

Óxido nítrico exalado no diagnóstico e acompanhamento das doenças respiratórias

JOSÉ MIGUEL CHATKIN^{1,2}, PER DJUPESLAND², WEI QIAN², JAMES HAIGHT³, NOE ZAMEL³

O presente trabalho apresenta uma sucinta revisão sobre o papel do óxido nítrico na fisiologia respiratória e na fisiopatologia de algumas pneumopatias. A perspectiva de seu uso para diagnóstico e acompanhamento de inúmeras situações clínicas é discutida. (*J Pneumol* 2000;26(1):36-43)

Exhaled nitric oxide for the diagnosis and monitoring of respiratory diseases

This paper reviews in brief the role of nitric oxide in the respiratory physiology and in the pathology of some pulmonary diseases. The potential diagnostic and monitoring uses in several clinical situations are also discussed.

Descritores – doenças respiratórias; pneumopatias obstrutivas; asma; tabagismo; fibrose cística; bronquiectasia; pulmão; transplante de pulmão

Key words – respiratory tract diseases; lung diseases, obstructive; asthma; smoking; cystic fibrosis; bronchiectasis lung; lung transplantation

Síglas e abreviaturas utilizadas neste trabalho

EDRF – Endothelium derived relaxant factor

NO – Óxido nítrico

SARA – Síndrome de angústia respiratória aguda

NOS – Sintase do óxido nítrico

NADPH – Nicotinamida adenina fosfato dinucleotídeo

cNOS – Sintase do óxido nítrico constitutiva

eNOS – Sintase do óxido nítrico endotelial

nNOS – Sintase do óxido nítrico do neurônio

iNOS – Sintase do óxido nítrico indutível

cGMP – Guanosina 3'5'-monofosfato cíclico

NANC – Sistema não-adrenérgico não-colinérgico

iNANC – Inibidor do sistema não-adrenérgico não-colinérgico

FE_{NO} – Fração expirada de óxido nítrico

DPOC – Doença pulmonar obstrutiva crônica

TNF – Fator de necrose tumoral

FC – Fibrose cística

INTRODUÇÃO

Furchgott e Zawadzki⁽¹⁾, em 1980, descreveram vasodilatação em consequência da ação de uma substância produzida no endotélio, pelo que foi denominada de EDRF (*endothelium derived relaxant factor*). Em 1987, foi sugerido que esse fator tinha características semelhantes às do óxido nítrico (NO)⁽²⁻⁴⁾.

Desde então, o crescente número de estudos sobre o NO e seus metabólitos permitiu que fossem sendo progressivamente entendidas algumas de suas principais funções biológicas: participação no sistema imunológico, neurotransmissão, vasodilatação e broncodilatação^(5,6). Em 1992, a revista *Science*, reconhecendo a importância dessa substância em várias áreas da Medicina, denominou-a como *Molecule of the Year* em um editorial introdutório ao artigo “*no news is good news*”⁽⁷⁾. Em 1996, Murad, Ignarro e Furchgott, em reconhecimento aos seus trabalhos com o NO, receberam o *Albert Lasker Award*,

e, em 1998, os mesmos pesquisadores foram agraciados com o Prêmio Nobel de Medicina.

Assim, situações clínicas tão frequentes e tão díspares como gravidez, eclampsia, sepse, asma, SARA, hipertensão, cistite, glomerulonefrite, transplantes de órgãos, cirrose, fissura anal, impotência e provavelmente neoplasias, entre outras, parecem ter o NO, seus precursores ou seus metabólitos envolvidos em sua fisiopatogenia⁽⁸⁻¹⁴⁾.

O NO era considerado, até pouco tempo atrás, somente como um agente sabidamente poluidor da atmosfera, como elemento participante da chamada chuva ácida, dos mecanismos de destruição da camada de ozônio e da formação de alguns compostos carcinogênicos. Com as descobertas atuais, passou a ser visto como um item provavelmente fundamental em quase todos as reações biológicas em inúmeros sistemas e aparelhos humanos⁽¹⁵⁻¹⁸⁾.

O presente artigo pretende discutir o papel do NO como parte do arsenal pneumológico. É possível que, em breve,

1. Professor Titular de Pneumologia da Faculdade de Medicina da PUCRS.

2. Post Doctoral Fellow, University of Toronto.

3. Professor of Medicine, University of Toronto.

Endereço para correspondência – José Miguel Chatkin, Rua Luiz Voelker, 351 – 91330-190 – Porto Alegre, RS. Tel. (51) 336-5043. E-mail: jmchatkin@pucrs.br

Recebido para publicação em 28/9/99. Aprovado, após revisão, em 6/10/99.

os pneumologistas possam dispor de mais um instrumento para o diagnóstico ou acompanhamento de inúmeras pneumopatias, com a grande vantagem de ser um método não invasivo e por isso mesmo facilmente repetido. O papel terapêutico dessa substância começa a ser avaliado e seu real benefício também está em plena discussão⁽¹⁹⁻²¹⁾.

COMO O NO É FORMADO E COMO AGE?

A síntese ocorre durante a transformação do aminoácido semi-essencial L-arginina em L-citrulina, em uma reação mediada pela enzima sintase do óxido nítrico (NOS), devendo estar presentes oxigênio, NADPH, cálcio (dependendo do tipo de NOS), entre várias outras substâncias⁽²²⁾.

Vários tipos de isômeros da sintase do NO já foram demonstrados, inclusive com suas respectivas diferentes características e seus distintos determinantes genéticos⁽²³⁾. As isoformas ditas *constitutivas* (*cNOS*), basicamente encontradas nas células endoteliais (*eNOS* ou *tipo I*) e nos neurônios (*nNOS* ou *tipo III*), mas também em outras células, produzem NO em pequenas quantidades, em ritmo fisiológico. O terceiro tipo de isômero, denominado de *indutível* (*iNOS* ou *tipo II*), expressa-se sob a ação de citocinas, endotoxinas, interleucinas e outros mediadores inflamatórios. Manifesta-se principalmente em macrófagos, neutrófilos, fibroblastos, células endoteliais e musculares lisas dos vasos mediante a produção de grandes quantidades de NO⁽²⁴⁾. A indução deste isômero é demorada e a produção de NO só é percebida muitas horas após a exposição ao agente estimulante, porém, uma vez iniciada, perdurará enquanto houver substrato. É possível que existam ainda outras variantes dessas sintases. Já foi descrita no epitélio que recobre os seios da face uma isoforma com algumas características da forma constitutiva (não resposta a corticóides e expressão contínua) e outras da indutível (produção em grande quantidade)⁽²⁵⁾.

O NO assim produzido difunde-se, em uma ação típica de segundo mensageiro, para as células alvo, onde ativa o sistema da guanilciclase, com o aumento da produção de cGMP, através do qual ocasiona seu efeito biológico^(22,23).

Assim, dependendo do local de síntese, da quantidade produzida, do tipo de isoenzima envolvida e do microambiente onde vai atuar, o NO exercerá diferentes ações. Por exemplo, quando pequenas quantidades são liberadas nos terminais nervosos, o NO atua como neurotransmissor, regulando desde o relaxamento de esfíncteres no sistema gastrointestinal até a transmissão de estímulos no sistema nervoso central, em áreas como a memória ou o olfato. Quantidades similares, porém se liberadas pelas células endoteliais, regulam o relaxamento da musculatura lisa adjacente, promovendo vasodilatação. As quantidades maiores produzidas sob ação do sistema enzimático *iNOS* podem ocasionar ou ampliar processos inflamatórios em vários órgãos^(6,23,24). Essa produção excessiva resulta em

efeitos citotóxicos, possivelmente mediados por peroxinitrito, produto da reação entre o NO e superóxido, o real agente tóxico de grande poder oxidante⁽²⁶⁾.

O fato de que um gás como o NO tenha sido identificado como mensageiro intra e extracelular levantou a possibilidade, até recentemente pouco valorizada, de que outros gases pudessem também ter funções semelhantes. Outras substâncias voláteis, como monóxido de carbono, etano, pentano e outras não voláteis, como o peróxido de hidrogênio e algumas citocinas, estão sendo avaliadas como outros possíveis marcadores de doença de vias aéreas⁽²⁷⁻³¹⁾.

PAPEL DO ÓXIDO NÍTRICO NO SISTEMA RESPIRATÓRIO

Está bem definido que o NO é um constituinte normal do ar exalado na respiração humana e de animais⁽³²⁾.

As funções biológicas do NO descritas anteriormente repetem-se no aparelho respiratório.

Assim, o NO funciona como broncodilatador ao agir como neurotransmissor da parcela broncodilatadora do sistema NANC (*iNANC*), em oposição aos estímulos colinérgicos broncoconstritores⁽³³⁾.

Além disso, uma substância, que se acredita ser o NO, produzida pelo epitélio brônquico, possui também ação relaxadora da musculatura brônquica^(34,35).

Ao ser produzido também pelo endotélio vascular pulmonar, o NO tende a provocar vasodilatação na mucosa brônquica. Com isso facilita a exsudação de plasma para a via aérea, podendo resultar em um efeito final de aumento de resistência das vias aéreas⁽³⁵⁾.

Se além desses mecanismos dependentes das formas constitutivas das sintases, a quantidade produzida for muito maior, graças à ação da *iNOS*, a alteração promovida na via aérea será muito mais significativa. Concentrações altas de NO na árvore traqueobrônquica induzem a hipermia, exsudação plasmática, secreção de muco e proliferação de linfócitos TH₂, os responsáveis pela proliferação eosinofílica, em uma sequência de acontecimentos que caracteriza os fenômenos inflamatórios⁽³⁵⁾.

Várias das etapas dos processos bioquímicos e fisiológicos descritos acima ainda não estão totalmente entendidos⁽⁶⁾. Além disso, há muitos fatores que influenciam na mensuração do NO e de seus metabólitos no ar exalado ou nos líquidos humanos em geral, não só em função da técnica utilizada⁽³⁶⁾, mas também das condições clínicas subjacentes do paciente. Algumas dessas situações estão descritas a seguir.

O ÓXIDO NÍTRICO EM VIAS AÉREAS INFERIORES

1) Na asma

O acompanhamento do grau de inflamação presente nas vias aéreas, fundamental para o controle da asma⁽³⁷⁾,

está sendo proposto que seja feito também pelo controle seriado dos níveis da fração de NO no ar exalado (FE_{NO})^(9,38). As relações entre os diversos marcadores de inflamação já em uso, como eosinofilia no escarro e estudo da responsividade brônquica, com a FE_{NO} somente agora começam a ser estudadas e vários pontos ainda precisam ser melhor avaliados. Há uma relação positiva entre a FE_{NO} e a presença de eosinófilos no escarro e a de eosinófilos ativados no lavado broncoalveolar e uma relação negativa com marcadores específicos de neutrófilos, sugerindo um papel maior na inflamação eosinofílica⁽³⁹⁻⁴²⁾.

Aumentos da FE_{NO} em asmáticos têm sido demonstrados em vários estudos, fundamentalmente à custa da parcela tardia da reação⁽⁴³⁻⁴⁶⁾. Além disso, a fração diminui rapidamente com o uso de corticosteróides, em relação direta com a dose usada, provavelmente por ação na síntase iNOS^(41,47-49). Em indivíduos hígidos, o uso de corticosteróides não altera a FE_{NO} , já que nesta situação é mantida à custa do gás produzido via eNOS⁽⁵⁰⁾.

A administração aguda de salbutamol a asmáticos tende a aumentar leve e fugazmente os níveis de FE_{NO} . Porém alguns indivíduos podem apresentar aumentos de até 30% de seu valor inicial. Essa rápida modificação no nível de FE_{NO} sugere que seja devida a efeito mecânico, como o recrutamento de vias aéreas desobstruídas pelo uso do broncodilatador ou o aumento da área de difusão do gás através do aumento da área na mucosa brônquica^(51,52). Dentro dessa mesma linha de raciocínio, broncoconstrição aguda, induzida por estímulos diretos ou indiretos, está associada à redução da FE_{NO} , reforçando a sugestão de que o calibre da via aérea deva sempre ser considerado quando se está avaliando a FE_{NO} ^(53,54).

Essa relação entre a FE_{NO} , grau de inflamação brônquica e resposta à corticoterapia, fez com que a mensuração da FE_{NO} fosse apregoada como uma forma de acompanhamento do grau de inflamação existente na via aérea. Para tanto, critérios metodológicos bem estritos necessitaram ser definidos. Com essa perspectiva, a *American Thoracic Society*⁽⁵⁵⁾ e a *European Respiratory Society*⁽³⁸⁾ já prepararam sugestões para o uso adequado do NO como instrumento diagnóstico e de acompanhamento de pacientes.

Entretanto, antes que essa prática possa vir a ser difundida em uso rotineiro, algumas etapas ainda precisam ser ultrapassadas e situações clínicas melhor entendidas. Entre elas, a de que alguns asmáticos apresentam FE_{NO} muito próxima à dos controles normais⁽⁵⁶⁾, a de que a dose de corticóide inalatório utilizada clinicamente é muitas vezes superior à necessária para a redução total da FE_{NO} , com o que se perde a sensibilidade do método, a de que várias situações confirmadas de inflamação de vias aéreas não apresentam níveis aumentados de NO no ar exalado⁽⁵⁷⁾. Além disso, ainda não se tem certeza de que o valor medi-

do corresponde ao que realmente está sendo produzido na via aérea, nem por qual a célula a ser considerada a principal fonte produtora⁽⁵⁷⁾.

2) Em DPOC/tabagismo

Há muitos anos sabe-se que a fumaça do cigarro contém grandes concentrações de NO⁽⁵⁸⁾.

Mais recentemente, com o aprimoramento das técnicas para medição do gases expirados, verificou-se que tabagismo provoca significativa diminuição da FE_{NO} ^(45,59,60), em relação direta com a quantidade de cigarros fumados^(60,61) e com o grau de obstrução brônquica⁽⁶⁰⁾. Ainda não há uma explicação única para esse achado. Poderia ser resultante de retroalimentação negativa em função da alta concentração de NO na fumaça do cigarro, de um efeito tóxico direto induzido nas células produtoras de NO, alterando a ação da eNOS epitelial, ou ainda pela oxidação do NO liberado por ânions contidos na fumaça do cigarro⁽⁶²⁻⁶⁴⁾. Por qualquer desses processos, o resultado é a alteração nos mecanismos de defesa das vias aéreas, facilitando ocorrência de infecções⁽⁶⁵⁾.

Nos últimos anos, ficou bem estabelecida a importância dos fenômenos inflamatórios em DPOC, principalmente durante as exacerbações⁽⁶⁶⁾. Isso fez com que a medida seriada da FE_{NO} fosse proposta também para o acompanhamento do grau de inflamação nesses pacientes⁽⁶²⁾.

Os resultados, entretanto, têm sido conflitantes. Os primeiros trabalhos mostraram diminuição da vasodilatação em pacientes com *cor pulmonale* por deficiência de EDRF⁽⁶⁷⁾, posteriormente identificado como sendo o NO. Posteriormente, inúmeros trabalhos mostraram ora aumento^(60,62,68,69), ora diminuição da FE_{NO} em pacientes com DPOC⁽⁷⁰⁻⁷²⁾.

Apesar de o tabagismo levar à diminuição da FE_{NO} , o fator de necrose tumoral (TNF), uma citocina pró-inflamatória que reconhecidamente induz a expressão da iNOS, está aumentada em pacientes com DPOC, em comparação com os fumantes sem a referida doença. Isso sugere que o aumento da expressão dessa sintase pudesse estar envolvido na progressão da doença e com os níveis aumentados de FE_{NO} detectados durante as exacerbações⁽⁶⁰⁾. Outros estudos têm mostrado, entretanto, que a FE_{NO} em ex-fumantes com DPOC não está aumentada, nem mesmo os seus metabólitos – nitritos e nitratos – medidos no sobrenadante de escarro induzido⁽⁷⁰⁻⁷²⁾.

Há sugestão de que as discrepâncias entre esses achados possam ser explicadas pelos diferentes critérios de seleção de pacientes nos vários estudos, com o que os grupos avaliados incluiriam percentuais distintos de doentes com DPOC com predomínio de inflamação eosinofílica, representando nítido componente asmatiforme, ou com inflamação neutrofílica, como nos casos de diagnóstico mais estrito de DPOC⁽⁷³⁾. Desse modo, altas concentrações

de NO exalado em pacientes com DPOC poderiam indicar uma eventual resposta à corticoterapia por sugerir a presença de um componente eosinofílico⁽⁶²⁾.

Além disso, diferenças entre os graus de limitação do fluxo aéreo e diferentes técnicas metodológicas para medir a FE_{NO} fazem com que os trabalhos publicados, antes de apontarem para uma controvérsia, simplesmente indiquem estudos não comparáveis⁽⁶⁴⁾.

3) Em infecções respiratórias

O NO possui reconhecidas ações na defesa não específica das vias aéreas, tendo sido demonstrada atividade antimicrobiana contra uma grande variedade de bactérias e vírus, além de um possível papel na atividade mucociliar⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾.

A FE_{NO} está aumentada na fase sintomática de infecções virais de trato superior, com a posterior normalização à medida que ocorre a recuperação do doente⁽⁷⁷⁾. Especula-se que a indução da iNOS pelos vírus, seja pelo aumento de produção de citocinas pró-inflamatórias, seja pela ativação através do fator nuclear, poderia contribuir para a inflamação das vias aéreas, com o conseqüente aumento do NO na via aérea. Ao atingir determinada concentração, a FE_{NO} poderia então passar a limitar a replicação viral, levando à defervescência do quadro.

Altos níveis de metabólitos do NO, como os nitritos, foram encontrados em lavado broncoalveolar de crianças com pneumonia, indicando o envolvimento daquele gás nas infecções respiratórias⁽⁷⁸⁾. Em otites e sinusites também já foram descritas alterações na FE_{NO} ^(79,80).

4) Em doenças supurativas crônicas (fibrose cística/bronquiectasias)

Apesar da presença indiscutível de fenômenos inflamatórios em fibrose cística (FC), não se tem detectado aumento do NO em vias aéreas, como seria de esperar^(81,82). Enquanto as concentrações detectadas no ar exalado são similares às dos controles, os níveis de NO nasal estão bastante diminuídos. Mais recentemente, outros estudos revelaram que inclusive os níveis de NO exalado podem estar reduzidos⁽⁸²⁻⁸⁴⁾.

Assim, mesmo que ocorra aumento da expressão das NOS em pulmões de pacientes com FC⁽⁸⁵⁾, não são detectados níveis elevados de FE_{NO} nos casos estáveis nem durante as exacerbações⁽⁸¹⁾. As possíveis explicações incluem a destruição do NO por mecanismos oxidativos e a eventual dificuldade de difusão do gás através da secreção espessa^(86,87). A reforçar esta última possibilidade, foram detectados níveis aumentados de nitritos e nitratos no vapor exalado desses pacientes, acompanhados das habituais baixas concentrações de NO no ar expirado⁽⁸⁸⁾.

Os baixos níveis de FE_{NO} em portadores de FC poderiam, pelos mecanismos descritos anteriormente, contribuir para

a recorrência das infecções em vias aéreas, típicas destes quadros.

Kharitonov *et al.*, em 1995, demonstraram aumento de FE_{NO} em casos de bronquiectasias⁽⁸⁹⁾. Esse achado foi contestado recentemente por Ho *et al.*⁽⁸⁸⁾, que encontraram níveis de FE_{NO} não diferentes dos registrados em controles normais. Possivelmente, essa divergência se deva a diferenças nas manobras utilizadas para a mensuração do gás ou ainda à dificuldade de difusão do NO em presença de grande quantidade de pus na via aérea. Como já foi referido, esse tipo de situação também foi descrito em sinusites agudas, com a presença de nível hidroaéreo⁽⁹⁰⁾.

5) Câncer de pulmão

Foram detectados níveis significativamente mais altos de FE_{NO} em pacientes portadores de neoplasia pulmonar do que nos controles. Usando citometria de fluxo para medir a intensidade de expressão da iNOS, foram também encontrados níveis mais altos nos pacientes do que nos controles hígidos. Não houve, entretanto, diferenças entre o lado afetado pela neoplasia e o lado sadio⁽⁹¹⁾. Isso provavelmente indica que a produção de NO em portadores de neoplasia pulmonar está aumentada por ação da iNOS. A falta de correspondência com o hemitórax onde a neoplasia se localiza pode ser atribuída a alterações imunológicas associadas ao tumor que ocorram em toda a árvore respiratória.

Esses resultados não foram confirmados em outro estudo, que encontrou significativa redução das sínteses constitutivas em tumores não pequenas células e aumento de expressão da iNOS em alguns dos casos de carcinoma de pequenas células⁽⁹²⁾.

Portanto, a relação entre o NO e as neoplasias pulmonares ainda está por ser melhor entendida.

6) Angústia respiratória/hipertensão pulmonar

A FE_{NO} está reduzida em pacientes com síndrome de angústia respiratória aguda (SARA), apesar de a existência de inflamação nos pulmões estar bem definida nesses casos⁽⁹³⁾. Sabe-se também que há significativo aumento da produção de peroxinitrito nesses casos, indicando um papel deste composto oxidativo na gênese desse processo⁽²⁶⁾.

O interesse despertado pela inalação de NO em pacientes com hipertensão pulmonar ou com SARA resulta da distribuição preferencial deste gás para as regiões bem ventiladas dos pulmões e não colapsadas. Em virtude de seu efeito vasodilatador, o fluxo sanguíneo regional é redirecionado para essas áreas, com a conseqüente melhora da relação ventilação/perfusão. Além disso, por ter meia-vida muito curta e ligar-se avidamente à hemoglobina, esses efeitos são muito fugazes, não ocasionando vasodilatação sistêmica. Estudos mostram significativa melhora na oxi-

genaço e diminuio da pressao arterial pulmonar media em pacientes com SARA sob efeito de NO inalado^(19,94-96).

Essa forma de tratamento e diferente das ate agora utilizadas, uma vez que os vasodilatadores usualmente promovem diminuio generalizada do tonus vasomotor, inclusive para as areas nao ventiladas, piorando a relacao V/Q, alem de ocasionarem hipotensao arterial sistemica.

O uso continuado e controlado de NO a partir de fontes exogenas por periodos longos nao promove taquifilaxia, nem efeitos deletorios maiores, podendo vir a tornar-se uma medida terapeutica importante para esta situacao. Entretanto, a rapida melhoria obtida na relacao PaO₂/FiO₂⁽⁹⁶⁾ nao e sustentada por muito tempo, nem promove mudancas significativas na mortalidade ou numero de dias em ventilacao mecanica^(19,94,95).

Portanto, o real papel do NO inalado nesses quadros ainda precisa ser melhor estabelecido⁽¹⁹⁾.

7) Nos transplantes de pulmao

O NO, seja a partir de fontes endogenas ou exogenas, possivelmente apresenta papel importante nas varias etapas pre, trans e pos-operatorio de transplantes pulmonares.

Assim, a sua inalacao a partir de fontes exogenas, pelos efeitos vasodilatadores, tem sido apontada como uma alternativa na avaliacao pre-operatoria da funcao cardica e pulmonar de pacientes candidatos a transplante de pulmao, atraves do estudo da reducao dos niveis de hipertensao pulmonar. Entretanto, para que haja algum grau de resposta, o pulmao doente necessita possuir ainda certo grau de reversibilidade em seus vasos contraidos^(97,98).

Trabalhos iniciais tambem sao estimulantes em mostrar que substancias precursoras de NO, como a L-arginina, melhoram a preservacao do pulmao doado ate sua implantacao⁽⁹⁹⁾.

Quanto ao uso no transoperatorio, os primeiros estudos do uso de NO inalado parecem indicar melhora dos niveis de oxigenacao durante o ato cirurgico⁽¹⁰⁰⁾.

O uso de NO inalado para o tratamento da hipertensao pulmonar e da hipoxemia que ocorrem em alguns pacientes apos o transplante reduz, em significativo numero de pacientes, a necessidade de oxigenio durante o periodo pos-operatorio de ventilacao mecanica. Entretanto, como o NO tende a inibir a agregacao plaquetaria e a gerar metahemoglobina, com prolongamento do tempo de coagulacao, seu uso nao deve ultrapassar mais de 72 horas apos o procedimento⁽⁹⁹⁾.

Em transplantados de pulmao, a medida da FE_{NO} parece ser um excelente marcador de inflamacao na via aerea transplantada, a semelhanca do que ja foi discutido neste texto⁽¹⁰¹⁾. Parece facilitar o diagnostico diferencial de casos de rejeicao aguda com infeccao e bronquiolite obliterante. Em pacientes estaveis, os niveis de FE_{NO} sao proximos aos dos controles sadios⁽¹⁰²⁾.

O real uso de NO inalado e da avaliacao seriada de seus niveis no ar exalado em pacientes transplantados ainda requer confirmacao. E possivel que venha a desempenhar um papel importante por ser um metodo nao invasivo e facilmente repetivel⁽¹⁰³⁾.

8) Outras situacoes

Fibrose intersticial: Pacientes portadores de fibrose pulmonar intersticial apresentam nas fases precoce e intermediaria da doenca um significativo aumento da expressao da iNOS e de peroxinitrito nas celulas inflamatorias e no epitelio alveolar. Isso provavelmente e conseqüente da inducao da enzima iNOS por citocinas inflamatorias produzidas pelas celulas epiteliais. Esses achados indicam um importante papel desses radicais na injuria celular e no remodelamento que ocorre nessa patologia. Estudos futuros utilizando inibidores do sistema L-arginina/NO poderao determinar o exato papel dos oxidantes derivados deste sistema na fisiopatogenia da doenca⁽²⁶⁾.

Sarcoidose: Nao foi encontrada alteracao na FE_{NO} nem nas concentracoes de nitratos e nitritos no lavado broncoalveolar de pacientes com sarcoidose quando comparados com controles higidos⁽¹⁰⁴⁾.

O ÓXIDO NÍTRICO EM VIAS AÉREAS SUPERIORES

O achado de altos niveis de NO nas cavidades nasais e nos seios paranasais em pessoas higidas⁽¹⁰⁵⁾ e tambem em animais⁽¹⁰⁶⁾ em comparacao com a arvore traqueobrônquica renovou o interesse na fisiologia das vias aereas superiores e suas inter-relacoes com as vias aereas inferiores. E possivel que um dos elos fisiologicos e mesmo fisiopatologicos entre as duas porcoes do aparelho respiratorio seja o NO.

A origem do NO nasal ainda e controversa. Alguns estudos postulam que as altas concentracoes sejam conseqüentes a difusao do gas atraves dos ostios dos seios paranasais para as cavidades nasais. Puncoes de seios da face mostraram altas concentracoes de NO, reforcando a hipotese de que seriam a fonte principal de producao do gas. A ausencia de NO em pacientes portadores da síndrome de Kartagener pode ser considerada como outro argumento a favor dessa possibilidade^(25,105,107,108). Entretanto, estudos em neonatos, nos quais os seios da face ainda nao se desenvolveram, mostraram tambem altas concentracoes de NO nasal⁽¹⁰⁹⁾. Alem disso, foi demonstrado que as concentracoes nao se modificam de modo significativo com bloqueio da comunicacao de alguns seios paranasais com as cavidades nasais, fortalecendo a hipotese de que a fonte possa nao ser exclusivamente os seios da face⁽¹¹⁰⁾.

O NO acumula-se fisiologicamente na cavidade nasal nos periodos de nao ventilacao, como os que ocorrem em uma narina durante o ciclo nasal, fala, degluticao ou respiracao bucal. Pode-se especular que uma das funcoes do ci-

clo nasal seria a de criar alternância de altas concentrações de NO nas narinas, capazes de alcançar níveis que interfiram no crescimento bacteriano, replicação viral e atividade mucociliar⁽¹¹¹⁻¹¹⁴⁾. Acredita-se que, com o reinício da ventilação, como na fase cíclica normal de desobstrução de uma narina, ocorra auto-inalação de quantidades maiores de NO, assim acumuladas, para as vias aéreas inferiores⁽¹¹⁵⁾.

Altos níveis de NO têm sido encontrados em seios paranasais e cavidades nasais depois de poucos minutos de interrupção do fluxo aéreo. Mesmo considerando que possa haver um certo grau de reabsorção durante essas manobras, níveis tão altos como 20 a 30ppm foram detectados em alguns trabalhos, o que reforça a possibilidade de existirem mecanismos para o acúmulo de NO nas vias aéreas, como as acima descritas^(107,116).

A redução da frequência de infecções do trato respiratório superior, incluindo a de otites, observada após a remoção de adenóides obstrutivas, pode ser em parte atribuída à restauração da respiração nasal, com o consequente melhor efeito protetor do NO auto-inalado das vias aéreas superiores. Nesta mesma linha de raciocínio, cirurgias de seios da face, com amplas antróstomias, ao promoverem a aeração dos seios, podem dificultar o acúmulo de NO intrasinusal. Esta situação talvez explique a não erradicação da repetição de infecções em alguns casos, apesar de um aparente sucesso cirúrgico⁽¹¹⁷⁾.

Em situações de doença em vias aéreas superiores, a concentração de NO nasal, à semelhança do que ocorre nas vias aéreas inferiores, também se altera. Assim, em rinite alérgica, os níveis de NO nasal estão muito aumentados, com diminuição progressiva pelo uso de corticosteróides tópicos ou sistêmicos^(49,118,119). Em sinusites agudas, a concentração de NO nasal está significativamente diminuída, mas com retorno à normalidade após o tratamento⁽⁹⁰⁾. Por outro lado, em sinusites crônicas, o nível de NO nasal está mais baixo⁽⁸⁰⁾.

Assim, apesar de a mensuração do NO exalado ter sido preconizada como um novo teste de função pulmonar⁽⁹⁾, muitas indagações precisam ainda ser respondidas. Não há informações definitivas quanto às fontes celular e anatômica principais do NO no ar expirado, nem segurança em afirmar se o que está sendo medido representa o que foi realmente produzido, uma vez que as variações individuais ainda não foram adequadamente estudadas. Algumas situações clínicas com definidos processos inflamatórios que apresentam FE_{NO} com valores baixos ou normais são ainda de difícil interpretação. O encaminhamento dessas e de outras questões, inclusive as de padronização metodológica, já sugeridas pela *American Thoracic Society*⁽⁵⁵⁾ e pela *European Respiratory Society*⁽³⁸⁾, poderá tornar, em breve, a medida do NO exalado uma importante ferramenta de trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
2. Palmer R, Ferridge A, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-526.
3. Ignarro L, Buga G, Wood K, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and veins is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:9265-9269.
4. Grunewald C, Carlstrom K, Kumlien G, Ringqvist A, Lundberg J. Exhaled oral and nasal NO during L-arginine infusion in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1999;46:232-237.
5. Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:538-551.
6. Murad F. Nitric oxide signaling: would you believe that a simple free radical could be a second messenger, autacoid, paracrine substance, neurotransmitter and hormone? *Recent Prog Horm Res* 1998;52:43-60.
7. Koshland DJ. The molecule of the year. *Science* 1992;258:1861.
8. Barnes PJ. Neural mechanisms in asthma. *Br Med Bull* 1992;48:149-168.
9. Barnes PJ, Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide: a new lung function test. *Thorax* 1996;51:233-237.
10. Gorfine S. Treatment of benign anal disease with topical nitroglycerin. *Dis Colon Rectum* 1995;38:453-457.
11. Matsumoto A, Ogura K, Hirata Y, Kakoki M, Watanabe F, Takenaka K, Shiratori Y, Momomura S, Omata M. Increased nitric oxide in the exhaled air of patients with decompensated liver cirrhosis. *Ann Intern Med* 1995;123:110-113.
12. Mehta JL. Endothelium, coronary vasodilation, and organic nitrates. *Am Heart J* 1995;129:382-391.
13. Morris NH, Carroll S, Nicolaidis KH, Steer PJ, Warren JB. Exhaled nitric oxide concentration and amniotic fluid nitrite concentration during pregnancy. *Eur J Clin Invest* 1995;25:138-141.
14. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Diabetes mellitus, hypertension, and cardiovascular disease: which role for oxidative stress? *Metabol Clin Exp* 1995;44:363-368.
15. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 1994;343:1199-1206.
16. Bedi JF, Horvath SM. Inhalation route effects on exposure to 2.0 parts per million sulfur dioxide in normal subjects. *JAPCA* 1989;39:1448-1452.
17. Dahlqvist M, Palmberg L, Malmberg P, Sundblad BM, Ulfvarson U, Zhiping W. Acute effects of exposure to air contaminants in a sawmill on healthy volunteers. *Occup Environ Med* 1996;53:586-590.
18. Muto E, Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Sagai M, Iguchi A. Endothelial-constitutive nitric oxide synthase exists in airways and diesel exhaust particles inhibit the effect of nitric oxide. *Life Sci* 1996;59:1563-1570.
19. Payen DM. Is nitric oxide inhalation a cosmetic therapy in acute respiratory distress syndrome? *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1361-1362.
20. Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993;328:399-405.
21. Rossaint R, Gerlach H, Falke KJ. Inhalation of nitric oxide - A new approach in severe ARDS. *Eur J Anaesthesiol* 1994;11:43-51.
22. Billiar TR. Nitric oxide: novel biology with clinical relevance. *Ann Surg* 1995;221:339-349.
23. Michel T, Feron O. Nitric oxide synthases: which, where, how and why? *J Clin Invest* 1997;100:2146-2152.
24. Zapol WM, Rimar S, Gillis N, Bosken CH. NHLBI Workshop summary: Nitric oxide and the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;137:1375-1380.
25. Lundberg JO, Weitzberg E, Rinder J, Rudehill A, Jansson O, Wiklund NP, Lundberg JM, Alving K. Calcium-independent and steroid-resistant nitric oxide synthase activity in human paranasal sinus mucosa. *Eur Respir J* 1996;9:1344-1347.

26. Saleh D, Barnes PJ, Giaid A. Increased production of the potent oxidant peroxynitrite in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1763-1769.
27. Kneepens CM, Ferreira C, Lepage G, Roy CC. The hydrocarbon breath test in the study of lipid peroxidation: principles and practice. *Clin Invest Med* 1992;15:163-186.
28. Nowak D, Antczak A, Krol M, Pietras T, Shariati B, Bialasiewicz P, Jeczkowski K, Kula P. Increased content of hydrogen peroxide in the expired breath of cigarette smokers. *Eur Respir J* 1996;9:652-657.
29. Ortolani O, Conti A, Biasucci M, Crescenzi G, Imperatore R. Free radical lipid peroxidation through expired ethane and penthane. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1986;62:383-389.
30. Dohlgan AW, Black HR, Royall JA. Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1993;148:955-960.
31. Zayasu K, Sekizawa K, Okinaga S, Yamaya M, Ohru T, Sasaki H. Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1140-1143.
32. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181:852-857.
33. Garthwaite J. Nitric oxide signalling in the nervous system. *Semin Neurosci* 1993;5:171-180.
34. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. NO: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-142.
35. Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993;48:1034-1043.
36. Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS, Furlott HG, Hoffstein E, Wakita S, Chapman KR, Szalai JP, Zamel N. Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:260-267.
37. Sociedades Brasileiras de Alergia e Imunopatologia, Pediatria e Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. *J Pneumol* 1998;24:173-276.
38. Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. The European Respiratory Society Task Force. *Eur Respir J* 1997;10:1683-1693.
39. Lim S, Jatakanon A, John M, O'Connor BJ, Chung KF, Barnes PJ. Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation. Assessment by various inflammatory markers in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:22-30.
40. Rensen EL, Straathof KCM, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax* 1999;54:403-408.
41. Massaro AF, Gaston B, Kita D, Fanta C, Stamler JS, Drazen JM. Exhaled nitric oxide levels during treatment of acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:800-803.
42. Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998;53:91-95.
43. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993;6:1368-1370.
44. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994;343:133-135.
45. Persson MG, Zetterstrom O, Agrenius V, Ihre E, Gustafsson LE. Single-breath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers. *Lancet* 1994;343:146-147.
46. Kharitonov SA, O'Connor BJ, Evans DJ, Barnes PJ. Allergen-induced late asthmatic reactions are associated with elevation of exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1894-1899.
47. Kharitonov SA, Yates DH, Chung KF, Barnes PJ. Changes in the dose of inhaled steroid affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1996;9:196-201.
48. Baraldi E, Azzolin NM, Zanconato S, Dario C, Zacchello F. Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma. *J Pediatr* 1997;131:381-385.
49. Baraldi E, Azzolin NM, Carra S, Dario C, Marchesini L, Zacchello F. Effect of topical steroids on nasal nitric oxide production in children with perennial allergic rhinitis: a pilot study. *Respir Med* 1998;92:558-561.
50. Barnes PJ, Liew FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Today* 1995;16:128-130.
51. Silkoff P, Chatkin J, McClean P, Chapman KR, Rai S, Slutsky AS, Zamel N. Exhaled nitric oxide after B2 agonist inhalation and spirometry in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:940-944.
52. Yates DH, Kharitonov SA, Barnes PJ. Effect of short- and long-acting inhaled beta2-agonists on exhaled nitric oxide in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1997;10:1483-1488.
53. de Gouw HW, Hendriks J, Woltman AM, Twiss IM, Sterk PJ. Exhaled nitric oxide (NO) is reduced shortly after bronchoconstriction to direct and indirect stimuli in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:315-319.
54. Deykin A, Halpern O, Massaro AF, Drazen JM, Israel E. Exhaled nitric oxide after bronchoprovocation and repeated spirometry in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:769-775.
55. American Thoracic Society. Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 (In press).
56. Hogman M, Anderson SD, Ludviksdottir D, Bjornsson E, Chan H, Hedenstrom H. Exhaled NO decreases due to hyperosmolar challenge in subjects with symptoms of asthma. *Eur Respir J* 1997;10:108.
57. Hedenstierna G, Hogman M. Can exhaled NO be used as a marker of airway inflammation? *Eur Respir J* 1998;12:1248-1249.
58. Norman V, Keith CM. Nitrogen oxide in tobacco smoke. *Nature* 1965;205:915-916.
59. Schilling J, Holzer P, Guggenbach M, Gyurech D, Marathia K, Geroulanos S. Reduced endogenous nitric oxide in the exhaled air of smokers and hypertensives. *Eur Respir J* 1994;7:467-471.
60. Corradi M, Majori M, Cacciani GC, Consigli GF, Munari E, Pesci A. Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999;54:572-575.
61. Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, Keatings V, Barnes PJ. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:609-612.
62. Mazziak W, Loukides S, Culpitt S, Sullivan P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:998-1002.
63. Kanazawa H, Shoji S, Hirata K, Kurthara N, Yoshikawa J. Role of endogenous nitric oxide in airflow obstruction in smokers. *Chest* 1996;110:927-929.
64. Sterk PJ, de Gouw HW, Ricciardolo FL, Rabe KF. Increased nitric oxide in COPD: glancing through a smoke screen. *Thorax* 1999;54:565-567.
65. Reiss CS, Komatsu T. Does nitric oxide play a critical role in viral infection? *J Virol* 1998;72:4547-4551.
66. Saetta M, di Stefano A, Turato G. CD8+T lymphocytes in peripheral airways of smokers with COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:822-826.
67. Dinh-Xuan AT, Pepke-Zaba J, Butt AY, Cremona G, Higenbottam TW. Impairment of pulmonary-artery endothelium-dependent relaxation in chronic obstructive lung disease is not due to dysfunction of endothelial cell membrane receptors nor to L-arginine deficiency. *Br J Pharmacol* 1993;109:587-591.
68. Keating VM, Collins PD, Scott DM, Barnes PJ. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor- α in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:530-534.
69. Ansarin K, Chatkin JM, Ghiculete D, Zamel N, Chapman KR. Exhaled nitric oxide level in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1998;ERSM:2 (Abstract)
70. Rutgers SR, Postma DS, Mark GH, Koeter GH. Nitric oxide in exhaled air in COPD. *Eur Respir J* 1996;21:13s (Abstract)
71. Rutgers SR, Meijer RJ, Kerstjens HAM, van der Mark TW, Koeter GH, Postma DS. Nitric oxide measured with single-breath and tidal-breathing methods in asthma and in COPD. *Eur Respir J* 1998;12:816-819.
72. Rutgers SR, van der Mark TW, Coers W, Moshage H, Timens W, Kauffman HF, Koeter GH, Postma DS. Markers of nitric oxide me-

- tabolism in sputum and exhaled air are not increased in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54:576-580.
73. Boushey HA. Glucocorticoids therapy for chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 1999;340:1990-1991.
74. De Groote MA, Fang FC. NO inhibitions: antimicrobial properties of nitric oxide. *Clin Infect Dis* 1995;21:S162-S165
75. Lindberg S, Cervin A, Runer T. Low levels of nasal nitric oxide (NO) correlate to impaired mucociliary function in the upper airways. *Acta Otolaryngol Stockh* 1997;117:728-734.
76. Settergren G, Angdin M, Astudillo R, Gelinder S, Liska J, Lundberg JO, Weitzberg E. Decreased pulmonary vascular resistance during nasal breathing: modulation by endogenous nitric oxide from the paranasal sinuses. *Acta Physiol Scand* 1998;163:235-239.
77. Kharitonov SA, Yates D, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur Respir J* 1995;8:295-297.
78. Grasemann H, Ioannidis I, de Groot H, Ratjen F. Metabolites of nitric oxide in the lower respiratory tract of children. *Eur J Ped* 1997; 156:575-578.
79. Ball SS, Prazma J, Dais CGD, Rosbe KW, Pillsbury HC. Nitric oxide: a mediator of endotoxin-induced middle ear effusions. *Laryngoscope* 1996;106:1021-1027.
80. Lindberg S, Cervin A, Runer T. Nitric oxide (NO) production in the upper airways is decreased in chronic sinusitis. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1997;117:113-117.
81. Ho LP, Innes JA, Greening AP. Exhaled nitric oxide is not elevated in the inflammatory airway diseases of cystic fibrosis and bronchiectasis. *Eur Respir J* 1998;12:1290-1294.
82. Dotsch J, Demirakca S, Terbrack HG, Huls G, Rascher W, Kuhl PG. Airway nitric oxide in asthmatic children and patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1996;9:2537-2540.
83. Balfour-Lynn IM, Lavery A, Dinwiddie R. Reduced upper airway nitric oxide in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1996;75:319-322.
84. Lundberg JO, Nordvall SL, Weitzberg E, Kollberg H, Alving K. Exhaled nitric oxide in paediatric asthma and cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1996;75:323-326.
85. Belvisi MG, Barnes PJ, Larkin S, Yacoub M, Tadjkarimi S, Williams TJ, Mitchell JA. Nitric oxide synthase activity is elevated in inflammatory lung disease in humans. *Eur J Pharmacol* 1995;283:255-258.
86. Grasemann H, Michler E, Wallot M, Ratjen F. Decreased concentration of exhaled nitric oxide (NO) in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1997;24:173-177.
87. Grasemann H, Ioannidis I, Tomkiewicz RP, de Groot H, Rubin BK, Ratjen F. Nitric oxide metabolites in cystic fibrosis lung disease. *Arch Dis Child* 1998;78:49-53.
88. Ho LP, Innes JA, Greening AP. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax* 1998;53: 680-684.
89. Kharitonov SA, Wells AU, O'Connor BJ, Cole PJ, Hansell DM, Logan-Sinclair RB, Barnes PJ. Elevated levels of exhaled nitric oxide in bronchiectasis. *Am J Resp Crit Care Med*. 1995;151:1889-1893.
90. Baraldi E, Azzolin NM, Biban P, Zacchello F. Effect of antibiotic therapy on nasal nitric oxide concentration in children with acute sinusitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1680-1683.
91. Liu CY, Wang CH, Chen TC, Lin HC, Yu CT, Kuo HP. Increased level of exhaled nitric oxide and up-regulation of inducible nitric oxide synthase in patients with primary lung cancer. *Br J Cancer* 1998; 78:534-541.
92. Ambs S, Bennet WP, Merrian WG, et al. Vascular endothelial growth factor and nitric oxide synthase expression in human lung cancer and the relation to p53. *Br J Cancer* 1998;78:233-239.
93. Brett SJ, Evans TW. Measurement of endogenous nitric oxide in the lungs of patients with the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:993-997.
94. Dellinger P, Zimmerman J, Taylor R. Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: results of a randomized phase II trial. *Crit Care Med* 1998;26:15-23.
95. Fink MP, Payen DM. The role of nitric oxide in sepsis and ARDS; synopsis of a roundtable conference held in Brussels on 18-20 March 1995. *Intensive Care Med* 1996; 22:158-165.
96. Rossaint R, Falke K, Lopez F. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993;328:399-405.
97. Kieler-Jensen N, Ricksten SE, Stenqvist O. Inhaled nitric oxide in the evaluation of heart transplant candidates with elevated pulmonary vascular resistance. *J Heart Lung Transplant* 1994;13:366-375.
98. Rich GF, Murphy GD Jr., Roos CM, Johns RA. Inhaled nitric oxide. Selective pulmonary vasodilation in cardiac surgical patients. *Anesthesiology* 1993;78:1028-35.
99. Zapol WM, Bloch K. Nitric oxide and the lung. 1st Ed. New York: 1997.
100. Lindberg L, Larsson A, Steen S, Olsson SG, Nordstrom L. Nitric oxide gives maximal response after coronary artery bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1994;8:182-187.
101. Fisher AJ, Gabbay E, Small T, Doig S, Dark JH, Corris PA. Cross sectional study of exhaled nitric oxide levels following lung transplantation. *Thorax* 1998;53:454-8.
102. Silkoff PE, Caramori M, Tremblay L, McClean P, Chaparro C, Kesten S, Hutcheon M, Slutsky AS, Zamel N, Keshavjee S. Exhaled nitric oxide in human lung transplantation. A noninvasive marker of acute rejection. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1822-1828.
103. Verleden GM, Dupont L, Lamont J, Buyse B, Delcroix M, Van Raemdonck D, Lerut T, Vanhaecke J, Demedts MG. Is there a role for measuring exhaled nitric oxide in lung transplant recipients with chronic rejection? *J Heart Lung Transplant* 1998;17:231-232.
104. O'Donnell DM, Moynihan J, Finlay GA, Keatings VM, O'Connor CM, McLoughlin P, Fitzgerald MX. Exhaled nitric oxide and bronchoalveolar lavage nitrite/nitrate in active pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1892-1896.
105. Lundberg JO, Farkas-Szallasi T, Weitzberg E, Rinder J, Lidholm J, Anggaard A, Hokfelt T, Lundberg JM, Alving K. High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nat Med* 1995;1:370-373.
106. Schedin U, Roken BO, Nyman G, Frostell C, Gustafsson LE. Endogenous nitric oxide in the airways of different animal species. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41:1133-1141.
107. Lundberg JO. Airborne nitric oxide: inflammatory marker and aerocrine messenger in man. *Acta Physiol Scand Suppl* 1996; 633:1-27.
108. Lundberg JO, Weitzberg E, Nordvall SL, Kuylenstierna R, Lundberg JM, Alving K. Primarily nasal origin of exhaled nitric oxide and absence in Kartagener's syndrome. *Eur Respir J* 1994;7:1501-1504.
109. Schedin U, Norman M, Gustafsson LE, Jonsson B, Frostell C. Endogenous nitric oxide in the upper airways of premature and term infants. *Acta Paediatr* 1997; 86:1229-1235.
110. Haight JSJ, Djupesland PG, Qian W, Chatkin JM, Irish J, Witterick I, Fenton R, McClean P, Zamel N. Do nose, sinuses or nasopharynx generate the nitric oxide exhaled? *J Otolaryngol* 1999 (In press).
111. Croen KD. Evidence for an antiviral effect of nitric oxide. *J Clin Invest* 1993;91:2446-2452.
112. Jain B, Robbins RA, Leise KL, Sisson JH. Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;191:83-88.
113. Mancinelli RL, McKay CP. Effects of nitric oxide and nitrogen dioxide on bacterial growth. *Appl Environ Microbiol* 1983;46:198-202.
114. Runer T, Cervin A, Lindberg S. Nitric oxide is a regulator of mucociliary activity in the upper respiratory tract. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;119:278-287.
115. Djupesland PG, Chatkin JM, Qian W, Cole P, Zamel N, McClean P, Furlott H, Haight JSJ. Aerodynamic influences on nasal nitric oxide output measurements. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1999;119:479-485.
116. Chatkin J, Qian W, McClean P, Zamel N, Haight J, Silkoff P. Nitric oxide accumulation in the non-ventilated nasal cavity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125:682-685.
117. Djupesland PG, Chatkin J, Qian W, Haight JSJ. Nitric oxide in the nasal airway: a new dimension in Otorhinolaryngology? *Am J Otolaryngol* 1999 (In press).
118. Arnal JF, Didier A, Rami J, M'Rini C, Charlet JP, Serrano E, Besombes JP. Nasal nitric oxide is increased in allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1997;27:358-362.
119. Kharitonov SA, Rajakulasingam K, O'Connor B, Durham SR, Barnes PJ. Nasal nitric oxide is increased in patients with asthma and allergic rhinitis and may be modulated by nasal glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:58-64.