

ÓXIDO NÍTRICO. REVISÃO

Nereide Freire Cerqueira¹
Winston Bonetti Yoshida²

Cerqueira NF, Yoshida WB. Óxido nítrico: revisão. *Acta Cir Bras* [serial online] 2002 Nov-Dez;17(6). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

RESUMO – O óxido nítrico é um mediador gasoso responsável por uma variedade de fenômenos fisiológicos. A l-arginina é a precursora da síntese do óxido nítrico, na presença de óxido nítrico-sintase. Este artigo revê as funções das óxido nítrico-sintases e como o óxido nítrico atua na permeabilidade vascular e na síndrome de isquemia e reperfusão, assim como possíveis métodos para sua mensuração.

DESCRITORES – Óxido nítrico. Permeabilidade vascular.

INTRODUÇÃO

Em 1980, FURCHOGOTT E ZAWADZKI¹ demonstraram que o relaxamento vascular induzido por acetilcolina foi dependente da presença do endotélio e evidenciaram que este efeito foi mediado por um fator humoral lábil, mais tarde conhecido como fator de relaxamento dependente do endotélio (EDRF).

Em 1987 foi demonstrado que esse fator de relaxamento derivado do endotélio era um radical livre, o óxido nítrico (NO). PALMER e col. (1987)² sugeriram que EDRF e óxido nítrico eram indistinguíveis na atividade biológica, estabilidade química e susceptibilidade à inibidores ou potencialização e que ambos tinham sua ação inibida pela hemoglobina e potencializada por superóxido dismutase. Porém, alguns autores alegaram que a forma ativa do EDRF não era o NO, mas um precursor do NO ou um tiol derivado do NO³. O óxido nítrico foi escolhido como a molécula do ano de 1992⁴.

O óxido nítrico pode ser um oxidante ou um redutor dependendo do meio em que ele está e é rapidamente destruído pelo oxigênio⁵, sendo que sua oxidação produz nitrito e nitrato⁶. O NO tem o menor peso molecular de qualquer produto de secreção celular

de mamíferos; sua meia-vida é curta e a especificidade de suas reações é mínima⁷. O NO é citotóxico e vasodilatador⁸ e modula reações inflamatórias ou antiinflamatórias, dependendo do tipo celular e do estímulo⁹.

A molécula do NO tem um elétron não pareado e reage facilmente com oxigênio, radical superóxido, ou metais de transição, como ferro, cobalto, manganês ou cobre⁶. O NO tem alta afinidade com o heme, encontrado em proteínas intracelulares (óxido nítrico-sintase, cicloxigenase e guanilato ciclase) e também liga-se a grupos -SH, formando tiol¹⁰; é um gás incolor e estável, moderadamente solúvel em água e sua meia-vida varia de 3 a 60 segundos, mas pode ser maior devido ao ambiente do NO, concentração de O₂ e O₂⁻_{6,11-16}.

Parece que o NO exerce maior efeito na imunidade inespecífica do que na específica, exibindo atividade citostática ou citocida contra uma notável amplitude de microorganismos patogênicos^{8, 17}.

PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO

Várias células utilizam a arginina para sintetizar o óxido nítrico¹⁸⁻²⁰. Nas células do endotélio vascular, na

1. Pós-graduanda em Cirurgia Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista - UNESP – Botucatu.
2. Professor Adjunto Livre Docente do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Botucatu.

presença de oxigênio molecular, o terminal guanidino nitrogenado da L-arginina produz o radical livre gasoso, NO, e L-citrulina em um processo catalisado pela enzima óxido nítrico-sintase¹³.

O NO atravessa o espaço do endotélio para o músculo liso vascular e estimula diretamente a enzima guanilato ciclase solúvel e a conseqüente formação de cGMP (monofosfato cíclico de guanosina) intracelular, resultando no relaxamento das células da musculatura lisa vascular^{15,21} (Figura 1).

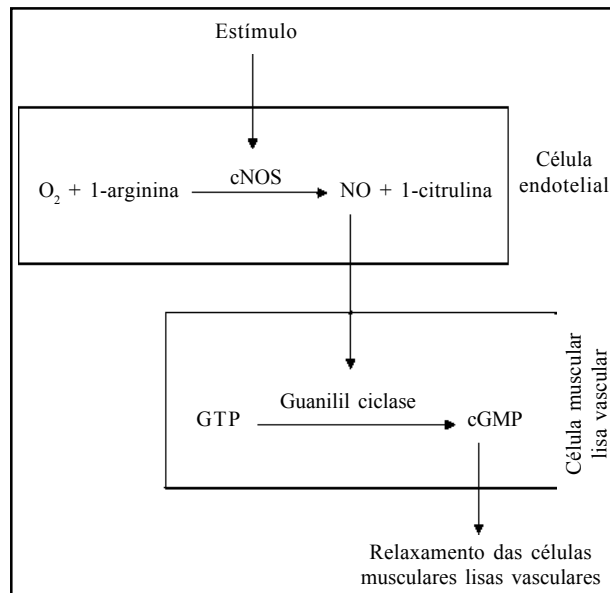


FIGURA 1 - Mecanismo de vasodilatação mediado pelo óxido nítrico (NO), em resposta a vários estímulos, como bradicinina ou acetilcolina. A enzima óxido nítrico-sintase constitutiva (eNOS) utiliza o oxigênio molecular (O_2) e o aminoácido L-arginina para formar o NO. O NO ativa a guanilil ciclase nas células da musculatura lisa vascular, aumentando o nível de monofosfato cíclico de guanosina (cGMP), produzindo relaxamento e vasodilatação. Adaptado de FARREL e BLAKE, 1996²¹.

Quando o cGMP está alto, o cálcio intracelular aumenta, relaxando a células e a vasodilatação se desenvolve. A vasodilatação se mantém enquanto a difusão do NO para a musculatura lisa vascular estiver ocorrendo. Um aumento no fluxo de NO para a musculatura lisa vascular provoca maior relaxamento celular e maior vasodilatação. Se a formação de NO diminui, ocorre uma vasoconstrição moderada¹⁰. O efeito vasodilatador do NO parece ser mantido por estímulos físicos do fluxo pulsátil e força de cisalhamento nas células endoteliais vasculares²².

O NO também pode ser produzido pelas células musculares lisas, podendo regular a atividade dessas células por um mecanismo dependente da $GMPC^23$.

A interação do NO com a guanilil ciclase solúvel provoca muitos efeitos fisiológicos e patofisiológicos. Entretanto, o NO ou os produtos de sua reação com oxigênio molecular e radicais superóxido podem modificar diferentes macromoléculas como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos para produzir tanto efeitos fisiológicos como patofisiológicos. O NO também pode reagir diretamente com metais de transição²⁴.

FUNÇÕES DO ÓXIDO NÍTRICO

O NO medeia vários fenômenos, como vasorrelaxamento dependente do endotélio, citotoxicidade mediada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária, relaxamento do corpo cavernoso peniano humano, regulação da pressão sanguínea basal, depressão sináptica a longo prazo, potencialização da transmissão sináptica a longo prazo, microcirculação medular e glomerular e prevenção de piloroespasmo em estenose pilórica hipertrófica infantil. A atividade do NO foi relatada em endotélio, cerebelo, nervos não adrenérgicos não colinérgicos (NANC), macrófagos, neutrófilos, rins, células epiteliais pulmonares, mucosa gastrointestinal e miocárdio^{6,25-28}. O NO também pode ser responsável pela vasodilatação presente na angiogênese fisiológica ou patológica, como no caso de tumores²⁹.

No cérebro, o NO participa do aprendizado e da memória e pode mediar respostas excitatórias a certos aminoácidos. No trato gastrointestinal, o NO medeia o relaxamento não adrenérgico não colinérgico da musculatura longitudinal e circular do esfíncter esofágico, estômago, duodeno, intestino delgado e esfíncter anal interno⁹.

No sistema respiratório, os nervos NANC da musculatura lisa bronquiolar liberam o NO como mediador do controle neurogênico da broncodilatação. No sistema reprodutor, o NO controla o relaxamento da musculatura lisa do corpo cavernoso peniano e seus vasos sanguíneos aferentes. Esse relaxamento muscular e vascular leva à tumescência vascular necessária à ereção⁹.

No sistema circulatório, em particular na coagulação sanguínea, o NO está envolvido com a cascata fibrinolítica e trombótica associados com dano endotelial, sendo que as propriedades antitrombóticas do NO resultam em parte da inibição da adesão e agregação plaquetária^{13,27}. A deficiência de NO foi associada com trombose arterial²⁷.

Nos vasos sanguíneos, o NO exerce função na modulação do diâmetro vascular e da resistência vascular pela sua habilidade em relaxar o músculo liso vascular. O NO inibe interações de elementos sanguíneos circulatórios com a parede do vaso. Uma deficiên-

cia de NO pode promover trombose vascular, restenose, aterogênese e injúria da reperfusão³⁰⁻³². A diminuição da vasodilatação dependente do endotélio pode ser induzida por hipertensão, diabetes e/ou aterosclerose¹¹. O NO pode ser um inibidor da adesão leucocitária em microvasos pós-capilares^{33,34}.

Artérias e arteríolas produzem mais NO do que veias e vênulas, sendo que a vasodilatação provocada pelo cisalhamento é maior em artérias do que em arteríolas e vasos resistentes¹⁰. Nas artérias, porém não nas veias, há liberação contínua de NO, mantendo o tônus dilatador⁸.

Em condições fisiológicas, a formação de NO pode estar acima dos níveis basais quando há aumento do fluxo sanguíneo e o contato entre sangue e parede está facilitado. O aumento no fluxo provoca relaxamento nas células musculares lisas e dilatação do vaso. A tendência das plaquetas em se aderir à parede vascular, que poderia ser aumentada pelo cisalhamento, também é neutralizada pela elevada formação de NO¹⁰.

Resumidamente, em condições basais, em indivíduos saudáveis, há tônus vasodilatador moderado e constante, causado pelo NO endotelial se difundindo para as células da musculatura lisa vascular; se a formação basal de NO cessa, aparecerá vasoconstrição. A baixa formação de NO (em várias doenças vasculares) reduz a perfusão tecidual e promove a formação de trombo, enquanto a alta formação de NO (patológico) produz vasodilatação pronunciada e choque e com a redução da atividade plaquetária a homeostase fica prejudicada¹⁰.

ÓXIDO NÍTRICO-SINTASE

A óxido nítrico-sintase (NOS) é a enzima responsável pela síntese do NO. Três isoformas de NOS são descritas, sendo uma NOS induzida (iNOS) e duas NOS constitutivas (eNOS)^{6,22}.

As óxido nítrico-sintases estão presentes no citosol, e são inibidas por análogos da L-arginina⁸ e requerem NADPH, tetrahidrobiopterina (BH4), flavina adenina dinucleotídeo (FAD), flavina mononucleotídeo (FMN) e heme como cofatores¹².

A isoforma I ou óxido nítrico-sintase neuronal (nNOS) é uma NOS constitutiva, presente em neurônios, células epiteliais, SNC e SNP periférico, sistema NANC, mácula densa do rim, medula adrenal, músculo esquelético, órgão sexual masculino, células b pancreática e outros. É cálcio-calmodulina dependente e regula a transmissão sináptica no SNC; atua na regulação central da pressão sanguínea, no relaxamento do músculo liso e na vasodilatação via nervos periféricos.

Também regula o fluxo sanguíneo cerebral local e está envolvida na formação da memória³⁵.

A isoforma II ou óxido nítrico-sintase induzida (iNOS) é uma NOS induzida por citocinas e lipopolissacarídeos, no endotélio e musculatura lisa vascular. Não é regulada por cálcio. Produz grande quantidade de NO que tem efeito citostático por inibição de enzimas contendo ferro, também causando fragmentação de DNA. Atua em parasitas e células tumorais³⁵.

A isoforma III ou óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) é uma NOS constitutiva e produz NO em endotélio vascular sob condições basais, mas a força de cisalhamento produzida pelo fluxo sanguíneo pode incrementar sua produção. O NO liberado no lúmen vascular é um potente inibidor de adesão e agregação plaquetária na parede vascular e também inibe a adesão de leucócitos ao endotélio vascular, inibe a síntese de DNA, mitogênese e a proliferação de células da musculatura lisa vascular e, também é responsável pela regulação da pressão sanguínea e contratilidade do músculo cardíaco^{35,36}. Sua expressão é restrita a células endoteliais vasculares, embora existam relatos da sua localização no hipocampo, sendo sua expressão em humanos significativamente suprimida pela hipóxia²².

O NO é sintetizado pela ativação da cNOS basal (em células endoteliais vasculares e neurônios) segundos a minutos após o aumento na concentração de cálcio em resposta à ativação de receptores da superfície celular e mecanismos de transdução de sinal⁹. Sua síntese não é afetada pela administração de glicocorticóides¹¹. A cNOS apresenta forma monomérica, é cálcio-calmodulina dependente e tem peso molecular de 133 kd. É expressa continuamente na ausência de agentes indutores, com síntese basal de concentração picomolar¹³.

Ao contrário, a iNOS não depende de cálcio para ativação, mas a síntese de mRNA da iNOS é necessária para sua atividade. A NOS induzida não é detectável em condições basais. LPS ou endotoxinas bacterianas, junto com citocinas, como TNF α , IL-1b ou IF-g, induzem a síntese de iNOS, de 2 a 4 horas após a exposição ao agente. A iNOS requer síntese protéica para sua expressão e sua atividade persiste por mais de 24 horas⁹. É encontrada sob forma de monômero e tetrâmero com peso molecular de 130 kd¹³.

A indução de iNOS pode ser suprimida por TGBb, IL-4, IL-10 sozinhos ou sinergicamente com macrófagos, por IL-8 e por glicocorticóides, que inibem a indução, mas não a atividade das enzimas já induzidas¹¹.

Segundo DAVIES e col. (1995)¹¹, após a indução, iNOS é ativa por 20 horas e sintetiza NO em

concentrações nanomolares, 1000 vezes maior que cNOS²². A indução da iNOS é responsável pelas propriedades citotóxicas do NO⁶.

O NO é formado na parede vascular tanto pela cNOS como pela iNOS. A quantidade de NO produzida pode determinar se ele é protetório ou tóxico. Embora pequenas quantidades sejam necessárias para a homeostasia, grandes quantidades, como aquelas produzidas na ativação da iNOS são citotóxicas. Porém, a produção de grandes quantidades de NO pode ser importante na defesa contra invasores celulares, tumores celulares e ainda em lesões vasculares com perda endotelial^{13,37-39}.

A expressão da iNOS é o resultado de uma resposta inflamatória localizada ou difusa resultante de uma infecção ou dano tecidual. Assim, onde a resposta inflamatória é parte de uma resposta adaptativa (isto é, infecção ou sepse), a expressão de iNOS é benéfica; quando a expressão da iNOS é parte da inflamação anormal (não adaptativa), a expressão de iNOS pode ser nociva (isto é, doença autoimune). Do lado benéfico, a expressão da iNOS resulta em inibição do crescimento de patógenos microbianos. A expressão de iNOS também parece proteger tecidos de danos em resposta inflamatória aguda sistêmica, também chamada de sepse. A vasodilatação resultante da expressão de iNOS em vasos sanguíneos maximiza a perfusão tecidual em sepse, embora, se excessiva, a pressão sanguínea possa tornar-se perigosamente baixa. A expressão de iNOS em endotoxemia é citoprotetória, inibindo microtrombose pela prevenção de adesão plaquetária e danos mediados por radicais. Os efeitos benéficos da expressão da iNOS podem ser vistos tanto em infecções localizadas quanto em conseqüências sistêmicas da infecção. O oposto tem sido relatado em respostas inflamatórias crônicas localizadas. A síntese de NO dependente de iNOS por macrófagos no espaço subendotelial e o potencial para sua inibição por lipoproteínas de baixa densidade podem ter um impacto na patogênese dos vasos sanguíneos ateroscleróticos⁴⁰.

A inibição da atividade da iNOS durante sepse pode aumentar a pressão arterial, mas a inibição da cNOS endotelial pode acentuar a agregação plaquetária e aderência de leucócitos ao endotélio resultando em trombose e dano a tecido normal¹⁵.

ÓXIDO NÍTRICO E PERMEABILIDADE VASCULAR

A inibição do NO endógeno pode provocar aumento da permeabilidade vascular⁴¹, entretanto, a administração exógena de óxido nítrico não provocou alteração na permeabilidade microvascular⁴².

A inibição da produção de NO provocou redução nos níveis de GMPc celular, interrompendo a defosforilação dependente de GMPc da cadeia de miosina. Este evento causou contração das células endoteliais e um aumento no tamanho das junções celulares interendoteliais levando a aumento na permeabilidade microvascular^{41,43}.

Além disso, o NO pode ser um importante varredor fisiológico e/ou inativador do ânion superóxido, um agente oxidante que pode ativar mastócitos. A inibição do NO leva aumento no nível de antioxidantes e ativação de mastócitos que se degranulam e aumentam a permeabilidade vascular. A degranulação de mastócitos pode ser inibida pela adição de doadores de NO^{44,45}.

Porém, segundo SALVEMINI e col. (1996)⁴⁶, o NO é um potente vasodilatador e seu envolvimento na resposta inflamatória pode ter relação com sua habilidade em aumentar a permeabilidade vascular e o edema através de mudanças no fluxo sanguíneo local e do aumento na produção de prostaglandinas pró-inflamatórias.

ÓXIDO NÍTRICO E ISQUEMIA E REPERFUSÃO

A isquemia-reperfusão é associada ao aumento no número de leucócitos aderidos e emigrados, aumento no extravasamento de albumina, formação de agregados de plaquetas e leucócitos dentro de vênulas pós-capilares e degranulação dos mastócitos ao redor dos microvasos mesentéricos. A redução dos níveis de NO em tecidos após isquemia-reperfusão pode ser devida à inativação da NOS e inativação do próprio NO pelo superóxido que é produzido nesses tecidos⁴⁷. Segundo ANDREWS e col. (1994)⁴⁸, a diminuição do NO durante perfusão pode ocorrer ou pela destruição do NO pela sua reação com radicais superóxido gerados na perfusão ou pela destruição das células endoteliais, que são fonte de NO, por radicais livres derivados do oxigênio gerados na perfusão.

A disfunção endotelial caracteriza-se por uma redução marcada na liberação de NO após a perfusão, que é seguida por um aumento da aderência de leucócitos ao endotélio reperfundido, tornando-se significativa 20 minutos após a perfusão⁴⁹.

Dois potentes inibidores da aderência e ativação são PGI₂ e NO, que são potentes vasodilatadores, mas também inibem aderência de leucócitos e agem sinergicamente para inibir a interação entre plaqueta e vaso. A atividade dessas substâncias é bastante reduzida durante a perfusão, onde a disfunção endotelial é manifestada pela perda da vasodilatação dependente de NO^{32,50}.

O NO apresenta efeitos vasodilatadores benéficos no sistema microvascular, mas paradoxalmente pode estar envolvido na produção de radicais citotóxicos. O NO pode reagir com superóxido e produzir o ânion peroxinitrito e dióxido de nitrogênio, que podem iniciar a peroxidação lipídica e potencializar a lesão inflamatória em células vasculares⁵¹⁻⁵⁴.

O aumento no nível de superóxido causa adesão leucocitária, que pode ser prevenida pela adição de óxido nítrico. O NO age como barreira fisiológica (varre ou inativa) para ânions superóxido citotóxicos produzidos continuamente por todas as células. O NO e o superóxido parecem regular a aderência de leucócitos ao endotélio; parecem regular também a ativação e degranulação de mastócitos, eventos que promovem adesão leucocitária. Doadores de NO bloqueiam a liberação de PAF e de histamina de mastócitos ativados, enquanto o superóxido promove degranulação de mastócitos quando a síntese de NO é abolida^{45,55}.

A isquemia-reperfusão do intestino delgado é caracterizada por aumento da permeabilidade microvascular e disfunção da barreira mucosa. Neutrófilos e superóxido derivado dos neutrófilos são os primeiros mediadores da disfunção mucosa e microvascular que ocorre após a isquemia e reperfusão. A liberação de NO ocorre em várias regiões do intestino, como endotélio vascular, células da musculatura lisa, nervos entéricos (NANC) e células epiteliais. Talvez o NO contribua como uma molécula protetória e antiinflamatória em todas as camadas da parede intestinal⁵⁶. Pode-se observar redução na produção de NO após reperfusão em intestino delgado de gatos⁵⁷. A administração de NO mostrou efeito protetório em lesões decorrentes de isquemia e reperfusão mesentérica^{47,58,59}.

Em isquemia cerebral, o NO pode mostrar efeitos benéficos ou neurotóxicos, quando em concentrações excessivas^{11,13,60}.

Em isquemia e reperfusão do miocárdio, o NO apresentou efeitos cardioprotetórios e atenuou a disfunção endotelial⁶¹ e, segundo SIEGFRIED e col. (1992)⁶², doadores de NO reduziram em um terço a área necrótica após isquemia e reperfusão do miocárdio, em comparação ao grupo controle.

MENSURAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO

A mensuração do NO é essencial para o entendimento da função do NO em diversos processos biológicos. A medida do NO em espécies biológicas é difícil pela sua pequena quantidade e pela sua labilidade na presença de oxigênio.

A presença de NO em sistemas biológicos é frequentemente determinada com base no efeito fisioló-

gico, como relaxamento dos vasos sanguíneos, ativação da guanilil ciclase, aumento na concentração de cGMP, produção de citrulina ou inibição da agregação plaquetária. Também pode ser avaliada usando-se inibidores da síntese de NO, como análogos da L-arginina ou hemoglobina^{5,63}. Todos esses métodos têm diferentes graus de especificidade e fornecem informações indiretas sobre a produção de NO. Apenas a cGMP ou a concentração de citrulina podem ser usadas para obter informações quantitativas relacionadas com a quantidade de produção de NO⁶.

A produção de NO também pode ser determinada pela mensuração de isótopos estáveis no plasma ou excretados na urina após administração de arginina marcada⁶⁴⁻⁶⁷.

A mensuração direta do óxido nítrico *in vivo* foi realizada por HUK e col. (1997)⁶⁸, que mediram a liberação do NO em microvasos da musculatura esquelética de coelhos, durante isquemia e reperfusão. Microsensores foram usados para medir o NO liberado em vasos sanguíneos de voluntários sadios⁶⁹ e a concentração de NO cerebral após isquemia e reperfusão em ratos⁷⁰.

Embora o óxido nítrico seja objeto de muitas pesquisas e de um grande número de publicações, ainda existem muitas questões controversas e numerosas dúvidas que precisam ser esclarecidas.

REFERÊNCIAS

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980; 288:373-6.
2. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 1987; 327:524-6.
3. Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 1990; 30:535-60.
4. Koshland JR., DE. The molecule of year. *Science*, 1992; 258:1861.
5. Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J*, 1993; 7:349-60.
6. Kiechele FL, Malinski T. Nitric oxide: biochemistry, pathophysiology, and detection. *Am J Clin Pathol*, 1993; 100:567-75.
7. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J*, 1992; 6:3051-64.
8. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 1991; 43:109-42.
9. Adams HR. Physiologic, pathophysiologic, and therapeutic implications for endogenous nitric oxide. *J Am Med Assoc* 1996; 279:1297-302.
10. Wennmalm A. Endothelial nitric oxide and cardiovascular disease. *J Int Med*, 1994; 235:317-27.
11. Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg*, 1995; 82:1598-610.

12. Farrel AJ, Blake DR. Nitric oxide (review). *Ann Rheum Dis*, 1996; 55:7-20.
13. Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg*, 1995; 221:220-35.
14. Lowenstein CJ, Lohomon HS. Nitric Oxide, a novel biologic messenger. *Cell*, 1992; 70:705-7.
15. Lyons CR. The role of nitric oxide in inflammation. *Adv Immunol*, 1995; 60:323-55.
16. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science*, 1992; 258:1898-901.
17. De Groote MA, Fang FC. NO inhibitions: antimicrobial properties of nitric oxide. *Clin Infect Dis*, 1995; 21(suppl 2):S162-5.
18. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 1988; 333:664-6.
19. Wiesinger H. Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Prog Neurobiol*, 2001; 64:365-91.
20. Wu G, Morris Jr SM. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J*, 1998; 336:1-17.
21. Conger FD. Endothelial regulation of vascular tone. *Hosp Pract*, 1994; 15:117-26.
22. Wong GKT, Marsden PA. Nitric oxide synthases: regulation in disease. *Nephrol Dial Transplant*, 1996; 11:215-20.
23. Mollace V, Salvemini D, Anggard E, Vane J. Nitric oxide from vascular smooth muscle cells: regulation of platelet reactivity and smooth muscle cell guanylate cyclase. *Br J Pharmacol*, 1991;104:633-8.
24. Davis KL, Martin E, Turko IV, Murad F. Novel effects of nitric oxide. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 2001; 41:203-36.
25. Barrachina MD, Panes J, Esplugues JV. Role of nitric oxide in gastrointestinal inflammatory and ulcerative diseases: perspective for drugs development. *Curr Pharm Des*, 2001; 7:31-48.
26. Gibaldi M. What is nitric oxide and why are so many people studying it? *J Clin Pharmacol*, 1993; 33:488-96.
27. Loscalzo J. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circ Res*, 2001; 88:756-62.
28. Shapira S, Kadar T, Weissman BA. Dose-dependent effect of nitric oxide synthase inhibition following transient forebrain ischemia in gerbils. *Brain Res*, 1994; 668:80-4.
29. Ziche M, Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis. *J Neurooncol*, 2000; 50:139-48.
30. Chester AH, O'neil GS, Moncada S, Tadjkarimi S, Yacoub MH. Low basal and stimulated release of nitric oxide in atherosclerotic epicardial coronary arteries. *Lancet*, 1990; 336:897-900.
31. Cooke JP, Singer AH, Tsao P, Zera P, Rowan RA, Billingham ME. Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J Clin Invest*, 1992; 90: 1168-72.
32. Cooke JP, Tsao PS. Cytoprotective effects of nitric oxide. *Circulation*, 1993; 88:2451-4.
33. Arndt H, Russell JB, Kurose I, Kubes P, Granger DN. Mediators of leukocyte adhesion in rat mesenteric venules elicited by inhibition of nitric oxide synthesis. *Gastroenterology*, 1993; 105:675-80.
34. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 1991; 88:4651-5.
35. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes: characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, 1994; 23(part 2):1121-31.
36. Murrel GAC, Dolan MM, Jang D, Szabo C, Warren RF, Hannafin JA. Nitric oxide: an important articular free radical. *J Bone Joint Surg*, 1996; 78-A:265-74.
37. Gaboury J, Woodman RC, Granger DN, Reinhardt P, Kubes P. Nitric oxide prevents leukocyte adherence: role of superoxide. *Am J Physiol*, 1993; 265:H862-7.
38. Payne D, Kubes P. Nitric oxide donors reduce the rise in reperfusion-induced intestinal mucosal permeability. *Am J Physiol*, 1993; 265:G189-95.
39. Yan Z, Yokota T, Zhan W, Hansson GK. Expression of inducible nitric oxide synthase inhibits platelet adhesion and restores blood flow in the injured artery. *Circ Res*, 1996; 79:38-44.
40. Morris SM, Billiar TR. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am J Physiol*, 1994;266:E829-39.
41. Kubes P. Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide. *Am J Physiol*, 1993a; 265:G143-9.
42. Kubes P, Reinhardt PH, Payne D, Woodman RC. Excess nitric oxide does not cause cellular, vascular, or mucosal dysfunction in the cat small intestine. *Am J Physiol*, 1995; 269:G34-41.
43. Kurose I, Kubes P, Wolf R, Anderson DC, Paulson J, Muiyasa M, Granger DN. Inhibition of nitric oxide production: mechanisms of vascular albumin leakage. *Circ Res*, 1993; 73:164-71.
44. Alican I, Kubes P. A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction. *Am J Physiol*, 1996; 270:G225-37.
45. Kubes P, Kanwar S., Niu X, Gaboury JP. Nitric oxide synthesis inhibition induces leukocyte adhesion via superoxide and mast cells. *FASEB J*, 1993; 7:1293-9.
46. Salvemini D, Wang Z, Wyatt PS, Bourdon DM, Marino MH, Manning PT, Currie MG. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *Br J Pharmacol*, 1996; 118:829-38.
47. Kurose I, Wolf R, Grisham MB, Granger DN. Modulation of ischemia/reperfusion - induced microvascular dysfunction by nitric oxide. *Circ Res*, 1994; 74:376-82.
48. Andrews FJ, Malcontenti-Wilson C, O'brien PE. Protection against ischemia-reperfusion injury by nitric oxide generators. *Dig Dis Sci*, 1994; 39:366-73.
49. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res*, 1996; 32:743-51.
50. Lefer AM, Lefer DJ. Pharmacology of the endothelium in ischemia-reperfusion and circulatory shock. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1993; 33:71-90.
51. Beckman J, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87:1620-4.
52. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg*, 1994; 81:637-47.
53. O'Donnell VB, Freeman BA. Interactions between nitric oxide and lipid oxidation pathways: implications for vascular disease. *Circulation*, 2001; 88:12-21.
54. Oeckler RA, Wolin MS. New concepts in vascular nitric oxide signaling. *Curr Atheroscler Rep*, 2000; 2:437-44.
55. Mackendrick W, Caplan M, Hsueh W. Endogenous nitric oxide protects against platelet-activating factor-induced bowel injury in the rat. *Pediatr Res*, 1993; 34:222-8.
56. Kubes P. Nitric oxide-induced microvascular permeability alterations: a regulatory role for cGMP. *Am J Physiol*, 1993b; 265:H1909-15.

57. Kanwar S, Tepperman BL, Payne D, Sutherland LR, Kubes P. Time course of nitric oxide production and epithelial dysfunction during ischemia/reperfusion of the feline small intestine. *Circ Shock*, 1994; 42:135-40.
58. Aoki N, Johnson III, G, Lefer A. Beneficial effects of two forms of NO administration in feline splanchnic artery occlusion shock. *Am J Physiol*, 1990, 258:G275-81.
59. Carey C, Siegfried MR, Ma X, Weyrich AS, Lefer AM. Antishock and endothelial protective actions of a NO donor in mesenteric ischemia and reperfusion. *Circ Shock*, 1992; 38:209-16.
60. Souza-Filho MVP, Lima MVA, Pompeu MML, Ballejo G, Cunha FQ, Ribeiro RA. Involvement of nitric oxide in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *Am J Pathol*, 1997; 150:247-56.
61. Matheis G, Sherman MP, Buckberg GD, Haybron DM, Young HH, Ignarro LJ. Role of L-arginine-nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury. *Am J Physiol*, 1992; 262:H616-20.
62. Siegfried MR, Erhardt J, Rider T, Ma X, Lefer AM. Cardioprotection and attenuation of endothelial dysfunction by organic nitric oxide donors in myocardial ischemia-reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther*, 1992; 260:668-75.
63. Bode-Böger SM, Böger RH, Alfke H, Heinzel D, Tsikas D, Creutzig A, Alexander K, Frölich JC. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilatation in patients with critical limb ischemia. *Circulation*, 1996; 93:85-90.
64. Beaumier L, Castillo L, Ajami AM, Young VR. Urea cycle intermediate kinetics and nitrate excretion normal and "therapeutic" intakes of arginine in humans. *Am J Physiol*, 1995; 269:E884-96.
65. Becker WK, Shippee RL, McManus AT, Mason AD, Pruitt BA. Kinetics of nitrogen oxide production following experimental thermal injury in rats. *J Trauma*, 1993; 34:855-62.
66. Castillo L, Sánchez M, Vogt J, Chapman TE, Derojas-Walker TC, Tannenbaum SR, Ajami AM, Young VR. Plasma arginine, citrulline, and ornithine kinetics in adults, with observations on nitric oxide synthesis. *Am J Physiol*, 1995; 268:E360-7.
67. Forte P, Kneale BJ, Milne E, Chowienczyk PJ, Johnston A, Benjamin N, Ritter JM. Evidence for a difference in nitric oxide biosynthesis between healthy women and men. *Hypertension*, 1998; 32:730-4.
68. Huk I, Nanobashvili J, Neumayer C, Punz A, Mueller M, Afkhampour K, Mittlboeck M, Losert U, Polterauer P, Roth E, Patton S, Malinski T. L-arginine treatment alters the kinetics of nitric oxide and superoxide release and reduces ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *Circulation*, 1997; 96:667-75.
69. Vallance P, Patton S, Bhagat K, Macallister R, Radomski M, Moncada S, Malinski T. Direct measurement of nitric oxide in human beings. *Lancet*, 1995; 345:153-54.
70. Zhang ZG, Chopp M, Bailey F, Malinski T. Nitric oxide changes in the rat brain after transient middle cerebral artery occlusion. *J Neurol Sci*, 1995; 128:22-7.

Cerqueira NF, Yoshida WB. Nitric oxide: review. *Acta Cir Bras* [serial online] 2002 Nov-Dec; 17(6). Available from URL: <http://www.scielo.br/acb>.

ABSTRACT - Nitric oxide is a gaseous mediator responsible for a variety of physiologic effects. The l-arginine is the precursor of the synthesis of nitric oxide in presence of nitric oxide synthase. This article reviews the functions of nitric oxide synthases, the action of nitric oxide on vascular permeability and ischemia-reperfusion injury, as well as possible methods for determination of NO.

KEY WORDS - Nitric oxide. Vascular permeability.

Conflito de interesse: nenhum
 Fonte de financiamento: nenhuma

Endereço para correspondência:

Nereide Freire Cerqueira
 Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária
 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – UNESP
 Distrito de Rubião Jr. – Caixa Postal 560
 18618-000 Botucatu – SP
 Tel: (14)6802-6252
 Fax: (14)6802-6072
nereide@fmvz.unesp.br

Data do recebimento: 18/09/2002
 Data da revisão: 29/09/2002
 Data da aprovação: 08/10/2002