

Artigo de Revisão

Papel do óxido nítrico na regulação da circulação pulmonar: implicações fisiológicas, fisiopatológicas e terapêuticas*

Role of nitric oxide in the control of the pulmonary circulation: physiological, pathophysiological, and therapeutic implications

Carlos Alan Dias-Junior¹, Stefany Bruno de Assis Cau², José Eduardo Tanus-Santos³

Resumo

O *nitric oxide* (NO, óxido nítrico) é um mediador endógeno vasoativo que contribui para a homeostase vascular pulmonar. O NO é produzido por três isoformas das *nitric oxide synthases* (NOS, óxido nítrico sintases)–NOS neuronal (nNOS); NOS induzida (iNOS); e NOS endotelial (eNOS)–estando as três presentes no pulmão. Estudos que utilizaram inibidores farmacológicos ou camundongos *knockout* têm demonstrado que o NO derivado da eNOS desempenha importantes papéis ao modular o tônus vascular pulmonar e atenuar a hipertensão pulmonar. Por outro lado, estudos focados no papel da iNOS têm mostrado que essa isoforma contribui para a fisiopatologia da lesão pulmonar aguda e da síndrome do desconforto respiratório agudo. Esta revisão objetivou delinear o papel desempenhado pelo NO no controle da circulação pulmonar, tanto em condições fisiológicas como fisiopatológicas. Além disso, revisamos as evidências de que a via L-arginina-NO-guanosina monofosfato cíclico seja um importante alvo farmacológico para a terapia de doenças vasculares pulmonares.

Descritores: Óxido nítrico; Arginina; Óxido nítrico sintase; GMP cíclico; Circulação pulmonar.

Abstract

Nitric oxide (NO) is an endogenous vasoactive compound that contributes to pulmonary vascular homeostasis and is produced by three nitric oxide synthase (NOS) isoforms–neuronal NOS (nNOS); inducible NOS (iNOS); and endothelial NOS (eNOS)–all three of which are present in the lung. Studies using pharmacological inhibitors or knockout mice have shown that eNOS-derived NO plays an important role in modulating pulmonary vascular tone and attenuating pulmonary hypertension. However, studies focusing on the role of iNOS have shown that this isoform contributes to the pathophysiology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. This review aimed at outlining the role played by NO in the control of pulmonary circulation, both under physiological and pathophysiological conditions. In addition, we review the evidence that the L-arginine-NO-cyclic guanosine monophosphate pathway is a major pharmacological target in the treatment of pulmonary vascular diseases.

Keywords: Nitric oxide; Arginine; Nitric oxide synthase; Cyclic GMP; Pulmonary circulation.

Introdução

A identificação química do fator de relaxamento derivado do endotélio, o *nitric oxide* (NO, óxido nítrico), possibilitou um melhor entendimento de importantes processos fisiológicos, especialmente do aparelho cardiovascular, tais como a regulação do tônus vascular e da função plaquetária. No organismo, o NO é sintetizado a partir do aminoácido L-arginina, por uma família de enzimas, as *nitric oxide*

synthases (NOS, óxido nítrico sintases). Os principais efeitos do NO se dão por meio da ativação da guanilato ciclase, o que leva a um aumento da formação do *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP, guanosina monofosfato cíclico) intracelular.⁽¹⁾

A circulação pulmonar normal é um sistema de baixa pressão e resistência, capaz de acomodar todo o débito

* Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo– FMRP-USP – Ribeirão Preto (SP) Brasil.

1 Pós-doutorando em Farmacologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FMRP-USP – Ribeirão Preto (SP) Brasil.

2. Doutorando em Farmacologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FMRP-USP – Ribeirão Preto (SP) Brasil.

3. Professor Livre Docente do Departamento de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FMRP-USP – Ribeirão Preto (SP) Brasil.

Endereço para correspondência: José Eduardo Tanus-Santos, Departamento de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes, 3900, Bairro Monte Alegre, CEP 14049-900, Ribeirão Preto, SP, Brasil

Tel 16 3602-3163. Fax 16 3633-2301. E-mail: tanus@fmrp.usp.br

Recebido para publicação em 3/12/2007. Aprovado, após revisão, em 23/1/2008.

cardíaco por estar completamente dilatada.⁽²⁾ Essa particularidade fisiológica observada no leito vascular pulmonar é consistente com a observação de que quase nenhuma alteração é observada nas pressões pulmonares em condições de alto fluxo sanguíneo pulmonar. Ainda, não ocorrem alterações significativas da pressão arterial pulmonar, mesmo após a administração de drogas vasodilatadoras em doses suficientes para causar significativa redução das pressões sistêmicas.⁽³⁾

Detalhes sobre os mecanismos envolvidos na regulação fisiológica do tônus vascular pulmonar ainda não foram totalmente elucidados. Porém, quando o NO foi descoberto como vasodilatador endógeno, postulou-se a idéia de que esta molécula pudesse contribuir para a manutenção do baixo tônus vascular pulmonar. No entanto, os estudos realizados até o momento mostram inconsistências a este respeito, especialmente pela comparação feita entre achados de diferentes espécies. Além disso, tem sido observado que a alteração na biodisponibilidade do NO parece ser comum em doenças pulmonares, sendo observado o aumento de sua concentração em enfermidades acompanhadas por inflamação, por exemplo, a *acute respiratory distress syndrome* (ARDS, síndrome do desconforto respiratório agudo)⁽⁴⁾ ou redução da síntese de NO em doenças caracterizadas por aumento da pressão arterial pulmonar, como a hipertensão arterial pulmonar.⁽⁵⁾

Neste artigo, revisamos os principais achados em relação ao papel desempenhado pelo NO na fisiologia, fisiopatologia e farmacologia da circulação pulmonar.

Descoberta do NO e sua síntese nos pulmões

No final da década de 80, Furchgott e Zawadzki propuseram que o relaxamento do músculo liso vascular da aorta de coelho era secundário à liberação de uma substância vasodilatadora pelo endotélio.⁽⁶⁾ Posteriormente, descobriu-se que se tratava do NO.⁽⁷⁾

O NO endógeno é formado a partir do aminoácido L-arginina, por meio de uma reação catalisada por uma família de enzimas, as NOS, que convertem a L-arginina em NO e L-citrulina, necessitando da

presença de dois co-substratos, o oxigênio e o nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida.⁽¹⁾

As três isoformas conhecidas das NOS foram identificadas no pulmão, sendo duas delas constitutivamente expressas mais intensamente nos corpos neuronais (nNOS) e nas células endoteliais dos vasos pulmonares (eNOS). Uma isoforma induzível (iNOS) é encontrada nos macrófagos alveolares, sendo sua expressão regulada por mediadores inflamatórios.^(8,9)

As NOS constitutivas (nNOS e eNOS) são reguladas por íons cálcio e calmodulina e a liberação de NO se dá em pequenas quantidades (nanomolares), em picos de curta duração. Apesar dessa ínfima produção de NO pelas NOS constitutivas, os níveis existentes são suficientes para manter estável o tônus vascular sistêmico basal (preponderantemente vasodilatado), inibir a interação de leucócitos com o endotélio, inibir a agregação plaquetária e controlar a proliferação celular.⁽¹⁰⁾

Nas situações em que ocorre diminuição da expressão da eNOS e, portanto, diminuição dos níveis basais de NO,⁽¹¹⁾ ou ainda nas situações que levam ao consumo do NO por espécies reativas do oxigênio (situações em que há aumento do estresse oxidativo),⁽¹²⁾ instala-se um fenômeno descrito como disfunção endotelial. Quando isto afeta os vasos pulmonares, ocorre uma série de alterações presentes em algumas condições patológicas, dentre elas a hipertensão arterial pulmonar.^(13,14)

A iNOS pode ser induzida por estímulos inflamatórios.⁽⁴⁾ Trata-se de uma isoforma independente de íon cálcio e calmodulina, que promove a liberação de quantidades maiores (micromolares) de NO enquanto o estímulo agressor estiver presente.^(1,9) Recentes evidências revelaram que a produção de NO está aumentada em doenças pulmonares acompanhadas por intensa inflamação, por exemplo, a ARDS,⁽¹⁵⁾ e que talvez o NO derivado da iNOS seja um agente que contribua para o agravamento desta doença.⁽¹⁶⁾

O NO e a circulação pulmonar normal

A avaliação do papel exercido pelo NO na regulação da circulação pulmonar advém de estudos que utilizaram duas abordagens: a inibição farmacológica das NOS⁽¹⁾ ou o uso de animais *knockout* para cada uma das três isoformas das NOS.⁽²⁾

As isoformas das NOS podem ser inibidas farmacologicamente por substâncias análogas à L-arginina, por exemplo, a NG-monometil-L-arginina (L-NMMA) ou o NG-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME). Estes análogos agem como inibidores competitivos das NOS.⁽¹⁷⁾ A maioria dos estudos que avaliaram os efeitos destes fármacos foi feita com animais e chegou-se à conclusão de que a produção endógena de NO parece não desempenhar um papel importante na manutenção do baixo tônus da circulação pulmonar em condições basais.^(18,19) Nestes trabalhos, os autores mostraram que, independentemente da via de administração (oral ou intravenosa) ou do tempo de exposição aos inibidores das NOS (agudo ou crônico), os animais apresentaram hipertensão arterial sistêmica significativa, confirmando o papel do NO na manutenção da homeostase vascular sistêmica. No entanto, os inibidores das NOS produziram pouco efeito sobre as pressões pulmonares nestas mesmas condições.^(18,19) Contrariamente, um estudo feito em humanos mostrou haver aumento significativo da pressão arterial pulmonar após a infusão do inibidor das NOS.⁽²⁰⁾ É importante ressaltar que este efeito hipertensivo pulmonar só foi observado com doses muito altas, enquanto que doses menores do mesmo fármaco produziu hipertensão sistêmica sem que se tenham observado efeitos importantes sobre a circulação pulmonar.^(18,20,21)

A estratégia que emergiu para avaliar a contribuição de cada NOS sobre o controle do tônus vascular pulmonar e contornar o problema da limitada seletividade farmacológica foi o uso de animais *knockout* para os genes da nNOS, iNOS ou eNOS.⁽²²⁾ Embora este tipo de abordagem também apresente limitações, os estudos mostraram que apenas os animais *knockout* para eNOS apresentaram pequenos aumentos nas pressões arteriais pulmonares.^(23,24) Por outro lado, quando animais *knockout* para eNOS foram submetidos a condições de hipóxia, na qual os vasos pulmonares respondem com vasoconstrição, a hipertensão pulmonar foi notadamente maior do que nos animais controle. Estes dados sugerem que o NO não seria o único elemento mantenedor do baixo tônus vascular pulmonar; porém, o mesmo é importante na modulação da reposta vasoconstritora associada à hipóxia.⁽²²⁾

Como é improvável que haja perda completa da atividade da eNOS na hipertensão arterial pulmonar em humanos, estudaram-se os efeitos da perda de

apenas um dos alelos da eNOS (eNOS^{+/-}). Verificou-se que uma redução de 50% na expressão da eNOS nos animais controles não produziu efeitos sobre a pressão arterial pulmonar. Porém, os animais eNOS^{+/-} apresentaram maior aumento da pressão arterial pulmonar induzida por hipóxia quando comparados aos animais controle.⁽²⁵⁾ Este achado confirma o papel protetor do NO durante a hipertensão pulmonar.

Portanto, podemos concluir que, em condições normais, a produção de NO na circulação pulmonar parece não contribuir muito para a manutenção das baixas pressões observadas neste leito vascular. Entretanto, o contrário é verdadeiro em condições fisiopatológicas, especialmente quando há hipertensão arterial pulmonar.

A redução da síntese de NO e a fisiopatologia da hipertensão arterial pulmonar

Em pacientes com hipertensão arterial pulmonar, observou-se redução da biodisponibilidade de NO.⁽²⁴⁾ Alguns estudos clínicos têm associado hipertensão arterial pulmonar à redução dos níveis pulmonares de eNOS, o que resultaria na diminuição da síntese de NO.^(11,24) No entanto, outros estudos mostraram expressão da eNOS inalterada ou até mesmo aumentada nos pulmões deste grupo de pacientes.^(25,26) Porém, esta aparente controvérsia pode ser justificada por divergências metodológicas, como a seleção de pacientes em diferentes estágios e/ou gravidade da hipertensão arterial pulmonar. Outra possibilidade seria um aumento na atividade da arginase II, enzima que compete com a NOS pelo substrato L-arginina, levando à diminuição da produção de NO em pacientes com hipertensão arterial pulmonar.⁽²⁴⁾ Também é possível que haja diminuição dos níveis plasmáticos de L-arginina em pacientes com hipertensão arterial pulmonar, talvez contribuindo para a diminuição da síntese do NO nestes pacientes.⁽²⁷⁾ Além disso, o análogo endógeno da L-arginina, dimetil-arginina assimétrica (*asymmetric dimethylarginine* em inglês), que inibe tanto o transporte de L-arginina como a síntese de NO, parece ocorrer em concentrações elevadas no plasma de pacientes com hipertensão pulmonar idiopática, correlacionando-se positivamente com a mortalidade.⁽²⁸⁾ Além do comprometimento da

biodisponibilidade de NO, recentes estudos demonstraram que a fosfodiesterase 5, principal enzima responsável pela degradação de cGMP na musculatura lisa vascular pulmonar,⁽²⁹⁾ tem sua expressão aumentada em pacientes com hipertensão arterial pulmonar.⁽³⁰⁾ Evidências experimentais indicam que o bloqueio da síntese de NO provocado por inibidores farmacológicos das NOS ou animais *knockout* para as NOS apresentam hipertensão arterial pulmonar mais grave quando comparados aos controles em diferentes modelos.^(17,18) Isto significa que a produção endógena de NO parece desempenhar um papel protetor em modelos experimentais de hipertensão arterial pulmonar.^(17,18) Devemos considerar que os inibidores das NOS disponíveis não são seletivos para cada uma das NOS.⁽⁹⁾ No entanto, tem sido sugerido que a produção de NO pela eNOS parece ser responsável, ao menos em parte, por atenuar a intensa vasoconstrição pulmonar observada em modelos experimentais de hipertensão arterial pulmonar.⁽¹⁷⁾ Consistente com esta sugestão, animais *knockout* para eNOS desenvolveram hipertensão arterial pulmonar significativamente maior do que os animais *knockout* para as demais isoformas das NOS (nNOS^{-/-} ou iNOS^{-/-}) quando expostos à hipóxia e quando comparados aos controles (*wild type*).^(20,21) Os achados comentados acima sugerem que a redução da biodisponibilidade de NO possa ser um alvo farmacológico de medidas terapêuticas possíveis no tratamento da hipertensão arterial pulmonar.

Paradoxalmente, a síntese excessiva de NO participa da fisiopatologia de algumas doenças pulmonares

Dados experimentais recentes sugerem que a produção de NO em maior quantidade pela iNOS possa ter efeitos nocivos sobre a circulação pulmonar em condições patológicas acompanhadas por intensa inflamação, como a ARDS⁽¹⁴⁾ e outras condições como a lesão pulmonar aguda.⁽³¹⁾ Nestas condições, ocorre inflamação do endotélio vascular pulmonar, originando o edema pulmonar não cardiogênico, hipertensão arterial pulmonar, hipoxemia e diminuição da complacência pulmonar.^(32,33) Vários estudos têm implicado a excessiva produção de NO derivado da iNOS no agravamento destas importantes condições clínicas.⁽³⁴⁾ Por exemplo,

demonstrou-se experimentalmente que o aumento acentuado das concentrações de NO nos vasos pulmonares, paralelamente ao aumento das concentrações do ânion peroxinitrito pulmonar, contribuiu para o desenvolvimento da hipertensão arterial pulmonar durante a hipóxia.⁽³⁵⁾ O uso de inibidores farmacológicos seletivos da iNOS produziu significantes reduções da pressão arterial pulmonar neste modelo.⁽³¹⁾ Ainda, verificou-se que animais *knockout* para o gene da iNOS apresentaram reduções de estresse oxidativo e de edema pulmonar causado por lesão pulmonar aguda, em comparação a camundongos controle.^(36,37) Uma possível explicação para estes achados tem base na combinação química do NO produzido em quantidade excessiva com o ânion superóxido, formando peroxinitrito, que é uma molécula muito reativa causadora de vários danos celulares.⁽³⁸⁾ Neste sentido, o peroxinitrito reage com resíduos de tirosina das proteínas, levando à formação de 3-nitrotirosina, podendo causar sério comprometimento funcional das células do epitélio pulmonar,⁽³⁹⁾ além de contribuir para o desenvolvimento da hipertensão arterial pulmonar.⁽⁴⁰⁾ Apoiando estes achados experimentais, observou-se que pacientes com ARDS apresentam concentrações pulmonares elevadas de metabólitos do NO (nitrito e nitrato) e 3-nitrotirosina.^(14,41) De forma consistente com estes achados clínicos, observou-se em modelos experimentais de lesão pulmonar aguda que a expressão aumentada da iNOS está associada a concentrações aumentadas de 3-nitrotirosina nos pulmões.⁽³⁶⁾ Conjuntamente, estas observações sugerem que a inibição seletiva da iNOS possa produzir efeitos benéficos no tratamento de doenças pulmonares acompanhadas por inflamação e hipertensão arterial pulmonar. Contudo, esta idéia ainda tem que ser validada clinicamente.

Estratégias terapêuticas que visam contornar a redução da biodisponibilidade de NO observada em condições de hipertensão arterial pulmonar

Embora não se conheçam todos os mecanismos relevantes para a fisiopatologia da hipertensão arterial pulmonar, sabe-se que a ação aumentada de substâncias vasoconstritoras, o remodelamento da parede vascular pulmonar, inflamação e trom-

bose desempenham papéis fundamentais.⁽⁴²⁾ Várias evidências sugerem que a disfunção endotelial resultante bem como o estímulo proliferativo celular sejam fundamentais para a patogênese da hipertensão arterial pulmonar.⁽¹³⁾ A disfunção endotelial parece estar associada à produção local deficiente de substâncias vasodilatadoras (especialmente o NO e a prostaciclina) e ao aumento da liberação de vasoconstritores, tais como o tromboxano A₂ e a endotelina.^(13,42) Assim, estratégias que proporcionem aumentos de biodisponibilidade de NO ou dos níveis intracelulares de cGMP têm surgido como possíveis alternativas terapêuticas de grande potencial. A suplementação da dieta com L-arginina, por exemplo, parece causar reduções agudas da pressão arterial pulmonar em pacientes com hipertensão pulmonar.⁽²⁷⁾ Esses efeitos devem-se, muito provavelmente, ao fato de ser este aminoácido o substrato para a produção de NO pelas NOS. De fato, o aumento da produção de NO endógeno pode ser demonstrado através do aumento de níveis plasmáticos de L-citrulina, um dos produtos finais da reação enzimática da NOS.⁽⁴³⁾ Além disso, a infusão aguda de L-arginina diminui a resistência vascular pulmonar em pacientes com hipertensão arterial pulmonar, o que está associado à produção endógena de NO.⁽⁴³⁾ Mesmo em dose única, a administração oral de L-arginina causou reduções da resistência vascular pulmonar e da pressão média da artéria pulmonar em pacientes com hipertensão arterial pulmonar. Ainda, seu uso por uma semana causou melhora significativa da capacidade de exercício físico.⁽⁴⁴⁾ Outra alternativa possível para o tratamento da hipertensão arterial pulmonar é o NO inalatório, que produz vasodilatação seletiva e aguda da circulação pulmonar hipertensa.^(30,45) O NO inalatório produz o relaxamento da musculatura lisa vascular pulmonar, reduzindo a resistência vascular pulmonar e a pressão arterial pulmonar.⁽³⁰⁾ Seu uso crônico, por aproximadamente nove meses, em pacientes com hipertensão arterial pulmonar idiopática, também trouxe melhoras hemodinâmicas e da função pulmonar.⁽⁴⁶⁾ Além disso, foi evidenciado que os pacientes que respondem ao uso de NO inalatório apresentam melhor sobrevida em cinco anos quando comparados àqueles que não respondem.⁽⁴⁷⁾ Entretanto, os efeitos benéficos apresentados por alguns autores não foram reproduzidos de forma unânime em outros estudos. Acredita-se que os dois principais efeitos adversos do uso do NO inala-

tório sejam a formação de dióxido de nitrogênio e o fenômeno de 'rebote agudo', que ocorre após a interrupção de sua inalação.⁽³⁵⁾ Ainda não se sabe ao certo quais mecanismos seriam responsáveis por este último efeito; porém, existem indícios de que o NO exerça efeito de feedback negativo ao inibir a eNOS.⁽⁴⁸⁾ Outra possibilidade terapêutica muito útil clinicamente é o sildenafil. Este agente é um potente inibidor seletivo da enzima fosfodiesterase 5, capaz de preservar os níveis pulmonares de cGMP e, assim, produzir relaxamento da musculatura lisa vascular pulmonar.⁽⁴⁹⁾ Recentes evidências experimentais mostraram que o sildenafil tem ação vasodilatadora pulmonar seletiva e, além disto, parece também inibir o remodelamento vascular associado à hipóxia crônica.⁽³⁰⁾ Neste sentido, pacientes com hipertensão pulmonar primária tratados cronicamente com sildenafil apresentaram reduções de pressão arterial pulmonar.⁽⁵⁰⁾ Ainda, voluntários saudáveis em hipóxia induzida ou expostos a altas altitudes e que receberam sildenafil via oral tiveram menor grau de vasoconstrição pulmonar hipóxica. Este efeito foi associado a aumentos das concentrações plasmáticas de cGMP, quando comparados ao placebo.^(51,52) Apoiando estes achados, um estudo multicêntrico demonstrou a segurança e eficácia desta droga, quando usada em pacientes com hipertensão arterial pulmonar sintomática. Foram tratados 278 pacientes por 12 semanas e obtida melhora na hemodinâmica pulmonar, com diminuição da pressão arterial pulmonar, além ter havido melhora da capacidade funcional destes pacientes.⁽⁵³⁾ Os efeitos do NO inalatório podem ser potencializados quando este agente é usado em terapia combinada com sildenafil, pois ambas as drogas aumentam as concentrações de cGMP. Mostrou-se, recentemente, que a terapia combinando NO inalatório e sildenafil aumenta a duração e a magnitude da vasodilatação pulmonar causada pela terapia com NO inalatório, isoladamente, em pacientes com insuficiência ventricular e hipertensão arterial pulmonar.⁽⁵⁴⁾

Perspectivas e conclusão

Além dos fármacos sobre os quais discorremos até aqui, outros têm sido testados em experimentação animal, visando contornar algumas limitações na ação das drogas atualmente disponíveis para o

tratamento de doenças vasculares pulmonares. Por exemplo, testou-se um composto (BAY 41-2272) que estimula a enzima guanilato ciclase solúvel de modo independente do NO, sendo capaz de aumentar os níveis de cGMP nos vasos pulmonares.⁽⁵⁵⁾ O BAY 41-2272 reduziu a hipertensão arterial pulmonar em diversos modelos experimentais.⁽⁵⁵⁾ A limitação quanto a seu uso na clínica diz respeito à ausência de ação seletiva no leito vascular pulmonar, tendo sido relatada hipotensão arterial sistêmica nos estudos prévios desta droga. Recentemente, foi sugerida uma possível solução para este problema: o uso da via inalatória para administração desta droga, resultando em efeitos vasodilatadores pulmonares seletivos.⁽⁵⁶⁾ Além da estimulação da guanilato ciclase solúvel com o BAY 41-2272, o nitrito de sódio também demonstrou efeito vasodilatador sobre a circulação pulmonar hipertensa. Isto parece ser devido à redução do nitrito a NO, em condições fisiopatológicas acompanhadas de acidose e hipoxemia.⁽⁵⁷⁾ Recentemente, alguns estudos experimentais mostraram que a administração de nitrito atenuou a hipertensão pulmonar e estes efeitos foram associados a aumentos da formação de NO.⁽⁵⁸⁻⁶⁰⁾ Concluindo, fica evidente que o NO é uma molécula de grande importância para o aparelho cardiovascular, incluindo-se a circulação pulmonar. Vários estudos têm indicado que, em algumas condições patológicas, a sinalização da via do NO no leito vascular pulmonar está prejudicada, ora por diminuição de sua biodisponibilidade, ora por aumento exacerbado de sua síntese. Assim, estratégias terapêuticas que ativem parcialmente a via L-arginina-NO-cGMP (L-arginina, NO inalatório e sildenafil) têm demonstrado efeitos positivos, não só em vários modelos experimentais, mas também em estudos clínicos. Por outro lado, a inibição da produção excessiva de NO pela iNOS em algumas condições fisiopatológicas, embora tenha mostrado efeitos benéficos experimentalmente, ainda não foi validada clinicamente.

Referências

1. Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol.* 2006;147(Suppl 1): S193-S201.
2. Reeves JT, Rubin LJ. The pulmonary circulation: snapshots of progress. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157(4 Pt 2):S101-8. Erratum in: *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(1):344.
3. Barnes PJ, Liu SF. Regulation of pulmonary vascular tone. *Pharmacol Rev.* 1995;47(1):87-131.
4. Ricciardolo FL, Sterk PJ, Gaston B, Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev.* 2004;84(3):731-65.
5. Haworth SG. Role of the endothelium in pulmonary arterial hypertension. *Vascul Pharmacol.* 2006;45(5):317-25.
6. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980;288(5789):373-6.
7. Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res.* 1987;61(6):866-79.
8. Förstermann U, Boissel JP, Kleinert H. Expressional control of the 'constitutive' isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS III). *FASEB J.* 1998;12(10):773-90.
9. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.* 1999;43(3):521-31.
10. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med.* 1997;48:489-509.
11. Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 1995;333(4):214-21.
12. Cracowski JL, Cracowski C, Bessard G, Pepin JL, Bessard J, Schwebel C, et al. Increased lipid peroxidation in patients with pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164(6):1038-42.
13. Nicod LP. The endothelium and genetics in pulmonary arterial hypertension. *Swiss Med Wkly.* 2007;137(31-32):437-42.
14. Sittipunt C, Steinberg KP, Ruzinski JT, Myles C, Zhu S, Goodman RB, et al. Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(2):503-10.
15. Su CF, Yang FL, Chen HI. Inhibition of inducible nitric oxide synthase attenuates acute endotoxin-induced lung injury in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007;34(4):339-46.
16. Liu X, Bee D, Barer GR. Role of nitric oxide synthase and cyclooxygenase in pulmonary vascular control in isolated perfused lungs of ferrets, rats and rabbits. *Exp Physiol.* 1999;84(5):907-16.
17. Hampl V, Herget J. Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension. *Physiol Rev.* 2000;80(4): 1337-72.
18. Sander M, Welling KL, Ravn JB, Boberg B, Amtorp O. Endogenous NO does not regulate baseline pulmonary pressure, but reduces acute pulmonary hypertension in dogs. *Acta Physiol Scand.* 2003;178(3):269-77.
19. Stampler JS, Loh E, Roddy MA, Currie KE, Creager MA. Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation.* 1994;89(5): 2035-40.
20. Fagan KA, McMurtry I, Rodman DM. Nitric oxide synthase in pulmonary hypertension: lessons from knockout mice. *Physiol Res.* 2000;49(5):539-48.
21. Fagan KA, Tyler RC, Sato K, Fouty BW, Morris KG Jr, Huang PL, et al. Relative contributions of endothelial, inducible, and neuronal NOS to tone in the murine pulmonary circulation. *Am J Physiol.* 1999;277(3 Pt 1):L472-8.
22. Han RN, Stewart DJ. Defective lung vascular development in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Trends Cardiovasc Med.* 2006;16(1):29-34.
23. Fagan KA, Fouty BW, Tyler RC, Morris KG Jr, Hepler LK, Sato K, et al. The pulmonary circulation of homozygous or

- heterozygous eNOS-null mice is hyperresponsive to mild hypoxia. *J Clin Invest.* 1999;103(2):291-9.
24. Xu W, Kaneko FT, Zheng S, Comhair SA, Janocha AJ, Goggans T, et al. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension. *FASEB J.* 2004;18(14):1746-8.
 25. Tuder RM, Cool CD, Geraci MW, Wang J, Abman SH, Wright L, et al. Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;159(6):1925-32.
 26. Xue C, Johns RA. Endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 1995;333(24):1642-4.
 27. Morris CR, Morris SM Jr, Hagar W, Van Warmerdam J, Claster S, Kepka-Lenhart D, et al. Arginine therapy: a new treatment for pulmonary hypertension in sickle cell disease? *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168(1):63-9.
 28. Kielstein JT, Bode-Böger SM, Hesse G, Martens-Lobenhoffer J, Takacs A, Fliser D, et al. Asymmetrical dimethylarginine in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(7):1414-8.
 29. Murray F, MacLean MR, Pyne NJ. Increased expression of the cGMP-inhibited cAMP-specific (PDE3) and cGMP binding cGMP-specific (PDE5) phosphodiesterases in models of pulmonary hypertension. *Br J Pharmacol.* 2002;137(8):1187-94.
 30. Steiner MK, Preston IR, Klinger JR, Hill NS. Pulmonary hypertension: inhaled nitric oxide, sildenafil and natriuretic peptides. *Curr Opin Pharmacol.* 2005;5(3):245-50.
 31. Numata M, Suzuki S, Miyazawa N, Miyashita A, Nagashima Y, Inoue S, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents LPS-induced acute lung injury in dogs. *J Immunol.* 1998;160(6):3031-7.
 32. Hart CM. Nitric oxide in adult lung disease. *Chest.* 1999;115(5):1407-17.
 33. Mortelliti MP, Manning HL. Acute respiratory distress syndrome. *Am Fam Physician.* 2002;65(9):1823-30.
 34. Mehta S. The effects of nitric oxide in acute lung injury. *Vascul Pharmacol.* 2005;43(6):390-403.
 35. Oishi P, Grobe A, Benavidez E, Ovadia B, Harmon C, Ross GA, et al. Inhaled nitric oxide induced NOS inhibition and rebound pulmonary hypertension: a role for superoxide and peroxynitrite in the intact lamb. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006;290(2):L359-66.
 36. Peng X, Abdunour RE, Sammani S, Ma SF, Han EJ, Hasan EJ, et al. Inducible nitric oxide synthase contributes to ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172(4):470-9.
 37. Razavi HM, Wang le F, Weicker S, Rohan M, Law C, McCormack DG, et al. Pulmonary neutrophil infiltration in murine sepsis: role of inducible nitric oxide synthase. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170(3):227-33.
 38. Lang JD, McArdle PJ, O'Reilly PJ, Matalon S. Oxidant-antioxidant balance in acute lung injury. *Chest.* 2002;122(6 Suppl):S314S-S20.
 39. Szabó C, Saunders C, O'Connor M, Salzman AL. Peroxynitrite causes energy depletion and increases permeability via activation of poly (ADP-ribose) synthetase in pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997;16(2):105-9.
 40. Belik J, Jankov RP, Pan J, Tanswell AK. Peroxynitrite inhibits relaxation and induces pulmonary artery muscle contraction in the newborn rat. *Free Radic Biol Med.* 2004;37(9):1384-92.
 41. Gole MD, Souza JM, Choi I, Hertkorn C, Malcolm S, Foust RF 3rd, et al. Plasma proteins modified by tyrosine nitration in acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000;278(5):L961-7.
 42. Chan SY, Loscalzo J. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;44(1):14-30.
 43. Mehta S, Stewart DJ, Langleben D, Levy RD. Short-term pulmonary vasodilation with L-arginine in pulmonary hypertension. *Circulation.* 1995;92(6):1539-45.
 44. Nagaya N, Uematsu M, Oya H, Sato N, Sakamaki F, Kyotani S, et al. Short-term oral administration of L-arginine improves hemodynamics and exercise capacity in patients with precapillary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(4):887-91.
 45. Griffiths MJ, Evans TW. Inhaled nitric oxide therapy in adults. *N Engl J Med.* 2005;353(25):2683-95.
 46. Channick RN, Newhart JW, Johnson FW, Williams PJ, Auger WR, Fedullo PF, et al. Pulsed delivery of inhaled nitric oxide to patients with primary pulmonary hypertension: an ambulatory delivery system and initial clinical tests. *Chest.* 1996;109(6):1545-9.
 47. Post MC, Janssens S, Van de Werf F, Budts W. Responsiveness to inhaled nitric oxide is a predictor for mid-term survival in adult patients with congenital heart defects and pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J.* 2004;25(18):1651-6.
 48. Ross GA, Oishi P, Azakie A, Fratz S, Fitzgerald RK, Johengen MJ, et al. Endothelial alterations during inhaled NO in lambs with pulmonary hypertension: implications for rebound hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005;288(1):L27-35.
 49. Rich S. The current treatment of pulmonary arterial hypertension: time to redefine success. *Chest.* 2006;130(4):1198-202.
 50. Sastry BK, Narasimhan C, Reddy NK, Anand B, Prakash GS, Raju PR, et al. A study of clinical efficacy of sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Indian Heart J.* 2002;54(4):410-4.
 51. Zhao L, Mason NA, Morrell NW, Kojonazarov B, Sadykov A, Maripov A, et al. Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation.* 2001;104(4):424-8.
 52. Richalet JP, Gratadour P, Robach P, Pham I, Déchaux M, Joncquiart-Latarjet A, et al. Sildenafil inhibits altitude-induced hypoxemia and pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(3):275-81.
 53. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med.* 2005;353(20):2148-57. Erratum in: *N Engl J Med.* 2006;354(22):2400-1.
 54. Lepore JJ, Maroo A, Bigatello LM, Dec GW, Zapol WM, Bloch KD, et al. Hemodynamic effects of sildenafil in patients with congestive heart failure and pulmonary hypertension: combined administration with inhaled nitric oxide. *Chest.* 2005;127(5):1647-53.
 55. Evgenov OV, Pacher P, Schmidt PM, Haskó G, Schmidt HH, Stasch JP. NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5(9):755-68.
 56. Evgenov OV, Kohane DS, Bloch KD, Stasch JP, Volpato GP, Bellas E, et al. Inhaled agonists of soluble guanylate cyclase induce selective pulmonary vasodilation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176(11):1138-45.

57. Dezfulian C, Raat N, Shiva S, Gladwin MT. Role of the anion nitrite in ischemia-reperfusion cytoprotection and therapeutics. *Cardiovasc Res.* 2007;75(2):327-38.
58. Hunter CJ, Dejam A, Blood AB, Shields H, Kim-Shapiro DB, Machado RF, et al. Inhaled nebulized nitrite is a hypoxia-sensitive NO-dependent selective pulmonary vasodilator. *Nat Med.* 2004;10(10):1122-7.
59. Dias-Junior CA, Gladwin MT, Tanus-Santos JE. Low-dose intravenous nitrite improves hemodynamics in a canine model of acute pulmonary thromboembolism. *Free Radic Biol Med.* 2006;41(12):1764-70.
60. Coggins MP, Bloch KD. Nitric oxide in the pulmonary vasculature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(9):1877-85.