

**Universidade Federal do Ceará  
Departamento de Cirurgia Geral  
Faculdade de Medicina**

**Fernando César Muniz Freitas**

**Ação sobre a via nitrérgica, e sobre os canais de cloreto e de potássio ATP dependentes, como mecanismo adicional de ação da ioimbina no relaxamento do músculo liso do corpo cavernoso de humanos: estudo *in vitro*.**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação de Cirurgia Geral da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Cirurgia Geral.

**Fortaleza**

**2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

## **Fernando César Muniz Freitas**

Ação sobre a via nitrérgica, e sobre os canais de cloreto e de potássio ATP dependentes, como mecanismo adicional de ação da ioimbina no relaxamento do músculo liso do corpo cavernoso de humanos: estudo *in vitro*.

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação de Cirurgia Geral da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Cirurgia Geral.

Coordenador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Flávio Gonzaga Silva.

**Fortaleza**

**2007**

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador, Prof. Dr. Lúcio Flávio Gonzaga Silva, antes de tudo um amigo, o qual foi o principal estimulador da minha entrada na vida acadêmica, persistente orientador e batalhador para que este trabalho científico fosse concluído.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos, chefe da pós-graduação em Cirurgia Geral da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela sabedoria, paciência e simpatia com que recebe e orienta todos os pós-graduandos.

Ao Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento, grande amigo e colaborador, pela sua arte em fazer ciência, e amor incondicional ao que faz.

À Dra. Eliana Régia Barbosa de Almeida, em nome de todos que fazem a Central de Transplante do Ceará pela grande cooperação na realização desta pesquisa.

Aos meus pais, que com paciência, dedicação e muito amor, me transformaram na pessoa que sou hoje.

À minha esposa Alessandra e ao meu filho Lucas, por estarem sempre ao meu lado, apoiando e compreendendo os longos períodos de ausência. Tudo o que fiz e faço é para ver sempre o amor e a felicidade presente em suas vidas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo fomento que foi providencial neste estudo.

Aos colegas da pós-graduação, pela paciência e companheirismo nessa caminhada árdua em busca da obtenção do nosso objetivo.

Aos familiares do doador cadáver, as minhas condolências e obrigado pelo desprendimento, mesmo em um momento de tanta dificuldade.

Ao doador cadáver, só Deus com seu poder e misericórdia o recompensará completamente pelo dom de permitir que uma parte do seu eu se transforme em ciência, e que trará motivo de conforto para outras pessoas.

A Deus, por me proporcionar os meios e a força necessária para vencer cada obstáculo colocado em minha vida, e com isso obter um crescimento espiritual e mental.

“Não há boa árvore que dê mau fruto, e nem má árvore que dê bom fruto.  
Porque cada árvore se conhece pelo seu próprio fruto.  
O homem bom, do bom tesouro de seu coração, tira o bem...”  
(Jesus Cristo, Novo Testamento - Lucas 6:43-45)

“A religião, a ciência e a filosofia ainda estão em desacordo em muitos pontos, porém concordam em que a vida tem uma finalidade. A vida é uma missão, uma procura.” (Giuseppe Mazzini)

“Dai-me senhor, Senhor, sensatez ao começar, direção ao progredir e perfeição ao concluir.” (São Tomás de Aquino)

<b>Sumário</b>	<b>página</b>
Lista de abreviaturas	
Lista de Tabelas	
Lista de Figuras	
Resumo	
Abstract	
Introdução	15
Anatomia e Fisiologia da ereção Peniana	15
Disfunção erétil	22
Ioimbina	24
Objetivo do estudo	25
Material e métodos	26
Material	26
Método	27
Do estudo	27
Da coleta do corpo cavernoso	27
Da manutenção dos tecidos	27
Do processamento e montagem do tecido	28
Dos experimentos	29
Análise estatística	30
Resultados	31
Discussão	40
Conclusões	47
Referências	48

### **Lista de Abreviaturas:**

- 7-NI (7-nitroindazole)
- AMPc - adenosina monofosfato cíclico
- APA - apamina
- ATP - adenosina trifostato
- AVC - acidente vascular cerebral
- Bk<sub>Ca</sub> - canal de potássio sensível a cálcio
- Ca<sup>++</sup> - cálcio
- CaCl<sub>2</sub> - Cloreto de Cálcio
- CGRP - peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina
- Cl<sup>-</sup> - cloreto
- CTx - charybdotoxina
- DAG - diacilglicerol
- DE - disfunção erétil
- eNOS - óxido nítrico sintetase constitutiva endotelial
- FEN - fenilefrina
- Fig - figura
- GLI - glibenclamida
- GMPc - guanosina monofosfato cíclica
- IOI - ioimbina
- IP<sub>3</sub> - trifosfato de inositol
- K<sup>+</sup> - potássio
- K<sub>ATP</sub>: canal de potássio sensível à adenosina trifostato
- Kcl - cloreto de potássio
- KHS - solução de Krebs-Henseleit
- K<sub>V</sub> - canal de K<sup>+</sup> voltagem-dependente e ativado por Ca<sup>++</sup>
- L-NAME: N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester
- MgSO<sub>4</sub> - sulfato de magnésio
- MMAS - Massachusetts Male Aging Study
- Na<sup>+</sup> - sódio
- Nacl - Cloreto de Sódio
- NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - fosfato de sódio monobásico
- NaHCO<sub>3</sub> - bicarbonato de sódio



- NANC - não-adrenérgicas não-colinérgicas
- nNOS - óxido nítrico sintetase constitutiva neuronal
- NO - óxido nítrico
- NOS: óxido nítrico sintetase
- ODQ: (1H-[1,2,4] Oxadiazolo [4,3-a]quinoxalin-1-ona
- PDE5 - fosfodiesterase 5
- PK - proteína cinase
- PKC - proteína cinase C
- RA  $\alpha$  - receptor adrenérgico  $\alpha$
- RA  $\alpha_2$  - receptores adrenérgicos  $\alpha_2$
- SBU - Sociedade Brasileira de Urologia
- SNC – sistema nervoso central
- Tab - tabela
- TCE - traumatismo crânio-encefálico
- TEA - tetraetilamônio
- TTX - tetrodotoxina
- VIP - peptídeo intestinal vasoativo

**Lista de Tabelas:**

Tabela 1 - Substâncias químicas utilizadas no estudo farmacodinâmico da IOI.

Tabela 2 - Composição da solução de Krebs-Henseleit (mM) pH 7,4.

Tabela 3 - percentual de relaxamento da IOI após pré-contracção com solução de K<sup>+</sup> ou com FEN.

Tabela 4 - percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com TTX.

Tabela 5 - percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com ODQ, 7-NI e L-NAME.

Tabela 6 - percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com TEA, APA-CTx e GLI.

**Lista de Figuras:**

Fig 1 - Secção transversal do pênis.

Fig 2 - Trama arterial e venosa do aparelho genital masculino.

Fig 3 - Esquema do mecanismo vascular de relaxamento e contração peniana.

Fig 4 - Inervação peniana.

Fig 5 - Mecanismo de contração/relaxamento do músculo liso do corpo cavernoso.

Fig 6 - Mecanismo molecular da contração muscular peniana.

Fig 7 - Mecanismo molecular do relaxamento muscular peniano.

Fig 8 – molécula da ioimbina.

Fig 9 – Esquema do mecanismo de bloqueio alfa-adrenérgico da IOI.

Fig 10 – Gráfico original do relaxamento do corpo cavernoso humano ocasionado pela IOI após pré-contração com FEN.

Fig 11 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Círculos vermelhos representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ) e triângulos azuis o efeito da mesma sobre tecidos contraídos previamente com solução despolarizante rica em potássio ( $60 \text{ mM}$ ), com concentração de cálcio de  $2 \text{ mM}$  e em um meio nutritivo contendo  $10 \mu\text{M}$  guanetidina (simpatolítico químico) e  $10 \mu\text{M}$  fentolamina (bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico).

Fig 12 - percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4} \text{ M}$ ) após pré-contração com solução de  $\text{K}^+$  ou com FEN

Fig 13 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Triângulos azuis representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ) associada à TTX ( $100\mu\text{M}$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ).

Fig 14 - percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4} \text{ M}$ ) associada ou não à TTX.

Fig 15 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Triângulos verdes representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ) associada ao ODQ ( $10 \mu\text{M}$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ).

- Fig 16 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Triângulos verdes representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ) associada ao 7-NI ( $10 \mu\text{M}$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ).
- Fig 17 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Triângulos verdes representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ) associada ao L-NAME ( $100\mu\text{M}$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ).
- Fig 18 - percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) associada ou não ao ODQ, 7-NI e L-NAME.
- Fig 19 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Quadrados azuis representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ) associada ao TEA ( $100\mu\text{M}$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ).
- Fig 20 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Quadrados azuis representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ) associada à APA ( $0,1 \mu\text{M}$ ) e CTx ( $1,0 \mu\text{M}$ ) , e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ).
- Fig 21 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Quadrados azuis representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ) associada à GLI ( $10 \mu\text{M}$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ).
- Fig 22 - percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) associada ou não ao TEA, APA-CTx e GLI.
- Fig 23 - Esquema de hipótese que mostra a regulação pré-juncional dos nervo NANC penianos. Receptores muscarínicos pré-juncionais (M) estimulam liberação de NO e os RA  $\alpha_2$  inibem essa liberação.

## **RESUMO**

**AÇÃO SOBRE A VIA NITRÉRGICA, E SOBRE OS CANAIS DE CLORETO E DE POTÁSSIO ATP DEPENDENTES, COMO MECANISMO DE AÇÃO ADICIONAL DA IOIMBINA NO RELAXAMENTO DO MÚSCULO LISO DO CORPO CAVERNOSO DE HUMANOS: ESTUDO *IN VITRO*.**

Fernando César Muniz Freitas  
Orientador: Lúcio Flávio Gonzaga Silva

**Introdução:** Cerca de 52% dos homens na faixa etária entre 40 e 70 anos sofrem de disfunção erétil (DE). A ioimbina (IOI), um inibidor adrenérgico  $\alpha_2$ , vem sendo usada no tratamento da DE há décadas, e ainda tem as suas indicações, porém seu mecanismo de ação ainda permanece obscuro. A maior parte dos estudos com IOI foi realizada em corpos cavernosos e aorta de ratos e coelhos, devido à dificuldade de se obter tecido humano. O objetivo deste estudo é definir o mecanismo de ação não-adrenérgico não-colinérgico da IOI, avaliando a via nitrérgica e a via dos canais iônicos no músculo liso de corpo cavernoso humano.

**Métodos:** Os corpos cavernosos foram retirados de 13 doadores cadáveres masculinos (idade 18-53 anos), durante cirurgia pra retirada de órgãos para transplante, seguindo os protocolos de doação de tecidos. As tiras de músculo cavernoso humano foram montadas verticalmente em paralelo, em banho de registro isométrico em solução de KHS (pH 7,4, a 37°C), constantemente aerada (O<sub>2</sub>-95% e CO<sub>2</sub>-5%). Foram realizadas curvas dose-resposta com IOI ( $10^{-12}$  –  $10^{-4}$  M) em tiras de corpos cavernosos de humanos pré-contraídas com fenilefrina (10  $\mu$ M) e com solução despolarizante rica em potássio (60 mM de K<sup>+</sup>), em associação com inibidores da via nitrérgica e da via de canais iônicos (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>), para estudo das vias NANC.

**Resultados:** A IOI obteve relaxamento importante das tiras de corpo cavernoso humano *in vitro* na dose  $10^{-4}$  M. Após pré-contracção com fenilefrina (10  $\mu$ M), as tiras submetidas à IOI nesta dose, relaxaram 95,8%, e quando a pré-contracção foi realizada com solução despolarizante rica em K<sup>+</sup> (60 mM de K<sup>+</sup>), Ca<sup>++</sup> (2 mM), contendo 10  $\mu$ M guanetidina (simpatolítico químico) e 10  $\mu$ M fentolamina (bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico), o relaxamento foi de 69,5% (p<0,05). A IOI ( $10^{-4}$ M), após pré-contracção com fenilefrina (10  $\mu$ M), e na presença de 7-NI (10 $\mu$ M) e do L-NAME (100 $\mu$ M) (bloqueadores das enzimas óxido nítrico sintetases constitutivas (nNOS e eNOS, respectivamente)) e do ODQ (inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel - 10 $\mu$ M) proporcionou relaxamento do músculo cavernoso humano de 57,4%; 55,5%; 62,99%; respectivamente (p<0,05). Em associação com TTX (Tetrodotoxina - bloqueador do canal de sódio neuronal - 100 $\mu$ M), TEA (tetraetilamonio - bloqueador de canais de potássio voltagem-dependentes ativados por cálcio - 100 $\mu$ M), e com apamina + charybdotoxina (inibidores dos canais de potássio ativados por cálcio de baixa, média e alta condutância - 0,1 $\mu$ M + 1 $\mu$ M), obteve-se relaxamento de 56,4%; 100%; 100% respectivamente (p>0,05). Já com a glibenclamida (inibidor dos canais de K<sub>ATP</sub> e de Cl<sup>-</sup> - 10 $\mu$ M), proporcionou relaxamento de 71,1% (p<0,05).

**Conclusão:** Os resultados dos estudos farmacológicos sugerem que a IOI relaxa o corpo cavernoso de humano por mecanismo outro que não o seu bloqueio adrenérgico, possivelmente ativando a via nitrérgica, e via canais de K<sub>ATP</sub> e de Cl<sup>-</sup> (NO – GUANILATO CICLASE – GMPc – canais de K<sub>ATP</sub> e de cloreto). A IOI não age via canais de Na<sup>+</sup>, e nem atua via canais de potássio voltagem-dependentes ativados por cálcio, como também não age nos canais de potássio ativados por cálcio de baixa, média e alta condutância.

**Palavras-chave:** ioimbina, corpo cavernoso, disfunção erétil, canais de K<sup>+</sup>.

## ABSTRACT

**IOIMBINA ACTING ON NITRERGIC WAY, AND ON ATP-SENSITIVE K<sup>+</sup> CHANNEL AND CHLORIDE CHANNEL, AS ADDITIONAL YOHIMBINE'S MECHANISM OF ACTION UPON RELAXATION OF THE HUMAN CORPUS CAVERNOSUM SMOOTH MUSCLE: IN VITRO STUDY.**

Fernando César Muniz Freitas  
Advisor: Lúcio Flávio Gonzaga Silva

**Introduction:** About 52% of men aged between 40 and 70 years old suffer with erectile dysfunction (ED). Yohimbine (YOH), an  $\alpha_2$ -adrenergic blocker, has been used for ED treatment for several decades, and it still has its indications. However its mechanism of action still remains obscure. Most of the studies with YOH were made with corpus cavernosum and aorta of rats and rabbits, due to the difficulty of getting human tissue. The aim of this study is to define the non-cholinergic non-adrenergic mechanism of action of the YOH, evaluating the nitrenergic pathway and the role of the ionic channels in the human cavernosum smooth muscle.

**Methods:** The corpus cavernosum were removed from 13 male cadavers donors (18-53 years old), during surgery for removing of organs for transplant, following the national protocols for organs donation. The strips of human cavernosum muscle were vertically settled in parallel, in isometric register bath in KHS solution (pH 7,4, at 37°C), constantly gassed with (O<sub>2</sub>-95% and CO<sub>2</sub>-5%). Curves dose-reply were performed with IOI ( $10^{-12}$  -  $10^{-4}$  M) in strips of human corpus cavernosum beings pre-contracted with phenilefrine (10  $\mu$ M) and with rich depolarizing solution in potassium (60 mM of K<sup>+</sup>), in association with nitrenergic and ionic channels inhibitors (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>), for study of NANC ways.

**Results:** The YOH provided an important relaxation for the strips of in vitro human corpus cavernosum under the dose of  $10^{-4}$  M. After pre-contraction with phenilefrine (10  $\mu$ M), the strips submitted to the YOH in this dose, got relaxed 95.8%, and when the pre-contraction was made with rich depolarizing K<sup>+</sup> solution (60 mM of K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> (2 mM), containing 10  $\mu$ M guanethidine (chemical simpatolitic) e 10 $\mu$ M phentolamine ( $\alpha$ -adrenergic blocker), the relaxation was of 69,5% (p<0,05). The YOH ( $10^{-4}$ M), after pre-contraction with fenilefrina (10  $\mu$ M), under the presence of 7-NI (10  $\mu$ M) and of L-NAME (100  $\mu$ M) (nitric oxide synthases inhibitors (nNOS and eNOS, respectively)), and of the ODQ (soluble guanylate cyclase enzyme inhibitor – 10  $\mu$ M) provided relaxation of the human cavernosum muscle of 57,4%; 55.5%; 62.99%; respectively (p<0,05). In association with TTX (Tetrodotoxina - neuronal sodium channel inhibitor – 100  $\mu$ M), TEA (tetraetilamonio - potassium channels voltage-dependents activated by calcium blocker – 100  $\mu$ M), and with apamina + charybdotoxina (potassium channels activated by calcium blocker of low and high conductance - 0,1  $\mu$ M + 1  $\mu$ M), we got a relaxation of 56,4%; 100%; 100% respectively (p>0,05). With the glibenclamida (K<sub>ATP</sub> and Cl<sup>-</sup> channels blocker – 10  $\mu$ M), we got a 71,1% relaxation (p<0,05).

**Conclusion:** The pharmacologic studies results suggest that the YOH relaxes the human corpus cavernosum by another mechanism different of his adrenergic blockade, possibly activating the nitrenergic pathway, and through Cl<sup>-</sup> and K<sub>ATP</sub> channels (NO - GUANILATO CICLASE - GMPc - chloride and K<sub>ATP</sub> channels). The YOH doesn't act through Na<sup>+</sup> channels, and doesn't act through potassium channels voltage-dependents activated by calcium, as well as it doesn't act in the K<sup>+</sup> channels activated by calcium of low and high conductance.

**Keywords:** yohimbine, corpus cavernosum, erectile dysfunction, K<sup>+</sup> channels.

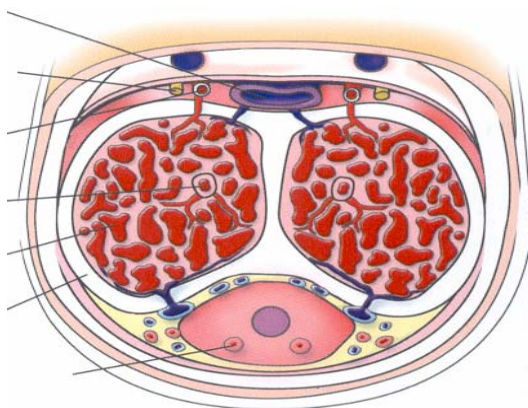
## INTRODUÇÃO

### Anatomia e Fisiologia da ereção Peniana

O pênis é formado por três corpos, dois dorsais chamados de corpos cavernosos, e um menor, localizado ventralmente, chamado corpo esponjoso. O corpo esponjoso envolve a uretra e origina a glândula (Andersson, 1995).

Os corpos cavernosos são constituídos por vários sinusóides interligados e divididos por trabéculas de músculo liso, e envolvidos pela túnica albugínea. A estrutura do corpo esponjoso e da glândula é similar, exceto por seus sinusóides serem mais largos, e por suas túnicas serem mais delgadas, sendo virtualmente ausente na glândula (Lue, 2000). Devido a fragilidade desta túnica, a pressão no corpo esponjoso e na glândula, é de apenas um terço da pressão observada nos corpos cavernosos (Dean, 2005).

A túnica albugínea, que reveste os dois corpos cavernosos, é uma dupla camada fibrosa e resistente, que forma um septo entre ambos. Porém, este septo no homem, permite que os dois se comuniquem e funcionem sincronicamente. Tanto os corpos cavernosos como o corpo esponjoso são envolvidos por uma outra camada de tecido fibroso, chamada de Fásia de Buck (fig 1)(Melman 1999).

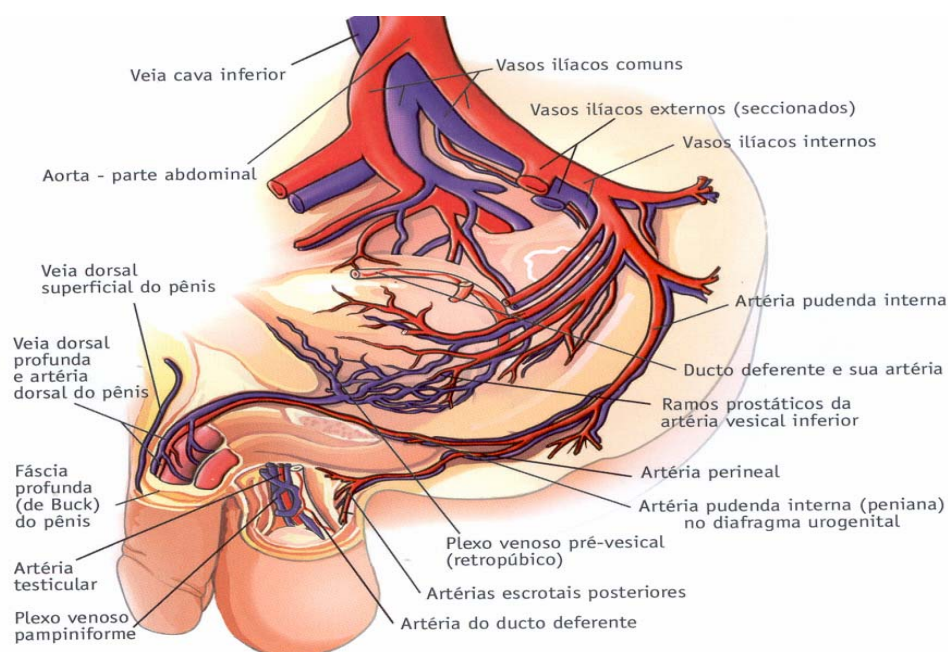


**Fig 1.** Secção transversal do pênis. Em detalhe os corpos cavernosos com as artérias Cavernosas no centro e sinusóides, tudo envolto pela túnica albugínea. Tudo contido pela fásia de Buck, juntamente com o corpo esponjoso (Gina, 2002).



A irrigação peniana se faz através da artéria pudenda interna, ramo da hipogástrica, que dá um ramo perineal, e a partir daí se transforma na artéria peniana. Seus ramos formam a artéria bulbar, a uretral ou esponjosa e a cavernosa. O ramo cavernoso se divide em outros ramos, como as artérias helicinais, que irrigam as trabeculações e sinusóides dos corpos cavernosos, tendo por isso um grande papel no mecanismo eretogênico (Melman 1999).

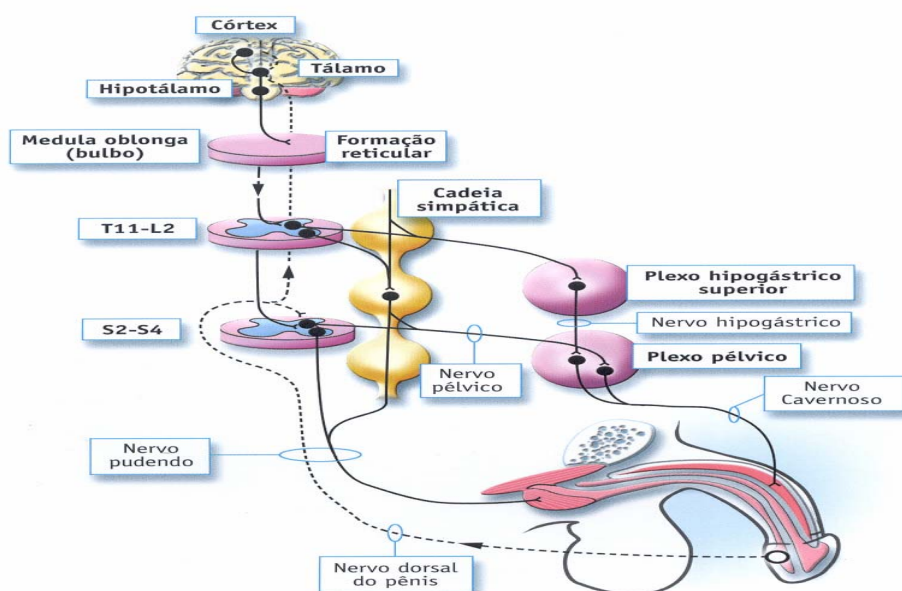
A drenagem cavernosa caminha para um plexo retropúbico e de lá para a veia pudenda interna e hipogástrica (fig 2) (Pagani 2002).



**Fig 2. Trama arterial e venosa do aparelho genital masculino. (Gina, 2002).**

A inervação dos corpos cavernosos é feita a partir de fibras pré-ganglionares parasimpáticas, originadas no nível de S<sub>2-4</sub>, que caminham pelos nervos pélvicos para formar o plexo pélvico, onde se unem aos nervos simpáticos do plexo hipogástrico superior originados dos segmentos T<sub>11-L2</sub>. (Lue, 2000).

O nervo cavernoso, originado do plexo pélvico, pode ser facilmente lesionado durante cirurgias radicais da bexiga e próstata, devido ao seu trajeto periprostático e perivesical, o que frequentemente ocasiona disfunção erétil (Steers, 2000). O trajeto deste nervo deve ser bem conhecido pelo cirurgião, para que se possa evitar este tipo de disfunção erétil iatrogênica (Walsh, 1990). A inervação somática do pênis é proveniente do nervo pudendo, que possui fibras aferentes sensoriais e motoras, sendo também, proveniente de S<sub>2-4</sub>. Ele é responsável pelo sensório peniano, transmitindo mensagens de dor, temperatura, e tato ao tálamo e córtex (Lue, 2000) (fig 3).



**Fig 3 - Inervação peniana (Extraído de Glina 2002).**

Outras fibras derivadas da inervação colinérgica, das não-adrenérgicas não-colinérgicas (NANC) e das nitrérgicas, como também o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) e o peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina (CGRP), são responsáveis pelo relaxamento do músculo liso do corpo cavernoso (Anderson 1995).

O tecido erétil peniano, formado pela musculatura lisa cavernosa e pelos músculos lisos da parede arteriolar e arterial, possui um papel importante no

processo da ereção. No estado flácido, estes músculos lisos mantêm uma tonicidade de contração que permitem apenas um pouco de fluxo arterial para finalidades nutritivas (Sattar, 1995).

O estímulo sexual ocasiona liberação de neurotransmissores nas terminações nervosas do nervo cavernoso. Com isto ocorre relaxamento dos músculos lisos cavernosos.

Ocorre um aumento do fluxo sanguíneo, pela dilatação dos vasos arteriolares e arteriais, na fase diastólica e na sistólica. Este sangue que entra fica retido pelos sinusóides em expansão. Provoca, então, uma compressão dos plexos venulares subtunicais, que estão localizados entre a túnica albugínea e os sinusóides periféricos, diminuindo o retorno venoso (Fig 4).

A túnica albugínea sofre um estiramento até o limite de sua capacidade, o que causa oclusão das veias emissárias, diminuindo ainda mais o retorno venoso.

Há um aumento da  $PO_2$  (em torno de 90 mmHg) e da pressão intracavernosa (ao redor de 100 mmHg), que levanta o pênis de sua posição no estado flácido para o estado ereto (fase cheia da ereção).

Ainda ocorre um aumento adicional dessa pressão (algumas centenas de mmHg) com a contração dos músculos ísquiocavernosos (fase rígida da ereção) (Dean, 2005).

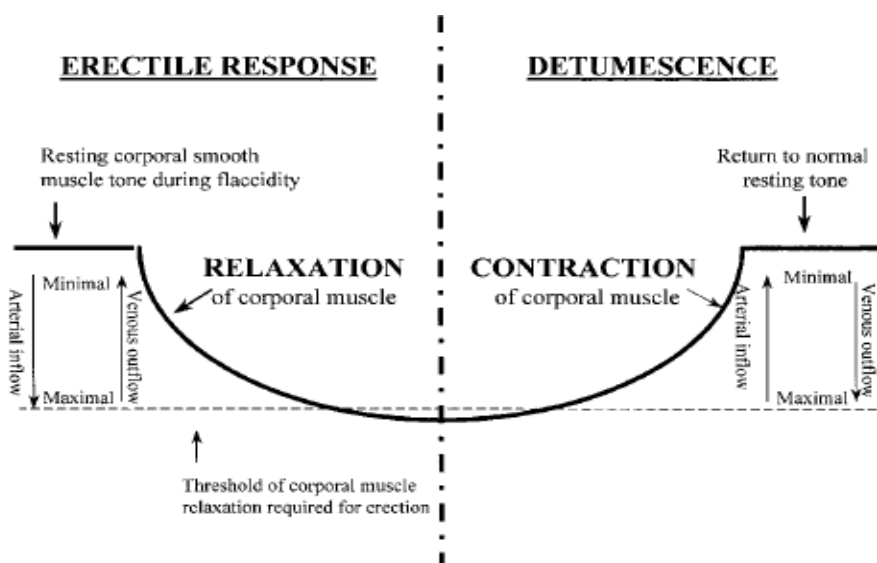


Fig 4: Esquema do mecanismo vascular de relaxamento e contração peniana (Maggi, 2000).

O mecanismo celular que mantém o estado de flacidez peniana se inicia com a noradrenalina, que age na ativação do receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico, e este último ativa a fosfolipase C acoplada a ele, clivando os fosfolípidos de membrana (fosfatidilinositol) em seus segundos mensageiros, o trifosfato de inositol ( $IP_3$ ) e o diacilglicerol (DAG). O  $IP_3$  mobiliza cálcio da mitocôndria e do retículo endoplasmático. O DAG, ativando a proteína cinase C (PKC), que modula canais de íons e intercomunicações intercelulares, eleva o  $Ca^{++}$  intracelular (Christ 1995) (Fig 5 e 6).

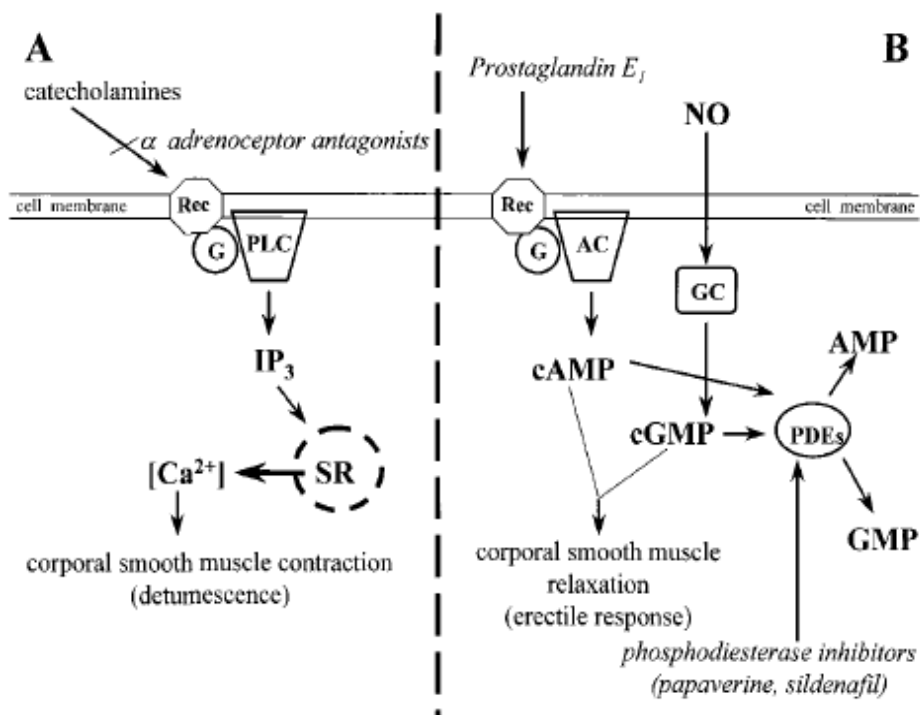
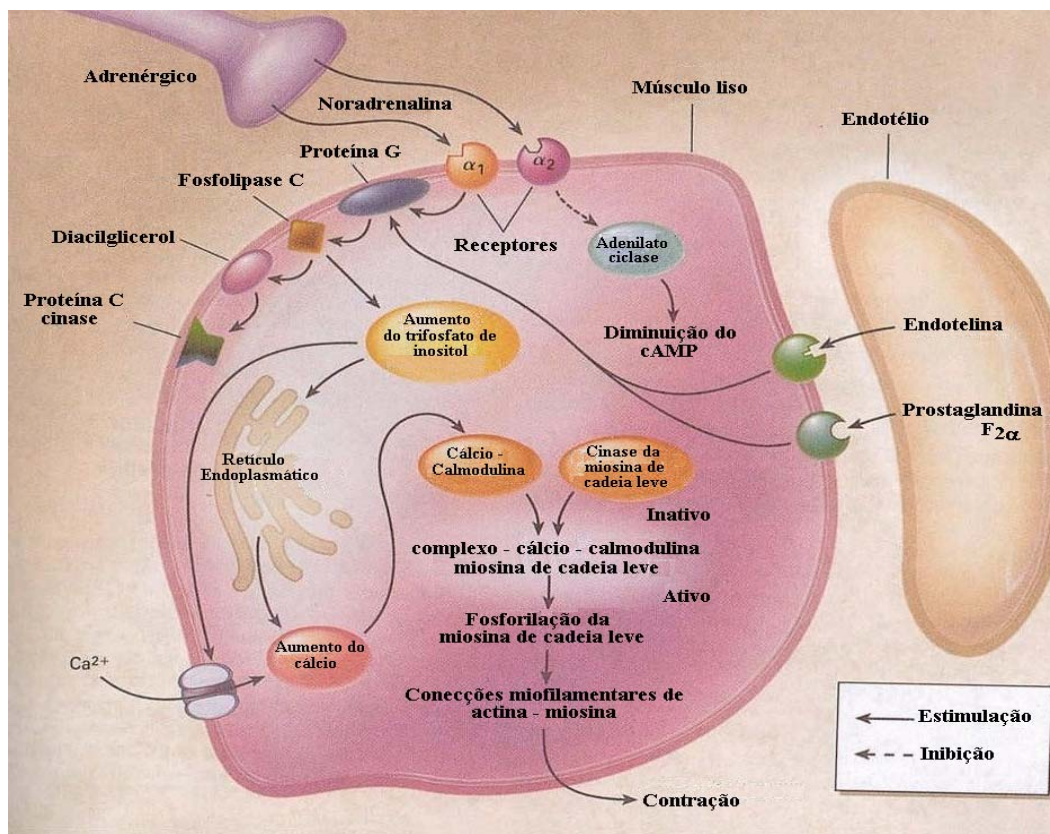


Fig 5 : Mecanismo de contração/relaxamento do músculo liso do corpo cavernoso (Maggi, 2000).

O  $\text{Ca}^{++}$  intracelular aumentado se liga à proteína calmodulina, alterando a conformação desta, e expondo seus locais de interação com a cinase da miosina de cadeia leve. O resultado é a fosforilação de subunidades do substrato e conseqüente ativação dos miofilamentos de actina-miosina, provocando contração do músculo liso (fig 6) (Lue 2000).



Vários neurotransmissores e substâncias vasoativas exercem papel importante no relaxamento do músculo liso peniano, e conseqüentemente da ereção peniana, ativando uma série de segundos mensageiros intracelulares, como o NO, GMPc e AMPc, que atuam na fosforilação de suas proteínas cinases específicas, provocando abertura dos canais de potássio e fechamento dos canais de cálcio, e desta forma sequestrando cálcio intracelular para o retículo endoplasmático. Isso resulta na queda do cálcio intracelular, e conseqüente ruptura das pontes de actina-miosina, o que promove o relaxamento do músculo liso cavernoso (Lue, 2000 – Fig 5 e 7).

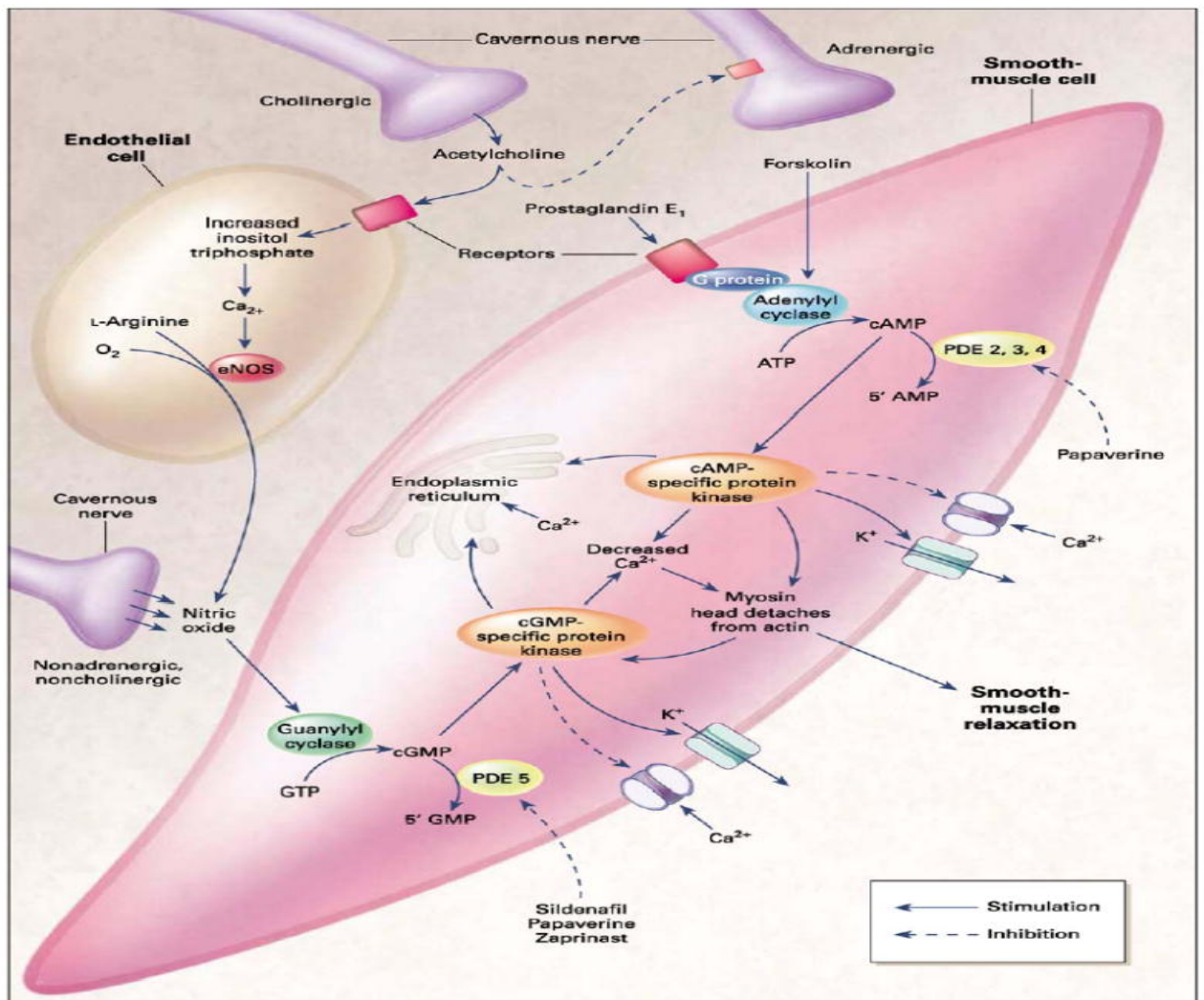


Fig 7: Mecanismo molecular do relaxamento muscular peniano (Lue 2000).

## Disfunção Erétil

A disfunção erétil (DE) é definida como a dificuldade de ter ou manter uma ereção peniana adequada para concluir o intercursos sexual (Koreman, 1995).

O termo disfunção erétil substituiu o termo impotência sexual desde o consenso realizado na conferência de 1992 do *National Institutes of Health* (NIH, 1993), por ser um termo mais neutro e menos depreciativo.

O primeiro conselho internacional sobre disfunção erétil, ocorrido em julho de 1999 (Paris – França), redefiniu como uma incapacidade persistente ou recorrente de conseguir e manter uma ereção peniana suficiente para uma função sexual satisfatória, com um mínimo de 3 meses de duração. Os casos de DE consequentes a trauma ou iatrogênicos (cirurgia) não precisam cumprir este prazo (Broderick, 2002).

A disfunção erétil se tornou nos últimos anos um importante problema de saúde pública em nosso país, haja vista que cerca de 25 milhões de brasileiros são afligidos por esse problema (Moreira, 2001). O mesmo autor, em estudo prospectivo sobre a incidência de DE em homens brasileiros, estimou que são esperados mais de um milhão de casos novos por ano (Moreira 2003).

A sua prevalência gira em torno de 4 a 9% segundo estudos realizados em comunidades (Spector, 1990), e aproximadamente 150 milhões de homens em todo o mundo não conseguem manter uma ereção adequada para ter um desempenho sexual satisfatório (Mc Kinlay, 2000).

O *Massachusetts Male Aging Study* (MMAS) pesquisou, entre 1987 e 1989, sobre diversas variáveis relacionadas com a saúde em 1290 homens entre 40 e 70 anos e observou que a DE era uma queixa muito comum, onde 52% dos homens relataram algum grau de DE, sendo de grau leve em 17.1%, moderado em 25.2%, e severo em 9.6%. DE completa foi relatada por 5% dos homens com média de 40 anos de idade, e por 15% dos de 70 anos de idade. Entretanto, um prevalência mais elevada de DE completa foi vista nos homens com doenças concomitantes. (Feldman, 1994).

Outro estudo semelhante, entre 1995 e 1997, encontrou uma incidência de 25,9 casos de DE por 1000 homens-ano (Johannes, 2000).

Uma pesquisa realizada na Holanda com 1771 homens e suas esposas, observou que 34% de todos os homens com DE e 16% de suas esposas estavam descontentes com sua vida sexual, e que 25% dos homens com DE só procuraram ajuda médica com pelo menos 13 meses de atraso em média (Meuleman, 2001).

Apesar da DE não ser uma doença fatal, não deve ser considerada um distúrbio benigno, pois prejudica de forma importante a vida conjugal do paciente, bem como sua auto-estima, comprometendo seu bem estar e sua qualidade de vida (Krane, 1989).



## Ioimbina

Visto que esse tipo de disfunção afeta sobremaneira a qualidade de vida dos homens acometidos, bem como o relacionamento de diversos casais, vários fármacos estão sendo utilizados por diversas vias para o tratamento dessa doença, entre eles a ioimbina (IOI).

A IOI (17 $\alpha$ -hidroxioimban-16 $\alpha$ -acidocarboxílico metilester) é um alcalóide extraído da casca da árvore *Pausinystalia yohimbe* ou da raiz da *Rauwolfia* proveniente da África Ocidental, e é utilizado no tratamento da DE há mais de 70 anos [Filippi, 2002]. A IOI é um potente antagonista seletivo dos receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  (RA  $\alpha_2$ ) e com fraca atividade antagonista  $\alpha_1$  [Tam, 2001]. Sua molécula está representada na fig 5.

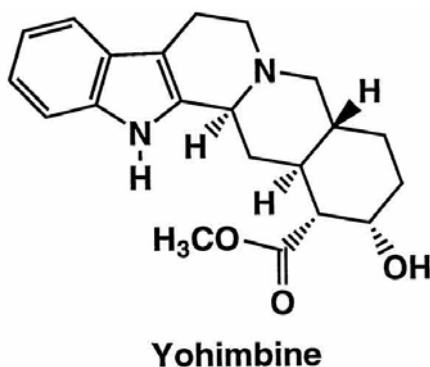
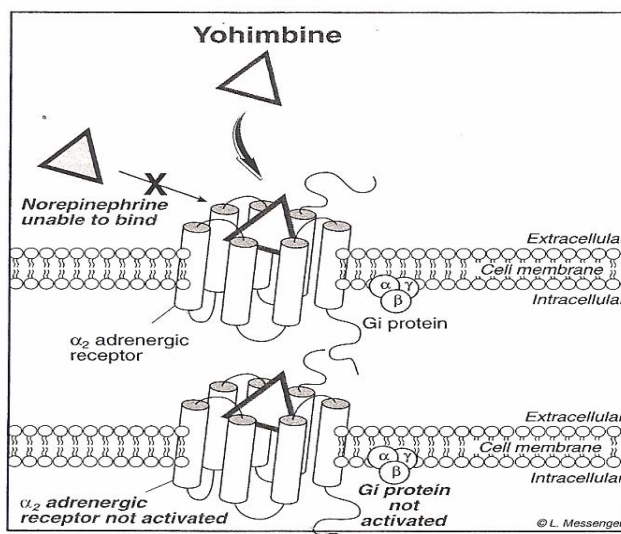


Fig. 8 – molécula da ioimbina [de Tejada, 1999]

Sabe-se que a IOI, agindo como bloqueador de um subtipo de receptor adrenérgico  $\alpha$  (RA  $\alpha$ ), no caso RA  $\alpha_2$ , teoricamente desativaria toda a cascata de desintegração do polifosfato de inositol em IP<sub>3</sub> e DAG. Devido a isso haveria uma diminuição nos níveis de Ca<sup>+</sup> intracelular, com quebra das pontes de actina-miosina, promovendo assim o relaxamento da musculatura lisa do corpo cavernoso, e conseqüente ereção peniana [Glina, 2002].



**Fig 9 – Esquema do mecanismo de bloqueio alfa-adrenérgico da IOI (Morales, 2000).**

## OBJETIVO DO ESTUDO

Mesmo existindo fármacos mais efetivos para o tratamento da DE, como os inibidores da PDE<sub>5</sub> (sildenafil, por exemplo) (Maggi, 2000), a IOI ainda tem o seu papel no combate desta enfermidade, porém o seu mecanismo de ação ainda encontra-se com alguns pontos obscuros.

Um outro aspecto importante do atual experimento é que o mesmo foi realizado utilizando corpos cavernosos de doadores cadáveres, sendo teoricamente amostras de tecido sem alterações orgânicas, pois os doadores não tinham história de DE segundo seus familiares. Os estudos com IOI realizados até o momento foram realizados com corpos cavernosos doentes, retirados de pacientes submetidos à inserção de prótese peniana, como no estudo de Filippi (2002).

Filippi (2002) comprovou a ação da IOI diretamente sobre os corpos cavernosos de humanos e a sua ação na via nitrérgica, então, coube a este estudo a tentativa de reproduzir o estudo acima e avaliar a atuação da IOI em outros mecanismos de ação do relaxamento muscular liso, como a via dos canais iônicos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  etc.).

## MATERIAL E MÉTODOS

### MATERIAL:

As substâncias químicas utilizadas durante este estudo estão agrupadas no quadro abaixo, com seu respectivo efeito farmacológico, concentração empregada e peso molecular (tabela (tab) 01).

NOME	AÇÃO FARMACOLÓGICA	CONCENTRAÇÃO
IOI	Antagonista seletivo $\alpha_2$ -adrenérgico	$10^{-4} - 10^{-12}$ M
Guanetidina	Bloqueador do neurônio adrenérgico	10 $\mu$ M
Fentolamina	Bloqueador $\alpha$ -adrenérgico	10 $\mu$ M
KCl	Despolarizante farmacológico	60 mM
Fenilefrina	Agonista $\alpha$ -adrenérgico ( $\alpha_1 > \alpha_2$ )	10 $\mu$ M
7-NI	Inibidor da NOS sintetase neuronal	10 $\mu$ M
ODQ	Inibidor seletivo da guanilato ciclase	10 $\mu$ M
TTX	Bloqueador reversível dos canais de Na <sup>+</sup>	100 $\mu$ M
L-NAME	Inibidor da NOS sintetase endotelial	100 $\mu$ M
Charybdotoxina	Bloqueador de BK <sub>ca</sub> de alta e média condutância	1,0 $\mu$ M
Glibenclamida	Bloqueador de canal de cloreto e de K <sub>ATP</sub>	10 $\mu$ M
Apamina	Bloqueador de BK <sub>ca</sub> de baixa condutância	0,1 $\mu$ M

Tab 01: Substâncias químicas utilizadas no estudo farmacodinâmico da IOI.

- **BK<sub>ca</sub>**: canal de potássio sensível a cálcio
- **K<sub>ATP</sub>**: Canal de potássio sensível à adenosina trifostato
- **NOS**: óxido nítrico sintetase

## **MÉTODO**

### **Do estudo:**

Este estudo consistiu de uma série de experimentos farmacológicos empregando o bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico ioimbina em corpo cavernoso de humanos. O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o termo de doação de fragmentos de corpo cavernoso, foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Ceará, credenciado pelo CONEP - Conselho Nacional de Saúde/MS, e devidamente aprovados (nos anexos).

### **Da coleta do corpo cavernoso:**

Os fragmentos de corpo cavernoso humano foram coletados durante procedimento cirúrgico para retirada de órgãos para transplante, utilizando-se a mesma incisão cirúrgica (mediana xifopubiana). Foram treze doadores-cadáveres, com idade variando entre 18 e 53 anos, que tiveram morte cerebral documentada, tendo como causa das mortes: traumatismo crânio-encefálico (TCE) por acidente automobilístico em 12 doadores, e AVC (acidente vascular cerebral) por hipertensão arterial sistêmica em 1 doador.

Terminada a captação dos órgãos transplantáveis (rins, fígado, coração etc.), um acesso subcutâneo é obtido por sobre a sínfise púbica até a identificação dos corpos cavernosos. Com uma manobra digital para desenlugar o pênis, deslocando-o cranealmente, consegue-se um campo adequado para realizar a incisão e exérese dos fragmentos necessários (medindo 5,0 cm x 2,0 cm) envolvidos pela túnica albugínea. Após a retirada dos fragmentos, o pênis é recolocado em sua posição anatômica, e nenhuma seqüela externa é observada.

## Da manutenção dos tecidos

Imediatamente após a coleta os fragmentos de corpo cavernoso são levados para o laboratório mantidos em um frasco de vidro fechado contendo solução de Krebs-Henseleit (KHS) (tabela 02), estando o frasco envolvido em gelo picado em um recipiente de conservação térmica.

Produtos	Concentração (mM)
Cloreto de Sódio (NaCl)	114,6
Cloreto de Potássio (KCl)	4,96
Sulfato de Magnésio (MgSO <sub>4</sub> )	0,58
Fosfato de sódio monobásico (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1,23
Bicarbonato de Sódio (NaHCO <sub>3</sub> )	25
Cloreto de Cálcio (CaCl <sub>2</sub> )	2
Glicose	3,6

Tab 02: Composição da solução de Krebs-Henseleit (mM) pH 7,4

## Do Processamento e montagem dos tecidos

Os fragmentos de corpo cavernoso são transferidos para placa de Petri contendo solução de KHS aerada com mistura carbogênica. Os tecidos conectivos adjacentes (músculo, gordura etc.) são retirados com lâmina de bisturi. A túnica albugínea, a seguir, é cuidadosamente dissecada e o músculo cavernoso é dividido em tiras longitudinais de 10 mm x 4 mm.

As tiras de músculo cavernoso humano são montados verticalmente em paralelo, em banho de registro isométrico em solução de KHS (pH 7,4 e a 37°C), constantemente aerada (O<sub>2</sub>-95% e CO<sub>2</sub>-5%), sob tensão de 1,0 grama.

Os tecidos são mantidos em repouso por 01 hora para alcançar um novo estado de equilíbrio funcional, sendo os banhos renovados a cada 15 minutos. As alterações de tensão (em grama) foram obtidas por intermédio de transdutores de deslocamento de força (F-60, Narco Bio-Systems, Houston, Texas, USA), acoplados a um fisiógrafo de quatro canais (DMP-5B, Narco Bio-Systems) nas seguintes calibrações: filtro – 01

Hz, ganho do amplificador – 50mV/cm e velocidade de registro de 0,0025 cm/s, e também em um sistema de aquisição de dados Pamlab de 4 canais (ADInstruments, Sidney, AUS) que teve seus dados analisados pelo programa Chart 4.0 (ADInstruments, Sidney, AUS).

## Dos experimentos

Foram realizadas curvas dose-resposta para ioimbina ( $10^{-12}$  –  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos pré-contraídas com fenilefrina - FEN ( $10 \mu\text{M}$ ) e com solução despolarizante rica em potássio (60 mM de  $\text{K}^+$ ), com concentração de cálcio de 2 mM e em um meio nutritivo contendo  $10 \mu\text{M}$  guanetidina (simpatolítico químico) e  $10 \mu\text{M}$  fentolamina (bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico). Foram, então, obtidos os valores de concentração efetiva 50 ( $\text{EC}_{50}$ ) e  $\text{PD}_2$ , definidos como a dose necessária para produzir metade da resposta máxima, e seu respectivo cologaritmo.

A seguir, o relaxamento induzido pela ioimbina ( $10^{-4}$  M) foi estudado isoladamente na ausência e na presença de tetrodotoxina (TTX),  $100 \mu\text{M}$ , bloqueador do canal de sódio neuronal.

Em outro conjunto de experimentos esta mesma concentração de ioimbina foi testada na ausência ou presença de 7-NI (7-nitroindazole),  $10 \mu\text{M}$ , e de L-NAME (*N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl éster*),  $100 \mu\text{M}$ , bloqueadores das enzimas óxido nítrico sintetases constitutivas (nNOS e eNOS, respectivamente), e na ausência e presença de ODQ (1H-[1,2,4] *Oxadiazolo [4,3-a]quinoxalin-1-ona*),  $10 \mu\text{M}$ , um inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel.

Numa nova fase dos experimentos foi testado o efeito relaxante da ioimbina na ausência e presença de  $100 \mu\text{M}$  TEA (tetraetilamônio), bloqueador não-seletivo de canais de  $\text{K}^+$  voltagem-dependentes e ativados por  $\text{Ca}^{++}$  ( $\text{K}_V$ );  $0,1 \mu\text{M}$  apamina combinada com  $1 \mu\text{M}$  de charybdotoxina (CTx), bloqueadores dos canais  $\text{K}^+$  ativado por cálcio ( $\text{K}_{Ca}$ ) de alta, média e baixa condutância, e também na presença de  $10 \mu\text{M}$  de glibenclamida, bloqueador de canais potássio ATP dependente ( $\text{K}_{ATP}$ ) e de canais de cloreto ( $\text{Cl}^-$ ).

## **Análise estatística**

Os dados são apresentados como porcentagem de relaxamento em relação à contração máxima induzida pelos agonistas utilizados e expressos como média  $\pm$  erro padrão da média.

Foi aplicada uma análise de variância ANOVA p/ cálculo do F (variância), seguido do teste de Tukey-Kramer para comparações múltiplas.

A PD<sub>2</sub> (-logEC<sub>50</sub>) foi calculada utilizando-se o programa Graph Pad 3.0 (San Diego, CA, USA), e expressa com seus respectivos intervalos de confiança de 95%.

## RESULTADOS

Após realização dos experimentos e análise estatística dos dados chegou-se aos seguintes resultados:

A IOI proporcionou relaxamento das tiras de corpo cavernoso humano quando estas foram pré-contraídas com FEN (Fig 10 e 11) ou com solução rica em  $K^+$ , porém com maior relaxamento na primeira ( $p < 0,05$  com IOI a  $10^{-5}$  e a  $10^{-4}M$ ) (fig. 11).

O traçado original do relaxamento proporcionado pela IOI no corpo cavernoso humano é mostrado na fig 10.

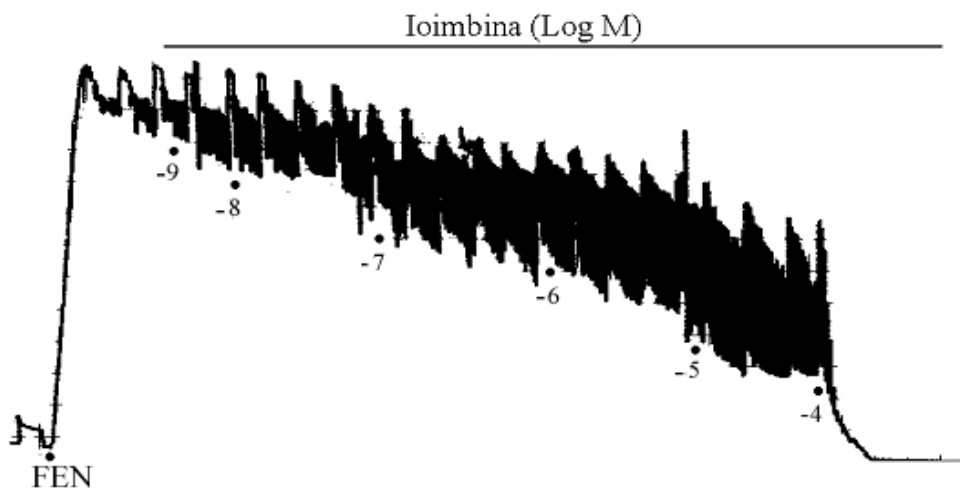


Fig 10 – Gráfico original do relaxamento do corpo cavernoso humano ocasionado pela IOI após pré-contracção com FEN.



A seguir segue figura mostrando o efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$  M) após pré-contracção com solução de  $K^+$  ou com FEN (\* $p < 0,05$ ) (Fig 11).

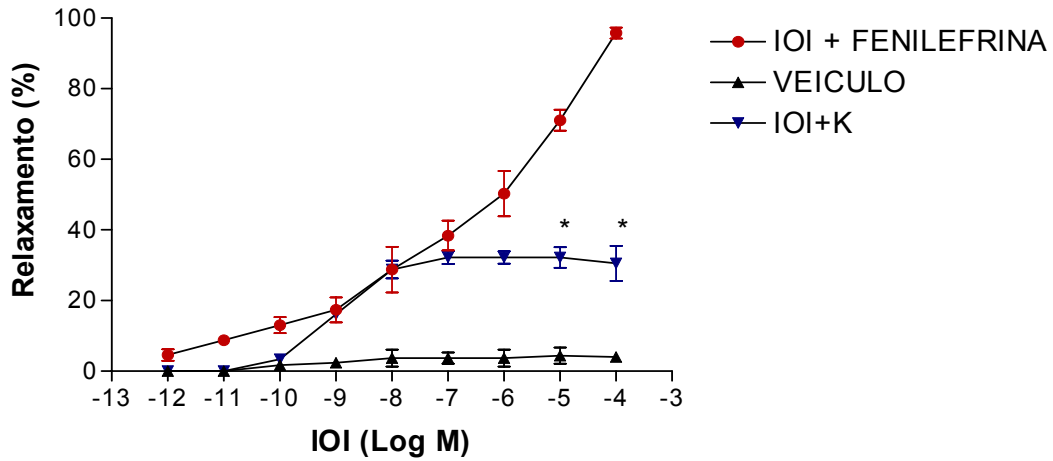


Fig. 11 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$  M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Círculos vermelhos representam o efeito desta droga em tiras pré-contráidas com FEN ( $10 \mu\text{M}$ ) e triângulos azuis o efeito da mesma sobre tecidos contraídos previamente com solução despolarizante rica em potássio ( $60 \text{ mM}$ ), com concentração de cálcio de  $2 \text{ mM}$  e em um meio nutritivo contendo  $10 \mu\text{M}$  guanetidina (simpatolítico químico) e  $10 \mu\text{M}$  fentolamina (bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico) (\* $p < 0,05$ ).

A seguir segue figura (coluna) mostrando percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) após pré-contracção com solução de  $K^+$  ou com FEN (\* $p < 0,05$ ) (fig 12).

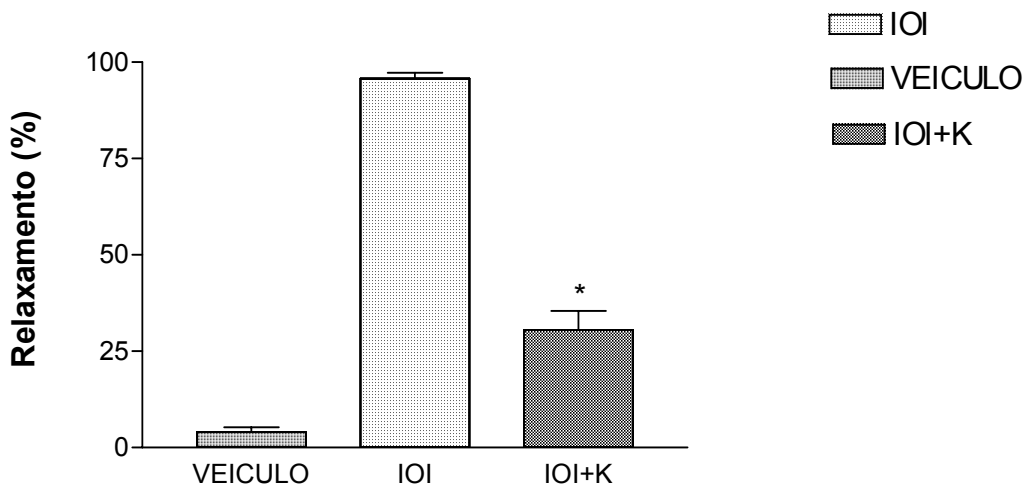


Fig 12: percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) após pré-contracção com solução de  $K^+$  ou com FEN

- IOI (ioimbina) - bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico
- $K^+$  (solução despolarizante rica em potássio ( $60 \text{ mM}$ ))
- (\* $p < 0,05$ )

A seguir segue tabela mostrando percentual de relaxamento da IOI após pré-contracção com solução de K<sup>+</sup> ou com FEN (\*p<0,05). (Tab 3)

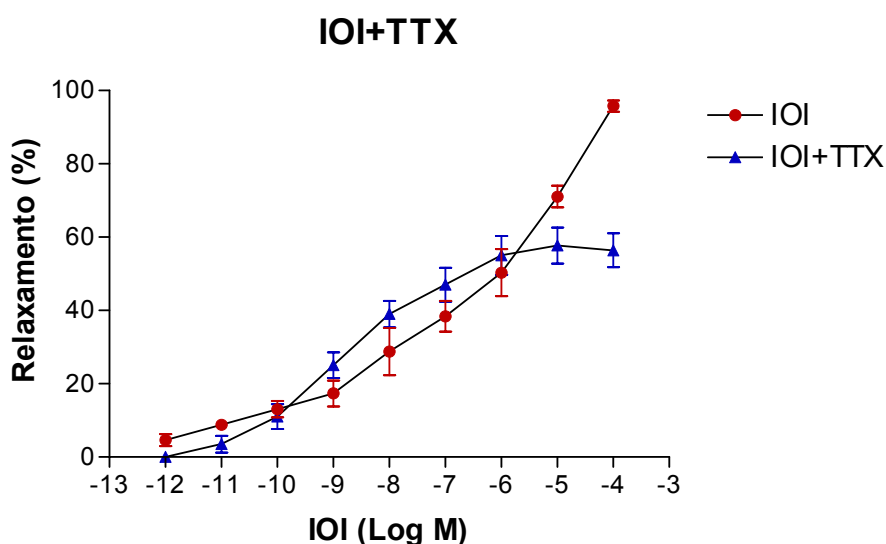
Agonistas	% de relaxamento da IOI				
	-8 Log M	-7 Log M	-6 Log M	-5 Log M	-4 Log M
K <sup>+</sup>	28,8 ± 2,5	32,2 ± 1,8	32,2 ± 1,8	32,2 ± 2,9*	30,5 ± 5,0*
FEN	28,8 ± 6,5	38,4 ± 4,2	50,3 ± 6,5	71,1 ± 2,9	95,8 ± 1,6

**Tab 3:** percentual de relaxamento da IOI após pré-contracção com solução de K<sup>+</sup> ou com FEN

- IOI (ioimbina) - bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico
- K<sup>+</sup> (solução despolarizante rica em potássio (60 mM))
- FEN (fenilefrina) -  $\alpha$  agonista
- (\*p<0,05)
- Concentrações da ioimbina (- 8 Log M -7 Log M...)

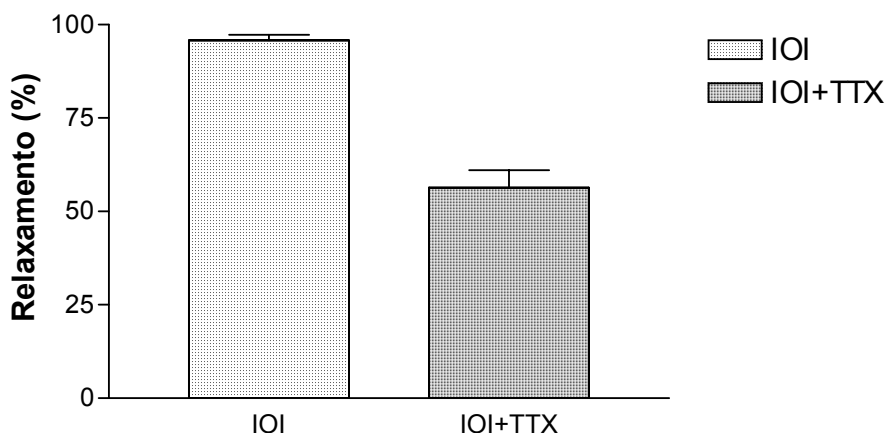
Os próximos experimentos foram realizados utilizando a FEN como droga para pré-contracção das tiras de corpo cavernoso humano.

A TTX, um bloqueador de canal de Na<sup>+</sup> neuronal, interferiu no relaxamento causado pela IOI, porém sem significância estatística (p>0,05) (fig 13).



**Fig 13** - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Triângulos azuis representam o efeito desta droga em tiras pré-contráidas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ) associada à TTX ( $100\mu\text{M}$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contráidas apenas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ).

A seguir segue figura (coluna) mostrando percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) associada ou não à TTX (fig 14).



**Fig 14:** percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) associada ou não à TTX.

- IOI (ioimbina) - bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico

- TTX (tetrodotoxina) - bloqueador do canal de sódio neuronal.

A seguir segue tabela mostrando percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com TTX. (Tab 4).

Princípio ativo	% de relaxamento da IOI				
	-8 Log M	-7 Log M	-6 Log M	-5 Log M	-4 Log M
IOI + TTX	39,0 ± 3,6	47,0 ± 4,6	55,0 ± 5,3	57,7 ± 4,9	56,4 ± 4,6*
IOI	28,8 ± 6,5	38,4 ± 4,2	50,3 ± 6,5	71,1 ± 2,9	95,8 ± 1,6

**Tabela 4:** percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com TTX.

- IOI (ioimbina) - bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico

- TTX (tetrodotoxina) - bloqueador do canal de sódio neuronal.

- Concentrações da ioimbina (- 8 Log M -7 Log M...)

O inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel, ODQ, interferiram no relaxamento causado pela IOI ( $p < 0,05$  com IOI  $10^{-4}M$ ) (fig 15).

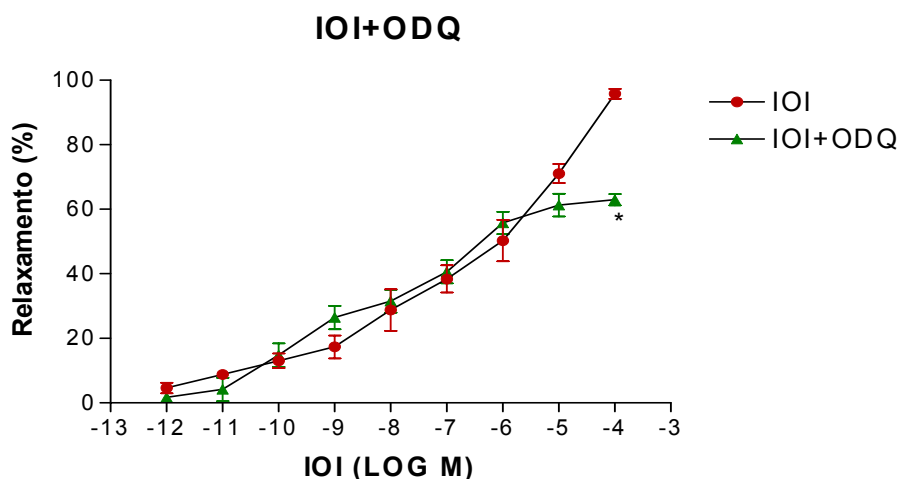


Fig 15 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}M$ ) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Triângulos verdes representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu M$ ) associada ao ODQ ( $10 \mu M$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10 \mu M$ ). (\* $p < 0,05$ )

O bloqueador da enzima óxido nítrico sintetase neuronal, 7-NI, interferiu no relaxamento causado pela IOI ( $p < 0,05$  com IOI  $10^{-4}M$ ) (fig 16).

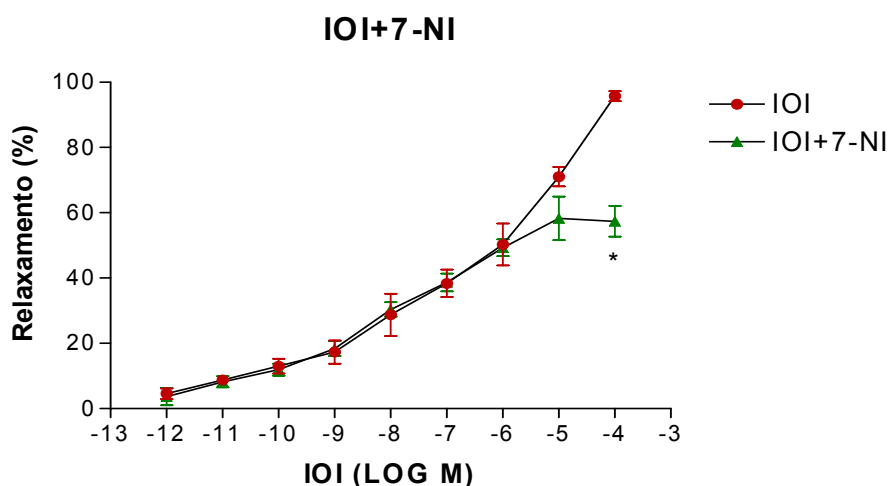


Fig 16 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}M$ ) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Triângulos verdes representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu M$ ) associada ao 7-NI ( $10 \mu M$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10 \mu M$ ). (\* $p < 0,05$ ).

O bloqueador da enzima óxido nítrico sintetase endotelial, L-NAME, interferiu no relaxamento causado pela IOI ( $p < 0,05$  com IOI  $10^{-4}$ M) (fig 17).

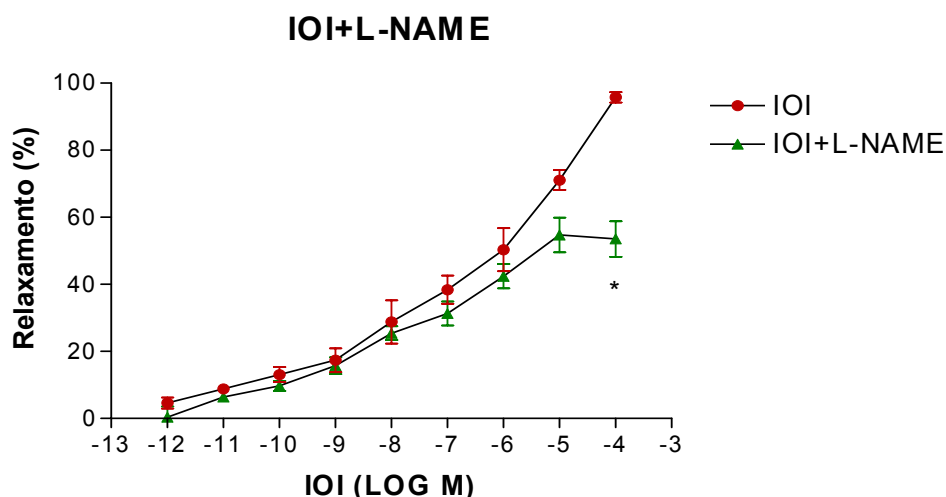


Fig 17 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Triângulos verdes representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ) associada ao L-NAME ( $100\mu\text{M}$ ), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10\mu\text{M}$ ). (\* $p < 0,05$ ).

A seguir segue figura (coluna) mostrando percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) associada ou não ao ODQ, 7-NI e L-NAME (\* $p < 0,05$ ) (fig 18).

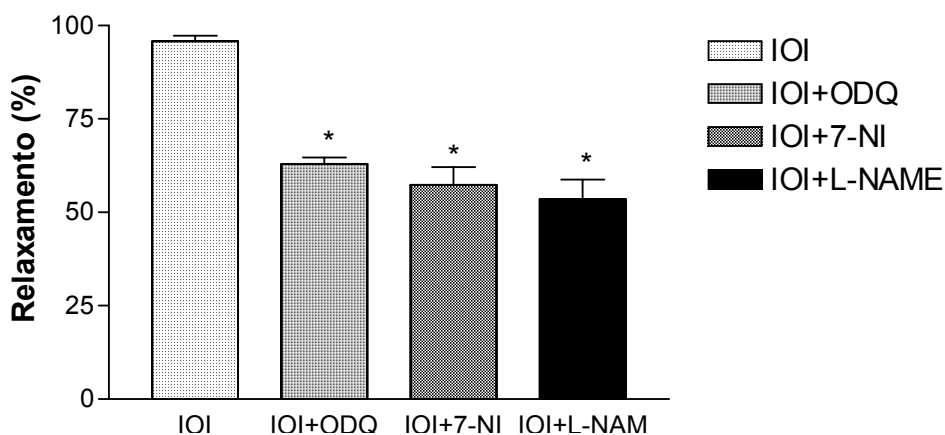


Fig 18: percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) associada ou não ao ODQ, 7-NI e L-NAME.

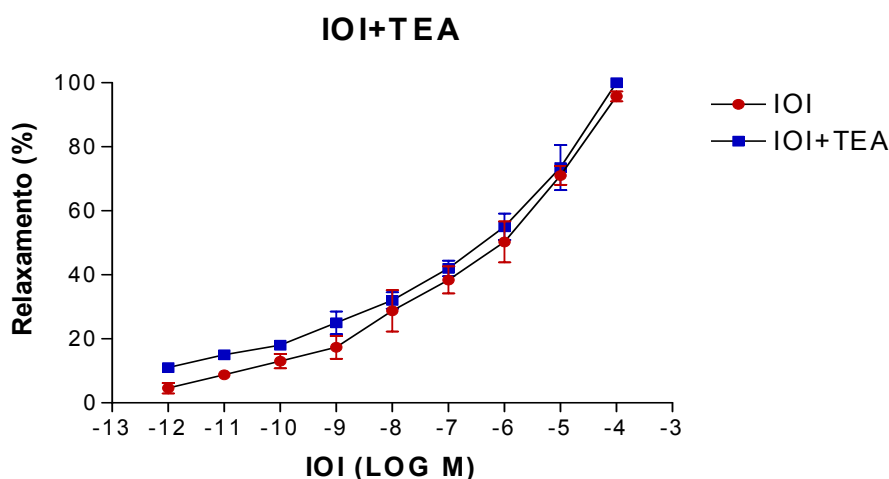
- IOI (ioimbina) - bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico
- ODQ (1H-[1,2,4] Oxadiazolo [4,3-a]quinoxalin-1-ona) - inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel
- 7-NI (7-nitroindazole) - bloqueador da enzima óxido nítrico sintetase neuronal (nNOS)
- L-NAME ( $\text{N}^G$ -nitro-L-arginine methyl éster)- bloqueador da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS)
- (\* $p < 0,05$ ).

A seguir segue tabela mostrando percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com ODQ, 7-NI e L-NAME (\*p<0,05). (Tab 5)

Princípio ativo	% de relaxamento da IOI				
	-8 Log M	-7 Log M	-6 Log M	-5 Log M	-4 Log M
IOI + ODQ	31,5 ± 3,5	40,7 ± 3,6	55,8 ± 3,5	61,3 ± 3,5	63,0 ± 1,7*
IOI + 7-NI	30,4 ± 2,2	38,7 ± 2,7	49,3 ± 2,6	58,3 ± 6,7	57,4 ± 4,7*
IOI + L-NAME	25,4 ± 2,1	31,3 ± 3,6	42,4 ± 3,6	54,7 ± 5,2	53,5 ± 5,3*
IOI	28,8 ± 6,5	38,4 ± 4,2	50,3 ± 6,5	71,1 ± 2,9	95,8 ± 1,6

**Tab 5: percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com ODQ, 7-NI e L-NAME.**  
 - IOI (ioimbina) - bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico  
 - ODQ (1H-[1,2,4] Oxadiazolo [4,3-a]quinoxalin-1-ona) - inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel  
 - 7-NI (7-nitroindazole) - bloqueador da enzima óxido nítrico sintetase neuronal (nNOS)  
 - L-NAME (N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl éster)- bloqueador da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS)  
 - (\*p<0,05).  
 - Concentrações da ioimbina (- 8 Log M -7 Log M...)

O TEA (bloqueador de canais de cálcio voltagem-dependentes) não interferiu no relaxamento da IOI (IOI  $10^{-4}$ M) (Fig 19).



**Fig 19 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Quadrados azuis representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10\mu$ M) associada ao TEA ( $100\mu$ M), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10\mu$ M).**

A APA associada à CTx (bloqueadores dos canais de potássio ativado por cálcio de alta, média e baixa condutância) não interferiu no relaxamento da IOI (IOI  $10^{-4}$ M)(Fig 20).

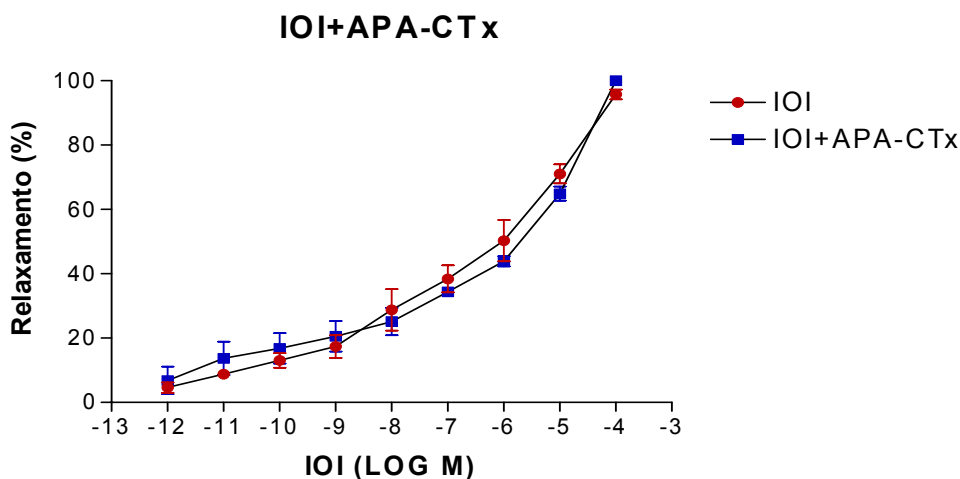


Fig 20 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Quadrados azuis representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu$ M) associada à APA ( $0,1 \mu$ M) e CTx ( $1,0 \mu$ M) , e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10 \mu$ M).

A GLI (bloqueador de canais de cloreto e de potássio ATP dependente) interferiu no relaxamento da IOI ( $p < 0,05$  com IOI  $10^{-4}$ M)(Fig 21).

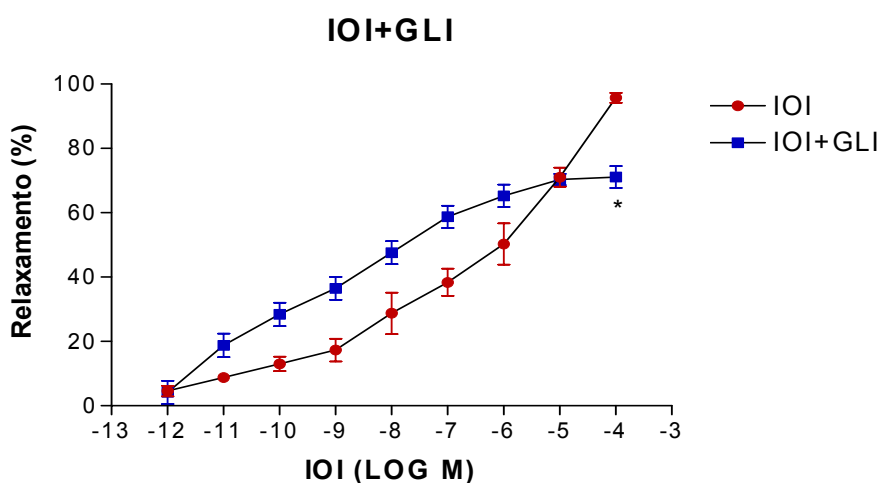
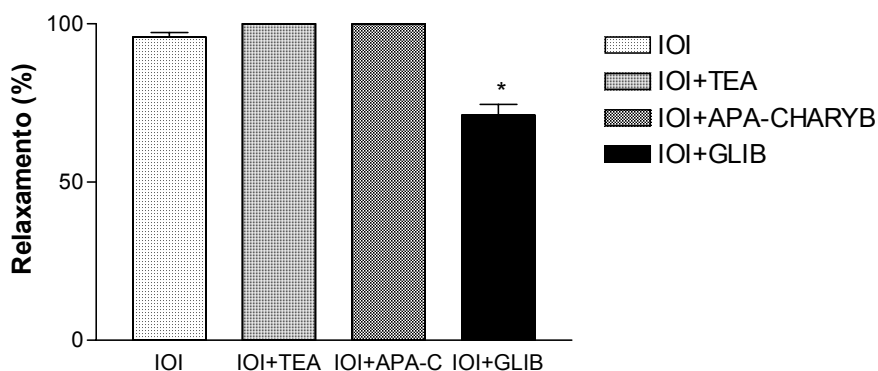


Fig 21 - Efeito da IOI ( $10^{-12}$  a  $10^{-4}$ M) em tiras de corpos cavernosos de humanos. Quadrados azuis representam o efeito desta droga em tiras pré-contraídas com FEN ( $10 \mu$ M) associada à GLI ( $10 \mu$ M), e círculos vermelhos representam o efeito da IOI em tiras pré-contraídas apenas com FEN ( $10 \mu$ M). (\* $p < 0,05$ ).

A seguir segue figura (coluna) mostrando percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) associada ou não ao TEA, APA-CTx e GLI (\* $p < 0,05$ ) (fig 22).



**Fig 22:** percentual de relaxamento máximo da IOI ( $10^{-4}$  M) associada ou não ao TEA, APA-CTx e GLI.

- IOI (ioimbina) - bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico.
- TEA (tetraetilamonio), bloqueador não-seletivo de canais de  $K^+$  voltagem-dependentes e ativados por  $Ca^{++}$  ( $K_V$ ).
- APA-CTx (apamina combinada com charybdotoxina) - bloqueadores dos canais potássio ativado por cálcio de alta, média e baixa condutância
- GLI (glibenclamida) bloqueador de canais de cloreto, e de potássio ATP dependente.
- (\* $p < 0,05$ ).

A seguir segue tabela mostrando percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com TEA, APA-CTx e GLI (\* $p < 0,05$ ). (Tab 6)

Princípio ativo	% de relaxamento da IOI				
	-8 Log M	-7 Log M	-6 Log M	-5 Log M	-4 Log M
IOI + TEA	32,0 ± 2,6	42,0 ± 2,5	55,0 ± 4,2	73,5 ± 7,0	100,0 ± 0,0
IOI + APA-CTx	25,1 ± 4,2	34,4 ± 1,2	43,9 ± 1,6	64,9 ± 2,2	100,0 ± 0,0
IOI + GLI	47,7 ± 3,6	58,8 ± 3,5	65,3 ± 3,5	70,4 ± 1,7	71,1 ± 3,4*
IOI	28,8 ± 6,5	38,4 ± 4,2	50,3 ± 6,5	71,1 ± 2,9	95,8 ± 1,6

**Tab 6:** percentual de relaxamento da IOI após associação ou não com TEA, APA-CTx e GLI.

- IOI (ioimbina) - bloqueador  $\alpha_2$ -adrenérgico.
- TEA (tetraetilamonio), bloqueador não-seletivo de canais de  $K^+$  voltagem-dependentes e ativados por  $Ca^{++}$  ( $K_V$ ).
- APA-CTx (apamina combinada com charybdotoxina) - bloqueadores dos canais potássio Ativado por cálcio de alta, média e baixa condutância
- GLI (glibenclamida) bloqueador de canais de cloreto, e de potássio ATP dependente.
- (\* $p < 0,05$ ).
- Concentrações da ioimbina (- 8 Log M -7 Log M...)



## DISCUSSÃO

Nesta última década, com o advento da sildenafil e de outros inibidores da fosfodiesterase 5 (PDE<sub>5</sub>), o tratamento da DE teve um grande avanço, o que beneficiou inúmeros pacientes que sofriam com este problema (Maggi, 2000).

Com isso a IOI foi um tanto esquecida, devido a sua eficácia ser menor do que a dos inibidores de PDE<sub>5</sub>, e alguns até duvidam se ela realmente teria alguma ação direta no mecanismo eretogênico do corpo cavernoso humano, como aqueles que referem ter ela efeito estimulante mais proeminente na disfunção erétil de origem psicogênica por ação no SNC (Reid, 1987; Rowland, 1997).

Porém a eficiência da IOI foi comprovada, já que a mesma aumentou a motivação sexual em ratos machos (Clark, 1984), e também teve efeito estimulante do comportamento sexual humano, pelo sua ação  $\alpha_2$ -antagonista no SNC (Rampim, 1999; Rowland, 1997).

Outro fato que comprova a atuação da IOI no SNC, é que ela pode aumentar a antinocepção e melhorar o efeito analgésico de opióides em humanos (Morales, 2001)

Reid (1987), em experimento clínico, testou a IOI em 48 pacientes com DE psicogênica. Dos que fizeram uso de IOI na dose de 18 mg/dia 62%, obtiveram melhora da função sexual contra apenas 16% do grupo placebo.

Teloken (1998) utilizou a IOI em altas doses (100mg) em única tomada diária por 30 dias, no tratamento de pacientes com DE orgânica. Resposta completa tiveram 13.6% dos pacientes e 54.5% obtiveram resposta parcial, porém quando esse resultado foi comparado ao placebo não houve significância estatística.

Em um experimento realizado por Sommer (2001), ele e seus colaboradores testaram a IOI no tratamento da DE psicogênica em 69 homens com idade média de 46 anos, e obtiveram uma resposta favorável em 55% dos pacientes que fizeram uso de IOI contra 30% do placebo.

Os benefícios da IOI no tratamento da DE parecem ser maiores que os seus riscos. Portanto, ela deve ser considerada no tratamento da DE, podendo ser usada como terapia farmacológica inicial. A IOI tem um efeito positivo no combate

a DE em homens, e merece ainda um lugar em nosso arsenal terapêutico, porém tem uma ação ruim em fumantes. Quando a IOI é ineficaz como monoterapia, ela pode ser associada a outras modalidades terapêuticas, como ao Naloxone ou a Trazodona (Guay, 2002), tendo uma boa resposta também quando associada a L-arginina (Lebret, 2002).

Outro artifício para uma melhor ação da IOI seria a sua nitrosilação. A IOI com um radical NO produziu um melhor relaxamento das fibras musculares do corpo cavernoso, quando esta foi pré-contraída com endotelina (Sáenz de Tejada, 1999).

Outro dado importante que corrobora o fato de a IOI ainda ter lugar no tratamento clínico da DE, é que ela não é contra-indicada em pacientes coronariopatas usuários de nitrato, o que ocorre com os inibidores de PDE<sub>5</sub>, os quais amplificam o efeito hipotensor dos nitratos (Kernohan, 2004).

Além disso, os inibidores de PDE<sub>5</sub>, com toda a sua eficácia na estimulação da via nitrérgica, ainda possuem um percentual de falha do tratamento de 30% (McMahon, 2006), mostrando que todas as drogas têm suas limitações.

Com esses dados e sabendo que o mecanismo de ação da IOI no corpo cavernoso humano ainda é pouco conhecido, houve a motivação para a realização deste estudo.

A IOI como um potente antagonista seletivo dos receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  (RA  $\alpha_2$ ) e com fraca atividade antagonista  $\alpha_1$  [Tam, 2001], agiria no mecanismo eretogênico por via central, pois os RA  $\alpha_2$  são mais freqüentes no sistema nervoso central, e pouco freqüentes no corpo cavernoso humano [Glina, 1998].

Traish (1997) mostrou que os RA  $\alpha_2$  se subdividem em três tipos:  $\alpha_{2a}$ ,  $\alpha_{2b}$  e  $\alpha_{2c}$ . O subtipo b não foi encontrado em células musculares lisas, estando presente apenas em nervos e endotélio. Os outros RA  $\alpha_2$ , quando estimulados, promovem contração das fibras musculares de corpos cavernosos humanos, bem como promovem relaxamento destas fibras musculares quando inibidos com antagonistas de RA  $\alpha_2$ , o que sugere que os RA  $\alpha_2$  expressos em corpos cavernosos de humanos são fisiologicamente funcionais.

Então, já que os RA  $\alpha_2$  são fisiologicamente funcionais e estão em menor quantidade de do que de  $\alpha_1$  no corpo cavernoso humano, este estudo procurou

mostrar se haveria outro(s) mecanismo(s) de ação da IOI neste tecido, ou se seria apenas seu efeito antagônico aos RA  $\alpha_2$ .

Outro dado interessante é que o presente estudo foi realizado com corpo cavernoso humano teoricamente saudável, retirado de doadores cadáveres que tiveram, em 92,3% dos casos, o TCE como causa morte (12 por TCE e 1 por AVC hemorrágico), e não tinham história de DE segundo familiares. Foi visto que a maioria dos estudos da literatura foi realizada com corpos cavernosos doentes, retirados de pacientes submetidos à inserção de prótese peniana, como nos estudos de Filippi (2002) e de Sáenz de Tejada (1999).

Este presente estudo mostrou que a IOI proporcionou um bom relaxamento do corpo cavernoso humano na concentração  $10^{-4}$ M, quando houve pré-contracção com FEN, e manteve seu relaxamento, porém em menor intensidade, quando houve pré-contracção com solução de  $K^+$  em associação com a guanetidina e fentolamina, abolindo a via adrenérgica, o que mostra a presença de outra via de ação da IOI. A partir daí foi iniciado um estudo farmacodinâmico desta droga frente a diversos princípios ativos, que estão relacionados com as diferentes vias do mecanismo de ereção do corpo cavernoso humano.

Filippi (2002) comprovou que a IOI em baixas concentrações proporcionou o relaxamento dos corpos cavernosos humanos quando pré-contráidos com FEN ou Endotelina-1 (ET-1), porém com maior relaxamento com a última. Em concentrações maiores isso se inverte.

Silva e col (2005) realizou experimento com outro  $\alpha$ -antagonista, a fentolamina, e também apresentou diminuição do relaxamento causado por ela, quando o músculo liso cavernoso humano foi pré-contráido com solução de  $K^+$ . Com a mudança brusca da concentração de  $K^+$  extracelular o equilíbrio do potencial de membrana se quebra, e a corrente iônica se inverte, alterando o potencial de membrana a ponto de resultar na abertura dos canais de cálcio regulados por voltagem, e contratura muscular [Silva, 2005].

Quando ocorre a hiperpolarização celular causada pela abertura dos canais de  $K^+$ , isso induz o relaxamento da musculatura lisa, pois causa o fechamento dos canais de  $Ca^{++}$  voltagem dependentes, e conseqüente diminuição do  $Ca^{++}$  intracelular (Sáenz de Tejada, 2002).

Numa nova fase do experimento a TTX (potente bloqueador de canais de  $\text{Na}^+$ ) conseguiu inibir parcialmente o efeito miorelaxante da IOI no corpo cavernoso humano, porém sem significância estatística ( $p > 0,05$ ), o que sugere que a IOI poderia ter ação sobre os canais de  $\text{Na}^+$ , mas que não foi confirmado estatisticamente.

Kohane (2001) mostrou que a TTX, quando associada a epinefrina, prolonga seu efeito nos bloqueios nervosos periféricos, e que a IOI diminui esse efeito, porém sem significância estatística.

Os RA  $\alpha_2$ , onde atua a IOI, podem regular a liberação de  $\text{Na}^+$ , mantendo o potencial de membrana, conforme demonstrado por Török (2004).

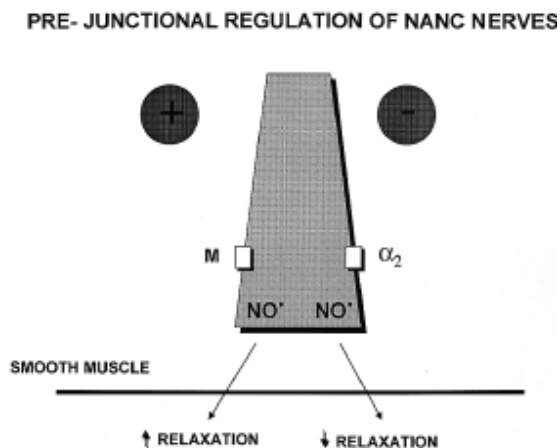
Após essa etapa iniciou-se o estudo farmacodinâmico da IOI em conjunto com bloqueadores da via nitrérgica (principal representante da via NANC), como o ODQ (1H-[1,2,4] Oxadiazolo [4,3-a]quinoxalin-1-ona) - inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel, o 7-NI (7-nitroindazole) - bloqueador da enzima óxido nítrico sintetase neuronal (nNOS) e o L-NAME ( $\text{N}^G$ -nitro-L-arginine methyl éster)- bloqueador da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS), com o objetivo de avaliar outra via alternativa no mecanismo de ação da IOI que não a via adrenérgica, como já demonstrado por Filippi (2002).

Nesta fase atual do estudo observou-se uma diminuição do relaxamento ocasionado pela IOI nos corpos cavernosos humanos, quando a mesma foi associada com os bloqueadores da via nitrérgica citados acima ( $p < 0,05$ ). Esse dado mostra que a mesma tem ação pela via NO-GMPc.

Sabe-se que a liberação de NO seria o principal fator estimulante do relaxamento muscular liso do corpo cavernoso humano, e o estímulo dos RA  $\alpha_2$  pela norepinefrina seria um fator inibitório dessa liberação, como mostrado na fig 23. Portanto a IOI agindo na inibição destes receptores proporcionaria uma maior liberação de NO, e com isso promovendo ereção peniana (Sáenz de Tejada, 2000). O NO tem ainda um papel importante no relaxamento da musculatura lisa uretral (Seshita, 2000).

Simonsen (1997) também comprovou que o estímulo dos RA  $\alpha_2$  pré-juncionais inibem a liberação de NO em artéria peniana de cavalo. Portanto o

bloqueio desses receptores, teoricamente, favoreceria o relaxamento da musculatura lisa peniana.



**Fig 23 – Esquema de hipótese que mostra a regulação pré-juncional dos nervo NANC penianos.**

**Receptores muscarínicos pré-juncionais (M) estimulam liberação de NO e os RA  $\alpha_2$  inibem essa liberação (Sáenz de Tejada, 2000).**

Filippi (2002) também observou esta alteração com L-NAME e ODQ, além de ter observado uma potencialização do efeito da IOI quando a mesma foi associada ao sildenafil (potente inibidor da via de degradação do GMPc).

Outra via importante no relaxamento do músculo liso cavernoso humano, a que atua através dos canais iônicos, cada vez mais vem sendo estudada.

A Caribdotoxina (CTX) e a apamina (APA) exibem um efeito inibitório sobre o canal  $K_{ca}$ , sendo que a primeira é um bloqueador potente dos canais de média e alta condutância (Maxi-K), e a segunda dos canais de baixa condutância (Archer, 2002).

Sabe-se que os canais Maxi-K são estimulados pela liberação intracelular de GMPc, e possuem papel importante no relaxamento de células musculares lisas (Stumpff, 1997).

Spector (2002) também comprovou o relevante papel dos canais Maxi-K na fisiologia, e quem sabe como uma via possível para a terapia da DE.

Porém no atual experimento não foi observado alteração do relaxamento proporcionado pela IOI em músculo liso do corpo cavernoso humano, quando a mesma foi associada com a CTX e a APA.

Já o TEA (tetraetilamônio), bloqueador não-seletivo de canais de  $K^+$  voltagem-dependentes e ativados por  $Ca^{++}$  ( $K_V$ ), em experimento utilizando ácido caurenóico, não alterou relaxamento causado por este ácido em músculo liso de útero de ratas (de Alencar Cunha, 2003).

No corrente experimento, também não se observou alteração do relaxamento proporcionado pela IOI em músculo liso do corpo cavernoso humano, quando a mesma foi associada com o TEA.

Com a GLI (bloqueador de canais de cloreto, e de potássio ATP dependente) foi observada uma diminuição do relaxamento causado pela IOI no corpo cavernoso humano. Com este dado podemos afirmar que a IOI também atua via canais de  $K_{ATP}$  e de  $Cl^-$ . Esse dado também foi observado no estudo recente realizado por Silva (2005), no qual foi utilizada outra substância  $\alpha$ -bloqueadora, a fentolamina.

Venkateswarlu (2002), em estudo com pinacidil e levocromacalim, mostrou a importância dos canais de  $K_{ATP}$  na modulação do tônus muscular liso do corpo cavernoso humano.

A sulfoniluréia GLI, além do seu efeito bloqueador de canais de  $K_{ATP}$ , possui efeito bloqueador dos canais de  $Cl^-$ , como foi visto em trabalhos utilizando célula muscular cardíaca de cobaia (porquinho-da-índia) [Yamazaki, 1997].

Deste modo podemos pensar que a IOI, agindo através de canais de  $K_{ATP}$  e de  $Cl^-$ , deixaria a membrana da célula muscular hiperpolarizada, e desta maneira diminuiria o influxo de  $Ca^{++}$  para o interior da célula, ocasionando relaxamento da célula muscular lisa do corpo cavernoso de humanos.

Com os dados que esse estudo trouxe, abriram-se novas perspectivas sobre outros mecanismos de ação da IOI, que apesar de ser utilizada há mais de 70 anos para o tratamento da DE [Filippi, 2002], ainda apresenta via de atuação pouco conhecida, pois só há poucos anos é que ela vem sendo estudada em trabalhos controlados (Glina, 1998). Desta maneira ainda permanecem abertas as portas para futuros experimentos em novos projetos de pesquisa, como por exemplo, com biologia molecular, que podem nos trazer informações que ainda nos faltam sobre a farmacodinâmica deste medicamento, pois conhecendo melhor

a sua farmacodinâmica, poderá se achar um modo melhor de utilizar esta droga, quer seja como monoterapia quer como em associação com outras drogas.

## CONCLUSÕES

Após o encerramento dos experimentos e da análise estatística dos dados, podemos concluir que a IOI:

- Relaxa o corpo cavernoso de humanos por mecanismo outro que não o seu bloqueio adrenérgico;
- Não atua via canais de sódio;
- Não atua via canais de potássio voltagem-dependentes ativados por cálcio, e nem nos canais de potássio ativados por cálcio de baixa, média e alta condutância (Maxi-K);
- Age pela via nitrérgica, ativando as enzimas óxido nítrico sintetase neuronal e endotelial, como também a guanilato ciclase solúvel;
- Pode agir ativando os canais de potássio ATP dependentes, e os canais de cloreto;
- Age provavelmente pela via NO – GUANILATO CICLASE – GMPc – canais de  $K_{ATP}$  e de cloreto.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHER, S.L. Potassium channels and erectile dysfunction. **Vasc. Pharmacol**, v. 38, p. 61-71, 2002.

ANDERSSON, K. E.; WAGNER, G. Physiology of penile erection. **Physiol Rev.**, v. 75, p. 191– 236, 1995.

BRODERICK, G. A.; LUE, T. F. Evaluation and nonsurgical management of erectile dysfunction and priapism. In: **CAMPBELL'S urology**. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders, 2002. v. 2, cap. 46, p. 1619-1671.

CHRIST, G. J. The penis as a vascular organ. The importance of corporal smooth muscle tone in the control of erection. **Urol. Clin. N. Am.**, v. 22, p. 727-745, 1995.

DE ALENCAR CUNHA, K.M.; PAIVA, L.A.; SANTOS, F.A.; GRAMOSA, N.V.; SILVEIRA, E.R.; RAO, V.S. Smooth muscle relaxant effect of kaurenoic acid, a diterpene from *Copaifera langsdorffii* on rat uterus in vitro. **Phytother Res**, Apr, 17(4):320-4, 2003.

DEAN, R.C.; LUE, T.F. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. **Urol Clin North Am**, November; 32(4): 379–v, 2005.

ERNST, E.; PITTLER, M.H. Yohimbine for erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. **J Urol**, Feb;159(2):433-6, 1998.

FELDMAN, H. A.; GOLDSTEIN, I.; HATZICHRISTOU, D. G.; KRANE, R. J.; MCKINLAY, J. B. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. **J.Urol.**, v. 151, p. 54-61, 1994.

FILIPPI, S.; LUCONI, M.; GRANCHI, S.; NATALI, A.; TOZZI, P.; FORTI, G.; LEDDA, F.; MAGGI, M. Endothelium-dependency of yohimbine-induced corpus cavernosum relaxation. **Int J Impot Res**, april, 14, 295-307, 2002.

GLINA, S.; MARTINS, F.G.; DAMIÃO, R. Tratamento oral. In: I Consenso Brasileiro de disfunção erétil. **Editora BG cultural**, p. 63-70, 1998.

GLINA, S. Esquema geral para a investigação da disfunção erétil. In: GLINA, S. Disfunção sexual humana: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento. São Paulo: **Instituto H. Ellis**, cap. 2.1, p. 131-133, 2002.

GUAY, A.T.; SPARK, R.F.; JACOBSON, J.; MURRAY, F.T.; GEISSER, M.E. Yohimbine treatment of organic erectile dysfunction in a dose-escalation trial. **Int J Impot Res**, Feb, 14(1):25-31, 2002.

JOHANNES, C. B.; ARAUJO, A. B.; FELDMAN, H. Á.; DERBY, C. A.; KLEINMAN, K. P.; MCKINLAT, J. B. Incidence of erectile dysfunction in men ages 40-69: Longitudinal results from the Massachusetts male aging study. **J Urol**, v. 163, p. 460-463, 2000.

KERNOHAN, A.F.B.; MCINTYRE, M.; HUGHES, D.M.; TAM, S.W.; WORCEL, M.; REID, J.L. An oral yohimbine/L-arginine combination (NMI 861) for the treatment of male erectile dysfunction: a pharmacokinetic, pharmacodynamic and interaction study with intravenous nitroglycerine in healthy male subjects. **Br J Clin Pharmacol**, 59:1, 85-93, 2004

KOHANE, D.S.; LU, N.T.; CAIRNS, B.E.; BERDE, C.B. Effects of adrenergic agonists and antagonists on tetrodotoxin-induced nerve block. **Regional anesthesia and pain medicine**, vol 26, No 3 (May-June), pp 239-245, 2001.

KORENMAN, S.G. Advances in the understanding and management of erectile dysfunction. **J Clin Endocrinol Metab**, 60, 1985-1988, 1995.

KRANE RJ, GOLDSTEIN I, SAENZ DE TEJADA I. Impotence. **N Engl J Med**, Dec 14, 321(24), 1648-59, 1989.

LEBRET, T.; HERVÉ, J-M.; GORNY, P.; WORCEL, M.; BOTTO, H. Efficacy and safety of a novel combination of L-arginine glutamate and yohimbine hydrochloride: a new oral therapy for erectile dysfunction. **European Urology**, 41, 608-613, 2002.

LUE, T. F. Erectile dysfunction. **N. Engl. J. Med.**, v. 15, p. 1802-1813, 2000.

MAGGI, M.; FILLIPI, S.; LEDDA, F.; MAGINI, A.; FORTI, G. Erectile dysfunction: from biochemical pharmacology to advances in medical therapy. **European Journal of Endocrinology**, 143, 143-154, 2000.

McKINLAY, J. B. The worldwide prevalence and epidemiology of erectile dysfunction. **Int. J. Impot. Res.**, v. 4, suppl. p. S6-S11, 2000.

MELMAN, A.; GINGELL, J. C. The epidemiology and pathophysiology of erectile dysfunction. **J Urol**, v. 161, p. 5-11, 1999.

MEULEMAN EJ, DONKERS LH, ROBERTSON C, KEECH M, BOYLE P, KIEMENEY LA. Erectile dysfunction: prevalence and effect on the quality of life; Boxmeer study. **Ned Tijdschr Geneeskd**, Mar 24;145(12):576-81, 2001.

MILLER, T. A. Diagnostic evaluation of erectile dysfunction. **Am. Fam. Physician**, v. 61, p. 95-104, 2000.

MORALES, A. Yohimbine in erectile dysfunction: the facts. **Int J Impot Res**, 12, suppl 1, S70-S74, 2000.

MORALES, L.; PEREZ-GARCIA, C.; ALGUACIL, L.F. Effects of yohimbine on the antinociceptive and place conditioning effects of opioid agonists in rodents. **British Journal of Pharmacology**, 133, 172–178, 2001.

MOREIRA, E. D.; ABDO, C. H.; TORRES, E. B.; LOBO, C. F.; FITIPALDI, J. A.. Prevalence and correlates of erectile dysfunction: results of the Brazilian study of sexual behavior. **Urology**, v 58, p. 583-588, 2001.

MOREIRA Jr, E. D.; LÔBO, C. F. L.; DIAMENT, A.; NICOLOSI, A.; GLASSER, D. B. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: results from a populational-based cohort study in Brazil. **Urology**, v 61, p. 431-436, 2003.

NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence. **JAMA**, v. 270, p. 83-90, 1993.

PAGANI, E.; Di DIO, L. J. A. Bases biomorfológicas e fisiológicas da ereção. In: GLINA, S. Disfunção sexual humana: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento. São Paulo: **Instituto H. Ellis**, 2002. cap. 1, p. 27.

RAMPIM, O. Pharmacology of alpha-adrenoceptors in male sexual function. **Eur Urol**, 36, Suppl 1, 103-106,1999.

REID, K.; SURRIDGE, D.H.; MORALES, A.; CONDRA, M.; HARRIS, C.; OWEN, J.; FENEMORE, J. Double-blind trial of yohimbine in treatment of psychogenic impotence. **Lancet**, Aug 22, 2(8556), 421-423, 1987.

ROWLAND, D.L.; KALLAN, K.; SLOB, A.K. Yohimbine, erectile capacity, and sexual response in men. **Arch Sex Behav**, Feb, 26(1), 49-62, 1997.

SÁENZ DE TEJADA, I.; KIM, N.N.; GOLDSTEIN, I.; TRAISH, A.M. Regulation of pre-synaptic alpha adrenergic activity in the corpus cavernosum. **Int J Impot Res**, Mar, 12, Suppl 1, S20-S25, 2000.

SÁENZ DE TEJADA, I. Molecular mechanisms for the regulation of penile smooth muscle contractility. **Int J Impot Res**, 14, suppl 1, S6-S10, 2002.

SÁENZ DE TEJADA, I.; GARVEY, D. S.; SCHROEDER, J. D.; SHELEKHIN, T.L.; LETTS, G.; FERNÁNDEZ, A.; CUEVAS, B.; GABANCHO, S.; MARTÍNEZ, V.; ANGULO, J.; TROCHA, M.; MAREK, P.; CUEVAS, P.; TAM, S.W. Design and evaluation of nitrosylated  $\alpha$ -adrenergic receptor antagonists as potential agents for the treatment of impotence. **Pharmacology and experimental therapeutics**, Vol 290, Issue 1, 121-128, July 1999

SATTAR, A.A.; SALPIGIDES, G.; VANDERHAEGHEN, J.J. Cavernous oxygen tension and smooth muscle fibers: relation and function. **J Urol**, 154:1736, 1995.

SESHITA H, YOSHIDA M, TAKAHASHI W, INADOME A, YONO M, MIYAMOTO Y, MURAKAMI S, UEDA S. Prejunctional  $\alpha$ -adrenoceptors regulate nitrenergic neurotransmission in the rabbit urethra. **Eur J Pharmacol**, Jul, 400, 271-278, 2000.

SILVA, L.F.; NASCIMENTO, N.R.; FONTELES, M.C.; DE NUCCI, G.; MORAES, M.E.; VASCONCELOS, P.R.; MORAES, M.O. Phentolamine relaxes human corpus cavernosum by a nonadrenergic mechanism activating ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel. **Int J Impot Res**, Jan-Feb, 17(1), p 27-32, 2005.

SIMONSEN, U.; PRIETO, D.; HERNÁNDEZ, M.; SÁENZ DE TEJADA, I.; GARCÍA-SACRISTÁN, A. Prejunctional  $\alpha_2$ -adrenoceptors inhibit nitrenergic neurotransmission in horse penile resistance arteries. **J Urol**. Jun;157(6):2356-60, 1997.

SOMMER, F.; OBENAU, K.; ENGELMANN, U. Creative-dynamic image synthesis: a useful addition to the treatment options for impotence. **Int J Impot Res**, 13, 268-275, 2001.

SPECTOR, I.P.; CAREY, M.P. Incidence and prevalence of the sexual dysfunctions: a critical review of the empirical literature. **Arch Sex Behav**, Aug, 19(4), 389-408, 1990.

SPECTOR, M.; RODRIGUEZ, R.; ROSENBAUM, R.S.; WANG, H.Z.; MELMAN, A.; CHRIST, G.J. Potassium channels and human corporeal smooth muscle cell tone: further evidence of the physiological relevance of the maxi-k channel subtype to the regulation of human corporeal smooth muscle tone in vitro. **J Urol**, June, vol 167, 2628-2635, 2002.

STEERS, W. D. Neural pathways and central sites involved in penile erection: neuroanatomy and clinical implications. Neural pathways and central sites involved in penile erection: neuroanatomy and clinical implications. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 24, p. 507-516, 2000.

STUMPF, F.; STRAUSS, O.; BOXBERGER, M.; WIEDERHOLT, M. Characterization of maxi-K-channels in bovine trabecular meshwork and their activation by cyclic guanosine monophosphate. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, Aug, 38(9), 1883-1892, 1997.

TAM, S.W.; WORCEL, M.; WYLLIE, M. Yohimbine: a clinical review. **Pharmacol Ther**, Sep, 91(3):215-43, 2001.

TELOKEN, C.; RHODEN, E. L.; SOGARI, O.; DAMBROS, M.; SOUTO, C. A. Therapeutic effects of high dose yohimbine hydrochloride on organic erectile dysfunction. **J Urol**, v. 159, p. 122-124, 1998.

TÖRÖK, T.L.; NAGYKÁLDI, Z.; SÁSKA, Z.; KOVÁCS, T.; NADA, S.A.; ZILLIKENS, S.; MAGYAR, K.; SYLVESTER VIZI, E. Presynaptic alpha2-receptors regulate reverse Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-exchange and transmitter release in Na<sup>+</sup>-loaded peripheral sympathetic nerves. **Neurochem Int**, Oct, 45(5):699-711, 2004.

TRAISH, A.M.; MORELAND, R.B.; HUANG, Y.H.; GOLDSTEIN, I. Expression of functional  $\alpha_2$ -adrenergic receptor subtypes in human corpus cavernosum and in cultured trabecular smooth muscle cells. **Recept Signal Transduct**, 7(1):55-67, 1997.

VENKATESWARLU, K.; GIRALDI, A.; ZHAO, W.; WANG, H-Z.; MELMAN, A.; SPEKTOR, M. CHRIST, G. J. Potassium channels and human corporeal smooth muscle cell tone: diabetes and relaxation of human corpus cavernosum smooth muscle by adenosine thiphosphate sensitive potassium channel openers. **J Urol**, v 168, p 355-361, 2002.

WAGNER, G.; SAENZ DE TEJADA, I. Update on male erectile dysfunction. **BMJ**, February, 316, 678-682, 1998.

WALSH, P. C.; BRENDLER, C. B.; CHANG, T.; MARSHALL, F. F.; MOSTWIN, J. I.; STUTZMAN, R.; SCHLEGELP, N. Preservation of sexual function in men during radical pelvic surgery. **Md Med J**, v 39, p 389-393, 1990.

YAMAZAKI, J.; HUME, J.R. Inhibitory Effects of Glibenclamide on Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator, Swelling-Activated, and  $Ca^{2+}$ -Activated  $Cl^-$  Channels in Mammalian Cardiac Myocytes. **Circulation Research**, 81, p 101-109, 1997.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)