

OXIDO NITRICO. FISIOPATOLOGIA

*Dr. Armando Pérez González. Calle Primera Núm. 279 entre Cuarta y Calle I. Rpto. California. San Miguel del Padrón. Teléfono : 916737 laurafdez@infomed.sld.cu

** Dra. Laura Fernández Fernández. Calle Primera Núm. 279 entre Cuarta y Calle I. Rpto. California. San Miguel del Padrón Teléfonos: 273 7200 ó 273 7467-68
laurafdez@infomed.sld.cu ó servmed@pradera.cha.cyt.cu

***Dra. Carmen L. Pérez. Calle Primera Núm. 279 entre Cuarta y Calle I. Rpto. California. San Miguel del Padrón Teléfono : 916737 laurafdez@infomed.sld.cu

****Dr Manuel Nodarse Córdova. Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgica. Calle 216 entre 13 y 15. Rpto. Siboney. Municipio Playa. Ciudad de La Habana. Teléfono: 203 0243 ó 204 1742 fax (53-7) 33 9086 ó (53-7) 33 6440.

*****Dr. Alvaro Sosa Acosta. Ministerio de Salud Pública. Calle 23 y N. El Vedado. Municipio Plaza. Ciudad de La Habana. sium.nac@infomed.sld.cu

*Especialista Segundo Grado Medicina Interna. Profesor Asistente.

**Especialista Primer Grado Pediatría. Directora Médica Centro Internacional de Salud La Pradera.

***Especialista Primer Grado Medicina Interna. Facultad Salvador Allende.

****Especialista Segundo Grado Endocrinología.

*****Especialista Segundo Grado Medicina Intensiva CIMEQ.

RESUMEN

El Oxido Nítrico es una molécula gaseosa que está involucrada en los cambios hemodinámicos que se ven en el Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS) y que van desde la Insuficiencia cardíaca pasando por el *shock* séptico, hasta los cambios que se observan durante el Síndrome de Enfermedad Respiratoria Aguda (ARDS), lo mismo que en el hígado o riñones durante el Síndrome de Enfermedad de Organos Múltiples (MODS), desempeñando además funciones fisiológicas que son imprescindibles para el mantenimiento de la economía.

Como parte de los trabajos de revisión del SRIS, y teniendo en cuenta que esta molécula ha generado 4 Premios Nobel es que nos decidimos a hacer una concisa revisión que involucre a la molécula misma, su biosíntesis y parte de sus efectos fisiopatológicos. [1](#), [2](#), [3](#), [4](#), [5](#)

Palabras Clave: Oxido Nítrico (ON), síndrome de disfunción múltiple de órganos.

INTRODUCCION

El Oxido Nítrico fue caracterizado como molécula biológicamente activa en 1987 por dos grupos de Investigadores. Uno, inglés, y otro, norteamericano, los que llegaron a la conclusión de que el ON no era otro que el Factor relajante derivado del Endotelio (F. R. D. E.), descubierto en 1980 por Furchgott y Zawadski. El ON es un gas o molécula que está presente en la atmósfera y contiene un electrón no pareado que le confiere categoría de Radical Libre; es extremadamente lipofílico, difunde rápidamente a través de membranas de acuerdo con su gradiente de concentración y cumple funciones biológicas en animales y seres humanos. El Oxido Nítrico es generado por la porción terminal Guanidino nitrogenada de la L- Arginina por una Hidroxil -L- Arginina que es, a su vez, mediada por la sintetaza del Oxido Nítrico (ONS siglas en inglés), y da como producto final la Citrulina y el ON. Una vez generado el Oxido Nítrico en las distintas células (después de un aumento del Calcio intracelular), se une al componente HEM de la enzima guanilato ciclasa (Guanosin- 5 - Trifosfato liaza), que está localizada en las células musculares adyacentes. La nitrosación que produce el ON disloca el hierro del HEM, fuera de la porfirina. Este cambio activa entonces la actividad catalítica de la guanilato ciclasa, lo que da por resultado el paso del GTP (guanósín Trifosfato) a guanosina monofosfato cíclica y vasodilatación subsiguiente.

El Oxido Nítrico también puede ser generado a partir de Arginina en presencia de NADPH (nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato) en su forma reducida. $\text{citrulina} + \text{nNADPH} + \text{nO}_2 \rightarrow \text{Citrulina} + \text{ON} + \text{nNAPH}$. [5](#), [6](#), [7](#)

La bioquímica del ON es compleja y puede envolver varias formas redox relacionadas. Las más importantes reacciones biológicas son las que tienen con el oxígeno, con iones metálicos y con radicales libres. El ON tiene una vida media corta ($t_{1/2} < 15 \text{ s}$); sin embargo, cuando el ON reacciona con los radicales libres, se producen unos productos más estables ($t_{1/2} > 1 \text{ h}$) y además mantiene su propiedad biológica. El ON puede reaccionar también con radicales libres de oxígeno y originarse peroxinitrito, el cual tiene efectos tóxicos sobre las células y tejidos. [8](#) Finalmente, el ON estimula la fosforilación del ADP y de la enzima gliceroaldehído 3 fosfato-deshidrogenasa (GAPDH) en las plaquetas y otros tipos de células. Esta modificación de GAPDH inhibe la actividad de la enzima y disminuye los depósitos de energía intracelulares. El ON promueve la fosforilación de la G-actina en los Neutrófilos humanos, lo que se asocia con la inhibición de la polimerización de la actina y la formación de sus fibras.

El ON media, además, una gran variedad de fenómenos que incluyen: Relajación vascular dependiente del Endotelio, Citotoxicidad mediada por macrófagos, inhibición de la agregación plaquetaria, relajación del cuerpo cavernoso del pene, modulador de la tensión arterial, potenciación de la energía cinética, regulación de la microcirculación glomerular y medular en el riñón e interviene en el proceso de ventilación perfusión en los pulmones y otros. [9](#)

Sintetaza del Oxido Nítrico: El ON es sintetizado por una familia de 3 enzimas, llamadas sintetazas del ON. Esta familia de enzimas ha recibido diversas nomenclaturas. La nomenclatura utilizada inicialmente se basaba en las primeras observaciones, según las cuales la síntesis del ON se producía en células no activadas, aunque se podía inducir su síntesis si se sometía a estímulos inductores.

Así, se utilizó la clasificación de inducible (iSON), localizada principalmente en los macrófagos, y constitutivas (c SON) localizadas en las neuronas (nSON) y las células endoteliales (e SON); sin embargo, ahora sabemos que el grado de expresión genética de las dos formas constitutivas (n SON y e SON) pueden ser también inducidas por diferentes estímulos fisiológicos, y que la forma inducida (iSON) funciona como una enzima constitutiva en determinadas condiciones fisiológicas en algunas células.

Por este motivo, actualmente, no es en su totalidad aceptada la clasificación de inducibles frente a constitutivas, y algunos autores prefieren la clasificación que hace referencia a cada uno de los tejidos, en los que originalmente se aislaron los ADNc y las proteínas de las isoformas de la enzima: n SON (neuronas); iSON (macrófagos); y e SON (Endotelio).

Por último, debe dejarse establecido que en las tres formas de la enzima, la síntesis de ON depende de la capacidad de éstos para unirse a la proteína reguladora del Calcio llamada Calmodulina, y que sólo se diferencia por su afinidad al Calcio intracelular, siendo muy alta en el caso de las inducibles y muy baja en el caso de las constitutivas, que se activan a partir de los 500 nM de concentración de Calcio intracelular. [10](#)

Las Citocinas FNT, IL - 1, Interferón γ , y los lípidos polisacáridos inducen una amplia expresión

de ISON (inducible sintetaza del ON), asociados a cambios microvasculares y hemodinámicos en la sepsis y otros fenómenos. [11](#)

Fisiopatología del Oxido Nítrico

Diabetes: La GE (Glicosilación). Es un proceso mediante el cual la glucosa es capaz de unirse a otras proteínas Ejemplo: Se une al grupo Amino terminal de la cadena β de la Hb que es la fracción más pequeña de la Hb, y que aumenta al doble o triple sus valores. Esta Hb se designa A.I.C.

La dosificación de este derivado se usa como "índice de control de Diabetes". Otras muchas proteínas se glicosilan y se modifican, entre ellos, la del cristalino y la del colágeno. En las Cataratas, la proteína del cristalino forma agregados de elevado peso molecular al unirse a la Glucosa.

Es decir que la glicosilación origina múltiples reacciones, las que forman un grupo heterogéneo de moléculas ligadas a las proteínas, las cuales se denominan productos finales de la glicosilación avanzada (AGE). Se ha demostrado que los AGE, ligados a proteínas pueden reaccionar con el ON e inactivarlo, lo que puede tener una función importante en la menor respuesta vasodilatadora que se observa en las arterias de pacientes con *Diabetes Mellitus*. Así como en la proliferación de las células del músculo liso vascular y de las células mesangiales renales; ambas alteraciones son propias de la vasculopatía y la glomerulopatía diabética. [12](#), [13](#)

El Oxido Nítrico y Procesos Anarcoproliferativos

El ON actúa como transductor de señales en diversos procesos celulares. Además de ser neurotransmisor y vasodilatador, es citotóxico para algunas células tumorales. El papel del ON en la biología del cáncer no es completamente conocida, aunque se sabe que es importante en procesos de neovascularización en el desarrollo de tumores sólidos y en establecimiento de metástasis; También se ha observado la presencia de SON en tumores ginecológicos y de mamas.

Por otro lado, se ha determinado la presencia de altas concentraciones de ON en "lavados bronquiales de cáncer pulmonar". Estos antecedentes sugieren que el ON ejerce un efecto dual en el desarrollo tumoral. [14](#)

Oxido Nítrico y Disfunción Cardiovascular

La Disfunción Cardíaca forma parte del Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple en la Sepsis y el SRIS. Esta cardiomiopatía séptica aguda es la responsable de 10% de todas las muertes por sepsis; ella está caracterizada por un bombeo deficiente que no es primariamente de causa isquemia, ya que la circulación coronaria es normal y aún aumentada, y se ve un aumento del tamaño de ambos ventrículos como consecuencia de la *Compliance ventricular*; esto puede ser agravado en el caso de una disfunción del ventrículo derecho debida a hipertensión pulmonar en el ARDS.

La cardiopatía en el SRIS, y en el Síndrome de "Fallo Orgánico Múltiple" no infeccioso es comúnmente tratado como una miocardiopatía séptica, no teniéndose en cuenta que la patogénesis de esta enfermedad cardíaca es multifactorial y responde a la cascada. Estímulo + TNF /ON / GMPc. Dilatación. [15](#)

El diagnóstico del SRIS está fuertemente asociado con las concentraciones plasmáticas de Nitratos, Nitritos y Oxido Nítrico. Los pacientes que durante el SRIS desarrollan MODS tienen valores mucho más altos que aquellos que presentan sepsis no complicadas; muchos pacientes con las concentraciones elevadas de Nitritos y Nitratos en las unidades de cuidados intensivos ya están expresando signos de inflamación sin que haya aún diagnóstico clínico de SRIS.

Todo esto sugiere que los incrementos plasmáticos de las concentraciones de Nitrato/ Nitritos pueden ser utilizados para identificar aquellos pacientes que tienen inflamación y están en camino de expresar clínicamente el SRIS. [16](#)

Cardiomiopatía Dilatada, Endotelio, Nitritos y Nitratos

La etiología de la CMD es desconocida, pero infecciones virales y anomalías autoinmunes que inducen la expresión de citocinas han sido propuestas como factores patógenos. El ON tiene efectos citotrópicos y citotóxicos sobre el cardiomiocito. Las citoquinas, tales como el Interferón son potentes estimuladores de la expresión de las sintetasas del óxido nítrico (SON). La sobreexpresión de las SON lleva a una producción excesiva de ON en el miocardio que puede modular la contractilidad cardíaca y la morfología ventricular.

La SON inducible ha sido hallada junto al FNT de forma consistente en tejido miocárdico en pacientes con cardiomiopatía dilatada CMD, y disfunción ventricular izquierda avanzada, (1997, Colegio Americano de Cardiología) En la reperfusión coronaria, la endotelina-1 agrava los daños observados durante la misma, por su efecto estimulador en la depresión de la L-Arginina, de lo cual resulta una reducción de la liberación de ON. Este efecto puede ser atenuado con el uso de L-Arginina SNAP.

Por otro lado, en el período agudo de reperfusión que sigue a la isquemia miocárdica, la liberación de Radicales Libres, que incluye además del ON al anión superóxido O₂⁻, puede originar la formación de peroxinitritos (ONOO) que contribuirían al daño observado después de la reperfusión. Todo esto nos llevaría a suprimir los efectos de la Sintetasa del Oxido Nítrico (SON), con la N-G -Monometil- L - Arginina (L-NMMA), o a dar suplementos de ON a través de la S-Nitroso -N - Acetil -DL- Penicilamina (SNAP), lo que parecería más lógico, pues la donación de ON disminuye la actividad de la Sintetasa de Oxido Nítrico sin afectar su constitución. Además del Endotelio las plaquetas poseen también enzima Sintetasa del ON, la cual media el paso de la L-Arginina a ON+ Citrulina.

La liberación del ON inhibe la agregación plaquetaria, incrementando los niveles de GMPc, un efecto similar al de la Nitroglicerina. Concurrentemente, se sabe que la exposición de plaquetas a la nitroglicerina (NTG) o a Oxido Nítrico auténtico trae por resultado una disminución de la actividad de la SON de más de 50 % sin afectar su expresión práctica. A partir de aquí puede deducirse que la baja regulación o la disminución de la regulación de la actividad de la SON debe tenerse presente en el fenómeno de la tolerancia a los Nitritos. [16](#)

No debe por último olvidarse que pacientes con enfermedades sintomáticas del corazón, como son las Enfermedades Coronarias Agudas (ACD) exhiben un aumento de la agregación plaquetaria y una disminución de los efectos antiagregantes ante cualquier donante de ON. Quizás, con el uso agregado de Perhexiline y/o Estatinas se mejore la respuesta de estos enfermos al ON. [17](#), [18](#), [19](#), [20](#), [21](#), [22](#)

Aparato Digestivo: Hígado, Esófago, Hepatitis

El ON es el responsable de la circulación hiperdinámica que se produce en el hígado en los primeros estadios de la sepsis, inducido a su vez por IL-6, IL-1, e Interferón . Sin embargo, la liberación de grandes cantidades de ON, a causa de la expresión de SON-I, puede más tarde establecer un mecanismo regulatorio de Feed-Back negativo en su expresión genética, efecto que es mediado, en parte, por la inhibición de la actividad NB-Kappa.

Aunque estos efectos parezcan paradójicos, está claro que la síntesis del ON a partir de las células de Kuffer, células Endoteliales y hepatocitos produce un aumento del flujo de sangre a través de los sinusoides hepáticos, y que, si se inhibe el mismo, el resultado sería una hipoperfusión hepática con daño a las células del Parénquima, lo que sucedería también por este mecanismo a las células de la mucosa intestinal y que provocaría, entre otros efectos, el de la Translocación Bacteriana.

El ON que es un Radical Libre, podría estar implicado también en la defensa antiviral y, de hecho, se ven niveles elevados de éste en las Hepatitis Crónicas a virus C, que son tratadas con Interferón y que tienen una buena respuesta a éste. En las Hepatitis Crónicas B o en la C que no responden al Interferón, sus niveles no aumentan.

El ON media la peristalsis del esófago y la relajación del esfínter bajo del mismo; tiene además efectos sobre la integridad de la mucosa gástrica. La producción de superóxido producido en la inflamación inactiva al ON, la Super Oxido Dismutasa neutraliza a su vez al anión Super Oxido. [23](#), [24](#), [25](#), [26](#), [27](#)

Pulmones

La actividad de la Sintetaza del Oxido Nítrico ha sido reportada en las células epiteliales pulmonares y debe ser responsable en parte del ON que por espectrofotometría de masa y otros métodos ha sido detectada en el aire exhalado de seres humanos.

Se sabe que el Péptido Activo Vasointestinal (VIP) y el ON son considerados inhibidores no colinérgicos no adrenérgicos de las vías aéreas superiores. Parece que ambos están correlacionados y actúan como antagonistas funcionales contra los estímulos broncoconstrictores de la histamina, de modo dosis dependiente. Estas propiedades pueden ser importantes en el tratamiento del Asma Bronquial. Si tenemos en cuenta que la Prostaciclina oral puede aumentar el efecto vasodilatador del ON en niños con Hipertensión pulmonar primaria, entonces quizás también él, asociado al Beraprost Sódico, pueda tener marcados beneficios en pacientes con Hipertensión Primaria o post operatoria, que no responden al tratamiento habitual o al del ON sólo.

Definitivamente, los estudios indican que el ON tiene un papel crítico en la disfunción y la función vascular del pulmón, y quizás pueda ser administrado a pacientes con efectos adversos cortos. En la actualidad, el ON representa una promisorio pero aún experimental forma de terapia en muchos campos, para el tratamiento de las enfermedades del pulmón en el adulto: (Chest, 1999). [28](#), [29](#), [30](#), [31](#)

Glaucoma, Trompas de Falopio, Cuerpo cavernoso y otros

Las tres Isoformas de la Sintetaza del ON están presentes en cantidades aumentadas en el nervio óptico en pacientes con glaucoma de ángulo abierto. La presencia de SON-1 y la inducción de SON-2 en Astrositos de la lámina cribosa sugieren que el nervio óptico glaucomatoso es expuesto a niveles excesivos de ON, lo cual puede ser neurodestrutivo, localmente para los axones de las células ganglionares de la retina. Sin embargo, la presencia incrementada de SON-3 en el Endotelio vascular a ese nivel puede que haga un efecto neuroprotector al aumentar la vasodilatación e incrementar la circulación sanguínea en el tejido. Se sabe además que el ON es el mediador en el Sistema de relajación que se produce en las Trompas de Falopio y en la contractilidad tubaria, de igual forma que induce la relajación del músculo liso en otras partes.

En cuanto al Cuerpo Cavernoso del pene, el ON actúa como mediador en respuesta no colinérgica no adrenérgica y provoca su vasodilatación. El ON ha demostrado su actividad en pacientes con Dermatitis por contacto y está involucrado en la percepción de estímulos

nociceptivos a través de la GMPc, lo que provocaría la aparición de Bradiquininas y consecuentemente dolor. [32](#), [33](#), [34](#), [35](#), [36](#), [37](#), [38](#), [39](#)

El Oxido Nítrico y el Cartílago Articular

El líquido sinovial procedente de las articulaciones humanas sanas contiene bajos niveles de ON; sin embargo, el líquido sinovial procedente de pacientes con Artrosis o Artritis Reumatoide contiene altas concentraciones de ON. Debido a sus propiedades inminentemente destructivas del Cartílago Articular, el ON puede ser un importante mediador en la lesión articular crónica en la Osteoartritis (OA).

Se ha demostrado que el cartílago artrósico expresa sintetasa del ON inducida y produce Nitritos después de 72 horas de incubado, en ausencia de estímulos como IL-1 ó FNT, que pueden haber iniciado el daño. Lo que indica que los estímulos existentes en la Matriz extracelular del Cartílago Artrósico persisten durante algún tiempo, y son, por tanto, capaces de inducir la liberación de ON. Se sabe que el ON es capaz de inducir apoptosis en los condrocitos y, por otro lado, el cartílago artrósico contiene un mayor número de células en apoptosis que los cartílagos normales. El mecanismo propuesto para producir apoptosis envuelve un aumento de la expresión genética Bax/Bcl, el cual da lugar a la liberación de citocromo c de la mitocondria al citosol celular, activando finalmente la caspase-3, la que desencadena el mecanismo final de apoptosis.

Debe tenerse en cuenta, además, a las Prostaglandinas (PG), que son mediadores inflamatorios sintetizados por la enzima ciclooxigenasa (COX). El tejido sinovial y los condrocitos articulares humanos sometidos a estímulos adecuados pueden sintetizar PG (PGE2, PGI, PGF2), la IL-1, el FNT, y el ON son capaces de estimular la síntesis de PG en los mismos.

Hay evidencias de que agentes utilizados actualmente en el tratamiento de las Enfermedades Reumáticas afectan la actividad del ON tanto en la A.R, como en la O.A; entre ellos están el Aurofin, que reduce la respuesta del ON, mientras que los glucocorticoides y la Ciclosporina inhiben la inducción de SON-I, en varios tejidos, se sabe que la SON encontrada en cartílagos es inducible, y paradójicamente idéntica a la encontrada en los hepatocitos. La inhibición de la producción de ON por antiinflamatorios no esteroideos también ha sido demostrada. La Aspirina inhibe la producción de Nitritos por, al menos, dos mecanismos.

1 Efecto sobre la Transcripción - traslación, que inhibe la expresión de la enzima (Inmunoblot).
2 La inhibición directa de la actividad de la enzima principalmente por acetilación de la SON.

Tanto el ASA como el Diclofenaco, el Aclofenaco y el Tenidad inhiben la síntesis del ON. Sin embargo, la Indometacina no es capaz de modificar su síntesis.

Las Tetraciclínas inhiben la producción de ON por los Condrocitos y Macrófagos, este efecto es debido al descenso de expresión de la enzima Sintetasa del Oxido Nítrico, y puede contribuir a la condroprotección . [40](#), [41](#), [42](#), [43](#)

ABSTRACT

Nitric oxide is a gaseous molecule that acts as a biological mediator and as a short lived free radical who are involved in the homodynamic changes that occur in the Systemic Inflammatory Syndrome (SIRS), Cardiac failure, shock due to SIRS, Septic shock, and Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS); modulating the vascular tone, blood flow, and providing a signaling mechanism by which stimuli, activates its role as part of the cytokine cascade. This review provides and update on recent development pertinent to basic nitric oxide biochemistry and physiology as well as its more recently elucidated role in apoptosis.

Key words: Nitric Oxide, multiple organ dysfunction syndrome.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 S. Singh, T W Evans. Nitric Oxide. The biological mediator of the decade: Fact or Fiction? European Respiratory Journal. 1997;Vol.10, p. 698-707.

- 2 H W Kim, P. Brelding, A G Grensburg. Enhanced modulation of hypotension in endotoxemia by concomitant nitric oxide synthesis inhibition and nitric oxide scavenging. *Artificial cell blood substitutes and Immobilization Biotechnology*. 1997; Vol. 25, p. 153-162.
- 3 Maeda H, Akaike T, Yoshida M, Suga M. Multiple Functions of nitric oxide in pathophysiology and microbiology: analysis by a new nitric oxide scavenger. *J. Leukoc Biol*. 1994 Nov; 56(5) : 588-92.
- 4 M. Jourdain, A. Tournays, L Leroy; J Mangalaboye. F Faurrier; J Gouderman, B. Sosselin, B.Vallet. C Chapin. Effect of L- omega - nitro L arginine - methyl Ester on the endotoxin - Induced disseminated intravascular coagulation in porcine septic shock. *Clinical care medicine*. 1997;Vol. 26, p. 452-459.
- 5 Sporks L, Havens PL, Griffith O W. Measurements of total plasma nitrate and nitrite in pediatric patients with the systemic inflammatory response syndrome. *Critical care medicine*.1997; Vol. 25, p. 1071-1078.
- 6 Ignarro L Buga, G Wood, K Bynisk, Chaudhuri G. Endothelium- derived relaxing Factor and then is nitric oxide *Proc natl Academic Sci USA*. 1987; 84: 9265.
- 7 Palmer R, Ferege A, Moncada S. Nitric oxide accounts for the biological activity of Endothelium derived relaxing factor *Nature*. 1987; (327): 524.
- 8 Choe IH, Park KW, Kin HS, Oh BH. Nitric oxide . Induced apoptosis is mediated by Bax/Bcl-2, gene expression transition of cytchrome c and activation of Caspase -3 in rat Vascular smooth muscle cell. *Clin Chim Acta*. 2004 Mar; (341): 83-91.
- 9 Frederick L, Kiechle MD, Tadeuz molenski PHD. *American Journal of Clinical pathology*. 1993 Nov; Vol. 100, núm. 5.
- 10 Takemura Y, Fukuo K, Yasuda O, Inou T, Inomatan N, Yokoi T, Kawamoto H. Fas signaling induces AKT activation and up regulations of Endothelial nitric oxide synthase Expression. *Hypertension*. 2004 Feb 16.
- 11 Rizk M, White MB, Barbul A. Nitric Oxide and wound healing. *World J Surg*. 2004. Feb 19.
- 12 Cardela-Hernández. *Libro de Bioquímica Médica. Bioquímica Especializada*. 1999; p. 1306 a 1311, t.4.
- 13 Maejima K, Nakamos, Himenom, Tsuda S, Makushio H, Ito T, Nakagawa A. Increased basal levels of plasma nitric oxide in Type 2 Diabetes. *J. Diabetes Complications* 2001 May- Junio; 15 (3): 1, 35-43.
- 14 Hernández R. N. A. El ON Radical Libre con efecto pro y antitumoral *Rev. México: Instituto Nacional de Cancerología*. 1996; 42 (1): 31-36.
- 15 W. Mullerwerdan, R Prondzinsky, R Witthaut, N Sthache, K. Heinroth, C. Kuhn, H. Schmidt, I Busch, K. Werdan. The heart in sepsis and MODS. *Wiener Klinische Wochenschrift, Vienna, Austria*.1997; Vol. 109, suppl. 1 p. 3-24.
- 16 T. Duke, M, South, A Stewart. Activation of the L arginine nitric oxide pathway in severe sepsis. *Archives of Disease Childhood*. 1998; Vol.. 76, p. 203-209.
- 17 W. Yasmín, KD Strynadka; R. Schlulz. Generation of peroxynitrite contributes to ischemia-reperfusion injury in isolated rats hearts. *Cardiovascular Research*. 1997; Vol. 33, p. 422- 432.

18 Saton M. Dilated Cardiomyopathy. Journal of the American College of Cardiology. 1997;Vol. 29.

19 F Brunner, B Leonhard, WR Kukovets, B. Mayer. The role of endothelin, nitric oxide and arginine release in ischaemia, reperfusion injury of rat heart. Cardiovasc Research. 1997; Vol. 36, p. 60-66.

20 Ly Chen; JL Metha. Down regulation of nitric oxide synthase activity in human platelets by nitroglycerin and authentic nitric oxide. Journal of Investigative medicine. 1997; Vol.. 45, p. 69-74.

21 Chircov , Holmes AS, Welloughby SR, Stewars, Wuetke RD, Sage PR. Horowitz JD. Stable angina and acute coronary Syndromes are associated with ON resistance in platelets. J. American Cardiology. 2001 Jun 1; 37 (7): 851-7.

22 Wiley KE, Davemport AP. Physiological antagonism of endothelin - 1 in human conductance and resistance Coronary artery. Br J Pharmacology. 2001 Jun; 133 (4): 568-74.

23 BS Taylor; Ymkim, Qwang, RA Shapiro, TR Billar, D.A. Geller. Nitric Oxide dawn regulates hepatocyte- Inducible nitric oxide. Synthase gene expression. Archives of surgery . 1997; Vol. 132 , p. 1177- 1183.

24 MJ Amaro, J Bartolomé, M Pardo, T Cotonat, A. López Fairé, V Carreño. Decalsed notric oxide production in Chronic viral hepatitis B and C. 1997; p. 326- 331.

25 Qui BS, Mei QB, Liu L, Tchou- Wong KM. Effects of Nitric Oxide in gastric ulceration induced by nicotine and cold - restrain stress. Worl J, Gastroenterology. 2004 Feb 15; 10(4): 594-7.

26 LS Leichus; RM Thomas; J.A. Murray; JL Conklin. Effects of oxigen radicales screngin on opossum lower esophageal sphinter. Digestive Disease and Sciense 1997; Vol. 42 p. 592- 596.

27 S Michima, DZXu, Q Ru; EA Deltch. Bacterial translocation is inhibited in inducible synthase Knockout niece after endotoxin challenge but not in a model of Bacterial overgrowth. Archives of Surgery. 1999; Vol. 132, p. 1190-1195.

28 C Michael Hart. MD. FCCP. Nitric oxide in adult lung disease. Chest . 1999 may 5;(115).

29 Recent advances care in near born term infants with respiratory failure. British medical Journal.1997; Vol. 315, p. 1215- 1218.

30 H Kanazawa, T Kawaguchi, S Shoji, T Fuju, S Kudoh, H Hirata, V. Kuriara, J. Yoshicawa . Sinergistec effects of nitric oxide and vasoactive Intestinal peptide on bronchoprotection againts histamine in anesthetized guinea pig. American Journal of Respiratory and Critical care medicine. 1997; Vol. 155, p. 747- 750.

31 Reid D. Snell G, Word C, Krishnaswani R, Ward R, Zheng L, Williams .T. Iron overload and nitric oxide derived oxidative Stress following lung transplantation J. Heart, Lung transplant. 2001 aug; 20(8): 849- 9R.

32 E. Ekerhard, M. Branstron, M, Alexanderson, A. Norstron Evidence for nitric oxide mediation of contractile activity in isolated Strips of the human Fallobean tube. Human Reproduction. 1997; Vol. 12, p. 301- 305.

33 Rayfer J, Aronson W, Busch P, Dorey F, Ignaro L. Nitric oxide as mediator of the habeas cavernosum. In response to no colinergic no adrenergic (NANC) transmsion. N. England J. of medicine. 1992; 326: 9.

- 34 AH Neufeld, MR Hernández, M González. Nitric Oxide Synthase in the human glaucomatous optic nerve head 1997. Vol Archives of Ophthalmology. 1997; Vol.15, p.497- 503.
- 35 Wu MJ, Wang L, Ding HI, Weng CI, Yen JH. Glossogone Tenuifolia acts to inhibit inflammatory mediators production in a macrofage -cell line by Dowregulating LPS - Induced NF - KappaB. J, Biomed Sci. 2004 mar-apr;11 (2): 186-99.
- 36 AD Ormerod, CM Dwyer, A. Reid, P. Copeland, W. Tromson. Inducible nitric oxide Synthaze demonstrated in allergic and Irritant contac Dermatitis. Act Dermatológica Venezolana. 1997; Vol. 77, p. 436-440.
- 37 Moniscalco M, Sofía M, Catarrú L, Hegen bottlan T. Effect of nitric oxide inhibition on nasal airwoz resistance after nasal allergen challenge in allergic rhinitis, Env J Clin Invest. 2001 May; 31(5): 462.
- 38 Bukon N, Gurer MA. The roll of Nitric Oxide in allergic contac Dermatitis. Arch Dermatol Res apr. 2001; 293(4): 214- 7.
- 39 Kemura S, Watanabe K, Yajiri, Uchiyamas Saseyawa K. Cerebroespinal Fluid Nitric oxide metabolites are novel predictors of pain relief in degenerative lumber diseases. Pain. 2001Jun; 92 (3): 363-71.
- 40 Blanco J, Lotz M. IL- 1 Inducet NO inhibits Chondrocyte proliferation via PGE 2. Exp Cell Res. 1995; 218: 319-325 (Med-Line).
- 41 Avis AR, Di Cesare PE, Uyas P, et al. The expresión and regulation of NOS in human-osteoarthritis affected chondrocytes: evidence for up- regulate neuronal nitric oxide Synthase. J Exp medicine. 1995; 2097- 2102 (Med-Line).
- 42 Francisco J. Blanco García; Francisco J. Del Toro; Fausto Galdo Fernández. Revista Española de Reumatología. 2000;Vol. 27, núm. 3, p. 94-106.
- 43 Kohyama K, Saura R, Daite M, Misumo K, Kobe J. Med sci 2000 Dic; 46 (6): 283-95 article. Intervertebral ais cell apoptosis by Nitric Oxide: biounderstanding of intervertebral disc degeneration.