



CONSENSOS E CONTROVÉRSIAS DA DAC CRÔNICA

AINDA EXISTE INDICAÇÃO PARA OS NITRATOS?

André Avelino Steffens*, **Cíntia da Silva Medeiros****, **Cristina Echenique Silveira****

* **Chefe do Serviço de Cardiologia da Santa Casa de Pelotas**

* **Cardiologista da UFPel – Universidade Federal de Pelotas**

** **Residente de Clínica Médica – UFPel- Universidade Federal de Pelotas**

Endereço para Correspondência:

Rua Anchieta, 3220 – Centro – Pelotas - RS CEP: 96.015- 420

steffens.sul@terra.com.br

Introdução

O tratamento abrangente da angina crônica estável tem cinco aspectos: (1) identificação e tratamento das doenças associadas que possam precipitar ou piorar a angina; (2) redução dos fatores de risco coronarianos; (3) aplicação de métodos gerais e não farmacológicos, com uma atenção particular quanto a ajustes no estilo de vida; (4) tratamento farmacológico; e (5) revascularização por técnicas percutâneas ou pela cirurgia de revascularização miocárdica. Com frequência, é necessária a associação de vários destes aspectos.

Dentre as formas terapêuticas da doença arterial coronariana (DAC) crônica, é necessário o tratamento não farmacológico (exercícios, modificações dietéticas, métodos invasivos), medicações de proteção vascular (aspirina, clopidogrel, inibidores da enzima de conversão da angiotensina, estatinas) e medicamentos antianginosos (beta-bloqueadores, antagonistas dos canais de cálcio, nitratos e novos agentes, como ranolazine)¹.

Nas terapias clínicas, demonstrou-se que aspirina, estatinas, e inibidores da enzima conversora da angiotensina, reduzem a mortalidade e a morbidade em pacientes com DAC estável. Ainda, os betabloqueadores e os antagonistas do cálcio e nitratos mostraram melhorar os sintomas e o desempenho durante o exercício, embora estes últimos não reduzam a mortalidade^{2,3}.

Uso dos nitratos

Os nitratos foram os primeiros fármacos a serem utilizados clinicamente. No desenvolvimento inicial da droga, é notada participação de Brunton, que em 1867 demonstrou a eficácia clínica do nitrato de amilo no tratamento da insuficiência coronariana; e em 1879, William Murrel demonstrando a eficácia da nitroglicerina (NTG) em aliviar crises de angina. A NTG sob a forma de unguento, para a absorção transdérmica, foi introduzida em 1955, por Davis e Weissel, e a aplicação intravenosa do fármaco iniciou-se em 1969, com Christensson e col. Em 1982, foram introduzidos na clínica os adesivos de NTG transdérmicos⁴. Desde então, os nitratos tem sido a droga mais utilizada para o tratamento antianginoso.

As diretrizes brasileiras para tratamento da angina estável sugerem nitratos para tratar a crise de angina, sob forma sublingual ou spray (recomendação I-C), preparações de ação prolongada em pacientes sintomáticos, mesmo betabloqueados (recomendação I-B) e preparações de ação prolongada, como monoterapia na intolerância ao beta-bloqueio (recomendação II-B)⁵. Estas recomendações são semelhantes às norte-americanas, e questionam se o conceito de que pacientes com angina estável devam rotineiramente receber tratamento com nitratos de longa ação para melhorar sintomatologia. Os *guidelines* já consideram esta questão, e recomendam nitratos de curta ação ou um

antagonista dos canais de cálcio, como anlodipina, preferenciais aos mono ou dinitratos, quando pacientes se mantêm sintomáticos apesar do tratamento convencional usando beta-bloqueador, aspirina e estatina⁶. Ainda ressaltam que a combinação de nitratos e sildenafil pode causar hipotensão grave, prolongada e potencialmente ameaçadora à vida, sendo contra-indicada esta associação. As diretrizes europeias mantêm recomendações similares⁷.

Esta tendência de conduta se reflete no tratamento de pacientes com DAC estável em nosso país, mas os nitratos permanecem ainda amplamente utilizados, como comprovou Mansur et al, nos registros de centros de atendimento primário e terciário, constatando uso de nitratos em 48% e 55% dos pacientes, respectivamente⁸. Com dados mais recentes, Stein et al mostraram que 52% pacientes atendidos em ambulatório específico de cardiopatia isquêmica e 35% daqueles acompanhados em ambulatório de cardiologia geral recebiam nitratos⁹.

Entretanto, há poucos estudos comparativos entre drogas incluindo nitratos. Em meta-análise para comparar a eficácia e tolerância do tratamento de angina estável entre beta-bloqueadores, antagonistas de cálcio e nitratos de longa ação, foram incluídos 90 estudos com base de dados entre 1966 e 1997. Os resultados apontaram vantagem para os beta-bloqueadores em relação aos antagonistas de cálcio, porém poucos comparavam nitratos com as outras duas drogas, não permitindo firmar conclusões sobre sua eficácia relativa¹⁰.

Mecanismo de ação

A ação dos nitratos é relaxar a musculatura lisa vascular. Os efeitos vasodilatadores dos nitratos são evidentes tanto nos artérias sistêmicas (incluindo as coronárias) quanto nas veias; e em indivíduos normais como em pacientes com DAC. O predomínio da ação é na circulação venosa. O efeito venodilatador reduz a pré-carga ventricular, que, por sua vez, reduz a tensão parietal miocárdica e os requerimentos de oxigênio¹¹. Os nitratos aumentam a capacidade de exercício em pacientes com doença cardíaca isquêmica, através da redução da atividade mecânica cardíaca, do volume e do consumo de oxigênio, resultando na obtenção de maior carga de trabalho corporal total antes que o limiar anginoso seja atingido. Nestes pacientes, os nitratos melhoram a tolerância ao exercício e o tempo até a depressão do segmento ST durante os testes ergométricos. Estes efeitos podem ser potencializados pela associação com outros fármacos¹².

A NTG causa a dilatação das coronárias com estenoses epicárdicas, por relaxamento da musculatura lisa na parede que não está comprometida pela placa. Mesmo em pequenos aumentos do lúmen arterial estreitado podem resultar em redução exponencial na resistência ao fluxo sanguíneo através das regiões obstruídas¹³.

O alívio na vasoconstrição exerce um efeito benéfico proporcional à redução prévia da reserva de fluxo coronariano¹⁴.

Assim, a NTG causa uma redistribuição do fluxo sanguíneo das áreas normalmente perfundidas para as áreas isquêmicas, particularmente no subendocárdio¹⁵, melhorando o fluxo sanguíneo colateral e reduzindo a pressão diastólica ventricular. Há redução da resistência vascular coronariana no miocárdio viável com isquemia, aumentando o fluxo para áreas de perfusão reduzida, com pouca ou nenhuma modificação na perfusão miocárdica global¹⁶.

Os nitratos possuem a capacidade de causar vasodilatação independente do endotélio estar intacto. Após penetrar na célula do músculo liso vascular, os nitratos são convertidos a reativos ou S-nitrosotióis, que ativam a guanilato ciclase intracelular para produzir monofosfato cíclico de guanosina¹⁷ que, por sua vez, desencadeia o relaxamento do músculo liso.

Há evidências que a biotransformação da NTG ocorre via desidrogenase mitocondrial e a inibição desta enzima participa no desenvolvimento da tolerância¹⁸. Os grupos sulfidrílicos podem contribuir para este fenômeno¹⁸, tanto pela formação de óxido nítrico (NO) quanto pela estimulação da guanilato ciclase, e a vasodilatação induzida pela NTG pode ser intensificada pela administração prévia de N-acetilcisteína, um agente que aumenta a disponibilidade dos grupos sulfidrílicos. Esta ação da N-acetilcisteína potencializa as respostas hemodinâmicas periféricas e o efeito vasodilatador coronariano da nitroglicerina¹⁹, e reverte a tolerância parcial desta ação.

Novas evidências

Algumas questões ainda permanecem não completamente esclarecidas: como funcionam os nitratos? Por que os nitratos param de funcionar com o uso contínuo? Quais os efeitos da terapia a longo prazo nos desfechos clínicos?

A utilização de nitratos é tão efetiva via sub-lingual, que o uso de uma dose sem alívio dos sintomas já pode ser recomendação de contato com serviços de emergência²⁰. Porém, enquanto em quadros agudos têm efetividade indiscutível, sua eficácia a longo prazo é substancialmente limitada devido ao desenvolvimento de tolerância²¹, que têm significância prognóstica em pacientes com DAC²², assim como indução à disfunção endotelial. Caramori et al. realizaram importante experimento com quinze pacientes portadores de semelhantes fatores de risco para disfunção endotelial, alocados aleatoriamente e tratados com NTG transdérmica ou sem terapia, por cinco dias. Após foi infundido acetilcolina intracoronariana e avaliado o diâmetro luminal da arterial descendente anterior esquerda. A preparação transdérmica foi retirada após 3 horas, e o procedimento repetido. Foi observada marcada resposta vasoconstritora no grupo NTG em ambas avaliações. O estudo demonstrou que a terapia com NTG causa resposta vasomotora anormal à acetilcolina, que é endotélio dependente, mesmo horas após sua descontinuação²³. Outro estudo com similar metodologia que incluiu 20 pacientes foi publicado a seguir, demonstrando que a retirada da NTG aumenta a resposta vasomotora, sugerindo fenômeno de rebote²⁴.

Os nitratos orgânicos necessitam sofrer bioativação intracelular para que produzam vasodilatação. Sabe-se há mais de uma década, que o tratamento de animais com adesivos de NTG causava tolerância e disfunção endotelial (fenômeno de tolerância cruzada) e que este fenômeno estava ligado à capacidade da NTG de estimular a produção de espécies reativas de oxigênio (NOS) no tecido vascular²⁵. As oxidases vasculares, nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase hidrogenase (NADPH)²⁶ e NO-sintetase²⁷ foram identificados como fontes potenciais de superóxido. Acreditava-se que este conceito se estenderia a todos os nitratos [NTG, tetranitrato de pentaeril (PETN), dinitrato de isossorbida (DNIS) e mononitrato (MNIS)], que seriam bioativados pelas

mesmas enzimas. Esta visão vêm sendo modificada ao longo dos anos.

Com a descoberta de que a enzima aldeído desidrogenase mitocondrial (ALDH-2) estaria envolvida no processo metabólico da transformação de NTG em NO ficou demonstrado que o estresse oxidativo dentro da mitocôndria causava inativação desta enzima, e que este seria o mecanismo chave na biotransformação da NTG durante tratamento prolongado de células em cultura, de animais e, posteriormente, de pacientes tratados com NTG^{28,29}.

Há evidências que existam pelo menos duas vias diferentes para a ativação dos nitratos orgânicos. A via de alta afinidade, bioativada pela ALDH-2 e metabolizando nitratos com alto poder de relaxamento vascular (NTG, PETN); e a via de baixa afinidade, operante naqueles com menor capacidade de relaxamento vascular (MNIS, DNIS). Estas vias determinam diferentes graus de desenvolvimento de tolerância³⁰.

Além disso, a inibição da ALDH-2 em knockout ou por inibidores, entretanto, não previne completamente a capacidade de induzir vasodilatação pela NTG ou PETN, sugerindo que outras enzimas também estão certamente envolvidas na bioativação da NTG³¹.

Ainda, a incubação de mitocôndria isolada com NTG aumenta marcadamente a produção mitocondrial de superóxido, enquanto que a incubação com MNIS não o faz. Dessa forma, é plausível que NTG e PETN sofram biotransformação por vias enzimáticas distintas das envolvidas com o MNIS. Esta observação é importante, desde que ambos, tolerância e tolerância cruzada aos vasodilatadores endotélio-dependentes têm sido recentemente ligadas à capacidade da NTG de estimular a formação mitocondrial de superóxido³².

No desenvolvimento dos conceitos emanados destes experimentos, novas descobertas surgiram recentemente. Estudos sugerem que a inibição da ROS-induzida do ALDH-2 contribui para a tolerância em modelos animais. Os efeitos da NTG são rapidamente diminuídos pelo desenvolvimento de tolerância, um fenômeno associado com o aumento da formação de ROS. Hink et al testaram a hipótese de que um inibidor da NTG bioativado pela enzima ALDH-2 contribuiria para a tolerância de NTG em vasos humanos. Foram então, retirados segmentos de artéria mamária e veia safena durante cirurgia de revascularização miocárdica, e examinados quanto a resposta à acetilcolina. Os pacientes tratados previamente com nitrato mostraram tolerância a NTG e disfunção endotelial em artérias e veias. Os achados prévios até então apenas em animais, foram ampliados *in vivo* para humanos pioneiramente neste estudo, concluindo que NTG induz tolerância e disfunção endotelial nos vasos humanos, associado a inibição e *down-regulation* do ALDH-2 vascular³³.

Ainda, buscando determinar se 120 mg de MNIS tomado uma vez ao dia seria associado a evidência de disfunção endotelial e o efeito determinado pelo aumento de radicais livres, foram alocados 19 voluntários sadios, de forma aleatória e duplo-cega para terapia contra placebo. Após sete dias de tratamento, foi medida o fluxo sanguíneo no antebraço, em resposta a acetilcolina e a N-monometil-L-arginina (NMLA). Em outra parte do estudo, a resposta a acetilcolina foi medida durante infusão intra-arterial de vitamina C (24 mg/min) ou salina. Ao final, MNIS provocou piora na resposta à Ac e a NMLA quando comparada ao placebo. A vitamina C reverteu este processo, ao contrario da solução salina. Este estudo mostrou o papel decisivo dos ânions superóxido no estresse oxidativo no tecido vascular, resultando na disfunção endotelial causada pela terapia com MNIS, em humanos *in vivo*. Sugeriu que apesar de os nitratos induzirem anormalidades na resposta vasomotora dependente do endotélio, estas podem ser revertidas pelo efeito antioxidante da vitamina C³⁴. Dessa maneira, os resultados de Thomas et al.³⁴ estimulam uma pesquisa adicional para esclarecer quais outras- se existirem- enzimas estão envolvidas na bioativação do MNIS. Não é provável

que seja da mitocôndria porque o MNIS não é bioativado pela mitocôndria. Entre as enzimas produtoras de superóxido poderiam estar incluídas as xantina-oxidase, a NADPH-oxidase vascular, e também uma NO-sintetase não acoplada.

Outro estudo randomizado, paralelo, duplo cego, incluiu 37 jovens voluntários saudáveis selecionados em três grupos com tratamento, recebendo TNPE, NTG transdérmica, MNIS e o quarto sem tratamento. Após 24 horas, foi provocada isquemia de reperfusão, e o fluxo mediado pela vasodilatação endotélio-dependente foi verificado antes e após o mesmo. Foi aqui demonstrado importantes diferenças entre os nitratos orgânicos em sua capacidade de prevenir isquemia de reperfusão. Ambas NTG e TNPE tiveram efeito de pré-condicionamento, não observado em MNIS³⁵.

Finalizando, Fukatso et al realizaram experimento com células de endotélio aortico bovino, tratado por 2 a 3 dias com doadores de NO, incluindo NTG, observando que a produção basal de nitrato e nitrito (NOx) era diminuída. Esta redução era minimizada por intervalos livres da ação de doadores de NO. A adição de NADPH oxidase inibiu a apocinina, restaurando os níveis basais de NOx, que estavam diminuídos pela ação continua da NTG³⁶. Este estudo comprovou as alterações nas características e funções do endotélio pela ação prolongada dos doadores de NO. Sugeriu ainda que os inibidores da NADPH oxidase, pela prevenção da disfunção endotelial induzida pelo uso crônico destes doadores, possam representar uma potencial estratégia terapêutica que modifique o desenvolvimento de tolerância ao uso de nitratos³⁶.

Conclusão

O uso de nitrato de curta ação para a remissão de eventuais episódios de crises anginosas está bem estabelecido. Em relação

aos nitratos de longa ação porém, apenas a constatação de seu uso por várias décadas, obviamente não credencia sua atual utilização.

Atualmente há dados embasados em experimentos bioquímicos, *in vivo* em animais e, mais recentemente em humanos, que suportam as evidências de seus efeitos deletérios no endotélio vascular após o uso continuado.

Porém, até o momento, poucos estudos expressaram o efeito da terapia com nitratos no desfecho clínico de pacientes com DAC estável. Grandes estudos clínicos foram realizados apenas no período pós-infarto, e falharam em demonstrar um efeito significativo dos nitratos no desfecho clínico.

Os desfechos a curto prazo de pequenos estudos clínicos enfatizam a necessidade de estudos que avaliem os resultados a longo prazo do efeito da terapia com estes fármacos em pacientes com DAC estável. O efeito benéfico dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina e nifedipina de longa ação na associação com nitratos ainda necessitam consolidarem-se por maior evidência clínica. Novas drogas, como nicorandil demonstrou redução na mortalidade, mas a importância de suas propriedades sobre o óxido nítrico e seu efeito direto nos canais de potássio ainda deve ser melhor esclarecida.

Os nitratos orgânicos continuam sendo a única classe de agentes antianginosos que nunca foram testados em estudos de desfecho clínico de grande porte e por tempo prolongado. Com as descobertas dos últimos cinco anos, ficaram mais claros alguns de seus mecanismos de ação. Parece ter chegado o momento para o planejamento e execução de estudos deste tipo, apropriadamente desenhados.

Enquanto estes resultados são aguardados, o seu uso deve ser prudente e mais racional, restrito apenas a situações isoladas e específicas.

Referências Bibliográficas

1. Pocock, N. Long-term medical treatment of stable coronary disease. *Heart* 2007; 93: 1473-1477.
2. ISIS-4: a randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58,050 patients with suspected acute myocardial infarction. ISIS-4 (Fourth International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet*. 1995;345:669-85.
3. Six-month effects of early treatment with lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together withdrawn six weeks after acute myocardial infarction: the GISSI-3 trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico. *J Am Coll Cardiol*. 1996;27:337-44.
4. Batlouni M. Nitratos: Farmacologia clínica e aplicações terapêuticas. *Arq Bras Cardiol* 1986; 47: 363-77.
5. Diretriz de Doença Coronariana Crônica-Angina Estável. *Arq. Bras. Cardiol*. 2004; 83 suppl.2
6. Gibbons RJ, Abrams J, Chatterjee K, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with chronic stable angina- summary article: a report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Chronic Stable Angina). *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:159 –68.
7. Kim Fox et al .Guidelines on the management of stable pectoris: executive summary. *European Heart Journal* 2006; 27 (11): 1341- 1381.
8. Mansur AP, Gomes EP, Favarato D, Raineri A, Martins JR,

- Ramires JAF .Tratamento Medicamentoso da Doença Arterial Coronária Estável em Centros de Atendimento Primário e Terciário. *Arq Bras Cardiol* 1997; 69, (nº 3): 165- 168
9. Stein R, Alboim C, Campos C, Mello RB, Rosito GA, Polanczyk CA. Variabilidade entre Cardiologistas na Abordagem aos Pacientes em Prevenção Secundária da Cardiopatia Isquêmica *Arq Bras Cardiol* 2004; 83 (nº 3): 219- 222
10. Meta-analyses of Trials Comparing B-Blockers, Calcium Antagonists, and Nitrates for Stable Angina. Paul A Heidenreich et al. *JAMA* 1999; 281: 1927- 1936
11. Parker JD, Parker JO. Nitrate Therapy for Stable Angina Pectoris. *NEJM* 1998; 338: 520-531
12. Gori T, Parker JD. Nitrate Tolerance: A Unifying Hypothesis. *Circulation* 2002; 106:2510- 2513
13. Brown BG, Bolson E, Petersen RB, Pierce CD, Dodge HT. The mechanisms of nitroglycerin action: stenosis vasodilatation as a major component of the drug response. *Circulation* 1981; 64: 1089-1097.
14. Parker JO. Nitrates and angina pectoris. *Am J Cardiol*. 1993; 9:72(8):3C-6C
15. Bottcher M, Madsen MM, Randsbaek F, Refsgaard J, Dørup I, Sørensen K, Nielsen TT. Effect of oral nitroglycerin and cold stress on myocardial perfusion in areas subtended by stenosed and nonstenosed coronary arteries. *Am J Cardiol*. 2002; 1;89(9):1019-24
16. Fallen EL, Nahmias C, Scheffel A, Coates G, Beanlands R, Garnett ES. Redistribution of Myocardial Blood Flow With Topical Nitroglycerin in Patients With Coronary Artery Disease.

- Circulation 1995; 91:1381-1388.
17. Anderson TJ, et al. Nitric oxide and nitrovasodilators: Similarities, differences and possible interactions. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 555- 566
 18. Chen Z, Zhang J, Stamler JS. Identification of the enzymatic mechanism of nitroglycerin bioactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 8306-8311
 19. Winniford MD, Kennedy PL, Wells PJ, Hillis LD. Potentiation of nitroglycerin-induced coronary dilatation by N-acetylcysteine. *Circulation* 1986;73:138-142
 20. Long term medical treatment of stable coronary disease. Shavelle, David M. *BMJ Heart* 2007; 93: 1473- 1477
 21. Munzel T, Sayegh H, Freeman BA, Tarpey MM, Harrison DG. Evidence for enhanced vascular superoxide anion production in nitrate tolerance. A novel mechanism underlying tolerance and cross-tolerance. *J Clin Invest* 1995; 95:187-94.
 22. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:2673- 8.
 23. Caramori PR, Adelman AG, Azevedo ER, Newton GE, Parker AB, Parker JD. Therapy with nitroglycerin increases coronary vasoconstriction in response to acetylcholine. *J Am Coll Cardiol*, 1998; 32: 1969- 1974
 24. Azevedo ER, Schofield AM, Kelly S, Parker JD. Nitroglycerin withdrawal increases endothelium-dependent vasomotor response to acetylcholine. *J Am Coll Cardiol*, 2001; 37 (2): 505- 9
 25. Munzel T, Harrison DG. Evidence for a role of oxygen-derived free radicals and protein kinase C in nitrate tolerance. *J Mol Med* 1997; 75:891-900.
 26. Munzel T, Kurz S, Rajagopalan S, et al. Hydralazine prevents nitroglycerin tolerance by inhibiting activation of a membrane-bound NADH oxidase. *JACC* 2007; 49:1296 -8
 27. Munzel T, Li H, Mollnau H, et al. Effects of long-term nitroglycerin treatment on endothelial nitric oxide synthase (NOS III) gene expression, NOS III-mediated superoxide production, and vascular NO bioavailability. *Circ Res* 2000; 86: E7-12.
 28. Chen Z, Zhang J, Stamler JS. Identification of the enzymatic mechanism of nitroglycerin bioactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:8306-11.
 29. Sydow K, Daiber A, Oelze M, et al. Central role of mitochondrial aldehyde dehydrogenase and reactive oxygen species in nitroglycerin tolerance and cross-tolerance. *J Clin Invest* 2004; 113:482-9.
 30. Daiber A, Oelze M, Coldewey M, et al. Oxidative stress and mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity: a comparison of pentaerythritol tetranitrate with other organic nitrates. *Mol Pharmacol* 2004; 66:1372-82.
 31. Munzel T, Daiber A, Mulsch A. Explaining the phenomenon of nitrate tolerance. *Circ Res* 2005; 97:618-28.
 32. Daiber A, Oelze M, Sulyok S, et al. Heterozygous deficiency of manganese superoxide dismutase in mice (Mn-SOD): a novel approach to assess the role of oxidative stress for the development of nitrate tolerance. *Mol Pharmacol* 2005; 68:579 -88
 33. Hink U et al. Oxidative Inhibition of the Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenase Promotes Nitroglycerin Tolerance in Human Blood Vessels. *J Am Coll Cardiol*, 2007; 50:2226-2232
 34. Thomas GR, DiFabio JM, Gori T, Parker JD. Once daily therapy with isosorbide-5-mononitrate causes endothelial dysfunction in humans: evidence of a free-radical-mediated mechanism. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1289-95.
 35. Pentaerythritol Tetranitrate and Nitroglycerin, but not Isosorbide Mononitrate, Prevent Endothelial Dysfunction Induced by Ischemia and Reperfusion. Dragoni S et al. *Arterioscle. Vasc. Biol.* 2007; 27: 1955- 1959
 36. Fukatso A. Possible usefulness of apocyn, an NADPH oxidase inhibitor, for nitrate tolerance: prevention of NO donor-induced endothelial cell abnormalities. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: H790- H797