

Generalidades de la dinámica del NO

La fisiología del NO se deriva de su alta reactividad y la consecuente formación de especies intermediarias reactivas, los cuales tienen acciones muy particulares e individuales, se consideran hoy que favorecen también el transporte y dinámica del NO dentro de los organismos, como ya se mencionó con el ciclo nitrito-nitrato. Las especies reactivas intermediarias aparentemente sigue creciendo en biología, son variadas, son complejas y como ya se mencionó, cada vez sigue aumentando las particularidades e idiosincrasia (p. e. peroxinitrito y nitroxil), además, es aún un problema también por la nomenclatura en química inorgánica y orgánica, dado que es compleja para una persona no versada en ese campo, y en ella se tienen en cuenta los estados de oxidación tanto del nitrógeno como del oxígeno, y otros factores asociados como el pH. Además se debe sumar la propiedad de que los radicales libres suceden tanto en fase acuosa como en fase gaseosa, esto último podría tener una trascendencia inusitada en biología y patobiología ventilo-respiratoria[26].

La generación de especies reactivas se hace por tres grandes mecanismos:

- La oxidación y reducción del NO interconvertiblemente donde la pérdida de un electrón genera NO^+ (nitrosonium) o la ganancia de un electrón genera NO^- (anión nitroxil). El Nitrosonium puede oxidarse hacia ión nitronium (NO_2^+). Estas formas de NO varían de acuerdo al número de oxidación del nitrógeno, la carga molecular y el largo del puente entre el nitrógeno y el oxígeno. Otro rasgo llamativo y aparentemente fundamental en este ítem es que la carga de neutralidad del NO está en función del pH, en medio acuoso.
- La reactividad del NO y sus radicales interconvertibles con oxígeno atómico, oxígeno molecular (O_2) o moléculas que contienen oxígeno y los radicales libres derivados en todas estas presentaciones. Ejemplos de estas especies oxidativas son el singlete de oxígeno, el superóxido, el radical hidroperoxil, el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxil, el ácido hipocloroso y el radical trioxocarbonato. Esta reactividad varía según se presente el proceso en fase acuosa o en fase gaseosa, es así que en la ausencia de oxígeno el NO se disuelve en agua quizás pobremente. En el aire el NO reacciona con oxígeno para formar dióxido de nitrógeno (NO_2) el cual es un gas. El NO_2 puede oxidarse hacia el radical dióxido de nitrógeno (NO_2).
- Procesos de clivaje simétrico o asimétrico y la isomerización. Por ejemplo, la reacción en fase acuosa del NO con superóxido genera el intermediario anión peroxinitrito (OONO-) el cual es inestable y se reordena para formar nitrato, pero en fase gaseosa se descompone hacia hidroxilo y dióxido de nitrógeno. La formación de nitrato en fase acuosa se ha demostrado que es pH dependiente, ya que la conformación isomérica en pH alcalino es cis y sólo un porcentaje menor está protonado, situación clave dado que cuando se protona se isomeriza a trans y se rearregla a nitrato[26-9].

Todas estas especies nitro-oxidadas se denominan en conjunto como Especies Radicales del Nitrógeno (RNS del inglés *Radical Nitrogen Species*), dentro de las que también se incluyen otras como el ácido peroxinitroso (ONOOH) y el radical halogenado llamado nitril-cloruro (NO_2Cl).

Actualmente también parece evidente que las bacterias tanto comensales como las infecto-patógenas también participan en el metabolismo complejo del NO y sus especies reactivas[30]. Incluso, en algunas de ellas se ha detectado un regulador transcripcional que es sensor de NO, que se denomina como NoR[31].

Generalidades sobre la interacción del NO con dianas moleculares

Este campo tiene una connotación histórica ya que se habían identificado con mucha

anterioridad al descubrimiento y a la consecuente explosión de información del NO, puesto que había un amplio conocimiento importante en toxicología, en el campo referente a la intoxicación con óxidos de nitrógeno a nivel industrial. Otro campo de igual connotación era el derivado del metabolismo del nitrógeno a nivel bacterial.

El NO a causa de su capacidad REDOX es capaz de nitrar sitios nucleofílicos en cualquier biomolécula, sin embargo hay información pertinente en el contexto de las proteínas y en especial en algunas de ellas, ya que hay una reactividad proteica variable, no todas las proteínas parecen ser blanco. Esta modificaciones proteicas pueden darse en sus grupos aminos, anillos aromáticos, grupos alcohol y tioles reducidos. De tal forma que teóricamente cualquier aminoácido aislado o en contexto proteico puede ser nitrado (reacción de nitración), aunque hay una prioridad por los aminoácidos con grupos tiólicos (cisteína y metionina) y estructuras aromáticas (tirosina, triptófano y fenilalanina). De la nitración en particular hay información importante sobre la reactividad del NO y sus derivados RNS, procesos denominados respectivamente: "nitrosilación" y "nitrosación". Esta reactividad se da por ejemplo, con el grupo thiólico en estado reducido de la cisteína y de la metionina y con la posición 3 del anillo aromático de la tirosina.

Los grupos tiol que se ubican en los residuos de cisteína y metionina de las proteínas pueden ser blanco de una regulación compleja, por cuanto pueden sufrir S-tiolación por medio del glutatión y moléculas tiólicas similares; S-nitrosilación con NO; S-nitrosación con RNS; y oxidación por radicales libres hacia ácido sulfénico, ácido sulfínico o ácido sulfónico[32-6].

Su actividad formadora de complejos con iones metálicos de transición (M-NO)[37,38], es la propiedad clave para explicar su unión al hierro del grupo HEMO, al igual que lo hace el oxígeno molecular (O_2) y el CO[39-42]; su unión al hierro de los grupos prostéticos Ferro-Azufre (Fe-S)[43]; su interacción con el zinc (p. e. factores de transcripción del tipo dedos de zinc y las metalotioneínas)[44]; su unión al manganeso (p. ej. manganeso-superóxido-dismutasa)45; y su interacción con el cobre (p. ej. ceruloplasmina)[38,46].

Una diferencia fundamental con el O_2 y el CO, es que el NO une tanto la forma ferrosa como la forma férrica del hierro del grupo HEMO, y hay que recalcar adicionalmente que el NO puede alterar el potencial REDOX del mismo. La interacción del hierro con el grupo HEMO depende de la conversión del grupo HEMO hacia la molécula protoporfinina IX. La unión del NO permite que proteínas de almacenamiento y de transporte de metales los liberen, como sucede con la transferrina, la ferritina y la ceruloplasmina. Después de todo esto, queda el interrogante del rol pro-oxidante generado por el NO al favorecer la liberación de metales y metaloides de transición que potencialmente por medio de reacciones Fenton desencadenarían cascadas oxidativas. La regulación puede ser bastante compleja ya que las modificaciones oxidativas de las hemoproteínas pueden desencadenar la liberación del grupo hemo y/o degradación, tal como sucede con la mioglobina y el citocromo c. En otras instancias la oxidación de residuos de histidina, disrupta la coordinación con núcleos metálicos, como sucede con la cobre/zinc-superóxido-dismutasa.

Su actividad formadora de nitro-aductos, es decir mediante el proceso de "nitración", se produce ya sea porque cataliza la formación de "tionitritos" con grupos tiol en cisteínas (formulación técnica en química orgánica RSNO), produciéndose la S-nitro/nitroso-cisteína (proceso denominado "S-nitrosilación o S-nitrosación") o de N-nitración cuando el NO (N-nitrosilación) o especies derivadas del NO (N-nitrosación) reaccionan con la tirosina generándose residuos de di-tirosina, o,o'-di-tirosina, nitro-tirosina (ej: 3-nitrotirosina, trinitrotirosina), hálido-tirosina (ej: cloro-tirosina, bromotirosina), 3-hidroxitirosina, pulcherosina y variedades isoméricas (p. e. iso-di-tirosina).

Hoy se establece que a nivel biológico el actor clave de la nitración no es el NO en sí mismo

sino que principalmente sus derivados RNS, e in vivo por ejemplo la tirosina-nitración sucede ana-enzimáticamente en condiciones hidrofóbicas, o enzimáticamente por medio de HEMO-peroxidasas, sin contar que algunas proteínas pueden catalizar su propia tirosina-nitración a partir del peroxinitrito como sucede con la prostaciclina-sintetasa y la manganeso-superóxido-dismutasa y otras se nitran por radicales altamente reactivos, lo que incluye un intermediario reactivo formado a partir de la reacción entre el peroxinitrito y el dióxido de carbono(CO_2) y el ácido nitroso, el cual se forma primariamente por la acidificación del nitrito.

Generalizando el anión peroxinitrito primariamente y secundariamente el dióxido de nitrógeno son los involucrados en la tirosina-nitración, los cuales se forman como productos secundarios del NO en la presencia de radicales superóxido, peróxido de hidrógeno y centros catalíticos enzimáticos que poseen metales de transición. Fuera de lo anterior se ha encontrado que la mieloperoxidasa, la eosinófilo-peroxidasa, la mioglobina y los citocromos P450 catalizan la oxidación del nitrito a dióxido de nitrógeno, el cual también es capaz de nitrar. La eosinófilo-peroxidasa y la mieloperoxidasas, son capaces directamente de nitrar proteínas blanco.

El estatus de tirosina-nitración varía de proteína a proteína, así se ha encontrado que las histonas II-S y VIII-S, IgGs, PKAs (proteína kinasas dependientes de cAMP), fosforilasa b y fosforilasa-kinasa lo son fuertemente; histonas VI-S, glicógeno-sintasa, lactatodeshidrogenasas, actinas, tiroglobulina y macroglobulina lo son moderadamente; la histona III-S, caseínas, acetilcolinesterasa, DNasa I, y lipasa lo son débilmente; y la histona VII-S, piruvato-kinasa, tripsina, pepsina, quimotripsina, proteasa IV, proteasa XIII, y glutatión-S-transferasa, no son tirosina-nitrosiladas[47-9,50-4]. En la figura 3 se esquematiza los grandes procesos mencionados en este aparte.

Regulación de ferroproteínas: Actividad HEMO- y Fe-S dependiente del NO

Como se mencionó previamente, potencialmente toda proteína con grupos HEMO y hierro es

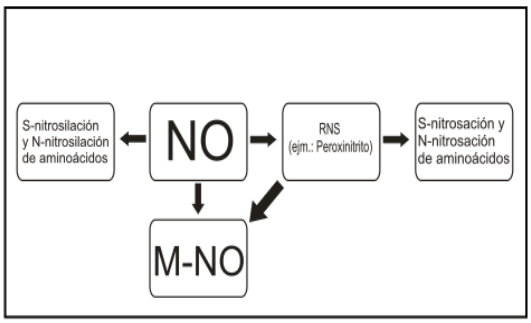

Figura 3. Reacciones de nitración dependientes del NO y sus derivados.

blanco regulatorio del NO y la regulación puede ser sumamente compleja, si sumamos que incluso la fracción proteica de la hemo-proteína puede sufrir Nitración de las cisteínas y las tirosinas, y otros aminoácidos[39-42]. A partir de esto el NO puede explicar muchas de sus funciones biológicas, por su acción en la regulación de la hemoglobina sanguínea; la mioglobina muscular; la neuroglobina neural; las guanilato ciclasas solubles; las lipo-oxigenasas; las ciclo-oxigenasas; la catalasa peroxisomal; y la gran familia de los citocromos tanto mitocondriales como el citocromo c con roles tanto en óxido-reducción en la cadena respiratoria como en apoptosis, como los Citocromo P450 de expresión preponderante en el retículo endoplásmico liso.

En la hemoglobina es clave destacar que de la S-nitrosilación de la cisteína en la posición 93 de la cadena beta depende de la transición alostérica hacia la forma relajada de alta afinidad. De tal forma que la forma T (Tensa) es de bajo potencial de S-nitrosilación. Una correlación bioclínica interesante es como la Met-hemoglobina es esencialmente de forma T, lo que explica su bajo potencial de S-nitrosilación[55-60]. La entrada y salida de gases neutros en el eritrocito, tales como el CO_2, NH_3 y posiblemente el oxígeno y el NO, se hace a través de una de las proteínas del grupo Rh denominada como RhAG (del inglés *Rh-associated glycoprotein*).

Proteínas con grupos prostéticos Fe-S son ubicadas como componentes de la cadena respiratoria mitocondrial (en los complejos I, II

y III) y también son encontrados en las enzimas de actividad aconitasa[61,62].

Roles fisiológicos de la S- y la N-nitración y la formación de metal-NO aductos (M-NO)

La finalidad de los procesos de S-, N-nitración y la formación de M-NO, es la regulación bioquímica funcional de las proteínas que son diana de ellos. Tres ejemplos referidos a lo anterior son:

- La compleja serie de eventos derivados a partir de estas modificaciones en la hemoglobina, en la cual como resultado se modula la actividad transportadora de oxígeno y CO_2. Adicionalmente el NO y sus especies derivadas son transportadas desde el pulmón a los tejidos vasculares para que ejerzan allí su actividad biológica, primordialmente el vaso-trofismo, del cual puntualizaremos las propiedades de éste posteriormente[39-42,55-62].
- La activación de las guanilato-ciclasas solubles, con la consecuente producción del segundo mensajero GMPc y la posterior activación de las serina/treonina-kinasas PKGs. Tanto el GMPc directa como indirectamente a través de las PKGs controla la dinámica de transporte electrolítico en la plasmalema, la dinámica del calcio en el retículo endoplásmico liso y la dinámica citoesquelética, favoreciendo a dosis nanomolares la relajación de tejidos musculares[63].
- La interacción con las metalotioneínas aumenta la liberación del zinc, y favorece así un efecto anti-apoptótico, ya que es el zinc es el antagonista natural del calcio[37,38,44,64,65].

Mecanismos bioquímicos de denitración

Este proceso permite que los fenómenos mediados por el NO y sus especies derivadas tengan un lapso y así generen homeostasis, y que haya una válvula de seguridad que proporcione la temporalidad necesaria para tales eventos químicos dentro de las redes bioquímicas que componen la vida. Dentro ellos se tienen la existencia de enzimas de naturaleza "denitrasa". Incluso hay reportes científicos de una actividad denitrasa dependiente de la coenzima NAD(P)H. También se ha comprobado la acción de óxido-reductasa dependiente de núcleos metálicos como la ceruloplasmina en la reducción de residuos nitrados oxidativamente[66-71], de que sistemas proteolíticos celulares podrían remover proteínas nitradas[72-74], de la remoción mediada inmunológicamente[75,76] (Figura 4).

Fisiología y fisiopatología del NO

Entre los roles fisiológicos celulares de NO se encuentran:

- La regulación del metabolismo energético a diversos niveles, pero de singular importancia en el control oxidativo mitocondrial[77-9], incluso en tejidos de alto perfil como el corazón[80-2] y el cerebro[83,84]. La mitocondria es un sitio central de producción de NO endógenamente gracias a que posee una isoenzima específica de las NOS[22,85,86]. Este control metabólico es relativamente complejo y dentro de las acciones más importantes es la modulación de la citocromo oxidasa, acción en la cual sinergiza con el CO y el H_2S[87].
- La regulación de la expresión génica, evento que se observa desde las bacterias como ya se mencionó previamente en este escrito con el regulador transcripcional eucariota NorR y con otros similares como NsrR[31,88], hasta el control complejo

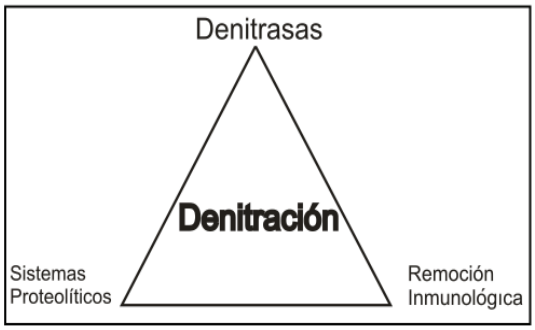

Figura 4. Mecanismos de catabolismo para las reacciones de nitración.

que puede hacer por modificación directa (p. ej. tirosina-nitración) de factores de transcripción eucariotas[89-91].

- La regulación de la división y proliferación celular vs. la regulación de la decisión vida-muerte, todos estos siendo eventos claves en la historia natural de la neoplasia[92-4] y de elementos tan particulares como la hiperplasia intimal en la placa aterosclerótica[95].
- La regulación del metabolismo hidro-electrolítico ácido-base tanto a nivel renal, tisular y celular. En el riñón se han identificado muchas de las isoenzimas de las NOS tanto en el componente parenquimatoso como en el componente estromal, con un patrón de expresión y regulación complejo que trasciende en la dinámica nefrofisiológica y que va más allá de esta breve revisión pero que ha sido groseramente plasmado aquí y que podríamos llamar como "NOfrología". Del NO se ha identificado una relación en la hemodinámica renal, el transporte renal de solutos, el retrocontrol túbulo-glomerular, la respuesta presión-natriuresis y por ende la aclimataición a la ingesta alta de sal, la modulación del sistema neurovegetativo autónomo renal, la energética celular renal, la regulación del eje RAS (Renina-Angiotensina-Aldosterona). La investigación ha evidenciado la desregulación del NO en el envejecimiento del riñón, la hipertensión arterial, la sensibilidad al sodio y daño cardiorenal, la nefropatía diabética, el riñón en los sindromes de respuesta inflamatoria sistémica, las glomerulonefritis, la nefritis túbulo-intersticial, la falla renal aguda, la falla renal crónica, fibrosis renal y la dinámica del trasplante renal[22,96-100]. Resulta de interés el hallazgo de un dimorfismo sexual en la dinámica del NO en el riñón entre el género masculino y femenino y la dinámica del envejecimiento[101], que podría explicar la génesis de la enfermedad cardiovascular en mujeres y desde un ámbito incluso de modulación genética diferencial[102]. También es evidente la regulación de canales tanto de sarcolema como de retículo sarcoplámico en el ciclo contracción-relajación cardíaca[103,104]. Su potencial cardiovascular también ha sido encontrado en la modulación de los canales TRP (del inglés *Transient Receptor Potencial*) incluso en el endotelio[105]. Hoy está ampliamente sustentado la disfunción del sistema nitrérgico en enfermedad vascular a todos los niveles[106-9].
- La regulación de las cascadas de transducción de señales teniendo como ejemplos de blancos particulares a la neurosinapsis[110] y la modulación del rol que tiene la mitocondria en señalamiento[111].

A partir de estos roles fisiológicos celulares se fundamenta:

- La regulación de la actividad contráctil del músculo liso visceral del tracto gastrointestinal[112-5], genitourinario[116-9] y ventilorespiratorio[120] y el músculo estriado tanto esquelético[121,122] como cardíaco[123-5] e también incluye el estroma fibromuscular de la próstata[126].
- La actividad hemato-inmune, tanto en inmunidad e inflamación fisiológica[127-30], encontrando una clara asociación temporo-espacial y funcional entre las enzimas NOS, el sistema las ciclooxigenasas y las NADPH-oxidasas[131,132]. Es evidente el papel del NO en autoinmunidad y enfermedades autoinmunes[133,134].
- La actividad neurobiológica y neuro-bioquímica[83,84,91,110,135,136]. Es curioso sin un contexto biológico el hallazgo del rol del NO como uno de los neurotransmisores claves en la fisiología de los núcleos respiratorios del tallo cerebral[137].
- La actividad vascular incluyendo no sólo la reactividad del músculo liso sino que también la balanza coagulación-anticoagulación[138-40].

Su rol en metabolismo energético es pleiotrópico, pero es importante mencionar que el NO por medio de la generación de GMPc activa la expresión del gen codificante de PGC1A (coactivador isoforma 1 alfa para el factor de transcripción PPARG), el cual ha mostrado convincentemente una actividad pro-generadora de mitocondrias (biogénesis mitocondrial), ya que actúa como un regulador

positivo de la actividad de los factores de transcripción NRFs (del inglés Nuclear Respiratory Factors) y mtTFA (del inglés Mitochondrial Transcription Factor A), que son respectivamente reguladores maestros de la expresión de genes nucleares de destino mitocondrial y genes del genoma mitocondrial[141,142].

La doble vida del NO

En base a lo arriba expuesto, se puede generalizar que las concentraciones nano-molares son: anti-oxidantes; vasculotróficas: vasodilatador, regulador de la permeabilidad y regulador de la angiogénesis; anti-trombóticas; anti-inflamatorias; anti-apoptóticas; y antiproliferativas (citostasis). Por el contrario las concentraciones micromolares son pro-oxidantes; vasopáticas: vasoconstrictoras, propermeabilidad y proangiogénicas; pro-trombóticas; pro-inflamatorias; proapoptóticas; y promitógenas[25].

Con respecto al comportamento neoplásico y el NO, es clave recalcar que la dicotomía del papel del NO que se mencionó al respecto de sus concentraciones (proapoptótico o anti-apoptótico), se aplica plenamente, y a ello se le debe sumar el rol del NO en modificación inmunogénica de antígenos y como inmunoregulador[25,143] (Figura 5).

NO y el Metabolismo del Hierro

Otra función biológica del NO es intervenir en la regulación del metabolismo del hierro, de ahí que niveles elevados de NO unen a las proteínas denominadas IRPs (del inglés- Iron Regulatory Proteins-) las cuales pasan de comportarse enzimáticamente como aconitasas-citosólicas hacia proteínas IRPs, que unen regiones regulatorias del tipo UTR (del inglés *Untranslated Region*), es decir, que son regiones de ARN mensajero que no son codificadoras de segmentos proteicos en los extremos de los ARN mensajeros codificantes de varias proteínas involucradas en la biodinámica del hierro, y de esta forma evitan que ellas sean traducidas génicamente a sus proteínas correspondientes. En la anemia de las enfermedades crónicas, a través de este mecanismo se produce un exceso de almacenamiento retículo-endotelial férrico, que no permite su disponibilidad para la síntesis de hemoglobina[144,145].

Cabe mencionar que el NO muestra roles diversos y complejos en la regulación de la eritropoyesis[146].

Conclusión

El NO sigue siendo una molécula novedosa dentro del panorama biológico, patobiológico y

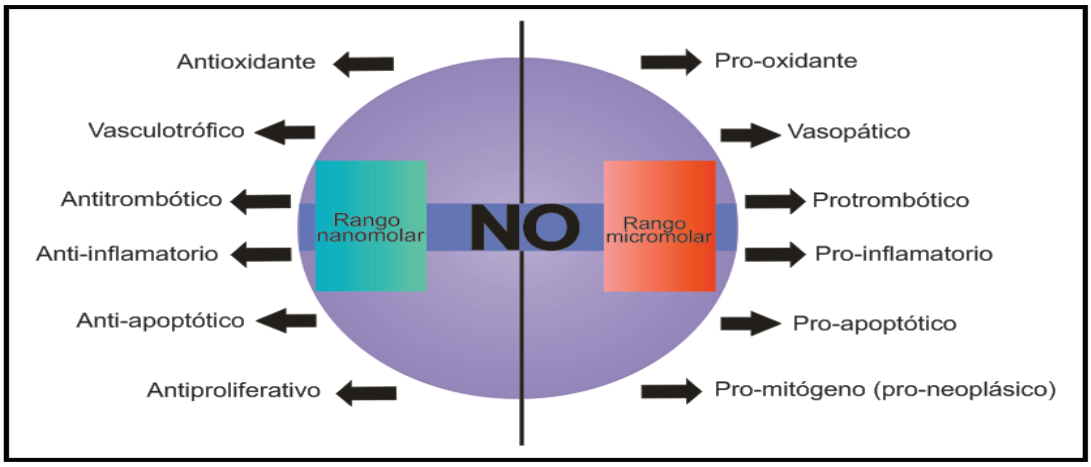

Figura 5. Comportamiento dicotómico del NO.

bioclínico, y su mayor entendimiento ofrece perspectivas novedosas hacia futuro en el manejo de entidades cotidianas. Su función sigue ampliándose para explicar la dinámica de tejidos como el ojo donde los diversos componentes tisulares y celulares expresan el sistema nitrérgico, y cuya disfunción está involucrada en la génesis de patologías como el glaucoma y las retinopatías diabética e hipertensiva[147,148]. El NO también ha demostrado un papel clave en la dinámica ósea[149,150].

Dentro de la explosión de las medicinas alternativas y complementarias, el NO ha aparecido como un elemento generador de explicaciones a estas disciplinas desde la mirada de las medicinas occidentales, por ejemplo, estudios aplicados al campo de la acupuntura, han mostrado que existe liberación local de NO en los sitios de punción, lo cual podría implicar cambios vasculares y neurales locales que pueden trascender en cambios sistémicos[151,152].

Summary

Escentials in biology, pathobiology and bioclinics of Nitric Oxide

Nitric oxide is a multifunctional regulator, which is central to diverse processes including inflammation, vasoregulation, intra- and intercellular signaling, apoptosis, and carcinogenesis. The failure in the synthesis and/or loss of bioavailability of nitric oxide is the main characteristic of many diseases. Understanding the mechanisms underlying the effects of nitric oxide at the cellular and tissue level, will allow the development of new therapies to balance the effects of nitric oxide in vivo. The purpose of this review is to mention the key findings in the field of research on this diatomic gas and their biological dynamics. (MED. UIS. 2009;22(1):41-54).

Key words: Antioxidant. Radical Nitrogen Species. Radical Oxygen Species. Nitric Oxide. Cell signalling.

Referencias Bibliográficas

1. Perbal B. Communication is the key. Cell Commun Signal. 2003;1:3-4.
2. Albert R. Scale-free networks in cell biology. J Cell Sci. 2005;118:4947-57.
3. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc Natl Acad Sci USA 1987;84:9265-9.
4. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature. 1988;333:664-6.
5. Myers PR, Minor RL Jr, Guerra R Jr, et al. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. Nature. 1990;345:161-3.
6. Barinaga M. Is nitric oxide the "retrograde messenger"?. Science 1991;254:1296-7.
7. Hoffman M. A new role for gases: neurotransmission. Science 1991;252:1788.
8. Koshland DE. The molecule of the year. Science 1992;258: 1861.
9. Culotta E, Koshland DE. NO: new is good news. Science 1992; 258: 1862-5.
10. Bilban M, Haschemi A, Wegiel B et al. Heme oxygenase and carbon monoxide initiate homeostatic signaling. J Mol Med 2008;86:267-79.
11. Li L, Moore PK. Putative biological roles of hydrogen sulfide in health and disease: a breath of not so fresh air? Trends Pharmacol Sci 2008;29:84-90.
12. Li L, Moore PK. An overview of the biological significance of endogenous gases: new roles for old molecules. Biochem Soc Trans 2007;35:1138-41.
13. NITRIC OXIDE: BIOLOGY AND CHEMISTRY. Holanda: Excerpta Medica-Elsevier-Academic Press; 1997-[fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_ome/622926/description#description
14. Shoja MM, Tubbs RS, Shokouhi G et al. The potential role of carbon dioxide in the neuroimmunoendocrine changes following cerebral ischemia. Life Sci 2008;83:381-7.
15. Durazo-Quiroz F, Pastelín-Hemández G, del Valle-Mondragón L et al. Nitric oxide in medicine]. Gac Med Mex 2007;143:401-14.
16. Ray A, Chakraborti A, Gulati K. Current trends in nitric oxide research. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand) 2007;53:3-14.
17. OMIM [base de datos en Internet]. Baltimore: Johns Hopkins University; 1966- [fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim
18. HUGO [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine and others(exp.: Celera Genomics and the Sanger Center); 1989- [fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: http://www.hugo-international.org/index.html
19. IUMBM[base de datos en Internet]. London : International Union of Biochemistry and Molecular Biology;1977- [fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/jcbn/index.html#2
20. PubMed [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 1966- [fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/

21. EMBASE [base de datos en Internet]. Holanda: Excerpta Medica-Elsevier; 1974-[fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: http://www.embase.com
22. Garcia GA, Clavijo DA, Mejía OR et al. Esenciales en Biomedicina (Biología, Patobiología y Bioclínica) Humana de las NOSs (Óxido Nítrico-Sintetasas). Rev CES Med 2007; 21: 61-82.
23. Datta B, Tufnell-Barrel T, Bleasdale RA et al. Red blood Cell Nitric Oxide as an Endocrine Vasoregulator. Circulation 2004;109:1339-42.
24. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. Nat Rev Drug Discov 2008;7:156-67.
25. Thippeswamy T, McKay JS, Quinn JP et al. Nitric oxide, a biological double-faced janus--is this good or bad? Histol Histopathol 2006;21:445-58.
26. Hughes MN. Chemistry of nitric oxide and related species. Methods Enzymol 2008;436:3-19.
27. Bryan NS, Grisham MB. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. Free Radic Biol Med 2007;43:645-57.
28. Szabó C, Ischiropoulos H, Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. Nat Rev Drug Discov 2007;6:662-80.
29. Fukuto JM, Jackson MI, Kaludercic N et al. Examining nitroxyl in biological systems. Methods Enzymol 2008;440:411-31.
30. Pullan ST, Monk CE, Lee L et al. Microbial responses to nitric oxide and nitrosative stress: growth, "omic," and physiological methods. Methods Enzymol 2008;437:499-519.
31. D'Autréaux B, Tucker N, Spiro S et al. Characterization of the nitric oxide-reactive transcriptional activator NorR. Methods Enzymol 2008;437:235-51.
32. Gow AJ, Farkouth CR, Munson DA et al. Biological significance of nitric oxide-mediated protein modifications. AJP Lung 2004; 262-8.
33. Gow AJ, Farkouh CR, Munson DA et al. Biological significance of nitric oxide-mediated protein modifications. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2004;287:L262-8.
34. Ischiropoulos H. Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration. Biochem Biophys Res Commun 2003;305:776-83.
35. Ischiropoulos H, Gow A. Pathophysiological functions of nitric oxide-mediated protein modifications. Toxicology 2005;208:299-303.
36. Borderie D, Ekindjian OG. Assessment of the nitrosylation process. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2008;11:587-91.
37. Radi R. Reactions of Nitric Oxide with metalloproteins. Chem Res Toxicol 1996;9:828-35.
38. Ford PC, Fernandez BO, Lim MD. Mechanisms of reductive nitrosylation in iron and copper models relevant to biological systems. Chem Rev 2005;105:2439-55.
39. Osipov AN, Borisenko GG, Vladimirov YA. Biological activity of hemoprotein nitrosyl complexes. Biochemistry (Mosc) 2007;72:1491-504.
40. Nienhaus K, Nienhaus GU. Ligand dynamics in heme proteins observed by Fourier transform infrared spectroscopy at cryogenic temperatures. Methods Enzymol 2008;437:347-78.
41. Richardson DR, Lok HC. The nitric oxide-iron interplay in mammalian cells: transport and storage of dinitrosyl iron complexes. Biochim Biophys Acta 2008;1780:638-51.
42. Zhu Y, Silverman RB. Revisiting heme mechanisms. A perspective on the mechanisms of nitric oxide synthase (NOS), Heme oxygenase (HO), and cytochrome P450s (CYP450s). Biochemistry 2008;47:2231-43.
43. Xu N, Powell DR, Cheng L et al. The first structurally characterized nitrosyl heme thiolate model complex. Chem Commun (Camb) 2006;19:2030-2.
44. Murakami M, Hirano T. Intracellular zinc homeostasis and zinc signaling. Cancer Sci 2008;99:1515-22.
45. Ischiropoulos H, Zh L, Chen J. Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalyzed by superoxide dismutase. Arch Biochem Biophys 1992;298:431-7.
46. Swain JA, Darley Usmar V, Gutteridge JM. Peroxynitrite releases copper from caeruloplasmin: Implications for atherosclerosis. FEBS Lett 1994;342:49-52.
47. Bartesaghi S, Ferrer-Sueta G, Peluffo G et al. Protein tyrosine nitration in hydrophilic and hydrophobic environments. Amino Acids 2007;32:501-15.
48. Peluffo G, Radi R. Biochemistry of protein tyrosine nitration in cardiovascular pathology. Cardiovasc Res 2007;75:291-302.
49. Butt YK, Lo SC. Detecting nitrated proteins by proteomic technologies. Methods Enzymol 2008;440:17-31.
50. Monteiro HP, Arai RJ, Travassos LR. Protein tyrosine phosphorylation and protein tyrosine nitration in redox signaling. Antioxid Redox Signal 2008;10:843-89.
51. Nuriel T, Deeb RS, Hajjar DP et al. Protein 3-nitrotyrosine in complex biological samples: quantification by high-pressure liquid chromatography/electrochemical detection and emergence of proteomic approaches for unbiased identification of modification sites. Methods Enzymol 2008;441:1-17.
52. Rubbo H, Radi R. Protein and lipid nitration: role in redox signaling and injury. Biochim Biophys Acta 2008;1780:1318-24.
53. Souza JM, Peluffo G, Radi R. Protein tyrosine nitration--functional alteration or just a biomarker? Free Radic Biol Med 2008;45:357-66.
54. Yeo WS, Lee SJ, Lee JR et al. Nitrosative protein tyrosine modifications: biochemistry and functional significance. BMB Rep 2008;41:194-203.

55. Gladwin MT, Grubina R, Doyle MP. The New Chemical Biology of Nitrite Reactions with Hemoglobin: R-State Catalysis, Oxidative Denitrosylation, and Nitrite Reductase/ Anhydrase. Acc Chem Res 2008 Sep 11. [Epub ahead of print]
56. Garry DJ, Mammen PP. Molecular insights into the functional role of myoglobin. Adv Exp Med Biol 2007;618:181-93.
57. Burmester T, Gerlach F, Hankeln T. Regulation and role of neuroglobin and cytoglobin under hypoxia. Adv Exp Med Biol 2007;618:169-80.
58. Angelo M, Hausladen A, Singel DJ et al. Interactions of NO with hemoglobin: from microbes to man. Methods Enzymol 2008;436:131-68.
59. Zhu Y, Silverman RB. Revisiting heme mechanisms. A perspective on the mechanisms of nitric oxide synthase (NOS), Heme oxygenase (HO), and cytochrome P450s (CYP450s). Biochemistry 2008;47:2231-43.
60. Burton NM, Anstee DJ. Structure, function and significance of Rh proteins in red cells. Curr Opin Hematol 2008;15:625-30.
61. Erusalimsky JD, Moncada S. Nitric oxide and mitochondrial signaling: from physiology to pathophysiology. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007;27:2524-31.
62. Giulivi C. Mitochondria as generators and targets of nitric oxide. Novartis Found Symp 2007;287:92-100.
63. Cerra MC, Pellegrino D. Cardiovascular cGMP-generating systems in physiological and pathological conditions. Curr Med Chem 2007;14:585-99.
64. Kröncke KD. Cellular stress and intracellular zinc dyshomeostasis. Arch Biochem Biophys 2007;463:183-7.
65. Thirumoorthy N, Manisenthil Kumar KT et al. Metallothionein: an overview.World J Gastroenterol 2007;13:993-6.
66. Gow AJ, Duran D, Malcolm S et al. Effects of peroxynitrite-induced protein modifications on tyrosine phosphorylaton and degradation. FEBS Lett 1996; 385: 63-6.
67. Kamisaki Y, Wada K, Bian K et al. An activity in rat tissues that modifies nitrotyrosine containing proteins. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 11584-9.
68. Kuo WN, Kocis JM. Nitration/S-nitrosation of proteins by peroxynitrite-treatment and subsequent modification by glutathione S-transferase and glutathione peroxidase. Mol Cell Biochem 2002;233:57-63.
69. Kuo WN, Kocis JM, Webb JK. Protein denitration/modification by Escherichia coli nitrate reductase and mammalian cytochrome P-450 reductase. Front Biosci 2002;7:a9-14.
70. Krainev AG, Williams TD, Bigelow DJ. Enzymatic reduction of 3-nitro-tyrosine generates superoxide. Chem Res Toxicol 1998; 11: 495-502.
71. Toubin C, Yeung DY, English AM et al. Theoretical evidence that Cu(I) complexation promotes degradation of S-nitrosothiols. J Am chem Soc 2002; 124: 14827-7.
72. Jung T, Bader N, Grune T. Oxidized proteins: intracellular distribution and recognition by the proteasome. Arch Biochem Biophys 2007;462:231-7.
73. Breusing N, Grune T. Regulation of proteasome-mediated protein degradation during oxidative stress and aging. Biol Chem 2008;389:203-9.
74. Souza JM, Choi I, Chen Q et al. Proteolytic degradation of tyrosine nitrated proteins. Arch Biochem Biophys 2003; 380: 360-6.
75. Birnboim HC, Lemay AM,Lam DK et al. MHC class II-restricted peptides containing the inflammation-associated marker 3-nitrotyrosine evade central tolerance and elicit a robust cell-mediated immune response. J Immunol 2003; 171: 52-32.
76. Hardy LL, Wick DA, Webb JR. Conversion of tyrosine to the inflammation-associated analog 3'-nitrotyrosine at either TCR- or MHC-contact positions can profoundly affect recognition of the MHC class I-restricted epitope of lymphocytic choriomeningitis virus glycoprotein 33 by CD8 T cells. J Immunol 2008;180(9):5956-62.
77. Brown GC. Nitric oxide and mitochondria. Front Biosci 2007;12:1024-33.
78. Cooper CE, Giulivi C. Nitric oxide regulation of mitochondrial oxygen consumption II: Molecular mechanism and tissue physiology. Am J Physiol Cell Physiol 2007;292:C1993-2003.
79. Erusalimsky JD, Moncada S. Nitric oxide and mitochondrial signaling: from physiology to pathophysiology. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007;27:2524-31.
80. Brown GC, Borutaite V. Nitric oxide and mitochondrial respiration in the heart. Cardiovasc Res 2007;75:283-90.
81. Zaobornyj T, Gonzales GF, Valdez LB. Mitochondrial contribution to the molecular mechanism of heart acclimatization to chronic hypoxia: role of nitric oxide. Front Biosci 2007;12:1247-59.
82. Fellet AL, E Boveris A, T Arranz C et al. Cardiac mitochondrial nitric oxide: a regulator of heart rate? Am J Hypertens 2008;21:377-81.
83. Bolaños JP, Herrero-Mendez A, Fernandez-Fernandez S et al. Linking glycolysis with oxidative stress in neural cells: a regulatory role for nitric oxide. Biochem Soc Trans 2007;35:1224-7.
84. Bustamante J, Czerniczyniec A, Lores-Arnaiz S. Brain nitric oxide synthases and mitochondrial function. Front Biosci 2007;12:1034-40.
85. Giulivi C. Mitochondria as generators and targets of nitric oxide. Novartis Found Symp 2007;287:92-100.
86. Valdez LB, Boveris A. Mitochondrial nitric oxide synthase, a voltage-dependent enzyme, is responsible for nitric oxide diffusion to cytosol. Front Biosci 2007;12:1210-9.

87. Cooper CE, Brown GC. The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance. J Bioenerg Biomembr 2008 Oct 7. [Epub ahead of print]
88. Efromovich S, Grainger D, Bodenmiller D et al. Genome-wide identification of binding sites for the nitric oxide-sensitive transcriptional regulator NsrR. Methods Enzymol 2008;437:211-33.
89. Bogdan C. Nitric oxide and the regulation of gene expression. Trends Cell Biol 2001;11:66-75.
90. Oszajca K, Szemraj J, Bartkowiak J. Regulation of gene expression by nitric oxide. Postepy Biochem 2007;53:254-62.
91. Contestabile A. Regulation of transcription factors by nitric oxide in neurons and in neural-derived tumor cells. Prog Neurobiol 2008;84:317-28.
92. Jeannin JF, Leon L, Cortier M et al. Nitric oxide-induced resistance or sensitization to death in tumor cells. Nitric Oxide 2008;19:158-63.
93. Olson SY, Garbán HJ. Regulation of apoptosis-related genes by nitric oxide in cancer. Nitric Oxide 2008;19:170-6.
94. Wink DA, Ridnour LA, Hussain SP et al. The reemergence of nitric oxide and cancer. Nitric Oxide 2008;19:65-7.
95. Ahanchi SS, Tsihlis ND, Kibbe MR. The role of nitric oxide in the pathophysiology of intimal hyperplasia. J Vasc Surg 2007;45 Suppl A:A64-73.
96. Palm F, Nordquist L, Buerk DG. Nitric oxide in the kidney; direct measurements of bioavailable renal nitric oxide. Adv Exp Med Biol 2007;599:117-23.
97. Patzak A, Persson AE. Angiotensin II-nitric oxide interaction in the kidney. Curr Opin Nephrol Hypertens 2007;16:46-51.
98. Pollock JS, Pollock DM. Endothelin and NOS1/nitric oxide signaling and regulation of sodium homeostasis. Curr Opin Nephrol Hypertens 2008;17:70-5.
99. Schmidt BM. Rapid non-genomic effects of aldosterone on the renal vasculature. Steroids 2008;73:961-5.
100. Suketa Y. Expression and regulation of renal sodium-cotransporters and -antiporters, and related-transport proteins. Yakugaku Zasshi 2008;128:901-17.
101. Baylis C. Sexual dimorphism of the aging kidney: role of nitric oxide deficiency. Physiology (Bethesda) 2008;23:142-50.
102. Murphy E, Steenbergen C. Cardioprotection in females: a role for nitric oxide and altered gene expression. Heart Fail Rev 2007;12:293-300.
103. Furukawa T, Kurokawa J. Regulation of cardiac ion channels via non-genomic action of sex steroid hormones: implication for the gender difference in cardiac arrhythmias. Pharmacol Ther 2007;115:106-15.
104. Lim G, Venetucci L, Eisner DA et al. Does nitric oxide modulate cardiac ryanodine receptor function? Implications for excitation-contraction coupling. Cardiovasc Res 2008;77:256-64.
105. Kwan HY, Huang Y, Yao X. TRP channels in endothelial function and dysfunction. Biochim Biophys Acta 2007;1772:907-14.
106. Majid DS, Kopkan L. Nitric oxide and superoxide interactions in the kidney and their implication in the development of salt-sensitive hypertension. Clin Exp Pharmacol Physiol 2007;34:946-52.
107. Marin E, Sessa WC. Role of endothelial-derived nitric oxide in hypertension and renal disease. Curr Opin Nephrol Hypertens 2007;16:105-10.
108. Baylis C. Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease. Am J Physiol Renal Physiol 2008;294:F1-9.
109. Singh P, Deng A, Weir MR et al. The balance of angiotensin II and nitric oxide in kidney diseases. Curr Opin Nephrol Hypertens 2008;17:51-6.
110. Feil R, Kleppisch T. NO/cGMP-dependent modulation of synaptic transmission. Handb Exp Pharmacol 2008;184:529-60.
111. Carreras MC, Poderoso JJ. Mitochondrial nitric oxide in the signaling of cell integrated responses. Am J Physiol Cell Physiol 2007;292:C1569-80.
112. Smith TK, Spencer NJ, Hennig GW et al. Recent advances in enteric neurobiology: mechanosensitive interneurons. Neurogastroenterol Motil 2007;19:869-78.
113. Gallego D, Gil V, Aleu J et al. Purinergic and nitrergic junction potential in the human colon. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2008;295:G522-33.
114. Goyal RK, Chaudhury A. Physiology of normal esophageal motility. J Clin Gastroenterol 2008;42:610-9.
115. McKirdy HC. Gallbladder nitric oxide. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2008;295:G209.
116. Bittencourt JA, Tano T, Gajar SA et al. Relaxant Effects of Sildenafil on the Human Isolated Bladder Neck. Urology. 2008 Sep 5. [Epub ahead of print]
117. Canda AE, Cinar MG, Turna B, et al. Pharmacologic targets on the female urethra. Urol Int 2008;80:341-54.
118. Chang K, Lubo Zhang. Review article: steroid hormones and uterine vascular adaptation to pregnancy. Reprod Sci 2008;15:336-48.
119. Lin CS, Xin ZC, Wang Z, Lin G et al. Molecular Yin and Yang of erectile function and dysfunction. Asian J Androl 2008;10:433-40.
120. Tadié JM, Henno P, Leroy I, et al. Role of nitric oxide synthase/arginase balance in bronchial reactivity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2008;294:L489-97.
121. Jackson MJ. Redox regulation of skeletal muscle. IUBMB Life 2008;60:497-501.
122. McConell GK, Wadley GD. Potential role of nitric oxide in contraction-stimulated glucose uptake and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. Clin Exp Pharmacol Physiol 2008 Aug 26. [Epub ahead of print]

123. Hare JM, Beigi F, Tziomalos K. Nitric oxide and cardiobiology-methods for intact hearts and isolated myocytes. Methods Enzymol 2008;441:369-92.
124. Loyer X, Heymes C, Samuel JL. Constitutive nitric oxide synthases in the heart from hypertrophy to failure. Clin Exp Pharmacol Physiol 2008;35:483-8.
125. Seddon M, Shah AM, Casadei B. Cardiomyocytes as effectors of nitric oxide signalling. Cardiovasc Res 2007;75:315-26.
126. Kedia GT, Uckert S, Jonas U et al. The nitric oxide pathway in the human prostate: clinical implications in men with lower urinary tract symptoms. World J Urol 2008 Jul 8. [Epub ahead of print]
127. Nagy G, Koncz A, Fernandez D et al. Nitric oxide, mitochondrial hyperpolarization, and T cell activation. Free Radic Biol Med 2007;42:1625-31.
128. Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. Inflammopharmacology 2007;15:252-9.
129. Tripathi P. Nitric oxide and immune response. Indian J Biochem Biophys 2007;44:310-9.
130. Tripathi P, Tripathi P, Kashyap L et al. The role of nitric oxide in inflammatory reactions. FEMS Immunol Med Microbiol 2007;51:443-52.
131. Brown GC. Mechanisms of inflammatory neurodegeneration: iNOS and NADPH oxidase. Biochem Soc Trans 2007;35:1119-21.
132. Mariotto S, Suzuki Y, Persichini T et al. Cross-talk between NO and arachidonic acid in inflammation. Curr Med Chem 2007;14:1940-4.
133. Nagy G, Clark JM, Buzás EI et al. Nitric oxide, chronic inflammation and autoimmunity. Immunol Lett 2007;111:1-5.
134. Griffiths HR. Is the generation of neo-antigenic determinants by free radicals central to the development of autoimmune rheumatoid disease? Autoimmun Rev 2008;7:544-9.
135. Garthwaite J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. Eur J Neurosci 2008;27:2783-802.
136. Knott AB, Bossy-Wetzel E. Nitric oxide in health and disease of the nervous system. Antioxid Redox Signal. 2008 Aug 20. [Epub ahead of print]
137. Reeves SR, Simakajornboon N, Gozal D. The role of nitric oxide in the neural control of breathing. Respir Physiol Neurobiol 2008 Aug 22. [Epub ahead of print]
138. Feletou M, Tang EH, Vanhoutte PM. Nitric oxide the gatekeeper of endothelial vasomotor control. Front Biosci 2008;13:4198-217.
139. Garaliene V. Endothelium and nitric oxide. Medicina (Kaunas) 2008;44:564-9.
140. Lubos E, Handy DE, Loscalzo J. Role of oxidative stress and nitric oxide in atherothrombosis. Front Biosci 2008;13:5323-44.
141. Giaginis C, Tsourouflis G, Theocharis S. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) ligands: novel pharmacological agents in the treatment of ischemia reperfusion injury. Curr Mol Med 2008;8:562-79.
142. Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. Mol Med 2008;14:222-31.
143. Mocellin S, Bronte V, Nitti D. Nitric oxide, a double edged sword in cancer biology: searching for therapeutic opportunities. Med Res Rev 2007;27:317-52.
144. Grotto HZ. Anaemia of cancer: an overview of mechanisms involved in its pathogenesis. Med Oncol 2008;25:12-21.
145. Richardson DR, Lok HC. The nitric oxide-iron interplay in mammalian cells: transport and storage of dinitrosyl iron complexes. Biochim Biophys Acta 2008;1780:638-51.
146. Cokić VP, Schechter AN. Effects of nitric oxide on red blood cell development and phenotype. Curr Top Dev Biol 2008;82:169-215.
147. Toda N, Nakanishi-Toda M. Nitric oxide: ocular blood flow, glaucoma, and diabetic retinopathy. Prog Retin Eye Res 2007;26:205-38.
148. Murad F. Nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate signaling in the eye. Can J Ophthalmol 2008;43:291-4.
149. Wimalawansa SJ. Rationale for using nitric oxide donor therapy for prevention of bone loss and treatment of osteoporosis in humans. Ann N Y Acad Sci 2007;1117:283-97.
150. Teixeira CC, Agoston H, Beier F. Nitric oxide, C-type natriuretic peptide and cGMP as regulators of endochondral ossification. Dev Biol 2008;319:171-8.
151. Ma SX, Li XY, Sakurai T et al. Evidence of enhanced non-enzymatic generation of nitric oxide on the skin surface of acupuncture points: An innovative approach in humans. Nitric Oxide 2007;17:60-8.
152. Tsuchiya M, Sato EF, Inoue M et al. Acupuncture enhances generation of nitric oxide and increases local circulation. Anesth Analg 2007;104:301-7.