

Atualização

O papel da via L-arginina-óxido nítrico em doenças pulmonares.

The role of L-arginine-nitric oxide pathway in pulmonary diseases.

Tatiana M.C. Brunini¹, Nicole Perim², Érica Costa², Antônio C. Mendes-Ribeiro^{1,2}.

RESUMO

O óxido nítrico (NO) é um gás inorgânico com uma meia vida curta, que vem sendo associado a importantes funções fisiológicas, incluindo neurotransmissão, vasodilatação, atividade citotóxica do sistema imune e agregação plaquetária. O NO é sintetizado, a partir do aminoácido catiônico L-arginina, por uma família de enzimas: óxido nítrico sintases (NOS). Existem três isoformas de NOS: neuronal (nNOS), induzível (iNOS) e endotelial (eNOS). A liberação inapropriada deste mediador, ou uma reduzida disponibilidade de L-arginine, tem sido associada à patogênese de várias doenças. A asma e a hipertensão arterial pulmonar (HAP) são doenças com alta morbi-mortalidade, e o completo entendimento e adequado tratamento dessas enfermidades permanece sendo um desafio. Evidência recente sugere que um distúrbio da via L-arginina-NO esteja envolvido na fisiopatologia da asma e da HAP. Este artigo revisa o conhecimento atual sobre a via L-arginina-NO, na asma e na HAP, e descreve, sucintamente, as possíveis intervenções terapêuticas.

Descritores: óxido nítrico; arginina; asma; hipertensão pulmonar.

ABSTRACT

Nitric oxide (NO) is an inorganic gas with a short half life that has been associated with important physiological functions including neurotransmission, vasodilatation, cytotoxic activity of the immune system and platelet aggregation. NO is synthesised from the cationic amino acid L-arginine by a family of enzymes: nitric oxide synthase (NOS). There are three isoforms of NOS: neuronal NOS (nNOS), inducible NOS (iNOS) and endothelial NOS (eNOS). Inappropriate release of this mediator or impaired availability of its precursor L-arginine has been linked to the pathogenesis of various diseases. Asthma and pulmonary artery hypertension (PAH) are pathological states with high morbi-mortality and the full understanding and adequate treatment of these pathologies remain a challenge. Recent evidence suggests that a disturbance of the L-arginine-nitric oxide pathway is involved in the physiopathology of both asthma and PAH. This article summarizes the current knowledge of L-arginine-NO pathway in asthma and PAH and briefly describes possible therapeutic interventions.

Keywords: nitric oxide; arginine; asthma; pulmonary, hypertension.

A descoberta do óxido nítrico (NO), há 26 anos, revolucionou o entendimento de importantes processos fisiológicos, como a regulação do tônus vascular, da função plaquetária e do sistema imune.^{1,2} O NO é sintetizado, a partir do aminoácido catiônico L-arginina, por uma família de enzimas, as óxido nítrico sintases (NOS). Seu principal mecanismo de ação é através da ativação da guanilato ciclase, que leva a um aumento da produção do GMPc intracelular.^{1,2}

Recentes estudos sugerem que uma alteração na biodisponibilidade do NO possa ser uma disfunção comum a doenças pulmonares que apresentam uma elevada morbi-mortalidade, como a asma e hipertensão arterial pulmonar (HAP).³

O presente trabalho tem como objetivo revisar a participação da via L-arginina-óxido nítrico na fisiopatologia da asma e da hipertensão arterial pulmonar, assim como trazer novas ferramentas farmacológicas no tratamento destas doenças.

1. Departamento de Farmacologia e Psicobiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

2. Disciplina de Farmacologia, do Departamento de Ciências Fisiológicas, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

Trabalho realizado no Laboratório de Transporte de Membrana, Departamento de Farmacologia e Psicobiologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil. Não existe conflito de interesse.

Endereço para correspondência: Profa. Dra. Tatiana Marlowe Cunha Brunini. Departamento de Farmacologia e Psicobiologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, CEP: 20551-030, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Tel: (21) 2587-6141, fax: (21) 2587-6808, e-mail: tmcbunini@yahoo.com.br ou tbrunini@uerj.br

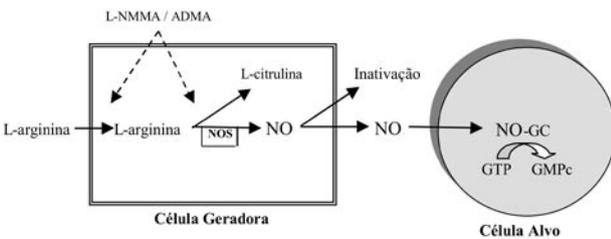
Recebido em 21/08/2006 e aceito em 15/09/2006, após revisão.

Óxido Nítrico: descoberta e síntese

Em 1980, Furchgott e Zawadzki descreveram um fenômeno de relaxamento vascular endotélio dependente, na aorta isolada de coelho, que era induzido pela acetilcolina.¹ Estes pesquisadores propuseram que o relaxamento vascular encontrado era secundário à liberação de uma substância vasodilatadora pelo endotélio, que recebeu, inicialmente, o nome de fator de relaxamento derivado do endotélio (endothelium derived relaxing factor, EDRF).¹ Posteriormente, em 1987, foi descoberto que o EDRF era na verdade o óxido nítrico.^{4,5}

O NO é um gás inorgânico, com uma meia-vida muito curta, associado a funções fisiológicas e condições patológicas.^{2,6} Atualmente, o NO é um dos temas mais estudados e, em 1998, os pesquisadores envolvidos na sua descoberta, Professores Furchgott, Ignarro e Murad, receberam o prêmio Nobel da Medicina.

O NO é formado a partir do aminoácido L-arginina, por meio de uma reação catalizada por uma família de enzimas, a óxido nítrico sintases (NOS), que converte L-arginina em L-citulina e NO (Figura 1), necessitando da presença de dois co-substratos, o oxigênio e o fosfato dinucleótido adenina nicotinamida (NADPH).⁶⁻⁹



NOS=óxido nítrico sintase; GC=guanilato ciclase; GTP=guanosina trifosfato; GMPc= guanosina monofosfato cíclica

Figura 1- A via L-arginina-óxido nítrico

Existem três diferentes isoformas de NOS: tipo I ou neuronal (nNOS), tipo II ou induzível (iNOS) e tipo III ou endotelial (eNOS).⁶⁻⁹ As isoformas nNOS e eNOS são constitutivas e suas atividades reguladas pelo cálcio (Ca⁺⁺) intracelular e pela proteína associada ao Ca⁺⁺, a calmodulina.⁷⁻⁹ Em contraste, a iNOS é Ca⁺⁺ e calmodulina-independente, podendo ser induzida por diferentes citocinas, produzindo grande quantidade de NO por um longo período de tempo (tabela 1).⁷⁻⁹

Tabela 1- Classificação das enzimas óxido nítrico sintases

Tipo	Dependência de cálcio	Primeiro local identificado	Principal função	Níveis de NO produzido
nNOS ou tipo I	Sim	neurônio	Neurotransmissão	pmoles
iNOS ou tipo II	Não	macrófago	Imunocitotoxicidade	nmoles
eNOS ou tipo III	Sim	endotélio	Relaxamento do MLV	pmoles

MLV = músculo liso vascular. Adaptado de Gross et al, 1997.8

Principais funções do NO

O NO é um importante sinalizador celular envolvido em vários processos fisiológicos essenciais, incluindo neurotransmissão central e periférica, vasodilatação, broncodilatação, atividade citotóxica do sistema imune,

inibição da adesão e agregação plaquetárias.^{6,10,11} Seu principal mecanismo de ação é através do aumento da produção do GMPc intracelular (Figura 1). O seu tempo de ação é muito curto, pois é rapidamente degradado por enzimas chamadas fosfodiesterases.¹² Entretanto, fármacos que inibem as enzimas fosfodiesterases levam a um aumento da disponibilidade do GMPc, dessa forma potencializando seus efeitos.¹³

Na inflamação, o NO é produzido em grandes quantidades através da NOS tipo II, demonstrando sua importância como mediador inflamatório.⁶ Está presente em várias condições inflamatórias como, por exemplo, a asma.¹⁴

Transporte de L-arginina e seu paradoxo

A L-arginina é um aminoácido catiônico semi-essencial que, quando sua síntese está diminuída, ou seu catabolismo aumentado, torna-se essencial.¹⁵⁻¹⁷ As fontes de L-arginina utilizadas pelo organismo humano são tanto endógenas como exógenas.¹⁵⁻¹⁷

Os sistemas de transporte de aminoácidos são, geralmente, classificados de acordo com sua especificidade ao substrato e dependência, ou não, de sódio. Quatro sistemas de transporte de aminoácidos catiônicos (AA⁺) (L-arginina, L-lisina e L-ornitina) foram descritos em células animais: y⁺, y⁺L, B^{0,+} e b^{0,+}.^{18,19} O y⁺ transporta somente aminoácidos catiônicos, enquanto os outros três transportam tanto aminoácidos catiônicos como neutros.

A síntese de NO, em várias condições fisiológicas e patológicas, depende de L-arginina extracelular. Esta dependência, que ocorre mesmo quando o nível intracelular de L-arginina disponível está em excesso, é denominado: "O paradoxo da L-arginina".^{15,20-22}

Uma produção diminuída ou uma inativação acelerada de NO e/ou uma disponibilidade reduzida do seu precursor, a L-arginina, associam-se à patogênese de várias doenças, como insuficiência cardíaca, hipertensão arterial e insuficiência renal crônica, asma e HAP.^{15,20-24}

As vias metabólicas da L-arginina

A L-arginina foi isolada, pela primeira vez, em 1886.^{17,24} Este aminoácido é extremamente versátil e está envolvido em diversas vias metabólicas, como na formação de creatina (precursor de creatinina), no ciclo da uréia, na produção de proteínas, síntese de agmatina, de poliaminas e de bases pirimidinas.^{17,25} Apenas em 1987, foi descoberta sua função como precursor do NO que, desde então, tem sido extensamente estudada.²

A arginase é uma enzima que vem sendo muito estudada, por competir com a NOS pelo substrato L-arginina, em diferentes células. Esta enzima é muito importante no ciclo da uréia, catalizando a hidrólise da L-arginina em L-ornitina e uréia.²⁶ Por outro lado, Nw- hydroxy-L-arginine (L-NOHA), um intermediário da reação do NO, é um potente inibidor intracelular da arginase.^{26,27} A arginase existe em duas isoformas: o tipo I, que é uma proteína

citoplasmática, expressa principalmente no fígado, e o tipo II, que é mitocondrial e expressa em vários tecidos, principalmente o rim e a próstata.^{26,27} A arginase pode ser expressa em vários tecidos e tipos de células devido, principalmente, à exposição a citocinas.^{26,27}

Hibridização *in situ* e imunohistoquímica mostram que a arginase é produzida nos sítios onde há processo inflamatório ativo, como por exemplo em volta das vias aéreas e vasos sanguíneos, durante indução de inflamação em vias aéreas alérgicas.²⁷ Aparentemente, a principal fonte da arginase são as células mononucleares, mais especificamente, os macrófagos. Na asma, a atividade da arginase encontra-se aumentada, o que pode colaborar com a redução da disponibilidade da L-arginina para a NOS e gerar, assim, uma deficiência de NO, que contribui para a hiperreatividade das vias aéreas.^{14,27} Na hipertensão pulmonar, a atividade da arginase também parece estar aumentada, reduzindo também, dessa forma, a biodisponibilidade de L-arginina para a formação de NO.^{26,27}

Existem três principais fontes por meio das quais a L-arginina chega até o plasma: a via exógena, a produção no rim ou no fígado. Este último consome a L-arginina que produz, no ciclo da uréia, sendo, assim, o rim o maior responsável pela produção endógena da arginina.^{28,29} É possível estimar-se o metabolismo da L-arginina *in vivo*, através dos níveis plasmáticos de L-arginina, transporte intracelular de L-arginina, L-citrulina (atividade da NOS), uréia e creatinina, além dos níveis urinários e plasmáticos de GMPc e nitrato+nitrito.^{28,29}

Análogos de L-arginina

Os análogos de L-arginina não são capazes de servir de substrato, mas inibem o transporte e a NOS competitivamente. Há análogos endógenos e exógenos; estes últimos como, por exemplo, o N-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME) e aminoguanidina são, frequentemente, utilizados com fins de pesquisa.^{30,31}

Os análogos endógenos de L-arginina são a dimetilarginina assimétrica (ADMA), dimetilarginina simétrica (SDMA) e a monometil L-arginina (L-NMMA), que formam o grupo das metilargininas.^{30,31} Tanto o ADMA quanto o L-NMMA inibem a NOS. Além disso, causam um desacoplamento entre a NOS e seus co-fatores e, desta forma, a NOS passa a produzir espécies reativas de oxigênio (ROS), ao invés de NO, o que contribui para o aumento do estresse oxidativo. As metilargininas inibem, de maneira competitiva, o transporte de L-arginina pelos seus principais sistemas de transporte, o y^+ e o y^+L .^{19,32}

Atualmente, muita atenção tem sido dada ao ADMA, devido ao fato que estudos apontam este aminoácido como marcador de morbidade e mortalidade, para doença cardiovascular.³¹ O ADMA encontra-se elevado em diversas doenças, como obesidade, diabetes mellitus, dislipidemia e hipertensão arterial pulmonar.^{30,31}

O papel da via L-arginina-NO no pulmão

Crescentes evidências apontam o importante papel do NO na fisiologia pulmonar, assim como em

condições patológicas.^{3,33} O NO age na regulação do tônus vascular e brônquico, na modulação de condições inflamatórias e exerce uma função protetora contra a broncoconstrição excessiva; porém, em altas concentrações, promove a inflamação, hipersecreção da mucosa e lesão epitelial, contribuindo para a hiperreatividade das vias aéreas.³³

A NOS tipo III tem um papel importante no relaxamento da musculatura lisa brônquica e, portanto, na broncodilatação.¹⁴ Essa enzima é, constantemente, expressa no epitélio brônquico humano, no epitélio alveolar tipo II e acredita-se que também esteja presente no epitélio da mucosa nasal.³ A enzima NOS tipo II é, das três, a única cálcio-independente, tendo sua produção aumentada em resposta a mediadores inflamatórios, gerando um aumento na produção de NO.¹⁴ A NOS II é encontrada não apenas em macrófagos, mas pode ser induzida em muitas células do trato respiratório, nas células epiteliais alveolares tipo II, nos fibroblastos pulmonares, nas células do músculo liso brônquico ou vasculares, nas células epiteliais das vias aéreas, em mastócitos, nas células endoteliais e em neutrófilos.³ A NOS tipo I está presente nos nervos das vias aéreas, sendo a principal mediadora neuronal para o relaxamento do músculo liso, nas vias aéreas.²⁴

Por ser um vasodilatador endógeno local e participar no crescimento celular, o NO parece estar envolvido num grande mecanismo regulador do tônus vascular pulmonar. Seu papel crítico como vasodilatador e no crescimento celular, como descrito anteriormente, está relacionado com a produção de GMPc intracelular.³⁴

O NO também possui ação excitatória sobre a glândula submucosa, tendo um importante papel na regulação muco-secretora humana. Estudos experimentais com inibidores da NOS demonstraram uma diminuição no *clearance* mucociliar, que é reversível com infusão de L-arginina.³

Além disso, o NO participa da sinalização entre macrófagos e células T, é capaz de suprimir a proliferação de células e a produção de citocinas Th1 em modelos animais e favorece, assim, o desenvolvimento de resposta Th2.^{3,24}

A via L-arginina-óxido nítrico e hipertensão arterial pulmonar

A hipertensão arterial pulmonar pode ser definida como um conjunto de doenças caracterizadas por aumento progressivo da resistência vascular, que leva a falência ventricular direita e ao aumento da mortalidade, prematuramente.³⁵ A HAP pode apresentar diferentes etiologias, porém apresentações clínicas similares, podendo ser classificada em cinco categorias: hipertensão arterial pulmonar idiopática, hipertensão pulmonar associada a patologias cardíacas, hipertensão pulmonar associada a doenças pulmonares ou hipóxia, hipertensão pulmonar associada a doença trombótica e/ou embólica e miscelânea.^{35,36}

Clinicamente, a hipertensão pulmonar pode ser definida por uma pressão pulmonar média superior a 25mmHg, em repouso, ou superior a 30mmHg, durante atividade física.^{35,36}

Os exatos mecanismos envolvidos na fisiopatologia da HAP ainda não estão totalmente elucidados.³⁷ Entre os mecanismos já estudados, é possível identificar a presença de vasoconstrição, remodelamento da parede vascular pulmonar, inflamação e trombose.³⁵ Achados histopatológicos sugerem que a disfunção endotelial e o estímulo proliferativo celular são fundamentais para a fisiopatologia da HAP.³⁷

A disfunção endotelial pode estar associada a uma produção local deficiente de substâncias vasodilatadoras, como NO e prostaciclina, e/ou a um aumento da síntese de vasoconstrictores, como tromboxane A₂ e endotelina-1 (ET-1).³⁵ Estas anormalidades, além de levarem a vasoconstrição, promovem o remodelamento da parede vascular. A interação da parede vascular com plaquetas e células inflamatórias também contribui para este remodelamento.³⁸

Crescente evidência vem demonstrando que o NO encontra-se diminuído em pacientes portadores desta síndrome clínica.³⁴ Os trabalhos evidenciam que a redução da disponibilidade de NO, em pacientes com HAP, pode estar associada a vários fatores, como, por exemplo, redução dos níveis pulmonares de eNOS, que levaria a uma diminuição da síntese de NO.^{39,40} Uma outra possibilidade seria um aumento na atividade da arginase II, enzima que compete com a NOS pelo substrato L-arginina, levando a uma diminuição da produção de NO.³⁴

Estudos também vêm demonstrando uma diminuição dos níveis plasmáticos de L-arginina em pacientes com HAP, o que causaria uma redução da disponibilidade de substrato para a síntese do NO, nestes pacientes.⁴¹ Além disso, o análogo da L-arginina, ADMA, que inibe tanto o transporte de L-arginina como a síntese de NO, encontra-se em concentrações elevadas no plasma de pacientes com HAP idiopática e correlaciona-se com a mortalidade.⁴² Também foi mostrado que a infusão de ADMA, em voluntários hígidos, leva a um aumento da resistência vascular pulmonar.⁴²

Estes trabalhos sugerem que exista na HAP uma redução de disponibilidade de L-arginina, assim como uma redução da expressão da eNOS e níveis elevados de ADMA, o que desencadearia uma redução da síntese

de NO, na HAP. Baseado nestes achados, os fármacos que modulam a produção de NO, assim como do GMPc intracelular, são hoje, portanto, opções promissoras, seguras e de fácil utilização para o tratamento da HAP. Nesta revisão, discutiremos o uso do NO inalado, sildenafil e suplementação com L-arginina (Tabela 2).

Tabela 2 - Efeitos do sildenafil, NO inalado e L-arginina na hipertensão arterial pulmonar

Dosagem e Duração	Efeitos	Achados	Ref.
Sildenafil			
25-100 mg VO, 3 x dia, por 5-20 meses	↑	Diminuição da pressão sistólica pulmonar e melhora no exercício	45
100mg 1x	↑	Resposta aguda com aumento do GMPc plasmático e bloqueio da vasoconstrição por hipóxia em voluntários hígidos	46
20, 40 ou 80mg VO, 3 x dia, por 12 sem	↑	Melhora na capacidade de exercício e redução da pressão arterial pulmonar	47
NO inalado			
80ppm em 0,1 segundos da inspiração por 9 meses	↑	Melhora na função e hemodinâmica pulmonar	48
80 ppm de iNO por 5 min	↑	Diminuição da resistência vascular pulmonar e melhora da sobrevida	49
Terapia combinada			
80ppm iNO + 50 mg sildenafil	↑	Aumento na duração da vasodilatação pulmonar produzida pelo NO inalado quando associado à terapia com sildenafil	50
L-arginina			
0,5g/10 kg VO dose única	↑	Diminuição da pressão arterial média e resistência pulmonar	51
0,5g/10kg, 3 vezes ao dia, por 1 sem	↑	Melhora na capacidade de exercício	
500mg/kg IV em 30 min	↑	Vasodilatação aguda pulmonar e sistêmica	52

sem=semana; min=minutos, NO=óxido nítrico

Estudos experimentais demonstraram a presença da fosfodiesterase 5, enzima que degrada o GMPc, na musculatura vascular pulmonar e sua expressão aumentada naqueles com hipertensão pulmonar, abrindo a possibilidade para o uso de inibidores desta enzima como alternativa para o tratamento da HPA.²³

O sildenafil é um potente inibidor seletivo da enzima fosfodiesterase-5, o que leva a um aumento da meia vida do GMPc. Estudos experimentais demonstraram uma ação vasodilatadora pulmonar com o uso do sildenafil, associada a uma ação bloqueadora do remodelamento vascular em contínua exposição à hipóxia.²³ Pacientes com HAP primária tratados cronicamente com sildenafil tiveram uma diminuição da pressão arterial sistólica pulmonar.⁴³ Sua administração oral, em voluntários hígidos expostos a hipóxia, levou a um bloqueio da vasoconstrição pulmonar com aumento do GMPc plasmático, comparado com controles.⁴⁴

Um estudo multicêntrico, realizado em 2005, demonstrou a segurança e eficácia do tratamento com sildenafil em pacientes com HAP sintomática. Foram tratados 278 pacientes por 12 semanas e obtida melhora na hemodinâmica pulmonar, com diminuição da pressão arterial pulmonar, além de melhora da capacidade ao exercício.⁴⁵

Uma outra possibilidade terapêutica na HAP seria o uso de NO inalado, que tem efeito vasodilatador agudo. Sua via de administração permite que tenha ação direta e seletiva sobre o leito pulmonar.^{23,46} O NO inalado leva ao relaxamento da musculatura lisa dos vasos pulmonares, diminuindo a resistência vascular

pulmonar e a pressão pulmonar.⁴⁷ Seu uso crônico, por aproximadamente 9 meses, em pacientes com HAP idiopática, também trouxe melhoras na hemodinâmica e na função pulmonar.⁴⁸ Além disso, foi evidenciado que os pacientes que respondem ao uso de NO inalado apresentam uma melhor sobrevida, em 5 anos, do que aqueles que não respondem.⁴⁹

Os efeitos do NO inalado são potencializados na terapia combinada com sildenafil, pois este aumenta a disponibilidade do GMPc produzido pelo NO inalado. Recente estudo mostrou que a terapia combinada do NO inalado com sildenafil leva a um aumento da duração e magnitude da vasodilatação pulmonar, comparada à terapia isolada com NO inalado em pacientes com falência ventricular e HAP.⁵⁰

A suplementação com L-arginina, outra possibilidade terapêutica, levou a uma melhora aguda da pressão arterial pulmonar em pacientes com HAP.⁴¹ Esses efeitos, provavelmente, devem-se ao fato deste aminoácido ser o substrato para a produção de NO pelas NOS. O aumento da produção de NO endógeno pode ser demonstrado através do aumento de níveis plasmáticos de L-citrulina, um bioproduto da reação enzimática da NOS.⁵¹ A infusão aguda de L-arginina diminuiu a resistência vascular em pacientes com HAP, associada a um significativo aumento da produção endógena de NO.⁵¹

Administração oral de L-arginina uma única vez, em pacientes com hipertensão arterial pulmonar pré-capilar, também levou a uma diminuição aguda da resistência vascular pulmonar e da pressão arterial média no pulmão, sendo que seu uso por 1 semana levou a uma melhora no exercício.⁵²

NO e asma

O Terceiro Consenso Brasileiro no Manejo da Asma define asma como uma doença inflamatória caracterizada por hiperresponsividade das vias aéreas inferiores e por limitação variável do fluxo aéreo, que pode reverter-se, espontaneamente ou com o tratamento. Na asma, podem estar envolvidos tanto fatores genéticos como fatores ambientais, tais como a exposição a alérgenos.⁵³

A asma é caracterizada por infiltrado inflamatório rico em eosinófilos, degranulação de mastócitos, lesão intersticial da parede das vias aéreas, e ativação de linfócitos Th2.^{53,54} O tipo Th2 produz interleucinas 4, 5, 6, 9 e 13, que são mediadoras das respostas alérgicas. Estas células apresentam tanto a NOS constitutiva como a induzível, sendo esta última expressa na presença de citocinas em certas condições patológicas, como a asma.⁵⁵ O NO tem um papel importante na regulação do sistema imune, podendo levar a inibição da produção de interferon-gama e de IL-2 pelas células Th1, mas sem exercer qualquer ação sobre as citocinas liberadas pelos linfócitos Th2, favorecendo a resposta destas células.^{3,55}

Na asma, há produção aumentada de muco, o que pode gerar tampões mucosos, aumento da reatividade do músculo liso da via aérea, alterações na

permeabilidade vascular e no tônus das vias aéreas, além de anormalidades na integridade epitelial e no controle neural autonômico.^{53,54} A liberação de substâncias pró-inflamatórias, como as citocinas, contribui para a inflamação crônica e pode causar alterações de caráter anatômico.^{53,54}

Há evidência crescente sugerindo a participação do NO na fisiopatologia da asma.³ A função do NO no sistema respiratório é paradoxal. Dependendo do local e da quantidade em que é produzido, o NO exerce efeitos tanto maléficos como benéficos nas vias aéreas.³ Alguns estudos indicam que altas concentrações de NO podem ser prejudiciais, por promover inflamação e assim causar dano no epitélio e edema na mucosa, contribuindo para a hiperresponsividade das vias aéreas.¹⁴ Contudo, tem sido constatado que o NO endógeno exerce uma importante ação reguladora na responsividade das vias aéreas ao estímulo broncoconstritor, o que pode ser benéfico na asma.¹⁴

Vários estudos vêm demonstrando que o NO exalado encontra-se aumentado e correlaciona-se com a gravidade da doença.^{3,24} Nos pacientes asmáticos, a NOS tipo II encontra-se ativada, em resposta a mediadores inflamatórios presentes na asma, o que leva a uma produção aumentada de NO, que se difunde para a luz das vias aéreas e, por essa razão, os níveis de NO exalado em pacientes asmáticos encontram-se aumentados.^{14,24}

Existe controvérsia em relação aos níveis plasmáticos de L-arginina, precursor do NO, na asma. Por um lado, existe evidência de que pacientes asmáticos exibem uma redução dos níveis de L-arginina plasmática, se comparados com controles.^{14,56} Já estudo realizado por Fogarty et al. não mostra nenhum efeito da asma sobre a concentração plasmática de L-arginina.⁵⁷

Outra importante via metabólica da L-arginina é o ciclo da uréia, onde este aminoácido é metabolizado, através da arginases.^{14,27,56} Tanto a arginase I como a II são fortemente induzidas durante asma experimental.^{14,56} Hibridização *in situ* e imunohistoquímica indicam que arginase tipo I está presente em sítios de inflamação, na periferia de vias aéreas e vasos sanguíneos, durante a indução de inflamação na via aérea alérgica, e encontra-se ativada.¹⁴

Além disso, quando a L-arginina é metabolizada pela arginase, produz-se L-ornitina, que serve como um precursor para L-prolina e poliaminas, que estão envolvidas no remodelamento ao promover síntese de colágeno e proliferação celular.⁵⁸ Isso sugere que a L-arginina é de grande importância na patogênese da asma e que a modulação de seus níveis pode afetar o seu metabolismo, por ambas as vias.^{14,56}

A arginase e NOS competem pela L-arginina e, assim, co-regulam negativamente a atividade uma da outra. A arginase é induzida pela IL-4 e IL-13, o que irá diminuir o substrato para a NOS e, conseqüentemente, a produção de NO por macrófagos.^{14,59} Muitos estudos já demonstraram que as interações

entre as duas enzimas estão relacionadas com o surgimento da resposta alérgica.¹⁴

A alergia é uma doença mediada pelas células Th2, e a atividade das arginases encontra-se aumentada nos pulmões de modelos animais, depois de sensibilização com olvabumina. Meurs *et al* formularam a hipótese de que a hiperreatividade das vias aéreas nesses animais poderia ser causada por uma deficiência de NO devida à atividade aumentada da arginase, que consumiria a L-arginina diminuindo, dessa maneira, a produção de NO.⁶⁰ Porém, essa inibição da produção de NO mediada pela arginase pode ser útil na regulação do NO produzido por macrófagos, pois a sua produção em grande quantidade poderia levar a uma apoptose desta célula. Sendo assim, há um ténue equilíbrio entre os benefícios e os malefícios do NO na asma.³

Devido à ação ambígua do NO na asma, recentes estudos vêm investigando, tanto o efeito do substrato L-arginina como dos seus análogos, que bloqueariam a síntese de NO, mas ainda existem poucos estudos publicados na literatura, e os resultados são controversos (Tabela 3).

A nebulização com L-arginina causou, nos pacientes asmáticos, o aumento do NO exalado, o que demonstra a possibilidade de se alterar a atividade da NOS pelo aumento do substrato.⁶¹ Já a suplementação com L-arginina por via oral não influenciou a hiperreatividade a histamina em pacientes asmáticos.⁶²

Outro importante alvo das pesquisas é o uso de inibidores da

NOS. O inibidor da NOS não seletivo mais estudado é o L-NMMA. Estudos demonstram que a inibição da NOS causa diminuição do NO exalado, além de atenuar o estreitamento brônquico, após resfriamento e reaquecimento das vias aéreas em pacientes asmáticos.⁶³ Em contraste, não houve melhora significativa na broncoconstrição induzida pelo exercício.⁶⁴ Também há estudo com inibidor seletivo de NOS tipo II, L-N6-(l-iminoetil)lisina (L-NIL), que demonstrou uma supressão no NO exalado por um longo período, sem ter efeitos deletérios sobre o sistema cardiovascular.⁶⁵

Conclusão

Apesar de já terem sido feitos grandes avanços no estudo da via L-arginina –NO, na asma e HAP, futuras investigações são necessárias para avaliar a exata importância fisiopatológica da biodisponibilidade do NO nestas condições patológicas, especialmente na asma. A compreensão mais adequada destas doenças poderá propiciar uma terapêutica mais eficaz e, conseqüentemente, uma redução da morbi-mortalidade.

Tabela 3 - Efeitos da L-arginina e seus análogos na asma

Dosagem e duração	Efeitos	Achados	Ref.
L-arginina			
L-arginina nebulização 0,0075mg/ml	↑	Aumento dose dependente de NO exalado em pacientes asmáticos, mas não em controles	61
L-arginina 50mg/Kg via oral	---	L-arginina não influenciou a hiperreatividade a histamina em pacientes asmáticos	62
Análogos da L-arginina			
Nebulização com 1mg de L-NMMA	↑	L-NMMA atenuou o estreitamento brônquico após resfriamento e reaquecimento das vias aéreas em pacientes asmáticos	63
Nebulização com 10mg L-NMMA	---	Pacientes não apresentaram resposta significativa na broncoconstrição induzida pelo exercício	64
L-NIL 20mg via oral	↑	Longo período de diminuição do nível de NO exalado	65

sem=semana; min=minutos, NO=óxido nítrico

REFERÊNCIAS

- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
- Moncada S, Higgs EA. The Discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol* 2006;147:5193-5201.
- Ricciardolo FLM, Sterk PJ, Gaston B, Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev* 2004;84:731-65.
- Ignarro LJ, Birns 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. *Proc Fed Am Soc Exp Bio* 1987;46:644P.
- Khan MT, Furchgott RF. Similarities of behaviour of nitric oxide (NO) and endothelium-derived relaxing factor (EDRF) in a perfusion cascade bioassay system. *Proc Fed Am Soc Exp Biol* 1987;6:385.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric Oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Reviews* 1991;43:109-42.
- Mendes-Ribeiro AC, Brunini TMC, Ellory JC, Mann GE. Abnormalities in L-arginine transport and nitric oxide biosynthesis in chronic renal and HF. *Cardiovasc Res* 2001;49:697-712.
- Gross SS. Nitric oxide synthases and their cofactors. In *Nitric oxide and the kidney: physiology and pathophysiology*. Chapman and Hall 1997;52-65.
- Lane P, Gross SS. Cell signaling by nitric oxide. *Semin Nephrol* 1999;19(3):215-29.
- Ignarro LJ, Lun W. Nitric oxide in the regulation of vascular function: an historical overview. *J Card Surg* 2002;17(4):301-6.
- Huynh NN, Chin-Dusting. Amino acids, arginase and nitric oxide in vascular health. *J Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33(1-2):1-8.
- Friebe A, Koesling D. Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Circ Res* 2003; 93(2): 96-105.
- Fan Chung K. Phosphodiesterase inhibitors in airways disease. *Eur J Pharmacol* 2006;8:110-7.
- Zimmermann N, Rothenberg ME. The arginine-arginase balance in asthma and lung inflammation. *Euro J Pharmacol* 2006;533:253-62.
- Brunini TMC, Resende AC, Moss MB, Soares De Moura R, Mendes Ribeiro AC. L-arginine availability in essential hypertension, chronic renal and heart failure. *Vascular Disease Prevention* 2005;2:37-51.
- Morris S M Jr, Guoyao W U. Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. *Biochem* 1998;336:1-17.
- Barbul A. Arginine: biochemistry, physiology and therapeutic implications. *J Parent Ent Nut* 1985;10:227-38.
- Deves R, Boyd CAR. Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure and function. *Physiol Rev* 1998;78:487-45.
- Mann GE, Yudilevich DL. Sobrevia L. *Physiol Rev* 2003;83:183-252.
- Mendes Ribeiro AC, Brunini TML. Arginine transport in disease. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2004;2(2):123-31.
- Brunini TMC, Yaqoob MM, Novaes Malagris LE, Ellory JC, Mann GE, Mendes Ribeiro AC. Increased nitric oxide synthesis in uremic platelets is dependent on L-arginine transport via system y⁺L. *Pflügers Arch* 2003;445:547-50.

22. Brunini TM, Roberts NB, Yaqoob MM, Ellory JC, Mann GE, Mendes Ribeiro AC. Activation of L-arginine transport in undialysed chronic renal failure and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33(1-2):114-8.
23. Steiner MK, Preston IR, Klingrand JR, Hill NS. Pulmonary hypertension: inhaled nitric oxide, sildenafil and natriuretic peptides. *Current Opinion in Pharmacology* 2005;5:245-50.
24. Fischer A, Folkests G, Geppetti P, Groneberg DA. Mediators of Asthma: Nitric oxide. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics* 2002;15: 73-81
25. Reyes AA, Karl I, Klahr S. Role of L-arginine in health and in renal disease. *Am J Physiol* 1994;267:331-46.
26. Huynh NN, Chin-Dusting J. Amino Acids, arginase and nitric oxide in vascular health. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2006;33:1-8.
27. Morris SM. Enzymes of L-arginine metabolism. *J Nutr* 2004;134:2743S-2747S.
28. Stuehr DJ. Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. *J Nutr* 2004;134:2748S-51S.
29. Brunini TM, da Silva CD, Siqueira MA, Moss MB, Santos SF, Mendes-Ribeiro AC. Uremia, atherothrombosis and malnutrition: the role of L-arginine-nitric oxide pathway. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Target* 2006;6(2):33-40
30. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine:dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(6): 1023-30.
31. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Ann Med* 2006;38(2):126-36.
32. Brunini T, Moss M, Siqueira M, Meirelles L, Rozentul A, Mann G, Ellory J, Soares de Moura R, Mendes-Ribeiro A. Inhibition of L-arginine transport in platelets by asymmetric dimethylarginine and N-monomethyl-L-arginine: effects of arterial hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004;31(10): 738-40.
33. Reynaert NL, Ckless K, Wouters EF, van der Vliet A, Janssen-Heininger YM. Nitric oxide and redox signaling in allergic airway inflammation. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7(1-2):129-43.
34. Xu W, Takao Kaneko F, Zheng S, Comhair SAA, Janocha AJ, Goggans T, et al. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension. *The FASEB Journal* 2004; 18(14):1746-8.
35. Galiè N, Torbicki A, Barst R, Dartevelle P, Haworth S, Higenbottam T, et al. Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. *European Heart Journal* 2004;25:2243-78.
36. Golpon HA, Welt T, Hoeper MM. Pulmonary arterial hypertension: pathobiology, diagnosis and treatment. *Minerva Med* 2005;94:303-14.
37. Rubin, LJ. Pulmonary arterial hypertension. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:111-15.
38. Eddahibi S, Morrell N, Ortho MP, Naeije R, Adnot S. Pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2002;20:1559-72.
39. Fonseca JCC, Balzano CDM, Leon RS. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Arch bronconeumol* 2005;41:389-92.
40. Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995;333:214-21.
41. Morris CR, Morris SM, Hagar W, Warmerdam JV, 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;168:63-69.
42. Kielstein JT, Bode-Boger SM, Hesse G, Martens-Lobenhoffer J, Takacs A, Fliser D, et al. Asymmetrical dimethylarginine in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;7:1 414-8.
43. Sastry BKS, Narasimhan C, Reddy NK, Anand B, Prakash GS, Raghava Raju P, Kumar DN. A study of clinical efficacy of sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Indian Heart J* 2002;54:410-14.
44. Zhao L, Mason NA, Morrell NW, Kojonazarov B, Sadykov A, Maripov A, et al. Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 2001;104:424.
45. 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;353:2148-57.
46. Griffiths MJD, Evans TW. Inhaled nitric oxide therapy in adults. *N Engl J Med* 2005;353:2683-95.
47. Howard LSGE, Morrell SW. New therapeutic agents for pulmonary vascular disease. *Paediatric Respiratory Reviews* 2005;6:285-91.
48. 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;109:1545-49.
49. 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;18:1651-6.
50. Lepore JJ, Maroo A, Bigatello LM, Dec GW, Zapol WM, Bloch KD, Semigran MJ. 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.
51. Mehta S, Stewart DJ, Langleben D, Levy RD. Short-term Pulmonary Vasodilation With L-Arginine in Pulmonary Hypertension. *Circulation* 1995;92:1539-45.
52. 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 pre-capillary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;163(4):887-91.
53. Mauad T, Souza ASL, Saldiva PHN, Dolhnikoff M. Remodelamento brônquico na asma. *J Pneumologia* 2000;26 (2):91-8.
54. Busse WW, Lemanske F Jr. Asthma. *N Eng J Med* 2001;344 (5):350-62.
55. Bingisser RM, Holt PG. Immunomodulating mechanisms in the lower respiratory tract: nitric oxide mediated interactions between alveolar macrophages, epithelial cells, and T-cells. *Swiss Med Wkly* 2001;131(13-14):171-9.
56. Morris CR, Poljakovic M, Lavrisa L, Machado L, Kuypers F A, Morris S M Jr. Decreased Arginine Bioavailability and increased serum arginase activity in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170: 48-53.
57. Fogarty A, Broadfield E, Lewis S, Lawson N, Britton J. Amino acids and asthma: a case-control study. *Eur Respir J* 2004;23(4):565-8.
58. Mulrennan SA, Redington AE. Nitric oxide synthase inhibition: therapeutic potential in asthma. *Treat Respir Med* 2004;3 (2):79-88.
59. Ricciardolo FL. cNOS-iNOS paradigm and arginase in asthma. *Trends Pharmacol Sci* 2003;24(11):560-1
60. Meurs H, Maarsingh H, Zaagsma J. Arginase and asthma: novel insights into nitric oxide homeostasis and airway hyperresponsiveness. *Trends Pharmacol Sci* 2003;24(9):450-5.
61. Sapienza MA, Kharitonov SA, Horvath I, Chung KF, Barnes PJ. Effect of inhaled L-arginine on exhaled nitric oxide in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 1998;53: 172-5.
62. Gouw HWM, Verbruggen MB, Twiss IM, Sterk PJ. Effect of oral L-arginine on airway hyperresponsiveness to histamine in asthma. *Thorax* 1999; 54:1033-5.
63. Kotaru C, Skowronski M, Coreno A, McFadden E R Jr. Inhibition of nitric oxide synthesis attenuates thermally induced asthma. *J Appl Physiol* 2001;91:703-08.
64. De Gouw HW, Marshall-Partridge SJ, Van Der Veen H, Van Den Aardweg JG, Hiemstra PS, Sterk PJ. Role of nitric oxide in the airway response to exercise in healthy and asthmatic subjects. *J Appl Physiol* 2001;90(2):586-92.
65. Barnes PJ, Hansel T, Sergei AK, Donnelly LE, Erin EM, Currie MG, et al. A selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase inhibits exhaled breath nitric oxide in healthy volunteers and asthmatics. *FASEB Journal* 2003;17:1298-1300.