

Óxido Nítrico em Vias Aéreas Superiores: uma Nova Perspectiva em Otorrinolaringologia?

José Miguel Chatkin

O óxido nítrico (NO) era considerado somente com um componente da poluição atmosférica até que, em 1978, surgiram relatos de que pudesse estar envolvido na vasoregulação. Em 1980, Furchgott et al.¹ relataram que a vasodilatação é regulada por uma substância derivada do endotélio e, alguns anos mais tarde, quase que simultaneamente, Ignarro et al.² e Palmer et al.³ demonstraram que esta substância era o óxido nítrico. Estes investigadores receberam o prêmio Nobel alguns anos após, quando determinaram que este óxido nítrico tinha papel vital em uma multiplicidade de processos fisiológicos e fisiopatológicos.

O NO tem papel importante na vaso-regulação, controlando o fluxo sanguíneo e a pressão arterial, mediando o tônus vasodilatador de repouso. Também controla a homeostasia, inibindo o contato entre o endotélio e as plaquetas, previne a adesão de leucócitos e ainda atua na cascata da coagulação. Tem sido proposto como neurotransmissor para o sistema nervoso central, interferindo na percepção da dor, memória, aprendizado e depressão. Também tem papel no sistema nervoso periférico autônomo não adrenérgico não colinérgico – NANC. No aparelho respiratório, está relacionado com a broncodilatação neural.

Além disso, provê uma primeira linha de defesa contra microorganismos por meio de atividades antivirais⁴ e antimicrobianas⁵ e por estimular a atividade ciliar⁶. A correlação entre os níveis de NO nasal com a frequência de batimentos ciliares e o teste de transporte de sacarina reforça esta afirmação⁷.

Em outra perspectiva, a inflamação crônica pode levar à produção de vários metabólitos, entre eles o NO, que pode ter ação citotóxica e mesmo genotóxica, danificando o DNA. Em condições especiais, o NO está também envolvido em atividades tumoricidas do sistema imune e, em outras situações, na angiogênese e desenvolvimento de metástases. Assim, dependendo do tipo e da fase da inflamação e da resposta individual, o NO parece ter papel tanto pró-como anti-inflamatório, reforçando a idéia de que esta substância, à semelhança de vários outros mediadores, possa ter função dupla.

O NO está envolvido em muitos eventos fisiológicos como regulação da relação ventilação/perfusão nos pulmões, defesa do hospedeiro, gravidez, ereção peniana, peristaltismo, tolerância à morfina, entre muitos outros.

O NO é encontrado no nariz e nas cavidades paranasais não apenas nos tecidos, fluido intersticial ou compartimento intravascular, mas como constituinte do próprio gás existente na via aérea superior.

NO no ar exalado (ENO)

A primeira demonstração de NO no ar exalado ocorreu em 1991 e cerca de dois anos após, Alving et al.⁸ publicaram o achado de elevados níveis em asmáticos, com posterior decréscimo sob uso de corticóides. No mesmo estudo, relataram a existência de concentrações altas em via aérea superior.

Concentrações elevadas de NO foram encontradas em várias situações clínicas, como asma⁸, bronquiectasias, infecção respiratória viral e rinite. Está, entretanto, diminuído em tosse crônica, tabagismo, uso de álcool, sinusite aguda⁹ e crônica e discinesia ciliar primária.

NO Nasal

O achado de concentrações altas de NO no nariz⁸ e cavidades paranasais¹⁰, mesmo em pessoas híidas, em comparação com as concentrações existentes em vias aéreas inferiores, renovou o interesse que este gás pudesse ser o elo entre os dois setores das vias aéreas.

Conexões entre as vias aéreas intra e extra-torácicas têm sido relatadas há vários anos. Associação entre hiperresponsividade brônquica, decréscimo de VEF1 em portadores de polipose nasal e rinite alérgica¹¹ já foi demonstrada. Por outro lado, polipectomias, tratamento cirúrgicos em seios paranasais¹² ou uso de corticóides nasais¹³ sabidamente melhoram a função pulmonar em pacientes com asma. É possível que o elo entre as duas porções das vias aéreas seja o NO, como será abordado neste texto.

Existem evidências que o NO produzido nas vias aéreas superiores seja um modulador da função pulmonar, melhorando a relação ventilação-perfusão¹⁴.

O NO é também reconhecido como um derivado da exaustão de motores de automóveis e um componente do gás doméstico. Existe também em concentrações tão altas como 50 ppm na fumaça do cigarro, o que levou à especulação de que pudesse haver retroalimentação negativa, suprimindo a produção normal endógena. Assim, os níveis reduzidos de NO encontrados no ar exalado de fumantes seria consequência deste mecanismo. Em não fumantes, as concentrações são bem mais altas e níveis ainda mais altos foram identificados s cavidades paranasais maxilar e frontal¹⁵.

Os níveis alterados de NO exalado, encontrados em várias situações clínicas, e a modificação após o uso de esteróides, sugere um possível papel diagnóstico e também de marcador de doenças. A relação entre NO e os marcadores clássicos de inflamação ainda não está plenamente estabelecida .

Em resumo, o NO nasal está aumentado na rinite alérgica, diminuído na sinusite aguda e na polipose; é dependente do grau de obstrução da cavidade nasal.

Vários fatores podem interferir no resultado final da concentração do NO, sendo que alguns estão resumidos na **(Tabela 1)**.

FATOR
Idade
Sexo
Menstruação
Gravidez
Volume nasal
Posição supina
Anestésicos locais
Antibióticos
Hisamina
Hipóxia
Tabagismo
Exercício
Corticosteróides
Agentes descongestionantes
Inibidores das NOS
Ciclo nasal
Murmurar
L-arginina
Vasodilatadores

(Tabela 1). Fatores que podem interferir no resultado final da concentração do NO

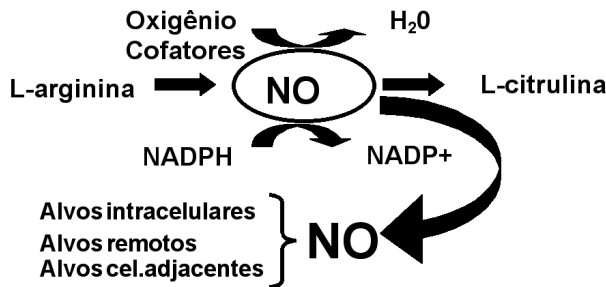
A origem do NO nasal

O NO é sintetizado a partir do amino-ácido semiessencial L-arginina, por ação de sintases (NOS), produzindo L-citrulina. Para a concretização desta reação química, vários cofactores, oxigênio e NADPH são necessários. O NO produzido é rapidamente oxidado à nitrito (NO_2^-), que pode ser usado para monitorar a própria formação de NO, mas também de íons nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-).

A NOS existe em diferentes isotipos: a forma constitutiva (cNOS) e a indutível (iNOS), e denominadas de acordo com sua localização principal, endotelial (eNOS) ou neuronal (nNOS). Essas enzimas são expressões de diferentes cromossomas, cujos genes estão localizados nos cromossomas 7, 12 e 17. Elas têm diferentes necessidades para serem ativadas. Enquanto as nNOS e eNOS são dependentes de Ca^{2+} -calmodulina e produzem quantidades pequenas de NO, a iNOS é independente da presença de Ca^{2+} -calmodulina. Sendo ativada por citocinas e endotoxinas pró-inflamatórias, produzem quantidades de NO até 1000 vezes maiores de NO do que as cNOS, resultando em efeitos fisiológicos distintos. Apesar da iNOS encontrada nas cavidades paranasais produzir NO em grandes quantidades, possui algumas características das cNOS. A indução da iNOS requer transcrição genética e portanto a produção de NO só ocorre depois de um intervalo de tempo de algumas horas e pode continuar por vários dias. (**Figura 1**)

Muitos tipos de células no sistema respiratório tanto superior como inferior, possuem a capacidade de produzir NO. Entre elas, neurônios do sistema parassimpático, células endoteliais, e células ciliadas da mucosa, além de

Síntese de Óxido Nítrico



(Figura 1)

neutrófilos, macrófagos e fibroblastos. É provável que as quantidades medidas no ar exalado seja a produzida superficialmente na mucosa, já que a originada em estruturas mais profundas são aprisionadas pela hemoglobina.

De qualquer modo, a origem do NO medido no ar exalado é ainda controversa. Lundberg et al.¹⁰ encontraram concentrações de NO nas cavidades paranasais várias centenas de vezes maior (3000-25000ppb) do que a detectada no ar exalado (10-20ppb) e sugeriram que a maior parte do gás provém de tais cavidades. Há também evidências imuno-histoquímicas de maiores concentrações de iNOS na mucosa sinusal, quando comparada à mucosa nasal. Entretanto, evidências recentes sugerem que as cavidades paranasais não sejam os únicos locais de produção de NO, já que concentrações altas de NO são também encontradas em recém-nascidos, antes mesmo do desenvolvimento de suas cavidades paranasais.

A produção de NO na mucosa nasal

As informações sobre a produção de NO pela mucosa nasal hídida ainda são escassas. Em amostras de tecido retirado de pessoas com rinite, forte coloração para eNOS foi localizada no endotélio vascular, epitélio e glândulas da submucosa. Em quadros crônicos de rinite, a impregnação para iNOS foi moderada e localizada na superfície epitelial, glandular e endotélio vascular. Em polipose, Ramis et al¹⁶ encontraram que os pólipos continham níveis mais altos de NOS (tipo iNOS) que nos demais tecidos, que apresentavam expressão somente de NOS da forma constitutiva.

Esses achados sugerem um possível papel para as NOS na regulação do fluxo nasal, secreção nasal e movimentos ciliares em condições normais ou patológicas.

Produção, absorção e liberação do NO das vias aéreas

As vias nasais protegem as vias aéreas inferiores, umidificando, aquecendo e filtrando o ar inalado. As características particulares aerodinâmicas das vias nasais resultam em maior contato entre o ar inspirado e a mucosa nasal. Desse modo, não apenas partículas, mas também gases nocivos inalados são removidos antes que alcancem as delicadas estruturas alveolares pulmonares. A eficácia da remoção desse material sólido ou mesmo gasoso depende do tamanho das partículas e, no caso dos gases, da solubilidade e concentração.

Como o NO era considerado apenas um gás poluente nas vias aéreas, foi surpresa o achado de concentrações tão altas como 20-30ppm dentro das cavidades paranasais saudáveis. Achados semelhantes foram determinados apenas alguns poucos minutos após a estagnação da circulação do fluxo aéreo ¹⁷.

Entretanto, as concentrações de NO medidas no nariz e cavidades paranasais, refletem a liberação e não a produção de NO. A velocidade da corrente aérea tem impacto na medida da concentração do gás, tanto por técnicas que o medem por meio do componente exalado, como aspirado. Em cada segmento da mucosa nasal, há elementos que produzem e absorvem NO. A taxa de absorção é proporcional à concentração existente no lúmen. Assim, as cavidades nasais podem ser descritas como um integrador linear que acumula o gás à medida que a corrente de ar o percorre. Parte deste total sofre reações químicas, parte é absorvida pelo sangue por meio da mucosa, e parte provavelmente dissolve-se, em parcelas que não são medidas pelas técnicas usuais de determinação da concentração de NO no ar exalado.

O resultado do NO exalado é certamente influenciado pelo fluxo utilizado para avaliação. No nariz, o fluxo provavelmente por si só não altera a produção, mas meramente representa a taxa na qual o NO liberado na mucosa nasal é removido para o ar ambiente e mensurado por equipamentos.

Considerações aerodinâmicas sobre a liberação de NO nasal

Independentemente da técnica utilizada para medir o NO nasal, é essencial o registro da concentração, somente quando houver certeza que o equilíbrio gasoso foi alcançado. Vários estudos utilizando técnicas de aspiração do ar contido na via aérea superior inicialmente usaram o fluxo determinado pelo próprio equipamento, geralmente na faixa de 0.2 a 0.7L/min. Em tais fluxos baixos, a corrente laminar evitará a penetração do ar em zonas mais íntimas das passagens aéreas do nariz, com o que a turbulência mínima necessária para colher todo o gás existente deixará de ocorrer. Fluxos abaixo de 1L/min não mimetizam as condições aerodinâmicas da respiração nasal e, conseqüentemente, o *plateau* registrado nos equipamentos analisadores de NO pode não ser representativo do equilíbrio fisiológico. Esta situação fica mais distorcida na presença de congestão nasal, quando o fluxo fica mais diminuído e as medidas obtidas podem não ser confiáveis.

As mudanças na passagem de ar pelo nariz ocorrem constantemente, de modo espontâneo ou em resposta a modificações posturais, temperatura do corpo, exercício, rinite, descongestão química ou estimulação por histamina. Tem sido sugerido que o volume nasal e a resistência à passagem do ar possam influenciar a liberação de NO nasal em regimes de fluxos baixos. Entretanto, quando fluxos mais fisiológicos, na faixa de 2 a 6L/min, são utilizados, não se detectam modificações da concentração de NO, secundários ao uso de salina ou mesmo com redução de volume secundário à mudança de postura. Redução de 10-15 % na concentração de NO é usualmente encontrada após o uso de drogas descongestionantes, mas esta redução parece não estar relacionada a alterações de volume da cavidade.

O papel do NO na inter-relação da fisiologia nasal e via aérea

O ar atmosférico contém concentrações de NO que podem ser de até 200ppb, ou mesmo mais altas em áreas mais poluídas. Durante a breve passagem de ar ao longo dos 6-9 cm da via nasal, a concentração aumenta aproximadamente 100ppb, considerando que o fluxo aéreo esteja em torno dos níveis fisiológicos de 6L/min. Ao alcançar as vias aéreas periféricas e retornar às vias superiores, a concentração reduz-se a menos da metade da original. Assim, sob condições fisiológicas, o nariz e as cavidades paranasais parecem ser produtores de NO, enquanto os pulmões consumidores.

O NO acumula-se fisiologicamente em períodos de não-ventilação na cavidade nasal, como durante o ciclo nasal, fonação ou respiradores bucais. O reinício do fluxo resultará na inalação de NO para as vias inferiores, determinando vários efeitos, como broncodilatação, adequação da relação ventilação-perfusão e possivelmente incremento nos mecanismos de defesa do hospedeiro. Assim, o ciclo nasal cria alternância da concentração de NO nas vias nasais. Em respiradores nasais, a maior parte do fluxo ocorre pela narina patente, enquanto ocorre aumento local de NO, por represamento, na narina oposta menos ventilada, alcançando concentrações capazes de reduzir o crescimento bacteriano, replicação viral ou aumentar a motilidade ciliar.

A constatação de concentrações altas de NO nas cavidades paranasais e a também concentração alta liberada no nariz acrescentou uma nova perspectiva à Rinologia e, quem sabe, novas explicações à fisiologia do nariz e de seu impacto em todas as vias aéreas.

Considerando que a mucosa nasal é um local comum de infecção, é surpreendente que estas situações clínicas não envolvam mais freqüentemente as cavidades paranasais. É possível que as concentrações altas de NO, agora reconhecidas, estejam relacionadas com a proteção contra a invasão microbiana, tanto por meio de ação antimicrobiana e antiviral, como do aumento da ação ciliar. Este raciocínio explica a freqüência alta de sinusites em portadores de fibrose cística e em polipose nasal, situações em que o NO está baixo. O baixo nível de NO durante a fase aguda da sinusite reverte-se após o uso de antibióticos⁹, um achado que reforça esta concepção. Do mesmo modo, o rápido aumento do nível de NO em cada ciclo respiratório pode ter papel similar na defesa da orofaringe, além da modulação da função pulmonar.

Isto pode ser de importância particular no ciclo nasal. A redução da freqüência de infecções do trato superior e de otites, observada após a remoção de adenóides pode, em parte, ser atribuída à restauração da respiração nasal e conseqüentemente ao melhor efeito protetor do NO nasal. Cirurgias endoscópicas, criando amplas anastomias podem, entretanto, impedir a restauração de concentrações altas de NO necessárias para os mecanismos de defesa acima descritos. Apesar da evacuação bem sucedida do líquido acumulado e da aeração da cavidade, alguns casos não tem a diminuição esperada dos episódios infecciosos, possivelmente por este mecanismo de não acumulação de NO.

A auto-inalação do NO é mais uma vantagem importante da respiração nasal quando comparada com a bucal. Lundberg et al¹⁴ mostraram que a respiração nasal

melhora a saturação de oxigênio, comparada com a bucal e que, além disso, a infusão de ar que já passou pela cavidade nasal em pacientes intubados melhora a captação de oxigênio. A hipertensão pulmonar pode ser melhorada em crianças e adultos com obstrução grave, com a infusão de NO.

Medida de NO nasal

O conhecimento atual sugere que a mensuração do NO exalado e de outros gases pode ser ferramenta diagnóstica ou de acompanhamento úteis para várias doenças, envolvendo vias aéreas superiores e inferiores. Tais técnicas podem ajudar a avaliar o impacto do tratamento e de outras intervenções em situações tão freqüentes, como asma e rinite alérgica. Além disso, podem também avaliar níveis de poluição intra e extra-domiciliares.

Como a concentração medida de NO é fluxo-dependente, é fundamental que os procedimentos sejam padronizados. Há um consenso publicado pela American Thoracic Society e European Respiratory Society definindo critérios e técnicas para a utilização do NO exalado. Entretanto, a dupla passagem de ar pela cavidade nasal, com abertura anterior e posterior, provê a necessidade de técnicas especiais e variadas, cujas vantagens e desvantagens começam a ser avaliadas.

Referências bibliográficas

1. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
2. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:9265-9269.
3. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-526.
4. Croen KD: Evidence for antiviral effect of nitric oxide. Inhibition of herpes simplex virus type 1 replication. *J Clin Invest* 1993;91:2446-2452.
5. Mancinelli RL, McKay CP: Effects of nitric oxide and nitrogen dioxide on bacterial growth. *Appl Environ Microbiol* 1993;4691:198-202.
6. Jain B, Rubinstein I, Robbins RA, Leise KL, Sisson JH: Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;191:83-88.
7. Lindberg S, Cervin A, Runer T: Low levels of nasal nitric oxide (NO) correlate to impaired mucociliary function in the upper airways. *Acta Otolaryngol* 1997;117:728-734.
8. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM: Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993;6:1368-1370.
9. Baraldi E, Azzolin NM, Biban P, Zacchello F: Effect of antibiotic therapy on nasal nitric oxide concentration in children with acute sinusitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1680-1683.
10. Lundberg JO, Farkas-Szallasi T, Weitzberg E, Rinder J, Lidholm J, Anggaard

- A, Hokfelt T, Lundberg JM, Alving K: High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nat Med* 1995;1:370-373.
11. Annesi I, Oryszczyn MP, Neukirch F, Orvoen-Frija E, Korobaeff M, Kauffmann F: Relationship of upper airways disorders to FEV1 and bronchial hyperresponsiveness in an epidemiological study. *Eur Respir J* 1992;5:1104-1110.
 12. English GM: Nasal polypectomy and sinus surgery in patients with asthma and aspirin idiosyncrasy. *Laryngoscope* 1986;96:374-380.
 13. Aubier M, Levy J, Clerici C, Neukirch F, Herman D: Different effects of nasal and bronchial glucocorticosteroid administration on bronchial hyperresponsiveness in patients with allergic rhinitis. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:122-126.
 14. Lundberg JO, Settergren G, Gelinder S, Lundberg JM, Alving K, Weitzberg E: Inhalation of nasally derived nitric oxide modulates pulmonary function in humans. *Acta Physiol Scand* 1996;158:343-347.
 15. Haight JS, Djupesland PG, Qian W, Chatkin JM, Furlott H, Irish J, Witterick I, McClean P, Fenton RS, Hoffstein V, Zamel N: Does nasal nitric oxide come from the sinuses? *J Otolaryngol* 1999;28:197-204.
 16. Ramis I, Lorente J, Rosello-Catafau J, Quesada P, Gelpi E, Bulbena O: Differential activity of nitric oxide synthase in human nasal mucosa and polyps. *Eur Respir J* 1996;9:202-206.
 17. Chatkin JM, Qian W, McClean PA, Zamel N, Haight J, Silkoff P: Nitric oxide accumulation in the nonventilated nasal cavity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125:682-685.