

RASSEGNA

Gli inibitori della fosfodiesterasi-5 nella patologia cardiopolmonare: dai rilievi sperimentali all'applicazione clinica

Marco Guazzi¹, Marco Vicenzi¹, Michele Samaja²

¹Unità Cardiopolmonare, Ospedale San Paolo, Università degli Studi, Milano, ²Istituto di Biochimica, Polo Universitario San Paolo, Milano

Key words:
Heart failure;
Pulmonary arterial
hypertension.

Phosphodiesterases are a class of proteins that primarily modulate intracellular levels of cyclic nucleotides such as cGMP and cAMP. Phosphodiesterase-5 (PDE5) is mainly involved in the smooth muscle cell cGMP inactivation. Chemical inhibition of PDE5 has recently become a valid therapeutic option of nitric oxide pathway potentiation via cell cGMP availability. More specifically, PDE5 inhibition appears successful for the treatment of idiopathic pulmonary arterial hypertension. Additional intriguing therapeutic properties are a protective effect on the myocardium through antihypertrophic and antiapoptotic mechanisms and on vascular function by improving endothelial responsiveness and tolerance to myocardial ischemia-reperfusion injury. These effects imply a potential usefulness in the treatment of coronary artery disease and heart failure.

Evidence currently available for considering PDE5 inhibition an additional therapeutic opportunity in cardiovascular disorders is provided.

(G Ital Cardiol 2009; 10 (11-12): 725-737)

© 2009 AIM Publishing Srl

Ricevuto il 3 giugno 2009;
nuova stesura il 17 luglio
2008; accettato il 18 luglio
2008.

Per la corrispondenza:

Prof. Marco Guazzi

Unità Cardiopolmonare
Ospedale San Paolo
Università degli Studi
Via A. di Rudini, 8
20142 Milano
E-mail:
marco.guazzi@unimi.it

In questa rassegna cercheremo di illustrare le proprietà farmacologiche degli inibitori della fosfodiesterasi-5 (PDE5), i meccanismi sottostanti e le potenziali applicazioni cliniche. Poiché la maggiore esperienza è stata acquisita con il sildenafil, ci si rifarà principalmente a questo composto per trarre deduzioni e tracciare prospettive.

Trattasi di un inibitore specifico dell'enzima PDE5, che va sotto il nome commerciale di Viagra e che è noto quale rimedio alla disfunzione erettile nell'uomo. Questo effetto si realizza grazie ad una potente influenza rilassante sulla muscolatura liscia del corpo cavernoso, dovuta al prolungamento dell'azione di cGMP. Il sildenafil non fu originariamente finalizzato al trattamento della disfunzione erettile, ma di questa proprietà ci si rese coscienti nel corso di un programma coordinato da Pfizer e rivolto alla terapia dell'angina pectoris mediante inibitore specifico della PDE5, da cui ci si attende un potenziamento del percorso molecolare che inizia dall'ossido nitrico (NO) e passa attraverso il cGMP. Le prove condotte in fase 1 all'inizio degli anni '90' mostrarono che il sildenafil ha una cinetica lineare, che rispetto a placebo il suo potere riduttivo pressorio è modesto (6-8 mmHg), che la sua emivita è relativamente breve. Si giunse a concludere per una conquista terapeutica non significativa rispetto ai nitrati di comune impiego. I tempi successivi, tuttavia, fecero capire che un potenziamento della via NO/cGMP,

inibendo l'attività fosfodiesterasica, poteva trovare utile impiego in patologie cardiovascolari diverse dall'angina pectoris.

Il nostro proposito è quello di offrire una rassegna delle circostanze cliniche in cui l'inibizione della PDE5 è o può essere di utilità, e di analizzare i meccanismi che ne stanno alla base.

Meccanismi basali

Segnali trasmessi dai nucleotidi ciclici

I nucleotidi ciclici, cioè cAMP e cGMP, sono importanti secondi messaggeri che regolano svariate funzioni in molti tipi di cellule. È crescente il numero di processi fisiologici in cui essi risultano coinvolti e dei substrati cellulari su cui agiscono.

I nucleotidi ciclici sono sintetizzati dai rispettivi nucleotidi trifosfati, vale a dire ATP e GTP, mediante reazioni catalizzate rispettivamente da adenilil ciclastasi e guanilil ciclastasi. L'adenilil ciclastasi è una proteina di membrana; la guanilil ciclastasi è una proteina citoplasmatica che è sotto il controllo di messaggeri a permeabilità transmembranale. La principale finalità di cAMP è l'attivazione della protein-chinasi A; il cGMP agisce attraverso la protein-chinasi G il cui compito è quello di ridurre i livelli intracellulari di Ca⁺⁺ e di attivare la respirazione mitocondriale. Gli effetti fisiologici di cGMP e cAMP si manifestano quando il loro li-

Chiave di Lettura

Ragionevoli certezze. L'inibizione della fosfodiesterasi-5 (PDE5) rappresenta una strategia terapeutica approvata per il trattamento dell'ipertensione polmonare idiopatica. Le basi fisiopatologiche su cui si fonda l'evidenza clinica sono: a) un difetto specifico della via dell'ossido nitrico, quale fattore chiave nella storia naturale della patologia e b) un'elevata espressione di PDE5 nel letto vascolare polmonare. L'esperienza maggiore accumulata in questo ambito riguarda l'uso di sildenafil di cui, in studi tanto multicentrici quanto di centro singolo, è emersa oltre all'elevata efficacia anche l'ottima tollerabilità.

Questioni aperte. Recentemente si è assistito ad un incremento progressivo del numero di studi condotti in forme di ipertensione polmonare di natura diversa, suggerendo che l'uso di inibitori della PDE5 possa essere esteso per l'appunto ad altre forme di ipertensione polmonare. Tra le tante, l'impatto maggiore dell'uso di questi farmaci potrebbe derivare dall'estenderne l'impiego ai pazienti con scompenso cardiaco e ipertensione polmonare secondaria. Infatti, osservazioni preliminari ottenute nel malato con insufficienza cardiaca hanno dato risalto all'efficacia dell'inibizione della PDE5 sulla vasomotilità polmonare. Un effetto documentabile sia a riposo sia durante sforzo massimale in assenza di effetto ipotensivo sistemico. A questo si aggiunge anche il miglioramento dello scambio dei gas e dell'efficienza ventilatoria da sforzo.

Le ipotesi. Studi sperimentali condotti nell'animale suggeriscono che, oltre ad un'azione favorevole sulla via dell'ossido nitrico e sul controllo endotelio-mediato del circolo capillare, questa classe di composti possa agire favorevolmente sulle proprietà biologiche del miocita; in particolare, modulando la risposta ipertrofica del ventricolo destro al sovraccarico pressorio. Queste osservazioni renderebbero peculiari le caratteristiche di questi composti nei confronti di altri farmaci approvati per l'uso nell'ipertensione polmonare. Se confermate nell'uomo, rappresentano un importante elemento a favore dell'impiego in numerose patologie cardiopolmonari in cui vi sia sviluppo di ipertrofia ed insufficienza cardiaca destra.

vello diviene 2-3 volte più grande rispetto al basale^{2,3}; pertanto, per l'uno e per l'altro nucleotide una rapida sintesi e una veloce inattivazione rendono la cellula prontamente responsiva a svariati stimoli.

Il processo di maggior interesse ai fini di questa rassegna è la vasodilatazione cGMP-mediata. Nella muscolatura liscia, il cGMP innesca reazioni a cascata i cui risultati finali sono calo della concentrazione intracellulare di Ca^{++} e rilassamento della muscolatura. La vasodilatazione cGMP-mediata non è correlata solo con il sistema nervoso autonomo, ma anche con l'integrità funzionale dell'endotelio vascolare⁴. Per queste ragioni, è facile pensare che la via NO/cGMP debba avere un ruolo primario nel controllo del tono vascolare e che la regolazione della liberazione intracellulare di Ca^{++} nella muscolatura liscia richieda un perfetto sinergismo fra NO e cGMP⁵.

Ossido nitrico e nitrati, modulatori di cGMP

La maggior parte dei segnali extracellulari è costituita da molecole idrofiliche che si legano a recettori situati sulla superficie delle cellule bersaglio; alcune molecole sono in-

vece idrofobiche e sufficientemente piccole da attraversare la membrana plasmatica della cellula e regolare l'attività di una proteina intracellulare. NO è un esempio tipico di questa seconda categoria di segnali extracellulari. L'effetto vasorilassante di NO è la ragione dell'attività antiangiogenica della nitroglicerina. La reazione cellulare da cui deriva NO è $arginina + NADPH + O_2 \rightarrow citrullina + NADP^+ + NO$, ed è catalizzata da NO-sintetasi. L'emivita di NO circolante è 5-10 s, trascorsi i quali NO viene convertito in nitriti e nitrati. È probabile che l'emoglobina sia in grado di convogliare NO ai tessuti ipossici con almeno due modalità: l'emoglobina deossigenata agisce quale enzima che facilita la conversione dei nitriti plasmatici in NO⁶; la liberazione di NO da S-nitrosoemoglobina eritrocitaria avviene più rapida a PO_2 bassa⁷. Entrambi i meccanismi accentuano la vasodilatazione NO-dipendente, specialmente quando l'apporto ematico ai tessuti sia ridotto. Un'altra frazione di NO viene prodotta nelle cellule dell'endotelio. Indipendentemente dalla provenienza, l'NO, quando entra nella cellula muscolare liscia, accelera la conversione di GTP in cGMP⁸. "Per le loro scoperte sull'ossido nitrico quale molecola segnale nell'apparato cardiovascolare", nel 1998 fu assegnato a Louis J. Ignarro, Robert F. Furchgott e Ferid Murad il premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina.

I nitrati, una sorgente di NO tuttora diffusamente utilizzata in clinica in ambito cardiovascolare, specialmente nell'angina pectoris, agiscono come vasodilatatori arteriosi e venosi⁹. La loro potenzialità terapeutica, tuttavia, trova ostacolo in una rapida induzione di tachifilassi¹⁰. Il fenomeno della tolleranza ai nitrati risultò noto fin dall'inizio del '900 quando, sviluppandosi l'industria della nitroglicerina e risultando gli addetti esposti ad elevati livelli di nitrati organici, si rese evidente la "Monday disease" e il "Sunday heart attack" per interruzione acuta degli effetti dei nitrati⁹. In aggiunta, le difficoltà di attuazione di un trattamento con NO o nitrati spinsero la ricerca verso altri sistemi con cui rendere più duratura la via iniziata dal segnale NO, senza dover ricorrere all'uso di nitrati.

Fosfodiesterasi

Il primo che definì il ruolo della PDE nel mantenimento dei livelli intracellulari di cAMP e cGMP fu Earl W. Sutherland¹⁰, vincitore del premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina nel 1971, "per le sue scoperte circa i meccanismi e l'azione degli ormoni". Le PDE idrolizzano il legame fosfodiesterico di cAMP e cGMP per formare gli inattivi 5'-AMP o 5'-GMP annullandone l'attività biologica. La regolazione degli enzimi che controllano la degradazione di cGMP è un punto centrale nel mantenimento di livelli appropriati di cAMP e cGMP nella cellula¹¹.

Nei tessuti dei mammiferi sono state identificate almeno 11 famiglie di PDE con varie selettività per cAMP o cGMP. All'interno di queste famiglie vengono espresse più di 40 isoforme quali prodotti di geni differenti o come prodotti dello stesso gene introducibile². Nei vertebrati, l'idrolisi di cGMP è specificamente compiuta da alcune delle PDE, mentre altre PDE sono enzimi a doppia specificità che idrolizzano tanto cAMP quanto cGMP. Le varie PDE mostrano analogia aminoacidica >65% e l'elevata conservazione nel dominio catalitico suggerisce che le PDE sono antecendenti alla divergenza evolutiva di eumetazoi dalle spugne di acqua dolce¹². Studi condotti sulla drosophila han-

no mostrato una stretta somiglianza in struttura e funzione fra le PDE umane e quelle della drosophila¹³, permettendo in tal modo che ricerche successive in ambito di transgenesi e di mutagenesi chiarissero i processi fisiologici fondamentali che sono sotto l'egida della PDE.

Fra le PDE, la PDE5, il bersaglio cellulare del sildenafil e di altri inibitori della PDE, è stata dettagliatamente caratterizzata. Il gene umano della PDE5 ha sede nel cromosoma 4 e comprende 23 esoni. Il promotore della PDE5 che precede questi esoni è inducibile ad opera di cGMP¹⁴.

Chimica degli inibitori della fosfodiesterasi

Il sildenafil, che va sotto il nome commerciale di Viagra, è entrato nel 1991 nei trial clinici come inibitore specifico della PDE5¹⁵. Metodi basati su risonanza magnetica nucleare sono stati elaborati per l'identificazione e la quantizzazione del sildenafil nelle sue varie formulazioni farmacologiche. Attualmente sono in uso due altri inibitori specifici della PDE: vardenafil (Levitra) e tadalafil (Cialis)¹⁶. L'anello centrale di PDE5 ricalca la struttura della purina base in cGMP e interagisce esclusivamente con la medesima sede catalitica PDE5 senza produrre alcun effetto sul suo dominio regolatorio.

Sono state descritte tre isoforme della PDE5: PDEA1, PDEA2 e PDEA3. Mentre le isoforme PDE5A1 e A2 sono diffusamente espresse in vari tessuti, l'isoforma A3 è limitata ai tessuti con una componente muscolare liscia o muscolare cardiaca. Le tre isoforme esercitano simili attività catalitiche su cGMP con K_M di 6.2, 5.75 e 6.06 mM, rispettivamente.

Onde conoscere l'interazione fra PDE5 e inibitori della PDE, le tre strutture dimensionali della sede catalitica dell'enzima sono state disegnate usando cristallografia a raggi X¹⁷. La sede catalitica della PDE5 comprende 3 subdomini elicoidali: una banda elicoidale terminale C, una regione legante ad un dominio terminale N. Gli inibitori della PDE5 si legano alla sede catalitica con una stechiometria di una mole di inibitore per subunità di PDE5. La sede attiva della PDE5 viene raggiunta attraverso una fessura di 1 nm situata entro una tasca di 33 nm contenente 4 subdomini. Questi includono una regione "metal-binding" (sede M), una tasca centrale (tasca Q) e due altre regioni meno intimamente coinvolte nel legame con PDE5 da parte di sildenafil e vardenafil: una tasca idrofobica (tasca H) e un coperchio (regione L). Gli inibitori della PDE5 si legano alla sede catalitica con avidità 1000 volte più grande di quanto non faccia cGMP, possibilmente perché sono molecole grandi con interazioni più estese con gli aminoacidi della tasca Q.

I tre inibitori della PDE hanno meccanismi d'azione simili, ma non identici. Nonostante la stretta somiglianza strutturale, il vardenafil ha un'azione inibitoria su PDE5 32 volte più potente di quella del sildenafil; ciò è dovuto a differenze nei loro anelli eterociclici che influenzano la reattività con Tyr⁶¹²¹⁸. Nella PDE5, Gln⁸¹⁷ è una determinante positiva dell'affinità della PDE5 per cGMP e svariati inibitori, mentre Gln⁷⁷⁵, che possibilmente limita la rotazione della catena laterale di Gln⁸¹⁷, è essenziale per l'affinità con cGMP, ma non ha apprezzabile effetto sull'affinità per cAMP, sildenafil, o vardenafil¹⁹. Analisi mutageniche e cinetiche confermano che l'ansa H è particolarmente importante per il riconoscimento del substrato e che Gly⁶⁵⁹, che immediatamente precede l'ansa H, è fondamentale per

un'ottima affinità con il substrato e per l'attività catalitica²⁰. I 46 aminoacidi N-terminali nel dominio GAF-B sono necessari per la più elevata attività di vardenafil rispetto a sildenafil e sono coinvolti nella dimerizzazione della PDE5²¹. Ancora, vardenafil, ma non sildenafil o tadalafil, influenza nell'aorta del ratto il meccanismo della vasodilatazione agendo sul metabolismo del Ca⁺⁺ oltre che incrementando i livelli di cGMP²².

La selettività dei tre inibitori della PDE su altre famiglie di PDE è variabile. Per esempio, il sildenafil, nonostante sia altamente selettivo per PDE5, presenta un lieve grado di reattività crociata con PDE6, che è la forma predominante nei fotorecettori, dando una spiegazione del disturbo transitorio nella visione dei colori in persone che assumano sildenafil. Un'altra reattività crociata nota è quella con PDE11, il membro della superfamiglia delle PDE di più recente scoperta, che sembra essere la PDE più suscettibile in quanto a reazione crociata ad opera degli inibitori della PDE. Per questo ci si è chiesti se non stia qui la ragione di mialgie e lombalgie che possono comparire quali effetti collaterali in chi assume tadalafil. Nell'uomo vi sono 4 varianti di PDE11. Su di essa si sta polarizzando la ricerca circa un possibile ruolo nel trattamento di diverse malattie, quali asma, vasculopatia acuta cerebrale, cancro, ipertensione polmonare e altre^{2,23}. Tuttavia, risulta improbabile che qualcuno dei tre inibitori della PDE reagisca nell'uomo con PDE11 A4²³.

Farmacocinetica

Il sildenafil ha un rapido inizio d'azione e un'emivita di 4h²⁴⁻²⁶. Inizialmente, in base all'emivita plasmatica, la durata d'azione fu stimata intorno alle 4-6h; tuttavia, a una valutazione empirica, l'effetto sembrerebbe durare fino a 12h²⁷. I risultati di numerosi studi rassicurano che i preparati di più comune impiego clinico non alterano significativamente la farmacocinetica del sildenafil. Pertanto, il farmaco può essere somministrato insieme ad un'ampia varietà di altri composti, è ben tollerato e non altera gli effetti fisiologici e biochimici della maggior parte dei preparati farmacologici.

Inibizione della fosfodiesterasi nel cuore

Miocardio

È abbastanza improbabile che il sildenafil eserciti sul cuore un'influenza inotropica diretta, dal momento che il livello cui è espressa PDE5A nella cellula miocardica è basso²⁸. L'inibizione della PDE5 induce solo un lieve calo pressorio e non ha effetti su volume minuto cardiaco e frazione di eiezione. Anche le influenze sul picco di velocità di flusso coronarico, lume coronarico, resistenza coronarica non sono significative. Il rapporto tra la riserva di flusso in coronarie con stenosi e quella in arterie di riferimento non è modificato dal sildenafil²⁹. Tuttavia, nonostante il livello di espressione sia basso, PDE5A può esercitare una potente regolazione locale dello stimolo adrenergico. Per esempio, l'inibizione della PDE5A con sildenafil smussa le risposte sistoliche all'attivazione β -adrenergica. La funzione regolatoria della PDE5A nel cuore sotto l'influenza dello stimolo adrenergico è specificamente accoppiata con meccanismi dipendenti da NO-sintetasi³⁰.

Il sildenafil sopprime l'ipertrofia miocitaria e migliora *in vivo* la funzione del cuore nel topo reso iperteso mediante costrizione aortica. L'inibizione della PDE5A deattiva svariate vie di segnale di ipertrofia sollecitate da sovraccarico pressorio³¹, ma non sopprime l'ipertrofia indotta da iperespressione di calcineurina *in vitro* o di Akt *in vivo*, suggerendo che vi sia una finalizzazione a monte per queste vie³².

L'aumento del tasso di cGMP ad opera del sildenafil è cardioprotettivo, perché probabilmente agisce come regolatore post-recettoriale negativo della responsività cardiaca allo stimolo adrenergico, sempre che la funzione NO-sintetasi sia integra, essendo essa un prerequisito per l'azione del sildenafil³³.

Cardioprotezione, preconditionamento ischemico

È noto, fin dal 1986, che ripetuti brevi episodi di ischemia miocardica subletale non hanno effetti cumulativi in termini di danno metabolico³⁴. Successivamente, ci si accorse che tale procedimento può produrre un certo effetto protettivo sul cuore quando si alternino ischemia e ri-perfusione³⁵⁻³⁹; tale effetto è stato chiamato preconditionamento ischemico (PI). Il PI esercita due tipi di protezione: una forma classica che perdura circa 2h dopo l'ischemia preconditionante, seguita, nel giorno successivo, da una seconda finestra di protezione che persiste per almeno 3 giorni⁴⁰. Sono stati via via identificati agenti farmacologici che attivano le cascate di segnale ai vari livelli e mimano il PI, facendo così spuntare la speranza che possano essere individuati agenti specifici con cui riprodurre la protezione che si rende attiva con il PI. Il sildenafil ha mostrato di possedere proprietà simili al PI sul cuore di coniglio⁴¹, topo⁴² e ratto⁴³.

I meccanismi che sottostanno a questa azione del sildenafil sembrano essere più di uno e molto verosimilmente sono sinergici. Fra essi è compresa l'apertura di canali K⁺ ATP-dipendenti⁴¹. Forse un ruolo chiave è giocato dalla traslocazione precoce di proteinchinasi C alla frazione membranosa⁴⁴, che apre i suddetti canali⁴⁵ e previene la necrosi e l'apoptosi dei cardiomiociti⁴⁶. Il ruolo dell'apertura dei canali del K⁺ è stato confermato anche nell'uomo⁴⁷.

Si è visto che questo non è il solo meccanismo, poiché la protezione esercitata dal sildenafil nei confronti di necrosi e apoptosi risultava attenuata nel topo e nei miociti deprivati di NO-sintetasi, rendendo in tal modo evidente un ruolo critico del segnale NO⁴⁶. Il legame tra sildenafil e NO derivato da NO-sintetasi inducibile (iNOS) sembra suggestivo, poiché l'NO è stato riconosciuto essere un mediatore essenziale della seconda finestra di protezione⁴⁸. A conforto di questa possibilità sta il fatto che il sildenafil aumenta in maniera significativa l'mRNA di iNOS (+45% 2h dopo iniezione di sildenafil) e, in minor misura (+15% 1h dopo iniezione di sildenafil), l'mRNA di NO-sintetasi endoteliale (eNOS)⁴². Tali incrementi di mRNA alla fine si riflettono in più persistenti (24h) incrementi delle rispettive proteine⁴². Le due vie sono comunque congiunte, poiché l'aumento di NO può agire sull'apertura dei canali del K⁺ e sui livelli intracellulari di cGMP, attutendo gli effetti di ischemia-riperfusione sul rigonfiamento cellulare Ca⁺⁺-mediato e sull'apoptosi mitocondrio-mediata.

In ambito clinico, il sildenafil non riduce la capacità di esercizio nell'uomo con disfunzione erettile e angina cronica stabile⁴⁹ e molte fonti suggeriscono una sua potenzia-

le utilità nella protezione del miocardio ischemico e nel trattamento dell'ictus. Nei pazienti con malattia coronarica il sildenafil dilata i vasi epicardici, attenua la disfunzione endoteliale e interferisce con l'attivazione piastrinica⁵⁰. È ben tollerato ed efficace nella disfunzione erettile in soggetti con scompenso cardiaco cronico, e in essi migliora la capacità di esercizio. Il minor incremento di frequenza cardiaca durante esercizio per effetto del sildenafil potrebbe tener basso il consumo miocardico di ossigeno durante attività sessuale⁵¹. Le proprietà vasodilatatorie del sildenafil possono accompagnarsi con una diminuzione della pressione arteriosa sistemica e con attenuazione dell'onda di riflesso arteriosa⁵². L'inibizione acuta della PDE5 con sildenafil (25 e 50 mg) potenzia la vasodilatazione flusso-mediata in pazienti con scompenso⁵³, e questo effetto persiste per almeno 24h dopo l'ultima dose⁵⁴.

Polmone

Nell'ipertensione polmonare idiopatica, l'espressione genica della PDE5 è amplificata⁵⁵ e vari inibitori non specifici della PDE sono attivi nell'ipertensione arteriosa polmonare riducendo la resistenza vascolare¹⁵. Il sildenafil protegge contro l'ipertensione polmonare da alta quota, migliorando gli scambi gassosi, limitando l'ipossiemia da altitudine e il decremento della capacità da esercizio^{56,57}. L'inibizione della via della RhoA/Rho chinasi è uno dei modi con cui il sildenafil è attivo nell'ipertensione polmonare⁵⁸. Il farmaco esercita un'azione antiproliferativa sulle cellule muscolari lisce dell'albero arterioso polmonare⁵⁹, che si fonda su un'interazione fra l'attivazione della via della cGMP-proteinchinasi G e quella della cAMP-proteinchinasi A, dando luogo a blocco dell'attivazione della via ERK mediata dal fattore di crescita di derivazione piastrinica⁵⁹.

Inibizione della fosfodiesterasi-5 nell'ipossia

L'ipossia cronica, un'importante componente delle malattie cardiovascolari, coinvolge non meno di 750 000 pazienti l'anno negli Stati Uniti. L'ipossia è una condizione potenzialmente letale che trae origine da una disponibilità di ossigeno inferiore alla necessità. La risposta dei diversi organi all'ipossia varia in funzione della domanda, dell'apporto e dell'utilizzo⁶⁰. Nel miocardio, il cui metabolismo è strettamente dipendente dall'ossigeno, un livello elevato di ipossia aumenta in maniera sostanziale l'espressione di fattori di trascrizione ipossia-mediati, nonché quella di MAP chinasi, specialmente di p38 MAP chinasi. L'ipossia inoltre amplifica l'apoptosi⁶⁰. Nel tessuto cerebrale, entrambi questi effetti sono annullati da derivati dell'eritropoietina non eritropoietica; questo implica che un miglioramento della capacità di trasporto di ossigeno da parte del sangue è ininfluente nei confronti dell'ipossia⁶¹. È noto che gli inibitori della PDE5, invece, posseggono questa proprietà per esempio in circostanze quali l'ipertensione arteriosa polmonare primaria o quella da ipossia⁶², l'infarto miocardico susseguente a ischemia-riperfusione⁴². Quanto ai meccanismi molecolari sottostanti, sembra assai probabile che il sildenafil prevenga l'apoptosi indotta da ipossia nelle cellule miocardiche, tramite la via p38-ERK 1/2 e quella NO^{42,46,63}.

In ambito clinico, sono in corso studi riguardanti l'impiego di inibitori della PDE5 per prevenire e trattare l'edema polmonare da alta quota, nonché, in generale, per facilitare l'adattamento a condizioni di ipossia⁶⁴. È provato

che il sildenafil in certi soggetti aumenta il volume minuto cardiaco e la prestazione fisica durante ipossia acuta (e non in condizioni di normossia) grazie ad un consistente miglioramento della funzione cardiovascolare e della saturazione arteriosa in ossigeno.

Sviluppi clinici

È fuor di dubbio che il medico si trova di fronte ad una crescente e sempre più convincente prova che gli inibitori della PDE5 posseggono potenzialità terapeutiche differenti da quelle per cui furono originariamente posti in uso clinico, vale a dire la disfunzione erettile nell'uomo. Settori della patologia cardiovascolare in cui questi composti sembrano trovare utilità di impiego sono la malattia coronarica, lo scompenso cardiaco e l'ipertensione polmonare.

Malattia coronarica

La maggior parte dei fattori di rischio coronarico sono comuni alla disfunzione erettile. Per questo, dopo l'approvazione dell'impiego clinico in questo ambito, si è sollevata qualche voce di cautela per possibili influenze dannose sul cuore da parte degli inibitori della PDE. In particolare, in rapporti clinici isolati e iniziali si è temuto per un incremento del rischio di eventi cardiovascolari a seguito di influenze emodinamiche sfavorevoli, coronariche e sistemiche^{65,66}. Trattavasi per lo più di soggetti coronaropatici, portatori di fattori di rischio cardiocircolatorio, e vittime di eventi coronarici in circostanze particolari, quali il rapporto sessuale. Attualmente vi è significativa evidenza, basata su studi controllati e non in cieco, che l'uso di inibitori della PDE5 è sicuro nei pazienti che non presentino le caratteristiche suddette⁶⁷⁻⁷³.

Inibizione della fosfodiesterasi-5 ed emodinamica sistemica

In volontari normali, il sildenafil alla dose di 80 mg ha prodotto un calo pressorio medio sistolico di 9 mmHg e diastolico di 7 mmHg senza variare la frequenza del battito⁷⁴. In questo stesso studio sono state saggiate anche dosi singole di 100, 150 e 200 mg. Non vi sono state differenze tra i 100 e i 200 mg e il calo pressorio è stato di 10/7 mmHg alla terza ora, senza effetto ortostatico e con recupero entro 6h. Simile calo sistolico e diastolico si è avuto con vardenafil, con variazioni massime nello spazio di tempo compreso entro la prima e la quarta ora. Con tadalafil, composto a struttura chimica sostanzialmente diversa da quella di sildenafil e vardenafil e con emivita di 17.5h, le modificazioni pressorie sono più piccole. Una dose singola di 10 o 20 mg data a volontari sani ha prodotto un calo ortostatico medio sistolico di 0.2 mmHg e diastolico di 4.6 mmHg con una durata di 12h. Il calo clinostatico è risultato ancora più piccolo e la frequenza cardiaca non si è modificata in entrambe le posizioni⁷⁵.

In pazienti con malattia coronarica, sildenafil per via venosa (40 mg) e tadalafil per via orale (10 mg) hanno prodotto modeste riduzioni di pressione sistolica e diastolica e nessuna modificazione di frequenza cardiaca^{29,76,77}. Risulta quindi che gli inibitori della PDE5 sono modesti vasodilatatori, che nei soggetti normali e nei coronaropatici producono calo irrilevante della pressione arteriosa e non in-

fluenzano la frequenza cardiaca. Soprattutto, la sicurezza di questi composti si fonda sul rilievo che l'inibizione della PDE5 non si associa ad eventi ischemici, tanto nell'uso acuto quanto in quello cronico e che, per ciò che attiene a effetti negativi, l'interruzione dell'impiego ha conseguenze pari a quelle di placebo. Tuttavia, una controindicazione precisa riguarda i pazienti in trattamento con nitrati^{78,79} o alfabloccanti. Le proprietà vasodilatatorie vanno inoltre tenute in conto in soggetti con ostruzione all'efflusso ventricolare sinistro⁸⁰.

Interazione tra fosfodiesterasi-5 e nitrati

L'inibizione della PDE5 con sildenafil non interagisce negativamente con la maggior parte delle terapie antipertensive e antianginose⁷⁵. Tutti e tre i composti sopra menzionati, attualmente in commercio, non vanno usati in combinazione con nitrati⁷⁷⁻⁷⁹. La ragione è che i nitrati organici, tanto ad azione breve quanto ad azione lunga, stimolano la guanilil ciclasi, che aumenta la produzione di cGMP. Quando un inibitore della PDE5 venga assunto insieme a nitrato, vi è un effetto sinergistico sulla concentrazione di cGMP, dovuto a iperproduzione e a ridotto catabolismo, che può tradursi in un consistente calo pressorio, fino allo shock. Viene raccomandato un intervallo di almeno 24h fra assunzione di un qualsiasi donatore di NO e quello di sildenafil, o viceversa⁸⁰.

Disfunzione endoteliale

La disfunzione endoteliale ha una responsabilità importante nello sviluppo di rialzo pressorio nel piccolo circolo nell'avvento di aterosclerosi e nell'insorgenza di sindromi coronariche acute⁸¹. La valutazione *in vivo* della funzione endoteliale è dotata di potere prognostico verso gli eventi cardiovascolari^{82,83}. Inoltre, un fenomeno che richiama il PI del miocardio a seguito di ischemia-riperfusion può essere evocato *in vivo* a livello dei condotti arteriosi dell'avambraccio⁸⁴. Gori et al.⁴⁷ recentemente hanno saggiato in 10 volontari normali l'azione potenzialmente favorevole di sildenafil rispetto a placebo verso l'influenza negativa che l'ischemia-riperfusion (15 min di ischemia seguita da 15 min di riperfusion) esercita sulla vasodilatazione flusso-mediata endotelio-dipendente dell'arteria brachiale. Il risultato è consistito in un calo significativamente minore della vasodilatazione flusso-mediata. Poiché questo effetto protettivo era annullato da sulfanilurea glibenclamide, un bloccante dei canali del K⁺ ATP-dipendenti, un meccanismo ipotizzabile è quello di un'influenza specifica del sildenafil su questi canali. Le implicazioni e le possibili prospettive aperte dalle suddette osservazioni sono oggetto di studi ulteriori.

Indipendentemente da un effetto protettivo nei confronti del danno da ischemia-riperfusion, il sildenafil può mitigare in modo diretto la disfunzione endoteliale che accompagna l'abitudine al fumo⁸⁵ e il diabete mellito⁵⁴. Non va ignorato, tuttavia, che in altra condizione di aumentato rischio cardiovascolare, quale l'ipertensione, sono stati riportati effetti neutri, e che i risultati in pazienti con coronaropatia sono contrastanti^{50,86,87}.

Circolo coronarico e protezione miocardica

In segmenti di arteria coronaria del cane è stato visto un accumulo di cGMP dopo incubazione con sildenafil⁸¹. Inol-

tre, nella muscolatura liscia di vasi coronarici isolati dal cuore di cane si è osservato che con sildenafil vi è un aumento dose-dipendente di cGMP⁸⁸. Sembra, quindi, che il catabolismo di cGMP a livello coronarico dipenda almeno in parte dall'attività locale della PDE5. Tuttavia, poiché l'attività della PDE1 contribuisce largamente (per il 73-83%) all'attività idrolizzante su cGMP⁸⁹, si può presumere che a livello del circolo coronarico persista la maggior parte del catabolismo di cGMP nonostante l'inibizione della PDE5. A differenza della supposizione iniziale secondo cui il sildenafil può causare furto coronarico, studi condotti nel cane hanno dato prova che il sildenafil in realtà incrementa significativamente il flusso coronarico a riposo e durante esercizio⁹⁰⁻⁹³. La flussimetria intracoronarica Doppler in pazienti coronaropatici ha registrato stabilità di flusso dopo sildenafil. Alla dose orale di 100 mg il composto ha dimostrato influenze positive sulla riserva coronarica tanto nel soggetto a coronarie normali quanto in quello con malattia coronarica²⁹.

Uso clinico nella malattia coronarica

Inizialmente il sildenafil fu posto in uso clinico come farmaco antianginoso⁹¹. Tutti gli inibitori della PDE5, quando usati in pazienti con coronaropatia stabile, non influenzano negativamente le manifestazioni ischemiche durante test da sforzo, anzi l'effetto può essere positivo^{92,93}. In 105 uomini ad alto rischio per malattia coronarica uno studio in doppio cieco, "crossover" e controllato con placebo, furono valutati con ecocardiografia da sforzo gli effetti di 50 e 100 mg di sildenafil⁹². Non si rese evidente alcun deterioramento della dinamica segmentaria parietale del ventricolo sinistro. In un'indagine condotta da Fox et al.⁴⁹ su 108 uomini con angina stabile in cui vennero saggiati 100 mg di sildenafil, i parametri valutativi furono il tempo all'angina, il tempo alla depressione del tratto ST, la durata dell'esercizio. Tutti i partecipanti avevano angina ripetibile ed eseguirono test da sforzo con tappeto rotante 1h dopo sildenafil o placebo. Il preparato risultò efficace sul tempo all'angina e durata di esercizio e fu influente sul tempo alla depressione del tratto ST, e non dette luogo a comparsa di eventi avversi. Halcox et al.⁵⁰ misero a confronto sildenafil (100 mg) con isosorbide dinitrato (10 mg) e placebo in 24 pazienti con coronaropatia stabile, in uno studio randomizzato in doppio cieco. Non vi furono differenze significative nel tempo di esercizio e nel doppio prodotto fra i tre tipi di trattamento; la depressione del tratto ST fu invece minore ($p < 0.05$) in nitrato al picco dell'esercizio. Con sildenafil la tendenza fu positiva, ma non si raggiunse significatività statistica. Confrontato con placebo, il vardenafil (10 mg), in 41 pazienti coronaropatici stabili e con angina riproducibile, non modificò il tempo di esercizio o il tempo all'angina, ma prolungò in maniera significativa la soglia ischemica⁹³. In pazienti con malattia coronarica grave²⁹ il sildenafil somministrato oralmente accentuò la riserva vasodilatatoria coronarica all'adenosina.

Ipertensione arteriosa polmonare

L'ipertensione arteriosa polmonare è una malattia grave, spesso fatale, caratterizzata da dispnea debilitante, capacità di esercizio fortemente ridotta, progressione verso l'insufficienza ventricolare destra e il decesso. Le cause possono essere varie; la loro classificazione è stata rivista in

occasione della Terza Conferenza Mondiale sull'Ipertensione Polmonare tenutasi a Venezia nel 2003⁹⁴. Sono state definite cinque classi. Menzione particolare merita la classe I entro cui è compreso il cosiddetto "gruppo PAH": trattasi di malattie che hanno comunanza fisiopatologica, patologica e prognostica. In questo contesto, la forma prominente e più rappresentativa è la idiopatica, in precedenza chiamata ipertensione polmonare primitiva, che, quale meccanismo sottostante più comune, ha mutazioni "loss-of-function" nel "bone morphogenetic protein receptor type 2" (BMPR2)^{95,96}.

Studi controllati rivolti a saggiare l'inibizione della PDE5 nell'ipertensione polmonare hanno avuto come tema primario l'ipertensione arteriosa polmonare idiopatica e il sildenafil è stato l'agente di più diffuso impiego⁹⁷⁻¹⁰².

Attività vasodilatatoria polmonare dell'inibizione della fosfodiesterasi-5

Il circolo polmonare è un sistema a bassa pressione tutt'affatto peculiare con spiccata capacità di adattarsi a variazioni locali di flusso. L'endotelio, tanto arterioso quanto venoso, secerne NO quale funzione fisiologica tonica e fasica in risposta a vari stimoli fisiologici e chimici. Alterazioni di questa funzione, siano esse dovute a malattia strutturale dell'endotelio o indotte farmacologicamente, producono un'iperresponsività dei vasi polmonari agli stimoli vasocostrittori. È unanime il convincimento che la disfunzione endoteliale possa entrare nella patogenesi dell'ipertensione arteriosa polmonare. Data l'espressione elevata di PDE5 nel tessuto polmonare e la sopramenzionata stretta relazione fra produzione di NO e vasomotilità polmonare, l'inibizione della PDE5 sembra essere un mezzo ideale di trattamento farmacologico di certe malattie vascolari polmonari. Anche perché nei polmoni di soggetti con ipertensione arteriosa del piccolo circolo l'espressione genica della PDE5 è enfatizzata⁵⁵. La prima dimostrazione di una risposta vasodilatatoria polmonare all'inibizione della PDE5 è stata data da Haynes et al.¹⁰³, utilizzando l'inibitore della PDE5 zaprinast nel preparato isolato di polmone esposto ad ipossia. Successivamente Zhao et al.¹⁰⁴ ottennero un risultato simile con sildenafil e riportarono pure che questo composto, dato oralmente a topi resi cronicamente ipossici, preveniva lo sviluppo di ipertensione arteriosa polmonare¹⁰⁵. Questi studi portarono nuova luce sulle vie cellulari alla base degli effetti favorevoli del sildenafil sul rimodellamento vascolare polmonare, soprattutto per quanto attiene al contributo dei peptidi natriuretici all'incremento dei livelli di cGMP tramite attivazione recettore-mediata della guanilato ciclasi. L'attività del sildenafil è ridotta nei vasi polmonari di topi privati del recettore A del peptide natriuretico¹⁰⁴. Nell'ipertensione arteriosa polmonare da monocrotalina nel ratto il trattamento cronico con sildenafil abbassa la pressione nonché l'espressione di metalloproteinasi 2 e 9 con effetto evidente sulla muscolarizzazione vascolare¹⁰⁶. Sulle cellule muscolari lisce dei vasi polmonari dell'uomo iperteso polmonare il sildenafil esercita una significativa attività antiproliferativa¹⁰⁷.

Effetti acuti sull'emodinamica polmonare

Sono numerose in letteratura le evidenze di efficacia dell'inibizione della PDE5, e della conseguente attivazione della via dell'NO, sul tono vascolare polmonare di pazienti

ipertesi arteriosi polmonari, sia essa impiegata da sola⁹⁷, o in combinazione con altri agenti vasodilatatori⁹⁷⁻¹⁰¹. È tradizione che nell'ipertensione polmonare la vasoreattività del piccolo circolo venga saggiata con inalazione di NO (iNO) con cui si ottiene una dilatazione selettiva dei vasi del polmone senza che si produca calo pressorio sistemico. Una risposta positiva all'iNO, definita come riduzione della pressione o della resistenza vascolare polmonare >20%, è predittiva di responsività ai vasodilatatori tradizionali e identifica i pazienti con miglior prognosi a distanza^{108,109}. In aggiunta, iNO viene pure utilizzato in pazienti con ipertensione polmonare grave secondaria a disfunzione ventricolare quale elemento valutativo prima del trapianto cardiaco¹¹⁰. La somministrazione a lungo termine di iNO, tuttavia, incontra l'ostacolo della breve emivita e il suo utilizzo quale vasodilatatore acuto richiede un consistente impegno economico ed è di somministrazione non facile per la complessità del sistema di erogazione e di monitoraggio. Una singola dose orale di sildenafil si è dimostrata superiore a iNO nella valutazione acuta di pazienti con ipertensione arteriosa polmonare. La loro combinazione dà un risultato sommatorio, avendo il sildenafil effetto superiore quale antipertensivo ed efficacia pari come vasodilatatore¹⁰¹. Altresì, il sildenafil offre qualche ulteriore vantaggio quale quello di incrementare l'indice cardiaco e di non aumentare la pressione di cuneo polmonare.

L'effetto antipertensivo dell'inalazione di iloprost pare superare quello del sildenafil; la loro combinazione, tuttavia, ha dato un risultato additivo, senza effetti indesiderati e modificazioni pressorie sistemiche significative⁹⁹. In un altro studio acuto condotto da Ghofrani et al.¹¹¹, consistente in un confronto fra iNO combinato con epoprostenol per via venosa, o con sildenafil orale, fatto su pazienti con ipertensione del piccolo circolo secondaria a fibrosi polmonare, entrambi i composti produssero un chiaro abbassamento pressorio; tuttavia, una riduzione del rapporto resistenza polmonare/resistenza sistemica si ebbe soltanto in pazienti che ricevettero iNO e sildenafil in combinazione. In un ampio studio compiuto da questi stessi autori¹⁰⁰ su casi di ipertensione arteriosa polmonare idiopatica, l'effetto acuto del sildenafil su pressione e resistenza polmonare risultò dose-dipendente. Di nuovo, la risposta fu significativamente maggiore di quella all'iNO¹⁰⁰.

Trattamento a lungo termine dell'ipertensione arteriosa polmonare

Un trattamento a lungo termine dell'ipertensione polmonare è stato condotto in numerosi studi, tanto multicentrici¹⁰² quanto di centro singolo¹¹²⁻¹¹⁵; ne è emersa la conferma di eccellente tollerabilità e alta efficacia del sildenafil. Michelakis et al.¹⁰¹, per la durata di 3 mesi, hanno aggiunto sildenafil orale (50 mg ogni 8h) alla terapia standard, e valutato lo stato clinico, l'emodinamica polmonare, la capacità di esercizio e la massa ventricolare destra. La sintomatologia e la tolleranza allo sforzo furono influenzate positivamente essendoci un miglioramento ≥ 1 nella classe funzionale NYHA in ciascun paziente e un significativo incremento medio della distanza percorsa al test del cammino dei 6 min. Vi fu pure un calo di pressione e di resistenza vascolare polmonare, nessuna influenza sulla pressione arteriosa sistemica e rimodellamento inverso di massa e geometria del ventricolo destro. Per quanto attiene a sin-

tomi, capacità di esercizio ed emodinamica, i risultati di altri tre studi prospettici furono simili dopo 2 settimane di prescrizione di sildenafil a basse dosi (25 mg ogni 8h)¹¹², dopo 3 mesi con 50 mg ogni 8h¹¹⁶ e dopo 7 mesi con una dose media giornaliera di sildenafil di 87.5 mg¹¹³, rispettivamente. In pazienti in cui l'ipertensione polmonare andò accentuandosi nonostante trattamento con prostanoidi, l'aggiunta di sildenafil orale fu benefica su capacità di esercizio ed emodinamica polmonare¹¹⁴. I risultati furono simili durante un follow-up di 2 anni in 20 casi di ipertensione polmonare, nonostante la loro condizione clinica e funzionale andasse peggiorando con il solo trattamento con prostanoidi¹¹⁵.

Fino ad ora, il più numeroso studio randomizzato riguardo a sildenafil e ipertensione polmonare è stato lo studio SUPER-1¹⁰², condotto su 278 pazienti con ipertensione arteriosa polmonare sintomatica, in classe funzionale II/III, che ricevettero sildenafil orale (20, 40, 80 mg 3 volte/die) per 12 settimane, o placebo. Il parametro primario di valutazione fu il test del cammino dei 6 min. Il sildenafil si rivelò ben tollerato a tutte le dosi impiegate e influenzò positivamente i parametri emodinamici, la tolleranza all'esercizio e la classe funzionale. Inoltre, i pazienti che giunsero al completamento della fase in doppio cieco proseguirono la fase successiva dello studio, di durata biennale, ricevendo sildenafil alla dose bigiornaliera di 80 mg. Risultò chiara una persistenza nel tempo dell'effetto positivo sul test del cammino dei 6 min¹⁰². Grazie a queste osservazioni, le autorità regolatorie FDA ed EMEA approvarono l'impiego di sildenafil nell'ipertensione polmonare, alla dose di 20 mg 2 volte/die (per la differenza non significativa rispetto a dosaggi superiori).

Forme di ipertensione arteriosa polmonare diverse da quella idiopatica (quella che è stata fino ad ora studiata più estensivamente) includono la fibrosi polmonare¹¹¹, l'ipertensione da tromboembolia¹¹⁶, la forma secondaria a cardiopatie congenite, la sindrome di Eisenmenger¹¹⁷⁻¹¹⁹, l'immunodeficienza¹²⁰. Il sildenafil sembra essere efficace nella maggior parte di queste forme. È di interesse la segnalazione secondo cui l'inibizione della PDE5 può trovare impiego anche nell'ipertensione arteriosa polmonare da grandi altezze: i risultati ottenuti su piccole popolazioni parlano di un più favorevole quadro emodinamico polmonare e capacità funzionale^{56,57,105} grazie ad un effetto controattivo verso la vasocostrizione polmonare prodotta dall'ipossia.

Inibizione della fosfodiesterasi-5 nell'insufficienza cardiaca

L'efficacia dell'inibizione della PDE5 nell'ipertensione polmonare idiopatica ha fatto intravedere la possibilità di un utile impiego anche nella forma secondaria ad insufficienza cardiaca cronica. Ci si è rapidamente accorti, tuttavia, che meccanismi farmacologici aggiuntivi a quelli che caratterizzano le benefiche influenze sull'emodinamica polmonare, possono rendersi palesi nell'insufficienza cardiaca.

Ipertrofia miocardica e funzione ventricolare

Studi sperimentali hanno fatto vedere che l'inibizione cronica della PDE5 controlla importanti vie cellulari e molecolari coinvolte in quelle variazioni morfologiche e funzionali che portano a rimodellamento ventricolare e insufficien-

za cardiaca^{32,46}. In particolare, osservazioni recenti fatte su cuori esposti prolungatamente a sovraccarico pressorio sono a favore di un effetto antipertrofico diretto del sildenafil³². È stato pure evidenziato un effetto antiapoptotico nel cuore normale⁴⁶ e in quello esposto alla cardiotossicità della doxorubicina⁶³.

Un'attività della PDE5 è stata recentemente documentata nel cuore umano; essa sembra essere coinvolta nella risposta contrattile alla stimolazione β -adrenergica³⁰. Partendo dal dato sperimentale che l'azione catabolica di cGMP ad opera della PDE5 regola la contrattilità cardiaca allo stimolo adrenergico³¹, Borlaug et al.³⁰ sono giunti alla dimostrazione che una dose acuta di 100 mg di sildenafil attenua la risposta contrattile all'attivazione β -recettoriale. Questi dati possono avere valore nel contesto dell'insufficienza cardiaca quando essa si associ ad attività simpatica eccessiva. Con questo si armonizza il fatto che il sildenafil può ridurre lo "spillover" cardiaco della noradrenalina¹²¹. È anche vero però che la somministrazione acuta di 100 mg di sildenafil nell'uomo provoca un significativo incremento dell'attività nervosa adrenergica¹²², suggerendo che il risultato algebrico dell'influenza diversa che l'inibizione cronica di PDE5 può esercitare sul sistema simpatico nello scompenso cardiaco, necessita di una definizione più approfondita.

Funzione respiratoria ed emodinamica polmonare

In genere, lo scompenso cardiaco è causa di vasocostrizione e rialzo pressorio nel letto polmonare. La disfunzione endoteliale, la disomogeneità di perfusione e l'alterata conduttanza dell'endotelio capillare polmonare nei confronti del sodio e dell'acqua, intaccano la funzione respiratoria; questo si oggettivizza in un comportamento ventilatorio di tipo restrittivo¹²³ e in un calo della capacità diffusoria gassosa¹²⁴. Considerata l'alta selettività di influenza della PDE5 sul microcircolo polmonare, è logico attendersi che gli inibitori della PDE5 possano influenzare microcircolazione, emodinamica e funzione del polmone nell'insufficienza cardiaca.

Circa l'emodinamica, i dati fino ad ora disponibili per il capitolo scompenso sono simili a quelli del capitolo ipertensione polmonare idiopatica. In pazienti con disfunzione ventricolare sinistra e ipertensione arteriosa polmonare secondaria, 50 mg di sildenafil orale non modificarono la pressione arteriosa sistemica, abbassarono pressione e resistenza nel piccolo circolo senza alcuna influenza sulla pressione di cuneo. L'effetto sull'indice cardiaco è risultato variabile, anche in relazione con la gravità della forma^{125,126}. Effetti benefici su emodinamica polmonare sono stati riportati anche durante esercizio¹²⁶.

In pazienti stabili con insufficienza cardiaca moderata, il sildenafil orale in dose di 50 mg incrementò dell'11% la diffusione polmonare del monossido di carbonio. Questo effetto risultò riconducibile a un chiaro potenziamento di una delle due componenti della diffusione polmonare del monossido di carbonio, la conduttanza dell'interfaccia alveolo-capillare; mentre la seconda componente, il volume capillare polmonare disponibile per gli scambi gassosi, rimase immodificata, così come rimase la superficie di scambio, vale a dire il volume alveolare. Questi rilievi suggeriscono che un potenziamento della via iniziata dall'NO è coinvolta, ed è importante, anche nella regolazione della

componente tissutale dell'impedenza al trasporto di ossigeno dall'aria alveolare all'emoglobina¹²⁵.

Il sildenafil si delinea anche come un'utile aggiunta al trattamento farmacologico di pazienti la cui condizione richiede assistenza circolatoria. Infatti, in un gruppo di tali pazienti vi fu un calo di pressione arteriosa polmonare aggiuntivo a quello prodotto da iNO, e lo svezzamento da iNO e inotropi risultò facilitato e privo di conseguenze emodinamiche negative¹²⁷.

Tono vascolare sistemico e funzione endoteliale

Iper tono vascolare sistemico e disfunzione endoteliale fanno parte dei meccanismi dell'elevata resistenza vascolare sistemica nello scompenso cardiaco. Hirata et al.¹²⁸ hanno osservato che il sildenafil ha un effetto riduttivo sulle maggiori determinanti del postcarico ventricolare sinistro, quali resistenza del circuito arterioso, rigidità dei condotti, onda di riflesso, cui consegue un miglioramento della funzione sistolica ventricolare. Per questo effetto sui grossi vasi, è stata avanzata anche una possibilità di utilizzo di sildenafil nell'ipertensione sistolica isolata⁵². Un impiego di sildenafil per 3 mesi (50 mg 3 volte/die) ha portato in una popolazione ipertesa a un calo sistolico medio di 8 mmHg e diastolico di 6 mmHg¹²⁹.

Vi sono osservazioni a favore di un effetto positivo di sildenafil sulla funzione endoteliale^{53,130}. Katz et al.¹³¹ hanno studiato la dilatazione flusso-mediata endotelio-dipendente del circolo dell'avambraccio in 48 pazienti con scompenso cardiaco stabile, ed hanno osservato che il sildenafil è efficace, che l'effetto è dose-dipendente e che è presente a partire dal dosaggio di 25 mg. Queste osservazioni hanno ricevuto conferma in studi successivi, in cui l'aggiunta di sildenafil all'inibitore dell'enzima di conversione dell'angiotensina ramipril ha avuto un effetto additivo sulla funzione endoteliale¹³². L'influenza del sildenafil sull'emodinamica coronarica nel contesto dello scompenso cardiaco non ha per ora attratto molta attenzione. In modello animale di scompenso indotto da pacing, il sildenafil si è rivelato ininfluenza sulla vasodilatazione endotelio-mediata in risposta all'acetilcolina. Inoltre, non vi è stato un potenziamento dell'incremento di flusso coronarico prodotto dall'esercizio¹³³.

Capacità funzionale

Nello scompenso cardiaco l'inibizione della PDE5 incrementa la prestazione fisica e il consumo di ossigeno al picco dell'esercizio, un effetto alla base del quale probabilmente sta più di un meccanismo¹²³. Un merito importante compete al calo di pressione e di resistenza nel letto vascolare del polmone e alla sua migliore perfusione per una maggiore disponibilità di cGMP. Questo si traduce pure in un riassetto dello scambio di sodio/conduttanza per l'acqua attraverso l'endotelio capillare polmonare, cui consegue un ritorno verso la normalità del contenuto di fluido nello spazio interstiziale stretto e nello spazio interstiziale lasso, riducendo in tal modo la distanza fra aria alveolare e sangue capillare, con facilitazione della diffusione dei gas. Un ulteriore meccanismo di incremento del consumo di ossigeno è l'aumento dell'indice cardiaco, quale verosimile conseguenza del riaggiustamento di alcune determinanti dell'impedenza all'eiezione ventricolare¹²⁸.

Nonostante non vi sia evidenza di un miglioramento della differenza artero-venosa di ossigeno ad opera del sildenafil e nonostante lo scompenso cardiaco non abbia influenze limitative sull'estrazione massima di ossigeno, esiste prova di un miglioramento della rigenerazione aerobica di ATP durante esercizio a seguito di inibizione della PDE5. Si osserva infatti uno spostamento verso l'alto della relazione consumo di ossigeno/carico di lavoro e un più rapido declino della costante di tempo del consumo di ossigeno durante il recupero dopo esercizio massimale¹²⁵. Sotto questo profilo, è ragionevole attribuire un ruolo primario alla migliore capacità di accogliere un aumento crescente del flusso ematico, nonché ad una sua più fruttuosa ridistribuzione alla muscolatura impegnata nell'esercizio^{53,130}.

Un elemento caratterizzante dello scompenso è un'eccessiva risposta ventilatoria (VE) rapportata alla produzione di CO₂ (VCO₂); trattasi di un parametro dotato di importante significato prognostico^{134,135}. Una spiegazione possibile può essere che l'iperventilazione sia la conseguenza di un chemoriflesso (dai glomi carotidei e aortici) o di un metaboriflesso (da recettori muscolari sensibili ai derivati dal metabolismo muscolare) iperattivo o di un imperfetto accoppiamento ventilazione/perfusione del polmone. Il sildenafil inequivocabilmente riduce la pendenza di VE/VCO₂ durante esercizio^{125,126}. Un miglioramento delle proprietà diffusorie del polmone e una diminuzione della ventilazione inefficace, come suggerito da una riduzione del rapporto spazio morto/volume corrente, riflette un migliorato rapporto ventilazione/perfusione. Inoltre, in uno studio controllato con placebo, finalizzato a conoscere l'influenza che, a lungo termine, il sildenafil esercita sulla capacità di esercizio, è stato visto che quest'ultima migliora in parallelo con una persistente modulazione del metaboriflesso e con una più efficiente risposta ventilatoria¹³⁶.

Conclusioni

Da quanto esposto risulta chiaro che le influenze dell'inibizione della PDE5 sull'apparato cardiocircolatorio sono molteplici. Alcune di esse offrono un substrato per indicazioni terapeutiche già riconosciute (vedi disfunzione erettile, ipertensione arteriosa polmonare), altre per indicazioni possibili (vedi scompenso cardiaco), altre ancora per indicazioni ancora allo stato germinale (vedi PI, ipertrofia miocardica).

Riteniamo che l'insufficienza cardiaca meriti un commento aggiuntivo. Trattasi di un capitolo ancora lungi dall'essere chiuso ed è auspicato l'avvento di mezzi di cura nuovi, sostitutivi o supplementari a quelli attualmente disponibili. Alterazioni nella via dell'NO sembrano rivestire qualche responsabilità nel mosaico che compone la sindrome dello scompenso cardiaco cronico. L'inibizione della PDE5 è una nuova strategia per potenziare il segnale NO e incrementare la disponibilità di cGMP, che si fonda su solidi substrati teorici e su evidenze cliniche che divengono via via più corpose. Fra gli effetti più evidenti dell'inibizione della PDE5 vi sono quelli che riguardano il piccolo circolo. Una riduzione dell'impedenza all'eiezione ventricolare destra e un incremento della gettata del ventricolo destro si profila come un modo innovativo di trattamento dello scompenso cardiaco. In questo ambito, i pazienti con vaso-

costrizione polmonare predominante e con rialzo pressorio nel piccolo circolo potrebbero essere quelli che beneficiano in maggiore misura degli inibitori della PDE5.

L'argomento di questa trattazione è già stato oggetto di alcune autorevoli rassegne¹³⁷⁻¹³⁹. È nostro auspicio, tuttavia, che la scelta di congiungere l'opera del fisiopatologo clinico e del biochimico possa essere vantaggiosa per l'approfondimento conoscitivo del lettore.

Riassunto

Le fosfodiesterasi sono una classe di proteine primariamente coinvolte nella modulazione dei livelli cellulari di nucleotidi ciclici quali cGMP e cAMP. In particolare, la fosfodiesterasi-5 (PDE5) è coinvolta nel rilascio della cellula muscolare liscia mediante deattivazione di GMP ciclico. Proprio mediante questa via d'azione, gli inibitori della PDE5 sono divenuti una valida opzione per ottenere un potenziamento della via dell'ossido nitrico. Grazie a questa proprietà, recentemente ne è stato approvato l'impiego clinico per il trattamento dell'ipertensione arteriosa polmonare idiopatica. Collateralmente all'azione sull'endotelio, molteplici osservazioni suggeriscono che l'inibizione della PDE5 migliora la tolleranza all'insulto ischemia/riperfusioned ed esercita un effetto di tipo antipertrofico e antiapoptotico sul miocita, suggerendo che anche in queste condizioni l'uso di inibitori della PDE5 possa trovare un'utile collocazione.

In questa revisione viene riportata l'evidenza ad oggi disponibile riguardo all'uso degli inibitori della PDE5 nell'ambito di patologie polmonari e cardiache.

Parole chiave: Insufficienza cardiaca; Ipertensione polmonare.

Bibliografia

1. Jackson G, Gillies H, Osterloh I. Past, present, and future: a 7-year update of Viagra (sildenafil citrate). *Int J Clin Pract* 2005; 59: 680-91.
2. Francis SH, Turko IV, Corbin JD. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: relating structure and function. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001; 65: 1-52.
3. Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, et al. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 375-414.
4. Waldkirch E, Uckert S, Yildirim H, et al. Cyclic AMP-specific and cyclic GMP-specific phosphodiesterase isoenzymes in human cavernous arteries - immunohistochemical distribution and functional significance. *World J Urol* 2005; 23: 405-10.
5. Williams BA, Liu C, Deyoung L, Brock GB, Sims SM. Regulation of intracellular Ca²⁺ release in corpus cavernosum smooth muscle: synergism between nitric oxide and cGMP. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288: C650-C658.
6. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med* 2003; 9: 1498-505.
7. Singel DJ, Stamler JS. Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin. *Annu Rev Physiol* 2005; 67: 99-145.
8. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-42.
9. Marsh N, Marsh A. A short history of nitroglycerine and nitric oxide in pharmacology and physiology. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 313-9.
10. Sutherland EW, Rall TW. Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J Biol Chem* 1958; 232: 1077-91.

11. Mullershausen F, Friebe A, Feil R, Thompson WJ, Hofmann F, Koesling D. Direct activation of PDE5 by cGMP: long-term effects within NO/cGMP signaling. *J Cell Biol* 2003; 160: 719-27.
12. Carson CC, Lue TF. Phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. *BJU Int* 2005; 96: 257-80.
13. Day JP, Dow JA, Houslay MD, Davies SA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases in *Drosophila melanogaster*. *Biochem J* 2005; 388 (Pt 1): 333-42.
14. Lin CS, Chow S, Lau A, Tu R, Lue TF. Regulation of human PDE5A2 intronic promoter by cAMP and cGMP: identification of a critical Sp1-binding site. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 693-9.
15. Ghofrani HA, Osterloh IH, Grimminger F. Sildenafil: from angina to erectile dysfunction to pulmonary hypertension and beyond. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 689-702.
Revisione estesa delle basi fisiopatologiche ed evidenza clinica circa l'impiego degli inibitori della fosfodiesterasi-5 in diverse patologie cardiovascolari.
16. Boyle CD, Xu R, Asberom T, et al. Optimization of purine based PDE1/PDE5 inhibitors to a potent and selective PDE5 inhibitor for the treatment of male ED. *Bioorg Med Chem Lett* 2005; 15: 2365-9.
17. Sung BJ, Hwang KY, Jeon YH, et al. Structure of the catalytic domain of human phosphodiesterase 5 with bound drug molecules. *Nature* 2003; 425: 98-102.
18. Corbin J, Francis S, Zoraghi R. Tyrosine-612 in PDE5 contributes to higher affinity for vardenafil over sildenafil. *Int J Impot Res* 2006; 18: 251-7.
19. Zoraghi R, Corbin JD, Francis SH. Phosphodiesterase-5 Gln817 is critical for cGMP, vardenafil, or sildenafil affinity: its orientation impacts cGMP but not cAMP affinity. *J Biol Chem* 2006; 281: 5553-8.
20. Wang H, Liu Y, Huai Q, et al. Multiple conformations of phosphodiesterase-5: implications for enzyme function and drug development. *J Biol Chem* 2006; 281: 21469-79.
21. Blount MA, Zoraghi R, Ke H, Bessay EP, Corbin JD, Francis SH. A 46-amino acid segment in phosphodiesterase-5 GAF-B domain provides for high vardenafil potency over sildenafil and tadalafil and is involved in phosphodiesterase-5 dimerization. *Mol Pharmacol* 2006; 70: 1822-31.
22. Teixeira CE, Priviero FB, Webb RC. Differential effects of the phosphodiesterase type 5 inhibitors sildenafil, vardenafil, and tadalafil in rat aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 654-61.
23. Weeks JL, Zoraghi R, Beasley A, Sekhar KR, Francis SH, Corbin JD. High biochemical selectivity of tadalafil, sildenafil and vardenafil for human phosphodiesterase 5A1 (PDE5) over PDE11A4 suggests the absence of PDE11A4 cross-reaction in patients. *Int J Impot Res* 2005; 17: 5-9.
24. Boolell M, Allen MJ, Ballard SA, et al. Sildenafil: an orally active type 5 cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor for the treatment of penile erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 1996; 8: 47-52.
25. Padma-Nathan H, Stecher VJ, Sweeney M, Orazem J, Tseng LJ, Deriesthal H. Minimal time to successful intercourse after sildenafil citrate: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Urology* 2003; 62: 400-3.
26. Walker DK, Ackland MJ, James GC, et al. Pharmacokinetics and metabolism of sildenafil in mouse, rat, rabbit, dog and man. *Xenobiotica* 1999; 29: 297-310.
27. Moncada I, Jara J, Subira D, Castano I, Hernandez C. Efficacy of sildenafil citrate at 12 hours after dosing: re-exploring the therapeutic window. *Eur Urol* 2004; 46: 357-61.
28. Corbin J, Rannels S, Neal D, et al. Sildenafil citrate does not affect cardiac contractility in human or dog heart. *Curr Med Res Opin* 2003; 19: 747-52.
29. Herrmann HC, Chang G, Klugherz BD, Mahoney PD. Hemodynamic effects of sildenafil in men with severe coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1622-6.
30. Borlaug BA, Melenovsky V, Marhin T, Fitzgerald P, Kass DA. Sildenafil inhibits beta-adrenergic-stimulated cardiac contractility in humans. *Circulation* 2005; 112: 2642-9.
31. Takimoto E, Champion HC, Belardi D, et al. cGMP catabolism by phosphodiesterase 5A regulates cardiac adrenergic stimulation by NOS3-dependent mechanism. *Circ Res* 2005; 96: 100-9.
32. Takimoto E, Champion HC, Li M, et al. Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy. *Nat Med* 2005; 11: 214-22.
Studio sperimentale particolarmente rilevante per la dimostrazione che il sildenafil è in grado di inibire la risposta ipertrofica del ventricolo sinistro che si sviluppa in conseguenza di un sovraccarico pressorio.
33. Hassan MA, Ketat AF. Sildenafil citrate increases myocardial cGMP content in rat heart, decreases its hypertrophic response to isoproterenol and decreases myocardial leak of creatine kinase and troponin T. *BMC Pharmacol* 2005; 5: 10.
34. Reimer KA, Murry CE, Yamasawa I, Hill ML, Jennings RB. Four brief periods of myocardial ischemia cause no cumulative ATP loss or necrosis. *Am J Physiol* 1986; 251 (6 Pt 2): H1306-H1315.
35. Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during sustained ischemic episode. *Circ Res* 1990; 66: 913-31.
36. Reimer KA, Murry CE, Jennings RB. Cardiac adaptation to ischemia. Ischemic preconditioning increases myocardial tolerance to subsequent ischemic episodes. *Circulation* 1990; 82: 2266-8.
37. Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C Jr, Reimer KA. Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation* 1990; 82 (3 Suppl): II2-II12.
38. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. New insights into potential mechanisms of ischemic preconditioning. *Circulation* 1991; 84: 442-5.
39. Rossoni G, Manfredi B, De Gennaro Colonna V, Berti M, Guazzi M, Berti F. Sildenafil reduces L-NAME-induced severe hypertension and worsening of myocardial ischaemia-reperfusion damage in the rat. *Br J Pharmacol* 2007; 150: 567-76.
40. Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 2003; 83: 1113-51.
41. Ockaili R, Salloum F, Hawkins J, Kukreja RC. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial K_{ATP} channels in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H1263-H1269.
42. Salloum F, Yin C, Xi L, Kukreja RC. Sildenafil induces delayed preconditioning through inducible nitric oxide synthase-dependent pathway in mouse heart. *Circ Res* 2003; 92: 595-7.
43. Das S, Maulik N, Das DK, Kadowitz PJ, Bivalacqua TJ. Cardioprotection with sildenafil, a selective inhibitor of cyclic 3',5'-monophosphate-specific phosphodiesterase 5. *Drugs Exp Clin Res* 2002; 28: 213-9.
44. Das A, Ockaili R, Salloum F, Kukreja RC. Protein kinase C plays an essential role in sildenafil-induced cardioprotection in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H1455-H1460.
45. Kukreja RC, Ockaili R, Salloum F, et al. Cardioprotection with phosphodiesterase-5 inhibition—a novel preconditioning strategy. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36: 165-73.
46. Das A, Xi L, Kukreja RC. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling. *J Biol Chem* 2005; 280: 12944-55.
47. Gori T, Sicuro S, Dragoni S, Donati G, Forconi S, Parker JD. Sildenafil prevents endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion via opening of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels: a human in vivo study. *Circulation* 2005; 111: 742-6.
48. Kukreja RC, Salloum F, Das A, et al. Pharmacological precon-

- ditioning with sildenafil: basic mechanisms and clinical implications. *Vasc Pharmacol* 2005; 42: 219-32.
49. Fox KM, Thadani U, Ma PT, et al, for the CAESAR I (Clinical American and European Studies of Angina and Revascularization) Investigators. Sildenafil citrate does not reduce exercise tolerance in men with erectile dysfunction and chronic stable angina. *Eur Heart J* 2003; 24: 2206-12.
50. Halcox JP, Nour KR, Zalos G, et al. The effect of sildenafil on human vascular function, platelet activation, and myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 1232-40.
51. Bocchi EA, Guimaraes G, Mocelin A, Bacal F, Bellotti G, Ramires JF. Sildenafil effects on exercise, neurohormonal activation, and erectile dysfunction in congestive heart failure: a double-blind, placebo-controlled, randomized study followed by a prospective treatment for erectile dysfunction. *Circulation* 2002; 106: 1097-103.
52. Mahmud A, Hennessy M, Feely J. Effect of sildenafil on blood pressure and arterial wave reflection in treated hypertensive men. *J Hum Hypertens* 2001; 15: 707-13.
53. Katz SD, Balidemaj K, Homma S, Wu H, Wang J, Maybaum S. Acute type 5 phosphodiesterase inhibition with sildenafil enhances flow-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 845-51.
54. Desouza C, Parulkar A, Lumpkin D, Akers D, Fonseca VA. Acute and prolonged effects of sildenafil on brachial artery flow-mediated dilatation in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 1336-9.
55. Sanchez LS, de la Monte SM, Filippov G, Jones RC, Zapol WM, Bloch KD. Cyclic-GMP-binding, cyclic-GMP-specific phosphodiesterase (PDE5) gene expression is regulated during rat pulmonary development. *Pediatr Res* 1998; 43: 163-8.
56. Richalet JP, Grataudour P, Robach P, et al. Sildenafil inhibits altitude-induced hypoxemia and pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 275-81.
57. Aldashev AA, Kojonazarov BK, Amatov TA, et al. Phosphodiesterase type 5 and high altitude pulmonary hypertension. *Thorax* 2005; 60: 683-7.
58. Guilluy C, Sauzeau V, Rolli-Derkinderen M, et al. Inhibition of RhoA/Rho kinase pathway is involved in the beneficial effect of sildenafil on pulmonary hypertension. *Br J Pharmacol* 2005; 146: 1010-8.
59. Tantini B, Manes A, Fiumana E, et al. Antiproliferative effect of sildenafil on human pulmonary artery smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 131-8.
60. Bianciardi P, Fantacci M, Caretti A, et al. Chronic in vivo hypoxia in various organs: hypoxia-inducible factor-1alpha and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 342: 875-80.
61. Fantacci M, Bianciardi P, Caretti A, et al. Carbamylated erythropoietin ameliorates the metabolic stress induced in vivo by severe chronic hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 17531-6.
62. Sebkhi A, Strange JW, Phillips SC, Wharton J, Wilkins MR. Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 2003; 107: 3230-5.
63. Fisher PW, Salloum F, Das A, Hyder H, Kukreja RC. Phosphodiesterase-5 inhibition with sildenafil attenuates cardiomyocyte apoptosis and left ventricular dysfunction in a chronic model of doxorubicin cardiotoxicity. *Circulation* 2005; 111: 1601-10.
64. Wilkins MR, Aldashev A, Morrell NW. Nitric oxide, phosphodiesterase inhibition, and adaptation to hypoxic conditions. *Lancet* 2002; 359: 1539-40.
65. Feenstra J, van Drie-Pierik RJ, Lacle CF, Stricker BH. Acute myocardial infarction associated with sildenafil. *Lancet* 1998; 352: 957-8.
66. Kloner RA. Cardiovascular risk and sildenafil. *Am J Cardiol* 2000; 86: 57F-61F.
67. Morales A, Gingell C, Collins M, Wicker PA, Osterloh IH. Clinical safety of oral sildenafil citrate (VIAGRA) in the treatment of erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 1998; 10: 69-74.
68. Conti CR, Pepine CJ, Sweeney M. Efficacy and safety of sildenafil citrate in the treatment of erectile dysfunction in patients with ischemic heart disease. *Am J Cardiol* 1999; 83: 29C-34C.
69. Shakir SA, Wilton LV, Boshier A, Layton D, Heeley E. Cardiovascular events in users of sildenafil: results from first phase of prescription event monitoring in England. *BMJ* 2001; 322: 651-2.
70. Wysowski DK, Farinas E, Swartz L. Comparison of reported and expected deaths in sildenafil (Viagra) users. *Am J Cardiol* 2002; 89: 1331-4.
71. Mittleman MA, Glasser DB, Orazem J. Clinical trials of sildenafil citrate (Viagra) demonstrate no increase in risk of myocardial infarction and cardiovascular death compared with placebo. *Int J Clin Pract* 2003; 57: 597-600.
72. Kloner RA. Erectile dysfunction in the cardiac patient. *Compr Ther* 2004; 30: 50-4.
73. DeBusk RF, Pepine CJ, Glasser DB, Shpilsky A, DeRiesthal H, Sweeney M. Efficacy and safety of sildenafil citrate in men with erectile dysfunction and stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2004; 93: 147-53.
74. Jackson G, Benjamin N, Jackson N, Allen MJ. Effects of sildenafil citrate on human hemodynamics. *Am J Cardiol* 1999; 83: 13C-20C.
75. Reffelmann T, Kloner RA. Therapeutic potential of phosphodiesterase 5 inhibition for cardiovascular disease. *Circulation* 2003; 108: 239-44.
76. Kloner RA. Sex and the patient with cardiovascular risk factors: focus on sildenafil. *Am J Med* 2000; 109 (Suppl 9A): 13S-30S.
77. Kloner RA, Mitchell M, Emmick JT. Cardiovascular effects of tadalafil. *Am J Cardiol*. 2003; 92: 37M-46M.
78. Webb DJ, Freestone S, Allen MJ, Muirhead GJ. Sildenafil citrate and blood-pressure-lowering drugs: results of drug interaction studies with an organic nitrate and a calcium antagonist. *Am J Cardiol* 1999; 83: 21C-28C.
79. Webb DJ, Muirhead GJ, Wulff M, Sutton JA, Levi R, Dinsmore WW. Sildenafil citrate potentiates the hypotensive effects of nitric oxide donor drugs in male patients with stable angina. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 25-31.
80. Cheitlin MD, Hutter AM Jr, Brindis RG, et al. ACC/AHA expert consensus document. Use of sildenafil (Viagra) in patients with cardiovascular disease. American College of Cardiology/American Heart Association. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 273-82.
81. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation* 2005; 111: 363-8.
82. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101: 1899-906.
83. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000; 101: 948-54.
84. Kharbanda RK, Peters M, Walton B, et al. Ischemic preconditioning prevents endothelial injury and systemic neutrophil activation during ischemia-reperfusion in humans in vivo. *Circulation* 2001; 103: 1624-30.
85. Vlachopoulos C, Alexopoulos N, Panagiotakos D, O'Rourke MF, Stefanadis C. Cigar smoking has an acute detrimental effect on arterial stiffness. *Am J Hypertens* 2004; 17: 299-303.
86. Robinson SD, Ludlam CA, Boon NA, Newby DE. Phosphodiesterase type 5 inhibition does not reverse endothelial dysfunction in patients with coronary heart disease. *Heart* 2006; 92: 170-6.

87. Attinà TM, Malatino LS, Maxwell SR, Padfield PL, Webb DJ. Phosphodiesterase type 5 inhibition reverses impaired forearm exercise-induced vasodilatation in hypertensive patients. *J Hypertens* 2008; 26: 501-7.
88. Wallis RM, Corbin JD, Francis SH, Ellis P. Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildenafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function, and the contractile responses of trabeculae carneae and aortic rings in vitro. *Am J Cardiol* 1999; 83: 3C-12C.
89. Ahn HS, Crim W, Pitts B, Sybertz EJ. Calcium-calmodulin-stimulated and cyclic-GMP-specific phosphodiesterases. Tissue distribution, drug sensitivity, and regulation of cyclic GMP levels. *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res* 1992; 25: 271-88.
90. Gillies HC, Roblin D, Jackson G. Coronary and systemic hemodynamic effects of sildenafil citrate: from basic science to clinical studies in patients with cardiovascular disease. *Int J Cardiol* 2002; 86: 131-41.
91. Kloner RA, Jarow JP. Erectile dysfunction and sildenafil citrate and cardiologists. *Am J Cardiol* 1999; 83: 576-82.
92. Arruda-Olson AM, Mahoney DW, Nehra A, Leckel M, Pellikka PA. Cardiovascular effects of sildenafil during exercise in men with known or probable coronary artery disease: a randomized crossover trial. *JAMA* 2002; 287: 719-25.
93. Thadani U, Smith W, Nash S, et al. The effect of vardenafil, a potent and highly selective phosphodiesterase-5 inhibitor for the treatment of erectile dysfunction, on the cardiovascular response to exercise in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 2006-12.
94. Simonneau G, Galie N, Rubin LJ, et al. Clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43 (12 Suppl S): 5S-12S.
95. Machado RD, Pauculo MW, Thomson JR, et al. BMPR2 haploinsufficiency as the inherited molecular mechanism for primary pulmonary hypertension. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 92-102.
96. Cogan JD, Vnencak-Jones CL, Phillips JA 3rd, et al. Gross BMPR2 gene rearrangements constitute a new cause for primary pulmonary hypertension. *Genet Med* 2005; 7: 169-74.
97. Lepore JJ, Maroo A, Pereira NL, et al. Effect of sildenafil on the acute pulmonary vasodilator response to inhaled nitric oxide in adults with primary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 2002; 90: 677-80.
98. Lepore JJ, Maroo A, Bigatello LM, et al. Hemodynamic effects of sildenafil in patients with congestive heart failure and pulmonary hypertension: combined administration with inhaled nitric oxide. *Chest* 2005; 127: 1647-53.
99. Wilkens H, Guth A, König J, et al. Effect of inhaled iloprost plus oral sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2001; 104: 1218-22.
100. Ghofrani HA, Wiedemann R, Rose F, et al. Combination therapy with oral sildenafil and inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *Ann Intern Med* 2002; 136: 515-22.
101. Michelakis ED, McMurtry MS, Wu XC, et al. Dichloroacetate, a metabolic modulator, prevents and reverses chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats: role of increased expression and activity of voltage-gated potassium channels. *Circulation* 2002; 105: 244-50.
102. Galie N, Ghofrani HA, Torbicki A, et al, for the Sildenafil Use in Pulmonary Arterial Hypertension (SUPER) Study Group. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2005; 353: 2148-57.
Studio condotto in 278 pazienti con ipertensione polmonare sintomatica, in classe funzionale II/III, che hanno ricevuto sildenafil orale (20, 40, 80 mg 3 volte/die) per 12 settimane, o placebo. L'endpoint primario per la valutazione dell'efficacia della terapia è stato il test dei 6 min. Il sildenafil si è mostrato ben tollerato a tutte le dosi con effetto favorevole su emodinamica, tolleranza all'esercizio e classe funzionale.
103. Haynes J Jr, Kithas PA, Taylor AE, Strada SJ. Selective inhibition of cGMP-inhibitable cAMP phosphodiesterase decreases pulmonary vasoreactivity. *Am J Physiol* 1991; 261 (2 Pt 2): H487-H492.
104. Zhao L, Mason NA, Strange JW, Walker H, Wilkins MR. Beneficial effects of phosphodiesterase 5 inhibition in pulmonary hypertension are influenced by natriuretic peptide activity. *Circulation* 2003; 107: 234-7.
105. Zhao L, Mason NA, Morrell NW, et al. Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 2001; 104: 424-8.
106. Schermuly RT, Kreisselmeier KP, Ghofrani HA, et al. Chronic sildenafil treatment inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 39-45.
107. Wharton J, Strange JW, Möller GM, et al. Antiproliferative effects of phosphodiesterase type 5 inhibition in human pulmonary artery cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 105-13.
108. Sitbon O, Humbert M, Jagot JL, et al. Inhaled nitric oxide as a screening agent for safely identifying responders to oral calcium-channel blockers in primary pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1998; 12: 265-70.
109. Rich S, Kaufmann E, Levy PS. The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992; 327: 76-81.
110. Adatia I, Perry S, Landzberg M, Moore P, Thompson JE, Wessel DL. Inhaled nitric oxide and hemodynamic evaluation of patients with pulmonary hypertension before transplantation. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1656-64.
111. Ghofrani HA, Wiedemann R, Rose F, et al. Sildenafil for treatment of lung fibrosis and pulmonary hypertension: a randomized controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 895-900.
112. Bharani A, Mathew V, Sahu A, Lunia B. The efficacy and tolerability of sildenafil in patients with moderate-to-severe pulmonary hypertension. *Indian Heart J* 2003; 55: 55-9.
113. Kothari SS, Duggal B. Chronic oral sildenafil therapy in severe pulmonary artery hypertension. *Indian Heart J* 2002; 54: 404-9.
114. Ghofrani HA, Voswinckel R, Reichenberger F, et al. Differences in hemodynamic and oxygenation responses to three different phosphodiesterase-5 inhibitors in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1488-96.
115. Ruiz MJ, Escribano P, Delgado JF, et al. Efficacy of sildenafil as a rescue therapy for patients with severe pulmonary arterial hypertension and given long-term treatment with prostanoids: 2-year experience. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25: 1353-7.
116. Ghofrani HA, Schermuly RT, Rose F, et al. Sildenafil for long-term treatment of nonoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 1139-41.
117. Mukhopadhyay S, Sharma M, Ramakrishnan S, et al. Phosphodiesterase-5 inhibitor in Eisenmenger syndrome: a preliminary observational study. *Circulation* 2006; 114: 1807-10.
118. Singh TP, Rohit M, Grover A, Malhotra S, Vijayvergiya R. A randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study to evaluate the efficacy of oral sildenafil therapy in severe pulmonary artery hypertension. *Am Heart J* 2006; 151: 851.e1-e5.
119. Chau EM, Fan KY, Chow WH. Effects of chronic sildenafil in patients with Eisenmenger syndrome versus idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol* 2007; 120: 301-5.
120. Schumacher YO, Zdebek A, Huonker M, Kreisel W. Sildenafil in HIV-related pulmonary hypertension. *AIDS* 2001; 15: 1747-8.
121. Al-Hesayen A, Floras JS, Parker JD. The effects of intravenous sildenafil on hemodynamics and cardiac sympathetic activity

- in chronic human heart failure. *Eur J Heart Fail* 2006; 8: 864-8.
122. Phillips BG, Kato M, Pesek CA, et al. Sympathetic activation by sildenafil. *Circulation* 2000; 102: 3068-73.
 123. Chua TP, Coats AJ. The lungs in chronic heart failure. *Eur Heart J* 1995; 16: 882-7.
 124. Guazzi M. Alveolar-capillary membrane dysfunction in heart failure: evidence of a pathophysiologic role. *Chest* 2003; 124: 1090-102.
 125. Guazzi M, Tumminello G, Di Marco F, Fiorentini C, Guazzi MD. The effects of phosphodiesterase-5 inhibition with sildenafil on pulmonary hemodynamics and diffusion capacity, exercise ventilatory efficiency, and oxygen uptake kinetics in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 2339-48. **Prima evidenza che la somministrazione acuta di sildenafil (50 mg) migliori la diffusione alveolo-capillare per il monossido di carbonio, consumo di ossigeno di picco ed efficienza ventilatoria da sforzo in pazienti con ipertensione polmonare da disfunzione ventricolare sinistra di grado lieve-moderato.**
 126. Lewis GD, Lachmann J, Camuso J, et al. Sildenafil improves exercise hemodynamics and oxygen uptake in patients with systolic heart failure. *Circulation* 2007; 115: 59-66.
 127. Klodell CT Jr, Morey TE, Lobato EB, et al. Effect of sildenafil on pulmonary artery pressure, systemic pressure, and nitric oxide utilization in patients with left ventricular assist devices. *Ann Thorac Surg* 2007; 83: 68-71.
 128. Hirata K, Adji A, Vlachopoulos C, O'Rourke MF. Effect of sildenafil on cardiac performance in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 2005; 96: 1436-40.
 129. Oliver JJ, Melville VP, Webb DJ. Effect of regular phosphodiesterase type 5 inhibition in hypertension. *Hypertension* 2006; 48: 622-7.
 130. Guazzi M, Tumminello G, Di Marco F, Guazzi MD. Influences of sildenafil on lung function and hemodynamics in patients with chronic heart failure. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76: 371-8.
 131. Katz SD, Balidemaj K, Homma S, Wu H, Wang J, Maybaum S. Acute type 5 phosphodiesterase inhibition with sildenafil enhances flow-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 845-51.
 132. Hryniewicz K, Dimayuga C, Hudaihed A, et al. Inhibition of angiotensin-converting enzyme and phosphodiesterase type 5 improves endothelial function in heart failure. *Clin Sci (Lond)* 2005; 108: 331-8.
 133. Chen Y, Traverse JH, Hou M, Li Y, Du R, Bache RJ. Effect of PDE5 inhibition on coronary hemodynamics in pacing-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284: H1513-H1520.
 134. Guazzi M, Reina G, Tumminello G, Guazzi MD. Exercise ventilation inefficiency and cardiovascular mortality in heart failure: the critical independent prognostic value of the arterial CO₂ partial pressure. *Eur Heart J* 2005; 26: 472-80.
 135. Francis DP, Shamim W, Davies LC, et al. Cardiopulmonary exercise testing for prognosis in chronic heart failure: continuous and independent prognostic value from VE/CO₂ slope and peak VO₂. *Eur Heart J* 2000; 21: 154-61.
 136. Guazzi M, Samaja M, Arena R, Vicenzi M, Guazzi MD. Long-term use of sildenafil in the therapeutic management of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 2136-44. **Studio placebo-controllato che ha coinvolto 44 pazienti con insufficienza cardiaca cronica in condizioni stabili e trattati in maniera ottimale con terapia medica, randomizzati a 6 mesi di terapia con sildenafil (50 mg 3 volte/die) o placebo. L'inibizione della fosfodiesterasi-5 ha determinato un significativo miglioramento della funzione endoteliale, della performance fisica massima e dell'efficienza ventilatoria. Lo studio evidenzia anche un miglioramento soggettivo in termini di qualità di vita e sintomi (sensazione dispnoica).**
 137. Benedict N, Seybert A, Mathier AM. Evidence-based pharmacologic management of pulmonary arterial hypertension. *Clin Ther* 2007; 29: 2134-53.
 138. Kass DA, Champion HC, Beavo JA. Phosphodiesterase type 5: expanding role in cardiovascular regulation. *Circ Res* 2007; 101: 1084-95.
 139. Croom KF, Curran MP, Abman SH, et al. Sildenafil: a review of its use in pulmonary arterial hypertension. *Drugs* 2008; 68: 383-97.