

EFFECTIVITAT DE LA TERAPIA MANUAL I FÍSICA PASSIVA PER INTERVENIR EN EL METABOLISME DE L'ÒXID NÍTRIC. REVISIÓ SISTEMÀTICA.

*MANUAL AND PASSIVE PHYSICAL THERAPY EFFECTIVENESS TO INTERVENE IN NITRIC OXIDE METABOLISM. SYSTEMATIC REVIEW.*

Autor: Anna Torné Jordà

Informació de contacte: annatj99@gmail.com, Tel. 696671309

Lloc i data de presentació: EOB, Sant Just Desvern, 13 de gener de 2013

Tutor: Sergi Rull Vallverdú

## **AGRAÏMENTS**

A Jeff Richards per compartir els seus coneixements sobre l'òxid nítric en les classes del Master d'Osteopatia de l' EOB.

## RESUM

**INTRODUCCIÓ:** L'òxid nítric (NO) és considerat el vasodilatador endògen més important de l'organisme. Diferents estudis han indicat a l'NO com al possible mediador dels efectes manipulatiu, després de comprovar l'augment de la seva alliberació per part de les sintasses d'òxid nítric com a resultat de la manipulació física.

**OBJECTIUS:** Identificar i avaluar l'evidència científica de l'efectivitat de la terapia manual i física passiva per intervenir en el metabolisme de l'òxid nítric. Presentar el coneixement actual sobre les seves implicacions biològiques. Assentar les bases per desenvolupar possibles assatjos clínics.

**METODOLOGIA:** Les paraules clau "*Nitric Oxide*", "*Osteopathic Medicine*", "*Osteopathic Manipulation*", "*Manual Therapy*" i "*Physical Therapy Modalities*" van ser buscades en les bases de dades PubMed, OstMed, Osteopathic Research i PEDro. La búsqueda es va realitzar en assatjos clínics publicats entre 2008 i 2013. Es van registrar els canvis de la concentració plasmàtica d'NO i la metodologia emprada en els diferents estudis va ser avaluada mitjançant l'escala Jadad.

**CONCLUSIONS:** L'evidència disponible en l'efectivitat de la terapia manual i física per intervenir en el metabolisme de l'NO és escassa i insuficient per descriure conclusions definitives. És necessari realitzar més recerca de qualitat en aquest àmbit tenint en compte la resposta de l'NO a la manipulació física.

**ABSTRACT:**

**CONTEXT:** Nitric oxide is considered the most important organic endogenous vasodilator. Several studies have indicated NO as the possible mediator of manipulative effects, after checking the increase of its liberation by the nitric oxide synthases as a result of physical manipulation.

**OBJECTIVE:** To identify and evaluate scientific evidence on the effectiveness of manual and physical therapy to mediate nitric oxide metabolism. Review the current knowledge on nitric oxide biologic implications. Lay the groundwork to develop possible clinical trials.

**METHODS:** The clinical keywords "*Nitric Oxide*" AND "*Osteopathic Medicine*", "*Osteopathic Manipulation*", "*Manual Therapy*", "*Physical Therapy Modalities*" were searched in the following databases: PubMed, OstMed Osteopathic Research and PEDro. This research was performed to identify clinical trials published between 2008 and 2013. Changes in serum concentration of NO were registered and the methodological characteristics were assessed using Jadad scale.

**CONCLUSIONS:** The currently available evidence on effectiveness of manual and physical therapy to mediate nitric oxide metabolism is insufficient to draw definitive conclusions. Further quality research into this area is needed considering the response of NO to physical manipulation.

## LLISTAT DE TAULES

<b>Taula 1.</b> Isoformes de l'òxid nítric	5
<b>Taula 2.</b> Efectes biològics de l'NO en el sistema cardiovascular	8
<b>Taula 3.</b> Criteris d'inclusió per la revisió sistemàtica	22
<b>Taula 4.</b> Resultats de la búsqueda primaria en les bases de dades	25
<b>Taula 5.</b> Visió de de conjunt dels estudis inclosos	26
<b>Taula 6.</b> Sumari dels detalls dels estudis inclosos en la revisió sistemàtica	27
<b>Taula 7.</b> Aplicació de l'escala Jadad per a l'avaluació qualitativa	29

## **LLISTAT DE FIGURES**

<b>Fig 1.</b> Síntesi d'NO derivat de l'endoteli	6
<b>Fig 2 .</b> Inactivació de NO secundaria a estrès oxidatiu	7
<b>Fig 3.</b> Representació de la interacció de les eNOs amb la caveolina	14
<b>Fig 4.</b> Diagrama de fluxe de la selecció dels estudis	25

## LLISTAT D'ABREVIATURES

AEA	Anandamida
Ca <sup>2+</sup>	Calci
cNOS	Sintasses d'òxid nítric constitutives
EDRF	Factor Rel.laxant Derivat de l'Endoteli
ELA	Esclerosi Lateral Amiotròfica
eNOS	Sintasses endotelials d'òxid nítric
ERO	Espècies reactives a l'oxigen
GC	Guanilato ciclassa
GMPC	Guanosin monofosfat cíclic
GTP	Guanosin trifosfat
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peròxid d'Hidrògen
HTA	Hipertensió arterial
iNOS	Sintasses induïbles d'òxid nítric
IL-1 $\beta$	Interleuquina 1
IL-6	Interleuquina 6
JAOA	The Journal of the American Osteopathic Association
MPOC	Malaltia Pulmonar Obstructiva Crònica
MEC	Matriu extracel.lular
NAPDH	Nicotinamida adenina dinucleòtid fosfat
NDMA	N-metil-D-aspartat
NO	Òxid nítric
NO <sup>2-</sup>	Nitrits
NO <sup>3-</sup>	Nitrats
NOS	Sintasses d'òxid nítric
nNOS	Sintasses neuronals d'òxid nítric
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Anió superòxid
OH	Grup hidroxil
OMT	Osteopathic Manipulative Treatment
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrit
PH	Potencial d'Hidrogenions
PO <sub>2</sub>	Pressió parcial d'oxigen
pNO	Pressió parcial d'òxid nítric
SNA	Sistema Nerviós Autònom
SNP	Sistema Nerviós Perifèric
SNC	Sistema Nerviós Central
WBPA	Whole-Body Periodic Acceleration
2-AG	2-arachidonoilglicerol

## ÍNDIX GENERAL

Pàgina del Títol	I
Agraïments	II
Resum	III
Abstract	IV
Llista de figures	V
Llista de taules	VI
Llista d'abreviatures	VII
1. Introducció	1
2. Marc Teòric	3
2.1 Recull Històric	3
2.2 Generalitats	4
2.3 Síntesi i alliberació de l'NO	4
2.4 NO i la fosforilació oxidativa	7
2.5 Implicacions del'NO en diferents sistemes orgànics	8
Sistema Cardiovascular	8
Sistema Nerviós	9
Sistema Respiratori	10
Sistema Gastrointestinal	10
Sistema Renal	11
Sistema Reproductor	11
Sistema Immune	12
Múscul esquelètic	12
2.6 NO com a possible mediador dels efectes manipulatius	13
Estudis basats en la mecanotransducció i el shear stress	13
L'efecte de rel.laxació i les manipulacions osteopàtiques	14
Molècules que poden alliberar NO	15
2.7 Estudis en medicina física basats en el shear stress	16
2.8 L'NO i l'acupuntura	18
2.9 Línies d'investigació en Osteopatia respecte a l'NO	19
L'NO en els processos de lesió i reparació del teixit	19
L'NO i l'anandamida	20
Drenatge limfàtic i alliberació d'NO	21



3. Mètode	22
3.1 Identificació dels estudis	22
3.2 Selecció dels estudis	22
3.3 Extracció de dades	23
3.4 Anàlisi qualitativa	23
4. Resultats	25
4.1 Detalls dels estudis	25
4.2 Resultats reportats	26
4.3 Valoració qualitativa	27
5. Discussió	30
5.1 Comentari	30
5.2 Limitacions de l'estudi	34
6. Conclusions	36
7. Bibliografia	37
8. Annex	41

## 1. INTRODUCCIÓ

El tractament manipulatiu osteopàtic ha demostrat ser clínicament efectiu, gran part dels circuits fisiològics que utilitza estan demostrats i acceptats, però els mecanismes cel·lulars i moleculars que es produeixen durant la seva aplicació no són encara ben entesos ni coneguts.

L'òxid nítric (NO) és una molècula reguladora de la vasodilatació que ha despertat interès en la investigació en medicina osteopàtica. Diversos estudis donen suport a la idea de que els efectes beneficiosos de la manipulació osteopàtica són mediatos per el NO, i d'altres suggereixen hipòtesis de tractament osteopàtic en base a la seva alliberació.

Actualment es considera que l' NO és essencial per una correcta activitat vascular, i en la darrera dècada se li està concedint un paper destacat en l'estudi de la fisiologia i la fisiopatologia en diversos camps de les ciències biomèdiques, tant pel seu paper en l' hemodinàmica vascular, com per la seva participació en nombroses funcions biològiques.

Està present a l'organisme de forma natural i actua com a mediador químic per millorar la funció vascular de manera local<sup>1</sup>. L' NO provoca una cascada de reaccions que produeix la relaxació de les cèl·lules musculars llises endotelials, de manera que el diàmetre de la llum vascular s'acomoda a l'augment del fluxe<sup>2</sup>. Se li reconeixen doncs funcions homeostàtiques, d'especial interès per la medicina osteopàtica en base a la *Llei de l'artèria suprema*. Des d'un enfoc osteopàtic se'l pot considerar com un dels mecanismes d'autoprotecció i regulació que porten al cos a un estat constant d'equilibri.

Partint de la premissa de que la terapia manual augmenta el fluxe al teixit vascular perifèric, *Salomon E et al*<sup>3</sup> van plantejar la hipòtesi de que la manipulació física podia actuar augmentant les concentracions d'NO al plasma sanguini. En el seu estudi aporten dades conclusives al respecte, i afirmen que els efectes del tractament osteopàtic i d'altres teràpies manuals actuen mitjançant la inducció de l'NO. El seu estudi es respalda amb investigacions prèvies suggereixen que l' NO és el possible mediador dels efectes manipulatius.

El propòsit d'aquest estudi és evaluar d'evidència científica de l'efectivitat de la manipulació manual i física passiva per incidir en el metabolisme de l'NO. Es va realitzar una revisió sistemàtica d'assatjos clínics aleatoris realitzats en l'àmbit de la terapia manual i de la medicina física. Una búsqueda de literatura científica

addicional es va dur a terme per comprendre les implicacions fisiològiques i fisiopatològiques de l'NO i de quina manera la manipulació física és capaç d'incidir en el seu metabolisme per beneficiar-se dels seus efectes. Conèixer quines són les línies d'investigació que vinculen l'osteopatia amb l'òxid nítric pot contribuir a assentar les bases per realitzar futurs assatjos clínics.

## 2. MARC TEÒRIC

### 2.1. Antecedents històrics

El primers estudis van ser realitzats al 1980 per *Furchgott* i *Zawadzki*, que van determinar que l'endoteli alliberava una substància difusible que era capaç de produir rel.laxació dels vasos sanguinis en resposta a l'acetilcolina. A aquesta substància la van anomenar “*factor rel.laxant derivat de l'endoteli*” (EDRF)<sup>4</sup>. Al 1987 *Palmer et al* i *Moncada et al* van demostrar que l'alliberació d'òxid nítric per part de la sintassa d'NO era la responsable de l'activitat biològica de l'EDRF<sup>4,5</sup>. L'any 1992 la revista científica *Science* va distingir l'NO com “la molècula de l'any”.

Sis anys després, al 1998, es va concedir el Premi Nobel en Fisiologia i Medicina a *R.F.Furchgott*, *L.J.Ignarro* i *F.Murad* pels seus descobriments en relació a l'NO com a molècula senyalitzadora en el sistema cardiovascular<sup>4</sup>. Es va poder comprovar que els efectes de la nitroglicerina, clàssicament utilitzada per tractar cardíopaties isquèmiques, actua mitjançant l'augment de GMPc (guanosin monofosfat cíclic), que condiona l'alliberació d'NO al múscul llis vascular. La importància dels seus estudis radica en que és la primera molècula química gaseosa que s'ha demostrat que és produïda per les cèl.lules vives per enviar senyals intercel.lulars<sup>6</sup>.

Degut a la rellevància del seu coneixement en l'àmbit de la medicina científica, s'han publicat múltiples estudis per determinar els seus efectes i proposar alternatives terapèutiques en base a la seva síntesi. La medicina i la farmacologia experimenten amb donadors i inhibidors de l'NO per intervenir en la seva ruta metabòlica i tractar una gran varietat de malalties.

L'empresa farmacològica *Pfizer* va experimentar amb un compost anomenat *Sildenafil* per tractar la hipertensió arterial i l'angina de pit. Durant els estudis es va poder comprovar que el fàrmac tenia un lleu efecte sobre l'angina, però que podia induir ereccions notables en el penis. Es va comprovar que el *Sildenafil* competia amb el GMPc per unir-se a un receptor específic, evitant la degradació de GMPc a nivell dels cossos cavernosos i permetent la seva reacció amb l'NO per provocar la vasodilatació de les artèries del penis. L'any 1996 es va patentar el *Sildenafil* amb el nom comercial *Viagra*<sup>7</sup>.

Actualment la investigació sobre l' NO abarca una àmplia gamma de disciplines científiques, tot i que està encara per establir de forma explícita quin és el seu mecanisme d'acció.

## 2.2 Generalitats

En el sistema cardiovascular destaca el seu paper vasodilatador, regulador de la pressió arterial i antiagregant plaquetari. Però se'l reconeix també com a neurotransmissor quan és produït per les neurones i alliberat als sistemes gastrointestinal, urogenital i vascular, i se li atribueixen implicacions en la resposta defensiva quan és produït per cèl.lules immunes i glials<sup>4, 5, 7, 8</sup>. Algunes neurones del SNP que innerven l'aparell digestiu, l'aparell reproductor, les vies respiratòries i els vasos sanguinis cerebrals alliberen NO. Són neurones autònomes que provoquen relaxació del múscul llis en els seus òrgans diana<sup>9</sup>.

L'estructura molecular del NO és el que li permet acomplir tantes i diverses funcions<sup>5</sup>, i el fet que estigui present en la major part dels teixits explica la seva implicació en nombrosos processos fisiològics<sup>8</sup>. És un gas simple, compost per l'enllaç d'un únic àtom d'oxígen amb un de nitrògen, de petit tamany i de vida curta, altament reactiu i inestable, lipofílic, radical lliure, i amb la singularitat de poder traspasar les membranes sense necessitat de receptor específic. Pot ser sintetitzat per pràcticament totes les cèl.lules de l'organisme<sup>5</sup>.

## 2.3. Síntesi i Alliberació de l'NO

En condicions fisiològiques és alliberat contínuament per les cèl.lules endotelials, i la seva alliberació s'incrementa en resposta a l'estímul de substàncies com l'acetilcolina, la bradiquinina o la serotonina. No obstant, l'estímul més important per a la seva alliberació és l'efecte mecànic de tensió tangencial que es produeix en els vasos en un increment del fluxe sanguini (*shear stress*)<sup>1</sup>.

L' NO és produït per un grup d'enzims anomenats sintases de l'òxid nítric (NOS), que produeixen NO i L-citrulina a partir de l'aminoàcid L-Arginina, en un procés que necessita NADPH i O<sub>2</sub>, i altres cofactors<sup>2,5,8,10</sup>.

La L-Arginina és un aminoàcid semiessencial que pot ser sintetitzat a partir del glutamat, o a partir del reciclatge de la L-citrulina produïda en el cicle de síntesi d' NO<sup>2,5,8,10</sup>. Tot i que el mecanisme principal de producció de NO és a partir del substrat L-Arginina, s'han demostrat mecanismes de producció alternatius, la via de la xantina oxidassa, a partir de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i L-Arginina de manera no enzimàtica, i per la reducció de nitrits en situacions d'acidesa i reducció, com en les processos isquèmics<sup>3</sup>.

Es coneixen tres isoformes principals de les NOS: endotelial (eNOS), neuronal (nNOS), induïble (iNOS). Cada isoforma es localitza en diferents teixits, presenta patrons d'expressió únics, mecanismes propis de regulació i mecanismes concrets de síntesi de NO<sup>6</sup> (taula 1).

**Taula 1. Isoformes de l'òxid nítric**

Isoforma	Nomenclatura	Regulació	Localització
nNOS	NOS I bNOS	Ca <sup>2+</sup> -Calmodulina	Neurones SNC i SNP, neuroglia, illots del pàncrees
iNOS	NOS II	Expressió induïda per citocines i exotoxines	Macròfags, neutròfils, hepatocits, cèl.musculars llises i altres
eNOS	NOS III	Ca <sup>2+</sup> -Calmodulina	Endoteli vascular, ronyó, plaquetes

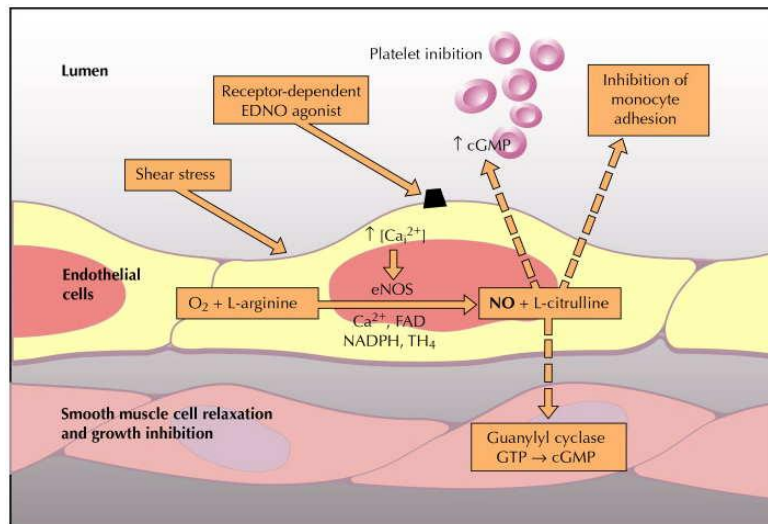
*nNOS: sintasses neuronals d'NO, iNOS: sintasses induïbles d'NO, eNOS: sintasses endotelials d'NO. Ca<sup>2+</sup>: calci. Adaptat de: Ferrer D, Fonseca C. "Óxido Nítrico. Importancia biológica y participación en algunas funciones cardiovasculares y hematológicas". Medisan 1998.2(3):45-53.*

Les eNOS i la nNOS són constitutives (cNOS) i estan sempre presents a la cèl.lula i ambdues son estimulades per un augment del calci intracel.lular mitjançant el sistema Ca<sup>2+</sup>-calmodulina<sup>5,8,10</sup>. Les eNOS es troben a l'endoteli vascular i les nNOS a les neurones. Alliberen petites quantitats de NO durant petits períodes de temps, enviant senyals a les cèl.lules veïnes i produint vasodilatació o neurotransmissió. En les cèl.lules endotelials les eNOS són estimulades per substàncies com l'acetilcolina, la bradiquinina, el shear stress o la substància P, i per condicions com la hipòxia, que actuen augmentant el calci intracel.lular. La calmodulina (proteïna receptora del calci) s'uneix al calci, formant el compost calmodulina-calci, que activa les NOS estimulant l'alliberació de petites quantitats d' NO fins que el nivell de calci torna a disminuir<sup>9</sup>.

A nivell intracel.lular, el NO produït per les eNOS difon cap a la capa muscular arterial i activa la guanilato-ciclasa (GC), que transforma el guanosín trifosfat (GTP) en GMP cíclic. Aquesta reacció augmenta la concentració de GMPc i redueix el calci citoplasmàtic, sent l'efecte final la fosforilació de les cadenes de miosina, produïnt una relaxació de les cèl.lules musculars llises, i consegüentment un augment del diàmetre de l'arteriola (fig.1)<sup>2,11</sup>. Es produeix vasodilatació a través d'una disminució de la resistència perifèrica i un canvi en la velocitat del fluxe.

En contrast, les iNOS pràcticamet no estan presents a les cèl.lules en condicions fisiològiques, però poden ser induïdes per citocines i endotoxines, produïnt grans concentracions d' NO que son tòxiques i citoestàtiques per a les cèl.lules diana, assenyalant una resposta fisiopatològica a immunoactivació cel.lular en processos inflamatoris i infecciosos. Es produeixen en macròfags, neutròfils, múscul llis i endoteli vascular <sup>5,8,10</sup>.

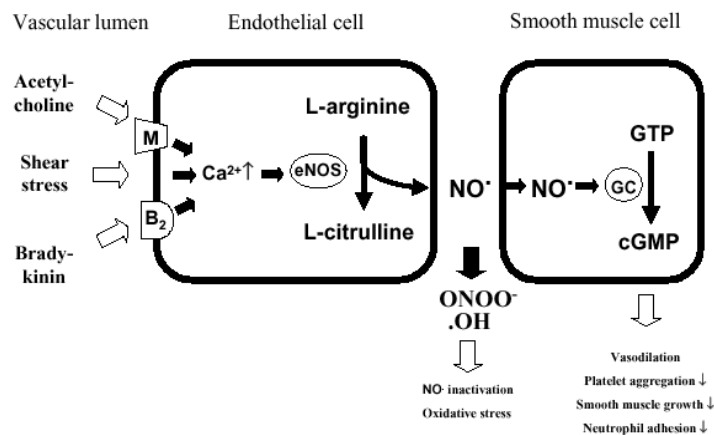
Per ser un radical lliure l'NO és una mol.lècula inestable, que aconseguix establir-se s'enllaçant-se amb l'oxigen, donant com a productes principals nitrits (NO<sup>2-</sup>) i nitrats (NO<sup>3-</sup>). Aquests productes són molècules estables i poc reactives, que tendeixen a acumular-se en els sistemes biològics que generen NO, i són utilitzades com a índex quantitatiu de la seva síntesi<sup>4</sup>.



**Fig 1.** Síntesi d'NO derivat de l'endoteli. Les eNOS catalitzen la conversió de L-arginina en L-citrulina. Els cofactors de les eNOS inclouen FAD, NADPH, TH4 i calci. La síntesi d'NO per part de les eNOS està íntimament lligada als canvis iònics de la concentració de calci. Diversos agonistes com l'acetilcolina, bradiquinina, substància P i la serotonina derivada de les plaquetes actuen en receptors específics de membrana que provoquen alliberació de calci del citosol i activen les eNOS. El shear stress secundari a l'augment del fluxe sanguini també és un estímul important per a la producció d'NO. L'NO modula el tò vascular basal i produeix un efecte vasodilatador en el múscul llis vascular a través de l'activació de GC i el conseqüent augment de GMPC, que també participa en la mediació de la inhibició plaquetària. L'NO també inhibeix l'adhesió de monocits i la proliferació de cèl.lules musculars llises. *FAD: flavin adenin dinucleòtid, NADPH: nicotinamida adenina dinucleòtid fosfat, TH4: tetrahidrobiopterin, NO: òxid nítric, GMPC: guanosin monofosfat cíclic.* Font: Armand Filion. Panacea or Hygeia: Atherosclerosis, <http://medicalmyths.wordpress.com/atherosclerosis>.

## 2.4 L'NO i la fosforilació oxidativa

A nivell intracel·lular, la fosforilació oxidativa mitocondrial és la major font d'espècies reactives a l'oxigen (ERO), com el superòxid, el peròxid i els radicals hidroxil. Son resultat inevitable del metabolisme aeròbic i poden comportar dany oxidatiu. L'organisme posseeix diversos enzims que s'encarreguen d'engegar mecanismes antioxidants, disminuint les ERO i reparant el dany cel·lular secundari que es pot haver generat. Quan aquest sistema no està en equilibri, un nivell elevat d'ERO produeix citotoxicitat<sup>5</sup>.



**Fig 2 .** Inactivació de NO secundària a estrès oxidatiu. Formació de peroxinitrit.  $\text{Ca}^{2+}$ : calci, eNOS: NOS endotelial, NO: òxid nítric, GC: guanil ciclase, GTP: guanosin trifosfat, GMPc: guanosin monofosfat cíclic, ONOO<sup>-</sup>: peroxinitrit, OH: grup hidroxil. Font: Lassila M. Cyclosporine A-induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats on high-sodium diet. University of Helsinki, Helsinki 2000. <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/laa/biola/vk/lassila/index.html>

En situacions d'isquèmia o d'estrès oxidatiu es produeix anió superòxid ( $\text{O}_2^-$ ), que reacciona molt ràpidament amb l'NO, disminuint la seva disponibilitat i anul·lant l'acció vasodilatadora i alterant l'homeostasi vascular (fig2). A més, l'anió superòxid forma peroxinitrit (ONOO<sup>-</sup>), un anió que altera l'estructura i la funció de les proteïnes i els lípids i produeix dany als teixits. De la mateixa manera el peroxinitrit danya molècules de la mitocondria, afectant a la respiració cel·lular, disminuint la síntesi d'energia i afectant al metabolisme del calci. Aquesta interacció desencadena el procés de mort cel·lular conegut com apoptosi<sup>8</sup>.



## 2.5. Implicacions del'NO en diferents sistemes orgànics

### Sistema cardiovascular

El sistema nerviós autònom controla l'alliberació d'NO a nivell dels vasos. Els nervis parasimpàtics que es distribueixen en les artèries cerebrals, retinians, renals, pulmonars i gastrointestinals contenen NOS, que alliberen NO al múscul llis endotelial conduïnt a la vasodilatació<sup>12</sup>.

L' NO és responsable de mantenir l'estat basal de vasodilatació, i per tant intervé de manera significativa en el manteniment de la pressió arterial. Participa en la inhibició de l'agregació i adhesió plaquetària i inhibeix l'activació de leucòcits i la proliferació de cèl.lules musculars llises a la paret vascular<sup>5</sup>. Quan l'endoteli queda exposat a les ERO, s'altera el balanç homeostàtic atenuant l'alliberament d'NO i incrementant la producció de citocines proinflamatòries, promovent la formació de plaques ateroscleròtiques<sup>2</sup>.

**Taula 2. Efectes biològics de l'NO en el sistema cardiovascular**

Cèl.lula Diana/Teixit/Òrgan	Efecte
Múscul llis	Rel.laxació-vasodilatació
Plaquetes	Inhibeix la seva agressió
Cèl.lules inflamatòries	Accions antiinflamatòries
Espècies Reactives a l'oxígen	Efectes antioxidants
Cèl.lules endotelials	Angiogènesi
Miocard	Creixement i desenvolupament fetal i postnatal Augmenta o disminueix la funció contràtil Antihipertòfia Cardioprotector contra dany isquèmic Generació i proliferació cel.lular Antiapoptòtic: promou la supervivència Augmenta o disminueix la contracció
Cardiomiocits	Danyí en quantitats excessives: pro apoptòtic, pro necròtic

Adaptat de: P.Cuellar et al. El óxido nítrico: una molécula biológica llena de contrastes. Acta Universitaria. 2010 20(3).  
Disponible a: <http://www.redalyc.org>

Actualment es relacionen diverses patologies vasculars amb la disponibilitat i producció d' NO. En malalties com la HTA, l'arterioesclerosi, la trombosi, la diabetis o la hiperlipidèmia, es produeix una disminució de la capacitat de vasorelaxació i la denominada disfunció endotelial, que s'ha demostrat que va directament vinculada a la capacitat de l'endoteli per produir NO i altres substàncies protectores<sup>6</sup>.

L'NO realitza múltiples efectes en la funció cardíaca. Pot ser produït per pràcticament totes les cèl·lules del cor, actua com a regulador de la funció cardíaca a través d'accions directes sobre les cardiomiocits, i d'accions indirectes com a conseqüència dels seus efectes vasculars. En el miocardi regula el procés d'excitació-contracció i la freqüència cardíaca, modula el control vegetatiu potenciant el tò vaginal i inhibint el tò simpàtic, i regula la respiració mitocondrial i la producció d'energia cardíaca. En situacions d'isquèmia miocàrdica l'NO té una funció cardioprotectora degut al seu efecte vasodilatador i antitrombòtic. No obstant els efectes cardíacs de l'NO no estan encara suficientment clars, són molt variats i en ocasions contradictoris ja que no es coneix suficientment com cada isoforma realitza la modulació dels processos que desencadena ni les vies exactes de senyalització que utilitzen<sup>9</sup>.

## **Sistema Nerviós**

L' NO és un neurotransmissor i/o neuroregulador en el sistema nerviós central i perifèric. L'alliberació de NO al cervell produeix l'activació de receptors de NDMA, receptors de glutamat que actuen com a components prioritaris en la plasticitat neuronal i la memòria. Les accions de les nNOS al SNC estan relacionades amb la percepció del dolor, especialment a nivell de la medulla espinal, i en el control de la son, la gana, la termorregulació, el desenvolupament neuronal i la plasticitat sinàptica. En malalties neurodegeneratives com la malaltia d'Alzheimer, malaltia de Parkinson, malaltia de Huntington, ELA, Esclerosi Múltiple o isquèmia es considera clau el paper de el NO ja que totes elles presenten condicions d'estrès oxidatiu, degut a la relació del NO amb la formació de peroxinitrit i espècies reactives a l'oxigen en condicions patològiques<sup>8</sup>.

## **Sistema Respiratori**

La funció fisiològica de l'NO en les vies aèrees no està clarament definida, però s'estima que pot ser deguda a la seva capacitat de neurotransmissió, actuant com un broncodilatador endògen<sup>13</sup>.

En el sistema respiratori l'NO és produït per les cèl·lules endotelials i epitelials i en mastòcits i macròfags de la mucosa respiratòria, des d'on difon de forma gaseosa a l'interior de les vies aèrees. La concentració d'NO en l'aire exhalat és el resultat del balanç entre la producció d' NO i la interacció amb el medi que l'envolta, a més d'altres factors com la seva capacitat de difusió a través de la mucosa bronquial, el grau de ventilació alveolar i el fluxe aeri. La producció d' NO depèn de la capacitat d'activació del les NOS, el número de cèl·lules inflamatòries i dels processos que regulen el PH de les vies aèrees. Diversos estudis assenyalen que les concentracions de NO estan augmentades en subjectes asmàtics i l'estudi de l'NO exhalat<sup>13</sup>.

Als pulmons l'NO ajuda a mantenir la homeòstasi, i la seva disminució està vinculada a la disfunció endotelial de la hipertensió pulmonar. Existeixen proves de que el NO produït als pulmons pot ser transportat per l'aminoàcid cisteïna en la hemoglobina a vasos distants. Aquí, la menor concentració d'O<sub>2</sub> afavoreix la descàrrega de NO, augmentant la vasodilatació i el fluxe sanguini. No obstant, actualment és objecte de controvèrsia el significat fisiològic del NO, que actua d'aquesta manera com una hormona<sup>9</sup>.

S'han realitzat estudis que demostren que concentració d'NO als pulmons està incrementada en persones amb hipòxia crònica que viuen a grans alçades. Degut a l'acció vasodilatadora del NO, l'increment de la seva concentració podria augmentar el fluxe sanguini i millorar en aquestes persones l'oxigenació de la sang<sup>9</sup>.

## **Sistema Gastrointestinal**

En el sistema gastrointestinal les nNOS es distribueixen de manera àmplia i controlen la motilitat a través de la relaxació del músculs llis visceral. L'alliberació d' NO regula la inhibició dels esfínters esofàgics, promou la relaxació i el buidatge gàstric i inhibeix la motilitat de l'intestí prim<sup>14</sup>.

Els efectes vasculars de l'NO en el tracte digestiu son regulats per les eNOS, que s'expressen en les cèl·lules endotelials i en les cèl·lules musculars llises de tot el sistema digestiu. L'alliberació d'NO incrementa el fluxe sanguini a la mucosa

gastrointestinal i inhibeix l'adherència de leucòcits a l'endoteli en la microcirculació gàstrica. En diversos estudis s'apunta que és un factor destacat per la protecció de la mucosa gàstrica i disminueix el risc de sangrat del tracte gastrointestinal alt<sup>14</sup>.

Les iNOS estan involucrades en processos inflamatoris i carcinogènics, com l'apoptosi de les cèl.lules epitelials, els mecanismes de defensa i la perpetuació de respostes inflamatòries<sup>14</sup>.

### **Sistema Renal**

El ronyó necessita altes concentracions d'O<sub>2</sub> per mantenir els gradients adequats de PO<sub>2</sub> del córtex a la mèdulla. La interacció entre les ERO i l'NO està involucrada en la funció renal ja que ambdues necessiten O<sub>2</sub> per poder ser generades. En condicions normals les ERO produïdes al ronyó són eficaçment neutralitzades per sistemes enzimàtics i no enzimàtics, però en condicions d'estrès oxidatiu es produeixen danys en el teixit. L'elevada producció d'ERO disminueix la disponibilitat d'NO i l'ús normal d'O<sub>2</sub> en el ronyó queda alterat. L'NO compensa la vasoconstricció renal per estimulació nerviosa. Les nNOs s'activen per increment del fluxe sanguini i canvis en el PH, produint NO que manté la tasa de filtració glomerular<sup>2</sup>.

### **Sistema reproductor**

L'NO és alliberat per les eNOS de les cèl.lules endotelials dels vasos del penis en resposta a l'estimulació parasimpàtica. Difón a l'interior de les cèl.lules musculars llises dels vasos sanguinis i estimula la producció de GMPc, que també produeix relaxació del múscul llis vascular, de manera que la sang pot fluir als cossos cavernosos. Aquestes característiques han estat aprofitades per la farmacologia, utilitzant *sildenafil* per tractar la disfunció erèctil, que actua mitjançant el bloqueig de la fosfodiesterassa de GMPc, sent l'efecte últim l'augment de la concentració de GMPc, que incrementa la vasodilatació, i en conseqüència l'erecció<sup>9</sup>.

L' NO té també un paper clau en la reproducció. S'ha establert que regula l'activitat reproductiva actuant a nivell de l'hipotàlam i de la glàndula pituitària.

Intervé modulant l'alliberació de l'hormona luteinizant, i també actua directament a l'ovari, on és produït per vasos i hormones i diversos tipus de cèl.lules. La producció d'NO és regulada per nombroses hormones i citoquines, que interfereixen amb l'expressió i activitat de les eNOS i les iNOS. Actualment es suggereix també que el NO està involucrat en el creixement del folicle i participa en el procés d'ovulació i la funció del cos luti. No obstant les seves implicacions clíniques encara no estan clarament definides<sup>15</sup>.

### **Sistema immune**

L'NO té una funció destacada en la defensa de l'organisme i en el dany al propi hoste. Participa en la resposta inflamatòria i en la resposta a infeccions bacterianes i víriques. És l'efector de la citotoxicitat mediada pels macròfags, inhibeix la proliferació de limfòcits T, i contribueix a mantenir un equilibri entre diferents tipus de cèl.lules T que és clau en la resposta inflamatòria i la funció immune. La concentració elevada d'NO derivada de les iNOS és bàsica per prevenir una expansió excessiva de cèl.lules Th1, que estan involucrades en el desenvolupament de la inflamació persistent o no controlada que es produeix en situacions de shock sever i disfunció orgànica<sup>2</sup>.

### **Múscul esquelètic**

En el múscul esquelètic l'NO participa en la producció de la força muscular (acoplament excitació-contracció), en la regulació del fluxe sanguini, la diferenciació de miocits, la respiració cel.lular i l'homeostasi de la glucosa. Totes les isoformes de les NOS es troben presents en el múscul esquelètic, i s'ha trobat una variant específica de les nNOS<sup>16</sup>.

## 2.7 NO COM A POSSIBLE MEDIADOR DELS EFECTES MANIPULATIUS. HIPÒTESI DE SALAMON ET AL<sup>3</sup>

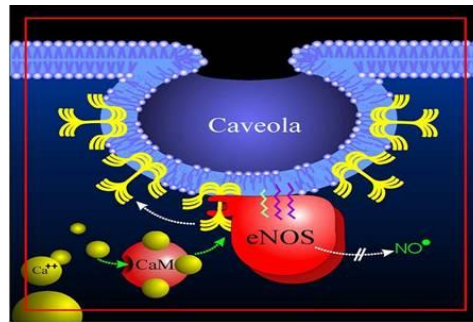
### Estudis basats en la mecanotransducció i el shear stress.

*Salamon et al*<sup>3</sup> (2004) van realitzar un estudi en els que van sotmetre el gangli d'un invertebrat marí i peces d'una artèria coronària humana a una manipulació simple, obtenint una alliberació d'NO derivada de les cNOS mitjançant un mecanisme de mecanotransducció molecular. Amb aquest i d'altres estudis, van obtenir dades empíriques que demostren que la manipulació física sobre teixit neural i vascular estimula l'alliberació d' NO, establint la hipòtesi que l'augment de la concentració plasmàtica d' NO podria ser el mediador dels efectes de la manipulació. L'estimulació de les cNOS mitjançant l'alteració fisiològica produïda durant una manipulació dóna com a resposta l'alliberació d' NO en un període molt curt de temps. Aquests nivells d'NO poden però exercir accions fisiològiques profundes per un període de temps molt més llarg, degut a que la vasodilatació secundària a l'alliberació d'NO pot actuar causant un mecanisme de feedback positiu que acua aportant més sang rica en NO, prolongant per tant els seus efectes. El mecanisme d'acció de l'NO podria explicar com es porten a terme els efectes beneficiosos de la manipulació osteopàtica.

En un altre assaig<sup>18</sup> van demostrar que mitjançant una elevada pressió mantinguda sobre peces de vena safena humana s'estimulava l'alliberació d'NO a nivells progressivament més baixos, assenyalant debilitament. Per altra banda, un fluxe pulsàtil a baixa pressió mantenia els nivells d'alliberació, demostrant el significat de la resposta vascular normal a la pressió sanguínea i el mecanisme de l'NO. Mantenint el vas a una pressió elevada es provoca una reducció de l'alliberació d'NO, i conseqüentment un nivell elevat d'adherència granulocítica, imitant un estat proinflamatori.

*Rizzo et al*<sup>19</sup> (1998) van estudiar la resposta de les eNOS a canvis en la pressió dels vasos. Van demostrar que canvis aguts en la pressió o en el shear stress estimulen una alliberació ràpida d'NO mitjançant l'activació de les eNOS. Les eNOS estan inhibides per la proteïna caveolina en les caveoles, que són petites invaginacions en la membrana plasmàtica de les cèl.lules endotelials, involucrades en els mecanismes de senyalització. En augmentar el fluxe o el shear stress de manera sobtada, s'indueix la dissociació de la caveolina permetent l'acoplament de la calmodulina a les NOS i produïnt-se l'alliberació d'NO. Aquests resultats enllacen

la mecanotransducció amb la manipulació física i l'activitat de les eNOS, donant suport a la hipòtesi de *Salamon et al.*



**Fig 3.** Representació de la interacció de les eNOS amb la caveolina dins la caveola. L'enzim està inactiu fins que el complex calci-calmodulina desplaça la caveolina, de manera que la calmodulina pot enllaçar-se amb l'eNOS, activant-la i donant com a producte l'NO. *Ca<sup>2+</sup>*: calci, *CaM*: calmodulina, *eNOS*: sintassa endotelial d'NO, *NO*: òxid nítric. <http://michel-lab.bwh.harvard.edu/biblio.html>

Altres estudis<sup>20</sup> suggereixen que l'augment en la concentració de  $\text{Ca}^{2+}$  també causa l'alliberació d'NO a través de la dissociació de la caveolina amb les eNOS, permetent l'activació de l'enzim. Quan es produeix una activació agonista prolongada per augmentar la concentració de  $\text{Ca}^{2+}$ , s'indueix la translocació de la eNOS de la membrana cel·lular al citosol, separant la calmodulina dels seus activadors i disminuint per tant l'alliberació d'NO. Quan el  $\text{Ca}^{2+}$  baixa fins als nivells basals, la caveolina pot tornar a interactuar amb les eNOS, comportant la inhibició enzimàtica. Aquest sistema facilita una estabilització ràpida i eficient de les eNOS, que tornen a estar preparades per un altre cicle d'estimulació.

Aquest mecanisme pot explicar l'augment de l'alliberació d'NO en els teixits sotmesos a manipulació física, i la seva importància recau en que serveix per regular el microentorn on es realitza la manipulació, on sol existir prèviament un estat proinflamatori. Des d'aquest punt de vista el mecanisme molecular de mecanotransducció que aconseguix alliberar NO per part de les cNOS pot ser utilitzat a nivell mèdic ja que la manipulació dels teixits pot servir per regular i revertir processos proinflamatoris, tenint en compte que l'NO derivat de les eNOS pot inhibir l'NO derivat de les iNOS<sup>20</sup>.

### **L'efecte de rel.laxació i les manipulacions osteopàtiques<sup>3</sup>**

La manipuació osteopàtica indueix una resposta de rel.laxació en la que es produeix vasodilatació perifèrica, augment de la temperatura de la pell, una disminució de la freqüència cardíaca i una sensació de benestar. Aquesta resposta és secundària a un mecanisme de resposta de SNC mitjançant el SNA, on els processos neuro-vasculars són de primera importància. L'NO podria ser fonamental en aquesta resposta degut al seu efecte vasodilatador.

L'NO derivat de les eNOS s'allibera en resposta a les pulsacions basals de la dinàmica vascular en resposta a la contracció cardíaca, juntament amb l'acetilcolina que estimula les eNOS, i contribueix a la rel.laxació del múscul llis per part de l'NO. Les pulsacions basals han de ser suficientment intenses per estimular l'alliberació d'NO per part de les nNOS, limitant les accions basals de la norepinefrina. Aquest sistema pot proporcionar un mecanisme autorregulador involucrat en el control neuronal de les respostes vasomotores i alhora proporcionar un sistema de control de feedback negatiu per la regulació de l'NO, evitant que es generin nivells que puguin ser perjudicials.

Sembla ser que l'efecte de rel.laxació de les manipulacions osteopàtiques pot ser mediat per un sistema regulador que involucra a l'NO a nivell perifèric, com a neurotransmissor i com a hormona que actua a nivell local. Després de que es produeixi vasoconstricció i despolarització de la membrana, la vasodilatació és mediada per l'NO alliberat pel teixit nerviós, que activa la guanilato-ciclasa en el múscul llis i produeix GMPc. Degut a les característiques de l'NO, la norepinefrina ja no produeix vasoconstricció, en el seu lloc l'NO activa la guanilato-ciclasa i es produeix vasodilatació.

### **Molècules que poden alliberar NO<sup>3</sup>**

Cal tenir també en compte altres molècules senyalitzadores presents a la sang que són estimuladores de l'alliberació de NO derivat de les cNOS. Són constiutives i expressades per teixit nerviós en contacte amb el plasma sanguini, i poden iniciar efectes fisiològics profunds quan són estimulades per manipulació:

- Anandamida (AEA): és un endocanabinoide endògen que pot causar alliberació de NO per part de les cèl.lules immunes, neurals i endotelials humanes.
- Estrògens: poden provocar alliberació de NO depenent de les cNOs en cèl.lules immunes i neurals.



- Morfina: s'allibera després de moviments d'alt impacte i és mitjançant les vies de senyalització de l'NO que realitza els seus efectes, aquest podria ser un possible mecanisme per explicar l'efecte analgèsic atribuït a les tècniques d'alta velocitat que aplica el tractament manipulatiu osteopàtic.

L'AEA i els estrògens poden regular a la baixa la funció immune i vascular en les dones, i ho fan a través del mecanisme de l'NO.

## 2.8 Estudis mèdics en terapia passiva basats en el shear stress

Un dels beneficis més importants de l'exercici actiu és l'NO alliberat a la circulació durant l'activació de les eNOS, secundària a l'augment del shear stress a l'endoteli<sup>21</sup>. Les eNOS s'activen quan el shear stress laminar o pulsàtil té lloc a nivell de l'endoteli. El shear stress laminar està associat amb l'augment de fluxe sanguini, mentre que el shear stress pulsàtil ha demostrat ser el màxim efectiu amb freqüències de 180 a 360 pulsos per minut (en experimentació en vasos aïllats)<sup>20</sup>.

Diversos estudis en medicina física han utilitzat la terapia passiva per aconseguir un efecte vasodilatador dependent de les eNOS, reproduint el shear stress mitjançant dispositius que mobilitzen el cos humà en l'eix espinal en forma d'acceleració periòdica (*Whole-Body Periodic Acceleration/WBPA*). Els canvis fluidics que es produeixen durant l'acceleració-desacceleració promouen l'activació de les eNOS.

*Sackner et al*<sup>22</sup>(2005) van experimentar amb subjectes sans i amb malalties inflamatòries de diversos tipus, incloent osteoartritis, síndrome del túnel carpià, MPOC, asma bronquial, insuficiència venosa crònica, Parkinson, hemiplègia post infart cerebral, cistitis intersticial i càncer de pròstata. Es va aplicar la terapia passiva mitjançant *WBPA* durant 45 minuts, controlant les respostes en el pols digital i per electrocardiograma. Els resultats van mostrar un increment del shear stress pulsàtil, donant lloc a vasodilatació secundària a l'augment de l'activitat de l'NO en tots els participants, retornant a nivells basals 5 minuts després de l'aplicació.

El mateix procediment mitjançant la tècnica del *WBPA* es va realitzar en dones amb fibromiàlgia i fatiga crònica<sup>23</sup>, en aquest cas es van haver de realitzar diferents sessions de terapia passiva per aconseguir resultats satisfactoris, tant pel que fa al shear stress, com per la millora en els símptomes i la qualitat de vida de les participants. Els autors defensen que la disminució dels símptomes pot ser

secundaria les propietats antiinflamatòries de l' NO derivat de les eNOs. Basant-se en estudis previs realitzats en animals en que s'ha comprovat que aquest tipus de terapia passiva aconsegueix incrementar de manera significativa el fluxe sanguini a nivell del cervell i el tronc cerebral, suggereixen que els efectes del *WBPA* en subjectes amb fibromiàlgia i fatiga crònica poden ser deguts a la supressió de processos inflamatoris al SNC per una causa encara desconeguda.

D'un estudi d' *Adams et al*<sup>24</sup> (2001) realitzat en porcíns és interessant destacar les diferències obtingudes en el fluxe sanguini regional utilitzant el *WBPA* i l'exercici actiu. Ambdós procediments obtenen diferències hemodinàmiques, l'exercici aeròbic estimula els shear stress laminar i el *WBPA* el shear stress pulsàtil. L'exercici actiu va incrementar clarament el fluxe a nivell músculo-esquèletic i del miocardi, mentre que no va comportar canvis destacables a nivell visceral. La terapia passiva utilitzant *WBPA* va comportar un augment significatiu del fluxe sanguini al fetge, els ronyons, l'estómac i l'intestí prim, i no en canvi en la melsa.

*Aliaev et al*<sup>25</sup> (2009) van experimentar amb la compressió-descompressió dels cossos cavernosos en pacients amb disfunció erèctil d'origen vascular. Mitjançant un dispositiu baroterapèutic urològic van poder demostrar l'estimulació de la síntesi i dels efectes del NO sobre pacients amb disfunció erèctil secundària a disfunció endotelial, amb una eficàcia del 90-93% i una duració de 7 a 12 mesos depenent del tipus de desordre.

## 2.8 L'NO i l'acupuntura

La medicina tradicional oriental descriu els meridians com a canals físics a través dels que flueix el Qi (definit com “fluxe vital d’energia”), que connecten els òrgans interns del cos i els vinculen a zones específiques de la superfície de la pell, que reben el nom de punts d’acupuntura. L’estimulació d’aquests punts mitjançant fines agulles es du a terme per obtenir un fluxe de Qi armoniós i equilibrat per millorar l’estat de salut. Al 1997 el National Institute of Health va publicar consens sobre l’efecte curatiu de l’acupuntura en diversos símptomes dolorosos i també en símptomes com la nàusea i el vòmit postoperatoris<sup>26</sup>.

En les darreres dècades s’ha estudiat les característiques biofísiques distintives dels punts i meridians d’acupuntura, com l’alta conductivitat elèctrica i la possible relació amb els plans del teixit connectiu i l’espai perivascular. No obstant l’evidència de l’existència física dels punts i la seva funció fisiològica encara no estan determinats<sup>26</sup>.

El Qi ha estat tradicionalment considerat essencial per al manteniment de la vida, se’l relaciona amb l’aire, la ingesta d’aliments i l’herència. Tenint en compte que l’oxigen de l’aire és essencial per la vida, *Lee et al*<sup>27</sup> (2009) van establir la relació entre els punts d’acupuntura i el subministrament d’oxigen a l’organisme, i van estudiar els nivells d’oxigen en la superfície de la pell en els punts d’acupuntura mitjançant un microsensor electroquímic altament sensible a l’oxigen. Es van poder determinar nivells elevats d’oxigen en punts concrets d’acupuntura, comparats amb els nivells de superfície de la pell que no corresponen als punts. D’altra banda *Ha et al*<sup>28</sup> (2012) van poder descriure un mapa de nivells d’oxigen en la zona del canell corresponents a punts d’acupuntura.

Diferents estudis han estat dedicats a la relació de l’NO amb els punts i meridians d’acupuntura, demostrant que el tractament amb acupuntura augmenta el fluxe sanguini<sup>29</sup>, i que l’expressió de les NOS és més elevada al voltant dels punts i meridians en models de ratolins<sup>30</sup>, o proposant al NO com a mol·lècula senyalitzadora en el sistema de meridians<sup>31</sup>. S’ha descrit també el contingut de nitrats i nitrats en el plasma extret de la superfície de la pell que segueix els meridians<sup>32</sup>.

*Ha et al* van estudiar la pressió parcial d’NO (pNO) en punts concrets d’acupuntura i en superfícies no corresponents, utilitzant un microsensor amperomètric, obtenint nivells estadísticament més elevats de pNO a prop dels punts d’acupuntura escollits, demostrant una relació íntima amb l’alliberació d’NO<sup>26</sup>.

## 2.9 Línies d'investigació respecte l'NO en l'àmbit de l'osteopatia

### L'NO en els processos de lesió i reparació del teixit

Durant el procés de cicatrització l'activació dels fibroblasts estimula la secreció de citoquines proinflamatories i proteïnes de la matriu extracel.lular (MEC), augmentant la proliferació i la migració cel.lular, que combinades promouen la reparació cel.lular i tissular. Diversos estudis experimentals in vitro basats en el comportament dels fibroblasts davant l'aplicació de forces mecàniques inclouen com a variable secundària els canvis en la concentració plasmàtica d'NO.

Sembla ser que l'NO és estimulat per l'activitat de les interleuquines que s'alliberen per acció dels fibroblasts durant la tensió aplicada al teixit. Es considera que l'NO pot tenir un rol destacat en la mecanotransducció com a marcador de la cicatrització. No es coneixen els mecanismes exactes que utilitza, però s'ha observat que regula la proliferació de fibroblasts, l'apoptosi i la migració cel.lular, mitjançant la via del GMPc. Els fibroblasts mostren respostes diferenciades davant les concentracions d'NO, a altes concentracions poden reaccionar amb apoptosi, mentre que a baixes concentracions s'estimula la seva proliferació<sup>33</sup>.

*Dodd et al*<sup>34</sup> van estudiar els efectes d'una tensió mantinguda sobre fibroblasts dèrmics in vitro amb l'objectiu d'observar els processos de lesió i reparació del teixit, provant de reproduir un model dels mecanismes cel.lulars que utilitza el tractament manipulatiu osteopàtic (OMT). En concret van observar els canvis en la forma i la proliferació cel.lular, i van mesurar les variacions en la producció cel.lular d'NO i de les interleuquines IL-1 $\beta$  i IL-6. Durant l'estudi es va poder comprovar un augment de l'alliberació d'NO i IL-6 durant l'aplicació de tensió a diferents magnituds i duració, donant suport a la implicació de NO i IL-6 en els processos de dany i reparació del teixit. Aquestes dades podrien proporcionar informació sobre la patofisiologia de la fibrosi i els canvis en la textura tissular que s'observen en situació de dany tissular, que es produeixen en la disfunció somàtica. *Dodd et al* demostren doncs que a més de les citoquines inflamatories i antiinflamatories també l'NO té un rol destacat en els processos de lesió i la reparació induïda per l'OMT.

En un altre estudi in vitro de *Cao et al*<sup>33</sup> (2013) es va dissenyar per determinar els efectes d'una alliberació miofascial programada en la cicatrització per part dels fibroblasts i investigar el rol potencial de l'NO en mediar aquestes

respostes. Basant-se en l'efectivitat de teràpies com l'OMT o la teràpia d'aplicació de ventoses per millorar la funció, alleugerir el dolor i reduir el risc de recidiva, van plantejar la idea de que patrons de tensió específics poden tenir una implicació directe en els processos de cicatrització. Els resultats van poder demostrar que els fibroblasts sotmesos a tensió responen amb un augment de sensibilització als canvis de concentració d' NO. En el grup d'estudi en que es va aplicar tensió i posterior alliberació miofascial es va poder observar una millora de la cicatrització com a resultat de l'augment de secreció d' NO, de la sensibilització dels fibroblasts o d' ambdós. L'activació de les iNOs pot ser incrementada per tensió biomecànica. La màxima activació de l'alliberació d'NO es va registrar en el grup en que es va aplicar l'alliberació miofascial.

### **L'NO i l'anandamida**

L'anandamida és un endocannabinoide endògen que pot provocar alliberació d'NO per part de cèl.lules immunes, teixit nerviós i endoteli vascular humans<sup>2</sup>. Forma part del sistema endocannabinoide, del que es coneixen dos receptors, el CB1, localitzat principalment al sistema nerviós, i el CB2 associat amb el sistema immune, i diverses molècules endocannabinoïdes endògenes, les més destacades són l' anandamida (AEA) i el 2-arachidonoilglicerol (2-AG)<sup>35</sup>.

*McParland et al*<sup>36</sup> (2005) van realitzar un assaig controlat i randomitzat per investigar el potencial de l'OMT per produir efectes de benestar vinculats al sistema endocannabinoide en 31 subjectes. Per valorar els resultats van utilitzar una escala de reacció a psicotròpics i van mesurar els canvis plasmàtics de substàncies endocannabinoïdes, obtenint efectes psicològics catalogables com a cannabimètrics, i augments en la concentració plasmàtica d'endocannabinoïdes en els grups tractat amb OMT. En les seves conclusions apunten que haver obtingut augments de la concentració plasmàtica d'AEA dona encara més suport a la hipòtesi de *Salamon et al* sobre l'alliberació d'NO i els efectes del tractament manipulatiu. En futurs estudis plantegen investigar de manera més profunda la relació entre l'AEA i l'NO, comparar els efectes de diferents tècniques osteopàtiques sobre l'alliberació d'AEA, i realitzar mesures de l'alliberació d'AEA en el líquid cefalo-raquídi.

En l'experimentació en medicina, s'ha demostrat que l'increment de l'activitat endocannabinoide té un elevat potencial terapèutic en pacients amb disfunció somàtica, dolor crònic, malalties neurodegeneratives, condicions inflamatòries, disfuncions intestinals i desordres psicològics. Es considera també

que el bloqueig dels receptors endocannabinoides s'oposa als mecanismes d'autorregulació i pot comportar efectes adversos<sup>36</sup>.

El sistema endocannabinoide exemplifica el principi osteopàtic de que el cos poseeix mecanismes d'autorregulació i autocuració, motiu pel qual la medicina osteopàtica li ha dedicat recerca després de descartar el sistema endorfinic com el vehicle de l'analgèsia i la relaxació secundàries al tractament manipulatiu. En l'àmbit de l'osteopatia ls terapeutes poden intervenir en el seu mecanisme mitjançant la manipulació miofascial, la dieta i modificacions de l'estil de vida<sup>37</sup>.

En el cos humà el sistema endocannabinoide contribueix a formar el desenvolupament embriològic, disminueix la nocicepció i el dolor, redueix la inflamació en el teixit miofascial i participa en la reorganització de la fàscia. Existeix evidència que suggereix que el sistema endocannabinoide podria contribuir a resoldre punts gatell miofascials i alleugerir símptomes de la fibromiàlgia. No obstant, l'expressió de del sistema endocannabinoide en el teixit miofascial encara no ha estat establert<sup>35</sup>.

### **Drenatge limfàtic i NO**

*M.L.Kuchera* fa referència a l'estudi de *Salamon et al* en un article de revisió<sup>38</sup>, suggerint que el moviment rítmic del drenatge limfatico-venós pot tenir un efecte beneficiós degut a l'increment de l'alliberació de NO per part de les eNOS. Posteriorment Kuchera va participar en un estudi<sup>39</sup> publicat en una conferència de la *JAOA (The Journal of the American Osteopathic Association)*, en el que es comparava l'increment de NO al plasma després de realitzar drenatge limfàtic utilitzant la tècnica de *Dalrymple Pedal Lymphatic Pump* amb el que s'aconseguia després de realitzar exercici actiu. Els resultats demostraven que ambdós procediments tenien respostes equivalents pel que fa a l'alliberació d' NO, però l'avantatge del tractament osteopàtic residia en que no augmentava la freqüència cardíaca. Les conclusions apuntaven a la necessitat de realitzar altres investigacions per determinar si subjectes que no poden participar de l'exercici actiu podien rebre els mateixos beneficis sense realitzar esforç aeròbic.

### 3. MÈTODE

#### 3.1 Identificació dels estudis

Es va realitzar una búsqueda bibliogràfica en literatura publicada en anglès i castellà per identificar assatjos clínics en terapia manual i medicina física realitzats en els últims 10 anys. La búsqueda es va realitzar entre abril i novembre de 2013 en les següents bases de dades: PubMed, OstMed, Osteopathic Research, i PEDRO. Els descriptors de búsqueda utilitzats van incloure les següents paraules clau: *“nitric oxide” AND “osteopathic medicine” OR “osteopathic manipulation” OR “manual therapy” OR “physical therapy”*.

#### 3.2 Selecció dels estudis

Els articles van ser buscats per l'investigador identificant els descriptors de búsqueda en text complert. Els estudis seleccionats i aportacions rellevants van ser revisats per l'autor per identificar assatjos clínics que incloguessin com a variable d'estudi els canvis en la concentració plasmàtica d'NO. Per ser inclosos en la revisió els estudis havien de complir els criteris d'inclusió, que es troben definitis en la Taula 3. Es van excloure estudis que experimentessin amb a terapia física activa i/o farmacològica, i que no tinguessin una indicació clara en relació a l'òxid nítric en els resultats.

**Taula 3. Criteris d'inclusió per la revisió sistemàtica d'estudis que han utilitzat terapia manual i física per intervenir en el metabolisme d' NO.**

Categoria	Descripció
Disseny d'estudi	Assatjos clínics controlats
Tipus de participants	Subjectes sans o amb disfunció orgànica
Intervenció	Diferents tipus d'intervenció realitzades amb terapia manual i física passiva
Objectiu	Investigar l'efectivitat de la terapia manual i física per intervenir en canvis plasmàtics de la concentració d' NO
Idioma	Anglès o Castellà

El procés de selecció dels estudis va incloure 2 fases. En la primera fase es van revisar els abstracts dels estudis localitzats en les bases de dades. Aquells estudis que no reunien els criteris d'inclusió en el contingut dels abstracts van ser exclosos durant aquest període. Els estudis duplicats degut al solapament en diverses bases de dades van ser també exclosos. Es van obtenir els estudis a text complert que incloïen tots els criteris o que podien complir-los potencialment.

Durant la segona fase del procés de selecció es van aplicar els criteris d'inclusió al text complert dels assatjos de la mateixa manera que s'havien aplicat prèviament en l'abstract. Es van extreure les dades dels estudis escollits des del text complert.

### **3.3 Extracció de dades**

Cadascun dels estudis elegibles va ser revisat per l'autor per extreure dades de les característiques metodològiques, característiques dels participants i distribució en grups experimental o control, tipus de tècnica aplicada i duració de la mateixa, i finalment en els canvis de les variables d'estudi i les variacions de la concentració plasmàtica d' NO.

### **3.4 Anàlisi qualitativa**

L'anàlisi qualitatiu dels estudis serà realitzat per l'investigador utilitzant l'Escala Jadad<sup>40</sup> per la validesa interna d'estudis clínics, que utilitza valors de 0 a 5, éssent 5 la màxima qualitat a la que pot optar un estudi. Valors entre 3 i 5 representen una qualitat acceptable, i valors inferiors a 3 indiquen estudis de pobre qualitat. La valoració qualitativa d'aquesta escala es basa en tres ítems:

- Aleatorització: correspon als criteris A i B. El criteri es compleix si el mètode per generar la seqüència aleatòria està correctament descrit, ja sigui mitjançant suport informàtic o taulatures de números aleatoris. El criteri queda incomplet si la seqüència d'aleatorització és inadequada, per exemple si els subjectes són agrupats per data de naixement o número d'història clínica.
- Doble Ceg: correspon als criteris C i D. Aquest criteri es compleix si cap de les persones que intervé en el protocol o que és subjecte de l'estudi poden identificar quina intervenció realitza o a quin grup pertany dins l'estudi. També es té en compte si es descriu el mètode de cegament i aquest és



adecuats, si no fós així tot i ser doble cec no s'obté el màxim de la puntuació del criteri.

- Descripció d'abandonaments i retirades: Correspòn amb la pregunta E. S'acompleix si els participants de l'estudi que van ser inclosos però no van completar la totalitat del protocol van ser exclosos de l'anàlisi de dades i això es registra en l'estudi.

#### 4. RESULTATS

La búsqueda de la literatura va incloure 66 estudis (taula4). En un primer pas de la selecció 39 estudis van haver de ser exclosos segons criteris d'exclusió i 18 estudis van resultar duplicats en diferents bases de dades.

Taula 4. Resultats de la búsqueda primària en les bases de dades

BBDD	Nº d'estudis
PUBMED	44
PEDRO	20
OSTMED	2
Osteopathic Research	0
TOTAL	66

Després de la 1ª fase de selecció, 9 estudis potencialment rellevants van ser identificats. En la 2ª fase es va realitzar la lectura del text complet per a una avaluació detallada, 5 estudis van ser exclosos. Un d'ells no complia el criteri d'inclusió per idioma, 2 estudis s'havien publicat com a abstracts conferència de 2008 de la *American Osteopathic Association*, i 2 estudis no permetien l'accés a text complet segons els recursos de l'investigador. El diagrama de fluxe de la selecció dels estudis durant el procés de selecció es mostra a la Fig.4.

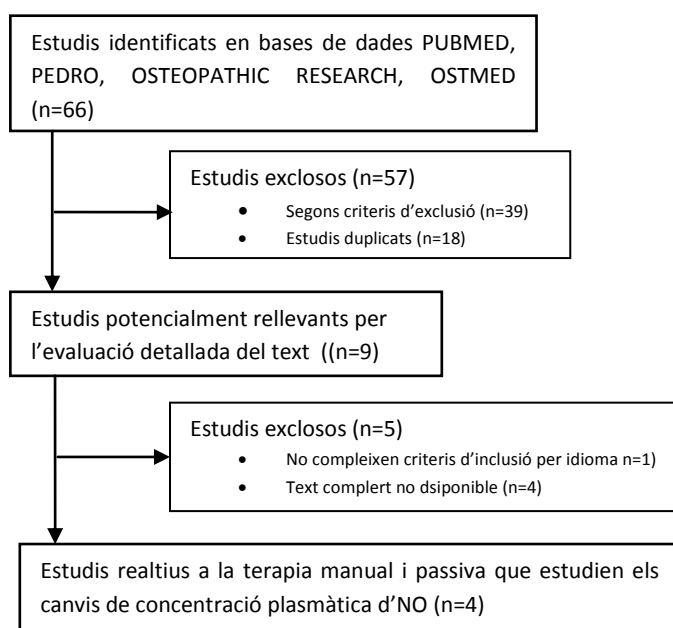


Fig 4. Diagrama de fluxe de la selecció dels estudis

#### 4.1 Detalls dels estudis

Es van extreure dades dels 4 estudis que acomplien els criteris d'inclusió. Un dels estudis aplicava la tècnica manual de massatge suec, 2 estudis estudiaven diferents formes d'acupuntura tradicional xinesa i el darrer utilitzava la medicina física mitjançant la tècnica de WBPA per actuar sobre el shear stress. Un sol dels estudis va experimentar primer amb models de ratolins per aplicar després el mateix procediment en humans<sup>42</sup>. Es pot observar el detall del disseny d'estudi i dels objectius dels mateixos a la taula 5.

**Taula 5. Visió de de conjunt d'estudis que evaluen l'eficàcia de la terapia manual i passiva per intervenir en la concentració plasmàtica de l'NO.**

Estudi	Disseny	Objectiu
Mornhenn <sup>41</sup>	RTC	Estudiar l'efecte del massatge sobre nivells d'oxitocina, ACTH, NO i BE
Rokutanda <sup>42</sup>	CT	Investigar els efectes de WBPA sobre la recuperació del fluxe sanguini en extremitats isquèmiques de models de ratolins i pacients amb malaltia arterial perifèrica
Hui <sup>43</sup>	RTC	Estudiar els efectes de diferents estimulacions sobre el contingut d'NO en àrees d'acupunció.
Wang <sup>44</sup>	RTC	Evaluar els efectes de l'acupressió auricular per alleugerir símptomes menstruals i disminuir nivells d'NO per dones amb dismenorrea primària

Abreviatures: RTC, randomized control trial; CT, control trial; ACTH, adrenocorticotropina; NO, òxid nítric; BE, betaendorfina; WBPA, Whole-Body Periodic Acceleration; WBP

Dels estudis inclosos, 3 eren randomitzats, amb grup o grups experimentals i/o grup control, mentre que un dels estudis utilitzar diferent durada en la intervenció per observar els canvis en els resultats<sup>44</sup>. Tots els estudis describen de manera detallada les tècniques aplicades i els mètodes per l'evaluació dels resultats.

La població estudiada va oscil·lar entre 15 participants<sup>42</sup> i 95<sup>41</sup> participants, amb abandonaments i retirades descrits. La durada de la tècnica aplicada varia en entre 15 minuts en l'estudi de Mornhem<sup>41</sup> i durant tota la intervenció en l'estudi de Wang<sup>44</sup> dedicat a l'acupressió auricular. La duració de la intervenció varia entre l'aplicació d'una tècnica simple, l'aplicació d'una sessió al dia durant 7 dies i l'aplicació mantinguda durant 20 dies. 2 dels estudis es van realitzar sobre participants adults sans, mentre que l'estudi de Rokutanda<sup>42</sup> es va realitzar sobre participants adults amb patologia arterial perifèrica, i el de Wang sobre dones joves amb dismenorrea primària. A la taula 6 es mostra un sumari de cada estudi.

**Taula 6. Sumari dels detalls dels estudis inclosos en la revisió sistemàtica**

Estudi	Mornhem <sup>41</sup> (2012)	Rokutanda <sup>42</sup> (2011)	Hui <sup>43</sup> (2010)	Wang <sup>44</sup> (2009)
<b>Participants</b>	Adults sans	Adults amb PAP	Adults sans	Dones joves amb dismenorrea primària
<b>Nº participants</b>	95	15	47	71
G.Experimental	65	10 sessió simple 5 durant 7 dies	11 electro acupuntura 13 acupuntura manual 16 moxibustió	36
G.Control	30	Sense grup control	7	35
<b>Mètode estadístic</b>	SPSS 15.0	ANOVA	No descrit	SSize Software u.2.0
<b>Variable principal</b>	Nivells d'Oxitocina i canvis en estat d'ànim	Canvis en el fluxe sanguini per Laser Doppler	Contingut de NO en àrees d'acupunció	Alleugerir símptomes de dismenorrea (escala MDQs)
<b>Durada</b>				
Tècnica	15 min	45 min	20 min	Mantinguda durant tota la intervenció
Intervenció	Simple	Simple en 10 participants 7 dies en 5 participants	Simple	20 dies
<b>Tipus intervenció</b>				
G.Experimental	Massatge suec	WBPA	Electroacupuntura, acupuntura manual i moxibustió	Acupressió amb llavors + massatge dels punts 3 cops al dia
G.Control	Repòs	Sense grup control	Sense intervenció	Pegat placebo
<b>Mètode de mesura d'NO</b>	Nivells plasmàtics d'NO mitjançant reacció de nitrits	Nivells plasmàtics d'NO ( µg/dl NO)	Lluminiscència química per nitrits i nitrats	Nivells plasmàtics d'NO mitjançant reacció de substrats
<b>Resultats</b>				
G.Experimental	Disminució 35% P<0.001	Augment de 58,3±9,4 a 57,2±10,2 µg/dl P=0,6	Augment en els 3 grups experimentals P<0.05	Augment de 0,353 a 0,366nm P=0,46
G.Control	Augment 140% P<0.001	Sense grup control	Disminució	Disminució de 0,340 a 0,321nm

"Simple" es refereix a una sola intervenció, aïllada. Abreviatures: PAT, patologia arterial perifèrica; WBPA, Whole-Body Periodic Acceleration

## 4.2 Resultats reportats

En un sol dels estudis la variable principal va ser el contingut d'NO, l'estudi de *Hui*<sup>42</sup>, en el que s'investigaven les variacions en la concentració d'NO aplicant 3 tècniques diferents: l'acupuntura manual, l'electroacupuntura i la moxibustió. La moxibustió va expressar el major canvi en la concentració degut a un efecte tèrmic profund, per sobre de l'electroacupuntura i l'acupuntura manual. En els altres 3 estudis la variable d'NO va ser secundària.

En l'estudi de *Mornhem*<sup>41</sup> s'estudiava la concentració plasmàtica d'oxitocina i els canvis en l'estat d'ànim dels participants després de l'aplicació de massatge mitjançant una escala psicològica validada, els nivells d'NO es van estudiar per la seva capacitat de regular a la baixa l'oxitocina.

En l'estudi de *Rokutanda*<sup>42</sup> et al es va aplicar la tècnica en models de ratolins, amb isquèmia provocada quirúrgicament, amb els que van evidenciar que l'augment del fluxe sanguini i l'efecte proangiogènic aconseguit era depenent de les eNOS. Van complementar l'estudi amb un assaig clínic amb pacients amb malaltia arterial perifèrica, en un grup als que van aplicar la tècnica *WBPA* en una sola sessió en 10 pacients, i en un altre grup en que la van aplicar durant 7 dies. Van mesurar els canvis en el fluxe sanguini mitjançant làser Doppler i els canvis en la concentració plasmàtica d'NO com a variable secundària. Tot i que les variacions d'NO no van ser significantment estadístiques en l'assaig clínic, s'atribueixen els canvis en el fluxe aconseguits a l'estimulació de les eNOS degut al shear stress.

*Wang et al*<sup>44</sup> van estudiar l'alleujament dels símptomes en dones amb dismenorrea primària mitjançant l'escala MDQs, es mesura l'NO com a variable secundària ja que influencia en la severitat dels símptomes de la dismenorrea i afecta a la ruta metabòlica de l'homocisteína.

En els estudis de *Rokutanda*<sup>42</sup>, *Wang*<sup>44</sup> i *Hui*<sup>43</sup> no existeix significància estadística en els canvis de concentració plasmàtica d'NO, si bé tots ells indiquen augment de l'alliberació després de les intervencions. En l'únic estudi en que el valor de la P és significatiu a nivell estadístic és l'estudi de *Mornhem*<sup>41</sup>, en que s'utilitza el massatge suec com a intervenció, sent igualment l'únic en que es registra disminució de la concentració plasmàtica d'NO. En la seva discussió anoten que el temps entre la intenció i l'extracció sanguínea pot haver variat entre participants i ser excessiu per obtenir dades rigoroses.

L'únic estudi que es refereix específicament a l'activitat de les eNOS és el de *Rokutanda*<sup>42</sup>. Demostren que l'augment del del shear stress pulsàtil és capaç

d'augmentar el fluxe sanguini i crear reperfusió i angiogènesi en pacients amb malaltia arterial perifèrica. Un altre dels resultats que aporta es refereix a un dels ratolins amb diabetes induïda, en el que es va produir un increment de fluxe sanguini sense intervenir ni registrar canvis a la tolerància a la glucosa o la sensibilitat a la insulina.

### 4.3 Valoració qualitativa

Tots els estudis van ser analitzats metodològicament aplicant l'escala JADAD<sup>39</sup>. En conjunt, els resultats d'aquesta revisió sistemàtica mostren una qualitat metodològica acceptable segons l'escala aplicada. La qualitat més elevada resulta en els estudis controlats aleatoritzats, dels que un sol estudi aconsegueix la puntuació més elevada. S'ha de tenir en compte que l'estudi valorat amb la menor puntuació utilitza l'assaig clínic no randomitzat, en el que l'estudi sobre subjectes humans era secundari al realitzat en animals, el qual era randomitzat i d'alta qualitat metodològica.

**Taula 7. Aplicació de l'escala Jadad per a l'avaluació qualitativa**

Críteris escala JADAD	A	B	C	D	E	TOTAL	Qualitat
Mornhem <sup>41</sup> (2012)	1	1	0	0	1	3	Acceptable
Rokutantda <sup>42</sup> (2011)	0	0	0	0	1	1	Pobre
Hui <sup>43</sup> (2010)	1	0	1	1	1	4	Alta
Wang <sup>44</sup> (2009)	1	1	1	1	1	5	Alta

*Críteris de l'escala Jadad: A=randomització, B=descripció de la randomització, C=doble cec, D=descripció del cegament, E=descripció d'abandonaments i retirades.*

## 5. DISCUSSIÓ

### 5.1 Comentari

La present revisió sistemàtica va identificar diversos estudis per avaluar l'evidència de l'efectivitat de la terapia manual i física passiva per intervenir en el metabolisme de l'NO en participants amb diverses condicions de salut. Els resultats destaquen que l'evidència disponible és escassa, i la diversitat de les resultats aportats pels autors no dona peu a treure conclusions rellevants. Els resultats no tenen significància estadística en 3 dels 4 estudis inclosos.

Únicament 4 estudis van complir els criteris d'inclusió, la mostra per tant no és significativa. No obstant, és remarcable l'heterogeneïtat de les teràpies manuals i físiques que han escollit l'NO com a marcador en els seus estudis. Únicament l'estudi de *Mornhem*<sup>41</sup> utilitza la terapia manual directe sobre els teixits, si bé intervenint amb terapia de massatge sense especificacions tècniques en la seva aplicació, és l'únic dels estudis que conclou amb una disminució de la concentració d'NO i amb resultats estadísticament significatius, tot i que poc fiables segons els mateixos autors. Conforme a l'escala Jadad la qualitat metodològica d'aquest estudi es pot considerar mitjana o acceptable.

El 50% dels estudis revisats estan basats en la tècnica de l'acupuntura, destaca l'interès d'aquesta modalitat terapèutica per intervenir en el metabolisme de l'NO. Els resultats donen suport a evidenciar l'existència física dels meridians i dels punts descrits per la medicina tradicional xinesa. Els dos estudis revisats resulten en una qualitat metodològica elevada segons l'escala Jadad, i en ambdós els resultats destaquen un augment de la concentració plasmàtica d'NO, si bé sense significància estadística.

L'únic estudi dedicat a la terapia passiva en medicina física resulta en una pobre qualitat segons el mètode de valoració aplicat. Va ser acceptat dins la revisió perquè es va observar que contenia un estudi clínic, que es recolzava en un estudi experimental previ realitzat en animals, utilitzat per establir les bases dels mecanismes fisiològics que utilitza la tècnica *WBPA* en situacions d'isquèmia per intervenir en l'alliberació d'NO. L'estudi clínic realitzat en subjectes humans amb patologia arterial perifèrica no seguia un disseny metodològic suficientment robust per extreure dades estadístiques que poguessin ser comparades amb grup control o placebo. No obstant els resultats aconseguits en l'assaig clínic demostren un

considerable augment del fluxe sanguini, secundari a l'estimulació de les eNOS com s'havia demostrat prèviament en l'estudi experimental sobre animals.

És remarcable que 3 dels 4 estudis revisats utilitzin la concentració plasmàtica d'NO com a variable secundària. S'observa que aquesta variable s'utilitza per enfatitzar o respaldar la variable primària, situant a l'NO com a indicador o senyalitzador d'efectes referents a l'augment de la vasodilatació o com a regulador de la variable principal. No obstant l'únic estudi que utilitza l'NO com a variable primària conclou amb un augment de la seva alliberació i és considerat de qualitat elevada.

La mesura de la reacció dels substrats per valorar les concentracions plasmàtiques d'NO no és probablement un mètode totalment precís per valorar l'estimulació de l'activitat de les NOS, com anoten *Ha et al*<sup>26</sup>. L'NO s'allibera en petites concentracions en condicions fisiològiques, i això comporta mostres reduïdes en l'extracció sanguínia. Cal també tenir en compte que és una molècula inestable i de vida curta, i que està sotmesa als processos d'oxidació, per tant el temps que es triga en fer una extracció i mesurar la concentració de nitrits i nitrats és clau per registrar resultats rigurosos. Diversos estudis registren simultàniament dades corresponents a la freqüència cardíaca, la saturació d'oxigen o l'estudi de les corbes de l'electrocardiograma per complementar els les dades mesurades en l'extracció sanguínia. Futures investigacions poden assentar un mètode de mesura més elaborat i precís, o establir un protocol en que la convergència de les mesures assenyali de manera determinada a l'NO com a marcador perquè pugui ser comparat de manera més estricte.

De cara a observar l'efecte de l'augment de l'NO sobre la salut cardiovascular resultaria interessant realitzar estudis en que es realitzin intervencions i mesures repetitives durant períodes perllongats, per objectivar i comparar canvis en dades com la pressió arterial i la freqüència cardíaca amb la concentració plasmàtica d'NO.

En tots els estudis inclosos en la revisió i consultats per elaborar el marc teòric es pot observar un clar interès de diferents disciplines pel metabolisme de l'NO, i en tots ells es destaca que queden encara diverses rutes i efectes de l'NO per explorar i determinar. El mecanisme que utilitza és extremadament complex i forma part de nombroses activitats biològiques. Té un rol destacat en regulacions de doble direcció com a missatger intercel.ular i participa en el manteniment de funcions fisiològiques bàsiques. És sintetitzat de manera contínua a través del procés enzimàtic de les NOS, i al ser actiu químicament pot difondre a través de les membranes i extendre's per tots els teixits, participant en la regulació de funcions



fisiològiques i patològiques. És una molècula oxidant i reactiva, i pot reaccionar amb derivats de l'oxigen produint compostos tòxics, com el peroxinitrit. Una síntesi excessiva o insuficient està relacionada amb la patogènia de múltiples disfuncions, és per tant un factor clau a l'hora de mantenir l'homeòstasi.

Els estudis en medicina física passiva demostren la capacitat del shear stress per intervenir en la vasodilatació depenent de les eNOS. A partir d'aquesta afirmació, la terapia passiva, i en conseqüència la manual, podrien tenir més credibilitat en l'àmbit clínic. D'altra banda i tenint en compte els resultats del estudis presentats basats en el shear stress, queda oberta la possibilitat d'intervenir de manera no invasiva en pacients amb patologia o disfunció vascular que no poden realitzar exercici actiu per les seves condicions de salut.

No s'han pogut incloure en la revisió sistemàtica assatjos clínics en l'àmbit de l'OMT que valorin les concentracions plasmàtiques d'NO com a variable d'estudi per motius que queden explicats en l'apartat de les limitacions de l'estudi. No obstant, s'han identificat assatjos en medicina osteopàtica que valoren els canvis de l'aport sanguini després de l'aplicació de diferents tècniques<sup>39,45</sup>, els autors suggereixen que els canvis són molt probablement secundaris a l'estimulació de les NOS, i en altres casos de la relació de les NOS amb l'AEA<sup>36</sup>. D'altra banda i en l'apartat del marc teòric queda palès l'interès que ha despretat l'NO en el marc de l'osteopatia. És probable que la majoria de la investigació actual es realitzi en estudis experimentals que no han estat suficientment validats per ser traslladats a assatjos clínics.

La recerca respecte a l'NO en l'àmbit de l'osteopatia resulta especialment atractiva en base a la *Llei de l'artèria suprema*. Futura recerca en aquest àmbit mereix ser duta a terme per contrastar la hipòtesi de *Salamon et al*<sup>3</sup>. Quan el tractament osteopàtic aconsegueix desobstaculitzar el fluxe dels líquids orgànics està intervenint en el shear stress laminar, ja que l'efecte final es tradueix en un augment del propi fluxe.

Abordatges que treballen a través de la regulació del sistema autònom, com el Tractament General Osteopàtic, podrien ser valorats tenint en compte l'alliberació d'acetilcolina com a resposta de l'estimulació les neurones ganglionars del sistema parasimpàtic i l'acció agonista de l'acetilcolina sobe l'alliberació d'NO.

Tècniques que actuen amb impuls de manera repetitiva com el bombeig limfàtic o la tècnica armònica de *Laurie Harttman* poden provocar desplaçaments mecànics en la direcció dels vasos i modificar el shear stress pulsàtil. Hauria de ser

també considerada la capacitat de les tècniques de *recoil* per intervenir de manera regional i específica sobre l'activitat de les eNOS del el teixit manipulats.

L'estudi d'*Adams et al*<sup>24</sup> dona peu a realitzar estudis sobre l'efecte de les tècniques de bombeig visceral i de drenatge limfàtic en l'activitat de les NOS, tenint en compte que el shear stress provocat per la tècnica WBPA va comportar un augment significatiu del fluxe sanguini en diferents vísceres l'assaig realitzat en animals.

Les tècniques fascials basades en el model de biotensegritat actuen directament sobre la mecanotransducció, intervenen a nivell cel.lular i també molecular, i es relacionen d'aquesta manera amb el mecanisme de regulació i comunicació de l'NO. El comportament dels fibroblasts durant la manipulació i la seva relació amb l'NO mereixen especial atenció i actualment estan sent investigades en recerca experimental.

Els efectes de l'NO en el sistema vascular responen al principi de la *Llei de l'artèria suprema* i el seu comportament en condicions fisiològiques segueix el principi de que l'organisme posseeix capacitat d'autoregulació a un nivell molecular. El seu mecanisme d'acció i la seva funció reguladora segueixen la premisa d'*A.T.Still "Find it, fix it and leave it alone"* i donen suport a la capacitat de l'organisme per efectuar la resposta homeostàtica.

*J.M.Littlejohn* va contribuir al desenvolupament de l'osteopatia aportant una visió des de la ciència de la química i va destacar la importància de l'estudi de la fisiologia per la búsqueda de la salut i el benestar, "*La fisiologia és la porta d'entrada a l'immens món de l'Osteopatia*". Un coneixement profund del metabolisme i regulació d'aquesta molècula pot contribuir a aportar nous punts de vista a l'hora de comprendre els mecanismes reguladors inherents de l'organisme, dissenyar estratègies d'intervenció terapèutica, i interpretar els resultats d'un abordatge manual als teixits, a partir d'aplicar, i alhora revisar, els principis osteopàtics.

*A.T. Still* afirmava que el tractament osteopàtic és capaç d'estimular l'activació de substàncies naturalment presents a l'organisme per fomentar l'homeòstasi i la curació. En les seves paraules "*Man should study and use the drugs compounded in his own body*"<sup>18</sup>.

## Limitacions de l'estudi

En primer lloc la metodologia establerta per realitzar una revisió sistemàtica implica la participació d'almenys 2 investigadors. En la present revisió, la planificació, distribució i execució de les tasques ha estat realitzada per un únic investigador, tal i com estableix la descripció de l'assignatura de Metodologia inclosa en el *Màster d'Osteopatia IDEC-UPF* impartit a l'*Escola d'Osteopatia de Barcelona*. Això comporta una falta de rigurositat en els filtres aplicats i implica una falta de consens per establir les característiques del disseny de l'estudi, principalment respecte als criteris d'inclusió i d'exclusió i per l'elecció final dels estudis que han estat revisats per a una valoració detallada.

Els estudis no publicats en anglès o castellà van ser exclosos de la revisió. És probable que estudis ben dissenyats i amb una alta qualitat metodològica hagin estat publicats en altres llengües, el fet de que no hagin estat inclosos en la revisió podria modificar els resultats obtinguts. De la mateixa manera es podrien haver consultat altres bases de dades i ampliar la búsqueda en diferents revistes científiques que dediquen el seu contingut a les teràpies manuals i alternatives, i alhora realitzar búsquedas manuals de la literatura gris, com ara tesis doctorals o biblioteques pròpies d'altres universitats.

La recerca va ser limitada a assatjos clínics publicats durant els darrers 5 anys, amb l'objectiu d'enmarcar la revisió sistemàtica en els criteris establerts per la medicina basada en l'evidència. Una revisió de la literatura publicada en els últims 10 anys dona com a resultat diferents estudis realitzats en l'àmbit de la medicina física i de l'acupuntura, que utilitzen la concentració d'NO com a variable principal, i que han estat prèviament exposats en el marc teòric amb l'objectiu de que servissin de base per esclarir que la investigació sobre l'NO i la teràpia física passiva és present des de fa almenys una dècada i continua vigent en l'actualitat. Altres estudis han estat també exclosos per la falta de recursos per accedir a les fonts que contenien els articles.

Una de les principals dificultats a l'hora d'enfocar la revisió en la disciplina de l'osteopatia ha estat que estudis prèviament identificats en l'elaboració del protocol d'investigació, que eren potencialment rellevants per ser inclosos en la revisió, han hagut de ser exclosos per ser estudis experimentals *in vitro*, que no tenen un disseny adequat per ser inclosos en una revisió sistemàtica. Altres estudis identificats en l'àmbit de la medicina osteopàtica tampoc han pogut ser inclosos ja que van ser publicats en format d'*abstract* formant part de resums d' estudis presentats en conferències d'associacions dedicades a l'osteopatia.

## CONCLUSIONS

L'evidència actualment disponible en l'efectivitat de la terapia manual i física passiva per intervenir en el metabolisme de l'NO és escassa, heterogènea i insuficient per descriure conclusions definitives. No obstant l'interès de diferents disciplines per comprendre el seu mecanisme i utilitzar-lo com a marcador en els seus estudis és notable.

No existeix evidència registrada en l'àmbit del tractament osteopàtic tot i estar demostrada la relació de la manipulació física i l'alliberació d'NO. És doncs necessari realitzar recerca de qualitat en l'àrea de la terapia manual i osteopàtica en base als resultats obtinguts en estudis en recerca experimental. No obstant i degut als resultats reportats dels estudis que inclouen la terapia passiva en medicina, la terapia passiva i alhora la manual poden tenir més credibilitat en l'àmbit clínic a través del metabolisme de l'NO.

## BIBLIOGRAFIA

1. Leiva L, del Pozo H, Pérez D. *Oxido Nítrico y su relación con la Hipertensión Arterial*. [Revista a Internet] Rev Cubana med 2000 [citad el 02.11.2012]; 39 (3):174-179. Disponible a: <http://scielo.sld.cu>
2. Salamon E, Zhu W, Stefano GB. *Nitric oxide as a possible mechanism for understanding the therapeutic effects of osteopathic manipulative medicine (Review)*. Int J Mol Med 2004 [citad el 08/11/12]; 14:443-449. Disponible a: <http://www.spandidos-publications.com>
3. López-Espada C. *Óxido Nítrico: puesta al día*. [Revista a Internet] Angiología 2005 [citad el 26/09/12]; 57 (3): 253-258. Disponible a : <http://www.elsevier.es>
4. Salas E, Badimón L. *Líneas de investigación en el uso terapéutico del óxido nítrico*. [Revista a Internet] Rev Esp Cardiol Supl 2006 [citad el 26/10/12]; 6:51A-8A. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
5. Ferrer D, Fonseca C. *Óxido Nítrico. Importancia biológica y participación en algunas funciones cardiovasculares y hematológicas*. [Revista a Internet] Medisan 1998 [citad el 04/10/12]; 2(3):45-53. Disponible a : <http://scielo.sld.cu>
6. J.L. Arrondo, J.A. Cuesta, V. Grasa, I. Pascual, S. Napal, A. Ipiens, J. Aldave, A. Solchaga y M. Ponz. *El Sildenafil, un fármaco seguro*. [Revista a Internet] Rev Int Androl 2004; [citad el 26/10/12]; 2(1):22-7. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
7. Guix FX, Uribealago I, Coma M, Muñoz FJ. *The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain*. J Pneurobio 2005 [citad el 13/11/2012]; 76:126–152. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
8. Fox S.I. *Fisiología humana*. 10ª Edición. Madrid: The McGraw Hill Companies, 2008.
9. Benavides T, Alejandro Pinzón T. *Oxido nítrico: implicaciones fisiopatológicas*. [Revista a Internet] Rev Col Anest 2008 [citad el 25/07/12]; 36: 45-52. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
10. Barbosa M. *Óxido nítrico: un campo abierto para la angiología y la cirugía vascular*. [Revista a Internet] Angiología 2002 [citad el 30/10/12]; 54 (6): 472-491. Disponible a : <http://www.elsevier.es>

11. Tripathi K. D. *Agentes cardiovasculares: Farmacos antianginosos. A: Farmacología en Odontología: Fundamentos*. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2008. P.191-192.
12. Lowenstein Ch, Dinerman JL, Syner SH. *Nitric Oxide: a physiologic messenger*. [Revista a Internet] *Ann Intern Med* 1994 [citad el 30/10/13]; 120:227. Disponible a: <http://scielo.sld.us>
13. De Diego A. *Óxido nítrico en el asma ¿para qué sirve?* [Revista a Internet] *Arch Bronconeumol* 2010 [citad el 6/12/12]; 46(4):157–159. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
14. Shah V, Lyford G, Gores G, Farrugia G. *Nitric oxide in gastrointestinal health and disease*. [Revista a Internet] *Gastroenterology* 2004 [citad el 6/12/12]. 126(3):903-913. Disponible a: <http://www.bago.com>
15. Tamanini C, Basini G, Graselli F, Tirelli M. *Nitric oxide and the ovary*. [Revista a Internet] *J Anim Sci* 2003 [citad el 6/12/12]. 81(14): E1-E7. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
16. J. S. Stamler, G. Meissner. *Physiology of nitric oxide in the skeletal muscle*. [Revista a Internet] *PhysRev* 2001 [citad el 6/10/13]. 81(1):210-231. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
17. G.B.Stefano, P.Cadet, K.Mantione, D.Chio, D.Jones, W.Zhu. *Estrogen signaling at the cell surface coupled to nitric oxide release in Mytilus edulis nervous system*. [Revista a Internet] *Endocrinology* 2003[citad el 15/06/13]. 144:4, 1234-1240. Disponible a: <http://press.endocrine.org>
18. T.V.Bilfinger, Stefano GB. *Human aortocoronary grafts and nitric oxide release: relationship through pulsatile pressure*. [Revista a Internet] *AnnThorac Surg* 2000 [citad el 30/06/13]. 69:480-485. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
19. V.Rizzo, D.P. McIntosh, J.E. Schnitzer. *In situ flow activates endothelial nitric oxide synthase in luminal caveolae of endothelium with rapid caveolin dissociations and calmodulin association*. [Revista a Internet] *J Biol Chem* 1998[citad el 30/06/13]. 273:34724-34729. Disponible a:<http://www.jbc.org/>
20. O. Feron, J.B. Michel, K. Sase, V. Michel. *Dinamic regulation of endothelial nitric oxide synthase: complementary roles of dual acylation and caveolin interactions*.

[Revista a Internet] Biochem 2008 [citat el 30/06/13]. 37:193-200. Disponible a: <http://pubs.acs.org/>

21. A.Maiorana, G.O'Driscoll, R Taylor, D.Freen. *Exercise and the nitric oxide vasodilator system*. [Revista a Internet] Sports Med 2003[citat el 18/09/13]. 33:1013-35. Disponible a: <http://www.ingentaconnect.com>

22. Marvin A. Sackner, MD, FCCP; Emerance Gummels, MS; Jose A. Adams. *Nitric Oxide Is Released Into Circulation With Whole-Body Periodic Acceleration.* [Revista a Internet] Chest 2005 [citat el 09/10/13]; 127(1):30-39. Disponible a: <http://journal.publications.chestnet.org>

23. Marvin A. Sackner, Emerance M. Gummels, Jose A. Adams. *Say NO to fibromyalgia and chronic fatigue syndrome: an alternative and complementary therapy to aerobic exercise*. [Revista a Internet] Medical Hypotheses 2004 [citat el 09/10/13]. 63, 118–123. Disponible a: <http://www.elsevier.es>

24. Adams JA, Mangino MJ, Bassuk J, Kurlansky P, Sackner MA. *Regional blood flow during periodic acceleration*. [Revista a Internet] Crit Care Med 2001[citat el 22/07/13]; 29:1983–8. Disponible a: <http://journals.lww.com/>

25. Aliaev luG, Chalyř ME, Grigorian VA, Amosov AV, Demidko luL. *ABTU-01 andromed device in the treatment of erectile dysfunction*. Urologiia. 2009 [citat el 30/06/13] Sep-Oct(5):33-5.

26. Y. Ha, M. Kim, J. Nah, M. Suh, Y. Lee. *Measurements of Location-Dependent Nitric Oxide Levels on Skin Surface in relation to Acupuncture Point*. [Revista a Internet] eCAM 2012 [citat el 30/11/13]. Disponible a: <http://www.hindawi.com/>

27. Y. Lee, G. Lee, S. S. Park,A. Jang, G.-J. Jhon. *Heterogeneity of skin oxygen density distribution: relation to location of acupuncture points* [Revista a Internet] eCAM 2009 [citat el 30/11/13].; 2(4): 269–272,. Disponible a: <http://www.hindawi.com/>

28. M. Hong, S. S. Park, Y. Ha. *Heterogeneity of skin surface oxygen level of wrist in relation to acupuncture point*. [Revista a Internet] eCAM 2012 [citat el 30/11/13]; 2012. Disponible a: <http://www.hindawi.com/>

29. M. Sandberg, T. Lundeberg, L. G. Lindberg, and B. Gerdle. *Effects of acupuncture on skin and muscle blood flow in healthy subjects*. [Revista a Internet] Eur J Appl Physiol 2003 [citat el 30/11/13]; 90(1-2):114-119. Disponible a: <http://link.springer.com>

30. S. X. Ma. *Enhanced nitric oxide concentrations and expression of nitric oxide synthase in acupuncture points/meridians*. [Revista a Internet] JACM 2003 [citat el 30/11/13]; 9(2): 207–215. Disponible a: <http://www.liebertpub.com>
31. D. Ralt. *Intercellular communication, NO and the biology of Chinese medicine*. [Revista a Internet] J Cell Commun Signal 2005 [citat el 30/11/13]; 3(8). Disponible a: <http://www.biosignaling.com>
32. S.-X. Ma, X.-Y. Li, T. Sakurai, and M. Pandjaitan. *Evidence of enhanced non-enzymatic generation of nitric oxide on the skin surface of acupuncture points: an innovative approach in humans*. [Revista a Internet] Nitric Oxide 2007 [citat el 30/11/13]; 17(2): 60–68. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
33. T.Cao, M.R Hicks, P.R.Standley. *In vitro biomechanical strain regulation of fibroblast wound healing*. [Revista a Internet] J Am Osteopath Assoc [citat el 07/09/13]. 2013; 113(11): 806-818. Disponible a: <http://www.jaoa.org>
34. JG. Dodd, MM.Good, TL. Nguyen; AI. Grigg, LM. Batia, PR. Standley. *In Vitro Biophysical Strain Model for Understanding Mechanisms of Osteopathic Manipulative Treatment*. [Revista a Internet] JAOA 2006 Març [citat el 07/09/13]; 106(3 ). Disponible a: <http://www.jaoa.org>
35. McPartland JM. *Expression of the endocannabinoid system in fibroblasts and myofascial tissues*. [Revista a Internet] J Bodyw Mov Ther 2008 Abril [citat el 07/09/13]. ; 12(2):169-82. Disponible a: <http://www.elsevier.es>
36. McPartland JM, Giuffrida A, King J, Skinner E, Scotter J, Musty RE. *Cannabimimetic effects of osteopathic manipulative treatment*. [Revista a Internet] J Am Osteopath Assoc.2005 [citat el 15/09/13].105:283–291. Disponible a: <http://www.jaoa.org>
37. McPartland JM . *The Endocannabinoid System: An Osteopathic Perspective*. [Revista a Internet] J Am Osteopath Assoc. 2008 [citat el 15/09/13].; 108:586-600. <http://www.jaoa.org>
38. Kuchera ML. *Applying Osteopathic Principles to Formulate Treatment for Patients With Chronic Pain*. [Revista a Internet] J Am Osteopath Assoc. 2007 [citat el 18/10/12]; 107(11):ES28-ES38. Disponible a: <http://www.jaoa.org>
39. Overburger R, Hoyt JA, Daghigh F, Bell M, Schoenfeldt B, Bailey J, Kuchera ML. *Comparing Changes in Serum Nitric Oxide Levels and Heart Rate After Osteopathic Manipulative Treatment (OMT) Using the Dalrymple Pedal Pump to Changes Measured After Active Exercise*. [Revista a Internet] J Am Osteopath Assoc SOMA



Research Conference Abstracts 2008 [citat el 26/11/12]; Disponible a: <http://www.jaoa.org>

40. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, et al. *Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary?* [Revista a Internet] Control Clin Trials 1996 [citat el 26/11/12]; 17(1):1-12. Disponible a: <http://www.elsevier.es>

41. Vera Morhenn, MD; Laura E. Beavin, MA; Paul J. Zak, PhD. *Massage Increases Oxytocin and Reduces Adrenocorticotropin Hormone in Humans.* [Revista a Internet] Altern Ther Health Med 2012 [citat el 26/10/13]; 18(6):11-18. Disponible a: <https://www.academia.edu>

42. Rokutanda T, Izumiya Y, Miura M, Fukuda S, Shimada K, Izumi Y, Nakamura Y, Araki S, Hanatani S, Matsubara J, Nakamura T, Kataoka K, Yasuda O, Kaikita K, Sugiyama S, Kim-Mitsuyama S, Yoshikawa J, Fujita M, Yoshiyama M, Ogawa H. *Passive exercise using whole-body periodic acceleration enhances blood supply to ischemic hind limb.* [Revista a Internet] Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011[citat el 26/10/13]; Dec;31(12):2872-80. Disponible a: <http://atvb.ahajournals.org>

43. Hui B, Rong PJ, Li L, Gao XY, He W. *Effects of different acupuncture stimulations on NO content in acupoint areas.* [Revista a Internet] J Tradit Chin Med. 2010 [citat el 26/10/13]; Mar; 30(1):25-9. Disponible a: <http://www.journaltcm.com>

44. Wang MC, Hsu MC, Chien LW, Kao CH, Liu CF. *Effects of auricular acupressure on menstrual symptoms and nitric oxide for women with primary dysmenorrhea.* J Altern Complement Med. 2009 [citat el 26/10/13]; Mar; 15(3):235-42. Disponible a: <http://online.liebertpub.com>

45. W. M. Jardine, C.I Gillis, D. Rutherford. *The effect of osteopathic manual therapy on the vascular supply to the lower extremity in individuals with knee osteoarthritis: A randomized trial.* IJOM (2012[citat el 26/11/13];) 15, 125-133. Disponible a: <http://www.journalofosteopathicmedicine.com>

## **ANNEX**

### **MeSH:**

#### **Nitric Oxide**

A free radical gas produced endogenously by a variety of mammalian cells, synthesized from ARGININE by NITRIC OXIDE SYNTHASE. Nitric oxide is one of the ENDOTHELIUM-DEPENDENT RELAXING FACTORS released by the vascular endothelium and mediates VASODILATION. It also inhibits platelet aggregation, induces disaggregation of aggregated platelets, and inhibits platelet adhesion to the vascular endothelium. Nitric oxide activates cytosolic GUANYLATE CYCLASE and thus elevates intracellular levels of CYCLIC GMP.

Year introduced: 1965

#### **Osteopathic Medicine**

A medical discipline that is based on the philosophy that all body systems are interrelated and dependent upon one another for good health. This philosophy, developed in 1874 by Dr. Andrew Taylor Still, recognizes the concept of "wellness" and the importance of treating illness within the context of the whole body. Special attention is placed on the MUSCULOSKELETAL SYSTEM.

Year introduced: 1987

#### **Manipulation, Osteopathic**

Musculoskeletal manipulation based on the principles of OSTEOPATHIC MEDICINE developed in 1874 by Dr. Andrew Taylor Still.

Year introduced: 2002

#### **Manual Therapy**

Various manipulations of body tissues, muscles and bones by hands or equipment to improve health and circulation, relieve fatigue, promote healing.

Year introduced: 2002

#### **Physical Therapy Modalities**

Therapeutic modalities frequently used in PHYSICAL THERAPY SPECIALTY by PHYSICAL THERAPISTS or physiotherapists to promote, maintain, or restore the physical and physiological well-being of an individual.

Year introduced: 2006 (2002)