

OXIDO NITRICO. UN NITROVASODILATADOR ENDOGENO.

Dra. Aracelis García Pérez¹, Dra. Rosa Amelia Fuentes Prats², Dra. Marlene Torres Quiala¹, Dra. Maritza Fernández Ortega¹, Dra. Odalis Charró Portilla¹.

RESUMEN

El óxido nítrico, considerado un nitrovasodilatador endógeno, es secretado no sólo por las células endoteliales, sino también por las plaquetas, los macrófagos y numerosas células neurales. Este compuesto, sintetizado a partir de la arginina por la enzima sintasa de óxido nítrico (SON), es considerado, además, un mediador químico orgánico cuyas propiedades químicas, biológicas y fisiológicas explican su participación en complejos mecanismos como la hemodinamia, la hemostasia, la inflamación aguda, la transmisión sináptica, la respiración celular y sobre diferentes sistemas y aparatos del organismo.

Palabras clave: OXIDO NÍTRICO/uso terapéutico; AGENTES VASODILATADORES.

INTRODUCCION

Muchos años atrás, una observación al azar condujo al descubrimiento de que el endotelio vascular desempeñaba una función clave en la vasodilatación; en el cuerpo humano muchos estímulos diferentes actúan sobre las células endoteliales para producir el factor relajante derivado de endotelio (FRDE), pero fue a mediados del año 1986 que se propuso que el FRDE era óxido nítrico o un compuesto similar. Fueron Moncada y sus colaboradores quienes compararon las propiedades farmacológicas de

¹ *Especialista de I Grado en Fisiología Normal y Patológica. Profesor Asistente de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Guantánamo.*

² *Especialista de I Grado en Fisiología Normal y Patológica. Instructor de Fisiología, FCM, Guantánamo.*

ambos compuestos y concluyeron que el FRDE es óxido nítrico (**NO**); éste es secretado no sólo por las células endoteliales, sino también por las plaquetas, macrófagos y numerosas células neuronales.

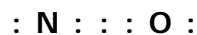
El óxido nítrico es sintetizado a partir de la arginina, por la enzima sintasa de óxido nítrico (SON); hay, cuando menos, tres isoformas de esta enzima: una forma de 160 KDa en el encéfalo, una forma inducible de 130 KDa en los macrófagos y una forma de 135 KDa en las células endoteliales.

Este elemento activa la guanililciclase soluble en las células, produciendo GMPc que, a su vez, media la relajación del músculo liso vascular. Hay, en realidad, tres formas de óxido nítrico: el NO mismo, el NO⁺ (catión de nitrosonio), y el NO⁻ (anión de nitroxilo). Estas formas tienen propiedades diferentes, pero pueden ayudar a explicar las múltiples acciones de esta sustancia.

El conocimiento del óxido nítrico como mediador químico orgánico y como un nitrovasodilatador endógeno comienza a tenerse en cuenta cada día más; en tal sentido, pretendemos, dadas las propiedades químicas, biológicas y fisiológicas de este elemento, presentar una reseña de su participación en complejos mecanismos como la hemodinámica, la homeostasia, la inflamación aguda, la transmisión sináptica, la respiración celular, etc., de modo que se amplíen los conocimientos acerca de este elemento y, mediante la investigación, pueda relacionarse con el esfera de trabajo de muchas especialidades de la medicina y de la estomatología, que permita una mejor comprensión de los procesos que caracterizan a muchas entidades presentes en la práctica médica.^{1,2-5-14}

DESARROLLO

Según sus propiedades químicas, biológicas y fisiológicas, el óxido nítrico es un compuesto gaseoso, incoloro, formado por un átomo de nitrógeno y otro de oxígeno, cuya estructura electrónica es interesante porque la molécula tiene un número impar de electrones; es un radical libre que se produce endógenamente de la arginina en una reacción compleja catalizada por la enzima óxido nítrico sintasa, una de las más reguladas que existen en el organismo.



El NAD fosfato reducido (NADPHH⁺) y el oxígeno son necesarios en la síntesis de este compuesto, el cual se difunde libremente a través de las membranas, pero tiene una vida corta, de unos segundos, ya que es muy reactivo. Se utiliza como una molécula de señal dentro de la célula y también en tejidos adyacentes.

Se sintetiza no sólo por las células endoteliales, las plaquetas y los macrófagos, sino también por las células tanto del sistema nervioso central (SNC) como del sistema nervioso periférico (SNP) y ha sido implicado en varias formas de plasticidad sináptica. Las neuronas que contienen la enzima óxido nítrico sintasa se encuentran en varios lugares del tálamo y, en particular, en los núcleos supraópticos y paraventricular del hipotálamo, con axones que se proyectan hacia la eminencia media y se extienden hasta el lóbulo posterior de la adenohipófisis, donde se encuentran las más altas concentraciones de esta enzima; además, la misma se encuentra en las células foliculares y gonadotropas de la adenohipófisis.

Esta enzima se puede visualizar, específicamente en el cerebro, por la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida, a través de una tinción histoquímica.^{1-3,6,7} El óxido nítrico, considerado como un nitrovasodilatador endógeno, es producido por la oxidación de la arginina a la citrulina, en una reacción de la cual se acepta que es la única capaz de producir NO en los sistemas biológicos, ya sea en condiciones normales o anormales.

Por su ubicuidad se le atribuyen a este elemento muchos efectos a nivel molecular, celular, tisular, orgánico y sistémico. En la respiración celular, conociendo que el óxido nítrico está sintetizado de manera constitutiva en una célula generadora, éste actúa sobre otra célula efectora como regulador fisiológico del tono vascular, de la inhibición plaquetaria, o de la interacción neuro-neuronal.

En forma contraria, la liberación inducida de grandes cantidades de óxido nítrico por períodos largos lo transforma de un mediador fisiológico en una molécula citostática y citotóxica. La presencia de óxido nítrico sintasa en las mitocondrias sugiere que la producción fisiológica del óxido nítrico en pequeñas cantidades está relacionada con la regulación de la respiración celular a través de la inhibición de la citocromo oxidasa. La exposición celular al NO por períodos prolongados da como resultado una inhibición irreversible de la respiración celular que es independiente de la formación generalizada de superóxido y de peroxinitrito.

Si se exponen las células al óxido nítrico por períodos largos, se nitrosilan tioles, el glutatión transnitrosila el compuesto hasta que cae a un nivel crítico. En estas condiciones se produce la inhibición irreversible de la respiración y posiblemente este sea el camino que transforma al NO de un mediador fisiológico en una molécula con efectos patológicos.

Asimismo, se afirma que la nitrosilación de tioles y la transnitrosilación por el glutatión constituyen un mecanismo crítico de la prevención del estrés oxidativo. El NO y los leucotrienos son de los mediadores más importantes del proceso inflamatorio. La inhibición de la respiración celular es persistente, excepto si se estudia el complejo IV aislado, si se bloquea el complejo I, o si se pone glutatión. De

esta manera, la inhibición del complejo IV es un efecto normal, o sea, dependiente de la concentración del óxido nítrico.

En la actualidad se han descrito medicamentos capaces de inhibir las reacciones dañinas del NO en las enfermedades del árbol respiratorio, actuando como defensas antioxidantes, entre los que se encuentran los antileucotrienos, como el seleutrón.³⁻⁶

De igual forma, en la **sangre**, el óxido nítrico origina importantes mecanismos fisiológicos, entre los que se hallan la hemostasia, en la que se ha demostrado que los productos de la agregación plaquetaria liberan óxido nítrico, y la vasodilatación resultante sirve para conservar permeables los vasos sanguíneos, siempre y cuando el endotelio esté intacto. Esto no sucede en vasos sanguíneos lesionados, donde el endotelio, al estar interrumpido en el sitio de la lesión, hace que las plaquetas se agreguen, lo que provoca, entonces, vasoconstricción; además, las plaquetas son estructuras que también liberan óxido nítrico, y está confirmado que éste inhibe la agregación plaquetaria, así como que se opone a la adhesión de las mismas a las fibras de colágeno y a otras proteínas adhesivas, por lo que, según nuestro criterio, el óxido nítrico pudiera contribuir a evitar o retardar la aparición de las trombosis venosas y arteriales.

El NO también participa en el mecanismo de la inflamación aguda, donde se sabe que la síntesis de óxido nítrico en los macrófagos no es constitutiva, sino inducida en las situaciones en que estas células son activadas por citosinas. El NO producido por los macrófagos actúa como un radical libre y es citotóxico para ciertos microorganismos y células tumorales. Puede oxidar, además, los grupos sulfhidrilos de las proteínas, con el consiguiente agotamiento del glutatión citosólico y puede reaccionar con el anión superóxido para formar dióxido de nitrógeno, el cual resulta ser fuertemente oxidante, y un radical hidroxilo muy reactivo. La producción incontrolada de este elemento por los macrófagos en caso de choque séptico, puede producir vasodilatación periférica extrema con la consiguiente hipotensión, que agravaría más el cuadro. Se sabe también que la hemoglobina inactiva al NO.^{1,2,5,14}

La función del NO en el **aparato cardiovascular** fue primeramente demostrado en el sistema vascular, donde, sintetizado por las células endoteliales, ha mostrado la capacidad de elevar la concentración de guanidilmonofosfato cíclico (GMP)_c en las células del músculo liso que se encuentran rodeándolo, lo que facilita la relajación de dichos músculos.

Las células endoteliales que revisten las arteriolas y las pequeñas arterias sintetizan varias sustancias que, cuando se liberan, pueden afectar el grado de contracción de la pared arterial. La más importante de ellas es una sustancia denominada *factor relajante derivado del endotelio*, compuesto principalmente, pero no exclusivamente, por óxido nítrico, que tiene una vida media en la sangre de sólo unos segundos. El flujo rápido por las arterias causa tensión de desgarramiento de las células endoteliales

debido a la tracción viscosa que la sangre ejerce sobre las paredes vasculares. Este estrés retuerce las células endoteliales, siguiendo la dirección del flujo y causa un gran incremento de la liberación del óxido nítrico, que relaja entonces la pared arterial, haciendo que se dilaten las mismas.

Es un mecanismo importante, debido a que causa un aumento secundario de las dimensiones de los vasos más grandes, siempre que aumente el flujo microvascular. Sin esta respuesta, quedaría seriamente comprometida la efectividad del control del flujo sanguíneo local por los tejidos, y con frecuencia sería totalmente inefectiva, debido a que mucha de la resistencia a este flujo se localiza en las arteriolas y pequeñas arterias situadas en la porción inicial de la circulación.

Muchos otros estímulos pueden hacer, también, que el endotelio libere óxido nítrico; entre ellos, la acetilcolina, la bradicinina, la prostaglandina, el ATP y otros. La acetilcolina, cuando se aplica a vasos lesionados, se comporta como un vasoconstrictor; sin embargo, es un vasodilatador relativamente potente cuando se aplica a vasos sanguíneos intactos porque libera NO.

Por otro lado, la adenosina, el péptido natriurético atrial (PNA) y la histamina ocasionan, a través de receptores H_2 , la relajación del músculo liso vascular, que es independiente del endotelio; por su parte, la bradicinina, el péptido inhibidor vasoactivo (PVI), la sustancia P y otros péptidos actúan a través del endotelio, y varias sustancias vasoconstrictoras que actúan directamente sobre el músculo liso vascular causarían una constricción mucho mayor si no causara, al mismo tiempo, la liberación de NO. Está demostrado que la secreción de acetilcolina por las terminaciones nerviosas vegetativas induce, primero, la liberación del NO por las células endoteliales, y luego éste dilata al vaso sanguíneo; si las células endoteliales están lesionadas no ocurre, entonces, dilatación en respuesta a la estimulación vegetativa, aun cuando sean muchas las concentraciones de acetilcolina.

Cuando aumenta de manera súbita el flujo a un tejido por dilatación arteriolar, las arterias grandes que riegan dicho tejido también se dilatan; es probable que esta dilatación, inducida por la regulación local del flujo, se deba, además, a la liberación local de NO. Una prueba adicional sobre la acción fisiológica que desempeña este elemento es la observación de que, cuando se administran varios derivados de arginina que inhiben a la sintasa de óxido nítrico en animales de experimentación, hay una elevación rápida de la presión arterial, lo que sugiere que la liberación tónica de éste es necesaria para mantener la presión dentro de cifras normales.

En la actualidad, hay cierta evidencia de que la deficiencia del NO puede estar implicada en la patogénesis de la aterosclerosis; al respecto, es interesante el hecho de que algunos pacientes con trasplante de corazón desarrollan una forma acelerada de aterosclerosis en los vasos del trasplante y, por tanto, se piensa que el daño endotelial la desencadena.

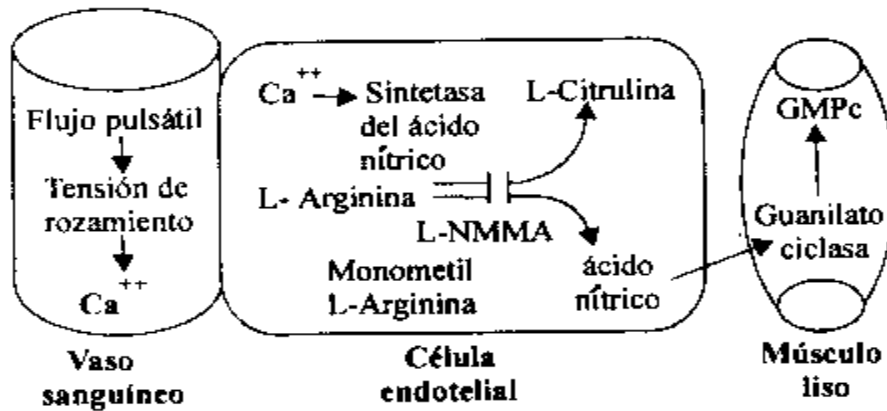


FIGURA. Mecanismo fisiológico de liberación del óxido nítrico y su regulación del tono vascular.

Otros estímulos mecánicos, como el flujo pulsátil y la tensión de rozamiento que el NO provoca en la célula endotelial, unido a un rígido control de los niveles del ión calcio en el líquido extracelular, constituyen los patrones reguladores de la síntesis y liberación del NO en el endotelio; en éstas y en las neuronas la SON está presente de forma constitutiva y puede ser activada rápidamente por el incremento en la concentración citoplasmática de calcio en presencia de modulina. El calcio activa a la enzima que transforma la L-arginina en L-citrulina y óxido nítrico; este último difunde al músculo liso vascular y activa a la guanilato ciclasa soluble y aumenta los niveles de GMPc, que provoca relajación del tejido muscular.

El importante aumento de la presión arterial que ocurre después de inhibir a la SON con monometilL-arginina (L-MMA) confirma la tesis de que esta sustancia es el nitrovasodilatador endógeno y sugiere que la reducción de esta enzima puede contribuir al mecanismo fisiopatológico de la hipertensión arterial, de modo que la liberación basal de óxido nítrico desempeña una función importante en la regulación de la presión arterial.

El óxido nítrico también guarda estrecha relación funcional con el **aparato endocrino**; la vía intra hipotalámica por la cual el NO libera el factor de liberación de la hormona leutinizante (LHRH) es a través de una sinapsis neuro-neuronal (N-N) glutamérgica con terminaciones noradrenérgicas, la cual libera norepinefrina que, a su vez, actúa sobre receptores de tipo alfa 1 de las neuronas de óxido nítrico para aumentar la concentración del calcio libre intracelular. Esta se va a combinar con la calmodulina para activar la enzima SON, la cual difunde a la terminal nerviosa y actúa sobre la guanilil ciclasa ciclo-oxigenada y lipoxigenasa, que provoca la liberación de guanidil mono-fosfato cíclico (GMP)c y leucotrieno, respectivamente.

Además, las neuronas óxido nitrogenéricas son importantes en la liberación de prolactina, oxitocina, hormona del crecimiento, gonadotropina, somatostatina, renina, angiotensina; como el óxido nítrico causa la liberación de LHRH, esto influye sobre el comportamiento sexual y la liberación de la hormona luteinizante por la adenohipófisis.²⁻¹⁴

Efectos del óxido nítrico sobre el **aparato reproductor**. Sobre las células intersticiales de Leydig de los testículos, los liberadores de óxido nítrico inhiben, de una manera reversible, la esteroideogénesis. Este efecto no es mediado por el guanidil mono-fosfato cíclico (GMP)c, puesto que el óxido nítrico no aumenta la producción de éste, ni los análogos de GMPc reproducen los efectos del NO. El óxido nítrico tampoco modifica la producción de adenosin monofosfato cíclico (AMP)c, el segundo mensajero de la acción gonadotrófica.

Cuando se evalúa el efecto del óxido nítrico sobre el proceso esteroideogénico, se encuentra que el mismo inhibe la conversión del colesterol a pregnenolona. En conjunto, estos resultados muestran un efecto inhibitor del óxido nítrico sobre la esteroideogénesis en las células intersticiales de Leydig, que puede inhibir en forma directa a la enzima que escinde la cadena lateral del colesterol (Citocromo P-450sc), como lo hace con otras hemoproteínas, entre las que se encuentra la Citocromo P-450.

En los varones hay una activación de las terminales óxido nitrogenéricas, que liberan óxido nítrico en el cuerpo cavernoso del pene, e induce una erección más potente y prolongada por generación de guanidil mono-fosfato cíclico (GMP)c. No es muy importante en la inducción de la ovulación ni en provocar la lisis del cuerpo lúteo, pero sí en la relajación del músculo liso uterino.

La erección, como mecanismo reflejo, es causada por impulsos parasimpáticos que alcanzan el pene desde la porción sacra de la médula espinal a través de los nervios pelvianos; se afirma que estas fibras, a diferencia de la mayor parte de las restantes fibras parasimpáticas, secretan óxido nítrico en vez de acetil colina. El óxido nítrico relaja las arterias del pene, así como la malla trabecular de las fibras musculares lisas del tejido eréctil de los cuerpos cavernosos y del cuerpo esponjoso del órgano copulador. Este tejido eréctil no es más que grandes sinusoides cavernosas que, normalmente están relativamente vacías pero que se dilatan enormemente cuando la sangre arterial fluye a su interior a presión, mientras el flujo venoso está parcialmente ocluido. Los cuerpos eréctiles, en especial los cuerpos cavernosos, están también rodeados de fuertes revestimientos fibrosos; por tanto, la elevada presión en el interior desde las sinusoides provoca un abombamiento del tejido eréctil de tal forma que el pene se endurece y se alarga.

Sobre el trofoblasto, sus células tienen que invadir el endometrio uterino hasta llegar a las arterias espirales. Allí, estas células comienzan a tomar el lugar de las células endoteliales y del músculo liso. Esto resulta de un aumento en el diámetro de

los vasos sanguíneos y del flujo sanguíneo, esencial para el desarrollo del embrión. Se plantea que el óxido nítrico es importante en la motilidad del trofoblasto.^{1,2,14}

Respecto al **aparato respiratorio**, el óxido nítrico es patogénico en algunas enfermedades respiratorias. Es particularmente importante en el *síndrome de dificultad respiratoria*, ya que actúa como un vasodilatador selectivo, facilitando el mejor intercambio de gases y disminuyendo las complicaciones pulmonares. Aunque tiene un efecto broncodilatador, su función terapéutica en enfermedades como el asma y la limitación crónica del flujo de aire a través de los pulmones no está bien definida; no obstante, sí está demostrado que el NO inhalado provoca un rápido descenso de la PCO₂, al disminuir el espacio muerto.

En este sentido P. Gorrotxategi y sus colaboradores presentaron en el Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Pediátrica del año 1999 el caso de un recién nacido de 33 semanas de gestación, que fue intervenido quirúrgicamente a las 22 horas de vida, por una malformación adenomatoidea quística pulmonar (MAQ), que en el postoperatorio presentó cuadro de acidosis y grave hipoxemia e hipercapnia, a pesar de recibir oxígeno al 100 %; se le administró NO a 18 ppm, con lo que se consiguió bajar las necesidades de oxígeno inicial al 80% y a las 2 horas al 60%; disminuyó progresivamente en las horas siguientes y se retiró a las 16 horas del inicio de su administración, dada la evolución satisfactoria del cuadro inicial, reflejada en los parámetros ventilatorios y en la gasometría arterial.

Por otro lado, los radicales libres del NO se activan en la membrana basal de las células cebadas y de los basófilos e intervienen en el equilibrio de la ventilación-perfusión y en la secreción de mucus.¹¹⁻¹³

Diversos estudios han demostrado la participación del NO en el **aparato renal**, específicamente el de origen endotelial, se considera un autacoide que disminuye la resistencia vascular renal, por lo que su producción basal parece ser importante para evitar una vasoconstricción renal excesiva y favorecer la excreción de cantidades normales de sodio y agua. La administración de fármacos que inhiben la formación de óxido nítrico aumentan las resistencias vasculares del riñón y disminuyen el filtrado glomerular y la excreción de sodio por la orina, lo que provoca la elevación de la presión arterial. Este hallazgo ha inducido a los investigadores a especular acerca de que si la menor producción de óxido nítrico puede favorecer la vasoconstricción renal y elevar la presión arterial en algunos pacientes hipertensos.^{1,2,14,15}

Si se tiene en cuenta que el óxido nítrico es secretado por las células nerviosas, entonces se justifica la acción de éste sobre el **sistema nervioso**; en el cerebro se ha demostrado que el óxido nítrico se comporta como un importante neurotransmisor difusible, lo que ayuda en la transmisión de los impulsos en la sinapsis neuro-neuronal (N-N) a este nivel. Además, se ha descubierto que el NO es muy importante como segundo mensajero en la conducción de señales en el proceso de transducción.

CONCLUSIONES

El óxido nítrico es una molécula pequeña con comportamiento de radical libre, que presenta características especiales, y que abre la posibilidad de una mayor utilización en el orden clínico.

Sus efectos, a nivel orgánico, encontrados en nuestra revisión, pueden centrarse en los siguientes aspectos:

- Funciona como un excelente vasodilatador endógeno a diferentes niveles.
- Funciona como una poderosa toxina ante bacterias y células tumorales liberadas por los leucocitos.
- Como radical libre tiene propiedades citotóxicas y citostáticas.
- Funciona como una molécula mensajera en áreas independientes del encéfalo, para transmitir señales nerviosas entre las neuronas.
- Posiblemente está relacionado con algunos de los mecanismos cerebrales de la memoria y el pensamiento.
- Su uso de forma inhalatoria abre una excelente opción a la terapéutica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiología Médica. 9ª ed. Nueva York: Editorial Interamericana; 1998:220-21, 355-57, 618-19,1106-7.
2. Ganong WF. Fisiología Médica. 15ª ed. San Francisco. SA de CU México: Editorial El Manual Moderno; 1996:121,509,654-55.
3. Cardellá Rosales L, Hernández Fernández R, Vomman Ponce de León C, Viñedo Tomey A, Pérez Díaz A, Simón Figueredo S, *et al.* Metabolismo intermediario y su regulación. En: Bioquímica Médica. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1999. 1026.
4. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principios de Bioquímica. 2ª ed. Sao Paulo: Editorial Sarvier; 1995:575-76.
5. Pérez Ruiz A, Rodríguez Calzadilla A, Sanjurjo Gómez VM, Padrón Chacón R. El papel del óxido nítrico en la hemodinámica, hemostasia e inflamación. Rev Cubana Estomatol 1997; 34 (2-3): 84-6.

6. Sellak H, Yang X, Cao X, Curnwell T, Soff GA, Lincoln T. Sp1. transcription factor as a molecular target for nitric oxide and cyclic nucleotide mediated suppression of cGMP dependent protein kinase I alpha expression in vascular smooth muscle cells [artículo en línea]. *Circ Res* 2002; 90 (4): 405-12. <<http://www.sfn.org/briefings/nitric.oxide.html>> [consulta 11 May 2002].
7. Chapman PF, Atkins CM, Todd AM, Haley JE, Steinmetz JE. Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different forms of learning. *Neuro Report* 1992; 3 (7): 567-68.
8. Mobri M, Ichiki T, Hirooka Y, Takeshita A. Endogenous nitric oxide prevents myocardial ischemia in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy [artículo en línea]. *Am Herat J* 2002; 143 (4): 684-9. <<http://www.science.wayne.edu/bio669/nitricoxide.html>> [consulta: 22 Abr 2002].
9. Pearl JM, Nelson DP, Reake JL, Manning PB, Schwartz SM, Koons L, *et al.* Inhaled nitric oxide increases endothelin-1 levels: a potential cause of rebound pulmonary hypertension [artículo en línea] *Crit Care Med* 2002; 30 (1): 89-93. <<http://www.findartides.com>> [consulta Sep 2002].
10. Moncada S, Heges EA. Importancia clínica del óxido nítrico en el sistema cardiovascular. Madrid: Editorial Edicomplet; 1992:48-52.
11. Gorrotxategi Gorrotxategi P, Erzaguirre Sexmilo I turrioz Mata A, Miranda Abejón G, Collado Espina B, Birritxinaga Gaztelurrutia B. Utilización del óxido nítrico en un neonato con una malformación adenomatoidea quística pulmonar. *Cir Pediatr* 2000; 13 (1): 35-8.
12. López Herce J, Moreno MS, Cueto E, Carrillo A, Garrido G. Efecto del óxido nítrico inhalado sobre las primeras 24 horas de asistencia respiratoria en el niño críticamente enfermo. *An Esp Pediatr* 1999; 50: 253-8.
13. Abman SH, Kinsella JP. Inhaled nitric oxide therapy for pulmonary disease in pediatrics. *Rev Curr Opin Pediatr* 1998; 10: 236-42.
14. González Santiago R, López Ongil S, Rodríguez Puyol M, Rodríguez Puyol D. Decreased nitric oxide synthesis in human endothelial cells cultured on type collagen [artículo en línea]. *Circ Res* 2002; 90(5): 539-45 <<http://www.marigarden.com/bladder>> [consulta 10 Abr 2002].
15. Montanari A, Carra N, Perinotto P, Iori V, Fasol E, Biggi A, *et al.* Renal hemodynamic control of endothelia and nitric oxide Ander angiotensin I blockade in man. *Hypertension* 2002;39 (2pt2): 715-20 <<http://www.marigarden.com/bladder>> [consulta 20 Abr 2002].