

as guerras bacteria as

Beatriz S. Méndez

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina

bea@qb.fcen.uba.ar

[Versión para imprimir](#) 

A no confundirlas con las del Peloponeso ni con las más recientes del siglo XX, para dar solo dos ejemplos

Las bacterias viven en entornos populosos que carecen de suficientes nutrientes para satisfacer sus necesidades, dado lo cual a lo largo de la evolución han desarrollado múltiples estrategias para asegurar su subsistencia. En ese contexto es de sumo interés conocer la variedad de armas que han producido ya que arroja luz sobre las investigaciones que abarcan el microbioma humano y otros en los cuales su actividad es de importancia.

Las formas en que atacan a sus víctimas y contrincantes son numerosas y muy variadas. Por ejemplo algunas se presentan ante determinadas situaciones con los conocidos sistemas de secreción tipo IV;VI y VII (*type IV,VI and VII secretion systems*) llamados también T4SS, T5SS y T6SS, que son complejos de proteínas que se introducen en otros microorganismos, digamos competidores, ya sea para atacar o defenderse.

El objetivo principal de los ataques para lograr eliminar a competidores es impedir su crecimiento. Para ello es esencial disponer de sustancias que no sean auto tóxicas. Esto se puede lograr por una inmunidad natural o por la síntesis de un precursor inactivo, entre otras estrategias. El ataque se centra generalmente en el DNA y en la pared celular del sujeto a ser eliminado y los métodos para alcanzar dichos blancos consisten en diferentes estrategias. Una especialmente generosa consigo mismo, que se detecta en bacterias como *Escherichia coli*, es la lisis parcial de la comunidad, de manera que las sobrevivientes pueden perdurar en el ambiente después que el competidor queda prácticamente eliminado [1].

Otro ejemplo es de la muy estudiada *Pseudomonas aeruginosa* causante de numerosas infecciones. Para su defensa sintetiza toxinas vehiculizadas mediante diversos mecanismos, T6SS entre otros, que en algunos casos son mecanismos de defensa y en otros directamente eliminan a los atacantes ya sean bacterias o eucariotas [2]. Este tipo, digamos de armamentos, también se encuentra en otras bacterias como por ejemplo *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus. plantarum* [3,4;5]

Las toxinas por supuesto tienen que penetrar en las células que atacan y el sistema de secreción de Tipo IV (T6SS) que predomina en las bacterias Gram- es el más efectivo [6]. Está presente en más de 80 genomas de Proteobacterias. Presenta 13 genes, altamente conservados y específicos de T6SS y a la vez han desarrollado diferentes mecanismos regulatorios necesarios para la adaptación a distintas bacterias y ambientes. Recientemente se ha detectado su importancia en lo que concierne a la competencia con otras bacterias especialmente en la microbiota intestinal humana [6,7,8,9].

¿Y con respecto a nosotros los humanos que convivimos con ellas en cada cm de nuestro cuerpo?

En el intestino humano se identificaron muchas armas bacterianas y a algunas bacterias patógenas que las usan para establecerse. Sin embargo no perduran ya que otras usan esas mismas armas para eliminarlas [10].

Además de las toxinas otra arma eficiente son los fagos integrados en los genomas bacterianos, conocidos como profagos, que tienen la ventaja de eliminar a competidores mientras perduren como portadoras. A estas bacterias se las denomina lisógenas y una de sus ventajas es que si el fago se libera se multiplicará y destruirá otras bacterias que carezcan del mismo asegurando su propagación. También puede suceder que se integre a otras bacterias de la misma o diferente especie y las inmunice ante otros ataques. Tenemos entonces que los profagos son un arma biológica tan importante como las toxinas. La pérdida de un número limitado de células cuando el profago se escinde representa un costo para una bacteria lisógena pero las células que sobreviven han visto disminuir una porción significativa de sus competidoras. Ahora esos beneficios no son duraderos si los fagos se integran en los genomas de las bacterias competidoras [11]. En el caso de la presencia de múltiples profagos en las células se las hace más competitivas y además disminuye la posibilidad de que las bacterias atacadas se vuelvan inmunes [12]

Ir a la guerra no siempre es una buena táctica. Se puede perder, más aún, si ese no es el caso, ¿cuál es el costo de ganar? Esto es lo que se preguntaron González *et al.* [13] que mediante modelado y experimentos estudiaron a cepas de *E. coli* productoras de toxinas para determinar los costos y beneficios de una guerra bacteriana. La conclusión a la cual llegaron fue que en encuentros de dos, digamos contrincantes, la provocación resultó un acto fallido ya que dio lugar a una fuerte reacción. Sin embargo, ante más de un enemigo, “divide y vencerás” fue la estrategia que le dio la victoria al atacante. Dichos resultados conducen a estrategias para eliminar bacterias por ejemplo en infecciones crónicas o en biofilms que se encuentran en distintas actividades industriales.

Por último todos los mecanismos antibacterianos podrían ser adaptados como alternativa o complemento al uso de antibióticos. Recientemente algunas bacteriocinas, entre ellas nisinas, han sido aceptadas en Estados Unidos por la Food and Drug Administration (FDA) para ser utilizadas como conservantes de alimentos [14]

Las bacterias se involucran en muchas actividades, que realizamos nosotros, los humanos, como la agricultura, la medicina, o la industria, por ello las guerras bacterianas que darán lugar a múltiples predomios deben interesarnos. Veamos un ejemplo *Salmonella enterica* serovar Thyphimurium puede invadir una subpoblación del epitelio del intestino humano y provocar entonces una fuerte respuesta inmune que elimina una muy alta proporción de las bacterias que lo habitan. Dada esta circunstancia las *S. thyphimurium* sobrevivientes usan un bioproducto de la respuesta inmune para respirar y proliferar en el campo de los vencidos [15,16]. ¡Buenas chicas!

Comprender cómo las bacterias ganan las batallas en que se involucran dará información sobre las sustancias y mecanismos que utilizan y obtener datos para el estudio del microbioma humano y de otros sistemas donde tengan importancia.

Referencias:

1. **Cascales E et al** (2007) Colicin biology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 51:158-229
2. **Ghequire MGK, De Mot R** (2014) Ribosomally encoded antibacterial proteins and peptides from *Pseudomonas*. *FEMS Microbiological Reviews* 38: 523–568
3. **Xu J, Kim J, Koestler BJ, Choi JH, Waters CM, Fuqua C** (2013) Genetic analysis of *Agrobacterium tumefaciens* unipolar polysaccharide production reveals complex integrated control of the motile-to sessile switch. *Molecular Microbiology* 89, 929–948.
4. **Zweers JC et al** (2008) Towards the development of *Bacillus subtilis* as a cell factory for membrane proteins and protein complexes *Microbial Cell Factories* 7: 10.
5. **Bron PA, Marco M, Hoffer SM, Van Mullekom E, de Vos WM, and Kleerebezem, M** (2004). Genetic characterization of the bile salt response in *Lactobacillus plantarum* and analysis of responsive promoters in vitro and in situ in the gastrointestinal tract. *Journal of Bacteriology* 186:7829–7835.
6. **Boyer F, Fichant G, Berthod J, Vandenbrouck Y, Attree I** (2009). Dissecting the bacterial type VI secretion system by a genome-wide in silico analysis: what can be learned from available microbial genomic resources? *BMC Genomics* 10: 104.
7. **Sana TG et al** (2016). *Salmonella Typhimurium* utilizes a T6SS-mediated antibacterial weapon to establish in the host gut. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 113: E5044–E5051.

8. **Zhao W, Caro F, Robins W, Mekalanos JJ** (2018). Antagonism toward the intestinal microbiota and its effect on *Vibrio cholerae* virulence. *Science* 359, 210–213.
9. **García-Bayona L, Comstock LE** (2018). Bacterial antagonism in host-associated microbial communities. *Science* 361, eaat2456.
10. **Chassaing B, Cascales E** (2018) Antibacterial Weapons: Targeted Destruction in the Microbiota. *Trends in Microbiology* 26 329-328
11. **Gama JA, Reis AM, Domingues I, Mendes-Soares H, Matos M** (2013) Temperate bacterial viruses as double-edged swords in bacterial warfare. *PLoS One* 8, e59043
12. **Burns N, James CE, Harrison E** (2015). Polylysogeny magnifies competitiveness of a bacterial pathogen in vivo. *Evolutionary Applications* 8: 346–351.
13. **Gonzalez D, Sabnis A, Foster KR, Mavridou DAI** (2018). Costs and benefits of provocation in bacterial warfare. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 115, 7593–7598.
14. **Shin JM, Gwak JW, Kamarajan P, Fenno JC, Rickard AH, Kapila YL** (2016) Biomedical application of nisin. *Journal of Applied Microbiology* 120:1449-1862
15. **Rivera-Chavez F, Baumber, AJ** (2015). The pyromaniac inside you: Salmonella metabolism in the host gut. *Annual Review of Microbiology* 69, 31–48.
16. **Coyte KZ, Schluter J, Foster KR** (2015). The ecology of the microbiome: networks, competition, and stability. *Science* 350, 663–666.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 1, año 20, Abril 2021

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

mega 3: el eslabón perdido de una dieta saludable

Sabrina Sol Bockor, Mateo Nicolás Díaz Appella, Tania Belén Gordillo, Miranda Clara Palumbo, María Mercedes Palomino, Sandra Mónica Ruzal, Mariana Claudia Allievi

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires - Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUBICEN) - CONICET, Ciudad Universitaria, CABA, C1428EGA, Argentina

mallievi@qb.fcen.uba.ar

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

Los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 son nutrientes esenciales para la gran mayoría de los vertebrados. Dos de estos compuestos de gran relevancia son el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), sintetizados principalmente a nivel marino por microalgas, que alcanzan al ser humano a través del consumo de peces que los acumulan. La marcada disminución en su consumo post revolución agrícola ha sido asociada a numerosas patologías. En este sentido, la relación en el consumo de omega 3 y de otro compuesto estructuralmente relacionado, el omega 6, pareciera jugar un rol clave en los efectos de estos ácidos grasos en nuestro organismo. Particularmente, altos consumos de omega 3 han sido correlacionados con una menor incidencia de patologías cardíacas, en un mejor desarrollo neuronal fetal y desempeño de capacidades cognitivas de adultos mayores, entre otros. Dada su importancia, resulta fundamental encontrar estrategias para incorporarlos como parte de la actual dieta occidental de forma sana y equilibrada. En este artículo se abordarán los principales efectos sobre la salud de los ácidos grasos poliinsaturados y los desafíos para su incorporación en los alimentos.

Palabras clave: Ácidos grasos poliinsaturados, Omega 3, EPA, DHA

Omega 3: the missing link of a healthy diet

Summary

Omega-3 polyunsaturated fatty acids are essential nutrients for the vast majority of vertebrates. Two of these highly relevant compounds are eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). Both are mainly synthesized by microalgae and reach humans through the consumption of fish that accumulate such fatty acids. The significant decrease in its consumption after the agricultural revolution has been associated with several pathologies. The ratio between the consumptions of omega-3 and another structurally related compound, omega-6, seems to play a key role in the effects of these fatty acids in our body. In particular, high intakes of omega-3 have been correlated with a lower incidence rate of cardiac pathologies, more optimal fetal neuronal development and performance of cognitive abilities in elderly adults, among others benefits. In view of their importance, it is essential to develop new strategies in order to include them as part of the current Western diet in a healthy and well-balanced way. This article will address the main health effects of polyunsaturated fatty acids and the challenges of incorporating them into food.

Keywords: Polyunsaturated fatty acids, Omega 3, DHA, EPA

Introducción

Desde la era pre-agrícola hasta hoy, a través de miles de años, la importancia en la dieta de los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 ha variado. En aquella época, la dieta estaba basada en los alimentos disponibles: la carne magra, el pescado, los vegetales de hojas verdes, frutas y frutos secos. Esta alimentación fue la que determinó los requerimientos nutricionales genéticos del humano moderno. A pesar del paso del tiempo, nuestros genes no sufrieron grandes modificaciones desde el período paleolítico (¡40000 años atrás!); sin embargo, nuestras dietas han variado considerablemente [1][2].

Uno de los mayores cambios en nuestra alimentación fue dado por la incorporación de cereales con la llegada de la Revolución Agrícola. Los cereales se convirtieron en la base de nuestra dieta pero, teniendo en cuenta la extensa y completa historia del ser humano, esta transformación ocurrió en un corto período de tiempo y representó un cambio brusco frente a la dieta a la cual estamos genéticamente adaptados. Los cereales presentan un alto contenido de carbohidratos y ácidos grasos omega 6 pero un bajo contenido de omega 3 y antioxidantes [1]. Con el transcurso de la historia, el contenido de ácidos grasos omega 3 en nuestra dieta fue disminuyendo.

A estos cambios estructurales en la dieta, se agregan nuevos hábitos de la sociedad moderna, inclinada a un consumo de productos procesados, un aumento en el consumo de grasas saturadas, de ácidos grasos trans y de aceites vegetales ricos en omega 6 acompañados de un consumo disminuido de alimentos frescos. Desde el punto de vista genético, actualmente vivimos en un entorno nutricional que difiere de aquel para el que se seleccionó nuestra constitución genética [1] y donde el omega 3 tenía un protagonismo mucho mayor.

En este contexto, numerosos estudios han reportado que el desbalance en la ingesta de los ácidos grasos esenciales omega 6 y omega 3 está asociado a problemas de salud modernos y que la incorporación de ácidos grasos omega 3 estaría vinculado con una disminución en el riesgo de padecer diversas patologías en todas las categorías etarias, tales como enfermedades cardíacas, inmunológicas y enfermedades infecciosas, entre muchas otras.

La química detrás de los ácidos grasos: al encuentro de lo esencial

Para entender la importancia de los ácidos grasos omega 3 en la dieta es necesario definirlos. En primer lugar, los ácidos grasos (AG) son ácidos monocarboxílicos de cadena larga que generalmente contienen un número par de átomos de carbono, normalmente entre 8 y 22. En una primera clasificación, los AG pueden dividirse en dos grandes grupos: los AG saturados y los AG insaturados. Dependiendo del grado de insaturación, éstos últimos pueden clasificarse a su vez en AG monoinsaturados (aquellos que presentan un único enlace doble) y en AG poliinsaturados, también denominados PUFAs (por sus siglas en inglés: *poly-unsaturated fatty acids*). Los PUFAs incluyen las series de los ácidos grasos omega 3 y omega 6. Las dos familias se diferencian por la posición del primer doble enlace, contando a partir del extremo metilo de la molécula (figura 1). Cuando el primer doble enlace se encuentra en el carbono tres respecto del extremo metilo, los AG pertenecen a la familia de los omega 3; cuando la primera insaturación se presenta en el carbono 6 respecto del C metilo, esta familia corresponde a los omega 6.

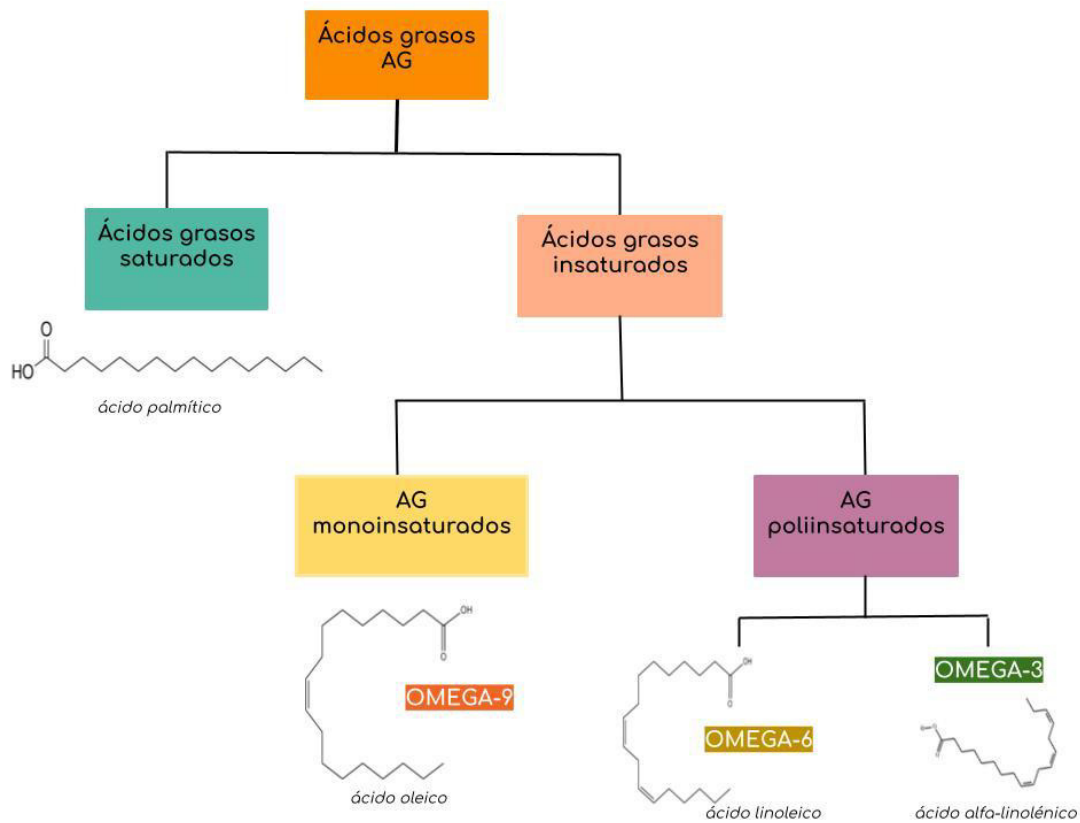


Figura 1: Clasificación de ácidos grasos según el grado de insaturación.

Los ácidos grasos omega 6 están representados por el ácido linoleico (LA, 18:2 ω -6) y los omega 3, por el ácido alfa linolénico (ALA, 18:3 ω -3). Como nuestro organismo carece de las enzimas necesarias para insertar insaturaciones en los átomos de carbono que están más allá del carbono 9 a partir del carboxilo terminal, tanto los omega 6 como los omega 3 deben ser ingeridos en la dieta, considerándose AG esenciales [3].

Los ácidos grasos omega 3 pueden encontrarse en tres principales formas: alfa linolénico (18:3 omega 3, α -ALA), ácido eicosapentaenoico (20:5 omega 3, EPA), y ácido docosahexaenoico (22:6 omega 3, DHA) (figura 2). En la naturaleza, los omega 3 existen principalmente en su forma esterificada asociados a los fosfolípidos de la membrana celular o en su forma de triglicéridos en lípidos de almacenamiento [4].

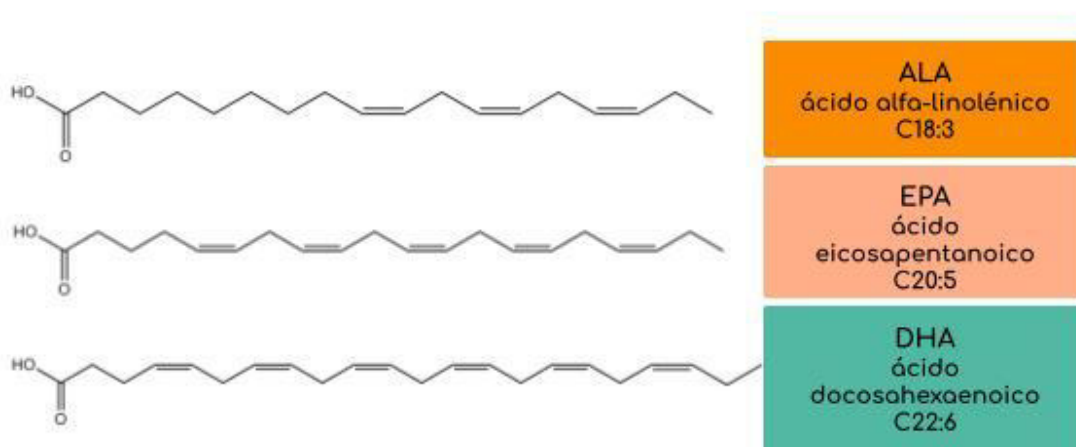


Figura 2: Principales formas de los ácidos grasos omega-3.

El EPA y el DHA se pueden sintetizar en el cuerpo humano utilizando ALA como precursor mediante la acción enzimática de desaturasas y elongasas, pero la tasa de conversión es baja, en promedio de 4-14% para hombres y mujeres, respectivamente [5]. El DHA y el EPA también pueden interconvertirse, con una eficiencia extremadamente baja, igual al 0,1% [6]. Teniendo en cuenta que son ácidos grasos esenciales y que debemos ingerirlos en la dieta, estas cifras muestran la importancia de incorporar todas las formas de omega 3, no solo ALA, sino EPA y DHA, siendo en particular estos últimos los que ejercen un mayor efecto en la salud.

Omega 3 en la dieta: Fuentes

Para tener una dieta variada rica en omega 3 resulta apropiada la inclusión tanto de fuentes vegetales como marinas. La fuente principal del ácido linolénico (ALA) son los vegetales: semillas, frutos secos y algunos aceites como el de lino, chía, nuez y soja [7,8]. El EPA y el DHA se encuentran mayoritariamente en fuentes marinas como el pescado azul graso [7] y en microalgas, que son los productores predominantes de omega 3 en la biosfera [9]. El EPA y DHA son sintetizados por el fitoplancton, se transfieren a través de la cadena alimentaria y se depositan en los lípidos de peces y mamíferos marinos [4]. Principalmente, se almacenan en el hígado de pescados blancos magros como el bacalao, en el cuerpo de pescados grasos como la caballa y el salmón, y en la grasa de mamíferos marinos como las focas y las ballenas [10]. También existen invertebrados marinos que tienen la habilidad de sintetizar alguno de dichos ácidos grasos *de novo* [11]. Resulta interesante notar que el consumo de omega 3 está estrechamente ligado al consumo de pescado dado que es la principal fuente de DHA y EPA para humanos [12]. Sin embargo, se ha alertado sobre el alto contenido de sustancias nocivas como el metil mercurio, que también incorporan los peces, que pueden tener efectos neurotóxicos en el desarrollo del sistema nervioso central del feto [13]. Más aún, en el caso particular de EPA/DHA, existen factores de costo y preferencias culturales que limitan el consumo de pescado de mar u otras fuentes ricas en estos micronutrientes. En consecuencia, el interés actual es plantear nuevas estrategias para el consumo de estos AG benéficos para la salud. Una de las formas potenciales de paliar la carencia de ácidos grasos omega 3 es el desarrollo de estrategias para fortificar alimentos con omega 3 de manera óptima y eficiente.

Omega 3 vs Omega 6: en busca del equilibrio

La incorporación de los cereales como una de las bases de la alimentación aumentó el consumo relativo de omega 6. Pero esto no incluye todos los cambios en la dieta que surgieron desde entonces. En los últimos 150 años, el predominio de productos industrializados y ultra procesados ricos en ácidos grasos saturados, el desarrollo de la industria de los aceites vegetales con alto contenido de omega 6 y la aplicación de técnicas de agricultura moderna como la alimentación para el ganado a base de granos, logró extender la brecha en el consumo de los AG esenciales, aumentando excesivamente el consumo de omega 6 y disminuyendo el de omega 3 [1,2] [14]. El desbalance, presente sobre todo en las dietas occidentales, promueve la patogénesis de múltiples enfermedades, incluyendo enfermedades cardiovasculares, cáncer, procesos inflamatorios y autoinmunes [15]. Estos problemas surgen debido a que nuestra constitución genética no está adaptada a la ausencia de omega 3 en la dieta, como fue mencionado previamente. Fuentes bibliográficas sugieren que los humanos evolucionaron con una dieta cuya relación de ácidos grasos omega 3/omega 6 era aproximadamente 1 [14]. Sin embargo, en estos últimos años, se encuentran relaciones mayores a 1:10 (incluso 1:25-1:50 con el consumo regular de comida rápida, altas ingesta de frituras y baja de alimentos frescos) que son desaconsejadas [16]. Es así como el cociente omega 3/omega 6 se ha convertido en un modelo para medir el equilibrio adecuado de estos ácidos grasos en aceites y en la dieta [17].

Pero ¿cuáles son las razones fisiológicas detrás de este requisito en nuestros organismos? La respuesta se encuentra en el metabolismo de estos AG una vez que son incorporados por la dieta. Al igual que el ácido linolénico (ALA), que se metaboliza para obtener ácidos grasos de cadena larga como EPA y DHA

dentro del organismo, el ácido linoléico (LA, omega 6) también sufre este tipo de reacciones dando lugar, entre otros metabolitos, al ácido araquidónico (AA) (figura 3).

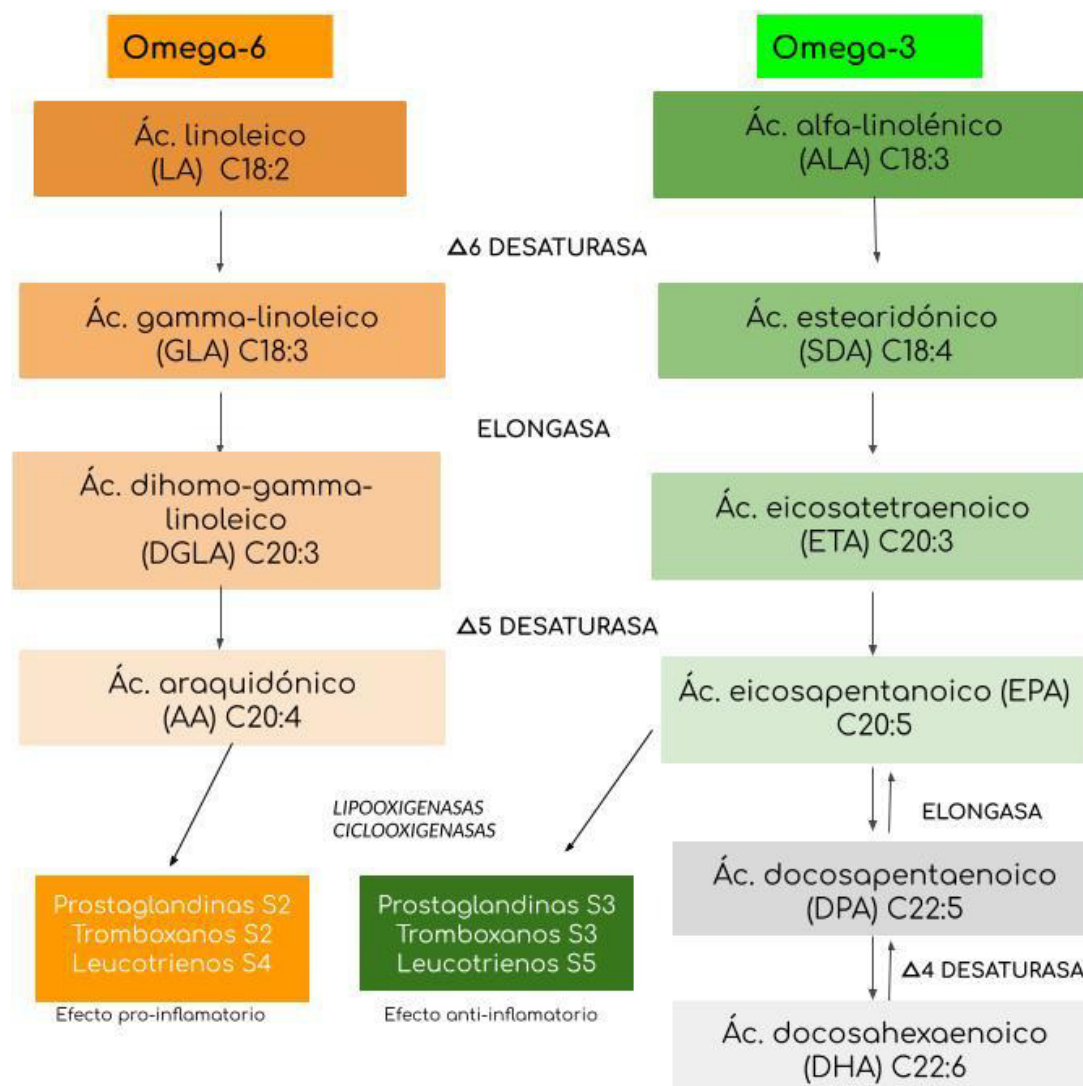


Figura 3: Biosíntesis de los principales ácidos grasos poliinsaturados esenciales y algunos de sus metabolitos característicos.

ALA, LA y sus derivados de cadena larga son componentes importantes en las membranas celulares, y a su vez son metabólicamente y funcionalmente distintos: con frecuencia presentan funciones fisiológicas importantes y opuestas [15].

Tanto el ácido araquidónico (AA) como el ácido eicosapentanoico (EPA) son los precursores de una serie de compuestos denominados eicosanoides, cuyo origen está dado por la oxidación de dichos ácidos grasos [18]. Entre estos compuestos se encuentran prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas, los cuales están involucrados en diversas acciones fisiológicas [19][7]. Los eicosanoides derivados de omega 6 y de omega 3 presentan funciones muy distintas. Los eicosanoides derivados de AA están asociados con una acción proinflamatoria y proagregatoria, y también actúan como vasoconstrictores [7]. Son biológicamente activos en bajas cantidades pero pueden contribuir a la formación de ateromas, trombos o desórdenes inflamatorios y alérgicos, especialmente en individuos susceptibles, si se producen en cantidades mayores [15]. Por otro lado, los compuestos derivados de EPA son menos activos y están asociados a un efecto antiinflamatorio, actuando como vasodilatadores y antiagregantes; es decir, pueden parcialmente oponerse o antagonizar la acción proinflamatoria de los eicosanoides derivados de AA, manteniéndose un equilibrio entre ellos [15] [18].

Se pueden nombrar varios mecanismos a partir de los cuales el consumo balanceado de los ácidos esenciales modula los efectos inflamatorios en el cuerpo. Uno de ellos se basa en la existencia de una competencia entre los ácidos grasos omega 6 y omega 3 por las enzimas de desaturación que permiten la generación de AA, EPA y DHA [4]. Aunque estas enzimas presentan una mayor afinidad por ALA que LA, una alta ingesta de LA interfiere con la desaturación y elongación del ácido linolénico [20,21]. Se ha demostrado que con sólo reducir el consumo de omega 6 aumenta la concentración de AG omega 3 en plasma [22]. Además, también ocurre una competencia entre ambos ácidos grasos en la formación de eicosanoides. EPA compete con AA a nivel de las enzimas ciclooxigenasa y lipooxigenasa por la producción de prostaglandinas y leucotrienos [23].

Cuando se incorpora EPA y DHA al organismo, se reemplazan parcialmente los ácidos grasos omega 6, especialmente AA, de las membranas de las células, especialmente en las membranas de plaquetas, eritrocitos, neutrófilos, monocitos y células del hígado, produciéndose un desplazamiento del omega 6 de los tejidos y modulando de esta forma, la producción de sus metabolitos inflamatorios [23,24].

De esta manera, una dieta excesivamente rica en omega 6 frente al consumo pobre de omega 3 cambia el estado fisiológico a uno protrombótico, proagregatorio y proinflamatorio, contribuyendo a un estado donde se podría favorecer la prevalencia de distintas patologías [15]. El balance, entonces, de los ácidos grasos esenciales resulta fundamental para una buena salud y un desarrollo normal.

Omega 3 en la salud

Los ácidos grasos omega 3 y sus beneficios en la salud son objeto de estudio desde hace algunas décadas. El primer estudio que dio relevancia a su consumo se realizó en los años cincuenta en una población nativa de Alaska [25]. En 1976, reportaron que, en estos nativos, su dieta alta en AG omega 3 estaba relacionada con una menor incidencia de enfermedades del corazón [26]. Desde ese entonces, nuevos hallazgos y reportes apoyaron o contradijeron estos resultados, pero marcaron las bases para el estudio exhaustivo de los efectos, las dosis y los mecanismos por los cuales estos ácidos grasos podrían brindar beneficios a la salud y prevenir enfermedades.

Actualmente, el mayor efecto que se le atribuye al consumo de ácidos grasos omega 3 es el efecto protector frente a enfermedades cardiovasculares. Estudios basados en ensayos clínicos mostraron que el consumo de omega 3 podría proveer un beneficio de supervivencia frente a la enfermedad cardiovascular, previniendo muertes cardíacas repentinas [27] y mejorando los resultados de fallas cardíacas.[28]. Algunos ensayos clínicos utilizando como única intervención el consumo de pescado de mar o su aceite (aportando ~900 mg de EPA+DHA) parecen sugerir una reducción de un ~33% la mortalidad por enfermedad cardíaca y un 21-30% la mortalidad total [27][29]. A su vez, se ha demostrado que el consumo de aceites ricos en DHA mejora parámetros como colesterol, triglicéridos y presión sanguínea [29,30].

Recientemente, se ha encontrado evidencia de una posible correlación entre los valores de EPA+DHA y la recuperación de la frecuencia cardíaca en hombres y mujeres saludables que se sometieron a exámenes clínicos por un período de diez años [31]. Se encontró que al aumentar el índice de omega 3, la frecuencia cardíaca desciende con mayor rapidez luego de un esfuerzo máximo. Dado que estudios anteriores han demostrado que una recuperación lenta de la frecuencia cardíaca está asociada con un mayor riesgo de muerte cardíaca súbita, estos resultados parecen sugerir un potencial mecanismo cardioprotector de estos ácidos grasos poliinsaturados [32].

Los efectos del consumo de estos ácidos grasos se hacen particularmente visibles en la población con menor consumo de omega 3 previo y la mayor protección se observa en personas que ya tenían enfermedades coronarias existentes. En todos los casos, se afirma la importancia de la dosis que juega un rol fundamental en los efectos, así como la forma del omega 3 que afecta su biodisponibilidad, la población estudiada y los hábitos dietarios respecto a su consumo [33].

Se han propuesto múltiples mecanismos moleculares para explicar el efecto cardioprotector de los ácidos grasos omega 3 en el organismo, en particular DHA y EPA. Además de la producción de eicosanoides que antagonizan parcialmente efectos proinflamatorios de metabolitos derivados de AA, se pueden mencionar otras vías de acción. Por un lado, la incorporación de los AG omega 3 en el organismo y, especialmente, en las membranas puede desencadenar cambios importantes en sus propiedades y consecuentemente, podría modificar la funcionalidad y localización de proteínas transmembrana como receptores y la forma en la que los ligandos interactúan entre ellos. De esta forma, se sugiere que los AG omega 3 pueden estar involucrados en la regulación de vías de señalización celular que regulan factores transcripcionales [34] y en la función de los canales iónicos (con un efecto particular antiarrítmico) [35]. Por otro lado, estos ácidos juegan un rol fundamental en la regulación de genes críticos para el control de la homeostasis lipídica [35]. Muchas fuentes sugieren que los ácidos grasos omega 3 y sus metabolitos reducen la producción de triacilglicerol

ya sea mediante la disminución del ensamblaje y secreción de lipoproteínas de baja densidad como mediante la promoción de la beta oxidación de AG al unirse a receptores que actúan como factores de transcripción y regulan la expresión de genes (receptores PPAR) [36]. Diversos estudios sugieren que los AG omega 3 modifican la función endotelial y que aumentan la relajación dependiente del endotelio aumentando la liberación de óxido nítrico y favoreciendo la vasodilatación [37,38]. Además, el consumo de EPA y DHA podría ejercer un efecto coronario positivo al mejorar la función mitocondrial y la eficiencia en la generación de ATP gracias a posibles cambios en la composición de fosfolípidos de la membrana mitocondrial [39].

En cuanto a sus efectos benéficos en otros tejidos, se ha encontrado en el sistema nervioso que el aumento de los AG omega 3 en las membranas tiene importantes repercusiones en funciones cerebrales tanto durante la gestación como en etapas tempranas del desarrollo. Esto se debe a que el DHA se puede encontrar en membranas del cerebro y retina [40] y es importante para el desarrollo fetal. Niños de madres que fueron suplementadas con omega 3 durante el embarazo, presentaron mayor coordinación y memoria comparados con niños de madres sin suplementar ante pruebas de habilidades cognitivas [41]. También se ha reportado que la suplementación durante el embarazo con DHA asiste en la maduración del sistema visual del feto [42]. A su vez, hay evidencia de que la ingesta durante el embarazo de estos ácidos influye en mejorar el peso del infante al nacer y la duración de la gestación [4] y se ha sugerido un efecto potencial en las enfermedades alérgicas [43,44]. Sin embargo, se requiere evidencia más contundente de sus efectos particulares y las dosis requeridas, aunque hay recomendaciones específicas para gestantes sobre el consumo de pescado [33].v

En este contexto asociado al sistema nervioso, hay estudios recientes sobre una potencial influencia en la capacidad cognitiva de adultos mayores [45]. Por otro lado, estudios epidemiológicos han mostrado que el consumo de pescado estaría asociado a un bajo riesgo de depresión, una disminución en los síntomas y que el aceite de pescado tendría un efecto protector en jóvenes de hasta 25 años respecto a desórdenes depresivos graves [46,47].

Los mecanismos de acción propuestos de los PUFAs en la función cerebral parten de la premisa que el DHA es un componente principal de los fosfolípidos de membrana de este órgano. Algunos de estos mecanismos incluyen modificaciones en la fluidez de la membrana, el número y la afinidad de receptores, la función de los canales iónicos, la producción y actividad de neurotransmisores y la transducción de señales [48].

En los últimos años, el estudio de la microbiota ha ganado importancia debido a que la interacción microbiota-hospedador resulta central en múltiples procesos que sufre nuestro organismo desde el comienzo de la vida. Sin embargo, el impacto del consumo de omega 3 en la microbiota intestinal aún no está completamente definido. Algunos estudios hechos en humanos mostraron cambios comunes en la microbiota luego de la suplementación con omega 3 PUFAs que podrían tener una acción positiva revirtiendo la composición de la microbiota en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, además

de su posible influencia en el eje intestino-cerebro [49]. A pesar de estos resultados motivadores, aún hay mucho por entender de esta compleja interacción.

En el contexto mundial actual dado por la pandemia causada por SARS-CoV-2, y aprovechando el efecto antiinflamatorio de los ácidos grasos omega 3, se está llevando a cabo el estudio PREPARE-IT en Argentina [50]. Este ensayo postula que la administración de un éster etílico de EPA podría reducir el contagio en sujetos con alto riesgo de infectarse con SARS-CoV-2 y reducir las complicaciones clínicas relacionadas con COVID-19 para la población expuesta, en particular, trabajadores de la salud.

Omega 3 en la dieta: Perspectivas

Previo al año 2002, sólo existían recomendaciones oficiales para la ingesta de ALA (1100-1600 mg/día). Sin embargo, en vista de los avances científicos, actualmente se recomienda también la ingesta de EPA+DHA (250-500 mg/día) con fines preventivos [51,52], mientras que la American Heart Association (AHA) recomienda 1000 mg/día de EPA+DHA para prevención secundaria de enfermedades cardiovasculares [51]. Esto significa que los niveles de EPA+DHA totales en la dieta corriente deberían incrementarse unas 5-15 veces [53].

En cuanto a la relación omega 3/omega 6 aún no hay un consenso claro sobre qué relación de consumo sería preferible. Actualmente, es de gran interés estudiar si una relación específica de consumo de estos ácidos grasos esenciales podría ejercer ciertos beneficios a la salud del consumidor para problemas particulares, como se postuló el efecto de la relación 1:4 en el funcionamiento del sistema nervioso [15] [54]. Muchos investigadores han sugerido que, de todas formas, la relación omega 3/omega 6 no debería superar la relación 1:10 [55][15].

Debido al contenido de sustancias nocivas que pueden contener las fuentes marinas, y la dificultad de incorporar pescado en la dieta occidental por factores culturales, es de interés actual plantear nuevas estrategias para el consumo de estos ácidos grasos benéficos para la salud. Los ácidos grasos omega 3 se presentan en muchos suplementos dietarios, incluyendo el aceite de pescado, de krill, y algunos aceites provenientes de algas. Uno de los grandes problemas que conllevan es su susceptibilidad a la oxidación y a desarrollar deterioro organoléptico [56]. Una alternativa es el consumo de cápsulas blandas de aceite de pescado. En estos productos se suele contener entre 500 mg a 1000 mg de aceite, aportando en promedio de 250 a 300 mg de EPA+DHA [57].

Muchos autores destacan que el consumo de alimentos ricos en ácidos grasos omega 3 presentan un efecto benéfico mayor al de otros suplementos dietarios como aceites. Sugieren la existencia de un efecto de matriz dado por el contenido de lípidos del alimento que incrementa la biodisponibilidad de los ácidos. Dichos estudios recomiendan el consumo de formulaciones con omega 3 y alimentos con alto contenido de grasa [58,59]. Sin embargo, las personas con alto riesgo cardiovascular no deberían consumir alimentos ricos en lípidos. Frente a este problema, se proponen métodos que se basan en la emulsificación de los aceites que permite una biodisponibilidad alta independientemente de la matriz en la que se encuentren [59].

Las alternativas más recientes incluyen la micro y nanoencapsulación que se basan en la dispersión del aceite y su atrapamiento en polímeros de maltodextrina, derivados de almidón o celulósicos preparando micro o nanopartículas conteniendo aceite. Se trata de un producto que puede adicionarse en distintos alimentos en base seca o en base líquida que aumenten la funcionalidad del alimento y aporten estabilidad al aceite [57].

Uno de los grandes desafíos para la incorporación de los omega 3 en los alimentos es prevenir su oxidación. Por ello, todo el procesamiento del alimento debe ocurrir evitando la oxigenación, la luz UV, la humedad, los iones metálicos y sobre todo en frío. Los alimentos conteniendo omega 3 para ejercer el efecto benéfico deben ser consumidos con frecuencia, almacenados a bajas temperaturas y en recipientes con poco intercambio de oxígeno en envases bien impermeables. Todas estas características

se asemejan a las condiciones de los alimentos lácteos, y más específicamente a los yogures: productos lácteos fermentados cuya vida útil es relativamente corta, con requerimientos de cadena de frío y que tienen una matriz más anaeróbica que la leche y más resistente a la oxidación. Por esta razón se los incluyó como una nueva plataforma para vehicular omega 3.

Actualmente, existen en el mercado productos lácteos como leche y yogur fortificados con ácidos grasos omega-3 provenientes de semillas de lino, aceite de pescado o microalgas marinas. La fortificación se realiza tanto por adición directa de aceite o manipulando la dieta de los rumiantes para incrementar el contenido de omega-3 en la leche producida en la glándula mamaria. Lamentablemente, este último abordaje sólo aumenta modestamente (menos del 4%) la concentración de EPA y DHA en leche [60]. Por ello, resulta fundamental lograr adicionarlo de forma eficiente y óptima mediante su emulsificación.

¿Es posible incluir bacterias ácido lácticas (presentes en el desarrollo y procesamiento del yogur) y PUFAs en un alimento manteniendo propiedades? Si quisiéramos incluirlas deberíamos en primer lugar evaluar su supervivencia. Kankaanpää y colaboradores (2001) observaron que en algunas especies del género *Lactobacillus* con las que trabajaron, el agregado de estos AG no afectó su viabilidad [61]. Lo que resultó sorprendente fue que los PUFAs cambiaron sitios de adhesión de las bacterias ácido lácticas por modificaciones en la composición de la membrana celular, mostrando una correlación entre variantes de PUFAs y la adhesión a líneas celulares del epitelio intestinal. Es decir, la inclusión de estos AG en un alimento modificó la adhesión bacteriana, propiedad necesaria para ejercer los beneficios de los microorganismos probióticos [62].

Para mejorar la estabilidad oxidativa en el contexto del alimento conteniendo microorganismos, se ha trabajado tanto en la utilización de emulsiones como en la microencapsulación. Eratte y colaboradores (2016) han conseguido co-microencapsular *Lactobacillus casei* y omega 3 en goma arábiga y aislado de proteína de suero de leche (WPI) [63]. En este caso, hubo una sinergia entre la estabilidad oxidativa del aceite omega-3 y la viabilidad de las bacterias probióticas al co-microencapsular.

Otros científicos se enfocaron en incorporar en el alimento microalgas como fuente de omega 3, teniendo en cuenta el impacto en los parámetros sensoriales, necesarios para la aceptación de un alimento. Pese a que lograron desde un punto de vista tecno-funcional incorporar altas concentraciones del aceite de microalgas, el producto final no fue bien aceptado por el panel de análisis sensorial. La mejor opción que plantean los investigadores fue la microencapsulación, que evita tanto la oxidación (causante del aroma desagradable) como el gusto a pescado [64].

Así es que, teniendo en cuenta los proyectos de incorporar PUFAs en el alimento, surgen enormes desafíos para incluir bacterias lácticas y omega 3. En primer lugar, utilizar dosis de omega 3 que se acerquen a las preventivas; en segundo lugar, que la adición del AG no afecte negativamente la sobrevivencia ni las propiedades de adhesión de los lactobacilos; pero además, que las características sensoriales sean aptas para los consumidores. En este último punto, surgen como mejores estrategias la microencapsulación y la emulsificación.

En conclusión, los ácidos grasos omega 3 han sido desplazados de nuestras dietas por muchos años y a pesar de que aún hace falta profundizar en la investigación y en las pruebas clínicas para asegurar todos sus efectos particulares en la salud, es indudable la necesidad de incorporarlos como parte de una dieta sana y equilibrada. A partir de esta premisa surgen muchos desafíos: alentar el consumo de alimentos ricos en omega 3, desarrollar nuevos productos fortificados de forma eficiente que puedan alcanzar estos ácidos grasos esenciales a toda la población y, por sobre todo, afirmar su importancia desde la educación alimentaria nutricional en todos los niveles.


Referencias:

1. **Simopoulos AP** (1999) Evolutionary aspects fatty acids in the food supply of omega-3. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 60(5&6): 421-429. DOI:10.1016/s0952-3278(99)80023-4.
2. **Eaton SB, Konner M** (1985) Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *The New England Journal of Medicine* 312: 283-289. DOI: 10.1056/NEJM198501313120505

3. **Rodríguez-Cruz, Tovar, del Prado, Torres** (2005) Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de investigación clínica* 57 no.3: 457-472.
4. **Shahidi F, Ambigaipalan P** (2018) Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. *Annual Review of Food Science and Technology* 9:345-381. DOI: 10.1146/annurev-food-111317-095850
5. **Arterburn LM, Hall EB, Oken H** (2006) Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *The American Journal of Clinical* 83(6 Suppl):1467S-1476S. DOI: 10.1093/ajcn/83.6.1467S
6. **Abedi E, Sahari MA** (2014) Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Science & Nutrition* 2, 443-463. DOI:10.1002/fsn3.121
7. **FAO** (2010) Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. *FAO Food and Nutrition Paper* 91:1-166. PMID: 21812367.
8. **Dietitians of Canada** (2013) Food Sources of Omega-3 Fats.
9. **Cholewski M, Tomczykowa M, Tomczyk M** (2018) A Comprehensive Review of Chemistry, Sources and Bioavailability of Omega-3 Fatty Acids. *Nutrients* 10(11):1662. DOI: 10.3390/nu10111662
10. **Shahidi F** (1998) Functional seafood lipids and proteins. *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects*: 381-401.
11. **Monroig Ó, Tocher DR, Navarro JC** (2013) Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in marine invertebrates:Recent advances in molecular mechanisms. *Marine Drugs* 11: 3998-4018. DOI: 10.3390/md11103998
12. **Mori TA** (2017) Marine OMEGA-3 fatty acids in the prevention of cardiovascular disease. *Fitoterapia* 123: 51-58. DOI:10.1016/j.fitote.2017.09.015
13. **Puri R, Mahajan M, Sahajpal NS, Singh H, Singh H, Jain SK** (2016) Self-nanoemulsifying drug delivery system of docosahexanoic acid: Development, in vitro, in vivo characterization. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 42: 1032-1041.
14. **Simopoulos AP** (1991) Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *The American Journal of Clinical Nutrition* 54(3):438-63. DOI: 10.1093/ajcn/54.3.438
15. **Simopoulos AP** (2002) The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 56(8):365-79. DOI: 10.1016/s0753-3322(02)00253-6
16. **Doughman SD, Krupanidhi S, Sanjeevi CB** (2007) Omega-3 fatty acids for nutrition and medicine: considering microalgae oil as a vegetarian source of EPA and DHA. *Current Diabetes Review* 3(3):198-203. DOI: 10.2174/157339907781368968
17. **Harris WS** (2006) The omega-6/omega-3 ratio and cardiovascular disease risk:uses and abuses. *Current Atherosclerosis Reports* 8(6): 453-459. DOI: 10.1007/s11883-006-0019-7
18. **Grosso G, Galvano F, Marventano S, Malaguarnera M, Bucolo C, Drago F, Caraci F** (2014) Omega-3 fatty acids and depression: scientific evidence and biological mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014:313570 DOI: 10.1155/2014/313570
19. **Shahidi F, Miraliakbari H** (2004) Omega-3 (n-3) fatty acids in health and disease: part 1—cardiovascular disease and cancer. *Journal of Medicine Food* 7:387-401. DOI: 10.1089/jmf.2004.7.387
20. **Phinney SD, Odin RS, Johnson SB, Holman RT** (1990) Reduced arachidonate in serum phospholipids and cholesteryl esters associated with vegetarian diets in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 51(3):385-92. DOI:10.1093/ajcn/51.3.385
21. **Kaur N, Chugh V, Gupta AK** (2014) Essential fatty acids as functional components of foods- a review. *Journal of food science and technology*, 51(10), 2289-2303. DOI: 10.1007/s13197-012-0677-0
22. **Taha AY, Cheon Y, Faurot KF, Macintosh B, Majchrzak-Hong SF, Mann JD, Hibbeln JR, Ringel A, Ramsden CE** (2014) Dietary omega-6 fatty acid lowering increases bioavailability of omega-3 polyunsaturated fatty acids in human plasma lipid pools. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* 90(5), 151-157. DOI: 10.1016/j.plefa.2014.02.003
23. **Simopoulos AP** (2002) Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition* 21(6), 495-505. DOI:10.1080/07315724.2002.10719248
24. **Montgomery HE, Clarkson P, Nwose OM, Mikailidis DP, Jagroop IA, Dollery C, Moulton J, Benhizia F, Deanfield J, Jubbs M, World M, McEwan JR, Winder A, Humphries S** (1996) The acute rise in plasma fibrinogen concentration with exercise is influenced by the G-453-A polymorphism of the beta-fibrinogen gene. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 16(3), 386-391. DOI: 10.1161/01.atv.16.3.386
25. **Scott EM** (1956) Nutrition of Alaskan Eskimos. *Nutrition Reviews* 14(1): 1-3. DOI: 10.1111/j.1753-4887.1956.tb01402.x
26. **Bang HO, Dyerberg J, Sinclair HM** (1980) The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *The American Journal of Clinical Nutrition* 33(12): 2657-2661. DOI: 10.1093/ajcn/33.12.2657
27. **Burr ML et al** (1989) Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 2: 757-761. DOI: 10.1016/s0140-6736(89)90828-3
28. **Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, Barlera S, Franzosi MG, et al** (2008) Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo controlled trial. *Lancet* 372:1223-1230. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61239-8
29. **Kimmig LM, Karalis DG** (2013) Do omega-3 polyunsaturated Fatty acids prevent cardiovascular disease? A review of the randomized clinical trials. *Lipid Insights* 6: 13-20. DOI: 10.4137/LPI.S10846
30. **Jones PJ, Senanayake VK, Pu S, Jenkins DJ, Connelly PW, et al** (2014) DHA-enriched high-oleic acid canola oil improves lipid profile and lowers predicted cardiovascular disease risk in the canola oil multicenter randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition* 100:88-97. DOI: 10.3945/ajcn.113.081133
31. **Farrell SW, et al** (2020) Higher omega-3 index is associated with more rapid heart rate recovery in healthy men and women. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 163:102206. DOI: 10.1016/j.plefa.2020.102206
32. **Hernesniemi, JA, et al** (2020) Cardiorespiratory fitness and heart rate recovery predict sudden cardiac death regardless of ejection fraction. *Heart* 106: 434-440 .DOI: 10.1136/heartjnl-2019-315198

33. **NIH: National Institutes of Health** (2020) Omega-3 Fatty Acids Fact Sheet for Health Professionals.
34. **Ma DW, Seo J, Switzer KC, Fan YY, McMurray DN, Lupton JR, Chapkin RS** (2004) n-3 PUFA and membrane microdomains: a new frontier in bioactive lipid research. *The Journal of nutritional biochemistry* 15(11), 700–706. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2004.08.002
35. **Kromhout D, Yasuda S, Geleijnse JM, Shimokawa H** (2012) Fish oil and omega-3 fatty acids in cardiovascular disease: do they really work?. *European heart journal* 33(4), 436–443. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr362
36. **Sampath H, Ntambi JM** (2005) Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annual Review of Nutrition* 25:317–340. DOI:10.1146/annurev.nutr.25.051804.101917
37. **Goodfellow J, Bellamy MF, Ramsey MW, Jones CJ, Lewis MJ** (2000) Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *Journal of the American College of Cardiology* 35(2), 265–270. DOI: 10.1016/s0735-1097(99)00548-3
38. **Abeywardena MY, Head RJ** (2001) Longchain n-3 polyunsaturated fatty acids and blood vessel function. *Cardiovascular research* 52(3), 361–371. DOI: 10.1016/s0008-6363(01)00406-0
39. **Duda MK, O'Shea KM, Stanley WC** (2009) Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for the treatment of heart failure: mechanisms and clinical potential. *Cardiovascular research* 84(1), 33–41. DOI: 10.1093/cvr/cvp169
40. **Institute of Medicine, Food and Nutrition Board** (2005) Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). *National Academy Press*. DOI: 10.17226/10490
41. **Dunstan JA, Simmer K, Dixon C, Prescott SL** (2008) Cognitive assessment of children at age 2(1/2) years after maternal fish oil supplementation in pregnancy: a randomised controlled trial. *Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition* 93(1): F45-50. DOI: 10.1136/adc.2006.099085
42. **Judge MP, Harel O, Lammi-Keefe CJ** (2007) A docosahexaenoic acid–functional food during pregnancy benefits infant visual acuity at four but not six months of age. *Lipids* 42:117–122. DOI: 10.1007/s11745-006-3007-3
43. **Carlson SE, Colombo J, Gajewski BJ, Gustafson KM, Mundy D, et al** (2013) DHA supplementation and pregnancy outcomes. *The American Journal of Clinical Nutrition* 97:808–815. DOI: 10.3945/ajcn.112.050021
44. **Best KP, Gold M, Kennedy D, Martin J, Makrides M** (2016) Omega-3 long-chain PUFA intake during pregnancy and allergic disease outcomes in the offspring: a systematic review and meta-analysis of observational studies and randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition* 103:128–143. DOI: 10.3945/ajcn.115.111104
45. **Cederholm T** (2017) Fish consumption and omega-3 fatty acid supplementation for prevention or treatment of cognitive decline, dementia or Alzheimer's disease in older adults: any news?. *Current Opinion on Clinical Nutrition and Metabolic Care* 20: 104–109. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000350
46. **Nemets H, Nemets B, Apter A, Bracha Z, Belmaker RH** (2006) Omega-3 treatment of childhood depression: a controlled, double-blind pilot study. *The American Journal of Psychiatry* 163(6):1098–1100. DOI: 10.1176/ajp.2006.163.6.1098
47. **Rice SM, Hickie IB, Yung AR, Mackinnon A, Berk M, et al** (2016) Youth depression alleviation: the Fish Oil Youth Depression Study (YoDA-F): a randomized, double-blind, placebo-controlled treatment trial. *Early Intervention in Psychiatry* 10:290–299. DOI: 10.1111/eip.12166
48. **Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI** (2005) Essential fatty acids and the brain: from infancy to aging. *Neurobiology of aging* 26 Suppl 1, 98–102. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2005.09.013
49. **Costantini L, Molinari R, Farinon B, Merendino N** (2017) Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota. *International Journal of Molecular Sciences* 18(12):2645. DOI: 10.3390/ijms18122645
50. *Prepare-it*. <https://prepare-it.org/> acceso 01/02/2021
51. **Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ, American Heart Association, Nutrition Committee** (2003) Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 106:2747–2757. DOI: 10.1161/01.cir.0000038493.65177.94
52. **Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M** (2002) Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *Journal of the American Dietetic Association* 102(11):1621–1630. DOI: 10.1016/s0002-8223(02)90346-9
53. **Ganesan B, Brothersen C, McMahon DJ** (2014) Fortification of foods with omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54(1):98-114. DOI: 10.1080/10408398.2011.578221
54. **Yehuda S** (2003) Omega-6/omega-3 ratio and brain-related functions. World review of nutrition and dietetics 92: 37-56. DOI: 10.1159/000073791
55. **Gerster H** (1998) Can adults adequately convert alpha-linolenic acid (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)? *International Journal for vitamin and nutritional research* 68: 159–173.
56. **Valenzuela A** (2009) Aceites de origen marino y su importancia en la salud y nutrición humana y animal. *Aceites Grasas XIX*: 154-161.
57. **Taneja A, Singh H** (2012) Challenges for the delivery of long-chain fatty acids in functional foods. *Annual Review of Food Science and Technology* 3: 105-23. DOI: 10.1146/annurev-food-022811-101130
58. **Schuchardt JP, Hahn A** (2013) Bioavailability of long-chain omega-3 fatty acids. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 89, 1–8. DOI: 10.1016/j.plefa.2013.03.010
59. **Qin Y, Nyheim H, Haram EM, Moritz JM, Hustvedt SO** (2017) A novel self-micro-emulsifying delivery system (SMEDS) formulation significantly improves the fasting absorption of EPA and DHA from a single dose of an omega-3 ethyl ester concentrate. *Lipids in health and disease* 16(1): 204. DOI:10.1186/s12944-017-0589-0
60. **Lock AL, Bauman DE** (2004) Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 39(12):1197–1206. DOI: 10.1007/s11745-004-1348-6
61. **Kankaanpää P, Salminen S, Isolauri E, Lee Y** (2001) The influence of polyunsaturated fatty acids on probiotic growth and adhesion. *FEMS Microbiology Letters* 194 (2), 149–153. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb09460.x

62. **Kankaanpää P, Yang B, Kallio H, Isolauri E, Salminen S** (2004) Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Growth Medium on Lipid Composition and on Physicochemical Surface Properties of Lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (1): 129-136. DOI: 10.1128/AEM.70.1.129-136.2004
63. **Eratte D, Wang B, Dowling K, Barrow C, Adhikari B** (2016) Survival and fermentation activity of probiotic bacteria and oxidative stability of omega-3 oil in co-microcapsules during storage. *Journal of Functional Foods* 23, 485-496. DOI: 10.1016/j.jff.2016.03.005
64. **Robertson R, Mateo M, O'Grady M, Guihéneuf F, Stengel DB, Ross RP, Fitzgerald G, Kerry J, Stanton C** (2016) An assessment of the techno-functional and sensory properties of yoghurt fortified with a lipid extract from the microalga *Pavlova lutheri*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 37: 237-246. DOI: 10.1016/j.ifset.2016.03.017

| | |
|--|--|
|  <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p> | <p>Revista Química Viva Número 1, año 20, Abril 2021 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p> |
|--|--|

Óxido Nítrico (NO) - Azanona (HNO) en Sistemas Biológicos:

Dos caras de la misma moneda

Sebastián A. Suarez¹, Marcelo A. Marti², Fabio Doctorovich¹.

¹*Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física, INQUIMAE-CONICET.* ²

Departamento de Química Biológica, IQUIBICEN-CONICET. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Buenos Aires, C1428EHA, Argentina.

seba@qi.fcen.uba.ar | marti.marcelo@gmail.com | doctorovich@qi.fcen.uba.ar

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

En este trabajo se presentan los últimos avances en la química biológica del sistema NO/HNO y sus efectos posteriores en diferentes contextos, principalmente resumiendo el mecanismo de reacción de más de quince agentes reductores moderados que interaccionan con NO produciendo HNO. Además, se describen las características más importantes del sensor específico para HNO, el cual ha permitido develar parte de estos recientes resultados. Finalmente, se discuten las implicaciones de estas rutas químicas (no enzimáticas), biológicamente compatibles, para la formación de HNO endógeno, quedando demostrado que el NO y el HNO son complementarios, interdependientes y están interconectados en los sistemas biológicos.

Palabras clave: ÓxidoNítrico, NO, Azanona, Nitroxilo, HNO

Nitric Oxide (NO) - Azanone (HNO) in Biological Systems: Two sides of the same coin

Summary

In this work, was discussed the latest progress in the biological chemistry of the NO/HNO system, and its downstream effects in different contexts. The reaction mechanism of more than fifteen moderate reducing agents that interact with NO, producing HNO was summarized. Also, were described the most important characteristics of the specific HNO sensor, which allowed us to disclose these recent results. Finally, was examined the implications of these chemical (non-enzymatic), biologically compatible, routes to endogenous HNO formation: NO and HNO be complementary, interconnected, and interdependent in biological systems.

Keywords: Nitric Oxide, NO, Azanone, Nitroxyl, HNO

Contexto Histórico

El óxido nítrico (NO) fue sintetizado por primera vez hace 400 años, y caracterizado hace más de 200 años por Joseph Priestly[1] pero, al igual que el resto de los gases que intervienen en procesos de señalización, su importancia fisiológica fue reconocida recién muchos años más tarde. Como se describe en la Figura 1, en 1976, Ferid Murad y sus colegas demostraron que el NO generado en el laboratorio o comercialmente disponible podría activar la guanilatociclasa citosólica y elevar los niveles de Guanosin Monofosfato Cíclico (GMP) en los tejidos.[2] Este fue el comienzo del óxido nítrico en el campo las ciencias biológicas. Poco después, se encontró que una serie de nitrovasodilatadores (nitroprusiato, nitroglicerina, otros nitratos orgánicos y ésteres de nitrito) estimulaban la producción de GMP cíclica tisular.[3] En un estudio independiente, se encontró que el NO es un potente inhibidor de la agregación de plaquetas humanas.[4] Hacia 1986, Louis Ignarro reportó la producción endógena de NO

en células endoteliales, y descubrió su participación en la vasodilatación arterial, ya que reconoció que el NO se enmascaraba en las arterias como el en aquel entonces llamado factor de relajación derivado del endotelio (EDRF).[5] En 1989 el grupo del Dr. Moncada dilucidó la biosíntesis y el mecanismo de acción del NO haciéndose evidente que es una molécula de señalización producida enzimáticamente.[6] Por dichas investigaciones, el NO fue elegida ``Molécula del Año`` en 1992,[7] y los Dres. Ignarro, Furchgott y Murad obtuvieron el premio Nobel de Medicina en el año 1998. A raíz del descubrimiento de su rol fisiológico, la reactividad química y bioquímica del NO, fueron estudiadas detalladamente durante las siguientes décadas, siendo aun continuamente revisadas.[8, 9]

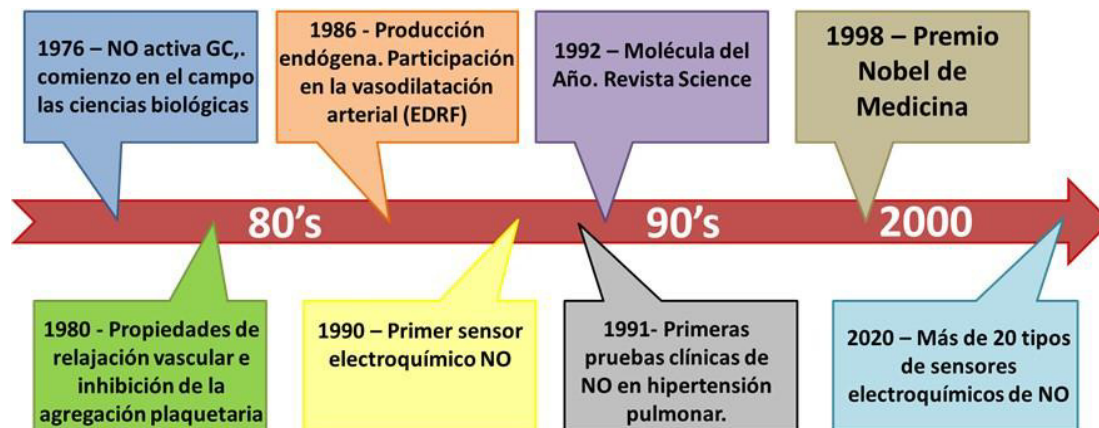


Figura 1: Cronología del desarrollo del NO.

Por otro lado, la historia del HNO es más reciente, siendo considerado como el hermano menor del NO. Aunque en 1901 se habían diseñado los primeros compuestos sólidos liberadores de nitroxilo, recién en 1933 se realizó el primer intento de síntesis de HNO gas.[10] Luego, tuvieron que pasar más de 25 años para lograr caracterizarlo, lográndose recién en 1958 (exactamente, 186 años después que el óxido nítrico).[11] Más aún, a más de 100 años de su primera utilización, recién en 2002 se caracterizaron correctamente parámetros químicos básicos como ser su pKa y su constante de dimerización.[12]

El HNO recién vio la luz como una posible sustancia biológicamente activa a mediados de los años ochenta, con estudios relacionados con la cianamida (H_2NCN), un medicamento contra el alcoholismo. [13] Especialmente en la década del 2000, se ha descubierto que el HNO posee efectos farmacológicos relacionados con la protección del sistema cardiovascular en la prevención de isquemias, infartos y ACV (propiedad que no tienen los dadores de NO).[14] El HNO actúa, principalmente, en (1) el aumento de la contractilidad muscular, (2) la aceleración de la relajación ventricular y (3) la disminución en la carga cardíaca.[15–17] Los dadores de HNO causan un aumento en la contractilidad del músculo cardíaco a través de un efecto positivo combinado de la fuerza relacionada con la contracción muscular. Esto, junto con la relajación simultánea de los músculos cardíacos resulta en un aumento y protección de la función cardíaca.[18] Por ello, recientemente, se han patentado numerosos fármacos dadores de HNO para su potencial uso clínico en la prevención de infartos.[19, 20]

Desde entonces, siguen abiertas varias cuestiones relacionadas con el campo relativamente nuevo de la señalización redox biológica del HNO.[21] Para quien dese profundizar en el tema, vale la pena señalar el reciente libro dedicado a varios aspectos de la química y la biología del HNO.[22]

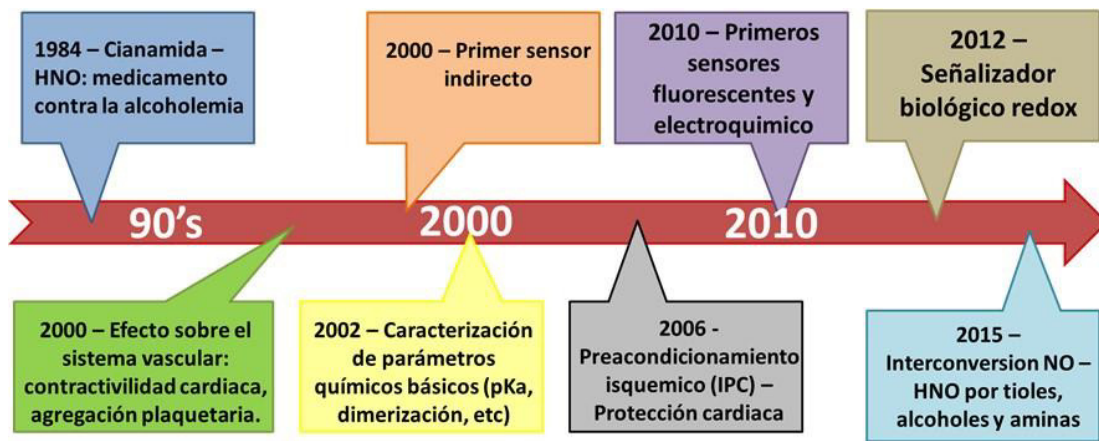


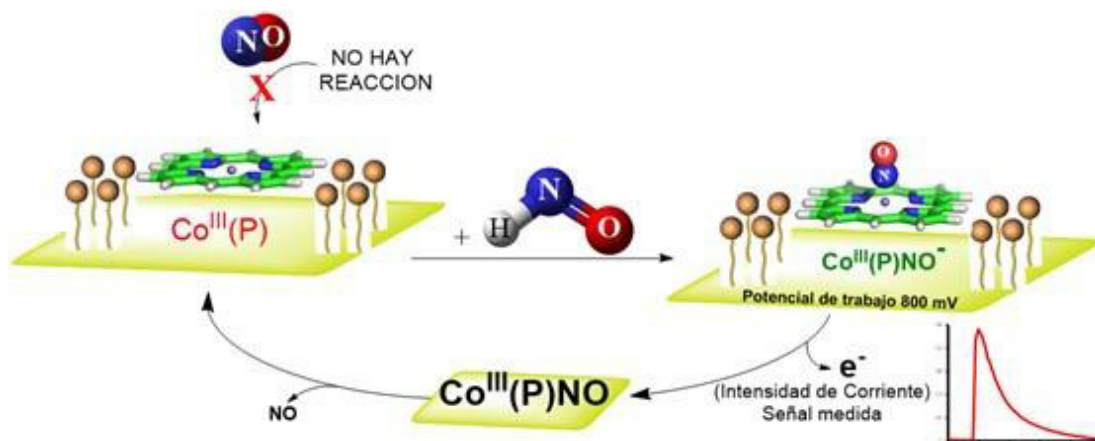
Figura 1: Cronología del desarrollo del HNO.

En general, el patrón de reactividad de ambos es similar en muchos aspectos, lo que hace extremadamente difícil distinguir de manera inequívoca su presencia o sus efectos fisiológicos; aunque en los últimos años esto se ha mejorado con sensores específicos para ambas especies.

Sensor electroquímico de HNO: una herramienta única

Históricamente, los investigadores han desarrollado múltiples ensayos y sondas para cuantificar el NO en soluciones biológicas, cada una de las cuales tiene ventajas y desventajas. [23–25] Muchos de estos están disponibles comercialmente para ayudar en la comprensión y utilización de sensores de NO en campos biológicos. Los primeros métodos de detección de NO datan de 1982, sin embargo, muchos eran indirectos (colorimétricos, resonancia EPR, quimioluminiscencia, bioensayos). El primer sensor electroquímico se describió en 1990, lo que permitió medir in vivo en tiempo real concentraciones relevantes de NO. En 1992 se desarrolló el primer sistema sensor comercial de NO, reportándose que en la actualidad más de 20 tipos de sensores electroquímicos de NO, siendo el límite de detección menor a 0,1 nM, y el diámetro de los mismos no supera los 100 nm.

Por otra parte, en las últimas dos décadas han surgido varios métodos de detección / cuantificación de HNO.[26–31] Puntualmente, el desarrollo del sensor específico para HNO se basa en una combinación innovadora de conocimientos de química de coordinación y especies reactivas de nitrógeno (RNOS), electroquímica y electrónica.[32–34] El sensor se sustenta en la elección de una porfirina de cobalto que por un lado permite una selectividad de reacción con el HNO (frente a otras RNOS, principalmente NO) y que debido a su geometría de interacción con el soporte del electrodo -en este caso oro-, resulta en un corrimiento de 400mv en la cupla redox de la porfirina nitrosilada (luego de atrapar al HNO) respecto de la porfirina libre, en estado de reposo. Este corrimiento -que se origina en un efecto de acoplamiento cuántico- permite mediante el diseño de un esquema de reacciones y potenciales de reposo (Esquema 1) atrapar una pequeña cantidad de HNO -proporcional a su concentración en el seno del solvente- regenerando catalíticamente el sistema, resultando en una determinación cuantitativa en tiempo real lo cual permite obtener información cinética.



Esquema 1: Diseño conceptual para el funcionamiento de un sensor amperométrico de HNO.

La detección se basa en la circulación de corriente al oxidar el HNO sobre la porfirina de cobalto, lo que resulta en una señal de fácil manipulación, amplificada por técnicas electrónicas, que luego es digitalizada para su almacenamiento. De esta manera, permite determinar la concentración de HNO con alta precisión (nano molar) en un rango dinámico de 1nM - 100 μ M. Además, la ventaja de este sensor es que es selectivo frente a otras moléculas pequeñas como RNOS, o sea ni NO, ni CO, ni O₂, ni SH₂ impactan en la integridad de la medición del HNO, pudiendo ser utilizado en solución acuosa, así como también en experimentos *in vitro* e *in vivo* (en sangre y/o tejidos).[26–31] El sistema se completa con el dispositivo electrónico analizador de datos y el software correspondiente (Figura 3).

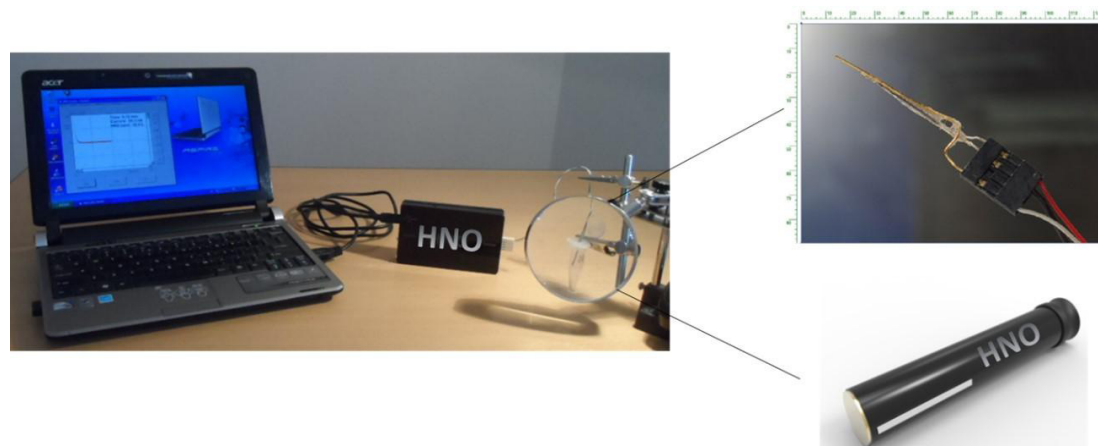


Figura 3: Izq. El adquisidor de datos completo se compone del sensor específico para HNO, el dispositivo electrónico analizador de datos y el software correspondiente. Der. Diseños actuales del versátil sensor de HNO.

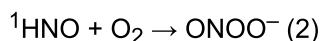
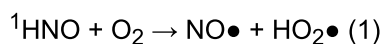
Interconversión NO/HNO en sistemas biológicos

A pesar de la reactividad superpuesta de ambos compuestos en medios biológicos [22, 35] con oxígeno, tioles, ácido ascórbico, metales de transición,[36, 37] hemoproteínas,[38–41] entre otros, las vías bioquímicas resultan ser muy diferentes.[14, 42] Incluso siendo el hemo ferroso de la sGCel objetivo biológico principal del NO,[43] se ha demostrado que las hemoproteínas reaccionan con HNO [44–48] y NO [49–51] tanto en el estado de oxidación Fe (III) como Fe (II), dando en el último caso un aducto estable de [HemoFe(II)]-HNO.[98] Además, se han realizado varios estudios sobre la reacción de porfirinas de Mn, Fe y Co con óxido nítrico [52] y azanona, [53–55] que muestran características interesantes sobre el mecanismo, la velocidad y la selectividad subyacentes. De todos modos, en este trabajo nos centraremos en la reactividad de ambos con moléculas pequeñas.

Formación de NO a partir de HNO

Oxígeno

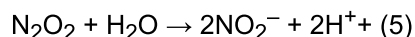
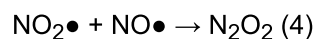
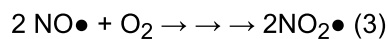
La reacción del ¹HNO con el O₂, que se estudió por primera vez en 1993,[56, 57] es lenta debido a sus diferentes estados de spin, $k \approx (3-8) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. [12, 58, 59] Sorprendentemente, los productos finales aún dan lugar a una profunda discusión y no han sido fehacientemente determinados. Por un lado, se ha propuesto que la reacción prosiga a través de la Reacción 1, produciendo NO y una especie radical del tipo hidroperóxido. [12, 57]



Por otro, hoy en día se debate si se produce peroxinitrito (ONOO⁻) [60, 61] o no.[62–66] Una posible explicación es que se podrían formar diferentes isómeros protonados. Una investigación QM-MM

realizada por el grupo del Dr. Estrin sugiere a la especie $\text{HN(O)(O}_2\text{)}$ como intermediario de la autooxidación de HNO.[67] Se esperaría que esta última especie actúe transfiriendo átomos de oxígeno, culminando en una oxidación por dos electrones, en lugar del mencionado mecanismo radicalario. Finalmente, se determinó una constante de velocidad de segundo orden para la reacción del HNO con oxígeno $k \approx 2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. [61] Definitivamente, se necesita profundizar los estudios sobre esta reacción.

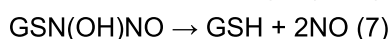
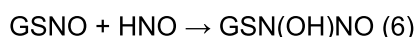
Cabe mencionarse que, en el caso del óxido nítrico, este reacciona con oxígeno siguiendo una cinética de tercer orden, con una constante de velocidad de $\sim 3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. El mecanismo de esta reacción se muestra de forma simplificada en las reacciones 3-5.[68]



Además, Denicola y colaboradores demostraron que la autooxidación de NO ocurre 30 veces más rápidamente dentro del interior hidrofóbico de las membranas de fosfolípidos que en un volumen igual de agua.[69] Esta aceleración podría explicarse por la solubilidad tres veces mayor del óxido nítrico y el oxígeno en estas fases hidrófobas en relación con el agua,[70] lo que da como resultado una mayor concentración local de reactivos.

Nitrosotioles

En 1998, Nawasagay colaboradores proporcionaron los únicos datos hasta el momento sobre la reacción entre el HNO y el S-nitrosoglutatión (GSNO), la cual produjo una rápida disminución de los niveles de GSNO.[71] Además, se demostró la generación de NO en estas condiciones, siendo la velocidad de producción dependiente de la cantidad de HNO inicial. En este contexto, el HNO podría reaccionar como nucleófilo y atacar el átomo de nitrógeno del GSNO, dando lugar a un intermediario que podría luego descomponerse para generar dos moléculas de NO y el tiol correspondiente (glutatión, GSH) (Reacciones 6 y 7). La propuesta de liberación de NO a partir del intermediario formado en la reacción 6 es factible, ya que este intermediario es estructuralmente similar a una clase bien conocida de dadores de NO denominados "NONO-atos".[72]



Formación de HNO a partir de NO

La reducción química no enzimática, biológicamente compatible, de NO para producir HNO, ha sido explorada especialmente por nuestro grupo en los últimos cinco años.[73–78] Dicha reducción había sido descartada históricamente posiblemente debido a su potencial redox negativo $E^\circ(\text{NO}\bullet, \text{H}^+/\text{HNO}) = -0,55 \text{ V}$ vs NHE a pH fisiológico. Sin embargo, este valor se encuentra actualmente en revisión, por ejemplo, Rocha y colaboradores recientemente estimaron dicho potencial en $-0,16 \text{ V}$ a pH 7, dejando abierta la posibilidad de una reducción de NO por especies biológicas como NADH, ácido ascórbico, vitamina E, cisteína y glutatión, cuyos potenciales de reducción en medios fisiológicos se encuentran en un rango entre $-0,3$ a $-0,5 \text{ V}$.

Por otro lado, este proceso está necesariamente acoplado a otras reacciones que producen compuestos como N_2O gaseoso, que impulsan la reacción, superando una barrera termodinámica desfavorable. [79] Concretamente, en el último lustro hemos demostrado que el óxido nítrico puede convertirse en HNO mediante alquilaminas,[76] alcoholes aromáticos y pseudoaromáticos (es decir, ácido ascórbico, tirosina, ácido salicílico),[74, 77] tioles,[75] y ácido sulfhídrico.[73, 78, 80] En la Tabla 1 se resumen los compuestos explorados, así como las constantes de velocidad efectiva para dichas reacciones. Cabe señalarse que las constantes de velocidad de producción de HNO podrían ser significativamente más

altas, porque la k_{eff} obtenida también incluye el consumo de HNO (es decir, la reacción de HNO con NO).

En todos los casos, se determinaron las concentraciones finales de nitrito en solución y la cantidad de N_2O en el espacio cabeza donde se realiza la reacción. Por un lado, los resultados presentados en la Tabla 1 muestran que en N_2O y NO_2^- se producen en una proporción aproximada de 1: 1, como se espera que ocurra debido a la reacción entre HNO con NO (Reacción 8). Por otro lado, los rendimientos de los productos orgánicos finales son más altos que los correspondientes rendimientos de N_2O , [74–76] lo que indica que estos compuestos también se producen por otras rutas que no producen HNO.

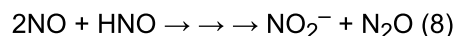


Table 1: k_{eff} y la relación de N_2O : nitritos obtenida para las reacciones de NO con agentes reductores

| Compuesto | Grupo Funcional | k_{eff} $M^{-1}s^{-1}$ [a] | $NO_2^-:N_2O$ [b] | Ref. |
|---------------------|-----------------|---------------------------------|-------------------|------|
| Bencenotiol | SH | 110 ± 8 | 1.0 | [75] |
| Cisteína | | 25 ± 6 | 1.2 | [75] |
| BSA [c] | | 0.6 | - | [81] |
| Ácido Ascórbico | OH | 8.1 ± 0.4 | 1.2 | [74] |
| Hidroquinona | | 6.0 ± 0.4 | 1.2 | [74] |
| α -Tocoferol | | 3.3 ± 0.4 | - | [77] |
| Isopropilamina | NH ₂ | 0.070 ± 0.007 | 1.0 | [76] |
| Dietilamina | NH | 0.030 ± 0.005 | 1.2 | [76] |

[a] pH = 7,4, t.a., anaeróbico, en presencia de DPTA. [b] El error estimado es ($\pm 0,1$). [c] La albúmina de suero bovino (BSA) es una proteína de alto peso molecular ($M_r \approx 7 \times 10^4$) que tiene solo un grupo tiol libre.

Alcoholes

Hemos estudiado la reacción de NO con alcoholes aromáticos y "pseudoaromáticos", como el anión ascorbato ($AscH^-$), fenol (PhOH), hidroquinona (HQ) y tirosina (Y). La reacción es bimolecular, siendo la $[HNO]$ linealmente dependiente de ambos reactivos $[ROH]$ y $[HNO]$. Las constantes bimoleculares resultantes (k_{eff}) muestran que ambos dioles (hidroquinona y ascorbato) reaccionan a aprox. 5-10 veces más rápido que los fenoles, siendo el ascorbato el más rápido de todos.[74] Luego, confirmamos que otras vitaminas con grupos fenólicos como el α -tocoferol (la vitamina E, o medicamentos de venta libre, como el ácido acetilsalicílico (aspirina) o el acetaminofén (paracetamol) pueden promover la conversión de NO a HNO.[77]

A partir de estos resultados, propusimos que la reacción se produce a través de un ataque nucleofílico acoplado a protones (PCNA) del alcohol al NO, produciendo especies intermedias de $RO-N(H)O^\bullet$, que se descomponen para liberar HNO. El nitroxilo, a su vez, reacciona con el NO para dar nitritos y N_2O , mientras que los radicales alcoxilo pueden reaccionar con otro radical, como en el caso de la tirosina para producir ditirosina, o con un segundo NO para producir un compuesto O-nitroso (esto ocurre con los dioles como el ascorbato o la hidroquinona).[74]

Tioles y H_2S

En 2017, iniciamos un estudio sobre la reactividad del óxido nítrico con tioles, utilizando un enfoque similar al expuesto anteriormente para alcoholes. En este caso, se exploró la reactividad de NO con 1-hexanotiol (R6SH), cisteína (Cys), bencenetiol (Ph-SH) y benceneselenol (Ph-SeH). Los resultados revelaron que la producción de HNO ocurre con una velocidad que varía en el siguiente orden: SeH>Ph-SH >>Hex-SH>Cis, siendo nuevamente la reacción de primer orden en ambos reactivos.

Otra posibilidad que surge para la generación de HNO es a partir de la reacción de NO con sulfuro de hidrógeno (H₂S). El H₂S es otra pequeña molécula gasotransmisora, que se ha demostrado tiene efectos cardioprotectores por sí misma.[82] En colaboración con el grupo de los Dres. Ivanovic-Burmazovic y Filipovic, y a partir de la detección de HNO *in vitro* e intracelular, hemos sugerido que el H₂S puede convertir al NO endógeno en HNO en neuronas. Los resultados obtenidos al evaluar la reacción entre H₂S y NO fueron sorprendentemente idénticos a los observados con la estimulación con HNO, mostrando una clara activación específica del canal sensorial de los quimiorreceptores TRPA1, activando la cascada HNO-TRPA1-CGRP.

Recientemente, exploramos las constantes de velocidad para la reacción entre H₂S (pKa_{1,2} = 7.0 y 12.0) y NO a varios pH. Se pudo observar que, por un lado, existe una fuerte dependencia de la constante de reacción con el pH, siendo la velocidad máxima de reacción donde la especie predominante es HS⁻, y por otro lado, que la velocidad de reacción obtenida es similar utilizando NaHS o H₂S, por lo que no parece estar influenciada por las impurezas típicas presentes en el NaHS (está enriquecido con polisulfuros).

Una cuestión que está actualmente en debate es la identidad de las especies intermediarias. Por un lado, Cortese-Krott y colaboradores propusieron que los principales productos intermediarios de la reacción directa son SNO⁻/SHNO⁻ y polisulfuros.[83] Por otro lado, en colaboración con el grupo del Dr. Olabe, hemos presentado un punto de vista diferente sobre estas reacciones.[78] Usando la reacción de transnitrosación (RSNO + R'SH ↔ R'SNO + RSH) en la que el grupo NO se transfiere de una especie a otra, se observó que la banda de absorbancia máxima de 412 nm alcanza máximo 1 min después de la mezcla de los reactivos RSNO/HS⁻. Simultáneamente, se observa la aparición de NO después de la desaparición del reactivo RSNO. A partir de estos datos, y sumando a la evidencia de que {(H)SNO} tiene una vida media de 6 s, se estima que el {(H)SNO} es un primer intermediario de la reacción de transnitrosación y un precursor de SSNO⁻. Por lo tanto, en la reacción entre H₂S y NO (la cual depende de la [HS⁻]), la formación del producto con absorbancia a 412 nm y la liberación retrasada de NO son consistentes con la formación de SSNO⁻. Estos datos también fueron respaldados por datos de espectroscopía de masas y ¹⁵N RMN. El SSNO⁻ es una especie moderadamente estable que se descompone lentamente en soluciones acuosas en la escala de tiempo minuto-hora, dependiendo de la [O₂].[78]

Aminas

De manera similar abordamos el estudio entre alquilaminas y NO. Esta reacción se ha estudiado desde principios de los años 60, pero en condiciones químicas específicas, a saber, solventes orgánicos y anhidros (como éter o THF), medios anóxicos y, en algunos casos, se requieren altas temperaturas y presiones. Nosotros demostramos que la reacción se produce y genera HNO a pH = 7. Sin embargo, los valores obtenidos para las k_{eff} son entre 20 y 250 veces menores que los obtenidos para otros compuestos a pH 7,4 (Tabla 1). Dado que se estimó que el HNO producido es cerca del 10% y tiene una velocidad de generación lenta, no se espera que esta reacción tenga implicaciones biológicas.

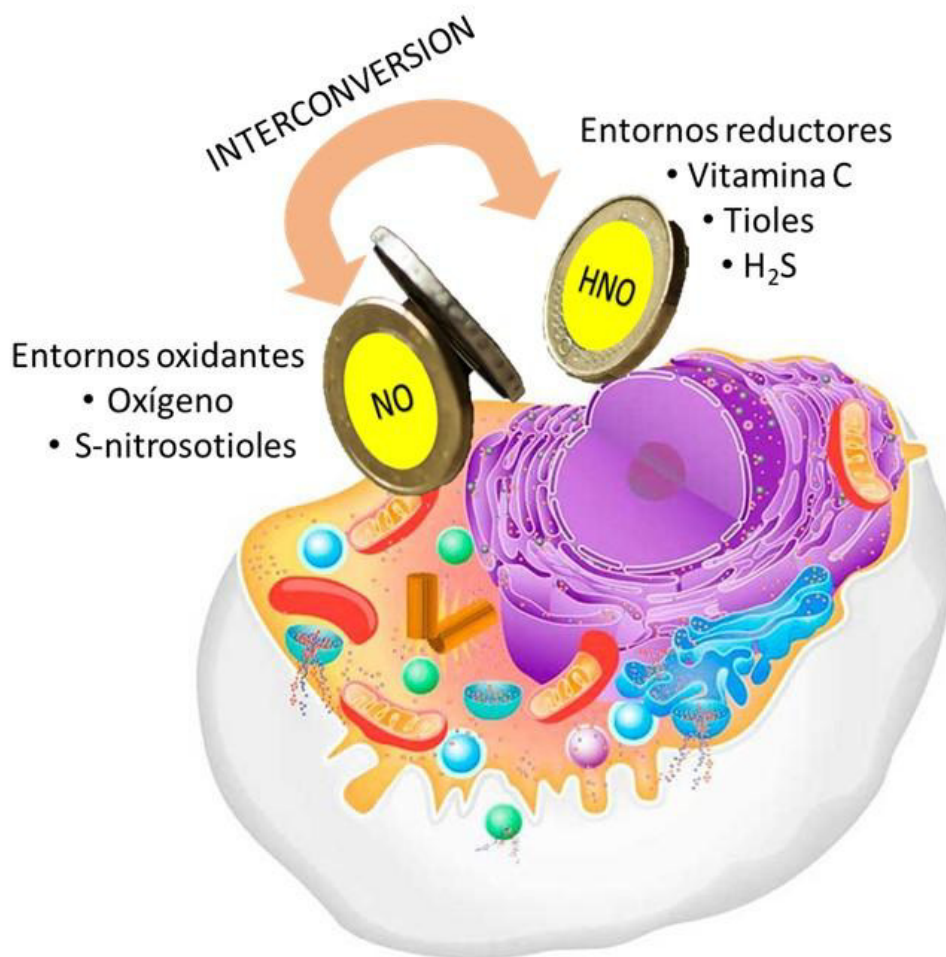


Figura 4: Interconversión NO/HNO en condiciones fisiológicas

Como se mencionó anteriormente, la conversión oxidativa de azanona en óxido nítrico por varios compuestos biológicamente relevantes es altamente probable, ya que especies como nitrosotioles,[84] hemoproteínas,[85] metaloenzimas,[86] y altas concentraciones de O_2 [12] están fácilmente biodisponibles. Por otro lado, en entornos reductores, el HNO se puede generar a partir del NO endógeno.[74] En estos entornos, como los que contienen altas concentraciones de ascorbato, la concentración de O_2 u otras especies propensas a reducirse debe ser mínima. En consecuencia, se puede suponer que el NO y el HNO pueden interconvertirse en medios biológicos, dependiendo del estado redox del medio ambiente (Figura 4). Desde una perspectiva redox, mientras que los ambientes oxidantes promoverán la conversión del óxido nítrico a nitrito, nitrato, peroxinitrito o NO_2 (entre otros), se espera que los ambientes reductores o hipóxicos produzcan HNO.

Estos resultados, junto con lo realizado por otros investigadores,[80, 87, 88] enfatizan el potencial de reacciones que involucran fuentes endógenas de NO y HNO, particularmente en relación a las diferencias y similitudes en los efectos fisiológicos de las mismas. Además, se deben considerar las fuentes bioquímicas de azanona como NO_2^- , hidroxilamina, cianamida y urea.[31, 42]

Perspectivas

De las discusiones anteriores, está claro que los procesos de señalización asociados con NO y HNO están coordinados, interregulados y su concentración relativa en un momento dado está correlacionada. Por lo tanto, no hay duda de que el HNO es un nuevo mensajero producido de forma endógena que media en respuestas fisiológicas específicas, muchas de las cuales aún se atribuyen a efectos directos del $NO\cdot$. Además, la bioquímica del sistema NO/HNO indica que se descubrirán más acciones fisiológicas en el mediano plazo. Por ejemplo, es probable que las interacciones de ellos con moléculas ubicuas que contienen sulfidrillo (SH) o con hemoproteínas, revelen nuevos mecanismos y vías de

regulación. Como congénere redox, el HNO exhibe efectos biológicos específicos y diversos. Por ejemplo, puede dirigirse a las enzimas que contienen tioles regulando la reparación del ADN, la apoptosis y la glucólisis en la progresión del tumor. Además, pronto se explorará la potencial utilidad terapéutica para los dadores de HNO en emergencias cardiovasculares en diabéticos, así como en ensayos clínicos que exploren el uso de HNO inhalado para el tratamiento de enfermedades respiratorias como la tuberculosis o el COVID-19.

Finalmente, estas especies actúan secuencial o concertadamente determinando así la regulación de funciones celulares esenciales, operan en respuesta al estrés celular o llevan a cabo procesos críticos para el desarrollo. Teniendo en cuenta que estos gasotransmisores comparten algunos objetivos de señalización, contribuyen a su biosíntesis y tienen propiedades físicas relacionadas, parece que sus similitudes y diferencias químicas son bien utilizadas por la naturaleza para generar un sistema de señalización que funciona en equilibrio para regular las intrincadas vías celulares. Ya no hay hermano menor y hermano mayor en esta historia, ambos transitan los sistemas biológicos contando su propia historia...

Agradecimientos

A las fuentes de financiamientos que hicieron posibles estas investigaciones: UBA, CONICET, ANPCyT. A la empresa nanoTeq, por la ayuda en el desarrollo del prototipo funcional del adquisidor de datos. Al Ing. Marcelo Orozco por la ayuda en el desarrollo del prototipo del sensor de HNO.

Referencias:

1. **Priestley J.** (1772) Observations on different kinds of air. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 62: 147–264 DOI: 10.1098/rstl.1772.0021.
2. **Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, and Murad F.** (1977) Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74: 3203–3207 DOI: 10.1073/pnas.74.8.3203.
3. **Katsuki S, Arnold WP, and Murad F.** (1977) Effects of sodium nitroprusside, nitroglycerin, and sodium azide on levels of cyclic nucleotides and mechanical activity of various tissues. *Journal of Cyclic Nucleotide Research*. 3: 239–249.
4. **Adams AF, and Haslam RJ.** (1978) Factors affecting the activity of guanylate cyclase in lysates of human blood platelets. *Biochemical Journal* 174: 23–35 DOI: 10.1042/bj1740023.
5. **Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, and Chaudhuri G.** (1987) Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 84: 9265–9269 DOI: 10.1073/pnas.84.24.9265.
6. **Moncada S, Palmer RMJ, and Higgs EA.** (1989) Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *Biochemical Pharmacology*. 38: 1709–1715 DOI: 10.1016/0006-2952(89)90403-6.
7. **Koshland D.** (1992) The molecule of the year. *Science* (80-.). 258: 1861–1861 DOI: 10.1126/science.1470903.
8. **Ignarro LJ.** (2019) Nitric oxide is not just blowing in the wind. *British Journal of Pharmacology* 176: 131–134 DOI: 10.1111/bph.14540.
9. **Chiesa JJ, Baidanoff FM, and Golombek DA.** (2018) Don't just say no: Differential pathways and pharmacological responses to diverse nitric oxide donors. *Biochemical Pharmacology*. 156: 1–9 DOI: 10.1016/j.bcp.2018.08.002.
10. **Harteck P.** (1933) Die Darstellung von HNO bzw. [HNO] n . *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft (A B Ser.* 66: 423–426 DOI: 10.1002/cber.19330660325.
11. **Dalby FW.** (1958) The spectrum and structure of the HNO molecule. *Canadian Journal of Physics* 36: 1336–1371 DOI: 10.1139/p58-138.
12. **Shafirovich V, and Lyamar S V.** (2002) Nitroxyl and its anion in aqueous solutions: spin states, protic equilibria, and reactivities toward oxygen and nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* 99: 7340–5 DOI: 10.1073/pnas.112202099.
13. **DeMaster ECG, Shirota FN, Nagasawa HT, and Shirota FN.** (1984) The metabolic activation of cyanamide to an inhibitor of aldehyde dehydrogenase is catalyzed by catalase. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour* 18: 273–277 DOI: 10.1016/0091-3057(83)90185-5.
14. **Paolocci N, Jackson MI, Lopez BE, Miranda K, Tocchetti CG, Wink DA, et al.** (2007) The pharmacology of nitroxyl (HNO) and its therapeutic potential: not just the Janus face of NO. *Pharmacology and Therapeutics*. 113: 442–58 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2006.11.002.
15. **Tocchetti CG, Wang W, Froehlich JP, Huke S, Aon MA, Wilson GM, et al.** (2007) Nitroxyl Improves Cellular Heart Function by Directly Enhancing Cardiac Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺ Cycling. *Circadian Research* 100: 96–104 DOI: 10.1161/01.RES.0000253904.53601.c9.
16. **Guo Y, Xu J, Wu L, Deng Y, Wang J, and An J.** (2019) Advances in research on treatment of heart failure with nitrosyl hydrogen. *Heart Failure Reviews* 24: 941–948 DOI: 10.1007/s10741-019-09800-6.

17. **Tocchetti CG, Stanley BA, Murray CI, Sivakumaran V, Donzelli S, Mancardi D, et al.** (2011) Playing with Cardiac "Redox Switches": The "HNO Way" to Modulate Cardiac Function. *Antioxidant Redox Signals* 14: 1687–1698 DOI: 10.1089/ars.2010.3859.
18. **Hartman JC, del Rio CL, Reardon JE, Zhang K, and Sabbah HN.** (2018) Intravenous Infusion of the Novel HNO Donor BMS-986231 Is Associated With Beneficial Inotropic, Lusitropic, and Vasodilatory Properties in 2 Canine Models of Heart Failure. *JACC Basic to Translational Science* 3: 625–638 DOI: 10.1016/j.jacbts.2018.07.003.
19. **Parissis J, Bistola V, Ikonomidis I, and Triposkiadis F.** (2017) Nitroxyl donors for acute heart failure: promising newcomers. *European Journal of Heart Failure* 19: 1333–1334 DOI: 10.1002/ejhf.793.
20. **Tita C, Gilbert EM, Van Bakel AB, Grzybowski J, Haas GJ, Jarrah M, et al.** (2017) A Phase 2a dose-escalation study of the safety, tolerability, pharmacokinetics and haemodynamic effects of BMS-986231 in hospitalized patients with heart failure with reduced ejection fraction. *European Journal of Heart Failure*. 19: 1321–1332 DOI: 10.1002/ejhf.897.
21. **Bianco CL, Toscano JP, Bartberger MD, and Fukuto JM.** (2017) The chemical biology of HNO signaling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 617: 129–136 DOI: 10.1016/j.abb.2016.08.014.
22. **Doctorovich F, Farmer PJ, and Marti MA.** (2016) *The Chemistry and Biology of Nitroxyl (HNO)*, Elsevier.
23. **Iverson N, Hofferber E, and Stapleton J.** (2018) Nitric Oxide Sensors for Biological Applications. *Chemosensors* 6: 8 DOI: 10.3390/chemosensors6010008.
24. **Brown MD, and Schoenfish MH.** (2019) Electrochemical Nitric Oxide Sensors: Principles of Design and Characterization. *Chemical Reviews*. 119: 11551–11575 DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00797.
25. **Alday J, Mazzeo A, and Suarez S.** (2020) Selective detection of gasotransmitters using fluorescent probes based on transition metal complexes. *Inorganica Chimica Acta* 510: 119696 DOI: 10.1016/j.ica.2020.119696.
26. **Cline MR, Tu C, Silverman DN, and Toscano JP.** (2011) Detection of nitroxyl (HNO) by membrane inlet mass spectrometry. *Free Radical Biology and Medicine* 50: 1274–1279 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.02.008.
27. **Reisz JA, Zink CN, and King SB.** (2011) Rapid and Selective Nitroxyl (HNO) Trapping by Phosphines: Kinetics and New Aqueous Ligations for HNO Detection and Quantitation. *Journal of the American Chemical Society*. 133: 11675–11685 DOI: 10.1021/ja203652z.
28. **Dobmeier KP, Riccio DA, and Schoenfish MH.** (2008) Xerogel optical sensor films for quantitative detection of nitroxyl. *Analytical Chemistry* 80: 1247–54 DOI: 10.1021/ac702024t.
29. **Rosenthal J, and Lippard SJ.** (2010) Direct detection of nitroxyl in aqueous solution using a tripod copper (II) BODIPY complex. *Journal of the American Chemical Society* 132: 5536–5537.
30. **Zhou Y, Liu K, Li J-Y, Fang Y, Zhao T-C, and Yao C.** (2011) Visualization of Nitroxyl in Living Cells by a Chelated Copper (II) Coumarin Complex. *Organic Letters* 13: 2357–2360.
31. **Doctorovich F, Bikiel DE, Pellegrino J, Suárez SA, Larsen A, and Martí MA.** (2011) Nitroxyl (azanone) trapping by metalloporphyrins. *Coordination Chemistry Reviews* 255 DOI: 10.1016/j.ccr.2011.04.012.
32. **Suárez SA, Fonticelli MH, Rubert AA, De La Llave E, Scherlis D, Salvarezza RC, et al.** (2010) A surface effect allows HNO/NO discrimination by a cobalt porphyrin bound to gold. *Inorganic Chemistry* 49 DOI: 10.1021/ic1007022.
33. **Suárez SA, Bikiel DE, Wetzler DE, Martí MA, and Doctorovich F.** (2013) Time-Resolved Electrochemical Quantification of Azanone (HNO) at Low Nanomolar Level. *Analytical Chemistry* 85: 10262–10269 DOI: 10.1021/ac402134b.
34. **Doctorovich F, Suárez SA, Martí MA, and Battaglini F.** (2018) International Patent "HNO Biosensor", WO2020/136414 A1. International patent application PCT/IB2018/0606.
35. **Fukuto JM.** (2019) A recent history of nitroxyl chemistry, pharmacology and therapeutic potential. *British Journal of Pharmacology*. 176: 135–146 DOI: 10.1111/bph.14384.
36. **Van Stappen C, Goodrich LE, and Lehnert N.** (2017) The Interaction of HNO With Transition Metal Centers and Its Biological Significance. Insight Into Electronic Structure From Theoretical Calculations. In *The Chemistry and Biology of Nitroxyl (HNO)* Elsevier. 155–192.
37. **Ford PC, and Lorkovic IM.** (2002) Mechanistic Aspects of the Reactions of Nitric Oxide with Transition-Metal Complexes. *Chemical Reviews*. 102: 993–1018 DOI: 10.1021/cr0000271.
38. **Doctorovich F, Bikiel DE, Pellegrino J, Suárez SA, and Martí MA.** (2012) *Azanone (HNO) interaction with Hemeproteins and metalloporphyrins*,.
39. **Khade RL, Yang Y, Shi Y, and Zhang Y.** (2016) HNO-Binding in Heme Proteins: Effects of Iron Oxidation State, Axial Ligand, and Protein Environment. *Angewandte Chemie* 128: 15282–15285 DOI: 10.1002/ange.201608539.
40. (2008) *Globins and Other Nitric Oxide-Reactive Proteins, Part A*, Elsevier.
41. **Miranda KM, Nims RW, Thomas DD, Espey MG, Citrin D, Bartberger MD, et al.** (2003) Comparison of the reactivity of nitric oxide and nitroxyl with heme proteins. *Journal of Inorganic Biochemistry* 93: 52–60 DOI: 10.1016/S0162-0134(02)00498-1.
42. **Fukuto JM, Cisneros CJ, and Kinkade RL.** (2013) A comparison of the chemistry associated with the biological signaling and actions of nitroxyl (HNO) and nitric oxide (NO). *Journal of Inorganic Biochemistry* 118: 201–208 DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2012.08.027.
43. **Ohlstein EH, Wood KS, and Ignarro LJ.** (1982) Purification and properties of heme-deficient hepatic soluble guanylate cyclase: Effects of heme and other factors on enzyme activation by NO, NO-heme, and protoporphyrin IX. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 218: 187–198 DOI: 10.1016/0003-9861(82)90335-6.
44. **Bazylinski DA, and Hollocher TC.** (1985) Metmyoglobin and methemoglobin as efficient traps for nitrosyl hydride (nitroxyl) in neutral aqueous solution. *Journal of the American Chemical Society*. 107: 7982–7986 DOI: 10.1021/ja00312a031.
45. **Bazylinski DA, Goretski J, and Hollocher TC.** (1985) On the reaction of trioxodinitrate(II) with hemoglobin and myoglobin. *Journal of the American Chemical Society* 107: 7986–7989 DOI: 10.1021/ja00312a032.
46. **Lin R, and Farmer PJ.** (2000) The HNO Adduct of Myoglobin: Synthesis and Characterization. *Journal of the American Chemical Society*. 122: 2393–2394 DOI: 10.1021/ja994079n.

47. **Sulc F, Immoos CE, Pervitsky D, and Farmer PJ.** (2004) Efficient trapping of HNO by deoxymyoglobin. *Journal of the American Chemical Society*. 126: 1096–101 DOI: 10.1021/ja0376184.
48. **Kumar MR, Fukuto JM, Miranda KM, and Farmer PJ.** (2010) Reactions of HNO with Heme Proteins: New Routes to HNO- Heme Complexes and Insight into Physiological Effects. *Inorganic Chemistry* 49: 6283–6292 DOI: 10.1021/ic902319d.
49. **Marti MA, Capece L, Bidon-Chanal A, Crespo A, Guallar V, Luque FJ, et al.** (2008) Nitric Oxide Reactivity with Globins as Investigated Through Computer Simulation. In 477–498.
50. **Milani M, Pesce A, Nardini M, Ouellet H, Ouellet Y, Dewilde S, et al.** (2005) Structural bases for heme binding and diatomic ligand recognition in truncated hemoglobins. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 99: 97–109 DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2004.10.035.
51. **Biochemistry THE, Nitric OF, In R, and Flow B.** (2004) Serial Review : Biomedical Implications for Hemoglobin Interactions with Nitric Oxide Serial Review Editors : Mark T . Gladwin and Rakesh Patel The biochemistry of nitric oxide , nitrite , and hemoglobin: role in blood flow regulation. 36: 707–717 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2003.11.032.
52. **Hoshino M, Laverman L, and Ford PCPC.** (1999) Nitric oxide complexes of metalloporphyrins: an overview of some mechanistic studies. *Coordinated Chemistry Reviews* 187: 75–102 DOI: 10.1016/S0010-8545(98)00228-8.
53. **Doctorovich F, Bikiel DE, Pellegrino J, Suárez SA, and Martí MA.** (2014) Reactions of HNO with Metal Porphyrins: Underscoring the Biological Relevance of HNO. *Acc Chemical Research*. 47: 2907–2916 DOI: 10.1021/ar500153c.
54. **Conradie J, and Ghosh A.** (2016) Metalloporphyrin–Nitroxyl Interactions: The Low-Energy States of Reduced Manganese, Iron, and Cobalt Porphyrin Nitrosyls. *Journal of Physical Chemistry B* 120: 4972–4979 DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b04983.
55. **Yang L, Fang W, and Zhang Y.** (2012) Metal centre effects on HNO binding in porphyrins and the electronic origin: metal's electronic configuration, position in the periodic table, and oxidation state. *Chemical Communications*. 48: 3842 DOI: 10.1039/c2cc31016c.
56. **Bryukov MG, Kachanov AA, Timonen R, Seetula J, Vandoren J, and Sarkisov OM.** (1993) Kinetics of HNO reactions with O₂ and HNO. *Chemical Physics Letters* 208: 392–398 DOI: 10.1016/0009-2614(93)87161-U.
57. **Fukuto JM, Hobbs AJ, and Ignarro LJ.** (1993) Conversion of Nitroxyl (HNO) to Nitric Oxide (NO) in Biological Systems: The Role of Physiological Oxidants and Relevance to the Biological Activity of HNO. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 196: 707–713 DOI: 10.1006/bbrc.1993.2307.
58. **Liochev S.** (2003) The mode of decomposition of Angeli's salt (Na₂N₂O₃) and the effects thereon of oxygen, nitrite, superoxide dismutase, and glutathione. *Free Radical Biology and Medicine* 34: 1399–1404 DOI: 10.1016/S0891-5849(03)00111-4.
59. **Miranda KM, Paolucci N, Katori T, Thomas DD, Ford E, Bartberger MD, et al.** (2003) A biochemical rationale for the discrete behavior of nitroxyl and nitric oxide in the cardiovascular system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 100: 9196–9201 DOI: 10.1073/pnas.1430507100.
60. **Zielonka J, Sikora A, Joseph J, and Kalyanaraman B.** (2010) Peroxynitrite Is the Major Species Formed from Different Flux Ratios of Co-generated Nitric Oxide and Superoxide. *Journal of Biological Chemistry* 285: 14210–14216 DOI: 10.1074/jbc.M110.110080.
61. **Smulik R, Dębski D, Zielonka J, Michałowski B, Adamus J, Marcinek A, et al.** (2014) Nitroxyl (HNO) Reacts with Molecular Oxygen and Forms Peroxynitrite at Physiological pH. *Journal of Biological Chemistry* 289(51): 35570–35581 DOI: 10.1074/jbc.M114.597740.
62. **Chazotte-Aubert L, Oikawa S, Gilibert I, Bianchini F, Kawanishi S, and Ohshima H.** (1999) Cytotoxicity and Site-specific DNA Damage Induced by Nitroxyl Anion (NO⁻) in the Presence of Hydrogen Peroxide. *Journal of Biological Chemistry* 274: 20909–20915 DOI: 10.1074/jbc.274.30.20909.
63. **Wink DA, Feelisch M, Fukuto J, Chistodoulou D, Jour'd'heil D, Grisham MB, et al.** (1998) The Cytotoxicity of Nitroxyl: Possible Implications for the Pathophysiological Role of NO. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 351: 66–74 DOI: 10.1006/abbi.1997.0565.
64. **Liochev SI, and Fridovich I.** (2002) Nitroxyl (NO⁻): a substrate for superoxide dismutase.. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 402: 166–171 DOI: 10.1016/S0003-9861(02)00074-7.
65. **Katori T, Donzelli S, Tocchetti CG, Miranda KM, Cormaci G, Thomas DD, et al.** (2006) Peroxynitrite and myocardial contractility: In vivo versus in vitro effects. *Free Radical Biology and Medicine* 41: 1606–1618 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.08.023.
66. **Jorolan JH, Buttitta LA, Cheah C, and Miranda KM.** (2015) Comparison of the chemical reactivity of synthetic peroxynitrite with that of the autoxidation products of nitroxyl or its anion. *Nitric Oxide* 44: 39–46 DOI: 10.1016/j.niox.2014.11.002.
67. **Guardia CMA, González Lebrero MC, Bari SE, and Estrin DA.** (2008) QM–MM investigation of the reaction products between nitroxyl and O₂ in aqueous solution. *Chemical and Physics Letters*. 463: 112–116 DOI: 10.1016/j.cplett.2008.08.064.
68. **Goldstein S, and Czapski G.** (1996) Mechanism of the Nitrosation of Thiols and Amines by Oxygenated • NO Solutions: the Nature of the Nitrosating Intermediates. *Journal of the American Chemical Society* 118: 3419–3425 DOI: 10.1021/ja9536680.
69. **Möller MN, Li Q, Vitturi DA, Robinson JM, Lancaster, JR, and Denicola A.** (2007) Membrane “Lens” Effect: Focusing the Formation of Reactive Nitrogen Oxides from the • NO/O₂ Reaction. *Chemical Research in Toxicology* 20: 709–714 DOI: 10.1021/tx700010h.
70. **Moller M, Botti H, Batthyany C, Rubbo H, Radi R, and Denicola A.** (2005) Direct Measurement of Nitric Oxide and Oxygen Partitioning into Liposomes and Low Density Lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry* 280: 8850–8854 DOI: 10.1074/jbc.M413699200.
71. **Wong PS-YY, Hyun J, Fukuto JM, Shirota FN, DeMaster EG, Shoeman DW, et al.** (1998) Reaction between S-Nitrosothiols and Thiols: Generation of Nitroxyl (HNO) and Subsequent Chemistry. *Biochemistry* 37: 5362–5371 DOI: 10.1021/bi973153g.

72. **Shaikh N, Valiev M, and Lymar S V.** (2014) Decomposition of amino diazeniumdiolates (NONOates): Molecular mechanisms. *Journal of Inorganic Biochemistry* 141: 28–35 DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2014.08.008.
73. **Eberhardt M, Dux M, Namer B, Miljkovic J, Cordasic N, Will C, et al.** (2014) H₂S and NO cooperatively regulate vascular tone by activating a neuroendocrine HNO–TRPA1–CGRP signalling pathway. *Nature Communications* 5: 4381 DOI: 10.1038/ncomms5381.
74. **Suarez SA, Neuman NI, Muñoz M, Álvarez L, Bikiel DE, Brondino CD, et al.** (2015) Nitric Oxide Is Reduced to HNO by Proton-Coupled Nucleophilic Attack by Ascorbate, Tyrosine, and Other Alcohols. A New Route to HNO in Biological Media? *Journal of the American Chemical Society* 137: 4720–4727 DOI: 10.1021/ja512343w.
75. **Suarez SA, Muñoz M, Alvarez L, Venâncio MF, Rocha WR, Bikiel DE, et al.** (2017) HNO Is Produced by the Reaction of NO with Thiols. *Journal of the American Chemical Society* 139: 14483–14487 DOI: 10.1021/jacs.7b06968.
76. **Hamer M, Suarez SA, Muñoz M, Álvarez L, Marti M, and Doctorovich F.** (2020) Reaction of Amines with NO at room temperature and atmospheric pressure: is nitroxyl a reaction intermediate? *Pure Applied Chemistry*. DOI: 10.1515/pac-2020-0601.
77. **Hamer M, Suarez SA, Neuman NI, Alvarez L, Muñoz M, Marti MA, et al.** (2015) Discussing Endogenous NO • /HNO Interconversion Aided by Phenolic Drugs and Vitamins. *Inorganic Chemistry* 54: 9342–9350 DOI: 10.1021/acs.inorgchem.5b01347.
78. **Marcolongo JP, Venâncio MF, Rocha WR, Doctorovich F, and Olabe JA.** (2019) NO/H₂S “Crosstalk” Reactions. The Role of Thionitrites (SNO –) and Perthionitrites (SSNO –). *Inorganic Chemistry* 58: 14981–14997 DOI: 10.1021/acs.inorgchem.9b01978.
79. **Venâncio M, Doctorovich F, and Rocha W.** (2017) On the Solvation and Proton Coupled Electron Transfer Reduction Potential of 2NO• to 1HNO in Aqueous Solution: A Theoretical Investigation. *Journal of Physical Chemistry B*. 121: 6618–6625 DOI: 10.1021/acs.jpcc.7b03552.
80. **Filipovic MR, Eberhardt M, Prokopovic V, Mijuskovic A, Orescanin-Dusic Z, Reeh P, et al.** (2013) Beyond H₂S and NO Interplay: Hydrogen Sulfide and Nitroprusside React Directly to Give Nitroxyl (HNO). A New Pharmacological Source of HNO. *Journal of Medicine Chemistry* 56: 1499–1508 DOI: 10.1021/jm3012036.
81. **Aravindakumar CT, Ley M De, and Ceulemans J.** (2002) Kinetics of the anaerobic reaction of nitric oxide with cysteine, glutathione and cysteine-containing proteins: implications for in vivo S-nitrosation. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions 2* 663–669 DOI: 10.1039/b107273k.
82. **Zhao W.** (2001) The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *EMBO Journal* 20: 6008–6016 DOI: 10.1093/emboj/20.21.6008.
83. **Cortese-Krott MM, Kuhnle GGC, Dyson A, Fernandez BO, Grman M, DuMond JF, et al.** (2015) Key bioactive reaction products of the NO/H₂S interaction are S/N-hybrid species, polysulfides, and nitroxyl. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112: E4651–E4660 DOI: 10.1073/pnas.1509277112.
84. **Smulik-Izydorczyk R, Mesjasz A, Gerbich A, Adamus J, Michalski R, and Sikora A.** (2017) A kinetic study on the reactivity of azanone (HNO) toward its selected scavengers: Insight into its chemistry and detection. *Nitric Oxide* 69: 61–68 DOI: 10.1016/j.niox.2017.05.003.
85. **Doyle MP, Mahapatro SN, Broene RD, and Guy JK.** (1988) Oxidation and reduction of hemoproteins by trioxodinitrate (II). The role of nitrosyl hydride and nitrite. *Journal of the American Chemical Society*. 110: 593–599 DOI: 10.1021/ja00210a047.
86. **Michael MA, Pizzella G, Yang L, Shi Y, Evangelou T, Burke DT, et al.** (2014) HNO/NO Conversion Mechanisms of Cu-Based HNO Probes with Implications for Cu,Zn-SOD. *Journal of Physics and Chemistry Letters*. 5: 1022–1026 DOI: 10.1021/jz5002902.
87. **Heinecke J, and Ford PC.** (2010) Mechanistic studies of nitrite reactions with metalloproteins and models relevant to mammalian physiology. *Coordination Chemistry Reviews* 254: 235–247 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.07.021.
88. **Switzer CH, Miller TW, Farmer PJ, and Fukuto JM.** (2013) Synthesis and characterization of lithium oxonitrate (LiNO). *Journal of Inorganic Biochemistry*. 118: 128–133 DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2012.09.022.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 1, año 20, Abril 2021

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar