
Antiinflamatórios não-esteroidais doadores de óxido nítrico**Paulo Gustavo Barboni Dantas Nascimento*****Rafael Vercelino****

Desenvolvido pela companhia farmacêutica francesa NicOx SA, naproxcinod (HCT3012) é o primeiro fármaco em avançado estágio de desenvolvimento de uma classe de analgésicos e drogas antiinflamatórias idealizada há muito tempo, chamada de inibidores da COX-doadores de óxido nítrico (NO-NSAIDs). Esta classe é indicada para o tratamento de dores agudas e crônicas, como dor pós-operatória e artrite. Naproxcinod (HCT3012) esta atualmente em fase III de desenvolvimento. A busca por fármacos com este perfil é antiga, pois há muito se pensava que derivados do ácido acetilsalicílico com capacidade de liberar óxido nítrico poderiam ser a solução para os problemas gástricos decorrentes da interferência na regulação de prostanoídes na mucosa do estômago, além de melhorias no perfil antitrombótico (figura 1 - no final) (del Soldato P, et al. 1999).

NO-NSAIDs representam uma classe nova de analgésicos

A inibição das enzimas ciclooxigenase (COX-1 e COX -2) é o modo básico de ação das drogas antiinflamatórias não-esteroidais ou NSAIDs. Naproxcinod (HCT3012) é uma substância química nova que provê inibição equilibrada de enzimas de COX enquanto também atua como doador de óxido nítrico (NO) em locais de inflamação.

Este modo de ação pode reduzir inflamação, pois o óxido nítrico apresenta um efeito relaxante nas células endoteliais. A liberação de óxido nítrico também pode ter um efeito protetor na área gastrointestinal e outros órgãos. O dano ao sistema gastrointestinal é um efeito colateral conhecido provocado pelos NSAID, e isso é associado à inibição da COX-1.

Eficácia e segurança em dores agudas e crônicas

Dados mostrando evidências da eficácia e segurança na administração do naproxcinod (HCT3012) foram apresentados em 2002. O fármaco está em fase III de desenvolvimento e vem sendo investigado em três estudos principais (301, 302, e 303) para verificar sua eficácia e segurança em pacientes com osteoartrite. Os estudos 302 e 303 tem resultados promissores, a partir dos estudos 301, nos quais o tratamento com naproxcinod (HCT3012) mostrou eficácia superior ao placebo em pacientes com osteoartrite de joelho. Enquanto o estudo 302 investigou a segurança e eficácia de naproxcinod (HCT3012) em osteoartrite de joelho, o estudo 303 é projetado para demonstrar sua eficácia no alívio dos sinais e sintomas da osteoartrite do quadril como, também, prover dados de segurança adicionais.

Dados da pesquisa OASIS fase II no tratamento de seis semanas com naproxcinod (HCT3012) provaram melhorar a dor em pacientes de AO quando comparado a um inibidor específico da COX-2 (rofecoxib) e, também, mostraram não haver evidências de aumentos em pressão sanguínea com o tratamento de naproxcinod (HCT3012). Isso estava em contraste com rofecoxib, que a doses equivalentes é associado com o aumento significativo na pressão sanguínea sistólica.

Esse efeito é sugerido pela liberação de óxido nítrico, onde os NO-NSAIDs podem inibir os efeitos prejudiciais da inibição de COX na pressão sanguínea. Certamente, há preocupações sobre a segurança cardiovascular com o uso de inibidores específicos de COX-2. A empresa NicOx iniciou um novo estudo nos EUA recentemente para comparar os efeitos de HCT 3012 com rofecoxib na pressão sanguínea arterial em pacientes com hipertensão moderada.

Apesar dos NO-NSAIDs apresentarem evidências de atividade na proteção sistêmica da inibição da COX-2, o óxido nítrico também apresenta efeitos analgésicos.

O óxido nítrico é um dos poucos gases cuja molécula tem função sinalizadora conhecida. É um mensageiro-chave na bioquímica de vertebrados, desempenhando um papel em uma variedade de processos biológicos. O óxido nítrico, conhecido como *endothelium-derived relaxing factor*, é biosintetizado pela conversão de L-arginina em L-citrulina mais óxido nítrico. Esta reação é catalisada por uma das três isoformas de óxido nítrico sintase (NOS). Duas das enzimas NOS, NOS endotelial (eNOS) e NOS neuronal (nNOS), são dependentes de cálcio e produzem baixos níveis de NO. A isoforma induzível (iNOS) é expressa por um longo período de tempo pela ativação de uma variedade de fatores, incluindo citocinas inflamatórias e lipolissacarídeos.

Uma vez sintetizado, o óxido nítrico pode se difundir para dentro das células vizinhas, onde ele se liga ao grupo heme da guanilil ciclase solúvel para gerar GMPc a partir de GTP. O GMPc ativado se liga a proteínas-alvo incluindo fatores de transcrição, proteínas quinases e fosfodiesterases, desencadeando cascatas de sinalização celular. No entanto, o óxido nítrico pode agir independentemente do GMPc, modificando proteínas ou contribuindo para a oxidação de proteínas e lipídios, além de aumentar a complexidade e o número dos papéis potenciais para o óxido nítrico em funções normais ou patofisiológicas (Abramson, 2008).

O endotélio (revestimento interno) de vasos sanguíneos utiliza o óxido nítrico para sinalizar ao músculo liso para relaxar, resultando em vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo. O óxido nítrico é altamente reativo (com uma meia-vida de poucos segundos), mas se difunde livremente através das membranas celulares. Estes atributos fazem do óxido nítrico uma molécula sinalizadora parácrina (entre células adjacentes) e autócrina (dentro de uma única célula) transitória ideal.

A produção de óxido nítrico é elevada em populações que vivem em altas altitudes, o que ajuda estas pessoas a evitar a hipóxia pela vasodilatação da vasculatura pulmonar. Os efeitos incluem vasodilatação, neurotransmissão, a modulação do ciclo do cabelo, produção de intermediários reativos do nitrogênio e ereção peniana (através da sua capacidade vasodilatadora). A nitroglicerina e nitritos servem como vasodilatadores, porque eles são convertidos em óxido nítrico no corpo. O sildenafil, popularmente conhecido pelo nome comercial Viagra®, estimula a ereção principalmente por meio do reforço de sinalização através da via do óxido nítrico no pênis.

O óxido nítrico está envolvido em vários níveis da via de sinalização nociceptiva; no entanto, o papel do óxido nítrico se modifica de acordo com o tipo de estímulo doloroso e do local (sistema nervoso periférico e central). Nociceptores exibem sensibilização espinhal dependente de NO/cGMP, que é bloqueada por inibidores de NOS e antagonistas de GMPc (Meller, S. e Gebhart, G., 1993). A inibição do óxido nítrico pode ter efeitos antinociceptivos em modelos animais de hiperalgesia térmica ou de dor visceral, no entanto, a inibição da síntese de óxido nítrico exacerba a dor em modelos de hiperalgesia mecânica. O exato mecanismo pró-inflamatório ou anti-inflamatório do óxido nítrico nestes modelos não está, ainda totalmente claro (Martin, I et al., 2006).

Em locais de inflamação, os efeitos da produção de óxido nítrico variam de acordo com o tipo de célula produtora de óxido nítrico, o tipo de NOS envolvida, e a quantidade de óxido nítrico liberado. Pequenas quantidades de óxido nítrico protegem o tecido por inibir a proliferação de células T, limitando a adesão e migração de neutrófilos, mantendo a perfusão tecidual via vasodilatação, os efeitos antiplaquetários, além do efeito antinociceptivo direto nos nociceptores (Koshland, 1992).

Apesar destes dados, o papel do óxido nítrico na hipernocicepção é ainda bastante controverso. Por um lado, está bem documentado que sua liberação está envolvida na manutenção e transmissão do fenômeno doloroso. (Meller, S. T. e Gebhart, G. F., 1993;

Dolan, Field et al., 2000), Por outro, há evidências mostrando que a liberação do óxido nítrico pode ser benéfica, resultando na redução da dor. A utilização do doador de óxido nítrico (NO-NSAID) que inibe a ciclooxigenase mostra que a utilização de baixas doses de óxido nítrico pode aliviar a dor com forte efeito antinociceptivo, potencializado por associação com acetaminofen (Keeble e Moore, 2002; Bolla, Momi et al., 2006). Além disto, administração subcutânea de diferentes doadores de óxido nítrico (SNAP, Nitroprussiato de sódio, SIN-1) reduz de maneira dose-dependente a hipernocicepção mecânica induzida por diferentes estímulos inflamatórios (Carragenina, LPS, Antígenos) e, também, por mediadores que sensibilizam diretamente os nociceptores, como as prostaglandinas (Keeble e Moore, 2002; Bolla, Momi et al., 2006).

Níveis adequados de produção de óxido nítrico são importantes na proteção de danos isquêmicos no fígado. No entanto, manter os níveis de óxido nítrico resulta em toxicidade direta nos tecidos e contribui para o colapso vascular associado ao choque séptico, enquanto a expressão crônica de óxido nítrico está associada com vários carcinomas e condições inflamatórias como diabetes juvenil, esclerose múltipla, artrite e colite ulcerosa (Tylor, B.S. et al. 1997).

O óxido nítrico também é gerado pelos fagócitos (monócitos, macrófagos e neutrófilos) como parte da resposta imune humana. Fagócitos recrutados a um foco inflamatório estão armados com iNOS, que é ativada pelo interferon-gama (IFN- γ) ou fator de necrose tumoral (TNF). O *transforming growth factor beta* (TGF- β) é um potente inibidor de iNOS, enquanto a interleucina-4 (IL-4) e IL-10 tem baixa atividade inibitória. Desta forma, o sistema imunológico pode sinalizar qual arsenal de fagócitos que deve desempenhar seu papel na inflamação e nas respostas imunes. O óxido nítrico secretado como uma resposta imune atua na forma de radicais livres tóxicos para as bactérias, incluindo danos no DNA e degradação dos centros de enxofre, ferro em íons-ferro e ferro-compostos de nitrosilo. Em resposta, muitas bactérias patogênicas têm evoluído com mecanismos de resistência ao óxido nítrico. Como o óxido nítrico pode servir de agente pró-inflamatório em condições como a asma, tem havido um interesse crescente na utilização de óxido nítrico exalado como um teste de respiração em doenças das vias aéreas com inflamação.

Em um estudo duplo-cego, foi utilizada nitroglicerina transdérmica (NGT) como doador de óxido nítrico em pacientes com síndrome do ombro doloroso, com o objetivo de avaliar o potencial analgésico desta solução. Observou-se uma melhora significativa nos pacientes que fizeram uso da NGT, tanto no alívio da dor como na execução de movimentos que envolviam a articulação do ombro. Este alívio se deu provavelmente pelo potencial vasodilatador deste fármaco, melhorando assim a nutrição tecidual e reduzindo a inflamação (Berrazueta, Losada et al., 1996).

Outros estudos relacionados com o mecanismo de ação dos opióides na redução da dor, demonstraram que a resposta à hipernocicepção inflamatória está associada com a produção de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) e que o bloqueio deste mecanismo pelos opióides previne a sensibilização dos nociceptores (Ferreira e Nakamura, 1979; Levine e Taiwo, 1989). Além disso, demonstrou-se que o GMPc apresenta efeitos opostos ao do AMPc (Goldberg, Haddox et al., 1975). Assim, a descoberta de que o óxido nítrico endógeno ativa a guanilil ciclase, com conseqüente produção de GMPc (Knowles, Palacios et al., 1989), permitiu demonstrar que o óxido nítrico também bloqueia a hipernocicepção mecânica via GMPc (Duarte, Lorenzetti et al., 1990).

Outros estudos sugerem que a ação analgésica de opióides deriva, de fato, da via NO/GMPc, reforçando as evidências de participação do óxido nítrico no mecanismo analgésico desta classe de medicamentos (Brignola, Calignano et al., 1994; Dambisya e Lee, 1995; Aguirre-Bañuelos e Granados-Soto, 1999). Também já se demonstrou que a GMPc ativa a proteína quinase G (PKG), que é a responsável pela modulação dos canais de potássio dependentes de ATP (K_{ATP}) no mecanismo de ação da

morfina (Sachs, Cunha et al., 2004). Estes resultados comportamentais foram recentemente corroborados por achados eletrofisiológicos em neurônios nociceptivos primários, onde se demonstrou que a modulação de canais K_{ATP} pelo GMPc reduz a sensibilização induzida pela prostaglandina E2 (PGE2) (Chi, Jiang et al., 2007). Outros estudos, indicam que a ativação da via NO/GMPc pode também reduzir a dor por meio da liberação endógena de óxido nítrico na vasculatura nervosa, corrigindo indiretamente o potencial de membrana do nervo e a geração de impulsos pelo aumento do fluxo sanguíneo e do aporte de oxigênio e nutrientes às células nervosas (Hancock e Riegger-Krugh, 2008).

Há pelo menos quatro teorias propostas na justificativa do potencial analgésico do óxido nítrico:

- 1. Através do fluxo sanguíneo: Em resposta ao estresse de cisalhamento devido ao aumento do fluxo de sangue, um constante fornecimento de óxido nítrico via eNOS pode ser gerada pelas células endoteliais (Moncada e Higgs, 1995). Este fornecimento de óxido nítrico pode favorecer a vasodilatação, melhorar a oxigenação e a nutrição tecidual e com a melhora do metabolismo aeróbico pode reduzir a acidose celular, reduzindo a dor (Thomas, 2000);
- 2. Através da transmissão nervosa: A dor pode ser causada por uma condução anormal do potencial de membrana do nervo, provocando irritação dos nervos no tecido sinovial, ossos e tecidos moles. A ativação da rota NO-cGMP pode reduzir a dor através da cNOS liberando óxido nítrico na vasculatura nervosa indiretamente corrigindo o potencial de membrana do nervo e a geração de impulsos pela melhora do fluxo sanguíneo, oxigênio e nutrientes das células nervosas (Hancock e Riegger-Krugh, 2008);
- 3. Através de receptores opióides: Os opióides reduzem a dor através da redução da excitabilidade nervosa, reduzindo ou parando a transmissão da nocicepção. A ligação do opióide com o seu respectivo receptor encontrado na membrana da célula nervosa estimula a liberação de óxido nítrico, que regula a permeabilidade da membrana no neurônio aos íons Ca^{2+} e ao K^+ , controlando a transmissão do sinal nervoso e reduzindo a dor (Ferreira, Duarte et al., 1991; Duarte e Ferreira, 1992);
- 4. Através da redução da inflamação: O mecanismo inflamatório favorece a formação de radicais livres e a produção de óxido nítrico via iNOS. A associação do ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) com óxido nítrico forma a espécie ativa de nitrogênio peroxinitrito (ONOO-), com grande potencial lesivo e propagador da inflamação (Halliwell, 2007).

Quantidades adequadas de óxido nítrico podem inibir os mecanismos envolvidos no estresse oxidativo, enquanto que o excesso de $O_2^{\bullet-}$, ou concentrações equimolares de óxido nítrico e $O_2^{\bullet-}$ favorecem este processo (Violi, Marino et al.). A redução da biodisponibilidade de óxido nítrico pela associação $O_2^{\bullet-} + NO$ formando ONOO- pode ativar a via do fator de transcrição kappa B (NF- κ B) levando à transcrição de fatores inflamatórios, provocando a perpetuação do mecanismo inflamatório. No entanto, a biodisponibilidade de óxido nítrico pode inibir a ativação do NF- κ B pelo aumento da expressão do inibidor kappa B (I κ B) e diminuir a translocação nuclear da subunidade p50 (Zhen, Lu et al., 2008). Desta forma, a maior disponibilidade de óxido nítrico favorece a redução do mecanismo inflamatório e conseqüentemente reduziria a dor.

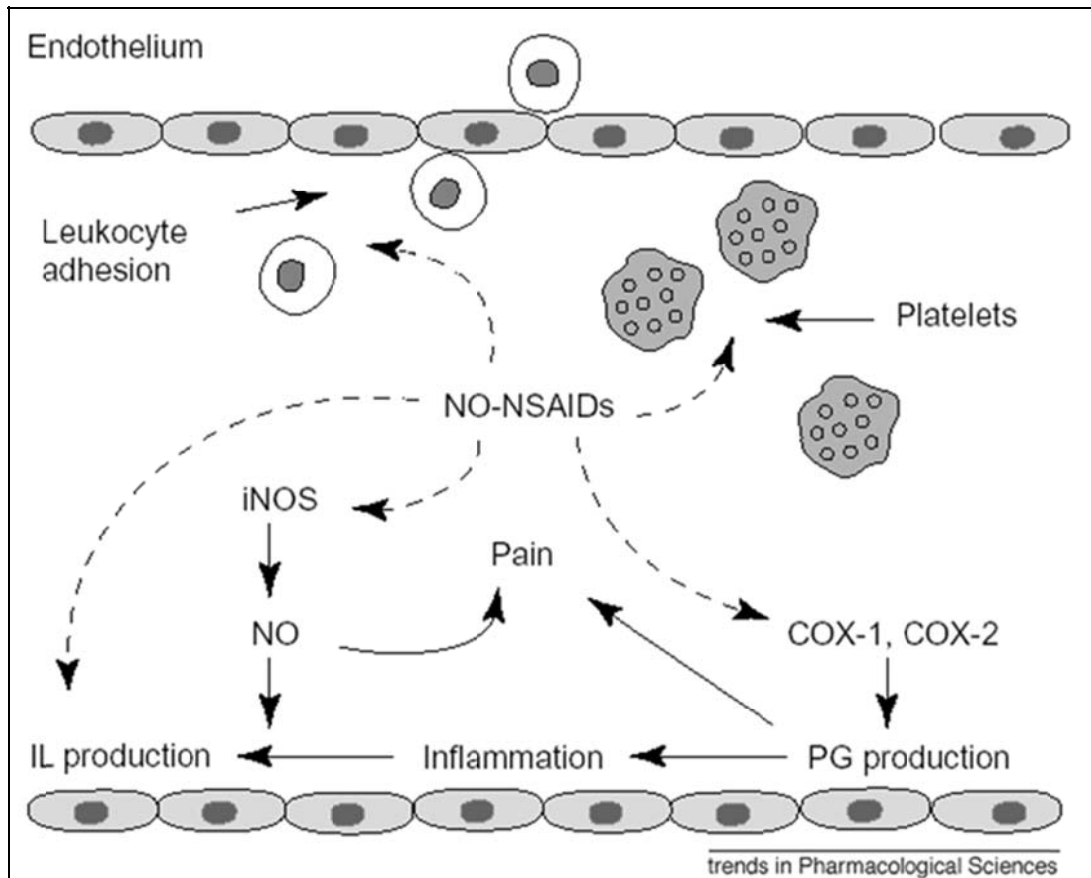


Figura 1: Representação esquemática dos eventos celulares subjacentes aos processos inflamatórios e trombogênicos. Tem sido demonstrado que inibidores de COX/doadores de NO afetam a ativação de células do sangue, como plaquetas e leucócitos, e interagem com a parede do vaso, ou seja, células endoteliais e de músculo liso vascular. A linha contínua representa tanto a célula alvo ou um caminho de sinalização, enquanto que a linha pontilhada representa a ação local destes fármacos onde foram mostrados interferir (por exemplo, com a adesão de leucócitos e agregação de plaquetas). Abreviaturas: COX, ciclooxigenase; IL, interleucina; iNOS, iNOS; AINEs, antiinflamatórios não-esteroidais; PG, prostaglandina (adaptado de: DEL SOLDATO, P.; Sorrentino, R.; Pinto, A. *NO-aspirins: a class of new anti-inflammatory and antithrombotic agents*. Trends Pharmacol Sci. v. 20, n. 8, p. 319-23, Aug 1999).

Referências bibliográficas

- ABRAMSON, S. Nitric oxide in inflammation and pain associated with osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* [S.I.], v. 10 Suppl 2, p. S2, 2008.
- AGUIRRE-BAÑUELOS, P.; GRANADOS-SOTO, V. Evidence for a peripheral mechanism of action for the potentiation of the antinociceptive effect of morphine by dipyrone. *J Pharmacol Toxicol Methods* [S.I.], v. 42, n. 2, p. 79-85, Oct 1999.
- BASBAUM, A.; JESSELL, T. The perception of pain *Principles of Neural Science*, 2000.
- BERRAZUETA, J. et al. Successful treatment of shoulder pain syndrome due to supraspinatus tendinitis with transdermal nitroglycerin. A double blind study. *Pain* [S.I.], v. 66, n. 1, p. 63-7, Jul 1996.
- BOLLA, M. et al. Nitric oxide-donating aspirin (NCX 4016): an overview of its pharmacological properties and clinical perspectives. *Eur J Clin Pharmacol* [S.I.], v. 62 Suppl 1, p. 145-54, Feb 2006.

-
- BRIGNOLA, G. et al. Modulation of morphine antinociception in the mouse by endogenous nitric oxide. *Br J Pharmacol* [S.I.], v. 113, n. 4, p. 1372-6, Dec 1994.
 - CHI, X. et al. ATP-sensitive potassium currents reduce the PGE2-mediated enhancement of excitability in adult rat sensory neurons. *Brain Res* [S.I.], v. 1145, p. 28-40, May 2007.
 - DAMBISYA, Y.; LEE, T. Effects L-NG-nitro arginine methyl ester (L-NAME), L-NG-monomethyl arginine (L-NMMA) and L-arginine on the antinociceptive effects of morphine in mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* [S.I.], v. 17, n. 9, p. 577-82, Nov 1995.
 - DEL SOLDATO, P.; Sorrentino, R.; Pinto, A. NO-aspirins: a class of new anti-inflammatory and antithrombotic agents. *Trends Pharmacol Sci.* v. 20, n. 8, p. 319-23, Aug 1999.
 - DOLAN, S. et al. The role of nitric oxide and prostaglandin signaling pathways in spinal nociceptive processing in chronic inflammation. *Pain* [S.I.], v. 86, n. 3, p. 311-20, Jun 2000.
 - DUARTE, I.; FERREIRA, S. The molecular mechanism of central analgesia induced by morphine or carbachol and the L-arginine-nitric oxide-cGMP pathway. *Eur J Pharmacol* [S.I.], v. 221, n. 1, p. 171-4, Oct 1992.
 - DUARTE, I. et al. Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. *Eur J Pharmacol* [S.I.], v. 186, n. 2-3, p. 289-93, Sep 1990.
 - FERREIRA, S. et al. The molecular mechanism of action of peripheral morphine analgesia: stimulation of the cGMP system via nitric oxide release. *Eur J Pharmacol* [S.I.], v. 201, n. 1, p. 121-2, Aug 1991.
 - FERREIRA, S.; NAKAMURA, M. II - Prostaglandin hyperalgesia: the peripheral analgesic activity of morphine, enkephalins and opioid antagonists. *Prostaglandins* [S.I.], v. 18, n. 2, p. 191-200, Aug 1979.
 - GOLDBERG, N. et al. Biologic regulation through opposing influences of cyclic GMP and cyclic AMP: the Yin Yang hypothesis. *Adv Cyclic Nucleotide Res* [S.I.], v. 5, p. 307-30, 1975.
 - HALLIWELL, B. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4 ed. ed. New York: Oxford University Press, 2007.
 - HANCOCK, C.; RIEGGER-KRUGH, C. Modulation of pain in osteoarthritis: the role of nitric oxide. *Clin J Pain* [S.I.], v. 24, n. 4, p. 353-65, May 2008.
 - KEEBLE, J. E.; MOORE, P. K. Pharmacology and potential therapeutic applications of nitric oxide-releasing non-steroidal anti-inflammatory and related nitric oxide-donating drugs. *Br J Pharmacol* [S.I.], v. 137, n. 3, p. 295-310, Oct 2002.
 - KNOWLES, R. et al. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: a transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 86, n. 13, p. 5159-62, Jul 1989.
 - KOSHLAND, D. J. The molecule of the year. *Science* [S.I.], v. 258, n. 5090, p. 1861, Dec 1992.
 - LEVINE, J.; TAIWO, Y. Involvement of the mu-opiate receptor in peripheral analgesia. *Neuroscience* [S.I.], v. 32, n. 3, p. 571-5, 1989.
 - MARTIN, E. et al. Nitric oxide cell signaling mediated by cGMP. In: GROUP, T. F. (Ed.). *Nitric oxide, cell signaling, and gene expression*. Los Angeles: Lamas, S; Cadenas, E, 2006. p. 188. (*Oxidative Stress and Disease*).
 - MELLER, S.; GEBHART, G. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain* [S.I.], v. 52, n. 2, p. 127-36, Feb 1993.
 - MELLER, S. T.; GEBHART, G. F. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain* [S.I.], v. 52, n. 2, p. 127-36, Feb 1993.

- MONCADA, S.; HIGGS, E. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. *FASEB J* [S.I.], v. 9, n. 13, p. 1319-30, Oct 1995.
- SACHS, D. et al. Peripheral analgesic blockade of hypernociception: activation of arginine/NO/cGMP/protein kinase G/ATP-sensitive K⁺ channel pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 101, n. 10, p. 3680-5, Mar 2004.
- THOMAS, G. Nitric oxide. In: THOMAS, G. (Ed.). *Medicinal Chemistry*. New York: John Wiley & Sons Ltd, 2000. p. 433-464.
- TYLOR, B.S.; Kion, Y.M.; Wang, Q.I.; Sharpio, R.A.; Billiar, T.R.; Geller, D.A. Nitric oxide down regulates hepatocyte-inducible nitric oxide synthase gene expression. *Arch. Surg. V. 1*, n. 32, p. 1177-1182, Nov. 1997.
- VERRI, W. J. et al. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development? *Pharmacol Ther* [S.I.], v. 112, n. 1, p. 116-38, Oct 2006.
- VIOLI, F. et al. Nitric oxide and its role in lipid peroxidation. *Diabetes Metab Res Rev* [S.I.], v. 15, n. 4, p. 283-8.
- ZHEN, J. et al. Upregulation of endothelial and inducible nitric oxide synthase expression by reactive oxygen species. *Am J Hypertens* [S.I.], v. 21, n. 1, p. 28-34, Jan 2008.

* Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas, Mestre e Doutor em Ciências, Pós-Doutorando do laboratório de Inflamação e Dor do Depto. de Farmacologia da FMRP-USP

** Fisioterapeuta, especialização em Acupuntura e Controle da Dor e Medicina Paliativa, Mestre e Doutorando em Fisiologia Humana da UFRGS