

FACULDADE DE CERES
CURSO DE FARMÁCIA

ALINE OLIVEIRA FARIA
FABIANA SOARES SCARAMAL
FLÁVIA MENEZES GUEDES
GISELE DO NASCIMENTO OLIVEIRA

O EFEITO DO ÓXIDO NÍTRICO SOBRE O MÚSCULO LISO

CERES – GO
2012

ALINE OLIVEIRA FARIA
FABIANA SOARES SCARAMAL
FLÁVIA MENEZES GUEDES
GISELE DO NASCIMENTO OLIVEIRA

O EFEITO DO ÓXIDO NÍTRICO SOBRE O MÚSCULO LISO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de bacharel em
Farmácia pela Faculdade de Ceres.

Orientadora: MSc. Patrícia Ferreira da Silva Castro

“A Deus, pela saúde, fé e perseverança que tem me dado. A Viviane Castro Mendes, minha fiel companheira na hora da tribulação. Ao meu filho Victor Rodrigues, aos meus pais e amigos pelo incentivo a busca de novos conhecimentos, a Patrícia Ferreira pela sabedoria e dedicação com a qual supervisionou.”

Aline Oliveira Faria

“Aos meus pais Renata e Edgar, meus maninhos queridos Stephany e Pedro Lucas, meus avôs Manuel e Nino e avós Anita e Amélia que AMO TANTO pelo amor, carinho, compreensão e exemplo de vida. E a todos que acreditaram em mim e tiveram a certeza de que eu conseguiria chegar até aqui.”

Fabiana Soares Scaramal

“A Deus, a minha mãe Maria Luiza, ao meu pai Rubismar, aos meus irmãos, aos meus familiares e amigos.”

Flávia Menezes Guedes

“Aqueles que me fizeram acreditar nos meus sonhos e me fizeram ver que 99% do sucesso se baseia em insistir. E foram vocês pai, mãe, marido, filhinho, irmã, esta vitória também é de vocês, muito obrigado por me ensinarem que o sucesso nasce do querer, da determinação e persistência. Amo vocês.”

Gisele do Nascimento Oliveira

AGRADECIMENTOS

A Deus, razão maior da nossa existência, que nós deu força e fé para não desistir.

Aos nossos pais, irmãos, filhos e a toda família que, com muito carinho e apoio, torceram e não mediram esforços para que nós chegássemos até esta etapa de nossa vida.

À professora Patrícia pelo convívio, pelo apoio, pela compreensão, pela paciência na orientação, pela amizade e incentivo que tornaram possível a conclusão desta monografia.

Aos amigos, pela presença, pelo apoio constante, pelas dúvidas esclarecidas e por acreditarem em nós.

A Tânia, nossa coordenadora pelas palavras de carinho e incentivo sempre.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

Chico Xavier

RESUMO

O óxido nítrico (NO) é uma molécula gasosa, de vida curta, que modula a neurotransmissão, a força de contração, o tônus vascular e a função muscular. O presente trabalho buscou relacionar os efeitos do NO no organismo humano, sobre o músculo liso vascular e não vascular, bem como no músculo uterino. A metodologia de pesquisa consistiu na revisão bibliográfica nos bancos de dados Scielo e Pubmed utilizando como descritores óxido nítrico, músculo liso e útero. O presente estudo observou a presença de NO no útero durante a gestação de mulheres. O mesmo regula a contração uterina no que concerne a prevenção de partos prematuros ocasionados por alguma complicação durante a gestação. Esses efeitos do NO envolvem a estimulação da enzima guanilato ciclase solúvel com o consequente aumento na produção de GMPc, que por sua vez, estimula a proteína quinase dependente de GMPc (PKG). Esta, por diversos mecanismos, promove o relaxamento da musculatura lisa. Esse mesmo mecanismo de ação do NO parece ser responsável pelos efeitos uterinos de outras espécies como ratas e ovelhas, bem como o relaxamento dos brônquios, a regulação da frequência do batimento ciliar no trato respiratório, o transporte de íons, a defesa antibacteriana e viral, a secreção de muco e a inibição da proliferação de células T. Entretanto, alguns desses efeitos podem ocorrer independente da via GCs/GMPc/PKG e o estímulo ao músculo liso pode se dar pela ativação direta dos canais para potássio pelo NO, evidenciando a ação complexa do mesmo no organismo humano. Conclui-se através do presente trabalho, que ainda existe muito a se estudar sobre os efeitos do NO no organismo e que este é de fundamental importância para o equilíbrio das funções e adaptações fisiológicas, apresentando um grande potencial de utilização terapêutica.

Palavras-chave: Óxido nítrico, músculo liso, guanilato ciclase, útero.

ABSTRACT

The Nitric Oxide (NO) is a gaseous molecule, of short lifespan, that modulates neurotransmission, the contraction strength, the vascular t nus and muscular function. The aim of this study was to relate NO effects on the human body; on the smooth vascular and non-vascular muscles, as well in the uterine muscle. The research methodology consisted of bibliographic review on Scielo and Pubmed database, using the key-words nitric oxide, smooth muscle and uterus. This study observed the NO presence in the uterus during women pregnancy. The NO regulates the uterine contractions concerning the prevention of premature deliveries caused by pregnancy complications. Those NO effects involve the stimulation of the guanylate cyclase enzyme with the consequent production increase of cGMP, which in turn, stimulates protein kinase-dependent cGMP (PKG). This, by a number of mechanisms, promotes smooth muscle relaxation. This same NO action mechanism seems to be responsible for uterine effects on other species such as rats and sheep, as well as the bronchi relaxation, the frequency regulation of ciliary movement in the respiratory tract, the ions transport, the antibacterial and viral defense, the mucus secretion and the T cells proliferation inhibition. However, some of these effects may occur regardless the cSG/cGMP/PKG pathway and the smooth muscle stimulation may be done by direct activation of channels for potassium by the NO, revealing the complexity of it's action in the human body. It is concluded through this work about the NO effects in the human body that a lot of research still has to be done, and also, it's prime importance on physiological function and adaptation balances, presenting a great potential for therapeutic utilization.

Keywords: Nitric oxide, smooth muscle, guanylate cyclase, uterus.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

[Ca ²⁺] c	Concentração de cálcio citostático
nNOS	Óxido nítrico sintase neuronal
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
GCp	Guanilato ciclase particulada
GCs	Guanilato ciclase solúvel
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
iNOS	Óxido nítrico sintase induzida
L-NAME	Nitroarginina-metil-ester
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PGI ₂	Prostaglandina I ₂
PKG	Proteína quinase G

SUMÁRIO

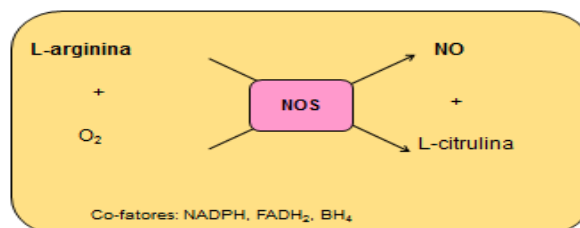
1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 METODOLOGIA	16
4 O ÓXIDO NÍTRICO NO ORGANISMO HUMANO	17
5 ÓXIDO NÍTRICO NO MÚSCULO LISO VASCULAR E NÃO VASCULAR	20
5.1 EFEITO E MECANISMO DE AÇÃO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO VASCULAR	20
5.2 EFEITO E MECANISMO DE AÇÃO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO NÃO VASCULAR - TRAQUEIA.	21
6 ÓXIDO NÍTRICO NO MUSCULO LISO UTERINO	25
6.1 MECANISMO DE AÇÃO E EFEITO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO UTERINO DE HUMANOS	25
6.2 MECANISMO DE AÇÃO E EFEITO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO UTERINO DE OVELHAS	28
6.3 MECANISMO DE AÇÃO E EFEITO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO UTERINO DE RATAS	29
6.4 INTERFACE	33
7 CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1 INTRODUÇÃO

O Óxido Nítrico (NO) é um radical livre, gasoso, incolor, que possui sete elétrons do nitrogênio e oito do oxigênio, apresentando um elétron desemparelhado na última camada eletrônica. Até meados da década de 1980, era considerado apenas mais um dos poluentes ambientais indesejáveis e potencialmente carcinogênicos. Uma das funções fisiológicas do NO foi descoberta nos vasos sanguíneos quando foi constatado que o fator de relaxamento derivado do endotélio, descrito por Furchgott & Zawadzki (1980), era o NO produzido pela NO sintase nas células endoteliais da aorta de coelhos. O NO constitui um dos mais importantes mediadores de processos intra e extracelular, pois embora se apresente na forma radicalar, este se mostra uma molécula não carregada, capaz de se difundir para dentro e fora das células e também entre compartimentos celulares.

A síntese do NO se dá pela ação da enzima oxido nítrico sintase (NOS). Ela atua oxidando um dos dois grupamentos aminos da L-arginina, convertendo em L-citrulina e produzindo NO. A NOS apresenta-se em 3 isoformas: forma dependente do cálcio que é característica de células endoteliais (eNOS) e neuronais (bNOS) e forma induzível, independente de cálcio (iNOS), podendo ser encontrada em macrófagos, neutrófilos e outros tipos celulares como vascular e de músculo liso. A NOS tem sua função inibida competitivamente pela L-N^G-Nitroarginina-metil-ester (L-NAME). Sendo que esta ação fornece informações interessantes sobre a ação da NOS tanto em fisiologia como em patologia.

■ Biossíntese do NO



As ações e efeitos do NO são diminuídas quando há uma reação com compostos que geram superóxido (xantina e xantina oxidase), podendo ser aumentados na presença de superóxido desmutase. Para a correta mensuração da atividade do NO a interpretação deve ser feita cuidadosamente, concentrações de nitrato e nitrito podem ser encontrados na urina e soro e pode-se medir a atividade do NOS medindo a conversão de L-arginina à L-citrulina.

A liberação do NO nas células endoteliais do sistema cardiovascular e células epiteliais do sistema respiratório é observada em condições basais, como também após a estimulação com várias substâncias como catecolaminas, vasopressina, bradicinina, serotonina e adenosina (BUGA et al., 1989; NIJKAMP et al., 1993; BOULANGER & VANHOUTTE, 1997).

O NO é o principal agente vasodilatador endógeno que regula o tônus e a homeostase vascular, além de controlar o fluxo sanguíneo basal (FURCHGOTT, 1999), atuar sobre a contratilidade cardíaca (SHAH, 1996), promover o relaxamento das vias aéreas por atuar sobre o músculo liso traqueal (ARNOLD et al., 1984; ZHOU & TORPHY, 1991; GASTON et al., 1994; JONES et al., 1994; STUART-SMITH et al., 1994) e manter do ciclo menstrual (CHWALISZ e GARFIELD, 2000), bem como a contratilidade uterina e o parto (MAUL et al., 2003).

Embora existam diversos alvos para o NO, o principal é a enzima guanilato ciclase solúvel (GCs). A ativação da GCs pelo NO eleva os níveis intracelulares de Guanosina monofosfato cíclico (GMPc), que atua como um mensageiro intracelular amplificando a resposta celular (ARNOLD et al., 1977; IGNARRO, 1991). O principal alvo do GMPc é a família das proteína quinase dependente do GMPc, denominada PKG. A ativação da PKG e a consequente fosforilação de várias proteínas constitui uma cascata, que acarreta na redução da concentração citoplasmática de cálcio ($[Ca^{2+}]_c$) e assim, leva ao relaxamento muscular. O GMPc pode, alternativamente, ativar diretamente canais iônicos, principalmente canais para potássio (K^+), contribuindo para o relaxamento muscular via hiperpolarização de membrana (BOLOTINA et al., 1994).

Por outro lado, o NO também exerce efeitos celulares independentes do GMPc como ativação da bomba Na^+/K^+ ATPase, modulação de canais de Ca^{2+} e de K^+ e redução da sensibilidade a agentes vasoconstritores (BOLOTINA et al., 1994).

Normalmente, nos vasos o NO é produzido pela eNOS e se difunde do endotélio para o músculo liso vascular promovendo relaxamento em artérias contraídas com agonistas contráteis ou com altas concentrações de KCl. Isto ocorre porque o NO se liga ao grupo heme da enzima guanilato-ciclase solúvel e produz GMPc, que por sua vez, desencadeia uma cascata de sinalização que promove a redução da concentração intracelular de Ca^{2+} .

O relaxamento do músculo liso pode ser provocado pela ativação da via de sinalização do NO e também por fosforilação de substratos envolvidos na regulação de cálcio e transporte de íons. Substratos fisiológicos para PKG foram identificados desempenhando um papel na mediação relaxamento do músculo liso (CORNWELL et al., 1991). Muitos outros substratos fisiológicos foram identificados, entretanto, suas funções na mediação de sinalização PKG ainda não são tão bem definida. Ativação de PKG tem sido associada com a indução de expressão do mRNA (GUDI et al., 1996; IDRISSE et al., 1999). Essa enzima pode desempenhar um papel importante na orquestração da expressão de genes em tecidos uterinos em todo o ciclo menstrual. O papel essencial da PKG na mediação do relaxamento do músculo liso não exclui outras funções para a quinase, que pode regular os processos complexos, tais como menstruação, implantação e parto (TRUDY et al., 2001).

O NO tem sido reconhecido como um mediador importante de múltiplas funções celulares e biológicas. Dentre elas, podemos citar o relaxante do músculo liso vascular, respiratório e do trato gastrointestinal, é também um neurotransmissor que auxilia na liberação de insulina nas células β das ilhotas de Langerhans, exerce função de defesa sendo produzido por macrófagos e outras células do sistema imunitário. O NO também exerce importantes efeitos no útero humano e durante a gravidez, pois pode ser encontrado no músculo liso deste órgão e na placenta. Um dos papéis do NO é a vasodilatação, inibição plaquetária e contratilidade uterina durante a gravidez que têm como consequência a regulação do fluxo sanguíneo e a quiescência uterina (MAUL et al., 2003).

Durante a gravidez os níveis de nitrato urinário são elevados em humanos e ratos, o que pode refletir os altos níveis de NO durante esse período (CONRAD et al., 1993).

A contratilidade uterina é exercida basicamente pela ação do músculo liso que forma o órgão, o miométrio. Este está sob o controle de estrogênio e progesterona (BATRA, 1994), varia de acordo com o ciclo menstrual (ROSENWAKS & SEEGAR-JONES, 1980) e gravidez (WORD et al., 1998) e ultimamente parece estar diretamente ligado aos efeitos do NO (KAKUI et al., 2004). Assim, a redução da concentração de NO leva a contração do miométrio e conseqüentemente à expulsão do feto durante o parto, pois a redução da resposta à GCs que ocorre no fim do trabalho de parto pode ajudar na preparação do miométrio para esse momento, sugerindo que redução da via GC/GMPc pode auxiliar o início do trabalho de parto (TELFER et al., 2001).

O parto prematuro pode levar a sérias conseqüências tanto para a gestante como para o bebê. O nascimento prematuro complica 10% das gestações em todo o mundo e é responsável por 75% a 80% da mortalidade perinatal em recém-nascidos sem grande máformação (BERKOWITZ & PAPIERNIK, 1993). Estudos indicam um aumento da prematuridade no Brasil (SILVEIRA et al., 2008). Em 1996, as causas perinatais eram responsáveis por 49,7% dos óbitos infantis no Brasil, tendo aumentado para 53,6% e 55,4% nos anos de 2000 e 2003, respectivamente (ALMEIDA & BARROS, 2005). Vários esforços têm sido feitos para reduzir o número de partos prematuros, entretanto, mais da metade dos casos são espontâneos e inexplicáveis (ULRICH et al., 2012). Esses dados são alarmantes e objeto de estudo no sentido de prevenir e tratar os acontecimentos que levam ao parto prematuro.

As drogas atualmente disponíveis para o tratamento tocolítico estão longe do ideal (BERNAL, 2007). Alguns tocolíticos utilizados na prática clínica como β -adrenérgico e antagonistas de canais de cálcio têm sua eficácia e segurança questionada (KOKS et al., 1998). Algumas evidências indicam que os agentes progestogênicos podem ajudar a reduzir a incidência de nascimento pré-maturo (antes de 37ª semanas de gestação), mas não mostram qualquer benefício em relação à mortalidade ou morbidade perinatal (DODD et al., 2006; MAC KENZIE et al., 2006). As drogas mais utilizadas como tocolítico são os betamiméticos, a ritodrina e a terbutalina foram introduzidos como agonista β_2 -adrenérgico para uso em trabalho de parto prematuro. Betamiméticos são eficazes em retardar o parto em mulheres em trabalho de parto prematuro durante 48 horas, mas não há nenhuma

evidência de que esse atraso relativamente curto forneça qualquer benefício em termos de mortalidade ou morbidade perinatal (ANOTAYANONT et al., 2004). A utilização de betamiméticos está associada com desagradável e potencialmente graves efeitos colaterais no sistema cardiovascular, neuromuscular e metabolismo. Isto representa uma grande desvantagem para a sua utilização clínica (BERNAL, 2007).

A nifedipina, um bloqueador dos canais de Ca^{2+} tem sido utilizada nas últimas décadas para suprimir as contrações no trabalho de parto prematuro por ser barata e fácil de administrar. Ela parece ser tão eficaz como ritodrina, entretanto apresenta menos efeitos colaterais maternos, embora possa causar hipotensão e taquicardia em mulheres grávidas (ULMSTEN, ANDERSSON, WINGERUP, 1980; READ & WELLBY, 1986). Antagonista de receptores de ocitocina tem sido utilizados para o tratamento do trabalho de parto prematuro, pois há uma elevada densidade desses receptores no útero grávidico (AKEERLUNG et al., 1987; MERLIN, 1993). O antagonista atosiban foi aprovado para essa finalidade por reduzir a concentração intracelular de Ca^{2+} em células do miométrio de uma maneira reversível. Entretanto, o atosiban tem uma elevada afinidade para o receptor de vasopressina e isto pode resultar em efeitos colaterais indesejados (PHANEUF et al., 1994).

Doadores de NO e inibidores da iNOS podem ter aplicação terapêutica para distúrbios uterinos. Os doadores podem ser utilizados para o tratamento da dismenorréia e para promover a fertilidade, já os inibidores da iNOS podem ser aplicados para o tratamento e prevenção de sangramento uterino anormal (CHWALISZ & GARFIELD, 2000).

A pré-eclâmpsia, definida pela hipertensão e proteinúria, ainda amplifica riscos maternos e fetais, incluindo a restrição do crescimento intrauterino e morte fetal (PODYMOW & AUGUST, 2007). Além disso, gravidez induzida, hipertensão e / ou pré-eclâmpsia coloca as mulheres em maior risco de desenvolver esses transtornos em gestações futuras e aumenta a probabilidade de causar doenças cardiovasculares (acidente vascular encefálico, hipertensão) que ocorrem mais tarde na vida (DUVEKOT & PEETERS, 1994; CHESLEY 1985; WILSON et al., 2003).

A atividade da NO síntase é significativamente reduzida na pré-eclâmpsia. Vale ainda ressaltar que os níveis séricos de nitrato/nitrito em mulheres com pré-eclâmpsia são inferiores aos observados nos controles normais. Alguns autores

acreditam que o aumento da produção endotelial do NO, durante a gestação, é primariamente responsável por evitar o dano vascular causado por potentes vasoconstritores. Falhas na liberação do NO foram observadas *in vitro*, em vasos em que a hipertensão foi espontânea ou induzida, em modelos animais (MILLER, PINTO, MULLANE, 1987).

As ações do óxido nítrico são diversas. Sabe-se que ele é o principal agente endógeno relaxante da musculatura lisa vascular e não vascular. Na musculatura lisa uterina, o NO atua em todos os estágios da vida reprodutiva. Sua principal aplicação terapêutica está relacionada com seu poderoso efeito tocolítico. O NO é responsável por manter o relaxamento uterino durante a gravidez evitando a prematuridade dos partos (BUHIMSCHI et al., 1995). Estudos têm demonstrado que drogas doadoras de NO podem evitar o nascimento prematuro (DEMIRKOPRULU et al., 2005), além de poder fornecer novos medicamentos, eficazes, seguros e baratos para regular e orientar várias funções da vida reprodutiva feminina que beneficiam desde prevenção a complicações da gravidez como a pré-eclâmpsia até agentes de amadurecimento cervical, podendo contribuir para a redução da morbidade materna e fetal e mortalidade perinatal (MAUL et al., 2003).

Diante disso, este trabalho se dedicará a revisar os efeitos do NO sobre os diferentes tipos de músculo liso e verificar suas ações sobre o músculo liso uterino de diferentes espécies animais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve por objetivo discorrer sobre os efeitos do óxido nítrico sobre o músculo liso.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Explicitar aspectos da ação do óxido nítrico sobre o organismo humano.
- Abordar os efeitos do óxido nítrico sobre o músculo liso vascular e não vascular.
- Discorrer sobre o efeito do óxido nítrico sobre o músculo liso uterino.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica de aspecto qualitativo e descritivo relacionado aos efeitos dos NO sobre o músculo liso.

A coleta de dados foi realizada através de busca em bancos de dados como Scielo e Pubmed. Para tanto, foram utilizadas como palavras-chave os seguintes descritores óxido nítrico, músculo liso, útero, *nitric oxide*, *smooth muscle* e *uterus*. A escolha do material bibliográfico foi estabelecida com base nos seguintes critérios de inclusão: Periódicos redigidos em português e inglês, publicados no período de ano de 1940 ao ano de 2012 e que pudessem ser obtidos na íntegra. A análise de dados foi realizada através da leitura, interpretação e comparação de dados entre os artigos pesquisados, resumos e fichas simples.

4 O ÓXIDO NÍTRICO NO ORGANISMO HUMANO

O Óxido Nítrico (NO) é um importante sinalizador intracelular e extracelular e atua induzindo a GCs, que produz guanosina monofosfato cíclica (GMPc). Este, entre outros efeitos, leva ao relaxamento do músculo liso.

O NO é gerado por uma família de isoenzimas expressas em uma grande variedade de células de mamíferos, através da catálise enzimática do aminoácido essencial L-arginina (MONCADA et al., 1991; SPRINGALL, 1995). A catálise enzimática da reação do aminoácido L-arginina e oxigênio, que resulta na formação de L-citrulina e Óxido Nítrico, é feita por enzimas que são constitutivas (eNOS e nNOS) ou induzidas (iNOS). As constitutivas estão presentes em muitas células; sua ativação depende da concentração intracelular de cálcio/calmodulina e, uma vez liberadas, sintetizam NO por curtos períodos. O NO formado por esta via participa de muitos processos homeostáticos. Por outro lado, as iNOS independem da concentração intracelular de cálcio e são liberadas por macrófagos poucas horas após sua ativação e também por outras células sob ação de citocinas. As iNOS sintetizam NO por longos períodos (MONCADA et al., 1991).

O NO está envolvido em muitos processos fisiológicos dos mamíferos, que incluem a neurotransmissão, controle da pressão sanguínea, inflamação, reações imunológicas e nos mecanismos de defesa contra microrganismos e tumores. Esta pequena molécula tem importância desde a manutenção inicial da vida, através do controle da circulação placentária e nas contrações uterinas durante o parto, como na neurotransmissão, no controle endócrino, na imunorregulação e nos vários sistemas do organismo (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2002).

O NO é um agente anestésico gasoso pouco potente. Sua concentração alveolar mínima é 104% (± 10) de atmosfera que corresponde à pressão parcial de 805 mmHg (nível do mar), só sendo obtida experimentalmente com câmara hiperbárica (HORNBEIN et al., 1982), ou por estimativa de cálculo. É sempre usado em concentrações permissíveis (não hipóxicas), nunca acima de 70%. Tem propriedade analgésica moderada, ação amnésica pouco pronunciada, pequeno poder imobilizante e efeito hipnótico muito leve (EGER et al., 1965; FROST, 1985). Deste modo, compreende-se que suas indicações como agente anestésico único

sejam muitíssimo limitadas, sendo mais utilizado como coadjuvante de anestésicos inalatórios mais potentes para reduzir as suas doses, e conseqüentemente seus efeitos colaterais.

O NO tem um importante papel no controle de muitas infecções, apresentando atividade antibacteriana, antiparasitária e antiviral (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2002). Todavia, o descontrole na síntese de NO está implicado na patogênese de doenças cardiovasculares, autoimunidade, rejeição de transplantes, sépsis (NATHAN, 1992) e na genotoxicidade (WINK et al., 1998). O NO também apresenta ação anti-tumoral (JENKINS et al., 1995; MURTA et al., 2002). Entretanto, a atividade anti-tumoral do NO depende da quantidade de NO gerada e da interação das células do hospedeiro com as da neoplasia. Esta interação pode gerar efeito ora estimulante ora inibitório na imunidade anti-tumoral (O'SULLIVAN & LEWIS, 1994; MURTA et al., 2002).

O NO além de ser um potente vasodilatador e inibidor da adesão e agregação plaquetária, reduz a aderência de leucócitos ao endotélio vascular e, também, suprime a proliferação de células da musculatura lisa vascular por inibição de fatores de crescimento. Quando diluído, o NO tem uma meia vida de menos de 10 segundos devido sua rápida oxidação a nitrito e nitrato.

No sistema imune e na inflamação, o NO endógeno parece exercer efeitos pró e anti-inflamatórios (NATHAN, 1992). Os efeitos pró-inflamatórios do NO não são evidentes sob condições fisiológicas agudas, podendo, nestes casos, mediar funções anti-inflamatórias, como a inibição de adesão de neutrófilos, atividade da cicloxigenase, formação de citocinas e reabsorção óssea (SCHMIDT & WALTER, 1994).

As funções do NO até hoje descobertas são complexas e antagônicas. Um aspecto marcante desta molécula é a sua capacidade benéfica ou potencialmente tóxica conforme a concentração ou depuração tecidual.

Dentre as funções do NO no organismo humano podemos citar: atua como mensageiro em processo de transdução de sinal, é um vasodilatador que regula pressão arterial pois o NO produzido pelas células endoteliais tem um papel essencial no processo de relaxamento do vaso sanguíneo, inibe a ativação, adesão

e agregação plaquetária, neurotransmissor no cérebro e sistema nervoso periférico, combate a infecção constitui a mais importante molécula reguladora do sistema imune, atua na formação da memória e na ereção peniana.

A determinação laboratorial do NO é complexa, e a caracterização de ativadores e inibidores específicos da síntese de NO constitui um novo desafio para o entendimento e o tratamento de várias doenças. Esses estudos têm sido um dos principais alvos de pesquisa e da indústria farmacêutica.

5 ÓXIDO NÍTRICO NO MÚSCULO LISO VASCULAR E NÃO VASCULAR

5.1 EFEITO E MECANISMO DE AÇÃO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO VASCULAR

Muitas células são capazes de sintetizar o NO através de hemoproteínas da família citocromo P450-like, chamadas de NOS. A PKG, como segundo mensageiro do NO, promove a desfosforilação de filamentos de miosina, impedindo o mecanismo de contração muscular vasodilatação.

Embora os vasos e plaquetas sejam frequentemente considerados como os principais alvos para o NO dentro do sistema cardiovascular, os efeitos do NO também se dão sobre o músculo cardíaco (SHAH, 1996). O NO exerce um importante papel sobre o coração, modulando a contratilidade cardíaca e regulando o tônus arterial no leito coronariano (KELLY et al., 1996). O NO produzido tanto endogenamente como fornecido exogenamente é conhecido por ser capaz de migrar rapidamente para células musculares lisas adjacentes aos vasos coronarianos e para os cardiomiócitos, exercendo vários efeitos diretos sobre o coração (SHAH, 1996).

O NO causa dilatação em artérias de resistência e veias por causar ativação de canais que suprimem o influxo de Ca^{2+} (p.ex. canal do tipo L) através do aumento nas concentrações de GMPc em células musculares lisas isoladas de veia porta e artérias mesentéricas (LIU et al., 1997; TAGUCHI et al., 1997).

O endotélio controla o tônus da musculatura lisa vascular pela produção de mediadores que podem produzir vasodilatação ou vasoconstrição. Os principais fatores relaxantes derivados do endotélio são o NO, o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e a prostaciclina.

Na maioria dos modelos experimentais de hipertensão arterial a vasodilatação dependente de endotélio é severamente reduzida (CARVALHO et al., 1987; VANHOUTTE & BOULANGER, 1995). No entanto, os mecanismos envolvidos em tal disfunção endotelial variam bastante dependendo do modelo animal utilizado.

Em aorta e artérias mesentéricas de ratos espontaneamente hipertensos existe um aumento da liberação de fatores endoteliais contráteis derivados da ciclooxigenase (p. ex.: PGH₂) em resposta à acetilcolina e à angiotensina II (FORTES et al., 1990; CÔRTEZ et al., 1996). Já em ratos Dahl, que desenvolvem hipertensão arterial sensível ao sal, a diminuição da vasodilatação dependente do endotélio não é devido ao aumento na secreção de fatores contráteis endoteliais, mas sim a uma diminuição da responsividade das células musculares lisas vasculares ao NO (LÜSCHER et al., 1987). Uma diminuição na produção de NO, conseqüente a uma diminuição da atividade da eNOS, também foi descrita nesse tipo de rato (HAYAKAWA & RAIJ, 1998).

Assim, é possível verificar que o efeito do NO sobre os diversos leitos vasculares levam ao vasorrelaxamento em decorrência da ativação da via GCs/GMPc e depende do endotélio vascular.

5.2 EFEITO E MECANISMO DE AÇÃO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO NÃO VASCULAR - TRAQUEIA.

A maior fonte de NO nas vias aéreas é o epitélio (FOLKERTS & NIJKAMP, 1998). Alguns estudos apontam a participação do NO produzido pelo epitélio traqueal em outros mecanismos como a regulação da frequência do batimento ciliar, o transporte de íons, a defesa antibacteriana e viral, secreção de muco e inibição da proliferação de células T (BOVE & VAN DER VLIET, 2006). O relaxamento brônquico é mediado também pela liberação de NO pelo epitélio, que por sua vez, migra facilmente para células do músculo liso subjacente promovendo o relaxamento (BARNES & BELVISI, 1993).

Estudos realizados em músculo liso vascular mostram que existem diversos alvos para o NO, mas o principal deles é a enzima GCs (THIPPESWAMY et al., 2006). O mesmo ocorre em músculo liso brônquico e traqueal, onde a enzima GCs é o maior alvo do NO (ELLIS, 1997). A ativação da GCs pelo NO eleva os níveis intracelulares de GMPc, que atua como um mensageiro intracelular amplificando a resposta celular (ARNOLD et al., 1977; IGNARRO, 1991).

O principal alvo do GMPc é a família das proteínas quinases dependentes do GMPc, denominadas PKGs. A ativação da PKG e a consequente fosforilação de várias proteínas constitui uma cascata, que acarreta na redução da concentração citosólica de cálcio ($[Ca^{2+}]_c$) (MCDANIEL et al., 1992), desfosforilação da cadeia leve de miosina (MURAD, 1986) e interação com aparato contrátil, desativando o complexo Ca^{2+} - calmodulina (KARAKI et al., 1988), além da ativação dos canais para K^+ , levando à hiperpolarização da membrana e inibição de canais para Ca^{2+} do tipo L (MIYOSHI, NAKAYA, MORITOKI 1994).

Entretanto, nem todos os estudos confirmam o papel da via GCs/GMPc/PKG mediando os efeitos relaxantes do NO em músculo liso traqueal e alguns autores tem demonstrado que esse efeito pode ocorrer independentemente de GMPc e que o estímulo ao músculo liso pode ocorrer pela ativação direta dos canais para K^+ pelo NO (REDINGTON, 2006; STUART-SMITH et al., 1994; BOLOTINA et al., 1994; HOMER & WANSTALL, 2000). Entre os trabalhos sobre o sistema respiratório existe consenso sobre o efeito do NO sobre as vias respiratórias. Entretanto, há controvérsias quanto ao efeito terapêutico do NO.

O estudo realizado por Sanna et al., (1994) demonstrou que a inalação de NO não tem efeito sobre o tônus das vias aéreas em voluntários saudáveis submetidos à broncoconstrição com metacolina.

Ao contrário desses resultados, o estudo realizado por Högman et al. (1993) verifica um efeito broncodilatador na asma brônquica e Kacmarek et al., (1996) sugerem que a inalação de NO por pacientes com asma leve e broncoespasmo induzido pela metacolina resultam em um relaxamento significativo das vias aéreas.

O interesse nos possíveis benefícios terapêuticos do NO nas doenças das vias respiratórias vem dos vários grupos de pesquisadores que defendem que o NO tem um papel broncoprotetor e que na asma há uma aparente perda desse efeito (REDINGTON, 2006). Esses grupos de pesquisa demonstraram que as baixas doses de NO são eficazes em reverter a vasoconstrição pulmonar. Esses resultados apontam para um importante papel do NO na modulação do tônus das vias aéreas (NIJKAMP & FOLKERTS, 1995). Ashutosh et al. (2000) demonstraram que o NO na concentração de 25 ppm misturado ao oxigênio pode ser seguramente administrado

por cânula nasal por 24 horas, sem efeitos adversos significativos, e com redução da resistência vascular pulmonar em pacientes estáveis com doença pulmonar obstrutiva crônica, por períodos prolongados.

Colaborando ainda para os benefícios do tratamento de doenças pulmonares com o NO, Vonbank et al., (2003) verificaram que em pacientes ambulatoriais com doença pulmonar obstrutiva crônica, o fornecimento de gases por período prolongado é viável e que a suplementação com NO poderia ser administrada de forma segura e eficaz durante um período de três meses ou a longo prazo. Segundo Kharitonov, (2005), o tratamento associando anti-inflamatórios e doadores de NO pode ser uma ótima modalidade terapêutica no tratamento da asma e da doença pulmonar obstrutiva crônica.

Durante o desenvolvimento das doenças pulmonares os antioxidantes apresentam respostas diferenciadas. Na asma, as células inflamatórias liberam grandes quantidades de agente oxidantes, a enzima superóxido dismutase está reduzida nas células epiteliais brônquicas (SMITH et al., 1993), além dos níveis de glutatona redutase do fluido de revestimento das células epiteliais diminuem rapidamente em pacientes com asma leve durante uma crise (COMHAIR et al., 2000). Já a expressão da glutatona peroxidase sofre *upregulation* nas células epiteliais brônquicas e aumento da quantidade da enzima no fluido que as reveste como resultado do estresse oxidativo presente na asma (COMHAIR et al., 2001). Estudos mostraram que a glutatona peroxidase pode funcionar como uma NO-redutase evitando nitração (FREEDMAN et al., 1995) e que doadores de NO (S-nitroso-N-acetil-D, L, penicilamina / GSNO) podem induzir a expressão do gene da glutatona peroxidase de forma dose-dependente (COMHAIR & ERZURUM, 2002).

O NO produzido nas vias aéreas dos mamíferos se encontra em níveis mais elevados nas doenças pulmonares, como é o caso da asma (COMHAIR et al., 2001; GASTON et al., 1994) e este deveria promover a sua função primordial nas vias aéreas, o relaxamento do músculo liso (ZHOU & TORPHY, 1991; STUART-SMITH et al., 1994). Entretanto, o processo inflamatório eleva os níveis de radicais livres de oxigênio e o NO reage com O₂ formando o NO₂, um composto citotóxico que reage rapidamente com o O₂ para formar NO- (GASTON et al., 1994)

Mesmo assim o grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Farmácia da UFG avaliou o efeito de uma droga doadora de NO em traquéias isoladas de ratos e verificou que este é 43% mais eficaz do que a droga padrão nitroprussiato de sódio em induzir o relaxamento de anéis de traquéias de ratos normais. Este grupo demonstrou que a nova droga induz relaxamento do músculo liso de traquéia por mecanismos independentes de GMPc, influencia o fluxo de íons K^+ e Ca^{2+} através da membrana e reduz da concentração citosólica de Ca^{2+} (CASTRO et al., 2011).

Dessa forma, verifica-se que o NO exerce ações de proteção e broncodilatação sobre o sistema respiratório. Entretanto, existem controvérsia quanto ao seu mecanismos de ação, que pode ser dependente ou independente da via GCs/GMPc.

6 ÓXIDO NÍTRICO NO MUSCULO LISO UTERINO

6.1 MECANISMO DE AÇÃO E EFEITO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO UTERINO DE HUMANOS

Estudos em úteros humanos têm demonstrado que iNOS e eNOS estão presentes em células epiteliais glandulares do endométrio de útero não gravídico (TSENG et al., 1996; TELFER et al., 1997) e que eNOS está presente em endométrio de mulheres na fase fértil do ciclo (OTA et al., 1998), além disso, iNOS está presente no endométrio durante a gravidez e nas tubas uterinas (SUGIRO et al., 1996; EKERHOVD et al., 1997), sugerindo que o relaxamento desse músculo é dependente de NO.

Estes efeitos do NO parecem estar ligados a via GCs/GMPc/PKG, tanto em músculo liso uterino de mulheres grávidas como não grávidas (NORMAN et al., 1997; CORNWELL et al., 2001; TELFER et al., 2001) e que o efeito relaxante do estrogênio sobre o músculo liso é mediado pelo NO (RANSAY et al., 1995). Estudos têm demonstrado que uma das ações do NO sobre o miométrio não gravídico é manter o seu relaxamento e sugerem que a administração de doadores de NO podem ter aplicação terapêutica para tratamento da dismenorréia primária (PITTROF et al., 1996).

A ação do NO sobre o músculo liso uterino de mulheres ocorre em todas as fases do ciclo menstrual, durante a gravidez e no parto. O desenvolvimento do folículo ovariano se dá pelo aumento do NO e logo após a ovulação ocorre sua diminuição, o NO atua na preparação do endométrio para receber o óvulo na implantação e na menstruação. Parece que o NO tem importante participação no início e no controle da hemorragia menstrual, por se tratar do mais potente vasodilatador, juntamente com PGE₂ e PGI₂ regulando o grau de hemorragia e impedindo a agregação plaquetária no interior do endométrio (SMITH et al., 1981). No final do ciclo menstrual, na ausência de implantação do embrião ocorrem alterações nas células endometriais e miometriais levando ao aumento da contratilidade do miométrio e na constrição das arteríolas espirais que regulam o fluxo sanguíneo do endométrio com consequente isquemia tecidual, há

desintegração do endométrio e sangramento (TRUDY et al., 2001). Após alguns dias de sangramento, a homeostase é alcançada principalmente pela ação de vasoconstritores e não pela deposição de fibrinas e plaquetas (MARKEE 1940; CHISTIANS, SIXMA, HASPEL 1980; CAMERON & CAMPEBELL, 1998). A contratilidade do músculo liso uterino é essencial para o derramamento cíclico do revestimento do endométrio e também por fosforilação de substratos envolvidos na regulação do cálcio e transporte de íons. O papel essencial de PKG na mediação do relaxamento do músculo liso não exclui outras funções para essa quinase, que pode regular os processos complexos, tais como menstruação, implantação e parto (TRUDY et al., 2001).

A GCs é uma proteína funcional que está presente em miométrio de mulheres grávidas e não grávidas. Há uma redução da atividade dessa enzima durante a gravidez, existe também uma atenuação concomitante das fosfodiesterases (enzimas que são capazes de hidrolisar o GMPc) e conseqüentemente, essa atividade passa a resultar em um ganho disponível GMPc e um maior conteúdo intracelular no início do estado de gravidez em comparação com miométrio de não grávidas. Durante a gestação, quantidades elevadas de NO regulam a contração uterina impedindo a expulsão do feto, já na região cervical, a produção de NO é baixa durante a gestação e no parto, há uma intensa redução da concentração de NO.

A ação do NO sobre o miométrio gravídico se dá no sentido de manter a quiescência uterina, pois dados da literatura têm evidenciado a utilização de doadores de NO para evitar o parto prematuro em mulheres (LEES et al., 1994; NORMAM & CAMERON, 1996; THOMSON et al., 1997b). Embora, os mecanismos para manter a quiescência uterina durante a gravidez e iniciar as contrações uterinas durante o parto sejam desconhecidas, é relatado que a via GCs/GMPc em miométrio humano é modificada na gestação, sendo potencializada. Assim, desempenha um importante papel na mediação da imobilidade durante a gravidez (TELFER, ITOH, THOMSON et al., 2001). A diminuição da resposta à GCs que ocorre já no fim do trabalho de parto pode auxiliar na preparação do miométrio para esse momento, supondo que a redução da via GC/GMPc pode ajudar o início do trabalho de parto (TELFER et al., 2001).

Os mecanismos de manutenção da quiescência miometrial são susceptíveis a vários fatores. O NO exógeno promove o relaxamento uterino, o que levou ao interesse na utilização de doadores de NO como agentes tocolíticos (LEES et al., 1994). Os doadores de NO como nitroglicerina e nitroprussiato de sódio são amplamente utilizados clinicamente e tem sido aplicados no tratamento de partos prematuros, além do tratamentos de doenças vasculares (LEES et al., 1994).

A deficiência de NO é um fator importante na patogênese da pré-eclâmpsia. A gravidez é um período extremamente complexo que envolve varias adaptações biológicas. Devido à falta de controle autonômico, a circulação feto-placentária dependente da liberação de substâncias vasoativas sintetizadas pelas células endoteliais ou enviadas através do sangue (LUZI et al., 1999). Assim as mudanças fisiopatológicas que ocorrem na pré-eclâmpsia, tais como ativação da cascata de coagulação e aumento da sensibilidade vascular a vasoconstritores, sugerem que a disfunção endotelial é um importante fator desencadeante dessa doença (SELIGMAN et al., 1994).

Estudos de Podjarny, Losonczy e Baylis (2004) apontam que a pré-eclâmpsia é a complicação hipertensiva mais séria e frequente durante uma gravidez e que é causada pela supressão das respostas fisiológicas normais da gravidez, embora os fatores de risco, tais como gravidez múltipla, idade materna avançada, história familiar, hipertensão essencial e doença renal podem aumentar sua ocorrência. A incidência global de pré-eclâmpsia é de 5% a 7%. Os sintomas maternos da doença resultam da vasoconstrição generalizada, aumento da responsividade a vasoconstritores, aumento da pressão arterial, aumento da permeabilidade capilar, edema grave, súbita diminuição de volume plasmático, aumento da coagulação intravascular, redução na perfusão dos órgãos, diminuição da taxa de infiltração glomerular, proteinúria, dano vascular endotelial generalizado e restrição ao crescimento intra-uterino.

A redução das concentrações de NO durante a gestação esta relacionada com o desenvolvimento de hipertensão induzida pela gravidez e pré-eclâmpsia (MAUL et al., 2003). Em mulheres com esta doença, foi observada maior concentração de inibidores endógenos da NOS em comparação com mulheres saudáveis (FICKILING et al., 1993). O aumento das concentrações de nitrato na

circulação materna e fetal pode refletir aumento na síntese de NO, o qual pode em parte, mediar às adaptações cardiovasculares em uma gestação normal e a baixa resistência vascular no feto (LYALL et al., 1995). Vários grupos de estudos relataram que derivados do NO como gliceril trinitrito ou L-argenina podem dilatar a artéria umbilical humana e o NO pode diminuir a pressão de perfusão na circulação feto-placentária. Esses estudos indicam que o NO produzido pelos tecidos feto-placentária podem contribuir para regular o fluxo sanguíneo do feto para placenta e desta para o feto. Por causa dos efeitos do NO na vasculatura placentária, uma redução na produção do mesmo foi proposto como mecanismo para reduzir a circulação feto placentária com complicações gravídicas associadas com vasoespasmos, tais como pré-eclampsia (MARONI et al., 2000). Portanto, o tratamento com doadores de NO pode ser uma alternativa para evitar este acontecimento.

6.2 MECANISMO DE AÇÃO E EFEITO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO UTERINO DE OVELHAS

O NO desempenha um importante papel nos eventos reprodutivos, tanto na fertilização como na implantação e sobrevivência embrionária em camundongos e em bovinos (HADDAD, DUCLOS, BAINES et al., 1995). O útero é extremamente sensível aos efeitos vasodilatadores, e pode ser estudado isoladamente *in vivo*, assim, é um órgão excelente para investigar o mecanismos de ação. O papel do NO como um importante mediador do fluxo sanguíneo uterino e a enzima responsável pela sua produção já foi identificada na vasculatura uterina de ovelhas. Além da ação do NO na diminuição da resistência vascular, é provável que o crescimento de novos vasos também contribuam para a expansão da circulação uterina durante a gestação de ovelhas (WALID et al., 2010).

O fluxo sanguíneo uterino é aumentado no tratamento com estrogênio exógeno em casos de ovários ectomizado de ovelhas intactas não-grávidas e grávidas (GREISS, 1970; ROSENFELD et al., 1973; ROSENFELD et al., 1974, 1976; MAGNESS & ROSENFELD, 1989 a,b; MAGNESS, 1998; GIBSON et al.,

2004). Durante a gravidez normal dessa espécie, o estado fisiológico em que tanto o estrogênio como a progesterona estão elevados, o fluxo sanguíneo uterino aumenta de 20 a 50 vezes a fim de proporcionar oxigênio e nutrientes suficientes para atender o desenvolvimento das necessidades do feto em crescimento (MAGNESS 1996; MAGNESS, 1998). A perfusão uterina elevada é clinicamente significativa, como mostrado nos casos em que o fluxo sanguíneo uterino insuficiente está associado ao retardo do crescimento intra-uterino e morbidade neonatal severa devido a uma oferta insuficiente de oxigênio e nutrientes (MAGNESS et al., 1998). Alguns estudos mostram que o estrogênio regula o fluxo uterino através de ações diretas sobre o endotélio via ligação aos receptores estrogênicos específicos para aumentar a expressão e/ou atividade da eNOS para reforçar a produção do potente vasodilatador NO (VAN BUREN et al., 1992; ROSENFELD et al., 1996; MAGNESS et al., 1997, 2005; VAGNONI et al., 1998; VAGNONI & MAGNESS, 1998; SALHAB et al., 2000; ROSENFELD et al., 2003).

O NO, está envolvido na vasodilatação uterina e as ações deste são mediadas pela ativação da GCs e conseqüentemente, aumento de GMPc no músculo liso. Em ovelhas, o aumento do NO é acompanhado por aumentos de GMPc uterino, e ambos são reduzidos pelo antagonista da NOS L-NAME (CR et al., 2000).

6.3 MECANISMO DE AÇÃO E EFEITO DO NO SOBRE O MÚSCULO LISO UTERINO DE RATAS

O efeito do NO sobre úteros de ratas é bastante semelhante aos efeitos nas mulheres. São atribuídos ao NO efeitos como vasodilatação e inibição da agregação plaquetária, processos que são fundamentais para a função normal do endométrio (CAMERON & CAMPBELL, 1998).

Tem sido relatado que o NO é capaz de produzir relaxamento do miométrio e a atenção tem sido dada para o papel deste na latência uterina (IZUMI et al., 1993; KAYA et al., 1998). Durante a gravidez os níveis plasmáticos e urinários de nitrato são elevados em humanos e ratos, o que pode refletir os níveis de NO endógenos nessa fase (CONRAD, JOFFE, KRUSZYNA et al., 1993). Os níveis

elevados de nitratos circulantes são susceptíveis ao aumento da produção de NO em tecidos periféricos materno e/ou placentário (SA BAYLIS, STRIJBOS, SANDRA et al., 1999). A síntese de NO no miométrio de ratas tem sido também relatada (BUHIMSCHI, YALLAMPALLI, DONG et al., 1995) e o aumento da produção de NO no útero de ratas durante a gravidez é o resultado da expressão aumentada de eNOS (BUHIMSCHI, CHWALISZ, GARFIELD et al., 1997; BUHIMSCHI, ALI, JAIN et al., 1996).

O NO endógeno ou exógeno reduz as contrações espontâneas uterinas tanto em humanos como em animais, estejam elas em estado gravídico ou não (YALLAMPALLI et al., 1993; BUHIMSCHI et al., 1995; KUENZLI, BUXTON, BRADLEY, 1998). Estudos em animais grávidas têm revelado um aumento endógenos de GMPc miometrial. Esse aumento é maior do que em animais não grávidas ou na metade da gestação (WEINER et al., 1994; YALLAMPALLI et al., 1994; SLADEK, S.M. & ROBERTS, 1996. Doadores de NO ou ativadores da GCs são capazes de ativar a via GCs/GMPc em útero de ratas e mulheres grávidas inibindo a contração uterina (BUHIMSCHI et al., 1997) sugerindo que essa via tem participação no mecanismo de relaxamento, na manutenção da gravidez e podem ser eficazes em suprimir o trabalho de parto prematuro (BUHIMSCHI et al., 1995; MODZELEWSKA et al., 2003; CETIN et al., 2004; DEMIRKOPRULU et al., 2005).

Evidências a partir de estudos em animais e humanos sugerem que a via de sinalização de adenilato ciclase/ AMPc também é modificada durante a gravidez (FINNER, PHANEUF, TOLKOVSKY et al., 1994; LINDEMAN, FORRESTER, HIRSHMAN et al., 2000).

O objetivo do NO durante o parto é prolongar suficientemente a gestação. O NO atua na atividade do sistema enzimático da quinase de cadeia leve da miosina e promove o relaxamento da célula miometrial e também regula as contrações uterinas no trabalho de parto (GOMES, 2009).

Natuzzi et al. (1993) verificaram que a atividade da NOS em úteros de ratas foi muito maior durante a gravidez do que no parto e que a concentração de nitrito e nitrato no útero foi maior aos 18 dias de gestação em comparação com o momento do parto (SLADEK et al., 1993), indicando que o NO pode ter envolvimento no parto de ratas. Alguns estudos têm demonstrado a presença das isoformas da

NOS em diferentes localizações. A presença de nNOS foi verificada no endométrio, epitélio e em partes de tecido conectivo e ausência desta enzima durante a gravidez e parto; eNOS aparece no epitélio e endotélio tanto em útero gravídico como em não gravídico, além de todas as fases da gestação e parto; iNOS está presente no epitélio de revestimento, sendo aumentada durante a gravidez e reduzida durante o parto (SCHMIDT et al., 1992; BRYANT et al., 1995; DONG, GANGULA, YALLAMPALLI, 1996; SUZUKI et al., 2009).

Estudos sugerem que durante a gestação pode haver uma maior produção de NO, pois mostraram aumento da quantidade de RNA mensageiro da iNOS em aorta torácica de ratas grávidas (GOETZ et al., 1994). Já foi demonstrado um aumento da expressão de iNOS na camada endotelial de artérias uterinas de ovelhas grávidas (MAGNESS et al., 1997). Foi observado em artérias sistêmicas de condutância (aorta) e em artérias de distribuição (leito mesentérico pré-arteriolar), que a inibição da produção de NO anula a hiperreatividade à fenilefrina e à ativação de nervos adrenérgicos associada à gestação de ratas (BALLEJO et al., 2002; COELHO, BALLEJO, SALGADO, 1997).

Em útero não gravídico de ratas (corpo e cervix) foram encontradas fibras nervosas que sintetizam NO (PAPKA & MCNEILL, 1992; SCHMIDT et al., 1992; GROZDANOVIC et al., 1994; HUANG et al., 1995; SUBURO et al., 1995) e grandes quantidades de nitrito e nitrato, sugerindo que também na gravidez, o NO pode ser produzido pela conversão de L-arginina em L-citrulina (YALLAMPALLI, GARFIELD, BYAM-SMITH, 1993; YALLAMPALLI et al., 1993). Entretanto, existem controvérsias quanto ao papel do GMPc no músculo uterino.. Estudos funcionais em úteros de ratas e cobaias grávidas evidenciam uma relativa insensibilidade ao GMPc ou à GCs (KUENZLI, BRADLEY, BUXTON, 1996; HENNAN. & DIAMOND, 1998; BRADLEY et al., 1998; BUHIMSCHI et al., 2000). O aumento do GMPc parece não causar relaxamento de alguns músculos lisos, incluindo miométrio humano (DIAMOND, 1983; WORD et al., 1991). Além do mais, estudos têm demonstrado que tanto em miométrio de primatas como de mulheres não grávidas o efeito relaxante do NO é independente de GMPc (KUENZLI, BUXTON, BRADLEY, 1998; BRADLEY et al., 1998, BUXTON et al., 2001), sugerindo que a elevação intracelular desse nucleotídeo não é necessária ou é insuficiente para induzir o relaxamento do

músculo liso uterino. Parece que outras vias estão envolvidas no relaxamento mediado pelo NO.

Esse mesmo efeito é observado quanto às contrações espontâneas de útero não gravídico. O relaxamento provocado pelo NO é bem estabelecido, porém a via GCs/GMPc tem sido questionada, já que estudos com doadores de NO têm reduzido as contrações espontâneas do músculo liso uterino de ratas e mulheres independentemente de GMPc (HENNAN & DIAMOND, 1998; HOFFMANN et al., 2003; MODZELEWSKA & KOSTRZEWSKA, 2005). Os níveis de PKG estão significativamente diminuídos em miométrio de ratas grávidas em comparação com miométrio de animais não grávidas ou do músculo liso da aorta. A administração de estradiol em ovários de ratas apresentou aumento da expressão PKG miometrial, e a progesterona antagoniza essa resposta, sugerindo que o miométrio de ratas grávidas não são sensíveis à relaxamento por GMPc (WORD et al., 2012).

O fracasso do útero para relaxar em fase da elevação do GMPc e PKG é sugerida devido a uma falta de fosforilação do substrato PKG identificado na aorta de ratos (HENNAN & DIAMOND, 2001). Além disso, Word e Cornwell (1998) demonstraram que os tecidos do miométrio de ratas grávidas não foram sensíveis ao relaxamento por nitroprussiato de sódio, um doador de NO, e que a insensibilidade a esse fármaco foi acompanhada pela presença de progesterona, que mediou a diminuição dos níveis de expressão de PKG.

O NO em estudos pré-clínicos e clínicos em útero de ratas demonstrou que, embora não esteja envolvido na vasodilatação da gravidez de ratos, a via prostaglandina-endoperóxido sintase é também um importante mediador do endotélio no relaxamento independente nas tubas uterinas.

Na tentativa de verificar a presença de GMPc e a ausência de relaxamento uterino alguns estudos têm se baseado no aumento de GMPc através da ação tanto da enzima GC solúvel (GCs - presente no citosol) quanto da GC particulada (GCp - ligada à membrana), e/ou ainda pela diminuição da atividade das fosfodiesterase, enzimas que degradam GMPc (TELFER et al., 2001). A gravidez reduz a responsividade do miométrio (*in vitro*) à GCs enquanto aumenta à GCp, sugerindo que esta enzima pode ser responsável, em parte, pela alta produção de GMPc que acompanha a gravidez de cobaias (BUHIMSCHI et al., 1996).

Além da GCs, alguns efeitos locais de GMPc podem ser mediados pela ativação da GCp, que quando ativada não reflete elevação total de GMPc intracelular (TELFER et al., 2001), já que algumas isoformas podem estar localizados em microdomínios de membrana como as cavéolas. Discretos aumentos de GMPc podem ocorrer por causa da ativação destas enzimas, mas não são mensuráveis em extratos de células inteiras, entretanto, são suficientes para ativar PKG e fosforilar a miosina em regiões vizinhas da célula (BUXTON, 2004). Além disso, o GMPc é compartimentalizado no miométrio (BUXTON et al., 2010).

Canais de K^+ têm sido descritos em microdomínios de membrana de miométrio humano associados com caveolina e actina (BRAINARD et al., 2005), sugerindo que esses canais podem ser alvos para as PKGs, evidenciando o papel dos canais de K^+ na regulação da contratilidade miometrial (ANWAR et al., 1993; KHAN et al., 1997; BUXTON et al., 2001; BUXTON, 2004). Ademais, a espécie química de NO liberada pelo doador pode estar ligada ao efeito independente de GMPc (JONES et al., 1994; JENSSEN et al., 2004).

Portanto, o papel do GMPc não está bem estabelecido no relaxamento do músculo liso uterino gravídico ou não gravídico de ratas.

6.4 INTERFACE

Em úteros humanos têm sido demonstrado que eNOS e iNOS estão presentes em células epiteliais glandulares do endométrio de útero não gravídico e que eNOS está presente em endométrio de mulheres na fase fértil do ciclo, além disso, iNOS está presente no endométrio durante a gravidez e nas tubas uterina, sugerindo que o relaxamento desse músculo é dependente de NO. O NO atua na preparação do endométrio para receber o óvulo na implantação e na menstruação; durante a gestação, quantidades elevadas de NO regulam a contração uterina impedindo a expulsão do feto; já na região cervical, a produção de NO é baixa durante a gestação e no parto, há uma intensa redução da concentração de NO. Esses efeitos do NO parecem estar ligados a via GCs/GMPc/PKG, tanto em

músculo liso uterino de mulheres grávidas como não grávidas e que o efeito relaxante do estrogênio sobre o músculo liso é mediado pelo NO.

No útero de ovelhas, o aumento do NO é acompanhado por aumento de GMPc uterino, e ambos são reduzidos pelo antagonista da NOS, o L-NAME.

Em úteros de ratas não grávidas foram encontradas fibras que sintetiza o NO; a presença do NO é bem maior na gravidez do que no parto, impedido o parto prematuro. O aumento da produção endotelial de NO causa vasodilatação generalizada durante a gravidez e na fase final da gestação ocorre a redução dos níveis de NO, acarretando o aumento da atividade uterina e indução do parto. Esses efeitos do NO podem ou não ser exercidos pela via da GCs/GMPc/PKG.

7 CONCLUSÕES

Em suma, os estudos sobre os efeitos do NO músculo liso tem sua ação como um potente vasodilatador.

O NO é reconhecido no organismo humano por suas variadas funções fisiológicas que abrangem os sistemas cardiovascular, imune, reprodutivo e nervoso, como mediador gasoso de primordial valor para o funcionamento normal do organismo.

A ação do NO sobre o músculo liso vascular leva à vasodilatação. Esse efeito ocorre através da ativação da GCs e produção de GMPc. Este, por sua vez, ativa a PKG, que é capaz de estimular canais de K^+ levando à hiperpolarização da membrana e consequente bloqueio da entrada de Ca^{2+} .

No músculo liso não vascular, especificamente músculo liso traqueal, o efeito do NO é evidenciado pelo relaxamento do músculo liso traqueal e este pode ocorrer dependente ou independente da via GCs/GMPc. Neste caso, supõe-se que outras vias podem ser utilizadas, especialmente a ativação dos canais para K^+ pelo NO.

Dentre os efeitos do NO no músculo liso uterino foi possível verificar que ele participa de todos os estágios da vida reprodutiva, seja de mulheres, ovelhas ou ratas. A enzima que produz o NO nesses locais podem ser a eNOS ou iNOS dependendo da fase do ciclo e seus efeitos podem ser mediados ou não pela via GCs/GMPc/PKG.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKERLUND, M.; STROMBERG, P.; HAUSSON, A.; Inhibition of uterine contractions of premature labour with an oxytocin analogue. Results from a pilot study. **British Journal of Obstetrics and Gynecology** 94,1040–1044, 1987.
- ALMEIDA, S.D.M.; BARROS, M.B.Z. Eqüidade e atenção à saúde da gestante em Campinas (SP), Brasil. **Revista Panamericana de Saúde Publica**, v.17, n.1, p. 15-25, jan.2005.
- ANOTAYANONTH, S.; SUBHEDAR, NV.; NEILSON, J.P.; Betamimetics for inhibiting preterm labour. **Cochrane Database of Systematic Reviews** 2004, Issue 4.
- ANWAR, B., ACTON L. W., HUDSON H. S., et al., *Solar Phys.* 147, 287. 1993
- ARNOLD, W.P.; LONGNECKER, D.E.; EPSTEIN, R.M. Photodegradation of sodium nitroprusside: biologic activity and cyanide release. **Anesthesiology**. 61, 254-260, 1984.
- ARNOLD, W.P.; MITTAL, C.K.; KATSUKI, S.; et al. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 74, 3203-3207, 1977.
- ASHUTOSH, K.; PHADKE, K.; JACKSON, J.F.; et al. Use of nitric oxide inhalation in chronic obstructive pulmonary disease. **Thorax**. 55, 109-113, 2000.
- BALLEJO, G.;BARBOSA TA,;COELHO ,E.B.;ANTONIALI, C,SALGADO Pregnancy associated increase in rat systemic arteries endotelial nitric oxide production diminishes vasoconstrictor but does not enhance vasodilator responses **.Life Sci** 17;70(26):3131.42. 2002
- BARNES, P.J, & BELVISI, M.G. Nitric oxide and lung disease. **Thorax** 48, 1034–1043, 1993.
- BATRA S. Hormonal control of myometrial function. In: Chard T, GRUDZINSKAS JG (eds.), **The Uterus. Melbourne, Australia: Cambridge University Press**; 173–192, 1994.
- BAYLIS, SA, STRIJBOS, PJLM, SANDRA, A. Temporal expression of inducible nitric oxide synthase in mouse and human placenta. **Mol. Hum. Reprod.**, 5, 277–286.1999.
- BERKOWITZ, G.S; PAPIERNIK, E. Epidemiology of preterm birth. **Epidemiol Rev.** 15:414–443, 1993.

BERNAL, L. Cyclic AMP signalling pathways in the regulation of uterine relaxation. **BMC Pregnancy and Childbirth**. 2007.

BOLOTINA, V.M.; NAJIBI, S.; PALACINO, J.J.; et al. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**. 368, 850-853, 1994.

BOULANGER, C.M. & VANHOUTTE, P.M. G proteins and endothelium-dependent relaxations. **J. Vasc. Res.** 34, 175-185, 1997.

BOVE, P.F. & VAN DER VLIET, A. Nitric oxide and reactive nitrogen species in airway epithelial signaling and inflammation. **Free Radical Biology & Medicine** 41, 515–527, 2006.

BRADLEY, J.R.; THIRU, S. POBER, J.S . Disparatelocalization of 55-kd and 75-kd tumor necrosis factor receptors in human endothelial cells. **Am. J. Pathol.**,146(1), 27-32..1998

BRAINARD, A.M.;A.J Miller.; Martens J.R .; Inglaterra.; S.K canais maxi-K para localizar cavéolas em miométrio humano: um papel para um complexo actina channel-caveolina na regulação do K músculo liso miometrial + atual . **Am J Physiol Physiol célula** 289 , C49 - C57 2005.

BRYANT,C.E .;TOMILNSO,A,MITCHELL.;J.A. et al .nitric oxide synthase in the rat fallopian tube is regulated during the oestrous cycle.**j.endocrinol**,146,-a149-157.1995.

BUGA, G.M.; GOLD, M.E.; WOOD, K.S.; et al. Endothelium-derived nitric oxide relaxes nonvascular smooth muscle. **Euro. J. Pharmacol.** 161, 61–72,1989.

BUHIMSCHI, C.; BOYLE, M.B.; GARFIELS, R.E.; ELELECTRICAL ACTIVITY OF THE HUMAN TERUS DURING PREGNANCY AS RECORDED FROM THE ABDOMINAL SURFACE .**OBTET GYNECOL**,90,102-111.1996.

BUHIMSCHI, I.; ALI M, JAIN V.; CHWALISZ, K.; et al., Differential regulation of nitric oxide in the rat uterus and cervix during pregnancy and labour. **Hum Reprod** 11:1756–1766, 1996.

BUHIMSCHI, I.; YALLAMPALLI, C.; DONG, Y.L.;et al.; Involvement of a nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in control of human uterine contractility during pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**.172:1577–1584, 1995.

BUHIMSCHI,YALLAMPLI,C,BONG,Y,L.GARFIELD R.R,involvement of a nitric oxide cyclic guanosine monophosphate pathway in control of human uterie contractelit during pregnancy.**Am.j.obste gynecol**,172,1577-1584.1997.

BUXTON, I.L. .NO-induced relaxation of labouring and non-labouring human myometrium is not mediated by cyclic *GMP*. **Br J Pharmacol** 134:206–214, 2001.

BUXTON, R.B.; ULUBAG, K.; DUBOWITZ, D.J.; et al., Modeling the hemodynamic response to main activation. **Neuroimage** 5220-5233, 2004.

CAMERON, I. T. & CAMPBELL, S. Nitric oxide in the endometrium. **Human Reproduction Update**. 4: 565-569, 1998.

CARVALHO, MHC, SCIVOLETTO R, FORTES ZB, NIGRO D, CORDELLINI S. Reactivity of aorta and mesenteric microvessels to drugs in spontaneously hypertensive rats: role of the endothelium. **J Hypertens** 5: 377-82, 1987.

CASTRO, P.F.S.; PEREIRA, A. C.; RODRIGUES, G.J. et al. A new nitrosyl ruthenium complex nitric oxide donor presents higher efficacy than sodium nitroprusside on relaxation of airway smooth muscle. **European Journal of Pharmaceutical Sciences** (2011).

CETIN, A.; KAYA, T.; DEMIRKOPRULU, N.; et al.; YC-1, a Nitric Oxide-Independent Activator of Soluble Guanylate Cyclase, Inhibits the Spontaneous Contractions of Isolated Pregnant Rat Myometrium. **J Pharmacol Sci** 94, 19 – 24, 2004.

CHESLEY, L.C.; Hypertensive disorders in pregnancy. **J Nurse Midwifery** 30, 99–104, 1985

CHRISTIANS, G.C.M.L.; SIXMA, J.J.; HASPELSA.A. Morphology of haemostasis in menstrual endometrium. **Br. J. Obstet. Gynaecol.** 87: 435-439, 1980.

CHWALISZ, K.; GARFIELD, R.E. Role of nitric oxide in implantation and menstruation. **Hum Reprod**, 15, 96-111, 2000.

COELHO, E.B.; BALLEJO G.; SALGADO, M.C.O. O óxido nítrico embota resposta simpática de grávidas artérias de ratos normotensos e hipertensos. **Hypertension** .30:585-8. 1997

COMHAIR S.A, BHATHENA P.R., FARVER C., THUNNISSEN FB, and Erzurum SC. Extracellular glutathione peroxidase induction in asthmatic lungs: evidence for redox regulation of expression in human airway epithelial cells. **FASEB J** 15: 70–78, 2001.

COMHAIR S.A.; BHATHENA PR, DWEIK RA.; KAVURU M, and Erzurum SC. Rapid loss of superoxide dismutase activity during antigen-induced asthmatic response. **Lancet** 355: 624, 2000

COMHAIR, S.A.A.; ERZURUM S.C. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol** 283, L246–L255, 2002.

CONRAD, K.P.; JOFFE, G.M.; KRUSZYNA, H.R.; et al., **FASEB J** oxide nitric human myometrium.,p 7, 566-571 (1993).

CORNWELL, T.L.; LI, J.; SELLAH, H.; et al. Regulation of cyclic guanosine monophosphate-dependent protein kinase in human uterine tissues during the menstrual cycle. **Biol. Reprod.** 64, 857–86,2001.

CORNWELL, T.L.; PRYZWANSKY,K.B.; WYATT, T.A et al., Regulation of sarcoplasmic reticulum protein phosphorylation by localized cyclic GMP-dependent protein kinase in vascular smooth muscle cells. **Molecular Pharmacology** 40, 923–931, 1991.

CÔRTEZ SF, ANDRIANTSITOHAINA R, STOCLET JC. Alterations of cyclooxygenase products and NO in responses to angiotensin II of resistance arteries from the spontaneously hypertensive rat. **Br JPharmacol**119: 1635-41, 1996.

DEMIRKOPRULU, N.; CETIN, M.; BAGCIVAN, I.; et al., Comparative relaxant effects of YC-1 and DETA/NO on spontaneous contractions and the levels of cGMP of isolated pregnant rat myometrium. **Eur J Pharmacol** 517:240–5, 2005.

DODD, J.M.; CROWTHER, C.A.; DARE, M.R.; et al., Oral betamimetics for maintenance therapy after threatened preterm labour. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 1.

DONG, Y.L.; GANGULA P.R.R.;Yallampalli. C. Nitric oxide synthase isoforms in the rat uterus: differential regulation during pregnancy and labour. **Journal of Reproduction and Fertility** 107 249-254. 1996

DUVEKOT, J.J.; PEETERS, L.L.; Maternal cardiovascular hemodynamic adaptation to pregnancy. **Obstet Gynecol Surv** 49,S1–S14, 1994.

EGER II EI, BRANDSTATER B, SAIDMAN LJ et al - Equipotent alveolar concentrations of methoxyflurane, halothane, diethyl ether, fluoxetine, cyclopropane, xenon and nitrous oxide in the dog. **Anesthesiology**, 26,771-777,1965.

EKERHOVD, E.; BRÄNNSTRÖM, M.; ALEXANDERSSON, M.; et al. Evidence for nitric oxide mediation of contractile activity in isolated strips of human Fallopian tube. **Hum. Reprod.** 12: 301-305, 1997.

ELLIS, J.L. Role of soluble guanylyl cyclase in the relaxations to a nitric oxide donor and to nonadrenergic nerve stimulation in guinea pig trachea and human bronchus. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 280, 1215–1218, 1997.

FICKLING, S.A.; WILLIAMS, D.; VALLANCE, P. *et al.* Plasma concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in normal pregnancy and preeclampsia. **Lancet**, 342, 242–243, 1993.

FINNER, G.N.; PHANEUF, S.; TOLKOVSKY, A.M.; et al., Down regulation of G_s in human myometrium in term and preterm labor: a mechanism for parturition. **J Clin Endocrinol Metab.** 79:1835–1839, 1994.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista Associação Médica Brasileira.** Capturado em 13 jul. 2002.

FOLKERTS, G. & NIJKAMP, F.P. Airway epithelium: more than just a barrier! **Trends Pharmacol. Sci.** 19, 334-341, 1998.

FORTES ZB, COSTA SG, NUCCI G, et al. Comparison of the reactivity of micro-and macrovessels to noradrenaline and endothelin in rats with renal (2K1C) hypertension. **ClinExpHypertens A** 12(1):47-61, 1990.

FREEDMAN JE, FREI B, WELCH GN, AND LOSCALZO J. Glutathione peroxidase potentiates the inhibition of platelet function by S-nitrosothiols. **J Clin Invest** 96: 394-400, 1995.

FROST E, A History of Nitrous Oxide, em Eger II EI - Nitrous Oxide/ N₂O. New York, **Elsevier**, 1-22, 1985.

FURCHGOTT, R.F. & ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature** Nov: 288(5789): 373-376, 1980.

FURCHGOTT, R.F. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. **Biosci. Rep.** 19, 235-251, 1999.

GASTON B.; DRAZEN JM.; LOSCALZO J.; et al., The biology of nitrogen oxides in the airways. **Am J Respir Crit Care Med** 149: 538–551, 1994.

GOMES ,S.A. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** Rio de Janeiro **2009**.

GREISS, F. C.; Effect of ovarian hormones on the uterine vascular bed. **Amer. J. Obstet. Gynecol.**, 107-829, 1970.

GROZDANOVIC, Z.; MAYER, B.; BAUMGARTEN, H.G.; Nitric oxide synthase-containing nerve fibres and neurons in the genital tract of the female mouse **Cell Tissue Research** 275 355–360, 1994.

GUDI T.; HUVAR I.; MEINECKE M.; et al., Regulation of gene expression by cGMP-dependent protein kinase. Transactivation of the *c-fos* promoter. **J Biol Chem** 271:4597– 4600, 1996.

HADDAD, E. K.; DUCLOS, A. J.; BAINES, M. G. Early embryo loss is associated with local production of nitric oxide by decidual mononuclear cells. **J. Exp. Med.**, v. 182, p. 1143-1152, 1995.

HAYAKAWA, H.; RAIJ, L.; Nitric oxide synthase activity and renal injury in genetic hypertension. **Hypertension** .266-70, 1998.

HENNAN ,J.K.; DIAMOND J Effect of NO donors on protein phosphorylation in intact vascular and nonvascular smooth muscles. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**280:H1565–H1580.2001

HENNAN, J.K.; DIAMOND,; .J Evidence that spontaneous contractile activity in the rat myometrium is not inhibited by NO-mediated increases in tissue levels of..cyclic GMP. *Br J Pharmacol* **123**:959–967, 1998

HOFFMANN, A.; GLOE, T.; POHL, U.; et al. Nitric oxide enhances de novo formation of endothelial gap junctions. **Card. Res.**. 60, 421– 430, 2003

HOGMAN, M.; FROSTELL, C.G.; HEDEBTROM,;HIDENSTIENA G.inalation of nitric oxide modulates adult Human bronchial tone.**Am rev respir dis** 148:1474-1478.1993

HOMER, K.L.; WANSTALL, J.C. Cyclic GMP-independent relaxation of rat pulmonary artery by spermine NONOate, a diazeniumdiolate nitric oxide donor. *Br. J. Pharmacol.* 131, 673–682, 2000.

HORNBEIN, T.P.; EGER,I II, WINTER PM et al - The minimum alveolar concentration of nitrous oxide in man. **Anesth Analg**, 61,553-55,.1982.

HUANG, J.; ROBY, K.F.; PACE, J.L.; et al., Cellular localization and hormonal regulation of inducible nitric oxide synthase in cycling mouse uterus *Journal of Leukocyte Biology* 57 27–35, 1995.

IDRISS S.D.; GUDI T.; CASTEEL DE.; et al., Nitric oxide regulation of gene transcription via soluble guanylate cyclase and type I cGMP-dependent protein kinase. *J Biol Chem* 274:9489–9493, 1999.

IGNARRO, L.J. Signal transduction mechanisms involving nitric oxide. **Biochem. Pharmacol.** 41, 485-490, 1991.

IZUMI, H.; YALLAMPALLI, C.; GARFIELD, R.E.; Gestational changes in L-arginine-induced relaxation of pregnant rat and human myometrial smooth muscle. **Am J Obstet Gynecol** 1993;169:1327–1337.

JENKINS, D.C.; CHARLES, I.G.; THOMSEN, I.I. Roles of nitric oxide in tumor growth. **Proceedings of the National Academy Sciences**, v.92, p.4392-4396, 1995.

JENSEN, L.; et al. Effect of acute exercise and exercise training on VEGF splice variants in human skeletal muscle. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.**;287:397- 402. 2004

JONES, K.A.; LORENZ, R.R.; WARNER, D.O.; et al. Changes in cytosolic cGMP and calcium in airway smooth muscle relaxed by 3-morpholinopyridone. **Am. J. Physiol.** 266, L9-16, 1994.

KACMAREK, R.M.; RIPPLE, R.; COCKRILL, B.A.; et al. Inhaled nitric oxide. A bronchodilator in mild asthmatics with methacholine-induced bronchospasm. **Am. J. Respir. Crit. Care. Med.** 153(1), 128-135, 1996.

KAKUI, K.; YURA, S.; KORITA, D.; et al. Augmented endothelial nitric oxide synthase (eNOS) protein expression in human pregnant myometrium: possible involvement of eNOS promoter activation by estrogen via both estrogen receptor (ER) α and ER β . **Molecular Human Reproduction** Vol.10, No.2 p. 115±122, 2004.

KARAKI, H.; SATO, K.; OZAKI, H.; et al. Effects of sodium nitroprusside on cytosolic calcium level in vascular smooth muscle. **Eur. J. Pharmacol.** 156(2), 259-266, 1988.

KAYA, T.; CETIN, A.; SARIOGLU, Y.; Changes in the nitric oxide system of rat myometrium during mid-gestation and delivery at term. **Pharmacol Res** 37:403–408, 1998

KELLY, R. A.; J. L. BALLIGAND e T. W; SMITH. **Nitric oxide and cardiac function. Circ Res**, v.79, n.3, Sep, p.363-80. 1996.

KHARITONOV, S.A. Influence of different therapeutic strategies on exhaled NO and lung inflammation in asthma and COPD. **Vascul. Pharmacol.** 43, 371 – 378, 2005.

KOKS, C.A.; BROLMANN, H.A.; KLEINE, M.J.; et al., A randomized comparison of nifedipine and ritodrine for suppression of preterm labor. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 77,171–176, 1998.

KUENZLI, K.A., BUXTON, I.L., AND BRADLEY, M.E.; Nitric oxide regulation of monkey myometrial contractility; **Br. J. Pharmacol.**, 124,63-8, 1998.

KUENZLI, K.A.; BRADLEY, M.E.; BUXTON, I.L.O.; Cyclic GMP-independent effects of nitric oxide on guinea-pig uterine contractility. **Br J Pharmacol** 119:737–743, 1996.

LEES, C.; CAMPBELL, S.; JAUNIAUX, E.; et al. Arrest of preterm labour and prolongation of gestation with glyceryl trinitrate, a nitric oxide donor. **Lancet** 343:1325-1326, 1994.

LINDEMAN, K.S.; FORRESTER, D.J.; HIRSHMAN, C.A.; et al., Myometrial adenylyl cyclase protein decreases on the last day of pregnancy in the rat. **Biol Reprod** May; 62, 1422-6, 2000.

LIU LH, PAUL RJ; SUTLIFF RL, et al. Defective endothelium-dependent relaxation of vascular smooth muscle and endothelial cell Ca²⁺ signaling in mice lacking sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase isoform 3. **J Biol Chem.** 28;272(48):30538-45, 1997.

LÜSCHER TF, RAIJ L, VANHOUTTE PM. Endothelium-dependent responses in normotensives and hypertensives Dahlrats. **Hypertension**: 157-63, 1987.

LUZI, G.; CASERTA,G.; LAMMARINO, G.; et al., Nitric oxide donors in pregnancy: fetomaternal hemodynamic effects induced in mild pre-eclampsia and threatened preterm labor. **Ultrasound Obstet Gynecol** 14:101–109, 1999.

LYALL, F.; YOUNG, A.; GREER, I.A.; Nitric oxide concentrations are increased in the fetoplacental circulation in pre-eclampsia **Journal of the Society for Gynecologic Investigation** 2 P83, 1995.

MACKENZIE, R.; WALKER, M.; ARMSON. A.; et al., Progesterone for 6. the prevention of preterm birth among women at increased risk: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Obstet Gynecol.** 194,1234-42, 2006.

MAGNES,R.R.SHAWCE,;PHERNETTON,;T.M.;ZHING,J,BIRD,;I.M.; endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries 11.pregnancy effects on nitric synthase expression.**am j.physiol.**ar;272 1730-40.

MAGNESS, R.R.; Maternal cardiovascular and other physiologic responses to the endocrinology of pregnancy. In Bazer, F. (ed.), **Endocrinology of Pregnancy.** 18, pp. 507–539, 1998.

MAGNESS, R.R.; ROSENFELD, C R.; The role of steroid hormones in the control of uterine blood flow. **Reproductive and perinatal medicine.** 1989.

MARKEE, J.E. Menstruation in extraocular endometrial transplants in rhesus monkey. *Contrib. Embryol.* 28; 219-308, 1940.

MAUL,H.; LONGO,M.; SAADE,G.R; et al., Nitric oxide and its role during pregnancy: from ovulation to delivery. **Curr Pharm Des**,9, 359-380,2003.

MCDANIEL, N.L.; CHEN, X.L.; SINGER, H.A., et al. Nitrovasodilators relax arterial smooth muscle by decreasing [Ca²⁺]_i and uncoupling stress from myosin phosphorylation. **Am. J. Physiol.** 263, C461-C467, 1992.

MILLER MJ, PINTO A, MULLANE KM. Impaired endothelium-dependent relaxations in rabbits subjected to aortic coarctation **hypertension. Hypertension.** 10,164-70, 1987.

MIYOSHI, H.; NAKAYA, Y.; MORITOKI, H. Nonendothelial-derived nitric oxide activates the ATP-sensitive K⁺ channel of vascular smooth muscle cells. *Febs Letters.* 345(1), 47-49, 1994.

MONCADA, S. et al. Nitric oxide: physiology, pathophysiology AND PHARMACOLOGY. **PHARMACOL. REVIEWS**, 43,109-42, 1991.

MURAD, F. Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. **J. Clin. Invest.** 78(1), 1-5, 1986.

MURTA, B.M.T. et al. The relationship of host immune cells, cytokine and nitric oxide production to tumor cells in ovarian carcinoma. **São Paulo Medical J.** Capturado em 13 jul. 2002.

NATHAN, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. **FASEB Journal**, v.6, p.3051-3064, 1992.

NIJKAMP, F.P & FOLKERTS, G. Nitric oxide and bronchial hyperresponsiveness. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 329(1), 81-96, 1995.

NIJKAMP, F.P.; VAN DER LINDE, H.J.; FOLKERTS, G. Nitric oxide synthesis inhibitors induce airway responsiveness in the guinea pig in vivo and in vitro: role of the epithelium. **Am. Rev. Respir. Dis.** 148, 727–734, 1993.

NORMAN, J. & CAMERON, I.T. Nitric oxide in the human uterus. **Rev. Reprod.** 1: 61-68, 1996.

NORMAN, J. E.; WARD, L. M.; MARTIN, W.; et al. Effects of Cgmp and the nitric oxide donors glyceryl trinitrate and sodium nitroprusside on contractions in vitro of isolated myometrial tissue from pregnant women. **J. Reprod. Fertil.** 110: 249-254, 1997.

O'SULLIVAN, C.; LEWIS, C.E. Tumor-associated leucocytes: Friends or foes in breast cancer carcinoma. **Journal Pathology**, v.172, p.229-235, 1994.

OTA, H.; IGARASHI, S.; TANAKA, T. Endothelial nitric oxide synthase in the endometrium during the menstrual cycle in patients with endometriosis and adenomyosis. **Fertil. Steril.**, v.69, p.165-172, 1998.

PAPKA, R.E.; AND MCNEILL, D.L.; Distribution of NADPH-diaphorase-positive nerves in the uterine cervix and neurons in dorsal root and paracervical ganglia of the female rat **Neuroscience Letters** 147 224–228, 1992

PHANEUF, S.; ASBOTH, G.; MACKENZIE, I.Z.; et al., Effect of oxytocin antagonists on the activation of human myometrium *in vitro*: atosiban prevents oxytocin-induced desensitization. **American Journal of Obstetrics and Gynecology** 171,1627–1634, 1994.

PITTROF, R.; LEES, C.; THOMPSON, C.; et al. Crossover study of glyceryl trinitrate patches for controlling pain in women with severe dysmenorrhoea. **BMJ** 312: 884, 1996

PODJARNY, E.; LOSONCZY, G.; BAYLIS, C. Animal Models of Preeclampsia. **Semin Nephrol.** 24: 596–606, 2004.

PODYMOW, T.; AUGUST, P.; Hypertension in pregnancy. **Adv Chron Kidney Dis** 14: 178–190, 2007.

RANSAY, B.; JOHNSON, M.R.; LEONE, A.M.; et al. The effect of exogenous oestrogen on nitric oxide production in women; a placebo controlled crossover study. **Br J Obstet Gynaecol** 102: 417–419, 1995.

READ, M.D.; & WELLBY, D.E.; The use of a calcium antagonist (nifedipine) to suppress preterm labor. **Br L Obstet Gynaecol.** 93, 933-7, 1986.

REDINGTON, A.E. Modulation of nitric oxide pathways: Therapeutic potential in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Eur. J. Pharmacol.** 533, 263–276, 2006.

ROSENFELD, C.R.; KILLAM, A.P.; BATTAGLIA, F.C.; et al., Effect of estradiol 17 β on the magnitude and distribution of uterine blood flow in nonpregnant, oophorectomized ewes. **Pediatr Res** 7: 139–148, 1973.

ROSENFELD, J.J.; BOWINS, B.; ROBERTS, J., and MACPHERSON, A.S. **Anal. chem.** 46, 2232- 2234. 1974

ROSENWAKS Z, SEEGAR-JONES G. Menstrual pain: its origin and pathogenesis. **J Reprod Med**; 25, 207–212, 1980.

SANNA E, Dildy-Mayfield JE, and Harris RA (1994) ON inhibits the function of 5-hydroxytryptamine type 1C and muscarinic M1 G protein-linked receptors in

SCHIMDT .H.H.H GAGNE, B. NAKANE, M, et al mapping of neural nitric oxide synthase in the rat suggest. **histochem, cytoschem**, 40-1439-1456. 1992

SCHMIDT, H.H.H.W.; GAGNE, G.D.; NAKANE, M.; et al., Mapping of neural nitric oxide synthase in the rat suggests frequent colocalisation with NADPH diaphorase but not with soluble guanylate cyclase, and novel paraneural functions for nitric oxide

signal transduction **Journal of Histochemistry and Cytochemistry** **40** 1439–1456, 1992.

SCHMIDT, H.H.H.W.; WALTER, U. NO at work. **Cell**, v.78, p.919-925, 1994.

SELIGMAN,S.P.;BUYON,J.P.;CLANCY,R.M.; et al. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. **Am.J Obstet Gynecol** 171: 944-948,1994.

SHAH, A. M. Paracrine modulation of heart cell function by endothelial cells. **Cardiovasc. Res.** 31, 847-867, 1996.

SILVEIRA, M.F; SANTOS, I.S; BARROS, A.J.D; Aumento da prematuridade no Brasil: revisão de estudos de base populacional. **Rev Saúde Pública** 42:957-64, 2008.

SLADEK, S.M, REGENSTEIN, A.C, ;LYKINS ;,D. ROBERTS,; J.M. nitric oxide synthase activity in pregnant rabbit uterus decreases on the last day of pregnancy,20-1234-1872.1993

SLANDEK S.M,ROBERTS.J,M 1996.nitric oxide syntase activity in the gravid rat uterus decreases a day before the onset of parturition.**Am j obstest gynecol** 175:1661-1667.1996

SMITH, S.K.; ABEL, M.H.; KELLY, R.W.; et al. Prostaglandin synthesis in the endometrium of women with ovular dysfunctional uterine bleeding. **Br. J. Obstet. Gynaecol.** 88: 434-442, 1981.

SMITHDL, GROSS.; K.C. A family of at least seven beta-galactosidase genes is expressed during tomato fruit development. **Plant Physiology** 123,1173–1183.2000.

SPRINGALL, D.R. Nitric oxide - Friend and foe. **editorial. Journal Pathology**, v.175, p.165-166, 1995.

STUART-SMITH, K.; BYNOE, T.C.; LINDEMAN, K.S.; et al. Differential effects of nitrovasodilators and nitric oxide on porcine tracheal and bronchial muscle in vitro. **J. Appl. Physiol.** 77, 1142-1147, 1994.

SUBURO, A.M.; CHAUD, M.; FRANCHI, A.M.; POLAK, J.M.,.;GIMENO, M.F. Distribution of neuronal and non-neuronal NADPH diaphorases and nitric oxide synthases in rat uterine horns under different hormonal conditions. **Biol Reprod.**;52:631–637. 1995

SUGIRO, N.; SHIMAMURA, K.; TAKIGUCHI, S.; et al. Changes inactivity of superoxide dismutase in the humn endometrium throughout the menstrual cycle and in early pregnancy. **Hum Reprod.** 11:1073-1078, 1996.

TAGUCHI K, UEDA M, KUBO T. Effects of cAMP and cGMP on L-type calcium channel currents in rat mesenteric artery cells. **Jpn J Pharmacol.**74(2):179-86, 1997.

TELFER, J.F.; IRVINE, G.A.; KOHNEN, G.; et al. Expression of endothelial end inducible nitric oxide synthase in non-pregnant and decidualized human endothelium. **Mol. Hum. Reprod.** 3: 69-75, 1997.

TELFER, J.F.; ITOH, H.; THOMSON, A.J.; et al. Activity and expression of soluble and particulate guanylate cyclases in myometrium from nonpregnant and pregnant women: down-regulation of soluble guanylate cyclase at term. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 86: 5934 –5943, 2001.

THIPPESWAMY, T.; MCKAY, J.S.; QUINN, J.P.; et al. Nitric oxide, a biological double-faced janus-is this good or bad? **Histol. Histopathol.** 21,445-458,2006.

THOMSON, A.J.; TELFER, J.F.; KOHNEN, G.; et al Nitric oxide synthase activity and localization does not change in uterus and placenta during human parturition. **Hum. Reprod.** 12: 2546-2552, 1997b.

TRUDY L. C.; HASSAN S.; PRIMAL L.; et al., Regulation of Cyclic Guanosine Monophosphate-Dependent Protein Kinase in Human Uterine Tissues During the Menstrual Cycle. **biology of reproduction** 64, 857–864, 2001.

TSENG, G.N.; TSENG.; CRANK J . Differential effects of elevating [K]_o on three transient outward K channels: Dependence on channel inactivation mechanism. **Circ Res** 71:657–672.1996.

ULMSTEN, U.; ANDERSSON, K.E.; WINGER, U,P,L.; Treatment of premature labour with the calcium antagonist nifedipine. **Arch Gynecol** 229,1-5, 1980.

ULRICH, K. & EPPINGER, S. Product design and development. McGraw-Hill **Higher Education.** 2012.

VANHOUTTE & BOULANGER . Endothelium - dependent responses in hypertension. **Hypertens Res.** 87-98.1995.

VONBANK, K.; ZIESCHE, R.; HIGENBOTTAM, T.W.; et al. Controlled prospective randomised trial on the effects on pulmonary haemodynamics of the ambulatory long term use of nitric oxide and oxygen in patients with severe COPD. **Thorax.** 58, 289-293, 2003.

WALID, M.S.; SASANOUFA, M.; SALVATIERRA, J.; et al., a complication of na underlying pathology. **J Clin Med Res.** 2, 102-4, 2010.

WERNER ,M.J, Joffe.; A .;Graham A.V.; Screening, early identification, and office-based intervention with children and youth living in substance-abusing families. **Pediatrics** 103:1099-1112.

WILSON, B.J.; WATSON, M.S.; PRESCOTT, G.J.; et al., Hypertensive diseases of pregnancy and risk of hypertension and stroke in later life: **Results from cohort study. BMJ** 326: 845, 2003.

WINK, D.A. et al. The multifaceted roles of nitric oxide in cancer. **Carcinogenesis**, v.19, n.5, p.711-721, 1998.

WORD, R.A; PARTURITION, I.N; CARR, B.R; et al., Textbook of Reproductive Medicine, 2nd ed. Norwalk, CT: **Appleton and Lange**; 45–56, 1998.

XENOPUS oocytes expressing brain mRNA: role of protein kinase C. **Mol Pharmacol**45:1004–2012.

YALLAMPALLI, C., BYAM-SMITH, M., NELSON, S.O. et al., Steroid hormones modulate the production of nitric oxide and cGMP in the rat uterus. **Endocrinology**, **134**, 1971–1974.1994.

YALLAMPALLI, C.,; GARFIELD, R.E. ;BYAM-SMITH, M.Nitric oxide inhibits uterine contractility during pregnancy but not during delivery.**Endocrinology**, **133**, 1899–1902.1993.

YALLAMPALLI, C. GARFIELD R.E inhibition of nitric oxide synthesis in rats during pregnancy produces signs similar to preeclampsia.**Am.j.obstet gynecol** 1969.1316-1320.1997

ZHOU, H.L. & TORPHY, T.L. Relationship between cyclic guanosine monophosphate accumulation and relaxation of canine trachealis induced by nitrovasodilators. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 258, 972-978, 1991.