



**XVI Reunião da Sociedade Portuguesa
de Hemorreologia e Microcirculação**

**“HEMORREOLOGIA, MICROCIRCULAÇÃO
E *STRESS* OXIDATIVO”**

**26 de Novembro de 2005
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra**

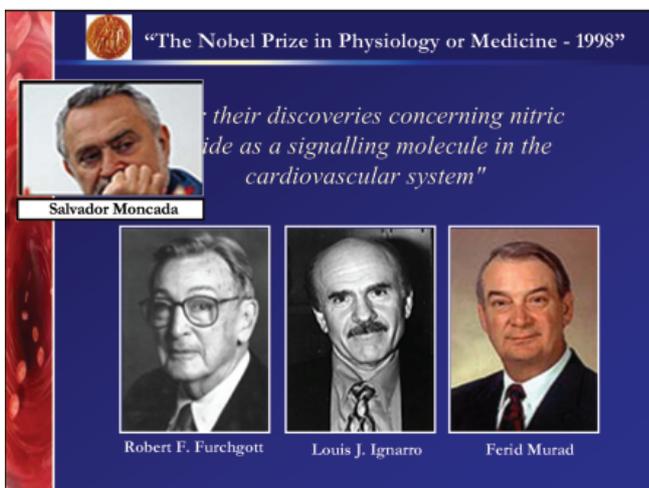
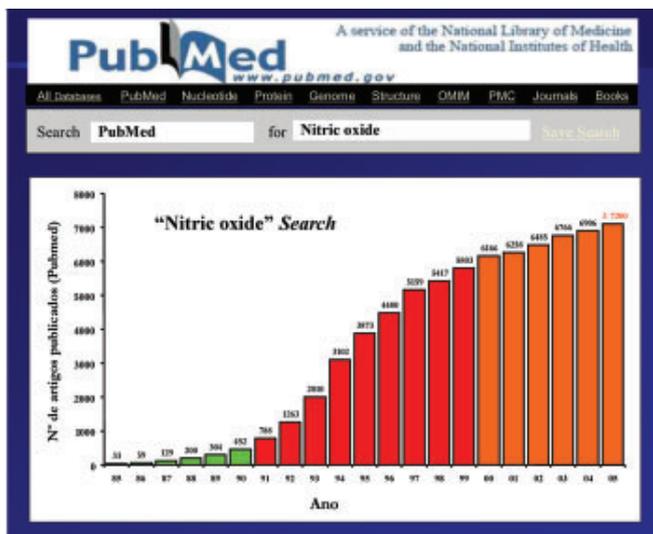


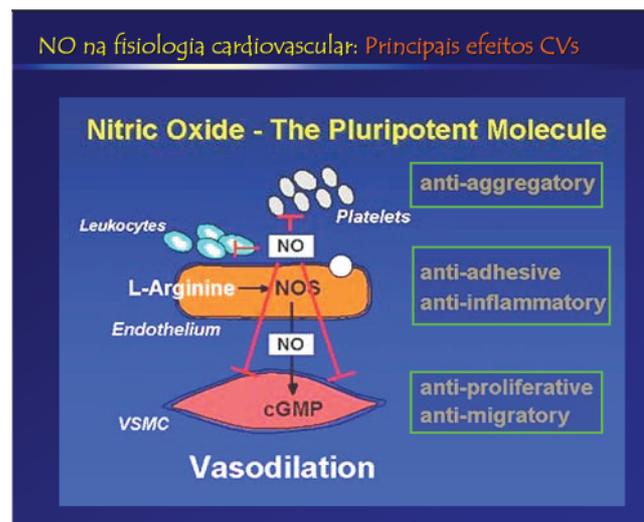
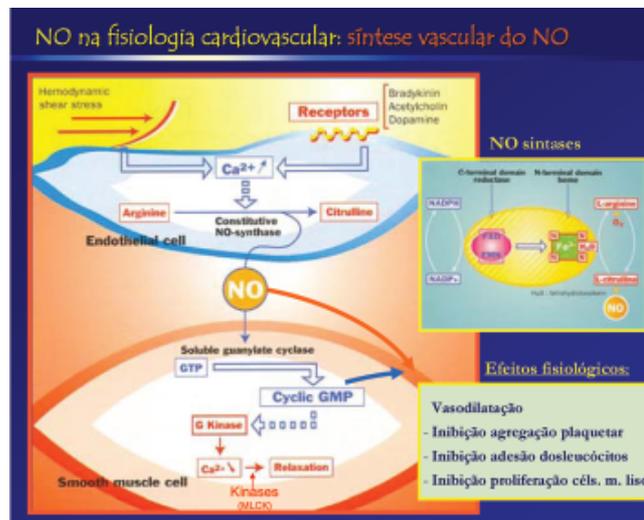
Flávio Reis

***Stress* oxidativo na tolerância aos nitratos:
mecanismos vasculares/plaquetares**

**Flávio Reis¹, Edite Teixeira de Lemos^{1,2},
Petronila Rocha-Pereira^{3,4}, Alice Santos-Silva⁴,
Nuno Piloto¹, Sofia Baptista¹,
Carlos Costa-Almeida⁵, Frederico Teixeira¹**

¹Unidade de Terapêutica, Inst. Farmacologia e Terapêutica e ²Inst. Fisiologia,
Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra;
³ESAV, bolseiro PRODEP no IFTE, Faculdade de Medicina, U.C.;
⁴Departamento de Química, Universidade da Beira Interior, Covilhã;
⁵Faculdade de Farmácia e Instituto de Biologia Molecular e Celular, Univ. Porto.







Suplemento Exógeno de NO como Terapeuticamente Atractivo

L-arginina – Substrato da NOS

Compostos Dadores de NO –

<ul style="list-style-type: none"> Complexos metálicos de NO N-nitrosaminas S-nitrosotióis Compostos C-nitroso Óximas Hidroxilaminas 	<ul style="list-style-type: none"> Sidnoniminas N-hidroxi guanidinas Furoxanos Oxatriazol-5-iminas nitratos orgânicos
--	---

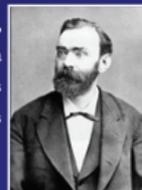
Nitratos orgânicos: A história da nitroglicerina (NTG)
(ou Gliceril Trinitrato: GTN)

Descoberta pelo Químico Italiano (Universidade Torino) **Ascanio Sobrero** (em 1847) à qual chamou “Pyroglycerin”:
“...extremamente perigosa, capaz de provocar violenta dor de cabeça e impossível de manusear”.

Estudada pelo Homeopata **Constantine Hering** (*Hahnemann Medical School*, Filadélfia) (em 1849), que a recomendou para a dor de cabeça (“Glonoine”).

Nitratos orgânicos: A história da nitroglicerina

Alfred Nobel, que trabalhava com explosivos na Suécia, testa (anos 60) uma forma de trabalhar com segurança a nitroglicerina, descobrindo após várias experiências explosivas a dinamite (do grego *dynamis*: poder), após juntar NTG e sílica, que patenteou em 1867.



Lauder Brunton, conhecido como o “pai da farmacologia moderna” (Royal Infirmary, Edimburgo), descobre em 1867 que a substância **amil nitrito** reduz a angina de peito e a pressão arterial.

Nitratos orgânicos: A história da nitroglicerina

Mas foi **William Murrell** (Westminster Hospital de Londres), que pela 1ª vez (em 1879) descreveu a **nitroglicerina como activa na angina de peito**.

Alfred Nobel, sofreu ele próprio de angina de peito e escreveu mais tarde a um amigo (dois meses antes de morrer em Dez 1896) quando lhe foi prescrita a nitroglicerina para a angina de peito, que recusou tomar: *“Isn't it the irony of fate that I have been prescribed by my doctor nitroglycerin, to be taken internally”*.

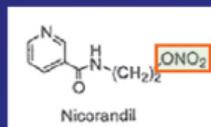
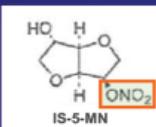
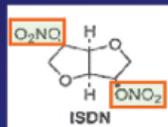
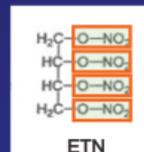
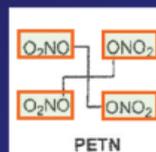
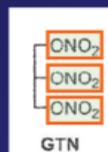
Só no **séc. XX (décadas de 70 e 80)** começou a ser descoberto o mecanismo de acção dos nitratos com as experiências de **Ferid Murad, Robert Furchgott, Louis Ignarro, Salvador Moncada**.
Os 3 primeiros foram Prémios Nobel em 1998.

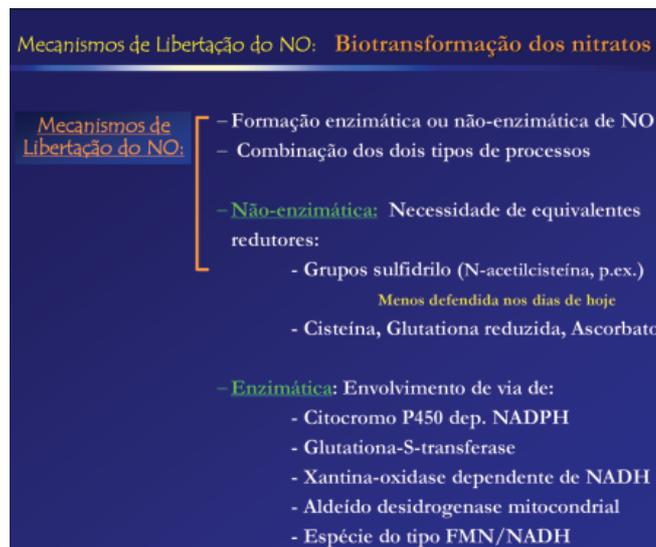
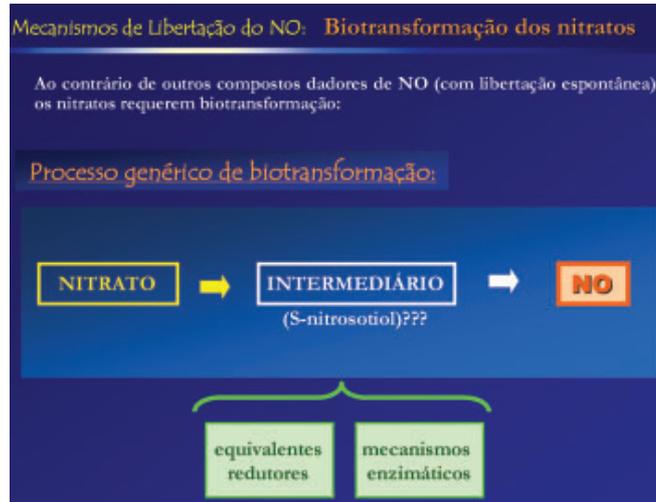
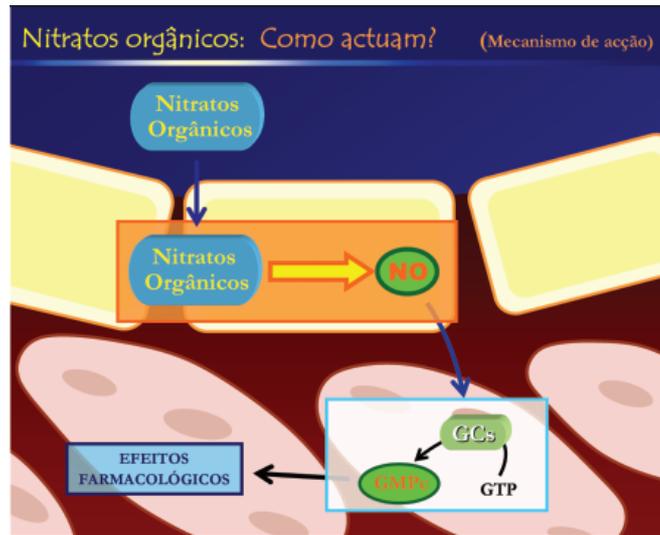
Nitratos orgânicos: Quem são?



Principais Nitratos Orgânicos:

- Gliceril trinitrato (GTN) ou nitroglicerina
- Pentaeritritol tetranitrato (PETN)
- Eritritil tetranitrato (ETN)
- Isossorbido Dinitrato (IsDn)
- Isossorbido 5-Mononitrato (Is-5-Mn)
- Nicorandil





Nitratos orgânicos: Quais os efeitos farmacológicos?

- ➡ Efeito a nível venoso predomina sobre o efeito a nível arterial
- Provoca **dilatação das veias** (reduz a pressão ventricular esq. e d^{ta} . e de fim da diástole → pré-carga)
- Promove menor **dilatação das artérias** (reduz a pressão arterial sistémica → pós-carga)
- Origina a **dilatação vasos largos do epicárdio** (aumenta oxigenação ao miocárdio isquémico).
- A redução da pré-carga **aumenta o gradiente de perfusão** ao longo da parede ventricular, favorecendo a perfusão do sub-endocárdio.
- Promove **inibição da actividade plaquetar**.

Nitratos orgânicos: Em que situações são aplicados?

Principais Aplicações Terapêuticas:

- Angina de peito
- Isquémia do miocárdio
- Atenuação da dor no enfarte agudo do miocárdio
- Melhoria de *performance* na insuficiência cardíaca congénita
- Controlo da pressão arterial

➡ São **seguros** (não têm efeitos secundários importantes)

Mas:

A tolerância aos Nitratos: Porquê/Como?

Tolerância: Redução/eliminação dos efeitos do nitrato (nomeadamente vasculares) após administração continuada

A **tolerância à nitroglicerina** foi pela 1ª vez documentada logo em 1888 por Stewart D.

Packer M (em 1990) escrevia relativamente ao mecanismo de tolerância aos nitratos:

“O mistério com 100 anos continua”

Packer M. 1990. What causes tolerance to nitroglycerin? The 100 year old mystery continues. *J. Am. Coll. Cardiol.* 16:932-35

A tolerância aos Nitratos: Mecanismos propostos?

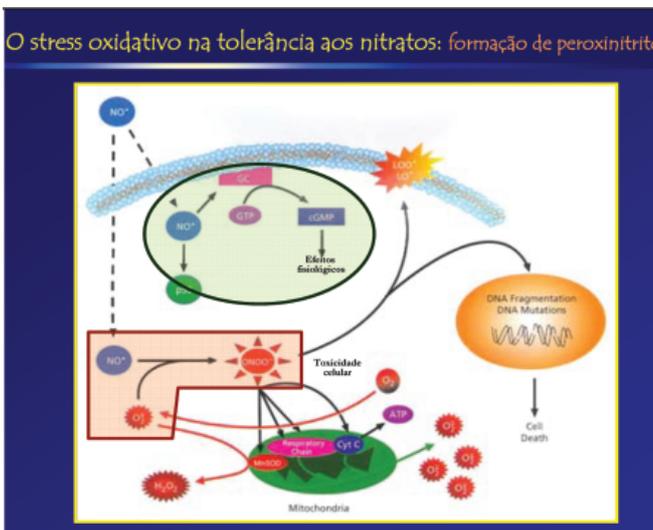
Mecanismos de Tolerância:

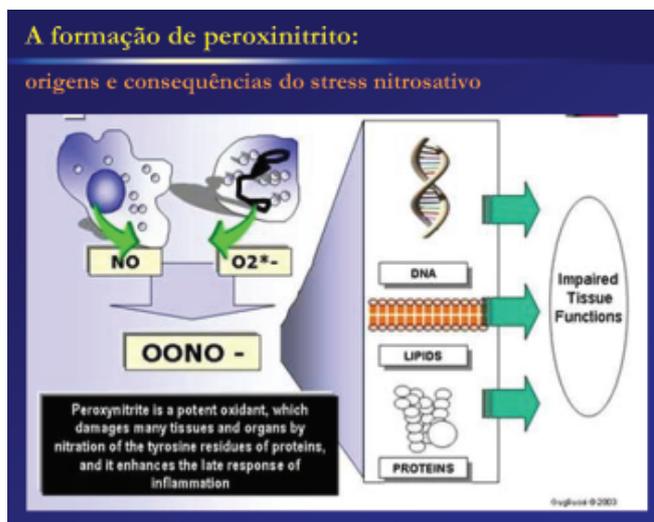
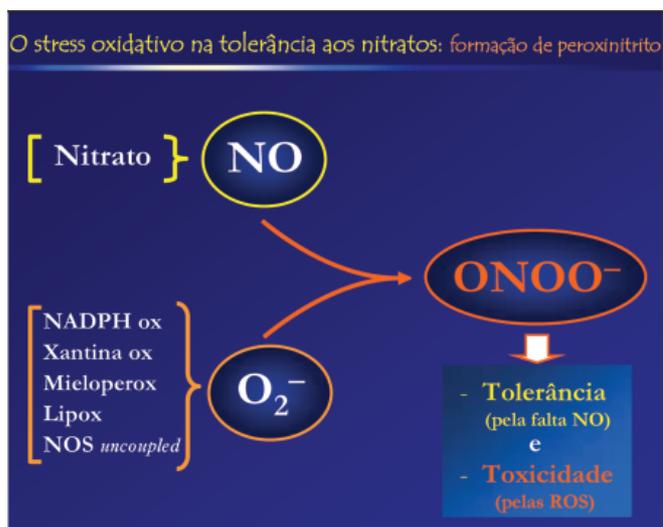
- **Mecanismos relacionados com biotransformação:**
 - Depleção dos grupos sulfidrilo (menos defendida hoje)
 - Inibição/regulação das enzimas da biotransformação
- **Mecanismos relacionados com seus efeitos fisiológicos:**
 - Redução produção NO ou aumento do seu consumo
 - Desensibilização das enzimas alvo (GCs)
 - Hiperactividade das PDEs (degradam o GMPc)
- **Mecanismos fisiológicos compensatórios:**
 - Activação SNS e libertação catecolaminas
 - Activação outros mecanismos constrictores (ET, ANGIII)
 - Expansão volume plasmático
- **Mecanismos relacionados com stress oxidativo:**
 - Geração de ROS (superóxido, peroxinitrito)
 - Redução antioxidantes (ác. ascórbico, vit. E, outros)

O stress oxidativo na tolerância aos nitratos: Evidências?

- Formação de ROS com a administração de nitratos
- Reduz/eliminação da tolerância com antioxidantes

<p>Dikalov S, Fink B, Skatchkov M, Sommer C, Bassegge E. Formation of reactive oxygen species in various vascular cells during glyceryl-trinitrate metabolism. <i>J Cardiovasc Pharmacol Ther.</i> 1998 Jan;3(1):51-62.</p>	<p>Fink B, Schwemmer M, Fink N, Bassegge E. Tolerance to nitrates with enhanced radical formation suppressed by carvedilol. <i>J Cardiovasc Pharmacol.</i> 1999 Dec;34(6):800-5.</p>
<p>Dikalov S, Fink B, Skatchkov M, Suflićević D, Bassegge E. Formation of reactive oxygen species by pentaerythritol tetranitrate and glyceryl trinitrate in vitro and development of nitrate tolerance. <i>J Pharmacol Exp Ther.</i> 1998 Aug;284(2):938-44.</p>	<p>Bassegge E, Fink N, Skatchkov M, Fink B. Dietary supplement with vitamin C prevents nitrate tolerance. <i>J Clin Invest.</i> 1998 Jul 1;102(1):67-71.</p>
<p>Bassegge E, Fink B. Tolerance to nitrates and simultaneous upregulation of platelet activity prevented by enhancing antioxidant state. <i>Nature</i> Schönlebergs Arch Pharmacol. 1996 Feb;353(3):563-7.</p>	<p>Watanabe H, Kakihana M, Ohtsuka S, Sugohata Y. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental vitamin E on attenuation of the development of nitrate tolerance. <i>J Cardiol.</i> 1998 Mar;31(3):173-81.</p>





Efeitos nefastos nos vasos e plaquetas

- Desequilíbrio da actividade vascular (equilíbrio relaxamento/contractão)
- Toxicidade vascular (lesão vascular e aterosclerose)
- Alteração da actividade plaquetar (adesão e agregação)
- Desequilíbrio vasoconstritor (TXA₂/PGI₂; COX e PGI₂-S)
- Alteração proliferação, migração, adesão de cél. m. liso, leucócitos, monócitos

Formação de peroxinitrito na tolerância aos nitratos: Evidências?

J Cardiovasc Pharmacol Ther. 1997; 2(2): 85-96.

Urinary nitrotyrosine content as a marker of peroxynitrite-induced tolerance to organic nitrates.

Skatchkov M, Larina LJ, Larin AA, Fink N, Bassenge E.

http://jcd.sagepub.com
The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics
Copyright © 2009 by The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics
JPEP 20(1) 1-10, 2009

Vascular Peroxynitrite Formation during Organic Nitrate Tolerance¹

MICHAEL JOHN MIRM, CHRISTEN MARIE COYLE, LIANG JING, and JOHN ANTHONY BAUER
Division of Pharmacology, College of Pharmacy, The Ohio State University, Columbus, Ohio
Accepted for publication June 18, 2009 This paper is available online at <http://www.jpep.org>

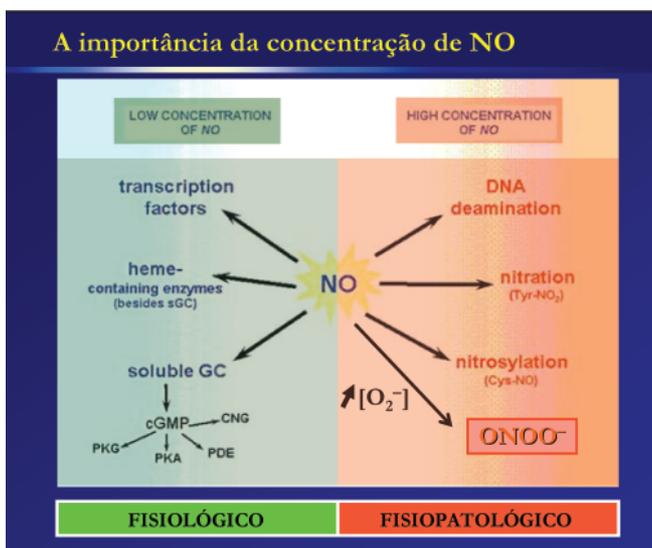
A dupla face dos Dadores de NO

EFEITOS
CVs BENÉFICOS

TOLERÂNCIA
+
EF. NEFASTOS

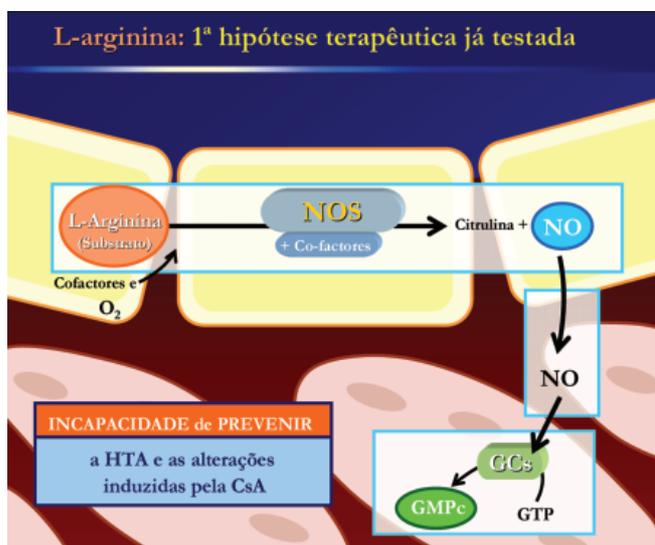
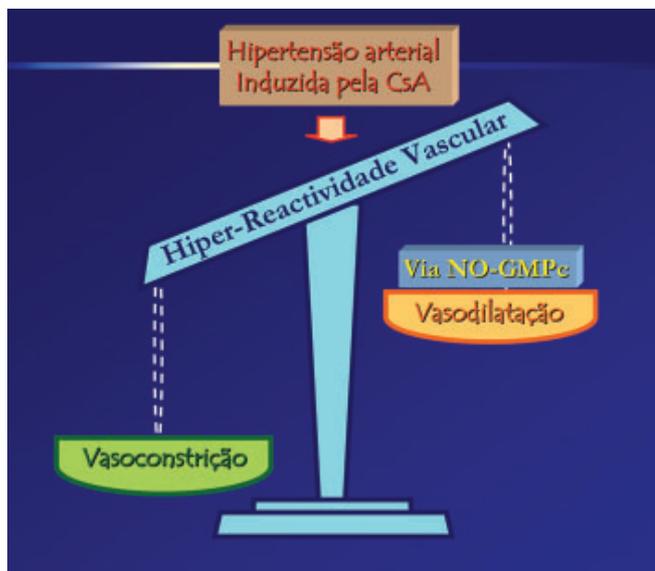
 **Atenção às condições nas quais são empregue os nitratos, designadamente:**

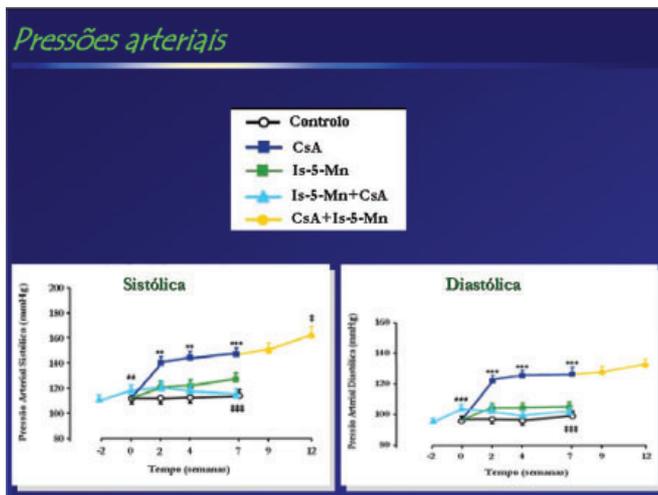
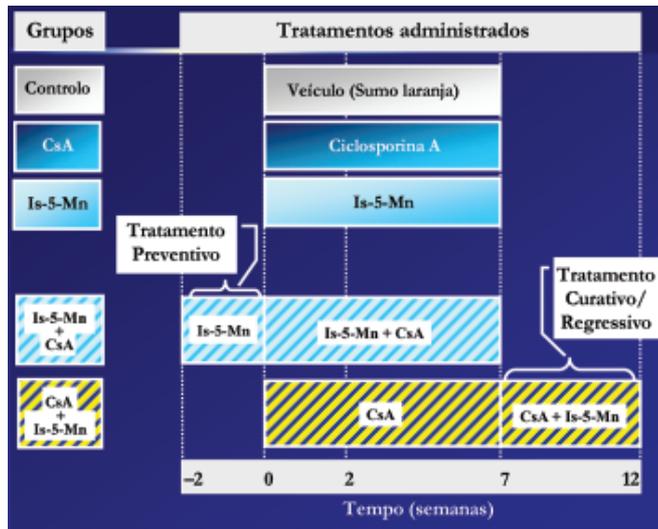
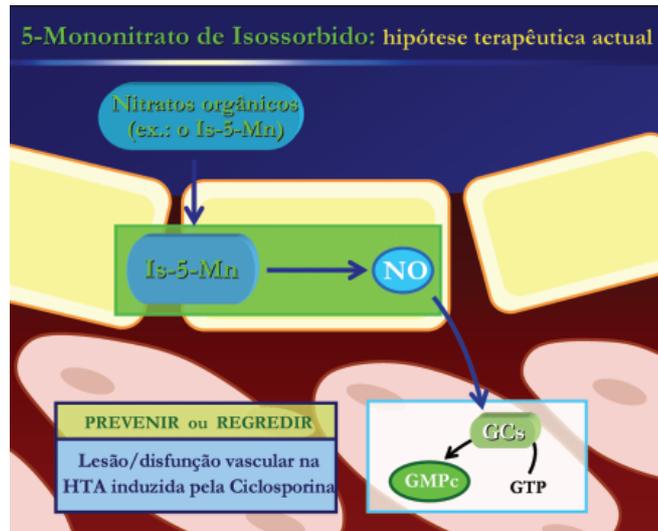
- a quantidade de NO presente no meio celular
- o ambiente celular e molecular encontrado pelo NO

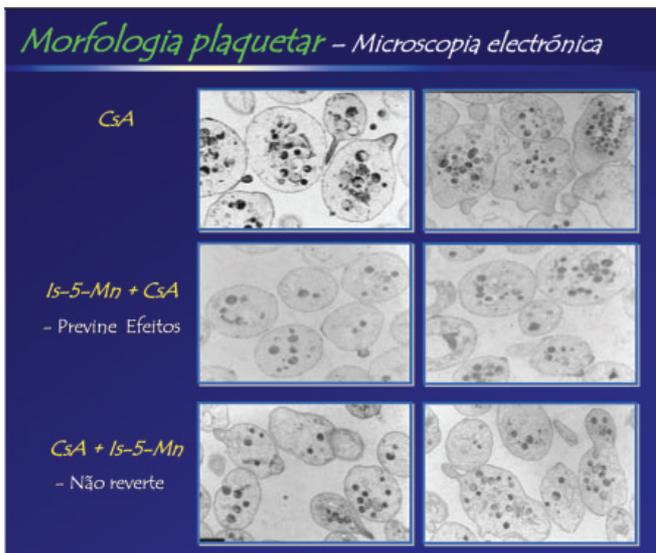
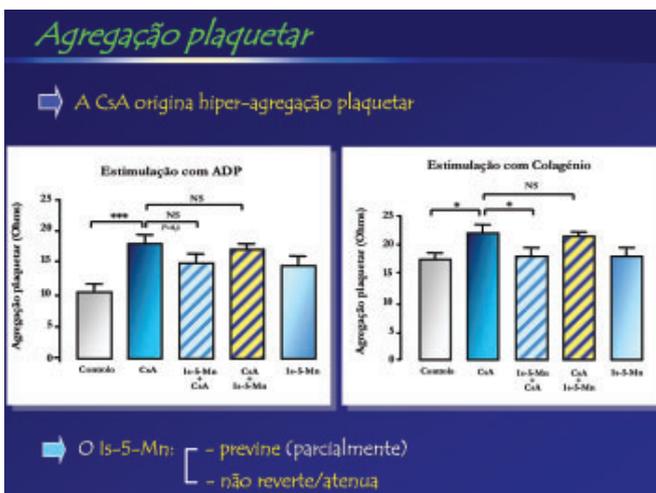
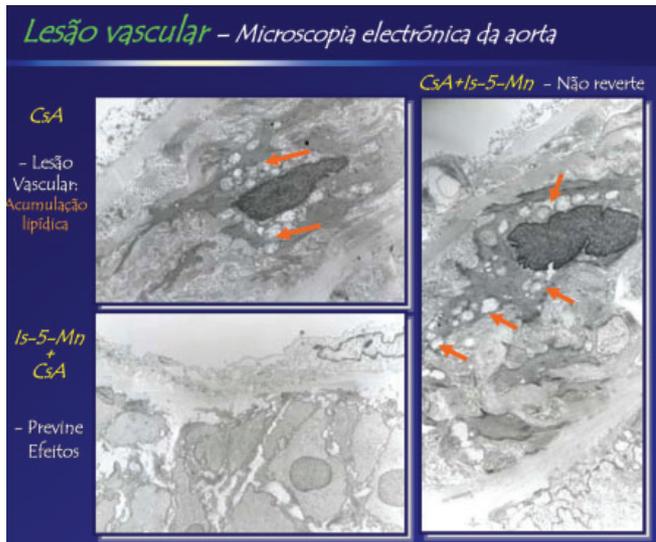


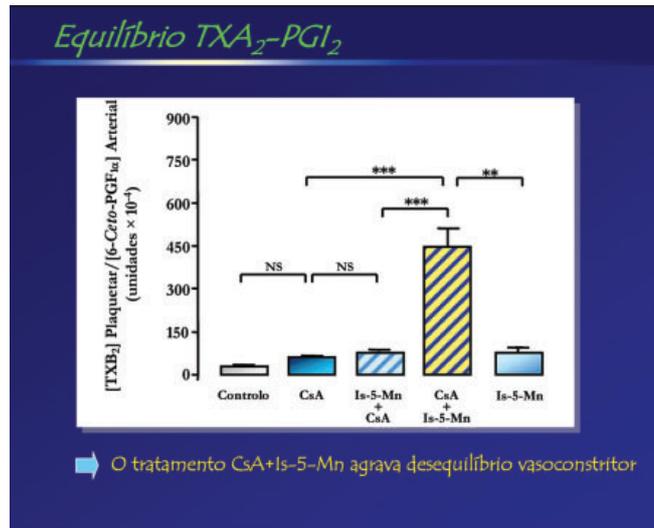
Um exemplo experimental de tratamento com um nitratos com efeitos benéficos ou nefastos, dependendo das condições da sua utilização

A prevenção/regressão da HTA induzida pela CsA com um dador orgânico de NO, o 5-Mononitrato de Isossorbído







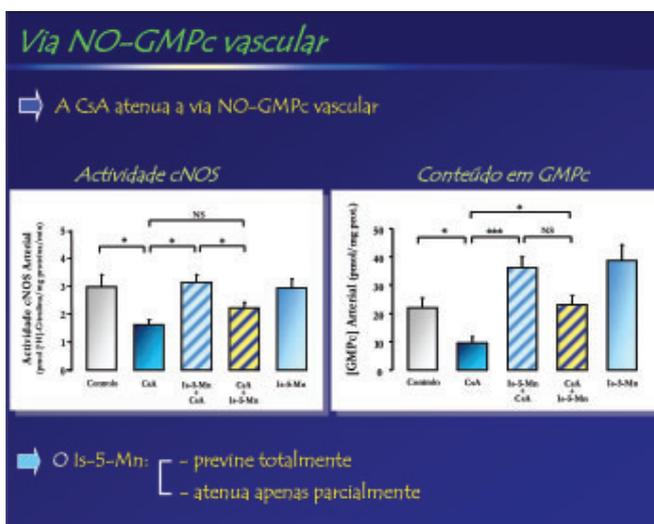


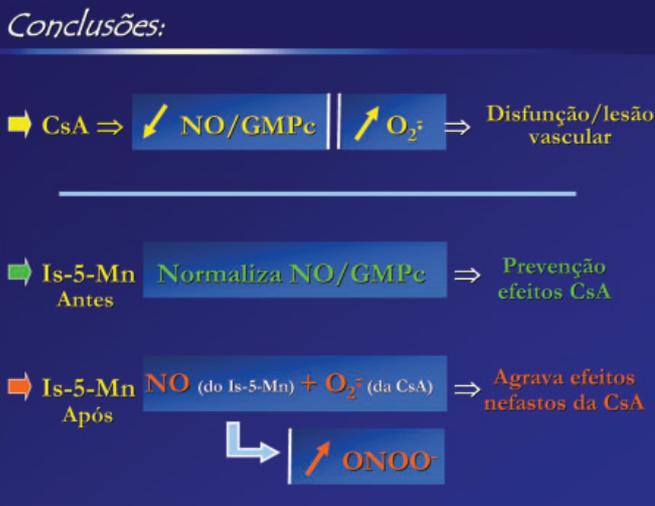
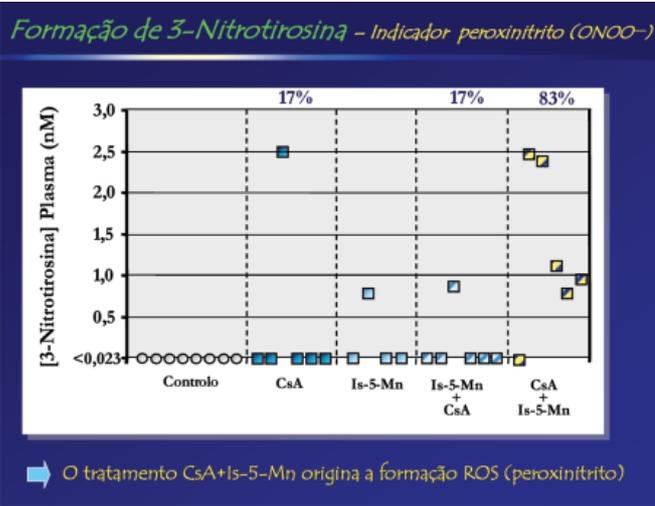
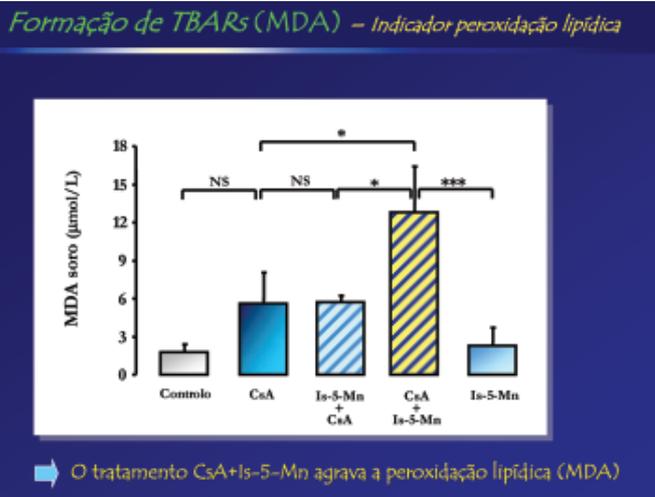
O tratamento com o nitrato (Is-5-Mn):

- Previnde modificações induzidas pela CsA
- Não reverte (agravando mesmo) os efeitos nefastos da CsA

Porquê ?

Prevenção ou agravamento da GERAÇÃO DE RADICAIS LIVRES







Questão que se mantém pertinente:

Será seguro usar os nitratos orgânicos?...
...ou os seus efeitos nefastos prevalecem
sobre os benéficos?



A dupla face dos Dadores de NO

Estratégias para prevenir/atenuar a tolerância aos nitratos:

- **Medidas de controlo da concentração de nitrato:**
 - Administração de doses criteriosamente escolhidas e controladas
 - Regimes posológicos que assegurem o “*período livre de fármaco*”
- **Intervenções farmacológicas :**
 - Prevenir desacoplamento actividade NOS/GCs:
 - L-arginina, folatos
 - Activadores GCs, Inibidores PDEs
 - Prevenir redução da biotransformação: compostos com grupos tiol
 - Prevenir contra-regulação: Bloq. β , IECAs, diuréticos, bloq. Ca^{2+}
 - Compostos que reduzam formação ROS:
 - Antioxidantes (vit. C, vit. E, carvediol, etc)
 - IECAs ou inib. AT1;
 - Estatinas;
 - Inibidores NADPH oxidases (hidralazina, hiperpolarizantes)

Substituição dos nitratos por novos compostos:

- Outros dadores de NO com características distintas:
 - reduzida produção de ROS (PETN???)
 - maior eficácia e diferentes mecanismos (Nicorandil)
 - libertação directa (sidnoniminas: Molsidomina - SIN-1)
- Compostos híbridos (NO-Antiox; NO-AINEs)
- Outros

Mas: - Efeitos globais ainda não perfeitamente estudados

↓

- Comportamentos não totalmente previsíveis

