



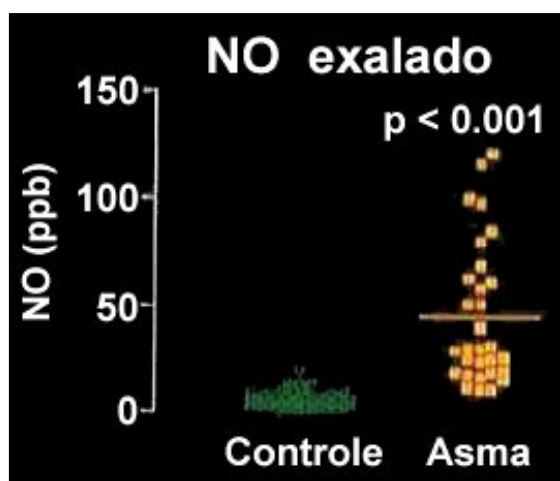
# Asma Brônquica

## Resposta Tardia da Asma

### Óxido Nítrico

O óxido nítrico (NO) presente no *smog* e na fumaça do cigarro, é considerado um poluente atmosférico há longa data, um destruidor da camada de ozônio, e um precursor da chuva ácida. Desde a descoberta em 1987 da semelhança entre o NO e o EDRF (*endothelium derived relaxing factor*), sua importância na regulação de funções orgânicas, incluindo as do trato respiratório, tem sido salientada.

O óxido nítrico é a menor molécula com atividade biológica conhecida até o momento. Sua meia-vida é de 1 – 5 segundos. É uma importante molécula mensageira, desempenhando um importante papel em muitos processos fisiológicos e patológicos. Ele regula uma variedade de funções dentro das células e tecidos, como vasodilatação, neurotransmissão e processos imunológicos. O óxido nítrico participa na patogênese da asma brônquica porém seu preciso papel ainda não foi definido. O NO atua como um neurotransmissor com ação relaxante sobre o músculo liso das vias aéreas, via nervos não-adrenérgicos não-colinérgicos. Quando produzido em altas concentrações pela dioxigenase, chamada sintase indutível do óxido nítrico (iNOS), presente em várias células inflamatórias, determina hiperemia, edema e exsudação, contribuindo para o estreitamento da luz das vias aéreas em pacientes com asma. O NO é produzido por uma grande variedade de células como as células epiteliais, as células nervosas, as células inflamatórias (neutrófilos, macrófagos, mastócitos) e as células endoteliais.

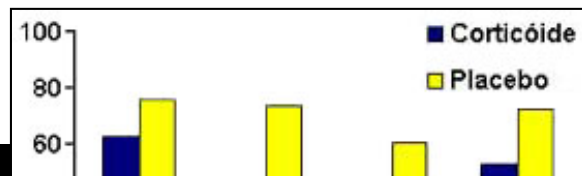


O óxido nítrico encontra-se presente normalmente no ar expirado do homem e de vários animais, estando significativamente aumentado no ar expirado e no escarro induzido de asmáticos (**Figura 1**) (1,2). O NO foi primeiro identificado como *Endothelial-Derived Relaxant Factor* (EDRF). Em 1993, Hamid *et al.* (3) efetuaram um estudo utilizando biópsias brônquicas e detectaram a enzima sintase do óxido nítrico (NOS) no epitélio de 22 de 23 asmáticos, e em apenas 2 de 20 do grupo controle.

O óxido nítrico exalado ( $FE_{NO}$ ) encontra-se aumentado na asma atópica, aumenta durante as exacerbações, diminui com a terapia antiinflamatória (4) e aumenta quando as doses de corticóides inalados são reduzidas (**Figura 2**) (5). Os níveis

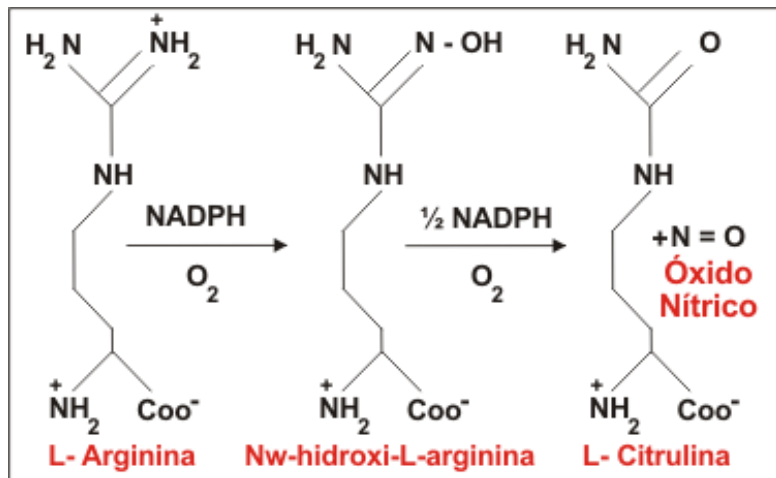
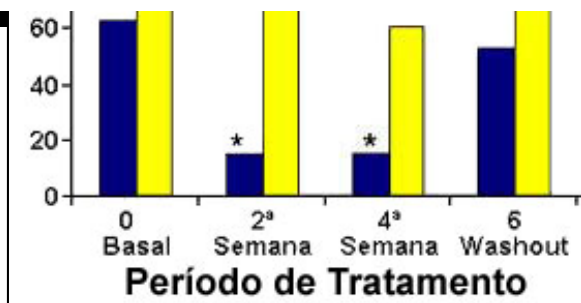
de  $FE_{NO}$  correlacionam-se com o número de eosinófilos no escarro induzido (1,2,6), com os níveis de ECP, com a EPX urinária, com a hiper-responsividade brônquica ao AMP (7) e com o exercício.

Como instrumento de diagnóstico os níveis de  $FE_{NO}$  discriminam asmáticos de não-asmáticos, com alta sensibilidade e especificidade (8). A  $FE_{NO}$  tem sido preconizada como uma nova prova de função pulmonar e



recomendado como forma de monitorar o grau de inflamação das vias aéreas na asma, existindo evidências de que seja o primeiro marcador a aumentar durante o agravamento da doença.

O NO é um gás livremente difusível, formado a partir do aminoácido semi-essencial L-arginina (desaminação), quando de sua transformação em L-citrulina, reação mediada pela enzima sintase do óxido nítrico (NOS). A NOS catalisa uma oxidação de cinco elétrons de um nitrogênio amidina da L-arginina. N-hidroxi-L-arginina é um intermediário que permanece firmemente ligado à enzima. Os produtos finais desta reação enzimática, são em quantidades equimolares, o NO e a L-citrulina, formados através de monoxidação com  $M_w$ -hidroxiarginina que é um intermediário que permanece ligado firmemente à enzima (**Figura 3**). Este processo requer oxigênio como um co-substrato e NADPH como fonte de elétrons. A

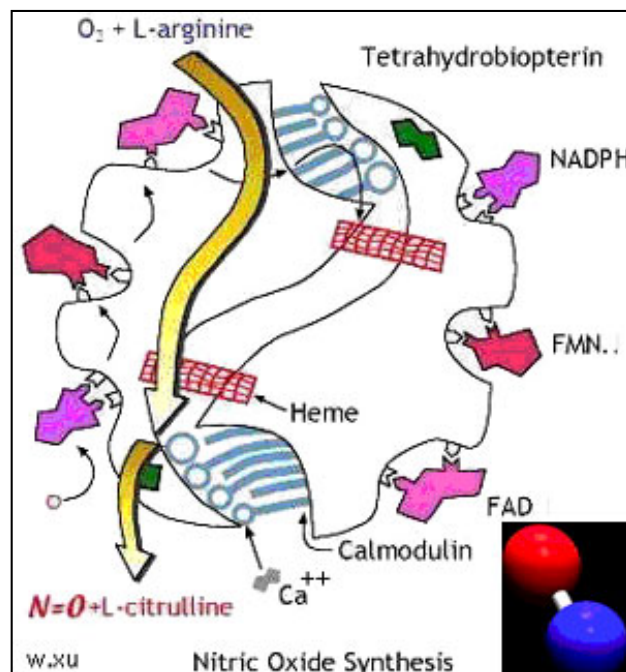


NOS consiste em uma enzima muito complexa, empregando cinco co-fatores redox: NADPH, FAD (flavina adenina dinucleotídeo), FMN (flavina mononucleotídeo), heme e tetraidrobiopterina (BH<sub>4</sub>) (9-11) (**Figura 4**). O NO tem uma meia-vida muito curta nos tecidos (1-5 segundos), pois reage com o oxigênio e superóxido. O NO é um gás altamente lábil, não estocável, difunde-se com facilidade do local de formação até o sítio de ação pois é solúvel tanto na água como em lipídios, difundindo-se livremente nos tecidos. Apresenta uma ação típica de segundo mensageiro para

células-alvo, onde ativa o sistema guanilciclase, com o aumento da produção de guanidina monofosfato cíclico (GMPc), através do qual determina vários efeitos biológicos (neurotransmissão, vasodilatação, broncodilatação, ...) (13).

Pelo menos três tipos de isômeros da NOS estão identificados (14). Dentre as isoformas chamadas constitutivas (cNOS) temos a encontrada nas células endoteliais (tipo I ou eNOS) e a neuronal (tipo III ou nNOS). O terceiro tipo de isômero, chamado indutível (expressão inibida pelo corticóide) ou tipo II (iNOS) tem sua produção induzida e aumentada na inflamação, por citocinas e outros mediadores de várias células, incluindo macrófagos, linfócitos, fibroblastos, células epiteliais e musculares lisas das vias aéreas. nNOS, iNOS e eNOS são produtos de genes distintos, localizados em diferentes cromossomos humanos (cromossomos 12, 17 e 7 respectivamente), cada um com certas características e expressão tecidual específica. Dentre as citocinas, aumentam a expressão da NOS *in vitro*, o TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e a IL-1 $\beta$ .

As cNOS e iNOS podem ser obtidas através de cultura de células epiteliais respiratórias (15-17) embora a expressão iNOS predomine *in vivo*. Biópsias transbrônquicas obtidas em asmáticos, utilizando coloração imunoistoquímica demonstram aumento da atividade iNOS, quando comparadas com não-asmáticos (3).



Quanto ao seu metabolismo o NO após a sua formação se decompõe em outros óxidos de nitrogênio,

chamados nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), produto da reação do NO com oxigênio molecular ( $\text{O}_2$ ) em fase aquosa, nitrito ( $\text{NO}_3^-$ ) e trióxido de dinitrogênio ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ). Também reage com superóxido para peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ). O peroxinitrito está em equilíbrio com o ácido peroxinitroso ( $\text{ONOOH}$ ), formados a partir da reação com o radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ). Estes óxidos de nitrogênio também reagem com uma variedade de outras moléculas para formar numerosos produtos biologicamente ativos.

Restam dúvidas, entretanto, se o aumento da produção de NO na asma é primariamente benéfico (agente protetor) por sua ação broncodilatadora (18) ou se ele a exacerba (ação pró-inflamatória tóxica), perpetua e amplifica a inflamação através do aumento do extravasamento de plasma das vênulas pós-capilares.

O NO atua como broncodilatador ao agir como um neurotransmissor da parcela broncodilatadora do sistema NANC, em oposição aos estímulos colinérgicos broncoconstritores. A fim de investigar o papel do NO na inflamação, testes de provocação antigênica têm sido utilizados. A provocação antigênica freqüentemente determina em asmáticos respostas precoce, tardia ou ambas, que são demonstradas por queda no  $\text{VEF}_1$  e elevação tardia na  $\text{FE}_{\text{NO}}$  (19). Pacientes que apresentam resposta precoce ou precoce e tardia quando inalam previamente ao teste de broncoprovocação um potente inibidor de todas as NOS o  $\text{N}^G$  - nitro-L-arginina methyl ester (L-NAME), não apresentam mudanças nos valores basais do  $\text{VEF}_1$ , deixando, entretanto, de eliminar NO (20). Além disso, asmáticos com asma leve que não recebem corticóides, quando se submetem a nebulização com L-NAME e aminoguanidina (um inibidor seletivo da NOS), demonstram redução na  $\text{FE}_{\text{NO}}$ , embora nenhuma mudança nos sintomas ou no  $\text{VEF}_1$  seja detectada (21). Estes estudos nos levam a concluir que o NO endógeno não atua de forma expressiva na broncodilatação do paciente asmático.

Por outro lado, o NO apresenta efeitos supressivos nos linfócitos TH1 (22), proporcionando possível proliferação de linfócitos TH2, e aumento da produção de IL-4 e IL-5 e conseqüente inflamação eosinofílica. O NO é capaz de interagir com o ânion superóxido produzindo radicais altamente tóxicos de peroxinitritos ( $\text{ONOO}^-$ ) que podem contribuir para dano tecidual na asma. O NO bloqueia a apoptose dos eosinófilos mediada via receptor *Fas*, sugerindo ação pró-inflamatória.



O NO é um potente vasodilatador na circulação brônquica e pode determinar o extravasamento de plasma pelo aumento do fluxo sanguíneo nas vênulas pós-capilares afetadas, determinando aumento da resistência das vias aéreas pela exsudação.

O NO também é produzido como mediador local por macrófagos e neutrófilos ativados, a fim de auxiliar na destruição de microorganismos invasores. Recentemente demonstrou-se uma

ação antiviral do NO em células de murídeos e *in vivo* em ratos. Sanders *et al.* (23) demonstraram pela primeira vez que o NO pode inibir a replicação do rinovírus e a produção de citocinas por ele induzidas (24). Na **Figura 5** são apresentados os efeitos do NO nos pulmões.

## Informações Médicas Home

Design by Walter  
Serralheiro

[Início << Resposta Tardia da Asma](#)  
[Anterior << Células Endoteliais](#)

[Próximo >> Arginina, Arginase e Asma](#)

### Bibliografia

01.Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne E, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343:133.

02.Massaró AF, Gaston B, Kita D, Fanta C, Stamler JS, Drazen JM. Exhaled nitric oxide levels during treatment of acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:800.

03.Hamid Q, Springall DR, Riveros-Moreno V, Chanez P, Howarth P, Redington A, Bousquet J, Godard P, Holgate ST, Polak JM. Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet* 1993; 342:1510.

04.Baraldi E, Azzolin N, Zanconato S et al. Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma. *J Pediatr* 1997; 131:381.

05. Kharitonov SA, Yates D, Chung K et al. Changes in the dose of inhaled steroids affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1996; 9:196.

06.Piacentini G, Bodini A, Costella S et al. Exhaled nitric oxide and sputum eosinophil markers of inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J* 1999; 13:1386.

07.Van der Torn L, Prins Jan-Bas, Overbeek SE, et al. Adolescents in clinical remission of atopic asthma have elevated exhaled nitric oxide levels and bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:953.

08.Chatkin J, Ansarin K, Silkoff P, et al. Exhaled nitric oxide as a noninvasive assessment of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:1810.

09.Bredt DS, Hwang PM, Glatt CE, et al. Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature* 1991; 351:714.

10.Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; 6:3051.

11.Bredt DS, Snyder SH. Nitric Oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem* 1994; 175-195.

12.DeMaster EG, Raj L, Archer SL et al. Hydroxylamine is a vasorelaxant and a possible intermediate in the oxidative conversion of L-arginine to nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 163:527.

13.Chatkin JM, Djupesland P, Qian W, Haight J, Zamel J. Óxido nítrico exalado no diagnóstico e acompanhamento das doenças respiratórias. *J Pneumol* 2000 ; 26:36.

14.Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthase: roles, tolls and controls. *Cell* 1994; 78:915.

15.Asano K, Chee CBE, Gaston B, Lilly CM, Gerard C, Drazen JM, Stamler JS. Constitutive and inducible nitric oxide synthase gene expression, regulation, and activity in human lung epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:10089.

16.Guo FH, De Raeve HR, Rice TW, Stuehr DJ, Thunnissen FBJM, Erzurum SC. Continuous nitric oxide synthesis by inducible nitric oxide synthase in normal airway epithelium in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:7809.

17.Shaul PW, North AJ, Wu LC, Wells LB, Brannon TS, Lau KS, Michel T, Margraf LR, Star RA. Endothelial nitric oxide synthase is expressed in cultured human bronchiolar epithelium. *J Clin Invest* 1994; 94:2231.

18.Hogman M, Frostell CG, Hedenstrom H, Hedenstierna G. Inhalation of nitric oxide modulates adult human bronchial tone. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1474.

- 19.Kharitonov SA, O'Connor BJ, Evans DJ, et al. Allergen-induced late asthmatic reactions are associated with elevation of exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1 894.
- 20.Taylor DA, McGrath JL, O'Connor BJ et al. Allergen-induced early and late asthmatic responses are not affected by inhibition of endogenous nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:99.
- 21.Yates DH, Kharitonov SA, Thomas PS et al. Endogenous nitric oxide is decreased in asthmatics patients by inibition of inducible nitric oxide synthase. *Am J Crit Care Med* 1996; 154:247.
- 22.Taylor-Robinson AW, Liew FY, Severin A. Regulation of the immune reponse by nitric oxide differentially produced by T helper type 1 and T helper type 2 cells. *Eur J Immunol* 1994; 24:980.
- 23.Sanders SP, Proud D. Viral Modulation of airway inflammation. In Platts-Mills T ed, *Asthma: Causes and Mechanisms of an Epidemic Inflammatory Disease*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1999 .
- 24.Sanders SP, Siekierski ES, Porter JD, Richards SM, Proud D. Nitric oxide inhibits rhinovirus-induced cytokine production and viral replication in a human respiratory epithelial cell line. *J Virol* 1998; 72:934.
- 25.van Rensen ELJ, Straathof KCM, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax* 1999; 54: 403.

**Informações Médicas**  
**Home**

Design by Walter  
Serralheiro

**[Início << Resposta Tardia da Asma](#)**  
**[Anterior << Células Endoteliais](#)**

**[Próximo >> Arginina, Arginase e Asma](#)**