

Anúncio

AVIA L-ARGININA-NO-GMPc VASCULAR E PLAQUETÁRIA NA HIPERTENSÃO ARTERIAL INDUZIDA PELA CICLOSPORINA A: REVISÃO BASEADA NA INVESTIGAÇÃO PESSOAL

Flávio Reis

RESUMO

O desenvolvimento de hipertensão arterial e o aumento do risco de complicações tromboembólicas associados ao tratamento com a ciclosporina A (CsA) estão geralmente ligados a um praticamente consensual aumento da reactividade vascular e plaquetária. Na tentativa de explicar os mecanismos envolvidos, várias possibilidades têm sido equacionadas e investigadas. Mais recentemente tem sido dada uma atenção especial ao papel do monóxido de azoto (NO) no aumento da vasoconstrição e/ou atenuação do vasorelaxamento associados àquela hiperreactividade. Ao longo dos últimos anos, utilizando um modelo animal de hipertensão arterial induzida pela ciclosporina A já bem definido pelo grupo de investigação, temos vindo a desenvolver um conjunto de estudos conducentes à, em primeiro lugar, caracterização das hipotéticas alterações promovidas pela CsA ao nível da via L-arginina-NO-GMPc vascular e plaquetária e, em segundo lugar, à avaliação das potencialidades de fármacos dadores de NO como prevenção das referidas desregulações. Dois importantes fármacos têm vindo a ser investigados: o substrato natural da sintetase do NO, a L-arginina, e um dador orgânico de NO, o 5-Mononitrato de Isossorbido (IS-5-MN). É apresentada uma revisão da via L-arginina-NO-GMPc na hipertensão arterial induzida pela CsA, tendo por base a investigação pessoal já realizada e os estudos encontrados na literatura.

ABSTRACT

The development of arterial hypertension and the increased risk of thromboembolic complications associated with CsA treatment are usually coupled to an almost consensual increased vascular and platelet reactivity. Several possibilities have been raised and investigated in order to explain the underlying mechanisms. The NO role on the increased vasoconstriction and/or vasorelaxation diminishment associated with those hyperreactivity has recently gain particular attention. During the last years, by using a CsA-induced hypertension animal model, already well defined by our research group, we have been developing studies in order to, firstly, characterize the putative CsA-induced alterations in the vascular and platelet L-arginine-NO-cGMP pathway and, then, to evaluate the potentialities of NO donor drugs as preventives for those disturbances. Two important drugs have been tested: the natural NO synthase substrate, L-arginine, and an organic NO donor, the Isosorbide-5-Mononitrate (IS-5-MN). A revision of the L-arginine-NO-cGMP pathway in CsA-induced hypertension is presented, particularly focused on the personnel research already done and on other studies on the literature.

INTRODUÇÃO

A ciclosporina A (CsA) é um fármaco imunossupressor usado há mais de duas décadas para prevenir a rejeição de órgãos em doentes transplantados (1,2). Apesar da grande imunoselectividade e eficácia terapêutica que apresenta, a sua utilização na prática clínica está geralmente associada ao aparecimento de efeitos secundários graves, dos quais se destacam a toxicidade renal, o aumento do risco de complicações tromboembólicas e o desenvolvimento de hipertensão arterial (HTA) (3-7).

Não obstante a intensa investigação já realizada e os dados já conhecidos, a importância relativa de cada uma das contribuições para a HTA induzida pela CsA permanece por clarificar, mas um aumento da reactividade vascular e plaquetária parecem estar envolvidos (8-11). O aumento da vasoconstrição e/ou a diminuição da vasodilatação

poderão estar na base do aumento da resistência vascular periférica observada durante o tratamento com CsA em humanos e animais (12-15). Diversos mecanismos têm sido propostos para explicar aquele aumento da vasoconstrição: 1 - um efeito directo sobre a contractilidade do músculo liso vascular, nomeadamente por aumento da concentração de cálcio livre intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) e/ou um efeito indirecto, através da potenciação da contracção em resposta a vasoconstritores (11-16); 2 - um aumento da produção/libertação local de substâncias hemodinâmicas vasoactivas, como a noradrenalina (NA), o tromboxano A_2 (TXA_2), a serotonina (5-HT), ou ainda a angiotensina II (ANG II) e a endotelina (ET) (10,17,18); 3 - um aumento da actividade do sistema nervoso simpático e/ou da libertação de catecolaminas (13,19,20); 4 - a atenuação da vasodilatação e/ou da produção/libertação de vasodilata-

dores, como o monóxido de azoto (NO) ou a prostaciclina (PGI₂), contribuindo assim para o exacerbar do desequilíbrio no sentido da vasoconstrição e, conseqüentemente do aumento da resistência vascular periférica (21,22).

Não discutindo agora as primeiras três hipóteses, nos últimos tempos tem-se assistido a uma maior atenção ao papel da CsA sobre os factores de dilatação, nomeadamente a via L-arginina-NO-GMPc.

A CICLOSPORINA E A VIA L-ARGININA-NO-GMPc VASCULAR E PLAQUETAR

Vários autores referem um efeito tóxico da CsA sobre o endotélio vascular e uma atenuação do relaxamento dependente do endotélio (21-24). O principal factor relaxante muscular dependente do endotélio é o NO (25). Após sintetizado na camada endotelial a partir da L-arginina por acção da sintetase do NO (NOS), este actua especialmente no músculo liso vascular, por intermédio do GMPc (3',5'-monofosfato de guanosina cíclico), promovendo vasodilatação (26). O seu papel na fisiopatologia das doenças cardiovasculares está hoje mais esclarecido. A atenuação patológica do seu conteúdo ou a diminuição dos seus efeitos está geralmente associados a distúrbios da funcionalidade cardiovascular, designadamente na hipertensão arterial (26,27).

A via L-arginina-NO-GMPc plaquetária foi também já caracterizada, sendo o NO um inibidor da adesão e agregação plaquetárias (28,29). A existência de hiperreactividade plaquetária associada ao tratamento com CsA foi já anteriormente demonstrada

pelo nosso grupo de investigação (10,11). Contudo, o papel desta via plaquetária na HTA induzida pela CsA tem sido pouco afluído pelos investigadores, permanecendo muito por elucidar. Uma vez que as plaquetas podem ter também um papel importante no desenvolvimento e/ou manutenção de elevadas pressões arteriais, nomeadamente por serem mediadores das complicações tromboembólicas, promotores da arteriosclerose e vectores do tónus vascular (30,31), não pode ser de todo excluída a possibilidade de desempenharem uma função importante nesta HTA. Além disso, as plaquetas são consideradas bons modelos para o estudo dos neurónios monoaminérgicos, especialmente serotoninérgicos, e possuem ainda muitas características em comum com as células do músculo liso vascular (32).

Os resultados publicados na literatura referentes a trabalhos com modelos experimentais não são uniformes. Por exemplo, relativamente ao desenvolvimento de HTA, alguns estudos demonstraram um aumento das pressões arteriais (33-41), enquanto outros não observaram quaisquer alterações significativas (42-45), havendo mesmo alguns que relataram uma diminuição (14). Tal heterogeneidade parece estar relacionada com algumas variações metodológicas, nomeadamente com o modelo animal escolhido, com a formulação e as doses de ciclosporina A estudadas, com a via de administração do fármaco, com o veículo utilizado, e mesmo com o período de tratamento. Em trabalhos já publicados (10, 11, 19, 46) e em que adoptámos como modelo experimental ratos Wistar submetidos a um tratamento oral durante 4 ou 7 semanas, com uma dose oral diária de

CsA (Sandimmun Neoral® – microemulsão, Novartis Farma, Portugal) de 5 mg/kg/dia, cuja concentração plasmática de “vale” se correlaciona com a encontrada em doentes transplantados a tomar uma “dose de manutenção” pós-transplante, verificou-se um aumento declarado tanto da pressão arterial sistólica (PAS), como da pressão arterial diastólica (PAD) (Fig. 1) (47).

Relativamente aos distúrbios da via L-arginina-NO-GMPc associados à diminuição do relaxamento vascular na HTA induzida pela CsA os resultados encontrados na literatura são também muito díspares: enquanto alguns estudos sugeriram uma diminuição da produção de NO e da actividade da NOS (48-55), outros relataram a não existência de alterações significativas

ou mesmo um aumento da geração de NO (56-60) e da actividade da NOS (60).

Nos nossos trabalhos (47), em que a determinação da concentração vascular e plaquetária de NO foi avaliada indirectamente através da medição de nitritos pelo método do reagente de Griess (61), verificou-se uma diminuição muito significativa do conteúdo de nitritos em aorta total de ratos tratados com CsA, relativamente ao controlo (Fig. 2A₁), o que está de acordo com outros estudos de outros grupos (50-52). Este resultado parece indicar a diminuição em um dos passos da geração de NO a nível endotelial, o que estaria de acordo com um efeito protector da administração de L-arginina na produção de NO e no relaxamento dependente do endotélio, como

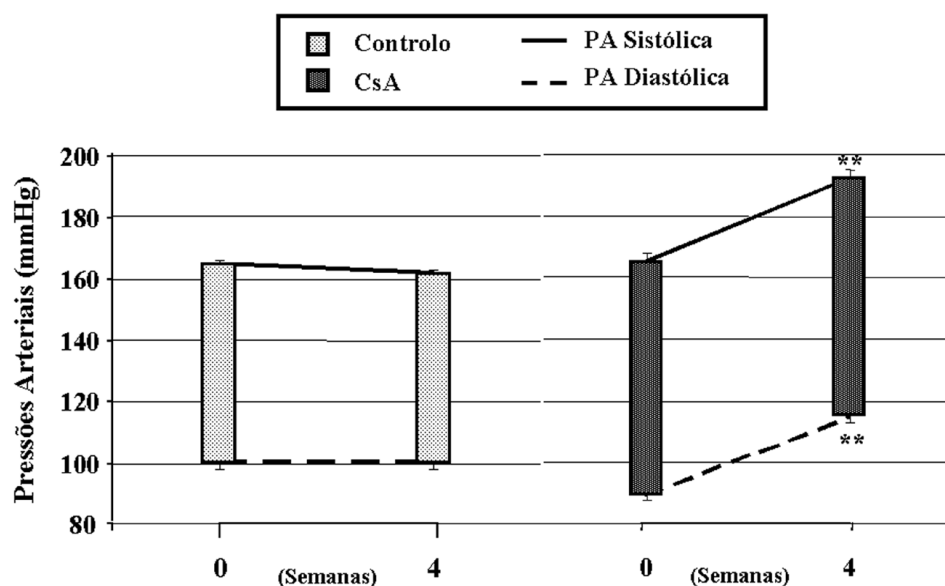


Fig. 1 – Pressões arteriais sistólica e diastólica em ratos controlo e em ratos submetidos a dieta com 5 mg/kg/dia de CsA durante 4 semanas. As pressões arteriais foram determinadas pelo método da manga insuflável na artéria da cauda em ratos conscientes. Cada coluna representa uma média \pm e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (** $P < 0.01$: vs grupo controlo). Valores retirados de Santiago M e col. *Fund Clin Pharmacol* 2003; 17: 43-50.

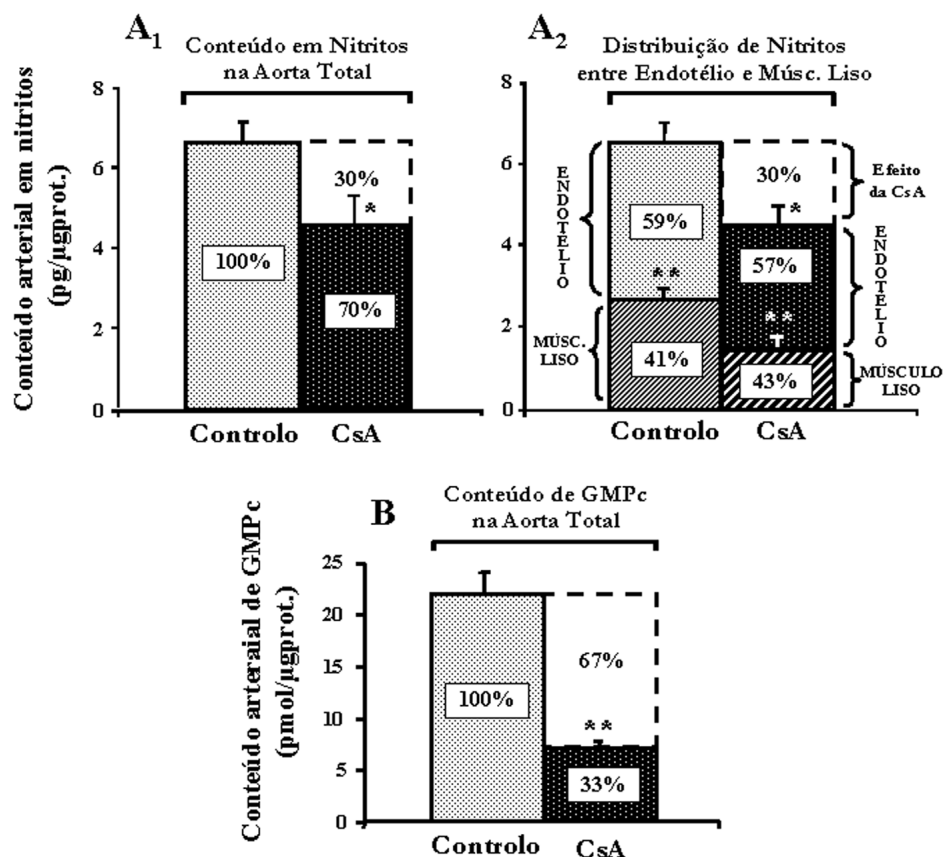


Fig. 2 – Conteúdo arterial de nitritos (A) e de GMPc (B) em ratos controlo e em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA durante 4 semanas. (A₁) Conteúdo de nitritos na aorta total. (A₂) Distribuição de nitritos entre a camada endotelial e a camada muscular lisa. A determinação de nitritos foi efectuada pelo método do reagente de Griess e o conteúdo de GMPc através de imunoensaio enzimático. Cada coluna representa a média ± e.p.m. (percentagens do controlo também expressas) de 10 ratos de cada grupo (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$: vs grupo controlo).

Retirado (e traduzido) de Santiago M e col. *Fund Clin Pharmacol* 2003; 17: 43-50.

anteriormente sugerido por alguns estudos, não todos, encontrados na literatura (48-52). Por outro lado, nos nossos resultados verificou-se ainda que, apesar daquela diminuição do conteúdo em nitritos, a sua distribuição entre a camada endotelial e a muscular lisa se manteve idêntica à do grupo controlo (Fig. 2A₂), o que poderá afastar a hipótese de uma diminuição do transporte em resultado da alteração no conteúdo total. No

entanto, não será de excluir a possibilidade de alterações na via NO-GMPc no músculo liso vascular por efeito directo do tratamento com CsA.

No mesmo estudo (47), a CsA promoveu ainda uma diminuição do conteúdo de GMPc na aorta, o que poderá ser resultante da diminuição dos níveis de NO. Mas, como a percentagem perdida em GMPc (67%) foi significativamente superior à perda em NO (30%), não deverá excluir-se um

efeito directo da CsA no metabolismo do GMPc, nomeadamente na actividade das enzimas que regulam a sua síntese, a guanilato ciclase (GC), e a sua degradação, as fosfodiesterases de nucleótidos cíclicos (PDEs). Esta explicação está de acordo com a hipótese já atrás formulada de um efeito da CsA não apenas na camada endotelial mas também nas células musculares lisas, onde o GMPc é formado, também sugerido por outros autores (22,41,52). Mais ainda, suporta também a ideia de diminuição do relaxamento independente do endotélio, que outros estudos já referiram (8,22,41,62). Assim, os nossos resultados apontam para um efeito combinado da CsA no metabolismo vascular do NO e do GMPc, contribuindo para a exacerbada diminuição de GMPc e, conseqüentemente, para a desregulação da reactividade vascular.

As plaquetas possuem igualmente a via de produção de NO, que por sua vez activa a guanilato ciclase e origina o GMPc, responsável pela inibição da actividade plaquetária (28,29,63,64). O principal dado obtido nos nossos estudos foi o aumento do conteúdo de NO e de GMPc nas plaquetas dos ratos tratados com CsA relativamente ao controlo, contrastando com os efeitos que ocorrem a nível vascular (47).

As plaquetas são vulgarmente usadas como modelos das células musculares lisas e, desta forma, os resultados obtidos são, numa primeira análise, muito surpreendentes. Dois possíveis mecanismos poderão estar na base deste efeito: - uma auto-regulação plaquetária em resposta à hiperactivação resultante do tratamento com CsA; ou - um mecanismo hemodinâmico de contra-regulação em resposta à diminuição dos níveis vasculares de NO e GMPc. Em estudos anteriores havia já sido

demonstrado um aumento da reactividade plaquetária associado à administração de CsA (10,11), nomeadamente através de um aumento da $[Ca^{2+}]_i$ (11), que poderá contrariar aquela hiperactivação plaquetária pela libertação de NO e, conseqüentemente, de GMPc. Um efeito semelhante, ainda que não na hipertensão arterial induzida pela CsA, havia sido sugerido por Radomski *et al* (28), como um mecanismo fisiológico de activação-inibição das plaquetas, uma vez que a actividade da NOS constitutiva, presente nas plaquetas, é estimulada pelo aumento da $[Ca^{2+}]_i$.

A exposição das plaquetas *in vitro* à CsA, na ausência do ambiente vascular, resultou igualmente num aumento do conteúdo plaquetário de nitritos, maioritariamente resultante da elevação da sua libertação pelas plaquetas (47). Assim, não excluindo a hipótese de um efeito hemodinâmico compensatório resultante da diminuição vascular de NO e de GMPc, os dados que obtivemos parecem apontar para uma regulação (dependente de NO e de GMPc) plaquetária em resposta à própria agressão promovida pela CsA. Os mecanismos bioquímicos subjacentes a esta nova e interessante perspectiva merecem ulterior clarificação.

Em suma, a CsA parece afectar a via L-arginina-NO-GMPc não apenas por efeitos a nível do endotélio arterial, onde o NO é produzido por acção da NOS, mas igualmente a nível da camada muscular lisa, onde a activação da guanilato ciclase resulta na geração de GMPc, com os conseqüentes efeitos na funcionalidade vascular. A resposta plaquetária que acompanha estas alterações é no sentido da geração/libertação de adicional quantidade de NO e de GMPc, que poderá ser o resultado de um me-

canismo hemodinâmico compensatório ou de uma auto-defesa à própria hiperactivação plaquetária induzida pela CsA, também já bem documentada em estudos anteriores.

EFEITO DE UMA DIETA SUPLEMENTAR COM L-ARGININA

Os estudos encontrados na literatura acerca do papel do NO no aumento da reactividade vascular e plaquetária na hipertensão arterial induzida pela ciclosporina revelam resultados díspares. Assim, enquanto alguns apontam para uma diminuição da produção de NO, da actividade da

NOS e do relaxamento dependente do endotélio (21,22, 48-55), outros ou não registaram alterações a nível dos referidos mecanismos ou obtiveram mesmo uma diminuição da actividade da NOS (56-58). Os estudos encontrados na literatura são igualmente discordantes relativamente à eficácia da administração de L-arginina, o substrato da NOS, na prevenção das alterações induzidas pela CsA. Assim, enquanto alguns sugerem que a L-arginina poderá prevenir a desregulação da produção de NO e do relaxamento dependente do endotélio (48,49,52), outros sugerem que o aumento no conteúdo de NO que obtiveram constitui um mecanismo de contra-regulação originado pelo

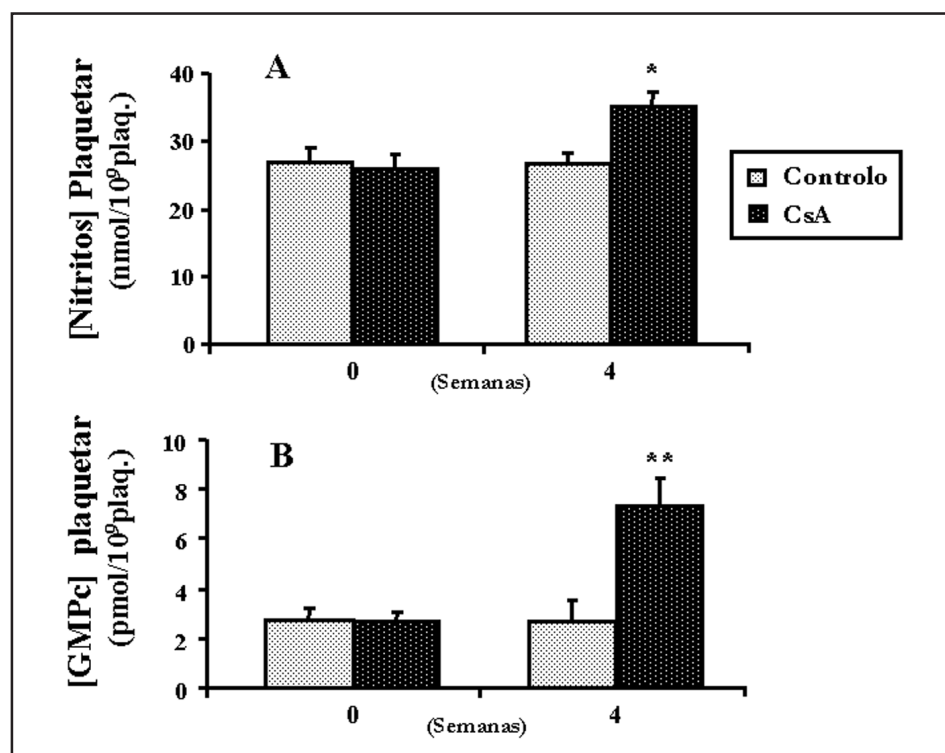


Fig. 3 – Conteúdo plaquetar de nitritos (A) e de GMPc (B) em ratos controlo e em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA, durante 4 semanas. A determinação de nitritos foi efectuada pelo método do reagente de Griess e o conteúdo de GMPc através de imunoenensaio enzimático. Cada coluna representa media ± e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$: vs grupo controlo).

Retirado (e traduzido) de Santiago M e col. *Fund Clin Pharmacol* 2003; 17: 43-50.

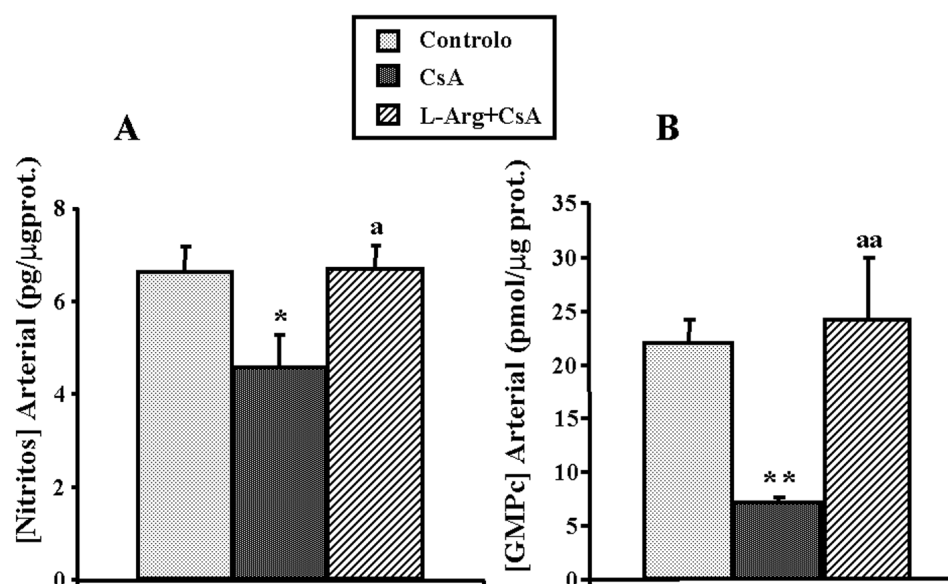


Fig. 4 – Conteúdo arterial de nitritos (A) e de GMPc (B) em ratos controle, em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA e em ratos tratados conjuntamente com 1,25g/l de L-arginina+CsA (5 mg/kg/dia), durante 4 semanas. A determinação de nitritos foi efectuada pelo método do reagente de Griess e o conteúdo de GMPc através de imunensaio enzimático. Cada coluna representa a média \pm e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (* P <0.05; ** P <0.01: vs grupo controlo; ^a P <0.05; ^{aa} P <0.01: vs grupo CsA).

Retirado (e traduzido) de Reis F e col. *Proc Eur Soc Microcirc* 2002; 257-261.

aumento da vasoconstrição induzido pela CsA (56,58,65,66).

Nos nossos trabalhos (67) verificou-se que a administração concomitante de L-arginina com CsA permitiu prevenir a diminuição dos níveis arteriais de NO e de GMPc em ratos tratados somente com o imunossupressor (Fig. 4). Este dado parece indicar um papel da CsA ao nível da actividade da NOS, por efeito directamente em algum dos seus componentes ou cofactores, o que concordaria com outros estudos encontrados na literatura (54,55).

A nível plaquetar, a administração de L-arginina conjuntamente com a CsA produziu uma normalização dos valores de NO e de GMPc, para os níveis encontrados no grupo controlo

(Fig. 5). Ou seja, o aumento do conteúdo plaquetário de NO e de GMPc resultante do tratamento com CsA foi prevenido pela administração concomitante de L-arginina (67). Estes dados, conjuntamente com uma diminuição da agregação plaquetária induzida pela CsA (dados não incluídos em gráfico) sugerem que na presença de L-arginina não mais será necessária a contra-regulação plaquetária em respostas a essas agressões. Isto estaria de acordo com o anteriormente sugerido para explicar as alterações dos níveis plaquetários de NO (nitritos) e de GMPc nos ratos do grupo CsA relativamente ao controlo (Fig. 3). Isto é, a normalização do sistema vascular e plaquetário ao nível da via NO-GMPc pela administração da L-arginina torna

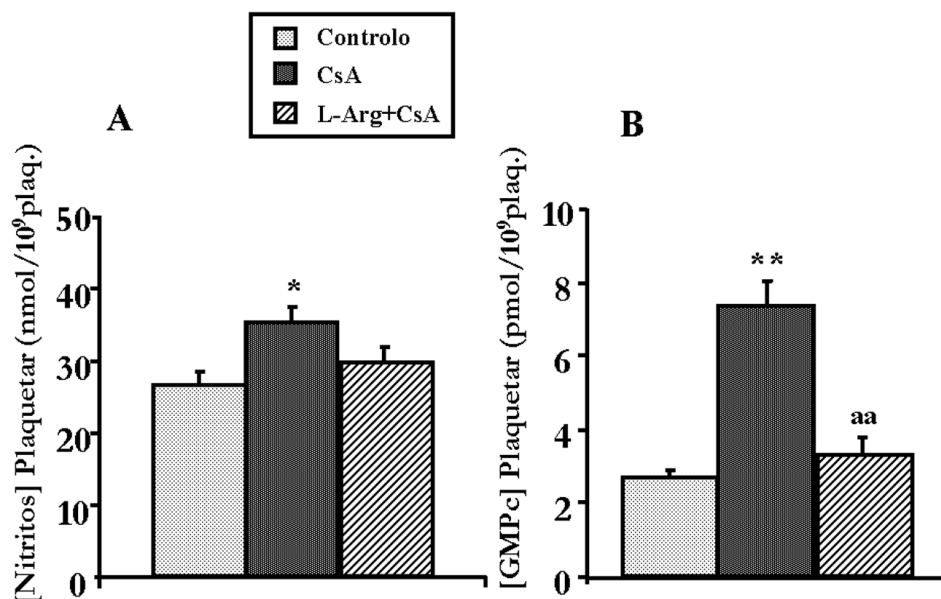


Fig. 5 – Conteúdo plaquetar de nitritos (A) e de GMPc (B) em ratos controlo, em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA e em ratos tratados conjuntamente com 1,25g/l de L-arginina+CsA (5 mg/kg/dia), durante 4 semanas. A determinação de nitritos foi efectuada pelo método do reagente de Griess e o conteúdo de GMPc através de imunoenensaio enzimático. Cada coluna representa a media \pm e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (* P <0.05; ** P <0.01: vs grupo controlo; ^{aa} P <0.01: vs grupo CsA).

Retirado (e traduzido) de Reis F e col. *Proc Eur Soc Microcirc* 2002; 257-261.

desnecessária a resposta plaquetária no sentido de aumentar os seus níveis em NO (nitritos) e GMPc.

Uma explicação semelhante foi avançada em trabalhos de outros autores. A hipótese que levantaram aponta para um hiperactivação da via L-arginina-NO-GMPc vascular como resposta a uma exacerbada vasoconstrição induzida pela CsA (56,58). Esses trabalhos, contudo, reportam-se à vasculatura, o que claramente contrasta com os nossos dados, podendo no entanto ser retida a semelhança na explicação por eles avançada. A grande maioria dos trabalhos encontrados na literatura apontam, no entanto, para uma diminuição da produção vascular de NO/GMPc e do relaxamento vascular associados à HTA induzida pela CsA (21-23,52-55,68).

A hipótese de existirem diferentes mecanismos para as plaquetas e vasos recomenda, contudo, que o uso das plaquetas como modelos para as células musculares lisas vasculares na HTA induzida pela CsA seja visto com as necessárias precauções e reservas, pelo menos no que ao sistema L-arginina-NO-GMPc diz respeito.

Relativamente às pressões arteriais, os nossos resultados indicaram que a administração de L-arginina em conjunto com a CsA não previne o desenvolvimento de hipertensão arterial (Fig. 6) (67). Este dado é de certa forma surpreendente dados os efeitos benéficos que a administração de L-arginina havia produzido, normalizando os conteúdos vascular e plaquetário de NO e de GMPc. Em conjunto, os resultados obtidos parecem sugerir que

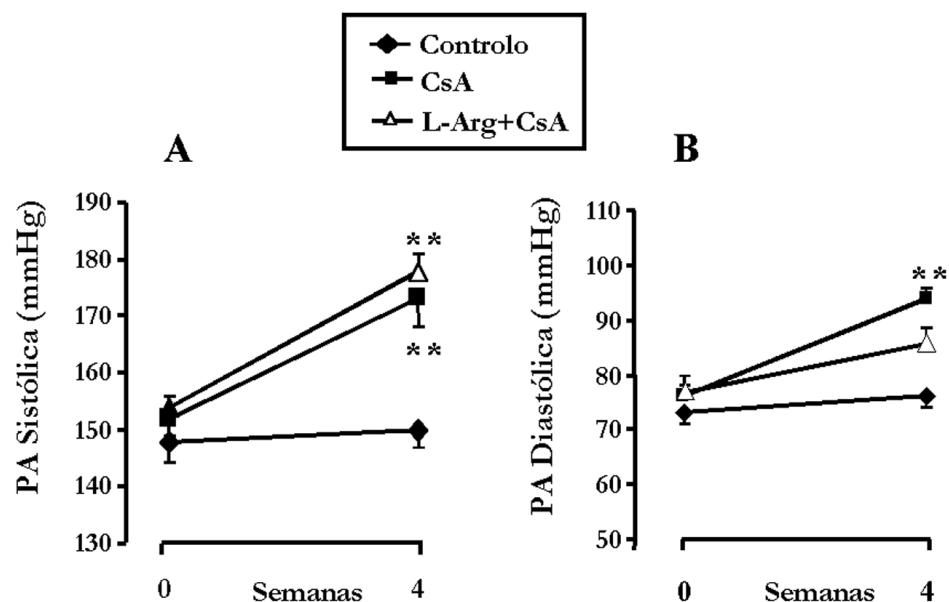


Fig. 6 – Pressões arteriais sistólica (A) e diastólica (B) em ratos controle, em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA e em ratos tratados conjuntamente com 1,25g/l de L-arginina+CsA (5 mg/kg/dia), durante 4 semanas. As pressões arteriais foram determinadas pelo método da manga insuflável na artéria da cauda em ratos conscientes. Cada coluna representa a média \pm e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (** $P < 0.01$: vs grupo controle). Reis F. e col. *J Vasc Res* 2002; 39(S1): 27

Dados retirado de Reis F e col. *Proc Eur Soc Microcirc* 2002; 257-261.

a desregulação da via L-arginina-NO-GMPc induzida pela CsA não resultará unicamente de alterações ao nível da disponibilidade do substracto ou da actividade da NOS, podendo ainda outros alvos contribuir para aquela alteração. Ou, como também é conhecido, a hipertensão arterial induzida pela CsA não resultará apenas de alterações desta via.

EFEITO DE UMA DIETA SUPLEMENTAR COM 5-MONONITRATO DE ISOSSORBIDO

Um dos principais passos atrás na investigação deste tema foram os resultados controversos relativamente

aos hipotéticos benefícios do tratamento com L-arginina na actividade vascular e plaquetária associada à hipertensão arterial induzida pela CsA (56,58,67). Todavia, sendo a L-arginina o substracto da NOS, poderá perguntar-se o que acontece com o fornecimento de um dador de NO, como o 5-mononitrato de isossorbido (IS-5-MN). Este nitrato orgânico é já há muitos anos utilizado como vasodilatador coronário na terapêutica da angina de peito (69,70). Dadas as suas propriedades de dador de NO (71,72), será possível que tenha efeito vasodilatador e que contrarie não apenas a hipertensão arterial induzida pela CsA mas também, e especialmente, as alterações estruturais e funcionais a ela subjacentes?

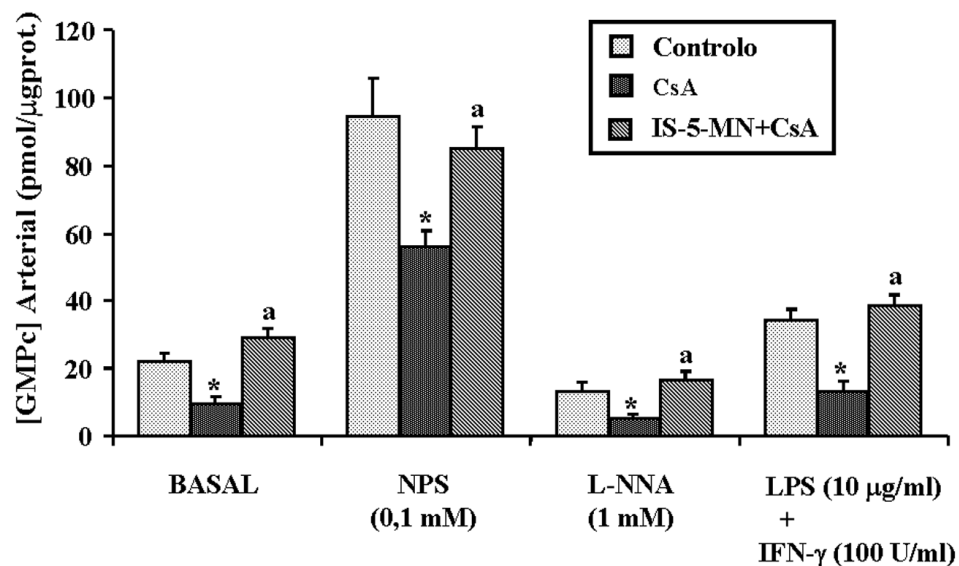


Fig. 7 – Conteúdo arterial de GMPc em ratos controlo, em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA e em ratos tratados com 150 mg/kg/dia (bid) de IS-5-MN por 2 semanas e conjuntamente com CsA por mais 7 semanas, em condições basais e após incubação com 0,1 mM NPS; 1,0 mM L-NNA ou 10 mg/ml de LPS+100 U/ml de IFN-g. O conteúdo arterial de GMPc foi determinado através de imunoensaio enzimático. Cada coluna representa a média \pm e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (* P <0.05; ** P <0.01: vs grupo controlo; ^a P <0.05: vs grupo CsA).

Retirado (e traduzido) de Reis F e col. *Proc Eur Soc Microcirc* 2002; 305-309.

Nos resultados que publicámos (67,73) verificou-se que a administração conjunta de IS-5-MN com CsA, após um período prévio de duas semanas de administração isolada com IS-5-MN, permite prevenir as alterações nos conteúdos vasculares de GMPc (Fig. 7). De destacar que ao nível basal, sem a presença de inibidores da actividade da NOS constitutiva ou indutores da NOS indutível, o conteúdo de GMPc obtido no grupo IS-5-MN+CsA é mesmo superior à concentração do grupo controlo, podendo este resultado estar associado ao facto de se iniciar previamente a administração isolada de IS-5-MN neste grupo, o que poderá ser essencial à preservação dos níveis basais após o início do tratamento com a CsA.

Este resultado confirma os nitratos orgânicos, nomeadamente o IS-5-MN, como fármacos com potencialidades para serem usados preventivamente nas alterações vasculares bioquímico-funcionais associadas à hipertensão arterial induzida pela CsA.

Relativamente ao efeito do IS-5-MN ao nível do sistema NO-GMPc plaquetário, verificou-se que este reverte totalmente a diminuição da actividade da NOS induzida pela ciclosporina (Fig. 8), e tende a impedir o aumento dos níveis plaquetários de GMPc (Fig. 9) (74). Tratando-se de um dador de NO, a tendência para uma diminuição da concentração de GMPc é, em primeira análise, um paradoxo. Mais, os resultados obtidos confirmam que, contrariamente ao que

parece suceder a nível arterial, a CsA promove um aumento dos teores de NO e de GMPc nas plaquetas, hipoteticamente como um mecanismo de auto-regulação plaquetário resultante de uma hiperreactividade induzida pela CsA, como previamente sugerido e explicado. O facto do IS-5MN diminuir parcialmente os conteúdos de GMPc poderá significar uma diminuição da agressão a nível vascular e plaquetário, e uma tendência para a normalização da actividade plaquetar e das interacções e contra-regulações vaso-plaqueta.

De facto, as plaquetas de ratos tratados com IS-5-MN+CsA demonstraram níveis normais de $[Ca^{2+}]_i$ estimulada por trombina e

agregação plaquetária induzida por colagénio, comparativamente aos ratos tratados isoladamente com a CsA (73,74). Esta normalização da função plaquetar foi reforçada por estudos de microscopia electrónica da morfologia plaquetária (73). O efeito do IS-5-MN na função plaquetária de ratos submetidos a tratamento com CsA é original na literatura e, desta forma, nenhuma comparação poderá ser estabelecida com outros estudos. Contudo, uma melhoria da função plaquetária após administração de IS-5-MN foi demonstrada em outro tipo de trabalhos com plaquetas (75-77).

Também neste estudo (73), o IS-5-MN preveniu a diminuição da actividade da NOS induzida pela CsA

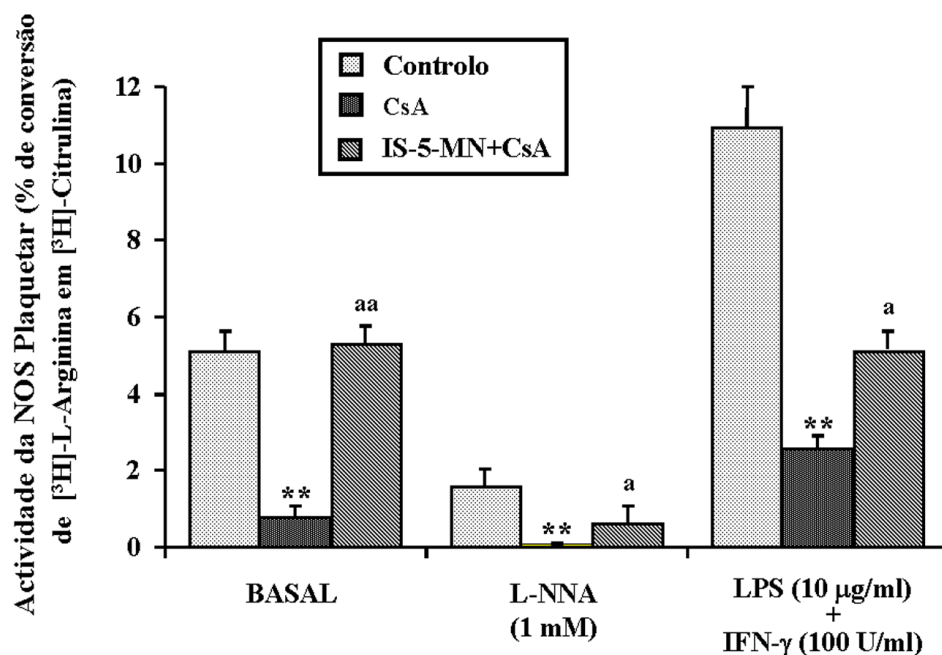


Fig. 8 – Actividade da NOS plaquetar em ratos controlo, em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA e em ratos tratados com 150 mg/kg/dia (bid) de IS-5-MN por 2 semanas e conjuntamente com CsA por mais 7 semanas, em condições basais e após incubação com 1,0 mM L-NNA ou 10 mg/ml de LPS+100 U/ml de IFN-g. Cada coluna representa a percentagem da conversão de $[^3H]$ -L-arginina em $[^3H]$ -L-citrulina \pm e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (* P <0.05; ** P <0.01: vs grupo controlo; ^a P <0.05; ^{aa} P <0.01: vs grupo CsA). Retirado (e traduzido) de Reis F e col. *Thromb Res* 2003; 110: 107-115.

(Fig. 8) e, mais surpreendentemente, promoveu uma diminuição tendencial do conteúdo plaquetário de GMPc para níveis próximos do controlo (Fig. 9). Tratando-se de um fármaco dador de NO, esperar-se-ia à partida um efeito oposto. Contudo, uma vez que ocorreu uma normalização da função plaquetária, como previamente comentado, o aumento da concentração de GMPc, hipoteticamente originado para regular a hiperreactividade plaquetária, não mais será necessário quando o IS-5-MN está presente e a $[Ca^{2+}]_i$ e agregação plaquetares estão normalizadas. Um efeito semelhante foi também atrás relatado em ratos sujeitos a tratamento com L-arginina,

confirmando o efeito benéfico da dieta suplementar com dadores de NO na hiperactivação plaquetária induzida pela CsA. Em suma, este resultado confirma ainda a prévia suposição de um aumento de GMPc como mecanismo compensatório plaquetário em resposta à exacerbada activação.

Relativamente às pressões arteriais, o tratamento preventivo com IS-5-MN permitiu prevenir o aumento da pressão arterial sistólica e diastólica encontrado em ratos a tomar isoladamente CsA (Fig. 10), o que contrasta com os resultados obtidos quando se testou o mesmo tratamento com outro fármaco dador de NO, a L-arginina (74).

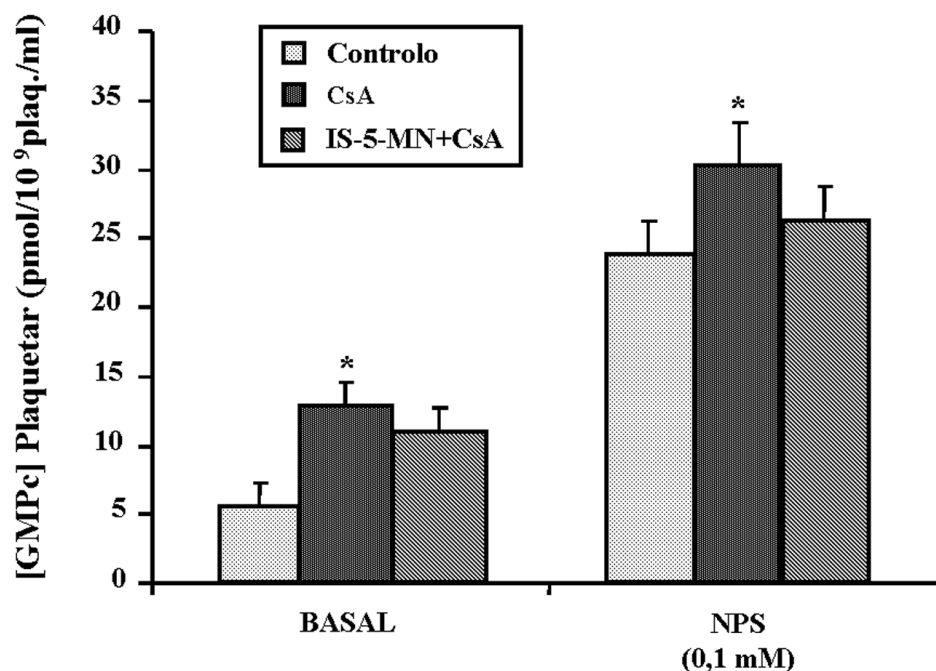


Fig. 9 – Conteúdo plaquetar de GMPc em ratos controlo, em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA e em ratos tratados com 150 mg/kg/dia (bid) de IS-5-MN por 2 semanas e conjuntamente com CsA por mais 7 semanas, em condições basais e após incubação com NPS (100 mmol/L). O conteúdo arterial de GMPc foi determinado através de imunoensaio enzimático. Cada coluna representa a média \pm e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (* $P < 0.05$: vs grupo controlo).

Retirado (e traduzido) de Reis F e col. *Thromb Res* 2003; 110: 107-115.

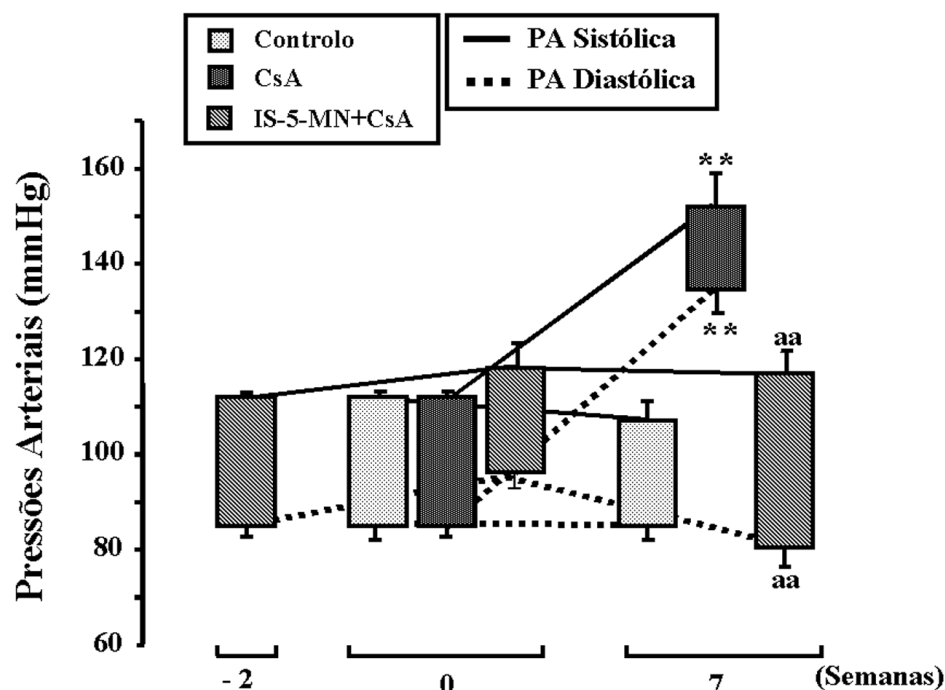


Fig. 10 – Pressão arterial sistólica (A) e diastólica (B) em ratos controlo, em ratos tratados com 5 mg/kg/dia de CsA e em ratos tratados com 150 mg/kg/dia (bid) com IS-5-MN por 2 semanas e conjuntamente com CsA por mais 7 semanas. As pressões arteriais foram determinadas pelo método da manga insuflável na artéria da cauda em ratos conscientes. Cada valor representa a média \pm e.p.m. de 10 ratos de cada grupo (** $P < 0.01$: vs grupo controlo; ^{aa} $P < 0.01$: vs grupo CsA).

Retirado (e traduzido) de Reis F e col. *Proc Eur Soc Microcirc* 2002; 305-309.

A obtenção de pressões arteriais similares ao grupo controlo mesmo após 7 semanas de tratamento conjunto com a CsA, parece indicar que a administração deste nitrato orgânico, nestas condições, não origina o desenvolvimento de tolerância, geralmente associada à terapêutica com fármacos deste grupo (78). A este facto não deverão ser alheias as precauções metodológicas introduzidas: por um lado a preservação de um período livre de fármaco de pelo menos 4 horas, resultante da administração bidiária assimétrica e, por outro, o início da administração de IS-5-MN de forma isolada por um período de 2 semanas antes da administração

concomitante com CsA por um período adicional de 7 semanas, o que poderá permitir a criação de uma reserva de NO antes dos efeitos da CsA sobre a via NO-GMPc se iniciarem.

A obtenção de efeitos benéficos da administração preventiva de IS-5-MN não apenas ao nível das pressões arteriais, mas, e especialmente, ao nível da via NO-GMPc vascular e plaquetária, faz crer que este fármaco poderá vir a desempenhar um papel importante na prevenção da hipertensão arterial induzida pela CsA.

CONCLUSÕES

No modelo animal de hipertensão arterial induzida pela CsA utilizado pelo nosso grupo de investigação, o tratamento com a CsA promoveu uma diminuição do conteúdo arterial de NO e de GMPc, sendo ainda mais acentuado o deste último. Este dado faz supor um efeito ao nível da via de síntese de NO no endotélio vascular, pela supressão do próprio substrato, a L-arginina, e/ou pela diminuição da actividade da enzima responsável pela síntese, a NOS e, paralelamente, um efeito na própria camada muscular lisa, onde o GMPc é formado e desenvolve as suas funções. Esta combinação deverá contribuir para o agravamento da disfuncionalidade da via L-arginina-

NO-GMPc, e da função vascular a ela inerente. Ao nível das plaquetas, e em contraste com os dados obtidos na vasculatura, a CsA originou um aumento tanto de NO como de GMPc. Este efeito poderá ser visto como um mecanismo de auto-defesa das plaquetas em resposta à própria hiperactivação induzida pela CsA, ou um mecanismo hemodinâmico compensatório às alterações ocorridas a nível arterial.

A administração concomitante de L-arginina com a CsA preveniu as alterações vasculares e plaquetárias induzidas pela CsA. Contudo, e de forma algo surpreendente, não teve efeito benéfico significativo ao nível da prevenção da hipertensão arterial induzida pela CsA (Fig. 11). Este

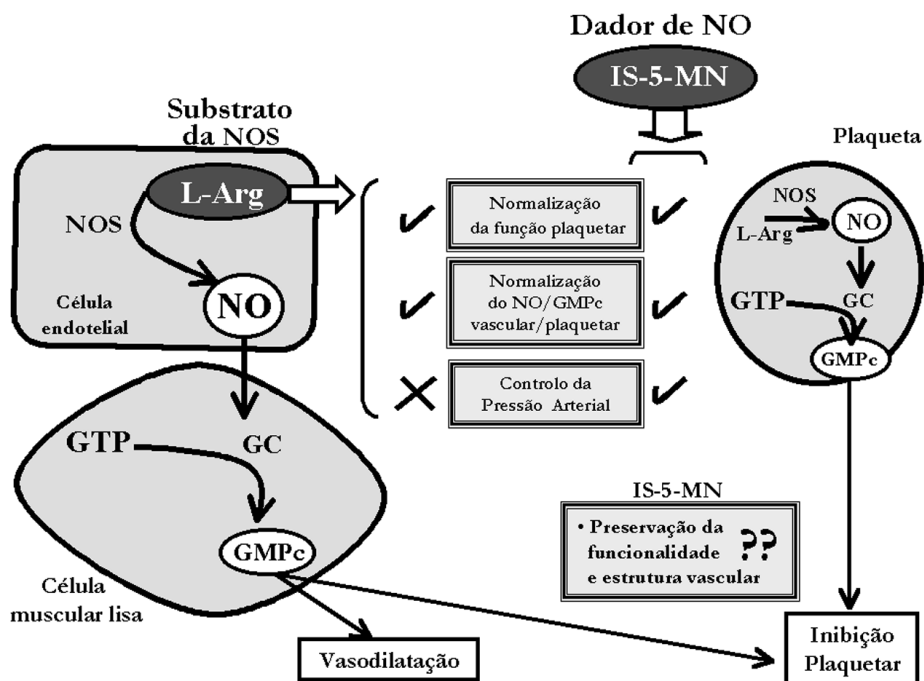


Fig. 11 – Diagrama representativo da via L-arginina-NO-GMPc vascular e plaquetária e das implicações fisiopatológicas do tratamento, concomitante com a CsA, de L-arginina (o substrato da NOS) ou do IS-5-MN (nitrito orgânico), quer a nível das pressões arteriais quer a nível da funcionalidade vascular e plaquetária.

falhanço da L-arginina fez pensar em outra escolha terapêutica que não se cingisse à simples administração do substrato da NOS. Com efeito, a administração preventiva de IS-5-MN conjuntamente com a CsA promoveu a normalização das alterações da via L-arginina-NO-GMPc vascular e plaquetária, mas preveniu também, e de forma aparentemente sustentada, o desenvolvimento de hipertensão arterial (Fig. 11). Estes resultados parecem indicar, uma vez mais, que os distúrbios originados pela CsA não ocorrem apenas na síntese endotelial de NO mas também na geração de GMPc ao nível da camada muscular lisa. Assim, um fármaco que não seja meramente o substrato da NOS, mas um dador de NO mais efectivo, poderá ser terapêuticamente mais bem sucedido na normalização das alterações da via L-arginina-NO-GMPc (Fig. 11).

A constatação de efeitos benéficos ao nível da via L-arginina-NO-GMPc vascular e plaquetar, abre grandes esperanças relativamente à eficácia do IS-5-MN não apenas em baixar e controlar a pressão arterial, mas, e especialmente, em prevenir e/ou reverter as alterações funcionais e estruturais subjacentes à lesão vascular e à HTA. A confirmar-se tal eficácia, poderá vir a propor-se o IS-5-MN como terapêutica preventiva da hipertensão arterial secundária à utilização de CsA e, eventualmente, também como preventivo da evolução das suas habituais lesões cardiovasculares que os anti-hipertensores clássicos não se têm mostrado capazes de evitar. Todavia, não deverão ser desprezados em estudos ulteriores os hipotéticos riscos da sua utilização continuada, designadamente: - um efeito vasodilatador e anti-agregante exacerbado e descompensatório ou,

por outro lado, - a perda de eficácia pelo estabelecimento de tolerância.

Morada para envio de correspondência:
Dr. Flávio Reis
Instituto de Farmacologia e Terapêutica
Experimental
Faculdade de Medicina
– Universidade de Coimbra
3004–504 Coimbra
Portugal
E-mail: flavio@ci.uc.pt

Referências

1. Ponticelli C, Civati G, Tarantino A, et al. Randomized study with cyclosporine in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 792-797.
2. Faulds D, Goa KL, Benfield P. Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory diseases. *Drugs* 1993; 45: 953-1040.
3. McNally P.G., Feehally J. Pathophysiology of cyclosporin A nephrotoxicity: experimental and clinical observations. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7: 791-804.
4. Muraki T, Sasaki Y, Gidding JC, Ishii H, Kaneko T, Yamamoto J. Antithrombotic effects of FK506 versus prothrombotic effect of cyclosporine in vivo. *Transplantation* 1995; 60: 308-309.
5. Miller BW, Hmiel SP, Schnitzler MA, Brennan DC. Cyclosporine as cause of thrombotic microangiopathy after renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 813-814.
6. Schachter M. Cyclosporine A and hypertension. *J Hypertens* 1988; 6: 511-516.
7. Sander M, Victor RG. Hypertension after cardiac transplantation: pathophysiology and management. *Curr Opin Nephrol and Hypertens* 1995; 4: 443-451.
8. Rego A, Vargas R, Cathapermal S, Kuwahara M, Foegh ML, Ramwell PW. Systemic vascular effects of cyclosporin A treatment in normotensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 259(2): 905-915.
9. Ressureição FA, Ballejo G, Salgado MC, Ferraz AS. Effect of cyclosporin administration on vascular reactivity of the isolated mesenteric bed. *Transplant Proc* 1995; 27: 1806-1808.

10. Reis F, Tavares P, Fontes-Ribeiro CA, Ferrer-Antunes C, Teixeira F. The peripheral serotonergic system and platelet aggregation in cyclosporin A-induced hypertensive rats. *Thromb Res* 1999; 96: 365-372.
11. Reis F, Tavares P, Rito LC, Teixeira HM, Santos-Dias JD, Ferrer-Antunes C, Mesquita JF, Teixeira F. Platelet activation is increased in cyclosporin A-induced hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000; 36(1): 56-64.
12. Curtis JJ, Luke RG, Dubovsky E, Diethelm AG, Whelchel JD, Jones D. Cyclosporine in therapeutic doses increases renal allograft vascular resistance. *Lancet* 1986; 2: 477-479.
13. Scherrer U, Vissing SF, Morgan BJ, Rollins JA, Tindall RSA, Ring S, Hanson P, Mohanty PK, Victor RG. Cyclosporine-induced sympathetic activation and hypertension after heart transplantation. *N Engl J Med* 1990; 323: 693-699.
14. Murray BM, Paller MS, Ferris TF. Effects of cyclosporine administration on renal hemodynamics in conscious rats. *Kidney Int* 1985; 28: 767-774.
15. Whithworth JA, Mills EH, Coghlan JP, McDougall JG, Nelson MA, Spence CD, Thresham JJ, Scoggins BA. The hemodynamic effect of cyclosporin A in sheep. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1987; 14: 573-580.
16. Rego A, Vargas R, Suarez KR, Foegh ML, Ramwell PW. Mechanism of cyclosporine potentiation of vasoconstriction of the isolated rat mesenteric arterial bed: role of extracellular calcium. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 254: 799-808.
17. Haug C, Duell T, Voisard R, Lenich A, Kolb HJ, Mickley V, Hombach V, Grunert A. Cyclosporine A stimulates endothelin release. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: S239-S241.
18. Lee D.B.N. Cyclosporine and the renin-angiotensin axis. *Kidney Int* 1997; 52: 248-260.
19. Reis F, Tavares P, Teixeira F. The distribution of catecholamines between plasma and platelets in cyclosporin A-induced hypertensive rats. *Pharmacol Res* 2000; 41(2): 129-135.
20. Sander M. Sympathetic neural mechanisms of cyclosporine-induced hypertension. *Am J Hypertens* 1996; 9: 121S-138S
21. Stephan D, Billing A, Krieger JP, Erima M, Fabre M, Hafner M, Imbs JL, Barthelmebs M. Endothelium-dependent relaxation in the isolated rat kidney: impairment by cyclosporine A. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: 859-868.
22. Rego A, Vargas R, Wroblewska B, Foegh ML, Ramwell PW. Attenuation of vascular relaxation and cyclic GMP responses by cyclosporin A. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 252: 165-170.
23. Cartier R, Dagenais F, Hollmann C, Cambron H, Buluran J. Chronic exposure to cyclosporine affects endothelial and smooth muscle reactivity in the rat aorta. *Ann Thorac Surg* 1994; 58: 789-794.
24. Zoja C, Furci L, Ghilardi F, Zilio P, Benigni A, Remuzzi G. Cyclosporin-induced endothelial cell injury. *Lab Invest* 1986; 55: 455-462.
25. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329(27): 2002-2012.
26. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.
27. Luscher TF, Noll G. The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. *Atherosclerosis* 1995; 118(Suppl.): S81-S90.
28. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5193-5197.
29. Mehta JL, Chen LY, Kone BC, Mehta P, Turner P. Identification of constitutive and inducible forms of nitric oxide synthase in human platelets. *J Lab Clin Med* 1995; 125: 370-377.
30. White JG. Platelets and atherosclerosis. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 25-29.
31. Erne P, Resink T, Buhler F. Platelets and hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7(suppl VI): S103-S108.
32. Pletscher. Platelets: use and limitations. *Experientia* 1988; 44: 152-155.
33. Tonnesen AS, Hamner RW, Weinmann EJ. Cyclosporine and sodium and potassium excretion in the rat. *Transplant. Proc.* 1983; 15 (suppl.1): 2573-2577.
34. Moss NG, Powell SL, Falk RJ. Intravenous cyclosporine activates afferent and efferent renal nerves and causes sodium retention in innervated kidneys in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 8222-8226.
35. Rego A, Vargas R, Foegh ML, Ramwell PW. Effect of cyclosporin A treatment on vascular reactivity of the rat thoracic aorta. *Trans-*

- plant Proc* 1988; 20 (suppl. 3): 572-577.
36. Lustig S, Stern N, Golub MS, Eggena P, Barret J, Lee DBN. Experimental cyclosporin hypertension: Characterization of the rat model. *Transplant Proc* 1989; 21: 950-951.
 37. Rebuffat P, Kasprzak A, Andreis PG, Mazzocchi G, Gottardo G, Coi A, Nussdorfer GG. Effects of prolonged cyclosporine A-treatment on the morphology and function of rat adrenal cortex. *Endocrinology* 1989; 125: 1407-1413.
 38. Gerkens JF. Cyclosporine treatment of normal rats produces a rise in blood pressure and decreased renal vascular responses to nerve stimulation, vasoconstrictors and endothelin-dependent dilators. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 250: 1105-1112.
 39. Golub MS, Lusting S, Berger ME, Lee DBN. Altered vascular responses in cyclosporine-treated rats. *Transplantation* 1989; 48: 116-118.
 40. Takeda Y, Miyamoi I, Yoneda T, Takeda R. Endothelin-1 release from the mesenteric arteries of cyclosporine-treated rats. *Eur J Pharmacol* 1992; 213: 445-447.
 41. Rouillet JB, Xue H, McCarron DA, Holcomb S, Bennett WM. Vascular mechanisms of cyclosporine-induced hypertension in the rat. *J Clin Invest* 1994; 93: 2244-2250.
 42. Kaskel FJ, Devarajau P, Arbeit LA, Partin JS, Moore LC. Cyclosporine nephrotoxicity: sodium excretion, auto-regulation and angiotensin II. *Am J Physiol* 1987; 252: F733-F742.
 43. Jackson NM, Chen-Hsing H, Visscher GE, Venkatachlam MA, Hames HD. Alterations in renal structure and function in a rat model of cyclosporine nephrotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 242: 749-756.
 44. Auch-Schwelk W, Bossaller C, Gotze S, Thelen J, Fleck E. Endothelial and vascular smooth muscle function after chronic treatment with cyclosporin A. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 21: 435-440.
 45. Textor SC, Smith-Powell L, Telles T. Altered pressor responses to NE and ANG II during cyclosporin A administration to conscious rats. *Am J Physiol* 1990; 258: H854-H860.
 46. Tavares P, Reis F, Fontes-Ribeiro CA, Teixeira F. Efeitos cardiovasculares da ciclosporina a num modelo animal experimental. *Rev Port Cardiol* 2002; 21(2): 141-155.
 47. Santiago M, Reis F, Almeida L, Alcobia T, Dionísio J, Teixeira F. Impaired arterial and platelet nitric oxide and cyclic guanosine-3',5'-monophosphate content in cyclosporin A-induced hypertensive rats. *Fund Clin Pharmacol* 2003; 17: 43-50.
 48. Kim HS, Kim D, Kang SW, Choi KH., Lee HY, Han DS, Lee YH, Kang BS L-Arginine restores suppressed acetylcholine-induced endothelium-dependent vascular relaxation in cyclosporin A-treated rats. *Transplant Proc* 1996; 28(3): 1372-1374.
 49. Mathieu P, Carrier M, Dupuis J, Ryan J, Pelletier LC. L-Arginine prevents cyclosporin A-induced pulmonary vascular dysfunction. *Ann Thorac Surg* 1997; 64: 414-420.
 50. Oriji GK, Keiser HR. Role of nitric oxide in cyclosporin A-induced hypertension. *Hypertension* 1998; 32: 849-855.
 51. Oriji GK, Keiser HR. Nitric oxide in cyclosporin A-induced hypertension: role of protein kinase C. *Am J Hypertens* 1999; 12: 1091-1097.
 52. Lee J, Kim SW, Kook H, Kang DG, Kim NH, Choi KC. Effects of L-arginine on cyclosporin-induced alterations of vascular NO/cGMP generation. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2634-2638.
 53. Akita K, Dusting GJ, Hickey H. Suppression of nitric oxide production by cyclosporin A and FK506 in rat vascular smooth muscle cells. *Clin Exp Pharmacol* 1994; 21: 231-233.
 54. Marumo T, Nakaki T, Hishikawa K, Suzuki H, Kato R, Saruta T. Cyclosporin A inhibits nitric oxide synthase induction in vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1995; 25[Part 2]: 764-768.
 55. Vaziri ND, Ni Z, Zhang YP, Ruzics EP, Maleki P, Ding Y. Depressed renal and vascular nitric oxide synthase expression in cyclosporine-induced hypertension. *Kidney Int* 1998; 54(2): 482-491.
 56. O'Neil GS, Chester AH, Kushwaha S, Rose M, Tadjkarimi S, Yacoub MH. Cyclosporin treatment does not impair the release of nitric oxide in human coronary arteries. *Br Heart J* 1991; 66: 212-216.
 57. Bobadilla NA, Tapia E, Franco M, Lopez P, Mendoza S, Garcia-Torres R, Alvarado JA, Herrera-Acosta J. Role of nitric oxide in renal hemodynamic abnormalities of cyclosporin nephrotoxicity. *Kidney Int* 1994; 46: 773-779.
 58. Hansen JM, Johansen NJ, Mollerup HM, Anderson NF, Strandgaard S. Effects of nitric oxide blockade and cyclosporin A on cardio-

- vascular and renal function in normal man. *J Hypertens* 1999; 17: 1707-1713.
59. Assis SM, Monteiro JL, Seguro AC. L-arginine and allopurinol protect against cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 1997; 63(8): 1070-1073.
60. Stroses ES, Luscher TF, Groot FG, Koomans HA, Rabelink TJ. Cyclosporin A increases nitric oxide activity in vivo. *Hypertension* 1997; 29: 570-575.
61. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem Pharmacol* 1982; 126: 131-138.
62. Huang HC, Rego A, Vargas R, Foegh ML, Ramwell PW. Nitroprusside-induced vascular relaxation is attenuated in organ-transplanted animals treated with cyclosporine. *Transplant Proc* 1987; 19: 126-130.
63. Bodzenta-Lukaszyk A, Gabryelewicz A, Lukaszyk A, Bielawiec M, Konturek JW, Domschke W. Nitric oxide synthase inhibition and platelet function. *Thromb Res* 1994; 75(6): 667-672.
64. Berkels R, Stockklauser K, Rosen P, Rosen R. Current status of platelet NO synthase. *Thromb Res* 1997; 87(1): 51-55.
65. López-Ongil S, Saura M, Rodriguez-Puyol D, Rodriguez-Puyol M, Lamas S. Regulation of endothelial NO synthase expression by cyclosporin A in bovine aortic endothelial cells. *Am J Physiol* 1996; 271: H1072-H1078.
66. Gardener MP, Houghton DC, Andoh TF, Lindsley J, Bennett WM. Clinically relevant doses and blood levels produce experimental cyclosporine nephrotoxicity when combined with nitric oxide inhibition. *Transplantation* 1996; 61(10): 1506-1512.
67. Reis F, Santiago M, Almeida L, Alcobia T, Santos-Dias JD, Mesquita JF, Pontes F, Teixeira F. Isosorbide-5-mononitrate and L-arginine effect on the cyclosporin-induced arterial hypertension and vascular nitric oxide impairment. *Proc Eur Soc Microcirc* 2002; 257-261.
68. Yang CW, Kim YS, Kim J, Kim YO, Min SY, Choi EJ, Bang BK. Oral supplementation of L-arginine prevents chronic cyclosporine nephrotoxicity in rats. *Exp Nephrol* 1998; 6: 50-56.
69. Gunasekara NS, Noble S. Isosorbide 5-mononitrate. A review of a sustained-release formulation (Indur®) in stable pectoris angina pectoris. *Drugs* 1999; 57(2): 261-277.
70. Parker JD, Parker JO. Nitrate therapy for stable angina pectoris. *Drug Ther* 1998; 338(8): 520-531.
71. Hayes PC, Wesatby D, Williams R. Effect and mechanism of action of isosorbide-5-mononitrate. *Gut* 1988; 29: 752-755.
72. Strokes GS, Ryan M, Brnabic A, Nyberg G. A controlled study of the effects of isosorbide mononitrate on arterial blood pressure and pulse wave form in systolic hypertension. *J Hypertens* 1999; 17: 1767-1773.
73. Reis F, Almeida L, Alcobia T, Santos-Dias JD, Lourenço M, Palmeiro A, Ferrer-Antunes CA, Mesquita JF, Pontes F, Teixeira F. Isosorbide-5-mononitrate treatment prevents cyclosporin a-induced platelet hyperactivation and the underlying nitric oxide-cyclic guanosine-3',5'-nophosphate disturbances. *Thromb Res* 2003; 110: 107-115.
74. Reis F, Almeida L, Alcobia T, Santos-Dias JD, Mesquita JF, Ferrer-Antunes CA, Pontes F, Teixeira F. Isosorbide-5-mononitrate treatment prevents platelet hyperactivation induced by cyclosporin A. *Proc Eur Soc Microcirc* 2002; 305-309.
75. Wirthumer-Hoche C, Silberhauer K, Sinzinger H. Effect on nitroglycerin and other organic nitrates on the in-vitro biosynthesis of arachidonic acid-metabolites in washed human platelets. *Prostaglandin Leukot Med* 1984; 15: 317-323.
76. Sinzinger H, Virgolini I, O'Grady J, Rauscha F, Fitsch P. Modification of platelet function by isosorbide dinitrate in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 1992; 65: 323-335.
77. Gilmer JF, Moriarty LM, McCafferty DF, Clancy JM. Synthesis, hydrolysis kinetics and anti-platelet effects of isosorbide mononitrate derivatives of aspirin. *Eur J Pharm Sci* 2001; 14(3): 221-227.
78. Megson IL. Nitric oxide donor drugs. *Drug Fut* 2000; 25(7): 701-715.

Anúncio