

Oxido nítrico y biología cutánea

Juan Jaime Atuesta · Bogotá

Datos de diferentes estudios sugieren que todas las acciones conocidas del óxido nítrico (ON) en otros sistemas biológicos, tales como vasodilatación, neurotransmisión, citotoxicidad e inmunorregulación, ocurren también en la piel humana, donde existe un mecanismo de producción continua de bajo nivel de ON independiente de la sintetasa del óxido nítrico (ONS), en el cual el nitrato del sudor es reducido a nitrito por bacterias de la flora cutánea normal y el nitrito es reducido a ON en el medio ácido que prevalece en la superficie cutánea. Se reconocen como fuentes de ON a los queratinocitos, las células de Langerhans (LC), los melanocitos, los fibroblastos, las células endoteliales, las células de la papila dérmica, las células claras ecquinas y los nervios de la epidermis y la dermis.

Oxido nítrico y flujo sanguíneo

La presencia de la sintetasa del óxido nítrico constitutiva (ecONS) ha sido demostrada en los vasos sanguíneos de la dermis papilar y profunda y el ON está implicado en el mantenimiento del flujo sanguíneo cutáneo en reposo. Las células endoteliales microvasculares liberan ON constitutivamente, o en respuesta a los neuropéptidos vasodilatadores, el péptido relacionado con el gene de la calcitonina (CGRP) y la sustancia P, sugiriendo que el ON proporciona una unión molecular entre el sistema nervioso y la piel, participando en la vasodilatación y en la inflamación neurogénicas. También se ha demostrado que estas células expresan la enzima inducible (iONS) al ser estimuladas con las citoquinas proinflamatorias IFN-gama o TNF-alfa y pueden convertirse en una fuente de alto flujo de ON. La estimulación inapropiada de la iNOS puede llevar a una excesiva producción de ON, que participaría en la patogénesis de enfermedades vasculares inflamatorias como el lupus eritematoso sistémico, mediaría la vasodilatación del shock séptico y promovería las disfunciones celulares, la filtración capilar y la falla orgánica múltiple, observadas en el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

Oxido nítrico y cicatrización de heridas

La cicatrización de heridas es un proceso complejo que ocurre en varias fases. Al principio, como resultado de los mediadores inflamatorios presentes (IFN-gama, TNF-alfa o LPS), predomina la producción de ON, que inhibe la infección de la herida. Subsecuentemente, incrementa la producción del factor de crecimiento epidérmico (EGF), estimulando directamente el crecimiento de los queratinocitos y suprimiendo la inhibición del crecimiento

mediada por el ON. Durante el proceso de reparación, el ON mediaría un mecanismo de retroalimentación regulatorio, en el que la IL-1beta y el TNF-alfa derivados de PMN, inician la expresión de RANTES en queratinocitos durante las fases iniciales, y el ON modularía la infiltración de macrófagos, regulando la expresión de la quemoquina en los queratinocitos. En algunos sistemas *in vivo*, el ON colabora en la cicatrización, estimulando la angiogénesis o por un efecto trófico en la proliferación de células epidérmicas (por la vía de la heme oxigenasa). La demostración que los fibroblastos dérmicos humanos expresan cONS e iONS, sugiere que además de los macrófagos y de otras células inflamatorias, la producción de ON por los fibroblastos dérmicos puede ser importante durante los estadios inflamatorios de la cicatrización de heridas, aumentando el flujo sanguíneo que facilitaría la nutrición y la infiltración celular, y posiblemente también en los estadios tardíos de proliferación y remodelamiento tisular, por un mecanismo de regulación negativa de las respuestas inflamatorias. El ON media en la quimiotaxis de células endoteliales inducida por TNF-alfa y PAF, el efecto mitogénico del VEGF sobre la célula endotelial y la organización capilar inducida por el TGF-beta1, participando así en la neovascularización. En úlceras venosas crónicas se han demostrado niveles aumentados de arginasa, iONS y ON. Los niveles aumentados de arginasa contribuirían a la patogénesis de la lipodermatoesclerosis y la sobreexpresión al ON participaría directa o indirectamente en la patogénesis de la cicatrización retardada a través de la producción de peroxinitrito por sus efectos en la microvasculatura, la inflamación y el depósito de colágeno.

Oxido nítrico y dermatosis inflamatorias

La iONS puede ser inducida por varios factores, ya aisladamente, o con mayor frecuencia, interactuando en forma sinérgica o inhibitoria. Entre estos factores se encuentran LPS, TNF-alfa, IFN-gama, IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8 y el factor estimulante de colonias granulocitomonocito (GM-CSF). En la psoriasis, los linfocitos T desempeñan papel clave en el desarrollo de las placas, particularmente las células Th1 productoras de IFN-gama y de IL-1 beta. Se ha descrito la presencia de iONS en la epidermis y la dermis psoriáticas. La IL-8 junto con el IFN-gama inducen la expresión de la iONS; igualmente el TNF-alfa con la IL-1beta son potentes inductores sinérgicos de la

Dr. Juan Jaime Atuesta: Profesor Asistente de Dermatología, Facultad de Medicina, Fundación de Ciencias de la Salud, Hospital San José, Bogotá, D.C.

expresión de la iONS en queratinocitos humanos. El ON, por sí mismo, induce la expresión de IL-8 y del receptor de IL-8 en queratinocitos cultivados, sugiriendo un ciclo de autoamplificación en la psoriasis. Sin embargo, el ON puede suprimir la expresión del gen del IFN-gama, o aumentar la producción de la IL-4, favoreciendo así una respuesta Th2 para limitar el daño debido a respuestas Th1 locales sostenidas. La psoriasis ha sido comparada con un proceso disfuncional de cicatrización de heridas. En la cicatrización normal, la producción de ON y EGF por las LC y la proliferación resultante de queratinocitos, están coordinadas en una forma temporal. Es posible entonces que, en la psoriasis no ocurra el circuito de regulación negativa que inhibe la producción de ON por las LC, de tal forma que el proceso es mantenido constantemente. Frente al ON, los queratinocitos normales se comportan en un patrón bifásico: bajas concentraciones estimulan la proliferación, mientras que concentraciones elevadas promueven la diferenciación. El ON es uno de los factores que controlan la muerte celular programada y puede ser un agente proapoptótico o antiapoptótico. En células endoteliales humanas, el ON inhibe la apoptosis inducida por el TNF-alfa (a través de inactivación parcial de la caspasa 3) y la apoptosis inducida por UVA (por regulación positiva de la proteína Bel 2). En lesiones psoriáticas se ha demostrado una liberación de ON 100 a 1000 veces mayor que en la piel normal, y una sobreexpresión del receptor antiapoptótico Bel z (miembro de la familia Bel 2) en queratinocitos basales. Si el ON induce apoptosis e inhibe el crecimiento de los queratinocitos, tendría efectos antiproliferativos. Sin embargo, los niveles elevados de ON en la psoriasis pueden reflejar una respuesta inadecuada de los queratinocitos psoriáticos a estas acciones, o el ON puede tener un efecto antiapoptótico en los queratinocitos psoriáticos. Recientemente se ha demostrado que el gen de la superóxido dismutasa Cu/Zn, es rigurosamente y exclusivamente regulado por el ON en queratinocitos basales normales y psoriáticos, de tal forma que los niveles enzimáticos elevados pueden ser un mecanismo para contrarrestar la hiperproliferación epidérmica, regulando la concentración intracelular del anión superóxido. Otro aspecto relevante en la psoriasis lo desempeña el endotelio, en donde el ON puede aumentar el flujo sanguíneo microvascular por otro mecanismo independiente del cGMP, como sería la liberación de PGE2 (que en la piel es un vasodilatador más potente que el ON), por su unión al centro Fe-heme del sitio activo de las ciclooxigenasas.

Oxido nítrico y radiación ultravioleta (UVR)

El ON derivado de la iONS, interactuando en una forma no especificada con la ciclooxigenasa, es responsable del eritema inducido por la radiación UVB. El incremento del flujo sanguíneo genera un aumento en los mediadores inflamatorios secundarios y la reacción de quemadura solar. Luego de la exposición a la radiación UVB, hay una

inducción de la transcripción de la iONS y el retraso en la aparición del eritema observado clínicamente puede explicarse por el tiempo tomado para transcribir y traducir el gene de la iONS. Después de una exposición prolongada a radiación UVB, se ha demostrado activación de la ncONS en queratinocitos y células endoteliales. Para que ocurra melanogénesis inducida por UVR es necesaria la producción de ON y cGMP en queratinocitos y melanocitos. Luego de la exposición a la UVR, los queratinocitos producen ON a través de la activación de la ncONS, posiblemente por la elevación en los niveles de la BH4 (que es un cofactor esencial en el control de la síntesis de la L-tirosina y activa a la tirosinasa). Estudios *in vitro* han demostrado que la UVR regula positivamente la expresión de los niveles de la tirosinasa y de la proteína relacionada con la tirosinasa-1 (TRP-1); el ON, por sí mismo, sería un potente estimulador directo de la melanogénesis en los melanocitos. Así, el ON puede actuar como un mediador autocrino y paracrino en la pigmentación cutánea inducida por UVR. La apoptosis de los queratinocitos generada por UVR es un proceso multifactorial. La inflamación producida por UVR no solamente es inducida por el ON, sino también por la producción concomitante del anión superóxido (generando xantino oxidasa) y de peroxinitrito, que pueden inducir apoptosis y muerte celular. El peroxinitrito formado por la reacción entre el ON y el superóxido es una potente molécula reguladora y puede ejercer efectos citotóxicos locales. La inflamación asociada con la exposición crónica a una síntesis aumentada de ON es un estímulo para el daño celular que conduce a tumorogénesis, por lo que la exposición solar crónica, que lleva a la producción de radicales libres e inflamación en la piel durante un largo período (quemaduras solares), puede ser tumorogénica debido a la producción excesiva de ON. El ON puede promover el crecimiento tumoral estimulando la angiogénesis o generando mutaciones en el ADN. Sin embargo, se desconoce si el ON puede ser iniciador y promotor carcinogénico, causando mutaciones en el ADN inducidas por UVR y previniendo la apoptosis de células dañadas, o si puede ser un "barredor" de las especies reactivas de oxígeno mutagénicas, generadas después de la irradiación, formando óxidos de nitrógeno menos nocivos y así disminuir el daño del ADN y la necesidad de apoptosis. Estudios recientes en modelos murinos *in vivo* empleando UVB, sugieren que la respuesta inflamatoria protege a la piel del daño oxidativo de la peroxidación de lípidos y que el ON tiene un efecto supresor indirecto, posiblemente aumentando la tasa de perfusión de flujo sanguíneo cutáneo, o por un efecto directo antioxidante.

Oxido nítrico e infección

El ON tiene un papel importante en la prevención de infecciones por *E. coli*, *Candida*, micobacterias y *Leishmania*, y el nitrito acidificado inhibe el crecimiento de *S. aureus*, *P. acnes* y *C. albicans*. Es probable que la liberación continuada de ON en piel normal reduzca la

incidencia de infecciones cutáneas inhibiendo el crecimiento bacteriano (mecanismo de producción de ON independiente de enzimas a partir del nitrato en el sudor). Se ha demostrado la eficacia de dos cremas de nitrito acidificadas, liberadoras de ON, en el tratamiento de la tiña pedis y del molusco viral.

Oxido nítrico en el eczema y en la modulación inmune

El ON tiene numerosos efectos en el sistema inmune. Puede aumentar y suprimir funciones de las células T (principalmente Th1). En concentraciones constitutivas parece ser requerido para la proliferación de células T. Se ha demostrado expresión de la iONS en las células endoteliales y en las células inflamatorias perivasculares de la dermis, en la dermatitis de contacto alérgica y en la dermatitis atópica, pudiendo participar en la vasodilatación de la respuesta inflamatoria, aunque parece ser secundaria a otros mediadores inflamatorios. Los queratinocitos y las células de Langerhans (LC) estimuladas producen iONS, de tal forma que la producción de ON haría parte de la respuesta inflamatoria y modularía la expresión de antígenos. En las LC, la producción de ON puede afectar funciones como actividad microbicida, presentación de antígenos y citotoxicidad. También se ha demostrado la producción de ON en fibroblastos y células endoteliales, sugiriendo un papel en respuestas inmunes e inflamatorias cutáneas. Una explicación posible de la exacerbación por estrés de enfermedades cutáneas, es que los nervios liberan mediadores que estimulan a las LC para producir iONS, resultando en la producción de grandes cantidades de ON con la alteración consecuente del proceso fisiológico o de la función inmune normales. El ON puede mediar la apoptosis y la necrosis epidérmicas, observadas en el Síndrome de Stevens-Johnson (SJS) y en la necrolisis epidérmica tóxica (TEN) de manera directa o indirecta, por la expresión local de iONS. La iONS puede inducirse en células inflamatorias LCA positivas y en queratinocitos. La expresión de iONS en focos de piel sana que posteriormente desarrolla ampollas, sugiere que la inducción de iONS ocurre en los estadios tempranos de formación de las lesiones y que no es un evento secundario tardío. El ON participa en la apoptosis y puede influir en las caspasas y en miembros de la subfamilia de receptores de muerte del TNF-alfa, específicamente el

Fas (CD95) y su ligando, FasL, que se ha demostrado participan en la apoptosis de la TEN. La enfermedad injerto versus huésped aguda (GVHD) es similar al SJS y a la TEN, demostrándose niveles elevados de metabolitos del ON y mejoría de la enfermedad utilizando inhibidores de la ONS en modelos animales, siendo posible una expresión alterada de la ONS en la GVHD.

Oxido nítrico y lesiones de células pigmentarias

Se ha demostrado la expresión de cONS, PIN y de iONS *de novo* en lesiones de células pigmentarias benignas (nevus nevocelulares de diferentes tipos) y malignas (melanoma maligno) de la piel, indicando que estas células poseen los mecanismos necesarios para la modulación de la síntesis de ON por la cONS. En biología tumoral, grandes cantidades de ON inhiben el crecimiento tumoral por inducción de apoptosis, mientras que, flujos bajos de ON generados por isoformas constitutivas de la ONS, contribuyen al desarrollo o progresión tumorales, ya facilitando la migración de células malignas en la matriz intersticial (por regulación positiva de metaloproteinasas y negativa de sus inhibidores), o estimulando el flujo sanguíneo, la permeabilidad vascular y la angiogénesis tumoral. El ON generado puede realizar un papel importante en la migración de melanocitos precursores desde la cresta neural hacia la piel (por activación de metaloproteinasas) y en las fases tempranas de invasión tumoral (fase de crecimiento radial invasivo), donde puede estimular la neoangiogénesis e inhibir respuestas inmunes antitumorales y ser un prerrequisito para la progresión tumoral subsecuente.

Bibliografía

1. Atuesta JJ. Oxido nítrico y piel. *Endotelio y Ciencia* 2000; 2: 50-56.
2. Bruch-Gerharz D, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide and its implications in skin homeostasis and disease-a review. *Arch Dermatol Res* 1998; 290: 643-651.
3. Bruch-Gerharz D, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide in human skin: current status and future prospects. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 1-7.
4. López-Jaramillo P. La vía L-arginina-óxido nítrico. 1 a. edición. Quito-Ecuador: Ediciones Científicas; 1995.
5. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-2012.
6. Qureshi AA, Lerner LH, Lerner EA. Nitric oxide and the cutis. *Arch Dermatol* 1996; 132: 889-893.
7. Weller R. Nitric oxide- a newly discovered chemical transmitter in human skin. *Br J Dermatol* 1997; 137: 665-672.