

Inhibidores de la 5-Fosfodiesterasa (PDE-5i):

Una futura alternativa para el manejo de la aterosclerosis

5-Phosphodiesterase (PDE-5i) Inhibitors: A future alternative for atherosclerosis management

¹Juan Vicente Gómez-Barrios, ²Manuel Eduardo Gómez

¹Farmacéutico/Doctor en Farmacología, ULA/UCV. Sección de Farmacología. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Barquisimeto, Venezuela.

²Médico Cirujano/Especialista en Medicina Interna. ULA/LUZ. Instituto Venezolano de Los Seguros Sociales (IVSS). Sociedad Venezolana de Medicina Interna (SVMI). Presidente Capítulo Trujillo. Trujillo, Venezuela.

Correspondencia: Juan V. Gómez-Barrios. Sección de Farmacología. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Av. Libertador con Av. Vargas. Barquisimeto 3001. Venezuela. e-mail: jvgomezbarrios@gmail.com

Resumen

El sildenafil es un inhibidor selectivo de la 5 fosfodiesterasa (PDE-5i), que se ha empleado en el tratamiento de la disfunción eréctil (DE) masculina y recientemente en la hipertensión pulmonar. El descubrimiento de que la PDE-5i está presente en el endotelio y las células del músculo liso vascular de los vasos sistémicos, ha llevado a los investigadores estudiar los efectos adicionales PDE-5i, entre ellos el sildenafil. La patogénesis de la disfunción endotelial y la DE, está íntimamente relacionada a través de la disminución de la expresión y la activación de la óxido nítrico sintasa (NOS) endotelial y las acciones fisiológicas del óxido nítrico (NO). Además, la actividad biológica reducida del NO derivado de endotelio de los vasos sanguíneos sistémicos, sugiere una posible relación entre la aterosclerosis y la DE, y pone de relieve el papel de la disfunción endotelial en la patogénesis de ambas afecciones. El objetivo de la presente revisión es analizar los efectos sistémicos de la administración de PDE-5i en diferentes modelos animales experimentales y en pacientes, y establecer las posibles aplicaciones de estos fármacos en el futuro próximo como herramientas terapéutica en el manejo de la aterosclerosis y como cardioprotector.

Palabras claves: sildenafil, inhibidores de la 5 fosfodiesterasa, aterosclerosis, endotelio, óxido nítrico.

Abstract

Sildenafil has been used in the treatment of male erectile dysfunction (ED) and recently for pulmonary hypertension. The discovery that PDE-5i is present in the systemic artery endothelium and vascular smooth muscle cells, led researchers to study the additional effects of sildenafil. The pathogenesis of endothelial dysfunction and ED is intimately related through the decrease in the expression and activation of endothelial nitric oxide synthase (NOS) and the physiological actions of nitric oxide (NO). In addition, the reduced biological activity of

NO derived from endothelium links atherosclerosis to ED and highlights the role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of both conditions. The aim of the present review is to analyze the systemic effects of PDE-5i administration in different experimental models and patients to assess the possible applications that these drugs can have in the near future as a novel treatment in atherosclerosis or as cardioprotector.

Keywords: sildenafil, Phosphodiesterase 5 Inhibitors, atherosclerosis, endothelium, nitric oxide.

Introducción

Aterosclerosis, proceso inflamatorio y óxido nítrico

La aterosclerosis es una enfermedad vascular crónica de naturaleza degenerativa, inflamatoria y/o inmunológica, que involucra cambios y alteraciones en los vasos sanguíneos que conducen a una modificación del tejido vascular y una reducción de la luz de la pared vascular (Espinola-Klein y col., 2007; Hahn y col., 2007). Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Berliner y col., 1995; de Nigris y col., 2001), especialmente sus formas oxidadas, la disminución de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y la iniciación del proceso inflamatorio, que alteran la permeabilidad de la pared vascular (Frisinghelli y Mafrici, 2007), sumando a esto, el aumento de la permeabilidad de las LDL por el endotelio, lo cual determina la formación de la estría de grasa, ya que permite que las LDL se internalicen y se unan a los proteoglicanos que conforman la matriz extracelular (Stoll y Bendszus, 2006; Zanoni y col., 2018). Lo que trae como resultado, la disfunción endotelial de la enfermedad aterosclerótica.

Ahora bien, la disfunción endotelial como lesión vascular, está acompañada de una disminución en la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) (Cawley y col., 2007), donde la activa-

ción de la guanilato ciclasa por parte del NO y la consiguiente síntesis del segundo mensajero, guanosina monofosfato cíclico (GMPc), es fundamental para la regulación del tono vascular y el mantenimiento de las propiedades antitrombóticas del endotelio (Badimon y Vilahur, 2006).

La activación de la proteína quinasa dependiente de GMPc, la cual fosforila los transportadores de calcio disminuyendo la concentración de este catión en el espacio intracelular, produciendo la relajación de las células musculares lisas (Stoll y Bendzsus, 2006). El NO, es un gas que reacciona fácilmente con radicales libres presentes en su propio entorno (citoplasma de la célula endotelial) y la magnitud de la reacción, dependerá de la concentración de radicales libres de oxígeno, particularmente del anión superóxido, y por ello, la actividad del NO está inversamente relacionada con el estado oxidativo extracelular (Gandaglia y col., 2014; Li y col., 2014). El NO ha sido reconocido como un mediador protector de la aterosclerosis, particularmente de los vasos sanguíneos del daño vascular endógeno y en la inhibición de la migración y proliferación de las células del músculo liso vascular (VSMC) (Ziquian y col., 2015).

PDE-5i, disfunción eréctil y endotelio

El tratamiento de la disfunción eréctil cambió radicalmente con los inhibidores selectivos de la 5-fosfodiesterasa (PDE-5i). Desde la introducción del sildenafil, estos fármacos han sido ampliamente prescritos en el mundo (Salom y col., 2006) y numerosas disciplinas médicas han demostrado la estrecha relación entre la disfunción endotelial y la disfunción eréctil, e incluso la disfunción eréctil como un marcador temprano de la condición cardiovascular (Nehra y col., 2013; Androshchuk y col., 2015).

Las 5-fosfodiesterasas (PDE-5), pertenecen a la superfamilia de enzimas que inactivan la adenosina monofosfato cíclico (AMPc) y el GMPc, los cuales son compuestos que actúan como segundos mensajeros intracelulares en la señalización de la prostaciclina y el NO. Su mecanismo de acción consiste en ser inhibidores selectivos de la enzima PDE-5, lo que provoca un incremento en los niveles de GMPc y NO (Shukla y col., 2005). Efecto que durante la estimulación sexual, causa una liberación local de NO y con la inhibición de la PDE-5 se incrementan los niveles de GMPc en el cuerpo cavernoso. El incremento en los niveles de GMPc, conduce a una reducción de los niveles de calcio intracelular, de tal modo, que produce una relajación en el músculo liso en el cuerpo cavernoso y un incremento en el flujo sanguíneo en el tejido eréctil (Das y col., 2015; Duarte-Silva y col., 2018).

La disfunción eréctil forma parte de otros factores de riesgo para las enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, hipertensión arterial, dislipidemias, diabetes mellitus, factores de riesgo como fumar, la obesidad y patrones de vida sedentarios (Gandaglia y col., 2014), es por ello, que como la PDE-5 está presente en el músculo liso de arterias y venas a lo largo del cuerpo humano, el uso de los PDE-5i ha sido asociado con diversos efectos cardiovasculares (Bur-

nett, 1995; Larré y col., 2018). La disfunción eréctil se concibe hoy día como un marcador de disfunción endotelial y de riesgo cardiovascular, ya que el endotelio disfuncionante no tiene una adecuada producción de NO efectivo para producir relajación de las arterias de los cuerpos cavernosos (Nehra y col., 2013), en otras palabras, la disfunción endotelial, es un componente temprano de la aterosclerosis que pueden dar a lugar eventos como la disfunción eréctil.

PDE-5i, disfunción endotelial, aterosclerosis y evidencias

La disfunción endotelial resulta de una disminución en la producción del NO derivado del endotelio (Cawley y col., 2007) y esto puede ser atribuido a una desregulación de la producción del ARNm de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) y de la cicloxigenasa 2 (COX-2), las cuales son requeridas por sus propiedades vasodilatadores en el endotelio. La función endotelial está alterada en pacientes con isquemia cardíaca, diabetes mellitus y enfermedad arterial coronaria (Duarte-Silva y col., 2018). Por ejemplo, se han descrito los efectos beneficiosos de los PDE-5i sobre la función endotelial en diabéticos. Ahn y col., 2005, en ratas diabéticas demostraron que el DA-8159 (un PDE-5i) administrado de forma crónica, produce atenuación en el desarrollo la disfunción eréctil y su efecto está asociado al mejoramiento de la disfunción endotelial. Adicionalmente, en estudios en humanos, se demostró que el sildenafil limita el daño al miocardio por inhibición de la disfunción endotelial (Gori y col., 2005; Schwarz y col., 2007).

La patogénesis de la disfunción endotelial y la disfunción eréctil, está íntimamente relacionada con la disminución de la expresión y la activación de la eNOS y las acciones fisiológicas posteriores del NO. Además, la actividad biológica reducida del NO derivado del endotelio, relaciona a la aterosclerosis a la disfunción eréctil y pone de relieve el papel de la disfunción endotelial en la patogénesis de ambas afecciones. La evidencia indica que el uso diario de los PDE-5i mejora la función del endotelio y que este beneficio se pierde con la abstinencia del fármaco. La administración de PDE-5i diariamente, también puede mejorar los síntomas del tracto inferior urinario, relacionados con la hiperplasia prostática benigna a través de una reducción del aumento del tono adrenérgico (Aversa y col., 2008).

Balarini y col., 2013, en un modelo de hipercolesterolemia, que desarrolla disfunción endotelial (en ratones knockout de ApoE^{-/-}) muy parecida a la de los humanos, la administración crónica de sildenafil, mostró un efecto beneficioso en las arterias aisladas de estos ratones, aumentando el efecto vasodilatador de la acetilcolina y provocando una disminución de casi un 40% de los depósitos de placa en la aorta. Utilizando el mismo PDE-5i y modelo en ratones, Valatsou y col. (2017), provocaron isquemia unilateral en las extremidades posteriores con ligadura de la arteria femoral izquierda, obteniendo en los ratones que recibieron sildenafil un aumento en la perfusión en la extremidad con isquemia y una disminución de la molécula de adhesión intracelular 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1), la E-selectina en comparación con el

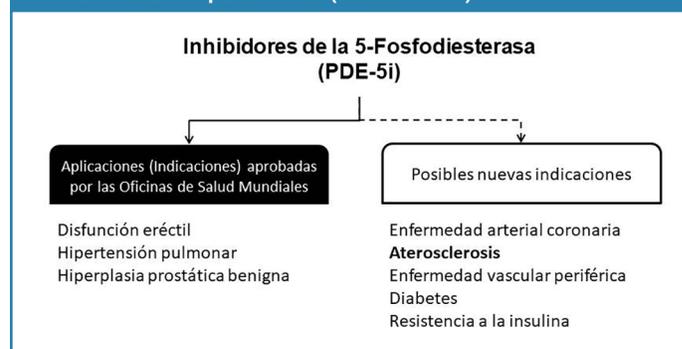
grupo control, demostrando que el sildenafil mejora la perfusión tisular y la revascularización, así como la regulación hacia abajo de las moléculas proinflamatorias que resultan de la isquemia de las extremidades, mostrando así las posibles propiedades de protección vascular de este PDE-5i. Por otro lado, Bernardes y col. (2016), evaluaron el efecto protector del sildenafil en un modelo murino de ratones con aterosclerosis inducido por el knockout de la Apolipoproteína E (ApoE^{-/-}), en los que el tratamiento con sildenafil fue capaz de reducir los niveles incrementados de anión superóxido y peróxido de hidrogeno. Igualmente, el sildenafil ejerció efectos protectores sobre el ADN de las células de la médula ósea de estos ratones (ApoE^{-/-}), disminuyendo la fragmentación del ADN y disminuyendo la frecuencia de células micronucleadas. Resultados similares fueron reportados por Rodrigues y col. (2013), quienes evaluaron el efecto del sildenafil sobre la genotoxicidad de las células mononucleares sanguíneas (MNC) y las células hepáticas de los ratones knockout de ApoE^{-/-} ateroscleróticos. Los ratones que recibieron crónicamente sildenafil, exhibieron niveles reducidos de anión superóxido en las MNC y menos fragmentación de ADN en las MNC y células hepáticas, los cuales son biomarcadores de genotoxicidad.

La proliferación de células endoteliales cumple un papel crucial en el desarrollo de la intraplaca en la angiogénesis y es una fuente importante de hemorragia en la misma y por lo tanto, contribuye a la desestabilización de las placas ateroscleróticas. Erdogan y col. (2007), evaluaron el efecto del sildenafil sobre el crecimiento de las células endoteliales humanas derivadas de venas del cordón umbilical (HUVEC), obteniendo que la proliferación de células endoteliales humanas cultivadas disminuyó ($p \leq 0,05$) y redujo significativamente la proliferación endotelial inducida por el factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF) ($p \leq 0,05$). Demostrando un efecto antiangiogénico del sildenafil, que podría ser útil en la prevención de la vascularización de la placa aterosclerótica.

Santi y col. (2016) investigaron si el tratamiento prolongado (por 24 semanas) con un PDE-5i (vardenafil) mejoraba la función endotelial sistémica en hombres diabéticos, logrando demostrar en un estudio doble ciego, que el vardenafil administrado crónicamente es eficaz y mejora los parámetros endoteliales en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Además, mejora el hipogonadismo en hombres diabéticos e hipogonadales, aumentando significativamente los niveles de testosterona. Por otro lado, Mammi y col. (2011), también en pacientes diabéticos, demostraron que el sildenafil, puede aumentar la expresión de proteínas de la NOS en el corazón y cardiomiocitos, sobre las células endoteliales en condiciones de resistencia a la insulina in vitro. En este mismo estudio, utilizando un análisis citofluorimétrico se demostró que el sildenafil aumentó significativamente la producción de NO en condiciones basales a través de la activación de eNOS y reduciendo el estrés oxidativo inducido por la hiperglicemia y la glucosamina. Sin embargo, otro estudio realizado por Ho y col. (2014) utilizaron tadalafil en pacientes obesos, aun cuando no mejoró significativamente la resistencia a la insulina, si mostró un efecto favorable en la compensación de las células beta, particularmente en los individuos con obesidad severa.

Ziqiang y col. (2015), utilizando un modelo de vasculopatía por aloinjerto, evaluaron ratas que recibieron trasplantes de aorta de ratas previamente tratadas con tadalafil. Los resultados demostraron que este PDE-5i, puede restaurar la función endotelial disminuyendo el espesor de la neointima de la aorta en ratas e incrementando las concentraciones en el tejido de GMPc y la expresión de la quinasa dependiente de GMPc. También Leal y col. (2017), evaluaron la posible contribución relativa del sildenafil sobre las ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2), tromboxano A2 (TXA2), endotelina-1 (ET-1) y la mejora de la hiperreactividad vascular en un modelo de aterosclerosis (ApoE^{-/-}), encontrando que los ratones que recibieron el PDE-5i presentaron una contractibilidad mejorada en presencia de estos mediadores. Adicionalmente, se observaron niveles aumentados de citoquinas proinflamatorias vasculares como (IL-6, la relación IL-10/IL-6 y MCP-1) en ratones ApoE^{-/-}; estas se corrigieron parcialmente mediante el tratamiento con sildenafil.

Figura 1. Aplicaciones médicas aprobadas de los PDE-5i y potenciales futuras aplicaciones (indicaciones).



Conclusiones

Los efectos de los inhibidores de la PDE-5i sobre la vasodilatación mediada por NO y GMPc están bien descritos. Sin embargo, existe evidencia tanto preclínica como clínica, donde se estudian los mecanismos a través de los cuales los PDE-5i benefician la función endotelial, incluyendo la normalización de biomarcadores séricos, mayores niveles de células progenitoras endoteliales, normalización del inotropismo cardíaco, mejorar la actividad NOS de las células endoteliales en condiciones de resistencia a la insulina y sugieren el posible uso terapéutico de sildenafil para mejorar la función vascular en pacientes diabéticos y sobre las citoquinas proinflamatorias, lo que abre nuevas perspectivas para el tratamiento de otras anomalías cardiovasculares relacionadas con el endotelio. Por otra parte, estudios preclínicos han demostrado que los PDE-5i tienen un potente efecto protector contra varios escenarios clínicos que incluyen isquemia miocárdica / lesión por re-perfusión, doxorubicina y post-IM, insuficiencia cardíaca, hipertrofia cardíaca, trasplante cardíaco, distrofia muscular de Duchenne y pre-acondicionamiento de células madre. Lo que abre una posibilidad futura como nueva opción terapéutica en estos estados patológicos.

A través de los años, la evolución de la medicina ha dado y sigue mostrando sorpresas con los nuevos usos de los

fármacos, la aspirina, hoy como antiagregante plaquetario, la amiodarona como antipalúdico, los antidepresivos para el tratamiento del dolor neuropático y los antitusígenos como el ambroxol, utilizado hoy como anestésico local, entre otros, son ejemplos de nuevas aplicaciones terapéuticas a fármacos que inicialmente han sido aprobados para otros usos al momento de ser registrados en las oficinas de salud del mundo.

Como hace 30 años, el ácido acetilsalicílico, se convirtió en una excelente opción para evitar la agregación plaquetaria, siendo un AINES, exitoso por décadas, seguramente veremos en un futuro, los nuevos usos y efectos pleiotrópicos de los PDE-5i (sildenafil, vardenafil, tadalafil), más allá de la disfunción eréctil, como coadyuvantes en el manejo de la aterosclerosis, cardioprotector, pre-eclampsia, diabetes y cáncer, como para la aspirina fue el manejo del dolor. Por ello, la evidencia existente indica que los PDE-5i, en el futuro cercano, pueden convertirse en una herramienta terapéutica de gran efectividad para el manejo y la prevención del proceso aterosclerótico.

Referencias

- Ahn GJ, Ju JY, Choi SM, Ahn BO, Kwon JW. Chronic administration of phosphodiesterase 5i improves erectile and endothelial function in a rat model of diabetes. *Int J Androl.* 2005; 28: 260-266.
- Androshchuk V, Pugh N, Wood A, Ossei-Gerning N. Erectile dysfunction: a window to the heart. *BMJ Case Rep.* 2015 Apr 28.
- Aversa A, Caprio M, Rosano GM, Spera G. Endothelial effects of drugs designed to treat erectile dysfunction. *Curr Pharm Des.* 2008; 14(35):3768-78.
- Balarini CM, Leal MA, Gomes IB, Pereira TM, Gava AL, Meyrelles SS, Vasquez EC. Sildenafil restores endothelial function in the apolipoprotein E knockout mouse. *J Transl Med.* 2013; Jan 5 11:3.
- Badimón L, Vilahur G. Progresión de la aterosclerosis. Transformación de enfermedad silente a síndrome coronario agudo. En, *Aterosclerosis al Día VI.* Editado por, Soltero Pérez I. Asociación Venezolana de Aterosclerosis (AVA). Litho Henrog, CA. 2006; pp. 605-645.
- Bernardes FP, Batista AT, Porto ML, Vasquez EC, Campagnaro BP, Meyrelles SS. Protective effect of sildenafil on the genotoxicity and cytotoxicity in apolipoprotein E-deficient mice bone marrow cells. *Lipids Health Dis.* 2016; May 27 15:100.
- Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation.* 1995; 91(9):2488-96.
- Burnnett AL. Role nitric oxide in the physiology of erection. *Biol Reprod.* 1995; 52:485.
- Cawley SM, Sawyer CL, Brunelli KF, van der Vliet A, Dostmann WR. Nitric oxide-evoked transient kinetics of cyclic GMP in vascular smooth muscle cells. *Cell Signal.* 2007; 19: 1023-1033.
- Das A, Durrant D, Salloum FN, Xi L, Kukreja RC. PDE5 inhibitors as therapeutics for heart disease, diabetes and cancer. *Pharmacol Ther.* 2015; Mar 147:12-21.
- de Nigris F, D'Armiento FP, Somma P, Casini A, Andreini I, Sarlo F, Mansueto G, De Rosa G, Bonaduce D, Condorelli M, Napoli C. Chronic treatments with sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibitors reduce susceptibility of plasma LDL to in vitro oxidation, formation of oxidation-specific epitopes in the arterial wall, and atherogenesis in apolipoprotein E knockout mice. *Int J Cardiol.* 2001; 81:107-115.
- Duarte-Silva E, Araújo SMDR, Oliveira WH, Lós DB, França MER, Bonfanti AP, Peron G, Thomaz LL, Verinaud L, Nunes AKS, Peixoto CA. Sildenafil ameliorates EAE by decreasing apoptosis in the spinal cord of C57BL/6 mice. *J Neuroimmunol.* 2018; Aug 15 321:125-137.
- Erdogan A, Luedders DW, Muenz BM, Schaefer CA, Tillmanns H, Wiecha J, Kuhlmann CR. Sildenafil inhibits the proliferation of cultured human endothelial cells. *Int J Biomed Sci.* 2007; Jun 3(2):93-6
- Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Bickel C, Post F, Genth-Zotz S, Lackner K, Munzel T, Blankenberg S. Impact of metabolic syndrome on atherosclerotic burden and cardiovascular prognosis. *Am J Cardiol.* 2007; 99(12):1623-8.
- Frisinghelli A, Mafri A. Regression or reduction in progression of atherosclerosis, and avoidance of coronary events, with lovastatin in patients with or at high risk of cardiovascular disease: a review. *Clin Drug Investig.* 2007; 27(9):591-604.
- Gandaglia G, Briganti A, Jackson G, Klöner RA, Montorsi F, Montorsi P, Vlachopoulos C. A systematic review of the association between erectile dysfunction and cardiovascular disease. *Eur Urol.* 2014; May 65(5):968-78.
- Gori T, Sicuro S, Dragoni S, Donati G, Forconi S, Parker JD. Sildenafil prevents endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion via opening adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. An human in vivo study. *Circulation.* 2005;111: 721-723.
- Hahn B, Grossman J, Chen W, McMahon M. The pathogenesis of atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases: Roles of inflammation and dyslipidemia. *J Autoimmunity.* 2007; 28: 69-75.
- Ho JE, Arora P, Walford GA, Ghorbani A, Guanaga DP, Dhakal BP, Nathan DI, Buys ES, Florez JC, Newton-Cheh C, Lewis GD, Wang TJ. Effect of phosphodiesterase inhibition on insulin resistance in obese individuals. *J Am Heart Assoc.* 2014; Sep 11 3(5):e001001.
- Larré AB, Sontag F, Pasin DM, Paludo N, do Amaral RR, da Costa BEP, Poli-de-Figueiredo CE. Phosphodiesterase Inhibition in the Treatment of Preeclampsia: What Is New? *Figueiredo CE. Curr Hypertens Rep.* 2018; Jul 26;20(10):83.
- Leal MAS, Dias AT, Porto ML, Brun BF, Gava AL, Meyrelles SS, Gil-Longo J, Campos-Toimil M, Pereira TMC, Vasquez EC. Sildenafil (Viagra®) Prevents Cox-1/ TXA2 Pathway-Mediated Vascular Hypercontractility in ApoE^{-/-} Mice. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 44 (5): 1796-1809.
- Li H, Horke S, Förstermann U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2014; Nov 237(1):208-19.
- Mammi C, Pastore D, Lombardo MF, Ferrelli F, Caprio M, Consoli C, Tesaro M, Gatta L, Fini M, Federici M, Sbraccia P, Donadel G, Bellia A, Rosano GM, Fabbri A, Lauro D. Sildenafil reduces insulin-resistance in human endothelial cells. *PLoS One.* 2011; Jan 28 6(1):e14542.
- Nehra A, Jolly N, Rybak J. Review of erectile dysfunction and cardiovascular risk. *Minerva Urol Nefrol.* 2013; Jun 65(2):109-15.
- Newby AC. Molecular and cell biology of native coronary and vein-graft atherosclerosis: regulation of plaque stability and vessel-wall remodeling by growth factors and cell-extracellular matrix interactions. *Coron Artery Dis.* 1997; 8(3-4):213-24.
- Rodrigues BP, Campagnaro BP, Balarini CM, Pereira TM, Meyrelles SS, Vasquez EC. Sildenafil ameliorates biomarkers of genotoxicity

in an experimental model of spontaneous atherosclerosis. *Lipids Health Dis.* 2013; Aug 28 12:128

27. Santi D, Granata AR, Guidi A, Pignatti E, Trenti T, Roli L, Bozic R, Zaza S, Pacchioni C, Romano S, Nofer JR, Rochira V, Carani C, Simoni M. Six months of daily treatment with vardenafil improves parameters of endothelial inflammation and of hypogonadism in male patients with type 2 diabetes and erectile dysfunction: a randomized, double-blind, prospective trial. *Eur J Endocrinol.* 2016; Apr; 174(4):513-22.
28. Schwarz ER, Kapur V, Rodríguez J, Rastogi S, Rosario S. The effects of chronic phosphodiesterase-5 inhibitor use on different organ systems. *Intern J Impot Res.* 2007; 1-10.
29. Shukla N, Jones R, Persad R, Angelini GD, Jeremy JA. Effect of sildenafil citrate and a nitric oxide donating sildenafil derivative, NCX 911, on cavernosal relaxation and superoxide formation in hypercholesterolaemic rabbits. *Eur J Pharmacol.* 2005; 517: 224-231.
30. Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization. *Stroke.* 2006; 37(7):1923-32.
31. Valatsou A, Briasoulis A, Vogiatzi G, Pantopoulou A, Oikonomou E, Miliou A, Perrea D, Tousoulis D. Beneficial Effects of Sildenafil on Tissue Perfusion and Inflammation in a Murine Model of Limb Ischemia and Atherosclerosis. *Curr Vasc Pharmacol.* 2017; 15(3):282-287.
32. Zaroni P, Velagapudi S, Yalcinkaya M, Rohrer L, von Eckardstein A. Endocytosis of lipoproteins. *Atherosclerosis.* 2018; Aug 275:273-295.
33. Ziqiang X, Jingjun W, Jianjian Z, Yong L, Peng X. Tadalafil attenuates graft arteriosclerosis of aortic transplant in a rat model. *Iran J Basic Med Sci.* 2015; Sep 18(9):927-31.