

Universidade Federal do Ceará
Departamento de Farmacologia e Fisiologia
Faculdade de Medicina

Lúcio Flávio Gonzaga Silva

Fentolamina: aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmica
no corpo cavernoso humano.

Fortaleza
2003

Lucio Flavio Gonzaga Silva

**Fentolamina: aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmica
no corpo cavernoso humano.**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-
Graduação em Fisiologia e Farmacologia, da
Universidade Federal do Ceará, como requisito
parcial para obtenção do grau de Doutor em
Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes

Fortaleza

2003

Tecla e Joaquim

Deinha e Cleiton

João e Luíza

In memoriam

Joselene, Marina e Marília

Meu sentido de vida.

Agradecimentos

Ao **Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes**, orientador, presente sempre, incentivador irrestrito, apoio pleno, sobretudo um amigo de elevado saber, responsável por boa parte do que somos e fizemos em ciência.

Ao **Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles** que nos permitiu usufruir do seu laboratório e seu saber. Agradecimento com incomensurável admiração.

Ao **Prof. Nilberto Robson Falcão do Nascimento**, exemplo singular de amor à ciência, pela grandeza de seu gesto cooperativo e desinteressado,

Ao **Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos**, vasto saber e estímulo profícuo, dedicação à ciência, honra, dignidade e nobreza à banca examinadora do Doutorado. Marcou de forma indelével nossa estréia nas lides científicas.

Ao **Prof. Dr. Sidney Glina, Prof. Dr. Gilberto De Nucci, Profa. Dra. Maria Elizabete Amaral de Moraes**, inequívoco enriquecer de nobreza e brilhantismo a banca examinadora do Doutorado. Motivo de enaltecimento.

À **profa. Dra. Claudia do Ó Pessoa e Prof. Dr. Marcos Venício Alves Lima** que de forma brilhante dignificaram a banca de qualificação ao Doutorado de Farmacologia.

Ao colega **Dr. André Sousa Castelo**, em nome dos que fazem a captação de órgãos no Ceará, incentivadores entusiásticos ao termo desta tese.

À colega **Dra Eliana Régia Barbosa de Almeida**, em nome de todos que fazem a Central de Transplante do Ceará pela inestimável e desmedida cooperação à concretização desta tese de Doutorado.

Ao **Dr. José Marconi Tavares**, em nome dos colegas da equipe de Uro-oncologia do Hospital do Câncer do Ceará, pelo apoio e incentivo constante e amigo.

Ao **Dr. Francisco Flavio Leitão Carvalho**, em nome de todos os professores do Departamento de Cirurgia que sempre tiveram palavras de apoio e solidariedade nos difíceis momentos deste estudo.

Ao familiares do **doador cadáver** as mais profundas condolências e homenagens pelo gesto mais desprendido e pleno de amor ao próximo.

Ao **doador cadáver** só Deus com sua sapiência e misericórdia o recompensará em plenitude pelo dom de permitir saúde ao doente, de confrontar o morrer com o viver.

Resumo

Fentolamina: aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmica no corpo cavernoso humano. Estudo *in vivo* e *in vitro*.

Lucio Flavio Gonzaga Silva

Orientador: Prof Dr. Manoel Odorico de Moraes

Introdução: Disfunção erétil (DE) é definida como uma incapacidade para conseguir e manter uma ereção para satisfação sexual. A fentolamina um antagonista α -adrenérgico tem sido usado para tratar DE desde 1994, principalmente em combinação com outros agentes vasoativos. Mais recentemente uma formulação oral mesilato de fentolamina foi desenvolvida para a doença. A droga relaxa corpo cavernoso peniano inibindo α -adrenérgicos receptores. Desde o artigo de Traish (1998) se tem especulado que a fentolamina pode relaxar o músculo liso peniano por um mecanismo não adrenérgico.

O objetivo deste estudo é compreender melhor a farmacocinética da fentolamina (estudo *in vivo*) usando os dados de um teste de bioequivalência, and investigar sua farmacodinâmica no corpo cavernoso humano com o propósito de dirimir as dúvidas sobre seu mecanismo não adrenérgico neste sítio (estudo *in vitro*).

Métodos (estudo *in vivo*): Trinta e seis voluntários sãos, masculinos, (idade média 21,5 anos) foram admitidos no estudo cujo desenho consistia de um ensaio duplo cruzado randomizado, com uma única dose, comparando (Regitina®) a uma formulação padrão de fentolamina (Vasomax®).

Estudo *in vitro*: Um total de 64 tiras isoladas de corpo cavernoso humano obtido de 16 doadores cadáveres masculinos (16 –40 anos de idade) foram investigados. A atividade farmacológica do relaxamento mediado pela fentolamina de fragmentos pré-contraídos de tecido erétil peniano foi estudada em banho de tecidos (meio não adrenérgico/não prostanóide).

Resultados (estudo *in vivo*): a razão da média geométrica de C_{max} da formulação de Regitina® 40 mg foi 108,29% (90% CI = 98,58 – 118,96) da formulação de Vasomax 40 mg. A razão da média geométrica da [AUC_(0-720 min)] da formulação de Regitina® 40 mg foi 102,33 (90% CI = 97,21 – 107,72) da formulação de Vasomax® 40 mg. A média dos parâmetros farmacocinéticos da fentolamina foram C_{max} 15,4 ng/mL, T_{max} 50 min e $t_{1/2}$ 3 h.

(Estudo *in vitro*): A fentolamina causou relaxamento dependente da concentração em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com o agonista α -adrenérgico fenilefrina bem como com os agentes não adrenérgicos serotonina (10^{-4} M), prostaglandina $F_{2\alpha}$ (10^{-4} M) e KCl (60 mM), com a melhor eficácia contra a fenilefrina (100% de relaxamento na concentração de 10^{-3} M - $IC_{50} = 1,5 \times 10^{-5}$ M).

A Tetrodotoxina (TTX – 10^{-6} M) (bloqueador de canal de Na^+) e atropina (10^{-5} M) (inibidor do receptor muscarínico) não alterou o relaxamento da fentolamina no músculo liso peniano ($54,6 \pm 4,6\%$ x $48,9 \pm 6,4\%$) ($52,7 \pm 6,5\%$ x $58,6 \pm 5,6\%$) ($p > 0,05$).

O relaxamento da fentolamina nas tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídos com KCl (40 mM) foi significativamente atenuado por N^G -nitro-L-arginine L-NAME (10^{-4} M) (inibidor da NO sintetase) ($59,7 \pm 5,8\%$ x $27,8 \pm 7,1\%$) ($p < 0,05$) e 1H-[1,2,4] Oxadiazole [4,3-a]quinoxalin-1-one ODQ (10^{-4} M) (inibidor da guanilato ciclase) ($62,7 \pm 5,1\%$ x $26,8 \pm 3,9\%$) ($p < 0,05$).

O papel dos bloqueadores dos canais de K foram investigados. A glibenclamida (10^{-4} M) um inibidor do canal de potássio ativado por ATP (inibidor do K_{ATP}) causou uma inibição quase completa (90%) do relaxamento da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com KCl (40 mM) ($56,7 \pm 6,3\%$ x $11,3 \pm 2,3\%$) ($P < 0,05$). Investigação com glibenclamida + L-NAME fez o mesmo efeito ($54,6 \pm 5,6\%$ x $5,7 \pm 1,4\%$) ($p < 0,05$). Os bloqueadores do canal de potássio dependente de Ca^{++} (K_{ca}) Charybdotoxina e apamina não modificaram o relaxamento da fentolamina ($54,6 \pm 4,6\%$ v $59,3 \pm 5,2\%$)

Conclusão: Os parâmetros farmacocinéticos médios da fentolamina foram similares aos reportados pela literatura científica. As duas formulações da fentolamina foram consideradas semelhantes.

Os resultados dos estudos farmacológicos da fentolamina sugerem que ela relaxa o corpo cavernoso de humanos também por mecanismo não adrenérgico-não colinérgico, ativando o canal de potássio K_{ATP} .

Palavras chave: Fentolamina, farmacocinética, farmacodinâmica, canais de potássio, disfunção erétil.

Abstract

Phentolamine: pharmacokinetic aspects and pharmacodynamics in human corpus cavernosum. In vivo and in vitro study.

Paper presented to the Course of Post-Graduation in Pharmacology of the Department of Physiology and Pharmacology Of the Federal University of Ceara as a prerequisite for the gain of the doctor's degree in Pharmacology, Fortaleza, 2003.

Lucio Flavio Gonzaga Silva

Orientador: Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes

Introduction: Erectile dysfunction (ED) is defined as the Inability to achieve or maintain an erection adequate for sexual satisfaction. Phentolamine an α -adrenergic antagonist has been used to treat ED since 1994, mostly in combination with other vasoactive agents. More recently oral formulation of Phentolamine mesylate were developed for the disease. The drug is thought to relax penile smooth muscle by a inhibition over α -receptors. Since the paper of Traish (1998) has been speculated that phentolamine may also relax penile smooth muscle by a non-adrenergic mechanism.

The aim of this study is to understand the pharmacokinetics aspects of Phentolamine (in vivo study) using the data from a bioequivalence test, and to investigate its pharmacodynamics with the purpose to clear its non-adrenergic mechanism in human corpus cavernosum (in vitro study).

Methods (In vivo study): Thirty six healthy male volunteers (mean age 21,5 years old) were enrolled in the study that consisted in a single dose, two-way randomized crossover design comparing one phentolamine formulation (regitina®) to one standard phentolamine formulation (Vasomax®).

In vitro study: A total of 64 isolated human corporeal tissue strips obtained from 16 male donor cadaver (16 – 40 years old) were investigate. The pharmacologic activity of phentolamine-mediated relaxation, of pre-contracted erectile tissue strips of human corpus cavernosum were studied in organ bath chambers(non-adrenergic mean).

Results: (in vivo study): Regitina® 40 mg formulation C_{max} geometric mean ratio was 108.29% (90% CI = 98.58 – 118.96 of Vasomax 40 mg formulation. Regitine® 40 mg formulation [AUC_(0-720 min)] geometric mean ratio was 102.33 (90% CI = 97.21 – 107.72) of Vasomax® 40 mg formulation. The average phentolamine pharmacokinetics parameters were C_{max} 15,4 ng/mL, T_{max} 50 min and $t_{1/2}$ 3 h.

(In vitro study): Phentolamine caused concentration dependent relaxation in human corpus cavernosum strips pre-contracted with the α -adrenergic agonist phenylephrine as well as with the non-adrenergic serotonin (10^{-4} M), prostaglandin $F_{2\alpha}$ (10^{-4} M) and KCl (60 mM) agents, with the best efficacy against phenylephrine (100% of relaxation at 10^{-3} M - $IC_{50} = 1,5 \times 10^{-5}$ M).

Tetrodotoxin (TTX – 10^{-6} M) (Na^+ channel blocker) and atropine (10^{-5} M) (muscarinic receptor inhibitor) did not cause alterations in the phentolamine relaxation of the penile smooth muscle ($54,6 \pm 4,6\%$ x $48,9 \pm 6,4\%$) ($52,7 \pm 6,5\%$ x $58,6 \pm 5,6\%$) ($p > 0,05$).

The relaxation of phentolamine of the human corpus cavernosum strips pre-contracted with KCl (40 mM) was significantly attenuated by N^G -nitro-L-arginine L-NAME (10^{-4} M) (NO synthase inhibitor) ($59,7 \pm 5,8\%$ x $27,8 \pm 7,1\%$) ($p < 0,05$) and 1H-[1,2,4] Oxadiazole [4,3-a]quinoxalin-1-one ODQ (10^{-4} M) (inibidor da guanilato ciclase ($62,7 \pm 5,1\%$ x $26,8 \pm 3,9\%$) ($p < 0,05$).

The role of the K channel blockers were investigated. Glibenclamide (10^{-4} M) an inhibitor of ATP-activated K^+ -channels (K_{ATP} - inhibitor) caused a almost completely inhibition (90%) of the human corpus cavernosum strips phentolamine relaxation, pre-contracted with KCl (40 mM) ($56,7 \pm 6,3\%$ x $11,3 \pm 2,3\%$) ($P < 0,05$). Investigation with Glibenclamide + L-NAME did the same effect ($54,6 \pm 5,6\%$ x $5,7 \pm 1,4\%$) ($p < 0,05$). Charybdotoxin and apamin (blockers of CA^{++} -activated K^+ channels – K_{ca}) did not alter the phentolamine relaxations ($54,6 \pm 4,6\%$ v $59,3 \pm 5,2\%$)

Conclusion: The average phentolamine pharmacokinetics parameters were similar to the reported by scientific literature. The two drugs are bioequivalents for the rate and extent of absorption.

The results from the Pharmacologic studies suggest that Phentolamine relaxes human corpus cavernosum by a nonadrenergic noncholinergic mechanism activating the ATP-activated K^+ -channel (K_{ATP}).

Keywords: Phentolamine, Pharmacokinetic, Pharmacodynamics, K^+ channel, erectile dysfunction.

Listade Tabelas	Página
Tabelas	Página
Tabela 1. Comparação entre IC_{50} , $t_{1/2}$ e T_{max} do sildenafil, tadalafil e vardenafil	62
Tabela 2. Parâmetros farmacocinéticos médios	89
Tabela 3. Estatística de AUC _(0-720 min) e C_{max} % da fentolamina	89
Tabela 4. Relaxamento percentual da fentolamina frente a vários agonistas	91
Tabela 5. CI_{50} , PD_2 , e $IC_{95\%}$ da Fentolamina em tiras pré-contraídos com K^+ , $PGF_{2\alpha}$ 5-HT ou fenilefrina	92
Tabela 6. Efeitos de diferentes soluções despolarizantes	94
Tabela 7. Efeitos de estímulos relaxantes em tiras pré-contraídas por K^+	95
Tabela 8. Relaxamento percentual da fentolamina / TTX	97
Tabela 9. Relaxamento percentual da fentolamina / ATR	99
Tabela 10. Relaxamento percentual da fentolamina / L-NAME	101
Tabela 11. Relaxamento percentual da fentolamina / ODQ	103
Tabela 12. Relaxamento percentual da fentolamina / glibenclamida	105
Tabela 13. Relaxamento percentual da fentolamina / L-NAME + glibenclamida	107
Tabela 14. Relaxamento percentual da fentolamina / apamina e caribdotoxina	109
Tabela 15. Relaxamento percentual da fentolamina / $PGF_{2\alpha}$ / cálcio zero	111
Tabela 16. Contração percentual de cloreto de potássio / fentolamina e nifedipina	112
Tabela 17. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário I	168
Tabela 18. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário II	169
Tabela 19. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário III	170
Tabela 20. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário IV	171
Tabela 21. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário V	172
Tabela 22. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário VI	173
Tabela 23. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário VII	174
Tabela 24. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário VIII	175
Tabela 25. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário IX	176
Tabela 26. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário X.	177
Tabela 27. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XI	178
Tabela 28. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XII	179
Tabela 29. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XIII	180
Tabela 30. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XIV	181
Tabela 31. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XV	182
Tabela 32. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XVI	183
Tabela 33. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XVII	184
Tabela 34. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XVIII	185
Tabela 35. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XIX	186
Tabela 36. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XX	187
Tabela 37. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXI	188
Tabela 38. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXII	189
Tabela 39. Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXIII	190

Tabela 40.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXIV	191
Tabela 41.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXV	192
Tabela 42.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXVI	193
Tabela 43.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXVII	194
Tabela 44.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXVIII	195
Tabela 45.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXIX	196
Tabela 46.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXX	197
Tabela 47.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXXI	198
Tabela 48.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXXII	199
Tabela 49.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXXIII	200
Tabela 50.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXXIV	201
Tabela 51.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXXV	202
Tabela 52.	Parâmetros farmacocinéticos do voluntário XXXVI	203

Lista de Figuras	página
Figura 1. Secção transversal do pênis	17
Figura 2. Trama vascular do aparelho genital masculino	18
Figura 3. Inervação peniana	20
Figura 4. Sinusóides cavernosos: flacidez e ereção	21
Figura 5. Mecanismo molecular da contração muscular lisa peniana	23
Figura 6. Mecanismo molecular do relaxamento muscular liso peniano.	26
Figura 7. O coito	34
Figura 8. Antagonismo funcional e disfuncional do pênis	42
Figura 9. Estrutura química da fentolamina	63
Figura 10. Farmacodinâmica da fentolamina	65
Figura 11. Concentração plasmática média de fentolamina versus tempo	88
Figura 12. Traçado original da fentolamina em corpo cavernoso humano pré-contraídas com K^+ , $PGE_{2\alpha}$, 5-HT ou fenilefrina	90
Figura 13. Efeito da fentolamina corpo cavernoso humano pré-contraídas com K^+ , $PGE_{2\alpha}$, 5-HT ou fenilefrina	91
Figura 14. Traçado original do efeito de concentrações despolarizantes de K^+ no relaxamento por fentolamina em corpo cavernoso humano	93
Figura 15. Efeitos de diferentes concentrações despolarizantes no relaxamento induzido por fentolamina no corpo cavernoso humano	94
Figura 16. Efeito de estímulos relaxantes em corpo cavernoso humano pré-contraído com solução rica em K^+	95
Figura 17. Traçado original do efeito da fentolamina de corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com TTX	96
Figura 18. Efeito da fentolamina em corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com TTX	97
Figura 19. Traçado original do efeito da fentolamina em corpo cavernoso humano pré-contraídos com K^+ , pré-tratado com ATR	98
Figura 20. Efeito da fentolamina em corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com ATR	99
Figura 21. Traçado original do efeito da fentolamina em corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com L-NAME	100
Figura 22. Efeito da fentolamina em de corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com L-NAME	101
Figura 23. Traçado original do efeito da fentolamina no corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com ODQ	102
Figura 24. Efeito da fentolamina no corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com ODQ	103
Figura 25. Traçado original do efeito da fentolamina no corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com/ glibenclamida	104
Figura 26. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com K^+ , pré-tratadas / glibenclamida	105
Figura 27. Traçado original do efeito da fentolamina no corpo cavernoso pré-contraídas / K^+ , pré-tratado / L-NAME + glibenclamida	106
Figura 28. Efeito da fentolamina no corpo cavernoso humano pré-contraído com K^+ , pré-tratado com L-NAME + glibenclamida	107

Figura 29.	Traçado original do efeito da fentolamina no corpo cavernoso pré-contráido com K^+ , pré-tratado com apamina e caribdotoxina	108
Figura 30.	Efeito da fentolamina no corpo cavernoso humano pré-contráido com K^+ , pré-tratado com apamina e caribdotoxina	109
Figura 31.	Traçado original do efeito da fentolamina no corpo cavernoso humano pré-contráido com $PGF_{2\alpha}$, / com cálcio nominal zero	110
Figura 32.	Efeito da fentolamina no corpo cavernoso humano pré-contráido com $PGF_{2\alpha}$, em meio com cálcio nominal zero	111
Figura 33.	Efeito comparativo da fentolamina e nifedipina sobre o percentual de contração de K^+ no corpo cavernoso humano	112
Figura 34.	Desenho esquemático da guanilato ciclase solúvel	123
Figura 35.	Mecanismo farmacológico da ereção peniana	125
Figura 36.	Mecanismo de liberação de insulina via K_{ATP}	128
Figura 37.	Ações farmacológicas da fentolamina	135
Figura 38.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário I	168
Figura 39.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário II	169
Figura 40.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário III	170
Figura 41.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário IV	171
Figura 42.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário V	172
Figura 43.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário VI	173
Figura 44.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário VII	174
Figura 45.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário VIII	175
Figura 46.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário IX	176
Figura 47.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário X	177
Figura 48.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XI	178
Figura 49.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XII	179
Figura 50.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XIII	180
Figura 51.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XIV	181
Figura 52.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XV	182
Figura 53.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XVI	183
Figura 54.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XVII	184
Figura 55.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XVIII	185
Figura 56.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XIX	186
Figura 57.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XX	187
Figura 58.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXI	188
Figura 59.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXII	189
Figura 60.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXIII	190
Figura 61.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXIV	191
Figura 62.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXV	192
Figura 63.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXVI	193
Figura 64.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXVII	194
Figura 65.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXVIII	195
Figura 66.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXIX	196
Figura 67.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXX	197
Figura 68.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXXI	198
Figura 69.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXXII	199

Figura 70.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXXIII	200
Figura 71.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXXIV	201
Figura 72.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXXV	202
Figura 73.	Concentração plasmática de fentolamina voluntário XXXVI	203

Lista de abreviaturas

ACh - Acetilcolina
 ACTH – Hormônio adrenocorticotrópico
 ALT – Alanina transaminase
 c AMP – adenosina monofosfato cíclico
 AST – aspartato transaminase
 AUC – área sob a curva
 $[Ca^{++}]_i$ – cálcio intracelular
 $CaCl_2$ - Cloreto de Cálcio
 COX – ciclo-oxigenase
 DAG - triacilglicerol
 Bk_{ca} = canal de potássio de alta condutância sensível a cálcio
 C_{max} - concentração plasmática máxima
 CI – intervalo de confiança
 CRGP – peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina
 CTx - Charybdotoxina
 DAG – Diacilglicerol
 DE – disfunção erétil
 EC_{50} – dose necessária para produzir metade da resposta máxima
 ECG – eletrocardiograma
 EDTA – ácido etilenodiaminotetraacético
 EDRF - fator relaxador derivado do endotélio
 EFS – estímulo por campo elétrico
 e.g. (*exempli gratia*) – por exemplo
 FDA – Agencia americana que controla a produção de alimentos, drogas e cosméticos.
 GABA - ácido γ -amino butírico
 GC – guanilato ciclase
 s GC - guanilato ciclase solúvel
 c GKI – Proteína cinase dependente de c GMP
 GMP – guanosina monofosfato
 c GMP – guanosina monofosfato cíclica
 γ -GT – gama glutamil transferase
 GTP – guanosina trifosfato
 H_2 – receptor histamínico
 HPLC – Cromatografia líquida de alta performance
 5-HT – Serotonina
 IC_{50} – concentração necessária 50% de efeito inibitório
 IIEF – Índice Internacional de Função Erétil
 i.e. (*id est*) - quer dizer
 IP_3 - trifosfato de inositol
 $[K^+]_o$ = concentração de potássio extracelular
 K_{ATP} – Canal de potássio sensível à adenosina trifostato
 KCl – cloreto de potássio
 K_{ca} ou Maxi K – Canal de potássio de alta condutância
 K_v – canal de potássio dependente de voltagem
 K_e – constante de eliminação de uma droga

KHS – solução de Krebs-Henseleit
 KS test – teste de *Kolmogorov-Smirnov*
 LC-MS-MS - cromatografia líquida de alta pressão acoplada a espectrometria de massa
 LDL – lipoproteína de baixa densidade (Colesterol LDL)
 LH – hormônio luteinizante
 L-NAME - L-nitro-metil ester de arginina (*N^G-nitro-L-arginine methyl ester*)
 M₃ – receptor muscarínico sub-tipo M₃
 MgSO₄ - Sulfato de Magnésio
 MMAS - Massachusetts Male Aging Study
 MRM – método monitorizador de reações múltiplas
 MPOA – área pré-óptica medial
 α-MSH – hormônio estimulador de melanócito α
 NA – noradrenalina
 NaCl - Cloreto de Sódio
 NADPH – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
 NaHCO₃ - Bicarbonato de Sódio
 NaH₂PO₄ - Fosfato de sódio monobásico
 NANC – não adrenérgico/não colinérgico
 NMDA - N-metil-D-aspartato
 NO – óxido nítrico
 NOS– óxido nítrico sintetase
 eNOS - NO sintetase endotelial
 iNOS - NO sintetase induzível por citocinas
 nNOS – NO sintetase neuronal
 NOS_mRNA – RNA mensageiro da oxido nítrico sintetase
 NTV – valores de transformação normal
 ODQ - 1H-[1,2,4] *Oxadiazole* [4,3-a]*quinoxalin-1-one*
 PD₂ – cologaritmo da dose necessária para produzir metade da resposta máxima
 PDE_s – fosfodiesterases
 PDE₃ – fosfodiesterase tipo 3
 PDE₅ – fosfodiesterase tipo 5.
 PGE₁ - Prostaglandina E₁ – Alprostadil
 PGF_{2α} – Prostaglandina F_{2α}
 PKA – proteína cinase A
 PKC = proteína cinase C
 PKG – proteína cinase dependente de cGMP
 pO₂ – pressão parcial de O₂.
 PVN – Núcleo paraventricular
 QAD – questionário auto-administrado
 R – referência
 Reg – regitina
 RhoA – uma pequena proteína G uma cinase específica SER/THR cinase,
 Rho-cinase – uma cinase específica serina/treonina (SER/THR) cinase,
 rpm – rotações por minuto
 SER/THR – Serina/treonina
 SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – nitroprussiato de sódio

T – teste

TEA - tetraetilamonio,

T_{\max} – tempo necessário para alcançar a C_{\max}

$t_{1/2}$ – meia vida

TSH – hormônio estimulante da tireóide

TRPN - teste da tumescência e da rigidez peniana noturna

TTX - tetrodotoxina

Vas – vasomax

VDCC – voltage-dependent Ca^{++} channel

VHS – velocidade de hemossedimentação

VIP – polipeptídeo intestinal vasoativo

Sumário	página
Resumo	
Abstract	
Lista de Tabelas	
Lista de Figuras	
Lista de abreviaturas	
Introdução	17
1. Anatomia do pênis	17
2. A função erétil peniana	21
3. A disfunção erétil peniana	32
3.1 Definição	32
3.2 História	33
3.3 Epidemiologia	37
3.3.1 Incidência e prevalência	37
3.3.2 Fatores de risco	38
3.4 Classificação	40
3.5 Fisiopatologia	41
3.6 Diagnóstico	45
3.7 Tratamento	50
3.7.1 Tratamento não farmacológico	51
3.7.2 Tratamento farmacológico	53
4. Fentolamina	63
4.1 Farmacocinética	63
4.2 Farmacodinâmica	64
Objetivos	67
Material de Métodos	68
1. Primeiro estudo	68
1.1 Material	68
1.2 Método	70
1.2.1 Do desenho	70
1.2.2 Dos voluntários	71
1.2.3 Critérios de inclusão e exclusão	72
1.2.4 Critérios para saída do estudo	74
1.2.5 Dos eventos adversos	75
1.2.6 Aspectos éticos	75
1.2.7 Dos procedimentos	76
1.2.8 Da análise dos fármacos	77
1.2.9 Dos parâmetros farmacocinéticos	81
1.3 Análise estatística	82
2. Segundo estudo	83
2.1 Material	83
2.2 Método	83
2.2.1 Do desenho do estudo	83
2.2.2 Da captação do corpo cavernoso	84

2.2.3 Manutenção	84
2.2.4 Processamento e montagem	85
2.2.6 Dos experimentos	85
2.3 Análise estatística	87
Resultados	88
1. Primeiro estudo	88
2. Segundo estudo	90
Discussão	113
1. Farmacocinética em voluntários sãos	113
2. Farmacodinâmica no corpo cavernoso humano	115
Considerações finais	133
Conclusões	136
Referências	137
Anexos	155

Introdução

1. Anatomia do pênis

O Pênis consiste de dois corpos cilíndricos dorsais de tecido erétil, os corpos cavernosos e um menor, também cilíndrico, situado ventralmente circundando a uretra, o corpo esponjoso, que na sua extremidade distal forma a glândula [Miller 2000].

Os corpos cavernosos são conglomerados de sinusóides interconectados e separados por trabéculas de músculo liso, circundadas por fibras elásticas, colágeno e tecido aureolar frouxo, contidos em um envelope, a túnica albugínea. A estrutura do corpo esponjoso e glândula é similar, exceto por seus sinusóides serem mais largos, e por sua túnica mais delgada, mesmo ausente na última [Lue, 2002].

É a túnica albugínea uma camada dupla espessa e fibrosa que reveste os corpos cavernosos, cujas fibras se unem ventralmente, formando um septo incompleto no homem, permitindo que os dois funcionem como uma unidade. Os corpos cavernosos e o esponjoso são cobertos pela Fasia de Buck, um tecido fibroso forte (figura 1)[Melman 1999].

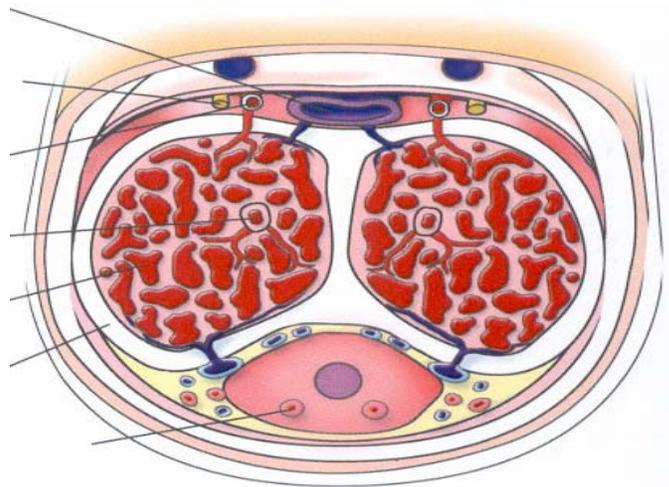


Figura 1. Secção transversal do pênis. Em detalhe os corpos cavernosos com as artérias Cavernosas no centro e sinusóides, tudo envolto pela túnica albugínea. Em conjunto com o corpo esponjoso estão contidos pela fascia de Buck (Extraído de Glinn 2002)

O par de corpos cavernosos, situado dorsalmente, funciona como reservatório para preenchimento de sangue provendo a estrutura do pênis em estado erétil [Bevilacqua 2000]

O suprimento sanguíneo do pênis advém da artéria pudenda interna, ramo da hipogástrica, que após originar a perineal, torna-se artéria peniana. Seus ramos formam a artéria bulbar, a uretral ou esponjosa e a cavernosa. Esta última penetra o corpo cavernoso, emite muitos ramos, entre os quais as helicinas, que irrigando os tecidos eréteis trabeculares e os sinusóides, são responsáveis pela ereção [Melman 1999].

Há no mínimo três caminhos de drenagem venosa do pênis: um superficial, situado acima da fascia de Buck, drenando a pele e o tecido subcutâneo, à veia safena, femoral ou epigástrica inferior; outro intermediário que escoia a glânde e os corpos cavernosos e esponjoso distalmente, e ainda, um sistema de veias profundas que flui das porções proximais deles. Todos se comunicam no estuário do plexo retropúbico caminhando para a pudenda interna e hipogástrica (figura 2) [Pagani 2002].

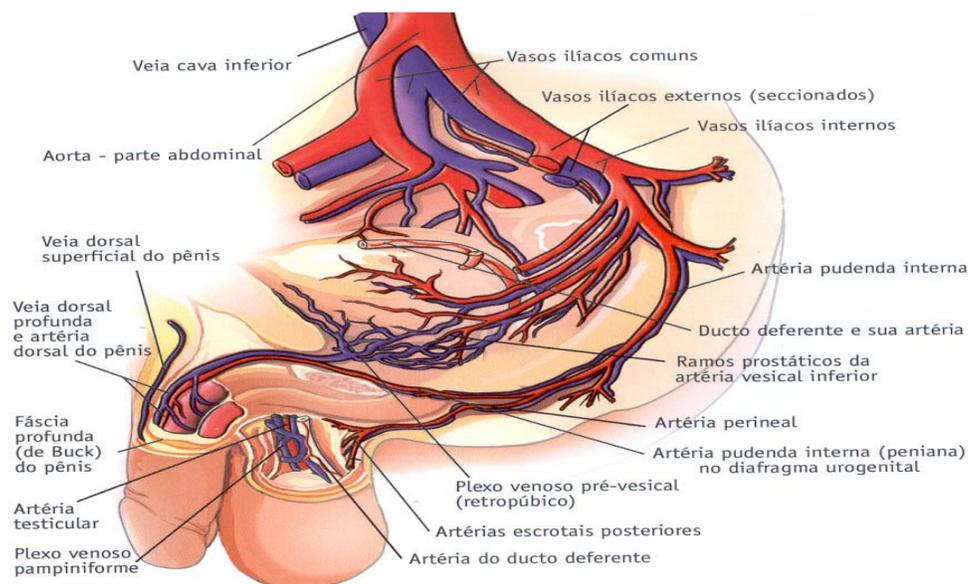


Figura 2. Trama arterial e venosa do aparelho genital masculino. (Extraído de Glina 2002).

O comprimento do pênis em estado flácido é 8,8 cm e, enquanto erétil 12,9 cm [Wessells 1996]. Em antropometria peniana de brasileiros publicada nos anais do Congresso Brasileiro de Urologia de 1999, encontra-se que o pênis erétil do homem do Brasil tem 14,5 cm de comprimento e 12,5 cm de circunferência, em média [Pagani 1999].

A inervação do pênis se faz da divisão do sistema nervoso autônomo (simpático e parassimpático) e do somático. Os nervos parassimpáticos originam-se dos neurônios espinhais (S_{2-4}). Suas fibras pré-ganglionares caminham pelos nervos pélvicos para formar o plexo pélvico, onde se unem aos nervos simpáticos do plexo hipogástrico superior originados dos segmentos (T_{11-L_2}). [Lue TF, 2002].

O nervo cavernoso ramo do plexo pélvico caminha ao longo do aspecto lateroposterior da próstata e perfura o diafragma urogenital. Seus ramos inervam o músculo liso peniano, promovendo contração ou relaxamento. Ele é facilmente lesionado durante cirurgia radical do reto, bexiga e próstata, conduzindo à disfunção erétil [Steers 2000]. O entendimento de seu curso é essencial para a prevenção da disfunção erétil iatrogênica [Wash 1990]. A inervação somática do pênis é provida pelo nervo pudendo, que contém aferentes sensoriais e eferentes motores, e cujos corpos celulares também estão em (S_{2-4}). O sensorio peniano é transmitido através de suas fibras. [Gillewater, 2001].

Fibras neurais de receptores da pele do pênis, glândula, uretra e corpo cavernoso convergem para formar o nervo dorsal do pênis, que unindo-se a outras, constituem o nervo pudendo. Este penetrando na medula espinhal via (S_{2-4}), termina nos neurônios e interneurônios na região cinzenta central do segmento lombosacro [Mc Kenna 1998].

Ativação destes neurônios transmite mensagens de dor, temperatura, e tato ao tálamo e córtex, para percepção sensorial (figura 3) [Lue TF, 2002].

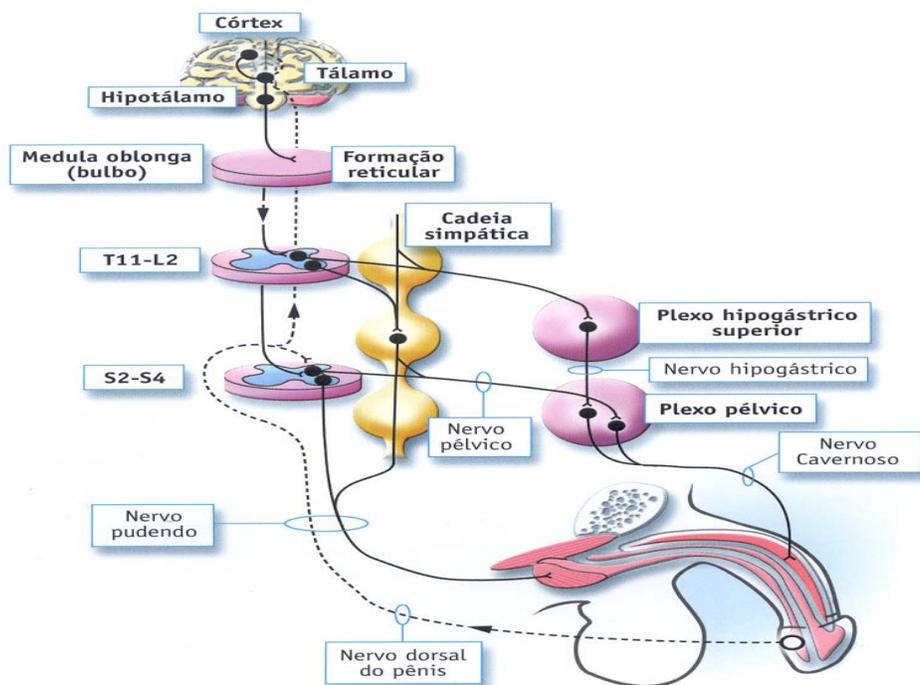


Figura 3 Inervação peniana (Extraído de Glina 2002).

A área pre-óptica medial MPOA e os núcleos paraventriculares do hipotálamo e hipocampo são centros importantes para a função sexual e ereção peniana [Marson 1993]. Enfermidades destas regiões e.g. doença de Parkinson e acidente vascular cerebral costumam cursar com disfunção erétil [Lue TF, 2002].

Fibras colinérgicas, não adrenérgicas-não colinérgicas (NANC), nitrérgicas, mais outros fatores, tais como o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) e o peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina (CGRP) mediam o relaxamento do corpo cavernoso [Anderson 1995].

Há três tipos de ereção peniana: psicogênica, reflexogênica e noturna. A psicogênica resulta de estímulo audiovisual ou fantasia. A ereção reflexogênica é produzida por estímulos tácteis aos órgãos genitais. O terceiro tipo, a noturna, ocorre principalmente durante a fase do sono de movimentos rápidos dos olhos. Impulsos originados no cérebro modulam os centros erectivos na medula espinhal (T_{11} - L_2 e S_2 - 4) ativando os processos eréteis [Lue 2002].

2. A função erétil peniana

A ereção peniana e a detumescência são fenômenos hemodinâmicos regulados pelo relaxamento e contração do músculo liso cavernoso. O componente simpático predomina no estado flácido. A estimulação sexual, ativa a via parassimpática, conduzindo à vasodilatação e aumento de fluxo na artéria cavernosa e nas helicinas. Na ereção plena, a pressão elevada dentro do corpo cavernoso, pelo aporte sanguíneo, comprime o músculo trabecular contra a túnica albugínea reduzindo o escape venoso - mecanismo conhecido como veno-oclusivo (figura 4) [Anderson, 1995].

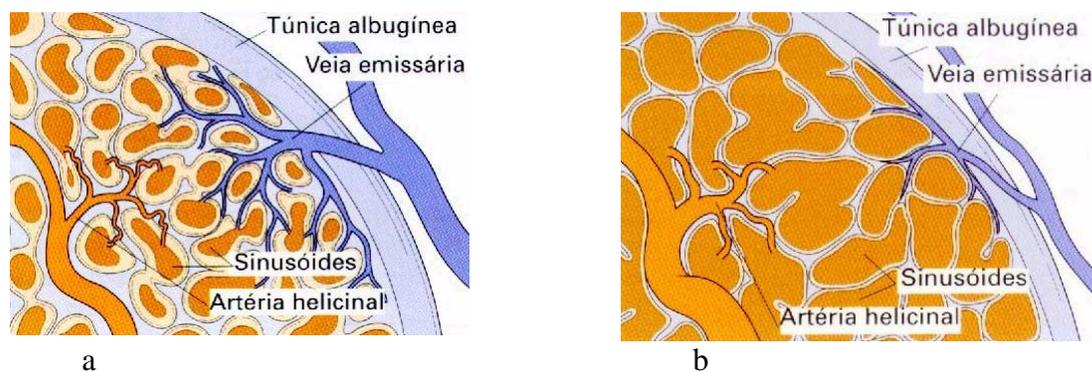


Figura 4 a e b. a - sinusóides cavernosos no estado flácido. b - Na ereção, o aporte sanguíneo elevando a pressão dentro dos sinusóides, comprime o músculo trabecular contra a túnica albugínea reduzindo o escape venoso – mecanismo veno-oclusivo da ereção peniana. (Extraído de Eardley 1999).

O efector primeiro da detumescência peniana é o clássico neurotransmissor simpático noradrenalina, liberado das terminações locais adrenérgicas. Já, o neuroefector da ereção peniana parece não ser exclusivamente acetilcolina. Tem papel predominante o sistema inibitório não adrenérgico-não colinérgico (NANC), através de vários mediadores neuronais e parácrinos, com destaque para a molécula gasosa óxido nítrico [Burnett, 1999].

Outros efetores auxiliares da ereção peniana são: o neuropeptídeo intestinal vasoativo (VIP), o peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina (CRGP), substancia P, o ATP, amino ácidos descarboxilados, algumas prostaglandinas, e a bradicina. Têm papel contrário, ou seja, anti-ereção, auxiliando a noradrenalina, o neuropeptídeo Y, o tromboxane, histamina, endotelina e angiotensina II [Burnett, 1999].

A endotelina sintetizada e liberada pelas células endoteliais do corpo cavernoso, um vasoconstrictor potente de ação longa, pode contribuir para manter o tônus do músculo liso peniano que caracteriza o estado flácido [Saenz de Tejada 1991].

O balanço entre os sistemas contráteis (e.g. alfa-adrenoceptor, endotelina, angiotensina e tromboxano e, de segundo mensageiros vasodilatadores (e.g. adenosina monofosfato cíclica (c AMP) e guanosina monofosfato cíclica (c GMP) determina o estado do pênis e o tônus do corpo cavernoso [Anderson, 1997].

Agindo no receptor α 1-adrenérgico, noradrenalina, similar a outros agonistas, (angiotensina, vasopressina), ativa a fosfolipase C acoplada aquele, que por sua vez cliva os fosfolipídeos de membrana (fosfotidilinositol) em seus segundos mensageiros, o trifosfato de inositol (IP_3) e o diacilglicerol (DAG). O anterior mobiliza cálcio da mitocôndria e retículo endoplasmático. O último, ativando a proteína cinase C (PKC), que modula canais

de íons e intercomunicações intercelulares, eleva o Ca^{++} na intimidade intracelular produzindo contração muscular [Christ 1995].

O aumento do Ca^{++} intracelular conduz sua ligação 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 sub-unidades do substrato e conseqüente conexões miofilamentares de actina-miosina, com desenvolvimento de força e por fim contração do úsculo liso (figura 5) [Lue 2002].

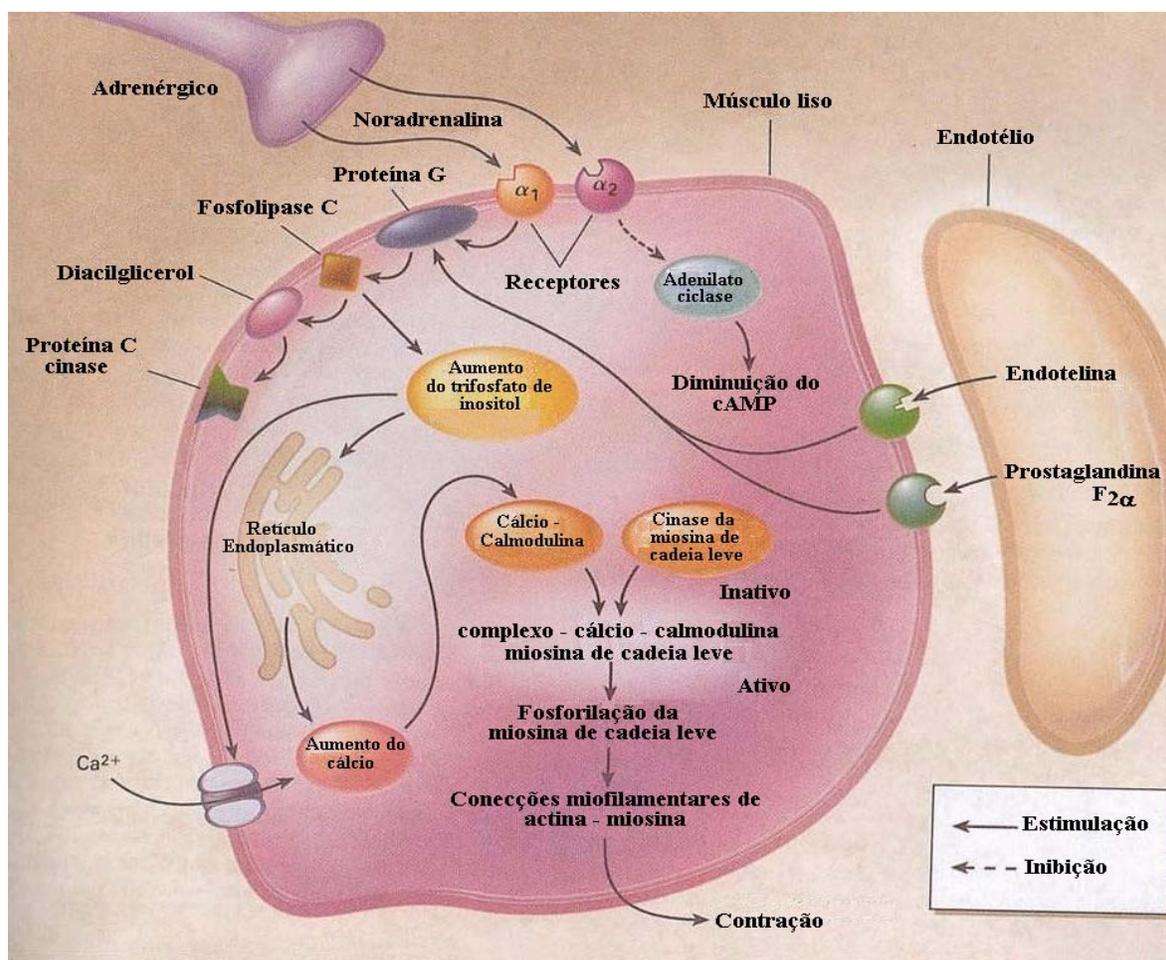


Figura 5. Mecanismo molecular da contração muscular peniana (Extraído de Lue 2002).

Evidências recentes demonstram que uma pequena proteína G conhecida como RhoA e uma cinase específica SER/THR cinase, Rho-cinase, têm papel importante na regulação do tônus do músculo liso cavernoso [Chitale 2001a].

RhoA / Rho cinase em combinação com ATP inativa a fosfatase da miosina de cadeia leve, resultando na manutenção da forma fosforilada de seu substrato, a miosina, promovendo assim sua ligação com a actina, por geração de força e conseqüente contração muscular [Chitale 2001b].

Os fenômenos vasculares que resultam, por outro lado, em ereção peniana, dependem de impulsos originados nos neurônios parassimpáticos pré-ganglionares dentro dos segmentos medulares S₂₋₄, cujos neurotransmissores incluem a acetilcolina, o óxido nítrico (NO) e o polipeptídeo vasoativo intestinal (VIP), dentre os quais NO é o mais importante [Steers 2002].

O relaxamento muscular do corpo cavernoso ocorre por ação dos segundos mensageiros nucleotídeos cíclicos: 3'5'guanossina monofosfato (cGMP) e 3'5'adenossina monofosfato (cAMP). Estes, que se originam a partir da ativação da guanilato ciclase de membrana ou solúvel e, da adenilato ciclase, atuam via interações com várias proteínas cinases [Stief 1997].

A acetilcolina (ACh) não é o neurotransmissor predominante, no entanto, ela contribui de forma indireta para a ereção peniana, por meio de inibição pré-sináptica de neurônios adrenérgicos e, sobretudo, estimulando via receptores muscarínicos, sub-tipo M₃ do endotélio vascular, a liberação de óxido nítrico [Saenz de Tejada 1989, Traish 1990].

É exemplo de ativador da guanilato ciclase (GC) de membrana o fator atrial natriurético [Lucas 2000]. O óxido nítrico (NO) difundido dos terminais neurais e do endotélio para o interior das células musculares lisas, ativa a GC solúvel. A prostaglandina

E_1 e β -agonistas agem ativando a adenilato ciclase via interação com receptores de membrana [Stief 1997].

O NO estimula a forma solúvel da enzima guanilato ciclase gerando $cGMP$, que por seu turno, ativa a proteína cinase dependente de $cGMP$, (PKG) e em menor extensão a proteína cinase A (PKA). Estas enzimas ativadas fosforilam o fosfolambano, inibidor da bomba de Ca^{++} do retículo endoplasmático. A bomba assim liberada retira o cálcio do citosol resultando em relaxamento muscular e ereção peniana [Anderson, 1997].

Ainda por outros mecanismos, causa o $cGMP$, relaxamento do corpo cavernoso, todos eles por redução do cálcio citoplasmático, exemplo, é a fosforilação molecular via PKG do canal de potássio de alta condutância sensível a Ca^{++} (BK_{ca} ou Maxi K) [Archer 2002].

Há evidência da importância do eixo NO - $cGMP$ - BK_{ca} no tecido peniano, que ao abrir os canais específicos, promove hiperpolarização da célula muscular lisa cavernosa, queda do cálcio citosólico e relaxamento [Fan 1995].

Em função deste fenômeno os canais de potássio influenciam o tônus da célula muscular lisa cavernosa enquanto evitam o fluxo de Ca^{++} para o seu interior. A abertura de dois destes tipos: o Maxi K e o sensível à adenosina trifosfato K_{ATP} e, a resultante hiperpolarização, fecha os canais de cálcio, com conseqüente relaxamento e ereção, no entanto, o mais fisiologicamente importante parece ser o primeiro deles [Sterrs 2002].

Por sua ação, o NO ativa a guanilato ciclase solúvel resultando em aumento do $cGMP$, um importante mediador intra de sinais extracelulares. Este, via PKG promove diminuição da atividade dos canais de Ca^{++} e abertura do canal BK_{ca} , resultando em queda

Esta, por sua limitada capacidade de expandir-se, produz veno-oclusão, aumentando a pressão dentro do corpo cavernoso e, em conseqüência, o pênis se torna maior, com maior diâmetro e erétil [Azadzi 1995].

A diminuição do Ca^{++} intracelular, em síntese, induz a dissociação do complexo calcio-calmodulina/cinase da miosina de cadeia leve com desfosforilação de sub-unidades de seu substrato via fosfatase da miosina de cadeia leve e, subsequente remoção dos filamentos de actina, levando a relaxamento do músculo liso [Walsh 1991].

A óxido nítrico sintetase NOS, enzima que sintetiza NO, existe em três formas na natureza: neuronal (nNOS), endotelial (eNOS), que são constitutivas, e a induzível por citocinas (iNOS) [Sessa 1994].

A forma constitutiva da NOS comumente existe em neurônios e células endoteliais e são ativadas na presença do cálcio, do complexo cálcio/calmodulina, do oxigênio e da forma reduzida de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH). Ela está presente inativa até que aquele íon se eleve na célula. Quando ativada induz a produção e liberação de NO em pequena quantidade, proporcional à concentração livre intracelular de Ca^{++} . Esta periódica liberação transmite sinais [Burnett, 1997].

De outro modo, a forma induzível da NOS está associada a células do sistema imune, principalmente macrófagos. Quando ativada por citocinas específicas, na presença do cofator tetrahydrobiopterina, produz NO contínua e, em altas concentrações, que por sua vez se faz deletério para as células vizinhas, parasitas e bactérias [Burnett 1997].

NO, descrito pela primeira vez em 1979, é um radical livre inorgânico, cujas características bioquímicas o caracterizam como um mensageiro biológico versátil nos sistemas cardiovascular e neurológico e um agente antipatógeno liberado durante respostas inflamatórias [Megson 2002].

Ele é sintetizado como subproduto do nitrogênio guanidínico durante a conversão catalítica da molécula de L-arginina a L-citrulina pela enzima óxido nítrico sintetase (NOS) [Sessa 1994].

Há sobra de evidências que apoiam o papel do NO como mediador pós-ganglionar NANC da ereção peniana. Sintetizado e liberado de terminais neuronais, porém também do endotélio vascular e sinusal peniano, difunde à musculatura lisa vascular e trabecular onde ativa a guanilato ciclase resultando em produção de cGMP . Este, via cascata bioquímica definida causa relaxamento do corpo cavernoso e ereção peniana [Burnett 97].

Um importante fator que contribui para os fenômenos vasculares no pênis é a presença de intercomunicações nas membranas das células do músculo liso cavernoso [Christ 2000]. Já se sabia que sua inervação não era bastante densa para ser responsável pela rápida e coordenada resposta durante a ereção e detumescência [Lerner 1993].

Estas vias comunicantes intercelulares permitem a passagem e movimento livre de íons fisiologicamente nobres (e.g. K^+ , Ca^{++}) e de segundo mensageiros (e.g. cGMP , cAMP), que governam o relaxamento e contração sincicial necessários aos fenômenos funcionais penianos [Christ 2000].

O retorno ao estado flácido após uma ereção, pode resultar da parada de liberação de NO, da quebra dos segundos mensageiros pelas fosfodiesterases ou por descarga simpática durante a ejaculação. Neste tempo o cGMP é hidrolisado a GMP pela fosfodiesterase tipo 5, altamente específica [Lue 2002].

A regulação central dos mecanismos da ereção peniana não está totalmente compreendida. Ela pode ser induzida a partir de múltiplos estímulos integrados na medula espinhal e/ou em estruturas mais altas no Sistema Nervoso Central (SNC) (e.g. área

preóptica medial - MPOA). É provável que os aminoácidos excitatórios tenham algum papel, posto que microinjeções de L-glutamato e N-metil-D-aspartato (NMDA) em áreas cerebrais específicas induzem fenômenos eréteis [Giulano 1996, Melis 1997].

O ácido γ -amino butírico (GABA), outros agonistas GABA, peptídeos opióides e fármacos opióide-símile (e.g. Morfina) inibem a função sexual [Melis 2003]. Os últimos parecem agir nos receptores μ (mu) no núcleo paraventricular (PVN) [Melis 1997]. A oxitocina, ao contrário, é uma potente indutora agindo no hipocampo, núcleos laterais cerebrais e no PVN [Argiolas 1992]. Similares, o hormônio adrenocorticotrópico ACTH e o hormônio estimulador do α -melanócito α -MSH, ambos induzem ereção peniana e ejaculação quando injetado no peri-ventrículo hipotalâmico em vários modelos animais [Argiolas 2000].

Um outro hormônio com algum efeito sobre a função erétil masculina é a prolactina. Ele suprime a função sexual em humanos e animais de experimentação. Age via inibição da atividade dopaminérgica no MPOA, ou talvez por diminuir a concentração de testosterona ou ainda, contraindo diretamente o músculo liso cavernoso [Ra 1996].

A Dopamina tem papel no controle central dos componentes somáticos e autônomos dos reflexos penianos [Anderson 2001]. Seus receptores D_1 -símile (D_1 e D_5) e D_2 -símile (D_2 , D_3 , D_4) distribuídos em várias regiões cerebrais, com alta densidade no gânglio basal, estão associados à função erétil masculina [Sibley 1999].

Estudo em animais com administração sistêmica de agonistas seletivos dos receptores D_2 (e.g. Apomorfina), conduz a aumento da atividade sexual. Este efeito pode ser inibido por antagonistas específicos agindo centralmente [Lue 2002].

O Neurônio serotoninérgico participa do controle do comportamento sexual em humanos e animais. Ele serve a várias funções sexuais masculinas no homem e é provável que seja o maior modulador central de controle da ereção peniana [Anderson 2001].

O papel proeminente da 5-hidroxitriptamina (5-HT) na neuromodulação da função erétil parece ser de controle inibitório dos reflexos sexuais medulares via tronco cerebral [Marson 1992].

Entretanto o que se observa é que a amina pode ter ação inibitória ou facilitadora. Agonistas por exemplo podem estimular ou deprimir a função sexual, dependendo do sub-tipo de receptor envolvido: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, ou 5-HT_{2C} [Ridet 1994].

Ação sobre o receptor 5-HT_{1A} e 5-HT₂ inibe a atividade erétil, porém facilita a ejaculação e a emissão seminal. Diferentemente, o receptor 5-HT_{2C} quando ativado, causa ereção [Anderson 1995].

No SNC os receptores adrenérgicos e dopaminérgicos podem promover função sexual enquanto os serotoninérgicos a inibem [Foreman 1990].

Recentes evidências sugerem que um grupo de neurônios oxitocinérgicos originados no PVN e projetando-se para áreas extra-hipotalâmicas (e.g. hipocampo, medula espinhal), controlam a ereção peniana e, podem se constituir no futuro, alvos para o tratamento da disfunção erétil de origem central [Melis 2003].

A regulação periférica da ereção peniana ocorre em função dos nervos, e do endotélio dos sinusóides e vasos do pênis, que produzem e liberam transmissores de sinais e moduladores, e estes, interagindo entre si controlam o estado contrátil de seu músculo liso [Anderson 2001].

Há ereção peniana quando cessa a transmissão de sinais na via α -adrenérgica, e esta aumenta na colinérgica e NANC. Estes três mecanismos neurofisiológicos agindo em sintonia fina, participam de sua gênese [Wu 1993].

O estado flácido do pênis é mantido pela atividade tônica da rica inervação adrenérgica contida nas suas artérias e veias e no músculo liso cavernoso. A Noradrenalina liberada estimula os α -receptores na trama vascular contraindo os vasos helicinos e no corpo cavernoso contraindo o músculo liso trabecular [Anderson 1995].

A atividade parassimpática pode produzir ereção peniana inibindo a liberação de NA via estimulação dos receptores muscarínicos situados nas terminações adrenérgicas e/ou pela excreção de NO e peptídeos vasodilatadores dos nervos e do endotélio [Anderson 1995].

O processo erétil se faz em função da síntese de NO, sua liberação e conseqüente ligação à guanilato ciclase solúvel (sGC), ativando-a. Esta enzima é provavelmente o receptor mais importante da molécula sinalizadora e tem como ofício a catalisação da guanosina trifosfato (GTP) para $cGMP$. O relaxamento do músculo liso que se segue depende no final da molécula alvo, a proteína cinase dependente de $cGMP$ (cGK I) que é o maior mediador desta cascata de reações no corpo cavernoso [Anderson 2001].

O retorno ao estado flácido peniano é caracterizada pela hidrólise do $cGMP$ a GMP pela enzima altamente específica fosfodiesterase tipo 5 (PDE_5) [Lue 2002].

Os fatores que aumentam a atividade da NOS e conseqüente liberação de NO incluem o O_2 molecular, andrógenos, administração crônica de L-arginina e injeções intracavernosas repetidas de prostaglandina E_1 [Kim 1993, Escrig 1999, Marin 1999].

Efeito contrário o fazem a castração, desnervação, hipercolesterolemia e o diabetes mellitus [Lue 2002].

Há no corpo cavernoso humano uma inervação nitrérgica com função muito maior do que simples moduladora. Ela na verdade controla a resposta simpática. O balanço entre os dois sistemas nitrérgico e simpático é a pedra angular da função erétil peniana. Quebra deste equilíbrio causa a condição conhecida como disfunção erétil (DE) [Cellek 1997].

Ela é freqüentemente devida a perturbações dos caminhos metabólicos NO-cGMP e cAMP resultando em contração e relaxamento anormal do músculo liso cavernoso [Melman 2001].

3. A Disfunção erétil peniana

3.1 Definição

A Ereção do pênis é essencialmente um fenômeno biológico vascular que envolve seu preenchimento com sangue, resultando em rigidez. [Burnett 1999].

O Instituto Nacional de Saúde Americano em sua conferência de consenso sobre impotência realizada em 1992, a definiu, e recomendou o uso do termo disfunção erétil, por entender que assim expressa melhor o problema e por ter ele menor conotação pejorativa [NIH 1993].

Antes daquela época a entidade mórbida era conhecida como impotência, um vocábulo abrangente, inespecífico e depreciativo, que referia-se também a outras desordens da sexualidade masculina, e.g. disfunções orgásticas ou ejaculatórias [Melman 1999].

Em julho de 1999, aconteceu em Paris, o primeiro conselho internacional sobre disfunção erétil que a redefiniu como uma inabilidade consistente ou recorrente de obter e manter uma ereção peniana suficiente para uma função sexual satisfatória, com um mínimo

de 3 meses de duração. Exceções a este prazo, os casos de DE conseqüentes a trauma ou induzida por cirurgia [Broderick 2002].

O segundo consenso brasileiro de disfunção erétil realizado pela Sociedade Brasileira de Urologia em Campinas-SP, em abril de 2002 manteve a definição de Paris/1999 e a divulgou a todos os associados em seu manual de diretrizes básicas [CBDE 2002].

3.2 História

Datam de 2000 a.C., as primeiras anotações em papiros egípcios sobre disfunção erétil. Tempos depois Hipócrates (460 - 377 a.C.) descreveu muitos casos entre os habitantes de *Scythia* concluindo por apontar como causa o hábito de montaria em cavalos [Lue 2002].

Foi Aristóteles (384 - 322 a.C.) quem especulou que ramos neurais carregavam espírito e energia para o pênis e que a ereção era produzida por influxo de ar [Brenot 1994].

Esta idéia prevaleceu até as observações de Leonardo da Vinci (1452 - 1519) dando conta de que os homens enforcados morriam com o pênis pleno de sangue e ereto [Brenot 1994]. Deste gênio temos um desenho fantástico de 1492, feito a ponta de lápis conhecido como “o coito”. Está no castelo de Windsor e retrata em corte sagital um casal durante a cópula. Concebia o autor, o pênis com duas uretras, uma conectada a medula espinhal, compondo a via ejaculatória. Na sua concepção os espermatozóides eram armazenados no cérebro e daí saíam na ejaculação, passavam pela medula e, a nível do sacro partiam para a glândula a serem lançados no interior do canal cervical (figura 7) [Bezerra 2003].

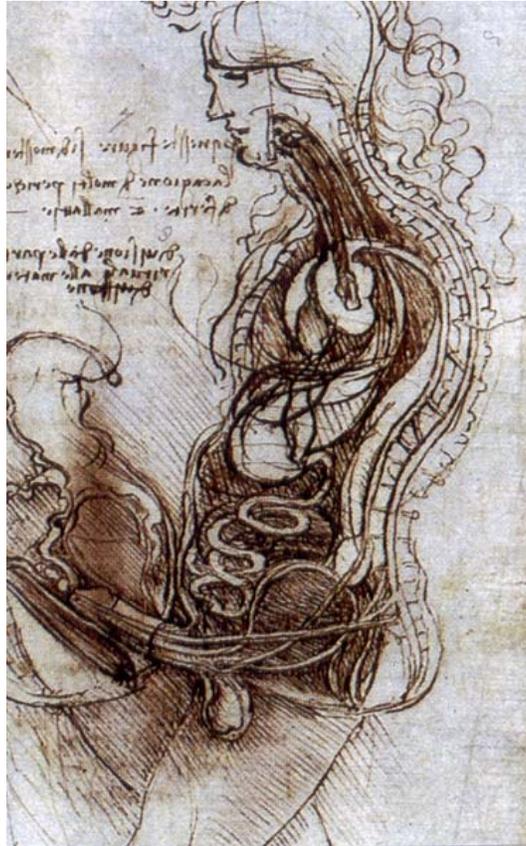


Figura 7. O coito de Leonardo da Vinci (Extraído de Bezerra 2003).

Entretanto foram os estudos anatômicos de Ambroise Parré (1509 – 1590) que detalharam com acurácia a anatomia do pênis e o conceito da ereção. De suas observações, concluiu: “quando o homem torna-se excitado, um fluxo grande de sangue entra em seu membro sexual tornando-o ereto” [Lue 2002].

De importância capital foi o reconhecimento do controle neural e a identificação do óxido nítrico em 1982 como maior neurotransmissor para a ereção e das fosfodiesterases com seu papel no retorno do pênis ao estado flácido [Andersson 1995].

Uma importante personagem na história da DE foi Regnier de Graaf (1641 – 1673), que descobriu em 1668 que a injeção de salina em vasos penianos de cadáveres

induzia ereção [Jocelyn 1972]. Quase dois séculos depois Eckhard, em 1863, publicou seus estudos sobre ereção por meio de estímulos elétricos, em cachorros, [Jonas 2001].

O neurologista francês Charles Edouard Brown-Sequard (1817 – 1894) teorizou sobre a produção de hormônio, e o processo de envelhecimento e considerou injetar sêmen no sangue de homens idosos com o objetivo de aumentar a performance mental e física. E o fez em si próprio, aos 72 anos, em 1889 [Schulteiss 1997].

Na mesma linha da busca do rejuvenescimento está o fisiologista vienense Eugen Steinach (1861 – 1944) que preconizou a ligadura dos deferentes, entendendo aumentar a liberação interna de hormônios. Suas idéias resultaram em um *boom* de vasectomia no início do século XX. Entre os ilustres operados com este objetivo, estão Sigmund Freud e o poeta irlandês prêmio Nobel, William Butler Yeats [Schulteiss 1997].

Outro marco na história do tratamento da disfunção erétil foi Frank Lydston com seus escritos em 1908 sobre mais de 100 ligaduras venosas, convicto de que havia, por certo, uma ligação ente o sistema vascular e a ereção peniana [Jonas 2001].

Porém Václav Michal deve ser considerado o pai da cirurgia vascular moderna para o tratamento da disfunção erétil, por sua apresentação envolvendo várias técnicas de revascularização nos anos 70. Outro pioneiro, o médico francês Ronald Virag, foi quem primeiro preconizou a arterialização da veia dorsal peniana [Lewis 2002].

Em 1913, Otto Lederer patenteou um dispositivo para ereção peniana a vácuo, similar ao de uso corrente hoje. A idéia porém vem de muito antes – um Senhor chamado Muschenbrack idealizou uma bomba de ar para este propósito [Jonas 2001]. No entanto, foi Geddings Osbon quem o popularizou, usando em si próprio em 1960 e, subseqüentemente criando uma companhia para comercializá-lo, conseguindo aprovação pela *American Food and Drugs Agency* em 1982 [Eardley 1999].

O implante de prótese peniana para o tratamento da DE tem sua história em Bogoras que usou em 1936 cartilagem e osso em um pênis reconstruído. Em Scott que descreveu os cilindros infláveis de silicone em 1973, que modificados mais tarde, passaram a ser denominados AMS 700 (*American Medical System*) e, ainda em Finney, com seu dispositivo semi-rígido siliconizado a permitir maior mobilidade e melhor posicionamento [Teloken 2002].

Um marco importante para a história do tratamento da disfunção erétil foi a descoberta do Dr. Virag em 1982 usando papaverina e, do médico inglês Dr. Brindley com auto-injeção de fenoxibenzamina, (um ano depois, no congresso da *American Urological Association*), mostrando que injeção intracavernosa com agentes vasoativos produzia ereção, dentro de minutos [Virag 1982, Brindley 1983].

O achado ensejou ao uso clínico atual de fármacos vasoativos intracavernosos. O exemplo clássico é a prostaglandina E₁ que causa relaxamento da musculatura lisa cavernosa e do sistema vascular peniano quando usada por esta via de administração [Ishii 1986].

Uma vista ao passado evidencia tentativas terapêuticas várias com drogas tomadas por via oral. Emblemática é a fentolamina que a partir das observações iniciais de Gwinup mostrando resultados satisfatórios [Gwinup 1988], buscou-se formulação outra, à base de mesilato de fentolamina, via um método de fabricação denominado *fast dissolving tablet*, cujas propriedades farmacocinéticas pareciam adequadas a um agente eretogênico oral [Goldstein 2001].

Entretanto a grande mudança no tratamento hodierno da disfunção erétil aconteceu com o advento do citrato de sildenafil, um fármaco oralmente ativo, poderoso, inibidor seletivo da fosfodiesterase 5, (PDE₅) e facilitador das respostas naturais ao estímulo sexual,

por sua atividade no órgão fim, o pênis [Broderick 2002]. Foi o primeiro inibidor de fosfodiesterase aprovado pelo *Federal Drugs Administration*, o que ocorreu em março de 1998 [Goldstein 1998].

E para onde caminhamos? A partir de 2000 dois inibidores da PDE₅, adicionais, entraram em testes clínicos, tadalafil e vardenafil [Broderick 2002]. Entretanto o que está no Horizonte? Manipulação molecular de receptores, de moléculas sinalizadoras, de canais de íons, ou de fatores de crescimento muscular liso [Steers 2002].

No futuro, oxalá vetores virais possam ser usados como veículos para liberação de produtos na intimidade da célula muscular lisa do corpo cavernoso e ativar a cascata de eventos que conduzem ao seu relaxamento e ao final, à ereção peniana – a terapia genética no concreto [Schenk 2001].

3.3 Epidemiologia

3.3.1 Incidência e prevalência

Aproximadamente, 150 milhões de homens no planeta terra são inábeis para conseguir e manter uma ereção adequada ao desempenho sexual satisfatório (Mc Kinlay, 2000).

O clássico *Massachusetts Male Aging Study* (MMAS) foi conduzido nos Estados Unidos para obter dados epidemiológicos sobre DE. Consultou (em dois momentos: 1987/1989 e 1995/1997), por questionários, 1709 homens moradores dos arredores de Boston, na faixa etária de 40 a 79 anos. A prevalência de DE mínima, moderada e completa foi de 17%, 25% e 10%. A incidência entre brancos americanos situou-se em 25,9 casos por 1000 homens por ano. Esta, cresce em função da idade do indivíduo: 1,2% para o intervalo de 40 – 49 anos; 3% para 50 –59 anos e 5% para 60 – 69 anos de idade [Feldman 1994, Johannes 2000].

Um estudo importante apenas pelo tempo em que foi realizado, 1948, mostrou uma prevalência de Disfunção Erétil < 1% para jovens menores de 30 anos, menor que 3% para aqueles abaixo de 45 anos de idade, e de 6,7% para a faixa etária dentre 45 e 55 anos. Oscilava em torno de 25% aos 65 anos e alcançava até 80% para idosos maiores de 80 anos [Kinsey 1948].

A prevalência de disfunção erétil cresce com a idade do homem e independe de sua etnia [Jonler 1995].

Estima-se que 7,5 milhões de alemães e 10-20 milhões de americanos estão afetados pela doença [Beutel 1999]. No Japão a prevalência é de 26%, enquanto que na Dinamarca cerca de 40% dos homens reportam algum grau de DE [Solstad 1993]. Estudo realizado na França demonstrou 27% de disfunção erétil na faixa etária de 60-69 anos [Bejin 1999]. Já na Austrália 39,4% dos homens a reportaram (8,6% na forma completa) [Chew 2000].

No Brasil a disfunção erétil é uma queixa comum afetando em algum grau cerca de 25 milhões de indivíduos do sexo masculino [Moreira 2001]. O mesmo autor, em estudo prospectivo sobre a incidência de DE em homens brasileiros, estimou que são esperados cerca de 1.025.600 casos novos por ano [Moreira 2003].

3.3.2 Fatores de risco

A idade é um importante fator de risco para o desenvolvimento da disfunção erétil masculina [Melman 1999]. Uma menor atividade da NOS solúvel e uma menor expressão do RNA mensageiro da NO sintetase (NOS_mRNA) foi encontrado em ratos senescentes [Garban 1995, Dahiya 1997].

Há considerável mudança da função sexual no homem idoso, incluindo um maior tempo para alcançar a ereção, e estas, são menos túrgidas. Ocorre também diminuição do volume do ejaculado e perda da força de emissão [Master and Johnson 1977].

A causa mais comum da disfunção erétil de base orgânica é anormalidade vascular [Donatucci 1993]. É a doença arteriosclerótica responsável por aproximadamente 40% de DE do homem com idade superior a 50 anos. [Kaiser 1988]. Fatores de risco comuns associados à insuficiência arterial incluem a hipertensão arterial, a hiperlipidemia, o tabagismo, o diabetes mellitus, o trauma perineal aberto ou fechado e a radioterapia pélvica [Lue 2002, Goldstein 1984, Levine 1990, Rosen 1991, Walker 1991]

Na maioria dos pacientes com DE de origem vascular, a insuficiente perfusão peniana é um componente do processo aterosclerótico generalizado [Lue 2002]. Se diz hoje com fundamentos fisio e epidemiológicos que a disfunção erétil pode ser considerada um fiel marcador ou preditor de doença coronariana [McKinlay 2000].

O hábito de fumar cigarros é fator de risco independente e, o maior, para o desenvolvimento de disfunção erétil [Mannino 1994]. Ele induz à vasoconstrição e escape venoso em função de seu efeito constritor sobre o músculo liso cavernoso [Junemann 1987]. Em modelos de ratos fumantes crônicos passivos, há moderada hipertensão arterial sistêmica e importante diminuição da atividade global da enzima NO sintetase e, do conteúdo de nNOS [Xie 1997].

Um outro fator de risco importante para disfunção erétil é o diabetes mellitus. A prevalência de DE entre diabéticos, independente de que tipo seja, aproxima-se de 75%, iniciando-se, no geral, na idade jovem [Hakin 1996].

São causas da disfunção erétil do diabético: síntese deficiente de NO, alteração ultraestrutural com aumento dos sítios de ligação dos receptores da endotelina B e, incremento da concentração de radicais livres com conseqüente dano, via estresse oxidativo [Keegan 1999]. Há também degeneração dos neurônios nitrérgicos [Cellek 1999]

e teor elevado dos produtos finais da acelerada glicosilação, própria da moléstia [Seftel 1997].

Exemplos de entidades mórbidas associadas com DE são a Insuficiência renal crônica [Cerqueira 2002], o alcoolismo e a insuficiência hepática [Cornely 1984], a doença pulmonar obstrutiva crônica [Ibanez 2001], a doença de Alzheimer [Zeiss 1990], e desordens endócrinas e.g. hipogonadismo, hiperprolactinemia, hipotireoidismo e hipertireoidismo [Braunstein 1983].

Muitos fármacos podem prejudicar a função sexual masculina, especialmente os que agem na via metabólica dos neurotransmissores centrais e.g. os tranqüilizantes potentes, os anti-psicóticos e antidepressivos e alguns anti-hipertensivos de ação central. Também o fazem os diuréticos tiazídicos e a espironolactona, alguns hormônios e muitas das drogas anti-neoplásicas. A cimetidina, (antagonista H_2), o clofibrate e a digoxina também suprimem a libido e produzem DE [Brock 1993].

3.4 Classificação

A disfunção erétil masculina é classificada com freqüência como de causa psicológica ou orgânica. A etiologia orgânica, o maior grupo, compreende os casos de origem vascular, neurológica ou hormonal [Miller 2000]. Neste, há que se incluir a DE por anormalidades ou lesões que comprometam o músculo liso cavernoso. A de causa psicológica ocorre por inibição central do mecanismo de ereção, sem que haja um componente físico definido [Melman 1999].

No passado a afecção era considerada, quase que, em sua totalidade (90%), conseqüente a distúrbios psicológicos [Master and Jonhson 1977]. Hoje, sabe-se que a DE vascular é responsável por cerca de 75% dos casos [NIH 1993].

A *International Society of Impotence Research* recomenda como definitiva a classificação nos tipos orgânica e psicológica e, define os subgrupos específicos [Lizza 1999].

Classificação da disfunção erétil masculina

DE Orgânica

Vascular
Arterial
Cavernosa
Mista

Neurológica
 Anatômica
 Endócrina

DE Psicológica

Tipo Generalizado

Desinteresse generalizado

Perda primária da libido

Declínio da libido relacionada com a idade

Inibição generalizada

Desordem crônica do relacionamento íntimo

Tipo situacional

Relacionado a parceira

Perda da libido em relacionamento específico

Perda da libido devido a preferencia de objeto sexual

Alta inibição central devido a conflito com/ou ameaça da parceira

Relacionado a performance

Associada a outras disfunções sexuais (e.g ejaculação rápida)

Ansiedade (e.g medo de falhar)

Relacionado a distúrbio psicológico ou de ajuste

Associado com estado de humor negativo (e.g depressão)

Associado a estresse de vida maior (eg. morte da parceira)

Fonte: Lizza. Int J Imp Res. v. 11,1999.

3.5 Fisiopatologia

Fatores orgânicos e psicológicos podem produzir alterações na via metabólica da L-arginina/NO/cGMP, prejudicando o relaxamento e/ou aumentando a contração do músculo liso cavernoso, resultando em disfunção erétil [Melman 1999].

Um quantidade crítica de relaxamento do músculo liso cavernoso é necessária para transformar o estado peniano contraído ativo ou tonicamente, ao ereto. Prejuízo do relaxamento ou contração aumentada, conduz a DE (Figura 8) [Lerner, 1993].

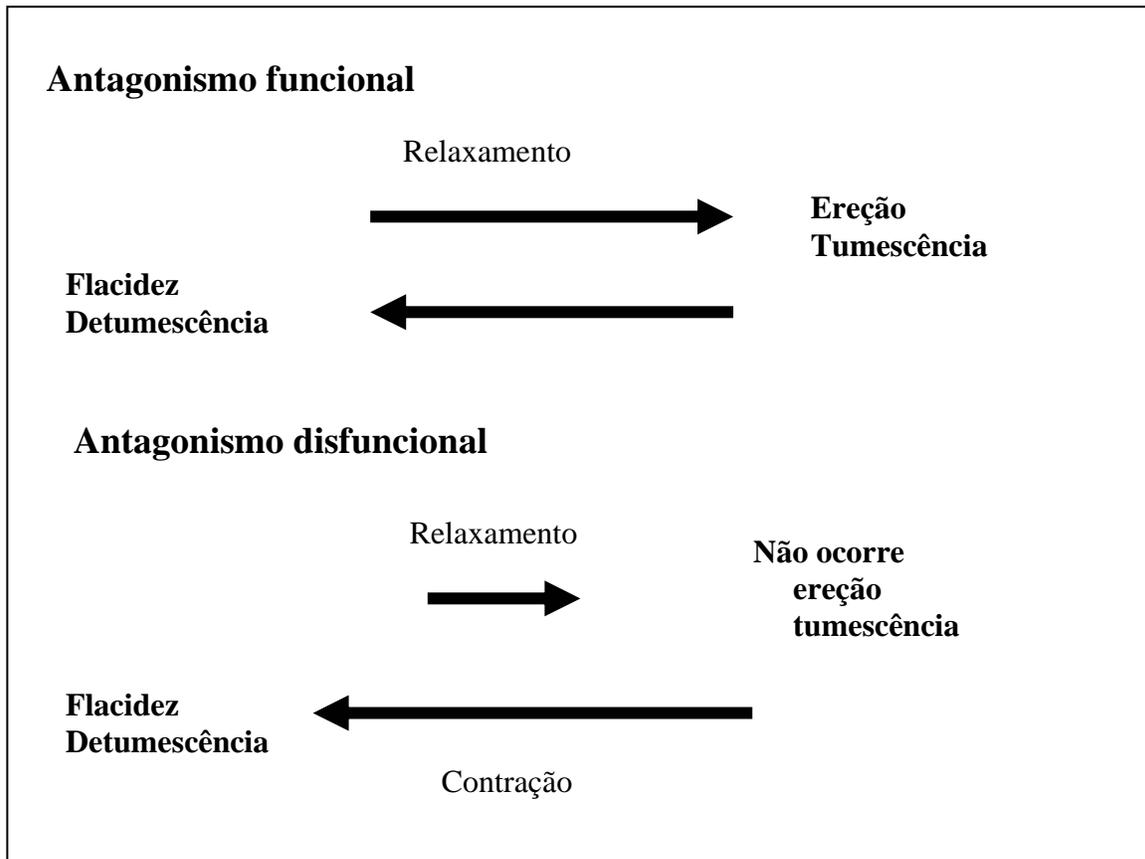


Figura 8. Antagonismo funcional e antagonismo disfuncional no pênis

O comportamento sexual e a ereção peniana dependem do equilíbrio entre estímulos excitatórios e inibitórios controlados pelo hipotálamo, sistema límbico e córtex cerebral. Alteração neste balanço pode conduzir a transtorno no centro da ereção peniana espinal [Lue 2002].

Estuda-se a fisiopatologia da DE tendo como norte a classificação adotada nos consensos urológicos, que a definem como psicológica, orgânica e mista. Na disfunção erétil de natureza orgânica estão a de causa neurológica, endócrina, vascular, tecidual ou anatômica [CBDE 2002].

Dois mecanismos procuram explicar a DE de origem psicológica: inibição direta do centro da ereção espinal pelo cérebro (intensificação do efeito inibitório fisiológico supraespinal) [Steers 1990], ou excessivo tônus simpático via elevada concentração periférica de catecolaminas [Seftel 1992].

Processos patológicos nos centros de integração do impulso sexual e ereção peniana e.g. MPOA, núcleos paraventriculares e hipocampo, estão com frequência associados a DE de causa neurológica. Exemplo especial, a D. de Parkinson, esta cursa com má performance sexual, por produzir um desequilíbrio na via metabólica dopaminérgica [Wermuth 1992].

A ereção reflexogênica depende dos neurônios parassimpáticos sacrais, que são capazes de preservá-la em 95% das lesões altas da medula e, em até 25%, quando estas ocorrem em nível abaixo deles [Rehman 2002]. Obviamente que o grau da ereção depende em grande parte da natureza, extensão e local do agravo medular.

A função do nervo cavernoso, dorsal do pênis e pudendo é essencial para que ocorra a ereção peniana. Lesões destes, (e.g. o diabetes mellitus, a carência de tiamina do alcoolismo), que afetando os terminais neurais, origina deficiência de neurotransmissores, com prejuízo do relaxamento neuronal endotélio-dependente [Saenz de Tejada 1989]. A idade, por seu turno, produz diminuição da sensibilidade da genitália, afetando o sensorio – nervos dorsais penianos – levando a decréscimo da ereção reflexogênica [Rowland 1993].

A função erétil masculina depende de algum modo da concentração de andrógenos circulantes. Eles agem aumentando a libido, a frequência de atos sexuais e das ereções

noturnas [Mulligan 1993]. Em estudo envolvendo 330 pacientes, foi estimada em 2% a DE de causa endócrina [Johnson 1992].

A castração em ratos diminui o fluxo arterial peniano, induz escape venoso e reduz pela metade a resposta erétil a estímulos ao nervo cavernoso [Mills 1994, Penson 1996]. Ela também aumenta a sensibilidade dos receptores α -adrenérgicos e prioriza a apoptose no corpo cavernoso, assim rareando o conteúdo de músculo liso [Reilly 1997, Shabdhig 1997, Traish 1999].

Disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-gônada cursa com distúrbio da ereção. São exemplos o hipogonadismo hiper, de origem tumoral, ou hipogonadotrófico devido a cirurgia ou, ainda, a orquite por caxumba [Lue 2002].

A hiperprolactinemia por estar associada a concentração baixa de testosterona via inibição do hormônio liberador de gonadotrofinas, produz disfunção erétil. Sua incidência como causa de DE entre 1.236 pacientes estudados foi 5,3%, com o seguinte espectro etiológico: prolactinoma 14,7%, medicamentosa 29%, insuficiência renal 6%, erro de laboratório 2,9% e idiopática 47,1% [Leonard 1989].

Desordens da tiróide cursam também com DE. Observa-se no hipertireoidismo aumento do estrógeno circulante e diminuição da libido, enquanto que no hipotireoidismo há queda da testosterona e elevação da prolactina sérica [Lue 2000].

A disfunção erétil ocorre em 40 – 80% dos homens com doença vascular periférica e, em 10% dos hipertensos. Esta altera a distensibilidade e permeabilidade da túnica íntima das artérias levando a obstrução. A hiperlipidemia presente em 40 – 50% dos casos, a agrava ainda mais [Rehman 2002].

Afecções traumáticas oclusivas ou ateroscleróticas comprometendo a rede arterial hipogástrica-cavernosa-helicínica conduzem a DE vascular. A diminuição da pressão de perfusão e do fluxo sanguíneo aos sinusóides do pênis aumentam destarte, o tempo para obtenção da ereção máxima e atenuam sua rigidez [Lue 2002].

Ademais, produzem redução da pO_2 no corpo cavernoso para menor que 100 mm Hg, prejudicando à síntese de óxido nítrico pelo endotélio e pelos terminais neuronais NANC, transtornando ainda mais o processo de ereção peniano [Lue 2000].

Componente importante da DE de causa vascular é a disfunção veno-oclusiva, compreendendo a fuga sanguínea cavernosa devido a perda da compressão das veias contra a túnica albugínea.[Vickers 2000].

São exemplos de suas causas, os lagos vasculares drenando o corpo cavernoso, *shunts* venosos pós-cirurgia para Doença de Peyronie [Lue 2002], os processos degenerativos da túnica albugínea [Metz 1983], as alterações estruturais fibroelásticas das trabéculas, músculo liso e endotélio [Sattar 1994], e o insuficiente relaxamento do músculo liso trabecular dos indivíduos ansiosos [Christ 1990].

Desordens em canais de íons, principalmente o canal de Potássio de alta condutância sensitivo a Ca^{++} (Bk_{Ca}) prejudicando seu efeito hiperpolarizante da célula muscular lisa vascular cavernosa e, alterações nas junções intercelulares, com perda do contato de membranas, podem cursar com disfunção erétil [Archer 2002].

3.6 Diagnóstico

Os procedimentos necessários ao diagnóstico da disfunção erétil compreendem três fases investigativas: uma, não invasiva (e.g. historia clínica geral e sexual, exame físico e laboratorial básico), outra, semi-invasiva, i.e. injeção intracavernosa, ultrassonografia com

doppler e exame neurofisiológico e, finalmente, a mais invasiva, porém de uso raro e.g. cavernosometria/cavernosografia e estudos vasculares [Hauck 1998].

A propedêutica deve priorizar os anseios do paciente, os limites do conhecimento científico que impedem a reversão de muitas lesões causais e, por fim, os tipos de terapêuticas existentes. Os paciente não devem ser submetidos a exames inúteis ou de interpretação dúbia, que no geral, são de pouco ou nenhum benefício [Glina 2002].

Na prática ambulatorial, o que se faz a todos os pacientes, é uma história médica e psicológica detalhada, seguida de exame físico e testes laboratoriais básicos incluindo dosagens hormonais e, provê-se a chance de um teste terapêutico com medicação oral ou injeção intracavernosa, ou ainda vacuoterapia. É pois, a diagnostica compartimentada em quatro níveis: avaliação altamente recomendada, recomendada, opcional e especializada [Broderick 2002].

Avaliação diagnóstica da disfunção erétil

Avaliação diagnóstica da disfunção erétil	
Avaliação altamente recomendada	História médica, psicológica e sexual, Questionários de escore e impacto da DE. Exame físico adequado
Avaliação recomendada	Glicose em jejum ou hemoglobina glicosilada Perfil lipídico e Testosterona sérica (avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-gônada)
Avaliação opcional	Consulta psicológica e/ou psiquiátrica Investigação laboratorial (prolactina sérica, LH, TSH, Hemograma e análise da urina).
Avaliação especializada	Avaliação pormenorizada psiquiátrica e psicológica, e da relação social e afetiva do paciente. Avaliação da tumescência e rigidez peniana noturna Avaliação vascular, endócrina e neurofisiológica.

Fonte: 1º conselho internacional sobre DE, Paris 1999.

Uma boa anamnese buscando os fatores de risco para DE, i.e. hipertensão, aterosclerose, doença vascular periférica e coronariana, diabetes mellitus, hábito de fumar e

medicações usuais, é essencial para a avaliação diagnóstica. Dados sobre a *performance*, prazer e libido, bem como o tempo e gravidade da afecção, são importantes. Também necessários são os chamados questionários auto-administrados (QAD) [Broderick 2002].

Dentre estes, o mais utilizado e com validação estatística em vários idiomas é o QAD IIEF (*International index of erectile dysfunction*) que contem 15 itens, contemplando cinco domínios: função de ereção, função orgástica, desejo sexual, satisfação na relação sexual e satisfação geral [Rosen 1997] [nos anexos].

Em 1999 com o objetivo de facilitar a prática clínica um QAD simplificado foi criado compreendendo apenas cinco itens, (IIEF₅), quatro dos quais extraídos do domínio da função de ereção do IIEF₁₅ e um último relacionado à satisfação na relação sexual. Por ele a DE é então classificada como grave (score entre 5 –7), moderada (8 – 11), leve a moderada (12 – 16), leve (17 – 21) e nenhuma DE (22 – 25) [Rosen 1999].

Um exame físico focado para o desenvolvimento sexual e genital pode revelar uma causa óbvia para a DE (e.g. sinais de hipogonadismo, micropênis, *chordee*, doença de Peyronie, ginecomastia ou testículos moles e atróficos) e, dirigido para o campo da neurologia, identificar neuropatias periféricas próprias do diabetes mellitus por exemplo, ou ainda anormalidades do reflexo bulbo-cavernoso [Broderick 2002].

São recomendações atuais: a obtenção de uma boa anamnese, preferivelmente de ambos os parceiros, um adequado exame físico, observando-se hábito corporal, características sexuais secundárias, avaliação dos sistemas cardiovascular e neurológico, e da área genital (pênis, testículos), o toque retal, e ainda, investigação laboratorial básica. Todos, somados ao uso do IIEF₅ e de um item de score de impacto da DE, são, no geral, o que se precisa para definir o tratamento para a disfunção erétil [FICED 1999].

Índice internacional de disfunção erétil de 5 itens (IIEF₅).

*	Quase nunca	Poucas vezes	Algumas vezes	Muitas vezes	Quase sempre
Com que frequência você foi capaz de ter uma ereção durante uma atividade sexual?	1	2	3	4	5
Quando você teve ereções com estimulação sexual, com que frequência suas ereções foram duras o suficiente para a penetração?	1	2	3	4	5
Quando você tentou ter relação sexual, com que frequência você foi capaz de penetrar (entrar) na parceira?	1	2	3	4	5
Durante uma relação sexual, com que frequência você foi capaz de manter sua ereção após ter penetrado (entrado) na sua parceira?	1	2	3	4	5
	Extremamente difícil	Muito difícil	Difícil	Ligeiramente difícil	Sem dificuldade
Durante relação sexual, o quanto foi difícil para manter a sua ereção até o fim da relação?	1	2	3	4	5

* Todas as questões são precedidas pela frase “nas últimas quatro semanas”.

Índice de impacto da DE

	Muito insatisfeito	Ligeiramente insatisfeito	Mais/menos satisfeito	Ligeiramente satisfeito	Muito satisfeito
Se você fosse passar o resto de sua vida com a condição erétil que tem hoje, como se sentiria?	1	2	3	4	5

Fonte: First International Consultation on Erectile Dysfunction, Paris, 1999.

O primeiro Conselho Internacional sobre Disfunção Erétil definiu como testes laboratoriais recomendados ao diagnóstico, os que buscam identificar o diabetes mellitus, a

hiperlipidemia e doenças do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (e.g. glicose em jejum, hemoglobina glicosilada, perfil lipídico e testosterona sérica). O hemograma, a prolactina sérica, LH, TSH e urinálise são opcionais [FICED 1999].

Investigações diagnósticas especiais incluem o índice peni-braquial (pouco específico), a ultrassonografia color duplex (resultados nem sempre reproduzíveis), cavernosometria e cavernosografia (valor muito limitado), arteriografia (para causas anatômicas), teste de ereção fármaco-induzida e teste de tumescência peniana noturna [Eardley 1999].

O teste de ereção fármaco-induzida é o procedimento mais utilizado ao diagnóstico de DE quando a suspeita é causa vascular. A droga atualmente usada é o alprostadil (PGE_1) injetada no corpo cavernoso. Pode produzir resultados falsos positivos devido ao medo do paciente à injeção e descarga adrenérgica subsequente. Para minimizá-los, ele deve ser realizado em ambiente o mais privado possível e associado a estimulação sexual visual e tátil [Montorsi 1996].

A partir das observações de Halverson em 1940, documentando ereções noturnas em crianças e, de Ohlmeyer um pouco depois, em homens de todas as idades, e ainda de Fischer que em 1965 relacionou-as com o sono e sua fase de movimentos rápidos dos olhos, Karacan no ano de 1970, sugeriu que o registro da tumescência peniana noturna poderia ser utilizado para o estudo dos transtornos funcionais da ereção [Broderick 2002].

A medida da tumescência peniana noturna em sua forma clássica consiste do monitoramento do número de episódios de ereção, da tumescência, da rigidez peniana máxima e da sua duração [Kessler 1988]. Vários métodos têm sido utilizados para aferí-la desde o uso de fitas picotadas em torno da base peniana até os dispositivos mais modernos como o *Rigiscan* e o NEVA (emprego de eletroimpedância) [Broderick 2002].

O *Rigiscan* introduzido em 1985 por Bradley e Timm foi o primeiro dispositivo portátil a registrar de forma automática a detumescência e rigidez peniana noturna. No entanto, somente a rigidez radial do pênis é medida. Usado isoladamente, não consegue discriminar entre causa psicológica e orgânica da DE. É considerado de grande valor para pacientes sem fatores de risco neurovascular e, com uma história psicogênica sugestiva [Levine 1995].

Tem indicação para estudo da tumescência e rigidez peniana noturna, os casos de disfunção erétil de etiologia obscura que sugerem origem psicológica, os refratários à terapia, ou aqueles com planejamento para tratamento invasivo. É ainda usado em investigação médico-legal e ensaios clínicos para comparação de resultados [Rosen 1995].

Em suma, a disfunção erétil, no geral se deve a problema de ordem hormonal, vascular, neurológica, medicamentosa, psicológica, ou devido a doença de Peyronie. Uma anamnese cuidadosa, buscando dados sobre diabetes mellitus de longa duração, alcoolismo crônico, trauma raquimedular, uso de medicamentos, incluindo também interrogatório psicológico, somada a um exame físico adequado, bateria laboratorial básica e, eventualmente o teste de ereção fármaco-induzida permite, na maioria das vezes, definir o diagnóstico de DE e sua causa [Glina 2002a].

3.7 tratamento

Uma breve olhada na história da disfunção erétil mostra que em seu primórdio o tratamento era proeminentemente fitoterápico: uso de extratos de plantas ou da genitália de animais [Broderick 2002]. Depois veio a época das desordens mentais como causa primeira. Nos anos 60 e 70 predominou a convicção de que a disfunção sexual era

conseqüência de conflitos do inconsciente reprimido e, que a maioria dos casos teria uma base comportamental. Pensava-se que a causa mais comum de DE era psicológica [Eardley 2002] e portanto a terapêutica era dirigida a este fim.

A popularização do uso da prótese peniana nos anos 70s com a introdução da inflável de Scott e semi-rígida de Finney inaugurou uma nova era na terapêutica da DE. A avaliação, e a conduta conseqüente saiu do consultório do psiquiatra para o do urologista, do remédio fitoterápico para a opção cirúrgica [Broderick 2002].

Entretanto o grande avanço no tratamento da disfunção erétil se deu em março de 1998 quando o FDA aprovou o uso oral do citrato de sildenafil, um inibidor da fosfodiesterase tipo V. Mais de 11.000 pacientes/ano foram analisados em estudos clínicos em todo o mundo até o ano de 2001. Certamente, mais de 10 milhões de homens já utilizaram este medicamento [Sadovsky 2001].

3.7.1 Tratamento não farmacológico

Poucas considerações sobre a bomba de vácuo, a prótese peniana e as cirurgias vasculares, neste tópico.

O dispositivo de vácuo para o tratamento da disfunção erétil consiste de uma câmara cilíndrica, uma bomba de sucção e um sistema de constrição peniano. Devido ao uso do anel constritor obtém-se o que se chama rigidez peniana isquêmica. Entrevista com 100 pacientes usuários do método na Universidade de Minnesota demonstrou que 79% deles estavam satisfeitos com a rigidez obtida [Becher 2002].

Desde o princípio de seu uso na década de setenta, a prótese peniana é considerada um tratamento definido e definitivo para DE. Existem dois tipos de dispositivos: o maleável

ou semi-rígido e o inflável. A seleção apropriada depende da preferência do paciente, dos custos e da experiência do cirurgião [Lewis 2002].

O objetivo do implante de uma prótese é a obtenção de rigidez que possibilite penetração vaginal. O candidato ideal é o paciente que tem como causa um fator orgânico e que as demais alternativas conservadoras farmacológicas ou não, falharam. A opção deve ser evitada quando a DE é circunstancial, temporária ou reversível [Teloken 2002].

Para uma boa qualidade no relacionamento sexual, o casal que recebe orientação para seu início após implante de uma prótese peniana, deve ser encorajado a realizar intensa estimulação sexual antes da penetração, afim de alcançar prazer até o limiar do orgasmo [Faria 2002].

Uma forma não farmacológica de terapia para a disfunção erétil é a cirurgia vascular. Ela consiste de procedimentos, tipo ligação venosa para desordens veno-oclusivas ou de revascularização arterial peniana [Montague 2002].

A cirurgia venosa do pênis como forma de tratamento para DE foi popularizada nos meados dos anos 80. O procedimento consiste de ligaduras da veia dorsal, das circunflexas e emissárias e da cavernosa e crural [Lue 1989]. Porque dos maus resultados a longo prazo devido ao desenvolvimento de colaterais e por não tratar a causa primária do transtorno veno-oclusivo, i.e. a deficiência do próprio músculo cavernoso e de neurotransmissores, tem caído em desuso nos últimos anos [Hwang 1994, Rao 2001].

A cirurgia vascular com indicação definida, embora restrita a poucos casos é a revascularização peniana, via anastomose da artéria epigástrica inferior a um dos vasos da base do pênis, objetivando aumentar seu aporte sanguíneo. Ela está indicada idealmente para o jovem com impotência de origem arterial conseqüente a trauma pélvico ou perineal,

sem doença aterosclerótica importante nas artérias pudenda ou peniana [Hatzichristou 1993].

3.7.2 Tratamento farmacológico

É necessário, rememorar um pouco a farmacologia da função peniana para a compreensão da terapêutica medicamentosa da disfunção erétil. A contração do músculo cavernoso e detumescência resulta da ativação de α_1 -adrenoceptores pela noradrenalina. O efeito conseqüente, envolvendo os segundos mensageiros DAG e IP_3 conduz a aumento do Ca^{++} intracelular, fosforilação da cinase da miosina de cadeia leve, e do complexo miosina/actina [Lue 2002].

Há que se relembrar também o papel da Rho kinase que inibindo a miosina fosfatase evita a desfosforilação de seu substrato com manutenção do tônus e da contração muscular [Somlyo 2000].

Os nervos cavernosos liberam pelo menos três neurotransmissores que relaxam o músculo liso: ACh, NO e VIP. ACh age nos receptores M_3 no endotélio resultando na liberação de NO. Este ativa a guanilato ciclase solúvel com conseqüente produção de $cGMP$. VIP similar a papaverina, forskolin e PGE_1 , age ativando a adenilato ciclase aumentando o $cAMP$ [Steers 2002].

O aumento dos segundos mensageiros $cAMP$ e $cGMP$ resulta em queda do Ca^{++} intracelular, relaxamento muscular cavernoso e ereção peniana [Stief 1997].

O fim deste processo depende da degradação destas moléculas sinalizadoras por ação das fosfodiesterases PDEs. Os tipo 3 e 4 (PDE_3 e PDE_4) para o $cAMP$ e PDE_5 para o $cGMP$ [Uckert 2001].

A farmacoterapia objetivando estimular a ereção peniana baseia-se em estratégias que buscam suprimir os mecanismos anti, ou promover os pró-erectivos, ou ambos. A nível local, há os agentes que aumentam o relaxamento do músculo liso vascular (e.g. efetores da síntese de c GMP e c AMP), que a potencializam (e.g. inibidores das fosfodiesterases), ou que atenuam a contração vascular (e.g. antagonistas α_1 -adrenérgicos) [Burnett 1999].

A nível central, no entanto, uma única droga pode ter propriedades antagônicas, ou seja, causar ereção ou detumescência peniana, dependendo de sua interação combinada nos sítios cerebrais ou medulares, de suas relações dose-resposta e sobremodo das especificidades dos receptores [Steers 2002].

Na prática clínica uma das formas mais comuns e eficientes de terapêutica para a disfunção erétil é a farmacoterapia intracavernosa. Os fármacos mais utilizados e suas formulações estão contidos abaixo.

Fármacos e combinações de uso intracavernoso mais comuns

Fármaco	Dose	Vantagens	Desvantagens
Papaverina	7,5 - 60 mg	baixo custo	fibrose, priapismo
PGE₁	01 – 60 μ g	Metabolismo/pênis	ereção dolorosa, *
Papaverina / fentolamina	30 mg / 0,5 mg	mais potente que papaverina isolada	fibrose, priapismo *
PGE1 / Papaverina / Fentolamina	10 μ g/30 mg/1mg	mais potente priapismo raro	relativamente caro *

Fonte: Modificado de Broderick 2002, v. 2 cap. 46, p. 1656

A papaverina um alcalóide do ópio (*opium papaver somniferum*) tem sido usada isoladamente ou em combinação farmacológica, por meio de injeções intracavernosas para o tratamento da disfunção erétil. Por suas propriedades inespecíficas inibitórias sobre as fosfodiesterases, ela conduz a aumento intracelular de c AMP e c GMP e, ademais parece bloquear os canais de Ca^{++} voltagem-dependentes [Brading 1983].

Seu baixo custo é um atrativo, no entanto a incidência de priapismo (0% - 30%) e de fibrose do corpo cavernoso (1% - 33%), e ainda, por ser considerada hepatotóxica (metabolizada no fígado, com $t_{1/2}$ de 1-2 horas), tem uso limitado [Broderick 2002]. É efetiva na DE de causa neurológica. Estudo com pacientes paraplégicos e tetraplégicos demonstrou ereção com penetração, em cerca de 98% das aplicações [Kapoor 1993].

Devido ao alto risco de complicações a papaverina intracavernosa deve ser restrita a pacientes com DE refrataria a outras formas de terapia e, devidamente informados [Mc Mahon 2000].

O Alprostadil é um prostanóide natural oriundo dos precursores do ácido dihomo- α -linoleico. Constitui a forma sintética da PGE_1 . Seu uso intracavernoso é considerado o tratamento mais eficaz para a DE orgânica e, foi o primeiro agente a ter aprovação pelo FDA para este propósito. É largamente metabolizado dentro do corpo cavernoso com uma meia vida de 5 – 10 minutos. Ereção prolongada (4 - 6 h) em 5%, priapismo (>6 h) em 1% e fibrose em 2% dos pacientes são eventos adversos, entretanto o mais freqüente, é dor no local da injeção [Linnet 1996].

A droga relaxa a musculatura lisa dos vasos e dos sinusóides penianos via ativação da enzima adenilato ciclase. Tem ação inibitória sobre a agregação plaquetária, e a liberação de noradrenalina e ainda, interfere com a entrada da lipoproteína de baixa densidade (LDL) na parede vascular. No tratamento da disfunção erétil exibe resposta superior a 70% [Porst 1996].

Além da formulação intracavernosa do alprostadil, existem duas outras: uma para uso intrauretral já disponível e com resultados inconsistentes e outra com ensaio clínico de

fase II já concluído, em forma de creme para uso tópico, que pode vir a ser um útil para o tratamento da DE [Kongkanand 2002, Steidle C].

PGE₁ é efetiva para a terapêutica da disfunção erétil e, deve ser considerada a droga de eleição para o diagnóstico e manuseio do grupo de pacientes que tem contra-indicação ao tratamento oral e/ou para os quais, aquele falhou [Broderick 2002].

As drogas utilizadas em farmacoterapia intracavernosa podem ser aplicadas isoladamente (monoterapia) ou combinadas, aproveitando o sinergismo de suas ações (maior eficiência clínica), com menor quantidade de substâncias ativas e conseqüente baixo custo e menos efeitos colaterais [Braga 2002].

Um estudo com 160 homens de diferentes causas de DE, envolvendo 13.030 injeções de papaverina + fentolamina (bloqueador α -adrenérgico inespecífico), em período médio de 14 meses, mostrou ereção suficiente para relação sexual em 115 dentre eles, (75%). Um total de 22 episódios de priapismo ocorreu em 16 pacientes e 1 paciente desenvolveu fibrose do corpo cavernoso. No final, 48% dos pacientes persistiam utilizando o tratamento [Armstrong 1993].

A formulação com os dois fármacos é eficaz e produz ereções em mais que 70% dos pacientes, com taxa de satisfação do casal de 75%. Ereção prolongada ocorre entre 1% - 23% e fibrose entre 1,4 - 16% [Broderick 2002].

Em 1991 Bennett introduziu uma combinação de três drogas contendo papaverina, fentolamina e PGE₁. De 110 pacientes estudados, com seguimento de 12 a 28 meses, 65% continuavam a usar o medicamento no final do período de observação, e destes, 89% estavam satisfeitos. Ocorreram 7 ereções prolongadas (5,6%), uma menor incidência de ereção dolorosa e nenhum paciente desenvolveu fibrose [Barada 1991].

Alguns outros fármacos têm sido tentados por via intracavernosa, isolado ou em combinações: polipeptídeo intestinal vasoativo, peptídeo geneticamente relacionado a calcitonina, linsidomina, nitroprussiato de sódio, clorpromazina, entretanto com resultados inferiores a PGE₁ isolada ou em formulações combinadas [Broderick 2002].

O que se observa com o tempo é que os pacientes vão progressivamente descontinuando o tratamento intracavernoso, devido a uma variedade de motivos, entre os quais: o medo de auto-aplicar as injeções, e seus potenciais eventos adversos, ou ainda, dado à artificialidade do método e, sobretudo à resistência da companheira [Beutel 1999].

O fármaco ideal para tratar disfunção erétil deve ser eficaz, ser possível seu uso sob demanda, não possuir efeitos colaterais, ter baixo custo, ser específico para a doença e de fácil administração. [Morales 2002]. O desenvolvimento de remédios orais tem coincidido com um melhor entendimento da neurologia, da fisiologia, farmacologia e dos mecanismos moleculares da ereção peniana [Broderick 2002].

O antagonista α_2 -adrenérgico ioimbina é um alcalóide extraído da casca da árvore *Pausinystalia yohimbine*, originária da África Ocidental. Hoje tem apenas interesse histórico, porém era muito utilizado por via oral para tratar pacientes com DE de origem psicológica, resistentes à psicoterapia, antes do advento das modernas drogas mais efetivas [Morales 2002].

Estudo realizado em pacientes com DE de origem orgânica, publicado em 1998, usando altas doses orais diárias de hidrocloreto de ioimbina (100 mg/dia) não mostrou melhora da doença (apenas 3 pacientes - 13,6% - obtiveram resposta completa). Os dados foram similares aos do grupo placebo. Os efeitos adversos mais comuns foram ansiedade, taquicardia, aumento do débito urinário e cefaléia [Teloken 1998].

As recomendações da *American Urological Association* publicada em 1996 versando sobre o tratamento da disfunção erétil masculina, aconselham que não há nenhuma eficácia da ioimbina em pacientes com DE de natureza orgânica [Montague 1996].

A Apomorfina, um agonista dopaminérgico D₁/D₂ produz ereção peniana agindo nos neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo. Em estudo com ratos desmedulados foi demonstrado que a droga produz efeitos erectogênicos, sinalizando uma ação também a nível medular. Pré-tratamento com o antagonista D₁, SCH23390 aumenta a ereção naqueles animais, enquanto que o antagonista D₂, sulpiride, a suprime [Giuliano 2002].

Uma formulação para uso sublingual visando atingir picos séricos rápidos com baixa concentração e minimizar o metabolismo de primeira passagem pelo fígado está disponível desde 1995. Ela dissolve-se na mucosa oral rapidamente e resulta em ereção em cerca de 20 minutos (71% dos pacientes). Os benefícios são consistentes a longo prazo (>90% de tentativas com sucessos em um período de 18 meses) para pacientes que respondem a terapia, com um padrão benigno de eventos adversos (< 13,4%) [Heaton 2001].

Um estudo europeu, randomizado, duplo cego, multicêntrico, envolvendo 507 pacientes, com doses progressivas de apomorfina (2mg, 3mg e 4mg) em um período de 8 semanas, demonstrou padrão de segurança e tolerabilidade, mesmo em doses maiores do que a preconizada para uso clínico (>3 mg). Eventos adversos mais comuns: náusea (9,8%), tonturas 7,1% e cefaléia 6,7% [Von Keitz 2002].

Uma preocupação com o uso do fármaco é a síncope que ocorre por mecanismo vasovagal. No entanto, sua incidência é menor que 0,2%, e sempre precedida de sintomas prodômicos: náuseas e vômitos intensos, tonturas, sudorese e palidez [Altwein 2001].

Em março de 1998, ocorreu por certo, o maior avanço na terapêutica da disfunção erétil, com a aprovação do citrato de sildenafil para uso clínico pelo *Food and Drug Administration* (FDA) [Moreland 1998].

O fármaco é um inibidor seletivo da PDE₅, enzima que degrada o segundo mensageiro intracelular $cGMP$. Ao entrar na célula do músculo liso vascular, o NO estimula a enzima guanilato ciclase a converter GTP a $cGMP$. Este último dispara mecanismos de bomba, que retiram Ca^{++} do citosol expulsando-o para fora da célula ou seqüestrando-o no retículo sarcoplasmático, resultando em relaxamento. Sildenafil acentua os efeitos naturais do NO via inibição do catabolismo do $cGMP$ pela PDE₅ [Broderick 2002].

O citrato de sildenafil é rapidamente absorvido por via oral (93%), porém sua absoluta biodisponibilidade cai para 38% devido ao metabolismo de primeira passagem no fígado. Alcança concentração plasmática máxima em menos de uma hora (T_{max}) e tem $t_{1/2}$ entre 3 – 5 horas. Sua rota de eliminação é predominante metabólica, por meio de N-demetilação, oxidação, desidroxilação alifática e, fecal [Muirhead 2002].

Estudo de eficácia clínica utilizando o QAD IIEF compreendendo 532 pacientes tomando doses orais progressivas de sildenafil (25, 50 ou 100 mg), demonstrou pleno sucesso em 69% das tentativas de relacionamento sexual. Bons resultados foram obtidos em 72%, 80% e 85% dos pacientes, respectivamente ao escalonamento de dose [Goldstein 1998]. Glina e colaboradores também avaliaram a eficácia do citrato de sildenafil em ensaio clínico de 12 semanas, duplo cego, multicêntrico, controlado por placebo, nas doses de 25, 50 e 100 mg, realizado em homens do Brasil e México com amplo espectro etiológico para

DE. No final da observação o escore médio de todos os domínios do IIEF (ereção, orgasmo, libido, satisfação na relação sexual e global) foi maior no grupo experimental (Sildenafil, n = 109) comparado ao grupo controle (n = 105) [Glina 2002c].

Questionamentos de eficácia global identificou melhora na ereção em 65%, 74% e 82% dos pacientes nas doses respectivas de 25 mg, 50 mg e 100 mg. Quando contempladas causas específicas, o sildenafil melhorou a performance sexual em 70% dos pacientes hipertensos, 56% dos diabéticos, 71% após prostatectomia radical com preservação dos nervos erigentes e 80% dos pacientes com trauma de medula óssea [Broderick 2002, Zippe 2000].

Levantamento realizado no MEDLINE revisando estudos clínicos, reportagens de casos, comentários e editoriais publicados na literatura internacional, entre janeiro de 1999 a agosto de 2000, demonstra que sildenafil é a terapia de primeira linha, para disfunção erétil em homens, com perfil de tolerabilidade bastante aceitável [Boyce 2001].

A segurança clínica e tolerabilidade de citrato de sildenafil foram revistas em uma série de estudos compreendendo mais de 3.700 pacientes tratados para DE em todo o mundo. Os eventos adversos mais frequentes foram: cefaléia (16%), rubor facial (10%), dispepsia (7%), congestão nasal (4%) e visão turva (3%). Estes foram no geral, leves e transitórios e as taxas de abandono de tratamento devido a eles foram similares nos grupos tratados (2,5%) e nos controles (2,3%). [Morales 1998].

Uma contra-indicação absoluta ao sildenafil é seu uso concomitante com nitratos devido ao risco de causar por sinergismo de ações, vasodilatação sistêmica profunda, por vezes, letal. Pacientes portadores de retinite pigmentosa devem ingeri-lo com cuidado, haja vista o risco de dano à retina, via efeito da droga sobre a PDE₆ [Burnett 1999].

De 1998 (data da aprovação do sildenafil) até 2001, o número de suas prescrições nos Estados Unidos da América aumentou 87%, de 7,5 milhões para 14 milhões, enquanto que as de outro medicamento aprovado, o alprostadil diminuiu: a forma injetável em 33%, de 239.000 para 159.000 e, sua forma de aplicação uretral 67%, (400.000 para 132.000), indicando uma adoção em massa do fármaco para o tratamento da DE [Wyosowski 2001].

A partir de 2000 dois adicionais inibidores da fosfodiesterase tipo 5 entraram em testes clínicos: tadalafil e vardenafil. Ambos aguardam lançamento para este primeiro semestre de 2003 [Broderick 2002].

Tadalafil tem seletividade 700 vezes maior para a PDE₅ do que para a PDE₆, diminuindo destarte, os potenciais efeitos indesejáveis sobre a visão. No entanto é muito seletiva sobre a PDE₁₁, isoenzima de recente descoberta no coração, rins, fígado, hipófise e testículos. Sua ação sobre eles, se benéfica ou não, é desconhecida até o momento [Morales, 2002].

Este novo inibidor da PDE₅, demonstrou, em estudo randomizado, controlado por placebo, compreendendo 1.112 homens, na dose de 20 mg tomada sob demanda, uma melhora significativa de 7.9 pontos no domínio de ereção do IIEF, 75% de sucesso nas tentativas de relacionamentos sexuais e 81% deles reportaram melhoras da performance sexual [Brock 2002].

A droga é, no geral, bem tolerada. Cefaléia 23%, dispepsia 17%, dores nas costas 4,7% e mialgias 4,1% são seus eventos adversos mais comuns. Nenhum distúrbio visual foi encontrado. Com $t_{1/2}$ de 17,5 h, e estudos clínicos sugerindo atividade significativa 24 após tomada de dose, ela cria boas possibilidades para que o casal possa planejar espontânea e confortavelmente seu relacionamento sexual [Porst 2002, Eardley 2002].

O outro inibidor da fosfodiesterase tipo 5 a ser comercializado em breve é o vardenafil. Em estudos *in vitro* com músculo liso de corpo cavernoso humano, sua concentração necessária para alcançar 50% de inibição da PDE₅ (IC₅₀) foi 5 vezes menor que sildenafil. Ele elevou a concentração de cGMP de 63% para 137% dos níveis basais. Sildenafil em concentração isomolar só o fez de 27% para 60% [Kim 2001].

Após administração oral de 20 – 40 mg a concentração plasmática é alcançada em torno de 0,7 – 0,9 h e com uma meia vida de 4-5 horas. Quantidades insignificantes permanecem na circulação após 24 h.[Pryor 2002].

Em estudo duplo cego, controlado por placebo, randomizado e multicêntrico, 601 pacientes com DE de média a grave foram tratados com 5,10 e 20 mg de vardenafil ou placebo. A droga melhorou todos domínios do IIEF independente da dose tomada. A percentagem de sucesso nas relações sexuais foi de 71%-75%. Aqueles que tomaram 20 mg reportaram 80% de melhora de sua performance comparado com 30% do grupo placebo. Foram eventos adversos, a cefaléia (7-15%), o rubor facial (10-11%) e dispepsia e rinite em até 7% [Porst 2001].

Para um melhor entendimento das diferenças farmacocinéticas e farmacológicas entre sildenafil, tadalafil e vardenafil, as comparações entre seus IC₅₀ para PDE₅, t_{1/2} e T_{max}, estão listados na tabela 1.

Tabela 1. Comparação entre a IC₅₀, t_{1/2} e T_{max}

Fármaco / parâmetro	t_{1/2} (h)	T_{max} (h)	IC₅₀* (µM)
Sildenafil	3 –5	<1	0,00350
Vardenafil	4 –5	0,7 – 0,9	0,00014
Tadalafil	17,5	2	0,00674

Fonte: [Muirhead 2002, Porst, 2002 Morales, 2002 Pryor 2002]

*IC₅₀ – concentração necessária para alcançar 50% de inibição da PDE₅

4. Fentolamina

3[[94,5-Dihydro-1H-imidazol-2-y) methyl]4-methylphenyl) amino[phenol, a fentolamina, antagonista alfa-adrenérgico, pertencente ao grupo da imidazolina. Tem peso molecular de 377,5 e pKa 7,7. É um composto cristalino branco, sem odor, discretamente higroscópico. A fentolamina é um derivado imidazólico que é preparado por síntese química [Dolery 1999]

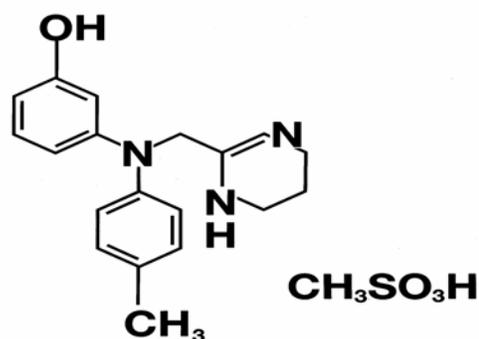


Figura 9. Estrutura química da fentolamina

No início da década de 1990 foi desenvolvida uma formulação oral à base de mesilato de fentolamina, direcionada especificamente para o tratamento da disfunção erétil. Foi baseada no método de fabricação denominada *fast dissolving tablet*, que compreendia comprimidos de dissolução rápida na dosagem de 40 mg [Zonagen 1999].

4.1 Farmacocinética

Há carência de informações sobre sua farmacocinética. A droga tem reduzida eficácia quando tomada por via oral, comparada à injeção endovenosa, provavelmente devido à seu extenso metabolismo de primeira passagem. A meia vida plasmática após injeção endovenosa é 30 min, com excreção urinária de cerca de 70% nas 24 h

subsequentes. Excreção fecal é responsável por apenas 3% do total da dose [Anderson 2001].

O padrão farmacocinético de sua formulação oral destinada a tratar DE exhibe uma rápida absorção e eliminação em homens normais. Pico de concentração plasmática é alcançada entre os 30 – 60 min e a meia vida aproxima-se de 5 – 7 h. Os alimentos diminuem a absorção intestinal porém não afeta sua biodisponibilidade. Tem baixo índice de ligação às proteínas plasmáticas e é excretada primariamente nas fezes e urina [Goldstein 2001].

4.2 Farmacodinâmica

A Fentolamina é antagonista competitivo, não seletivo, com quase igual eficácia, sobre os receptores α_1 e α_2 adrenérgicos. Bloqueia, embora com menor eficiência, os receptores da 5-hidroxitriptamina (5-HT) e ainda, libera histamina de mastócitos [Anderson 2001].

O fármaco causa relaxamento da musculatura lisa por outras vias que não somente o bloqueio alfa. Devido sua atividade simpática produz arritmias cardíacas mediada por barorreceptores e, estímulo à secreção lacrimal, salivar e do trato respiratório. Tem um notável efeito sobre o conteúdo gástrico e pancreático, provavelmente agindo nos receptores muscarínicos colinérgicos [Dollery 1999].

Parece atuar na via metabólica NOS/NO/guanilato ciclase/ c GMP. Relaxa, em estudo *in vitro*, fragmentos de corpo cavernoso humano e de coelho, pré-contraídos com endotelina e KCl. O efeito é inibido reversivelmente por L-nitroarginina ou por destruição mecânica do endotélio, sugerindo que há uma função antagônica NANC com mediação endotelial, por meio da ativação da NOS (figura 10) [Traish 1998].

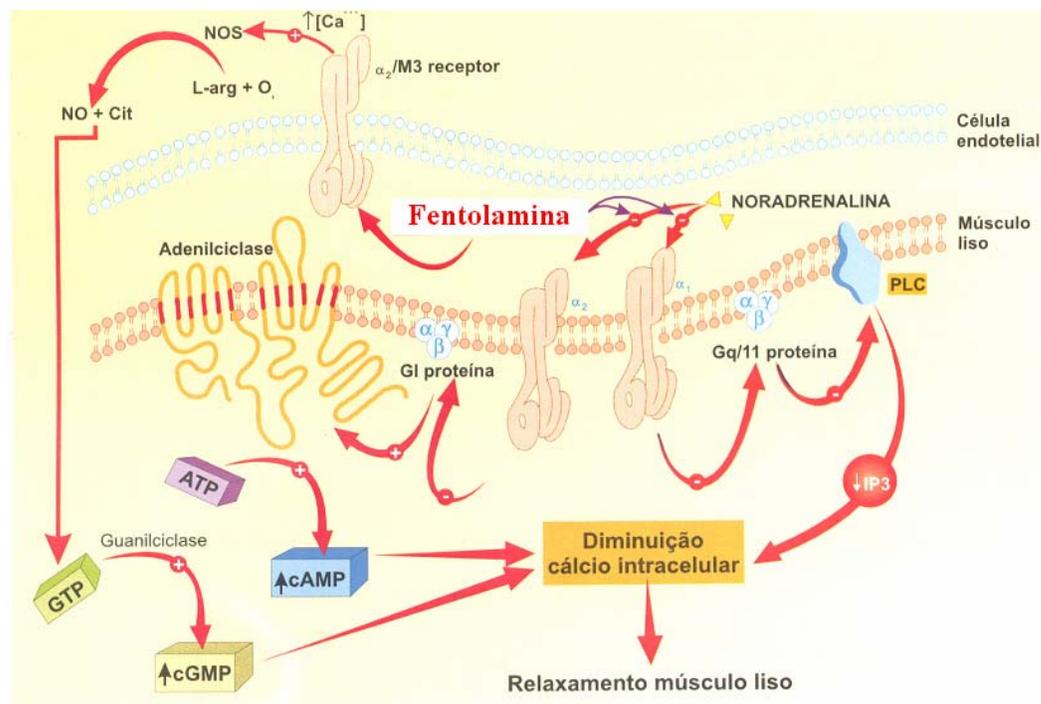


Figura 10. Farmacodinâmica da fentolamina

A fentolamina foi introduzida na prática clínica em 1950 como vasodilatadora à administração oral e endovenosa [De Bros 1978]. É um agente útil na terapia da insuficiência cardíaca congestiva [Parker 1995], enfarto do miocárdio [Gould 1976], arritmia cardíaca [Maranhão 1976], crise hipertensiva [Richter 1983], asma brônquica [Geumei 1975], na prevenção da necrose dérmica induzida por drogas [Subhani 2001], para tratar a dor pancreatite crônica [McCleane 1996], e as complicações operatórias do feocromocitoma [Nakada 1994].

Desde os meados dos anos 80, o uso farmacológico intracavernoso de fentolamina, prostaglandina E₁ e papaverina tem sido um modo corrente de tratamento da disfunção erétil. A combinação destas três drogas continua sendo ainda hoje, uma boa opção para homens com DE orgânica, principalmente para os mais idosos, quando se tem mostrado superior ao uso de PGE₁ isolada.[Richter 2001].

A fentolamina é também usada na terapia oral da disfunção erétil. Em investigação clínica pioneira, conduzida em 1988, esta droga usada em dose oral de 50 mg produziu ereção peniana que permitiu relações sexuais com sucesso em 11 (68,8%) de 16 pacientes [Gwinup 1988].

Um grande estudo clínico de fase III, multi-institucional, controlado por placebo, mostrou que pacientes tratados com fentolamina oral nas doses de 40 mg e 80 mg conseguiam penetração vaginal em 55% e 59%. dentre eles. Correção ou melhora da DE foi obtida em 40% e 53%, respectivamente. Nenhum evento adverso importante aconteceu, o que permitiu concluir que esta opção terapêutica é segura, bem tolerada e eficaz para o tratamento da disfunção erétil [Goldstein 2000].

Investigação clínica aberta envolvendo 2000 pacientes recebendo mesilato de fentolamina em doses de 40 mg ou 80 mg sob demanda, no intervalo de 13 meses, demonstrou que o tratamento associou-se a aumento do escore do domínio de ereção no IIEF, sucesso nas penetrações vaginais e na satisfação global [Padma-Nathan 2002].

O fármaco é bem tolerado pela maioria dos pacientes. Seus eventos adversos mais comuns são: congestão nasal (10%), cefaléia (3%), tontura (3%), taquicardia (3%) e náuseas (1%). Tem um padrão satisfatório de segurança, sem efeitos cardiovasculares significativos [Goldstein 2001].

No entanto, desde o final de 1999 os ensaios clínicos em seres humanos foram suspensos, devido a achados preliminares de alta proliferação de tumores gordurosos em estudo de carcinogênese em ratos [Broderick 2002].

Objetivos

Traish e colaboradores em 1998, estudando os mecanismos bioquímicos e fisiológicos do mesilado de fentolamina, responsáveis pela regulação da contratilidade muscular lisa, em corpo cavernoso humano e de coelhos, sugeriu que aquele fármaco agia também via mecanismo NANC mediado por endotélio, talvez por ativação da NOS.

Estes achados suscitaram duas interrogações que constituem primordialmente os objetivos primeiros deste estudo:

1. A fentolamina age no corpo cavernoso humano, por mecanismo outro que não o bloqueio α_1 , α_2 adrenérgico?
2. Que mecanismo é este?

No ano de 1999 a Unidade de Farmacologia Clínica da Universidade Federal do Ceará realizou estudo de bioequivalencia de duas formulações de fentolamina, cujos dados estão no corpo desta tese e, que serviram para consubstanciar as demandas de seus objetivos secundários:

3. Compreender melhor a farmacocinética da fentolamina
4. São bioequivalentes as suas duas formulações disponíveis destinadas a tratar disfunção erétil masculina,?

Material e Métodos

Esta tese originou-se de dois estudos: um clínico, *in vivo*, farmacocinético, envolvendo análise de bioequivalência de duas formulações de fentolamina. Outro, *in vitro*, utilizando-se fragmentos de corpo cavernoso humano. O primeiro, realizado na Unidade de Farmacologia clínica, o segundo, no Laboratório de Farmacologia Cardiovascular, ambos, pertencentes à Universidade Federal do Ceará.

1. Primeiro estudo – farmacocinética da fentolamina em voluntários sãos (teste de bioequivalência)

1.1 Material

Está especificado abaixo o rol de material e equipamentos utilizados na fase clínica do teste de bioequivalência.

Material utilizado na fase clínica da análise de bioequivalência

Material Utilizado para Coleta	Fabricante
Agulhas descartáveis 25x8	BD – USA
Agulhas 21G x 1 Vacutainer	BD – USA
Alcool 70%	HUWC-UFC
Algodão	Johnson and Johnson – USA
Coletores de fezes	Fornecido pelo Laboratório Louis Pasteur
Coletores de urina	Fornecido pelo Laboratório Louis Pasteur
Pipetas ajustáveis (100µL, 200µL, 1000µL)	Gilson Pipetman, França
Ponteiras plásticas para pipetas (5-200µL)	Unilab, Brasil
Ponteiras plásticas para pipetas (200-1000µL)	Unilab, Brasil
Seringas descartáveis de 10ml	BD – USA
Suporte para conexão da agulha	BD – USA
Tubos Vacutainer	BD – USA
Tubos plásticos para armazenar plasma (ning'')	Corning Costar Corporation– Canadá

Equipamentos utilizados na fase clínica da análise de bioequivalência

Aparelhos	Fabricante
Termômetro thermo flat	Becton Dickinson Ind. Cir Ltda Brasil
Esfignomanômetro Tycos 7050-14	Tycos –USA
Estetoscópio	Lytman – USA
Eletrocardiógrafo	Dixtal – Brasil
Balança	Balmak- Brasil
Centrífuga	Eppendorf
Freezer horizontal – 20°C	Eletrolux-Brasil

Estes são os produtos teste e referência utilizados neste estudo e, suas informações pertinentes às respectivas formulações.

Especificações dos produtos teste e referencia utilizados no estudo

	Produto teste	Produto referência
Nome	Regitina [®]	Vasomax [®]
Ingrediente ativo	Fentolamina	Fentolamina
Formulação	Tabletes	Tabletes
Dosagem	40 mg	40 mg
Número do lote	49459 - CX004	8MSYA – 009
Data de validade	03/2000	05/2000
Laboratório	Novartis	Schering Plough S. A.

Lista do material utilizado na fase analítica do teste de bioequivalência, os componente do HPLC Shimadzu e os reagentes, estão contemplados abaixo.

Material utilizado na etapa analítica do teste de bioequivalência

Descrição	Produtor/País
Pipetas ajustáveis (100µL, 200µL, 1000µL)	Gilson Pipetman, França
Vortex mixer Fisher Vortex Genie 2	Fisher Scientific Lab Equipament, USA
Ponteiras plásticas para pipetas (5-200µL)	Unilab, Brasil
Ponteiras plásticas p/ pipetas (200-1000µL)	Unilab, Brasil
Tubos de ensaio 120 x 11 mm	Unilab, Brasil
Pipetas Pasteur	Costar, USA
Medidor de pH	Hanna instruments, Potugal
Balança analítica	Ohaus co. Florham park Switzerland

Componentes do HPLC Shimadzu

Componente	Modelo
Cromatógrafo líquido	C2096305304LP
Desgaseificador	C20923602376TK
Auto-injetor	C21153601335LP
Coluna *	C2103601906K2

* Coluna analítica: Gênese C8 4 μ (150mm x 4.6 mm)

Reagentes utilizados na etapa analítica.

Descrição
Acetonitrila grau HPLC (100%)
TFA (Ácido trifluoracético)- grau PA
Dietil éter – grau HPLC (99,9%)
Diclorometano – grau HPLC (99,9%)
Ditiotreitol – grau PA (99,9%)
Água purificada usando Milli-Q

1.2 Método

1.2.1 Do desenho

Consistiu de estudo aberto, randomizado, cruzado de duplo período, com 36 (trinta e seis) voluntários são do sexo masculino, idade média de 21,5 anos e dentro de 15% de seu peso corporal ideal. O protocolo clínico foi submetido ao Comitê de Ética do Hospital da Universidade Federal do Ceará que o aprovou. Todos os sujeitos do estudo deram consentimento informado por escrito e assinado.

Os voluntários não tinham doença alguma, cardíaca, hepática, renal, pulmonar, neurológica, gastrointestinal, hematológica e psiquiátrica, como determinada pela história, exame físico, ECG e testes laboratoriais (dosagem sanguínea de glicose, uréia, creatinina, AST, ALT, fosfatase alcalina, γ -GT, bilirrubina total, albumina, proteína total, triglicerídeos, colesterol total, hemoglobina, hematócrito, contagem total e diferencial de

leucócitos, VHS, and análise de urina tipo I). Todos tinham sorologia negativa para HIV, HBV e HCV.

Após seleção e obedecido um período de no mínimo quatro semanas em que foram observadas orientações específicas, os sujeitos da pesquisa foram confinados em enfermaria na Unidade de Farmacologia Clínica da UFC por dois períodos de aproximadamente 24 horas, intercalados por intervalo de 3 semanas. O tempo de estudo foi registrado usando notação de 24 horas.

No período que antecedeu ao ensaio clínico os voluntários foram avaliados através de historia clínica detalhada, exame físico geral, e exames outros que incluindo eletrocardiograma e uma bateria laboratorial.

Após este período de confinamento, novo exame físico, eletrocardiograma e laboratoriais foram realizados.

Todos os voluntários foram hospitalizados às 22 h após terem jantado normalmente. O questionário IIEF₁₅ foi aplicado individualmente. Após o jejum noturno, eles tomaram uma única dose de: 40 mg de fentolamina Regitina[®] número do lote 49459 – CX004, data de validade 03/2000, produzido pelo laboratório Novartis ou 40 mg de fentolamina Vasomax[®] número do lote 8MSYA - 009, data de validade 05/2000, produzido por Schering Plough SA.

1.2.2 Dos voluntários

Na seqüência a lista randomizada dos voluntários sadios, numerados em algarismos romanos e nomeados por iniciais e, de acordo com o programa de administração.

Lista dos voluntários e seqüência de administração dos produtos

Voluntários são		Seqüência de administração	
I	MMAL	T	R
II	JSCJ	R	T
III	JOGP	T	R
IV	DL	T	R
V	JLC	R	T
VI	RCN	T	R
VII	GWPF	R	T
VIII	MMFF	T	R
IX	AWAMJ	R	T
X	DRD	R	T
XI	GMA	T	R
XII	LDW	R	T
XIII	ELM	R	T
XIV	GRAB	T	R
XV	EAN	R	T
XVI	JMSB	T	R
XVII	FRNS	T	R
XVIII	GAB	R	T
XIX	JLSCF	T	R
XX	RBN	T	R
XXI	MRML	R	T
XXII	JSF	T	R
XXIII	EATF	R	T
XXIV	RRPR	T	R
XXV	RENB	T	R
XXVI	ACS	R	T
XXVII	RMF	R	T
XXVIII	FTS	T	R
XXIX	CRMF	R	T
XXX	CLMF	T	R
XXXI	CLL	R	T
XXXII	FLDN	T	R
XXXIII	VLPS	R	T
XXXIV	FDN	R	T
XXXV	FJFPB	T	R
XXXVI	CCM	R	T

Legenda: T teste R: referencia

Eles foram registrados para participarem do estudo somente se estavam são como determinado pela historia médica, exame físico e psiquiátrico e testes laboratoriais realizados dentro de quatro semanas prévias ao seu início. Foram então internados

na Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC), às 22 h da noite anterior, e permaneceram ali, até 12 horas após às coletas sanguíneas.

Todos os voluntários chegaram na UNIFAC após terem jantado uma alimentação normal. Foram orientados a permanecerem em jejum desde então a até três horas após a administração dos fármacos na manhã seguinte, quando serviram-se de 200 mL de suco de laranja e um sanduíche..

Almoço básico e jantar, foram servidos após 5 e 12 horas das tomadas das doses. Nenhum outro alimento foi permitido durante o internamento. Eles tomaram líquidos e refrigerantes *ad libitum*, após o almoço, porém bebidas contendo xantina (incluindo chá, café e coca-cola), evitadas.

O hábito de fumar não foi consentido durante o internamento. Remédios concomitantes quando ingeridos, rigorosamente registrados, incluindo automedicação.

O consumo de bebidas alcólicas foram limitadas durante todo o período de estudo e proibidas completamente durante as 24 horas prévias às doses dos produtos estudados.

1.2.3 Critérios de inclusão e exclusão

Os voluntários foram aceitos para participarem do estudo quando preenchem os seguinte critérios de inclusão preestabelecidos:

1. Voluntários masculinos saudáveis
2. Idade entre 18 e 45 anos.
3. Livre de doença cardíaca, hepática, renal, pulmonar, neurológica, hematológica, gastrointestinal, e psiquiátrica como determinada pela história e exame físico,

psiquiátrico e laboratoriais.

4. Estarem disponíveis para completar o estudo.
5. Com consentimento livre e o termo assinado, após todos os esclarecimentos essenciais do protocolo e, antes de qualquer procedimento.

Foram considerados critérios de exclusão, para os objetivos do presente estudo:

1. Voluntários que tinham participado de ensaios semelhantes nos prévios 3 meses.
2. Aqueles que tinham recebido doses regulares de medicamentos durante as quatro semanas antes do estudo.
3. Os voluntários com historia de abuso de álcool e/ou outras drogas.
4. Aqueles que bebiam regularmente mais que duas unidades de álcool por dia (considerada uma unidade como ½ litro de cerveja, uma taça de vinho)
5. Voluntários mais pesados que 100 Kg ou acima de 15% do peso corporal ideal.
6. Grandes fumantes (mais de 15 cigarros por dia).

1.2.4 Critérios para saída do estudo

Foram considerados como critérios para saída do estudo:

1. Desejo do voluntário de não continuar com o estudo por razões outras que não os efeitos adversos das drogas, administradas, (e.g. indisponibilidade, intolerância aos procedimentos do estudo)
2. Efeitos não desejados das drogas
3. Testes laboratoriais anormais julgados de significância clínica
4. Doença intercorrente exigindo medicação

1.2.5 Dos eventos adversos

Os voluntários foram orientados a relatar qualquer evento adverso, e seu tempo de ocorrência. Se durante o período de estudo, era registrado com detalhes na ficha clínica do voluntário. Perguntas relacionadas eram limitadas a questão geral: Como está Você?

Identificado um evento adverso, seu portador era seguido clinicamente com estudos laboratoriais apropriados até que todos os parâmetros retornassem ao seu normal. O uso de medicamentos para tratá-los eram de notificação obrigatória

Os efeitos adversos são classificados como: leve – tolerável facilmente -, moderado – desagradável o bastante para interferir na atividade cotidiana - e o grave, identificado como uma experiência desfavorável que impossibilite a realização de atividade cotidiana e represente risco á integridade física do voluntário.

Quanto a relação causal dos fármacos do estudo com o evento adverso observado, segue-se a seguinte orientação:

1. Não relacionada - evento adverso definitivamente não relacionado aos fármacos.
2. Desconhecida - há outras causas mais prováveis (sem suspeitas em relação aos fármacos do estudo)
3. Possível - não foi demonstrada relação de causa/efeito direta entre o fármaco e a experiência adversa, porém, há uma possibilidade razoável de que ela exista.
4. Provável - há relação de causa/efeito direta entre o efeito adverso e o fármaco..

1.2.6 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o termo de consentimento, 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

O estudo foi conduzido de acordo com as prescrições da declaração de Helsinki (1965) e das revisões de Tóquio (1975) e Veneza (1983), Hong Kong (1989), Somerset Oeste (1996), assim como as regulamentações nacionais (Resoluções 196/96 e 251/97 do CNS-MS).

Os voluntários receberam dos investigadores uma explicação completa da natureza e propósitos do estudo. Ficou entendido que seria somente para fins de pesquisa, e portanto com nenhuma expectativa de prover qualquer benefício terapêutico para eles. Compreenderam também que a saída do estudo era livre em qualquer tempo e sem prejuízo de qualquer espécie.

A cada voluntário foi então solicitado o consentimento informado por escrito à participação no estudo.

Os resultados do exame médico e testes laboratoriais dos voluntários foram registrados em fichas clínicas e guardados nos arquivos do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará. Todas as informações obtidas sobre o estado de saúde deles durante a condução do estudo estavam disponíveis ao seu corpo clínico *medical staff*.

Aos voluntários foram disponibilizadas cópias dos testes laboratoriais realizados pré e pós estudo clínico.

1.2.7 Dos procedimentos

Cada administração compreendia um tablete contendo de 40 mg de Fentolamina (Regitina ®) ou 40 mg de fentolamina (Vasomax ®) alocada conforme código de

randomização de dose, previamente estabelecido, tomada com 200 mL de água às 7 h da manhã.

Amostras sanguíneas para dosagem plasmática foram coletadas de veia apropriada do antebraço, no momento imediatamente antes, e aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 480, 600 e 720 min após administração das formulações.

Medida da pressão arterial não invasiva, com esfigmomanômetro, e da frequência cardíaca, eram registrados em cada momento da coleta sanguínea. Esta (10 mL) era obtida via *butterfly* ou seringa para dentro de um tubo contendo anti-coagulantes. A seguir centrifugada a 4.000 rpm por 10 minutos e o plasma removido e estocado a -20°C até mensuração das concentrações dos medicamentos em estudo.

1.2.8 Da análise dos fármacos

As concentrações plasmáticas de fentolamina foram determinadas por método de reconhecida validade utilizando cromatografia líquida de alta pressão acoplada a espectrometria de massa (LC-MS-MS).

Amostras sanguíneas de uma veia antecubital foram coletados dentro de tubos contendo ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) antes e aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 480, 600 e 720 min após administração das formulações de fentolamina.

Em seguida centrifugadas a 4.000 rpm por 10 min à temperatura ambiente e o plasma então removido estocado a -20°C até ser usado para análise da concentração do fármaco em estudo.

Todas as amostras de um único voluntário foram analisadas por duas vezes no mesmo dia para evitar erros dentro de um mesmo ensaio.

A concentração plasmática de fentolamina foi analisada por cromatografia combinada reversa de fase líquida seguida por espectrometria (LC-MS-MS) com ionização positiva de íons, usando método monitorizador de reações múltiplas (MRM).

Extração da amostra

Duzentos microlitros de plasma eram aspirados após adição de 200 μ L de tampão carbonato/bicarbonato contendo padrão interno (propranolol 1 μ g / ml) e apostos em tubos apropriados. Em seguida, agitados em vibrador eletrônico, e então, permitidos repousar por 5 minutos a temperatura ambiente. Depois, dietil-eter hexano (80/20; 4 ml) era adicionado às amostras e novamente misturados por 30 s.

Os tubos eram centrifugados a 2.000 rpm por 10 min a 4^oC. A camada orgânica superior era cuidadosamente removida e transferida usando pipetas Pasteur para tubos de testes.

O solvente era removido por fluxo suave de nitrogênio em um banho seco a 37^o C e 100 μ L de fase móvel (80% CH₃CN, água a 20% e 10 mmol/L de ácido fórmico, pH = 3,5) era adicionada aos tubos. Em seguida postos a vibrar por 15 minutos para reconstituir o resíduo.

As soluções eram transferidas para micropipetas cerradas e colocadas em um HP 1100 *autosampler* (Hewlett-Packard, CA, USA). Alíquotas de dez microlitros injetadas automaticamente no cromatógrafo líquido.

Preparação das soluções padrão e reagentes

A solução de fentolamina foi preparada por diluição da preparação de estoque (1 mg / mL) em metanol/água para dar 0,4; 0,8; 2; 4; 8; 20; 40 e 100 µg/mL. O padrão interno (Propranolol) também preparado de solução de estoque e diluído em metanol/água para uma concentração final de 1 µg/mL.

A solução tampão de carbonato/bicarbonato foi preparada por mistura (1:4) de carbonato de sódio e bicarbonato de sódio (1 M cada) seguida por diluição com água para obter uma preparação final de 0,25 M (pH 9,4). Dietil eter/diclorometano (70/30) foi preparada todo dia.

Preparação amostras de calibração de controle qualidade.

A amostra de calibração era preparada adicionando-se a plasma humano controle uma solução padrão contendo fentolamina, para alcançar preparações de 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5 e 10 µg/mL, Ela e os *blanks* eram preparados em duplicata para cada ensaio e extraídos junto a amostras de plasma e da solução de controle de qualidade.

A preparação desta última era obtida a partir de plasma humano de controle adicionado com 0,5; 2 e 6 µg/mL de fentolamina. Uma porção de cada uma das tres concentrações em cada ensaio era extraída com as amostra plasmáticas.

Um concentração fixa de propranolol foi adicionada a todos os tubos de ensaio para servir como padrão interno.

Espectrometria de massa e condições cromatográficas

Um modelo de HPLC (cromatografia líquida de alta pressão) sistema 1100 da Hewlett-Packard (USA) consistindo de uma bomba binária, desgasificador auto-injetor com componente termostático de coluna, analítica (Genesis C18, 4µm, 10 mm x 4 mm, i.d.)

de Jones Cromatografia (UK) foram usados. A fase móvel foi preparada com acetato de amônia 0,2 M em água (10%), acetonitrilo (57%), metanol (18%) e água (15%). O pH desta solução (cerca de 7,7), não foi ajustado.

A coluna analítica foi feita em gradiente isocrático, em um fluxo de $1,0 \text{ mL} \times \text{min}^{-1}$, com um tempo total de 4,5 min). O eluente de HPLC foi dividido e monitorado por espectrometria de massa.

A coluna foi operada em temperatura de 25°C e uma coluna fina e flexível foi empregada para desviar a fase móvel para os resíduos nos tempos apropriados. A temperatura do auto-injetor foi mantida a 4°C e o volume de injeção em torno de $80 \mu\text{L}$. Um frasco para lavagem contendo uma solução recentemente preparada de acetonitrila a 50% foi usada para lavar a agulha do aparelho para prevenir extravasamento.

A espectrometria de massa foi realizada com espectrômetro de massa quadrupole Quattro II triplo estágio, (Micromass, Manchester, UK), equipado com uma interface de ionização de pressão atmosférica com *eletronspray* (API-Es) operando em íon positivo usando um fluxo cruzado (*cross-flow*) como eletrodo *counter* (Micromass).

As condições da espectrometria de massa (dissociação induzida por colisão e direcionamento) para todos os componentes estudados foram otimizado com uma solução padrão de fase móvel ($5 \mu\text{g}/\text{mL}$ cada em fluxo de $10 \mu\text{L}/\text{min}$) usando uma bomba de infusão conectada diretamente à sonda do *eletronspray*.

Recuperação

Experimentos preliminares foram conduzidos para avaliar a recuperação com o método de extração descrito acima. O percentual foi calculado como a razão entre a área de

pico para o plasma *blank* extraído adicionado ao padrão relativo e a área de pico da solução padrão equivalente não extraída.

Imprecisão e não acurácia

O limite entre não acurácia e imprecisão foi calculado por calibração. Da mesma forma o foi, o controle de qualidade das amostras. As curvas de calibração foram preparadas em duplicatas.

1.2.9 Dos parâmetros farmacocinéticos

A concentração plasmática de fentolamina em função do tempo foi representada em gráfico e os parâmetros farmacocinéticos obtidos para cada formulação.

Constituíram eles, a área sob a curva do tempo zero ao infinito ($AUC_{0-\infty}$), e do tempo zero a 720 min (AUC_{0-720}), a concentração máxima atingida (C_{max}), o tempo para atingir a concentração máxima (T_{max}), a meia-vida plasmática ($t_{1/2}$) e a constante de eliminação (K_e).

Parâmetros farmacocinéticos

$AUC_{[0-720]}$	Área sob a curva de concentração do fármaco x tempo; do tempo 0 (zero) ao tempo 720 min, calculada pelo método trapezoidal
$AUC_{[0-\infty]}$	feita via adição do valor $C_{720 \text{ min}} / K_e$ ao calculado $AUC_{(0-720 \text{ min})}$
C_{max}	Pico de concentração máxima do fármaco, obtido dos dados;
T_{max}	Tempo para alcançar a concentração máxima
$t_{1/2}$	$t_{1/2} = \ln 2 \times K_e^{-1}$.
K_e	Estimada por regressão linear da fase terminal da curva

As áreas sobre a curva de concentração plasmática de fentolamina versus o tempo de 0 – 720 min [$AUC_{(0-720 \text{ min})}$] foram calculadas aplicando regra linear trapezoidal. A extrapolação destas áreas ao infinito [$AUC_{(0-\infty)}$] foi feita via adição do valor $C_{720 \text{ min}} / K_e$ ao calculado $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ (onde $C_{720 \text{ min}} =$ concentração plasmática calculada do

logarítimo de regressão linear da equação obtida para a estimação de K_e 720 min após dose).

A concentração plasmática máxima C_{max} observada e o tempo necessário para alcançá-la T_{max} foram obtidos diretamente das curvas.

Da fase terminal de longa declínio da curva de concentração versus tempo, uma taxa de eliminação de primeira ordem K_e foi estimada por regressão linear, e a meia vida terminal ($t_{1/2}$) usando a equação $t_{1/2} = \ln 2 \times K_e^{-1}$.

1.3 Analise Estatística

A população de distribuição foi analisada usando histogramas, gráficos de valores de transformação normal (NTV), gráficos de *probit* e teste de *Kolmogorov-Smirnov* (KS). Uma distribuição normal foi aceita quando nenhum entrave foi observado no gráfico de probit ou no de NTV, e o teste de Kolmogorov-Smirnov considerado consistente com a distribuição de Gauss se $P > 0,05$ [Dallal 1986]. A análise da variancia entre as populações foi feita com *F-test*.

O intervalo de confiança (CI) de 90% da média geométrica das razões individuais teste/referencia (Reg/Vas) para $AUC_{(0-720 \text{ min})}$, $AUC_{(0-\infty)}$ e C_{max} foi obtido para avaliar a bioequivalência entre as formulações.

Esta foi avaliada pelo cálculo da razão das médias de C_{max} , $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ and $AUC_{(0-\infty)}$ e seu intervalo de confiança 90% CI sobre os dados transformados por logaritmo. A inclusão do 90% CI para a razão no intervalo de bioequivalência 80-125%, e aquela do valor zero value no 90% CI para as diferenças foram analisadas usando o teste paramétrico (ANOVA).

O software usado incluiu o *WinNomlin Professional Network Edition*, versão 1.5, *Bioequivalence Program for Two-Period Crossover Studies*, versão 3.4, *Microsoft Excel* versão 7.0, *GraphPad Prism* versão 2.01 and *WinSTAT* versão 3.1.

2. Segundo estudo – farmacodinâmica da fentolamina em corpo cavernoso humano

2.1 Material

As substâncias químicas usadas neste estudo estão agrupadas no quadro abaixo, com seu respectivo efeito farmacológico, concentração empregada e peso molecular.

Substâncias químicas utilizadas no estudo farmacodinâmico da fentolamina

Nome	P.M.	Ação farmacológica	Concentração (M)
Fentolamina	317,8	Antagonista α_1 - α_2 adrenérgico	$10^{-3} - 10^{-8}$
Guanetidina	296,4	Boqueador do neurônio adrenérgico	10^{-4}
Indometacina	357,8	Inibidor não seletivo das COXs	10^{-4}
KCl	74,56	Despolarizante farmacológico	$2 - 8 \times 10^{-2}$
PGF_{2α}	475,6	Prostaglandina sintética	10^{-4}
Fenilefrina	203,7	Agonista α -adrenérgico ($\alpha_1 > \alpha_2$)	10^{-4}
ODQ	187,2	Inibidor eletivo da guanilato ciclase	10^{-4}
TTX	319,3	Bloqueador reversível dos canais de Na ⁺	10^{-4}
Atropina	292,4	Antagonista colinérgico muscarínico	10^{-5}
L-NAME	269,7	Inibidor irreversível da NOS sintetase	10^{-4}
Charybtoxina	4276,8	Bloqueador de BK _{ca} de alta condutância	10^{-7}
Glibenclamida	494	Bloqueador de K _{ATP}	10^{-4}
Apamina	2027,3	Bloqueador de BK _{ca} de baixa condutância	10^{-7}
Nifedipina	346,3	Bloqueador de canal de Ca ⁺⁺	10^{-4}

PM: peso molecular

BK_{ca}: canal de potássio sensível a cálcio

COXs: ciclo-oxigenases

K_{ATP}: Canal de potássio sensível à adenosina trifostato

2.2 Métodos

2.2.1 Do desenho do estudo

Este segundo estudo consistiu de uma série de experimentos farmacológicos empregando o α -bloqueador fentolamina 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).

2.2.2 Da coleta do corpo cavernoso

Os fragmentos de corpo cavernoso humano foram coletados por ocasião do procedimento para retirada de órgãos para transplante, utilizando-se a mesma incisão cirúrgica – a médio xifopubiana. Foram dezesseis pacientes com idade variando entre 18 e 40 anos que tiveram morte cerebral documentada após violência externa por acidente automotor.

Terminada a captação dos órgãos transplantáveis, (rins, fígado, coração...) um acesso subcutâneo é obtido por sobre a sínfise púbica até a identificação dos corpos cavernosos. Com uma manobra para desenlugar o pênis retraindo o cranealmente se consegue um campo excelente para incisá-lo bilateralmente obtendo-se fragmentos adequados (5,0 cm x 1,0 cm), envolvidos com a túnica albugínea. Por manobra inversa se recompõe o enlramento peniano e nenhuma seqüela exterior visível é observada.

2.2.3 Da manutenção dos tecidos

Imediatamente após a coleta os fragmentos de corpo cavernoso são mantidos em frasco de vidro fechado com solução de Krebs-Henseleit (KHS) (composição em mM no quadro abaixo) e, envolvido em gelo picado.

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

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

2.2.4 Do Processamento e montagem dos tecidos

Após transferência dos fragmentos de corpo cavernoso para placa de Petri contendo solução de KHS, aerada com mistura carbogênica, os tecidos conectivos adjacentes (músculo, gordura ...) são retirados com lâmina de bisturi. A túnica albugínea, a seguir, é cuidadosamente dissecada e tiras longitudinais do músculo cavernoso (2 cm x 0,5 cm) foram excisados.

Os fragmentos são montados verticalmente em paralelo, em banho de registro isométrico em solução de KHS (pH 7,4, e 37°C), agora enriquecida com guanetidina e indometacina (10mM), constantemente aerada (O₂-95% e CO₂-5%), sob tensão de 1,0 grama.

Os tecidos são mantidos em repouso por 01 hora para alcançar um novo estado de equilíbrio funcional. 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- β B, Narco Bio-Systems) nas seguintes calibrações: filtro – 01 Hz, ganho do amplificador – 50mV/cm e velocidade de registro de 0,0025 cm/s.

2.2.5. Dos experimentos

Em um primeiro conjunto de experimentos (n = 8) foram realizadas curvas dose-resposta para fentolamina (10^{-8} – 10^{-3} M) em tecidos pré-contraídos com solução despolarizante (K⁺ 40 – 80mM), serotonina (5-HT) (100 μ M) PGF₂ (100 μ M) ou fenilefrina

(100 μM) e, obtidos os valores de concentração efetiva 50 (EC_{50}) e PD_2 , definidos como a dose necessária para produzir metade da resposta máxima, e seu respectivo cologaritmo.

A resposta relaxante da fentolamina (10^{-4} M) foi analisada posteriormente em experimentos isolados na ausência ou presença de atropina, bloqueador muscarínico inespecífico, na concentração de 10 μM .

A seguir, o relaxamento induzido pela fentolamina (10^{-4} M) foi estudado isoladamente na ausência e na presença de tetrodotoxina (TTX, 100 μM) no sentido de eliminar um potencial componente neuronal (e.g. estimulação de fibras nitrérgicas) como responsável por este efeito ($n = 8$).

Em outro conjunto de experimentos esta mesma concentração de fentolamina foi testada na ausência ou presença de L-NAME, 100 μM (*N^G-nitro-L-arginine methyl éster*), bloqueador inespecífico da óxido nítrico sintetase ($n = 8$), e na ausência e presença de ODQ, 100 μM (1H-[1,2,4] *Oxadiazole* [4,3-a] *quinoxalin-1-one*), um inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel.

Ademais, foram testados isoladamente o efeito relaxante da fentolamina (10^{-4} M) frente aos bloqueadores de canais de potássio dependentes de adenosina trifosfato (K_{ATP}) (Glibenclamida, 100 μM) e, de cálcio (e.g. Bk_{Ca}) (Caribdotoxina - CTX) 10 μM e Apamina 10 μM).

Finalmente foram realizados experimentos com fentolamina (10^{-4} M) em ambiente livre de cálcio, no músculo cavernoso pré-contraído com KCl (60 μM) e comparativos com nifedipina, um bloqueador do canal de Ca^{++} voltagem-dependente, tipo L.

2.3. 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.

As diferenças estatísticas entre médias de doses entre si e em relação ao controle foram analisadas pelo teste de variância *one-way* ANOVA com teste de Tukey como *post-hoc*. Foram considerados significantes valores de p maiores ou iguais a 5%.

Diferenças entre as médias de relaxamento obtidas antes e depois dos bloqueadores específicos foram comparadas pelo teste t de *Student* pareado bi-caudal, com nível de significância de 5%.

Resultados

1. Do primeiro estudo

Os resultados individuais do primeiro estudo estão nos anexos, apresentados em forma de gráficos e tabelas, contemplando as concentrações plasmáticas de fentolamina versus o tempo em minutos e, os parâmetros farmacocinéticos dos 36 voluntários sãos.

Trinta e cinco voluntários concluíram as duas fases do estudo. A concentração média das formulações de fentolamina versus o tempo, e seus parâmetros farmacocinéticos estão contemplados abaixo (figura 11, e tabela 2).

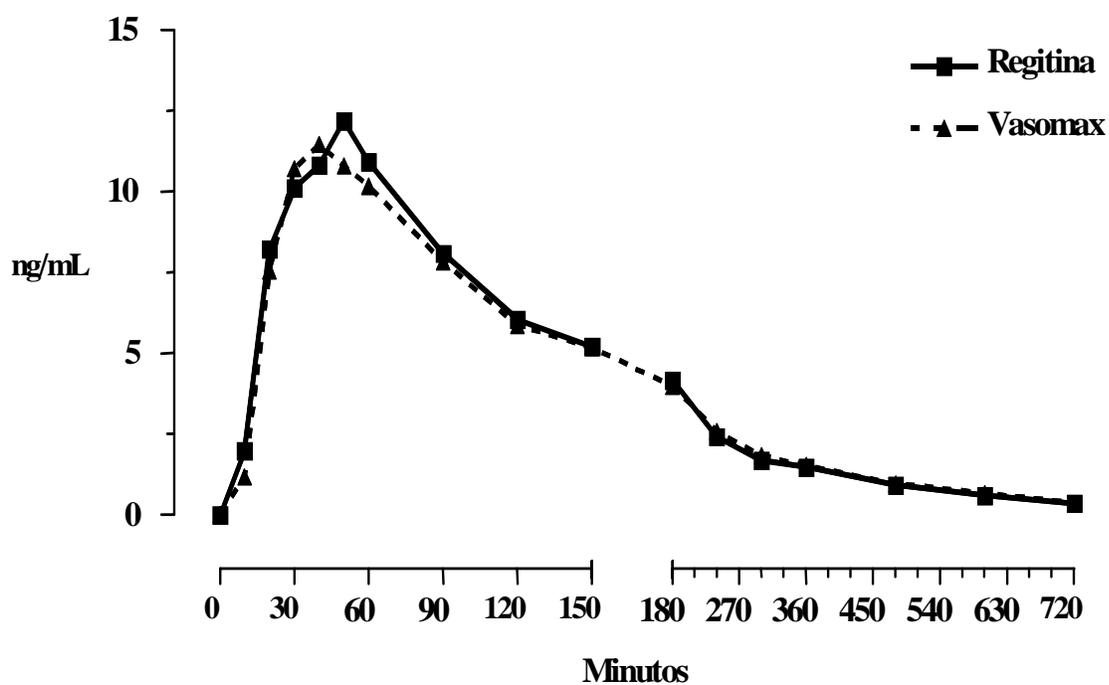


Figura 11. Concentração plasmática média de fentolamina (ng/mL) dos 35 voluntários, em função do tempo

Tabela 2. Média dos parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina de 35 voluntários

	Fentolamina			
	Regitina		Vasomax	
	Média	SD	Média	SD
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1961	882	1942	964
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2106	959	2105	1050
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	93,1		92,2	
$C_{max} (ng/ml)$	15,4	7,8	14,2	7,2
$T_{max} (min)$	50	(20 – 150)	40	(20 –90)
$t_{1/2} (min)$	187	80	192	72
$K_e (h^{-1})$	0,22	(0,15 – 0,38)	0,21	(0,15 – 0,34)

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

K_e – constante de eliminação de um fármaco

A tabela 3 contempla a análise estatística das razões individuais de $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ e $C_{max} \%$ obtidas de 35 voluntários sadios considerando as formulações de fentolamina estudadas: Regitina® / Vasomax®.

Tabela.3. Análise estatística das razões individuais de $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ and $C_{max} \%$ para as formulações de fentolalima

Teste / referencia Regitina® / Vasomax®	Análise estatística			
	Análise paramétrica		Análise não paramétrica*	
	Média geométrica %	90% IC	Estimativa de ponto %	90% IC
Razão de $AUC_{(0-720 \text{ min})} \%$	102.33	97.21 - 107.72	102,1	95.9 – 107.6
Razão de $C_{max} \%$	108,29	98.58 – 118.96	108	99.2 - 118.7

Legenda: * De acordo com [Hauschke 1990] e FDA os resultados não paramétricos são expressos como estimativa de ponto e IC 90% das razões individuais, exceto para T_{max} (expresso como estimativa de ponto e IC 90% das diferenças individuais).

2. Segundo estudo

Todos os experimentos foram realizados em banhos contendo guanetidina e indometacina a conferir um ambiente livre da interferência adrenérgica e de prostanóides.

Os traçados originais do efeito de diferentes concentrações de fentolamina em fragmentos de corpo cavernoso humano, pré-contraídos com solução rica em K^+ (60 mM), prostaglandina sintética ($PGF_{2\alpha}$) (10^{-4} M), 5-hidroxitriptamina (5-HT) (10^{-4} M) e fenilefrina (10^{-4} M), estão contemplados na figura 12.

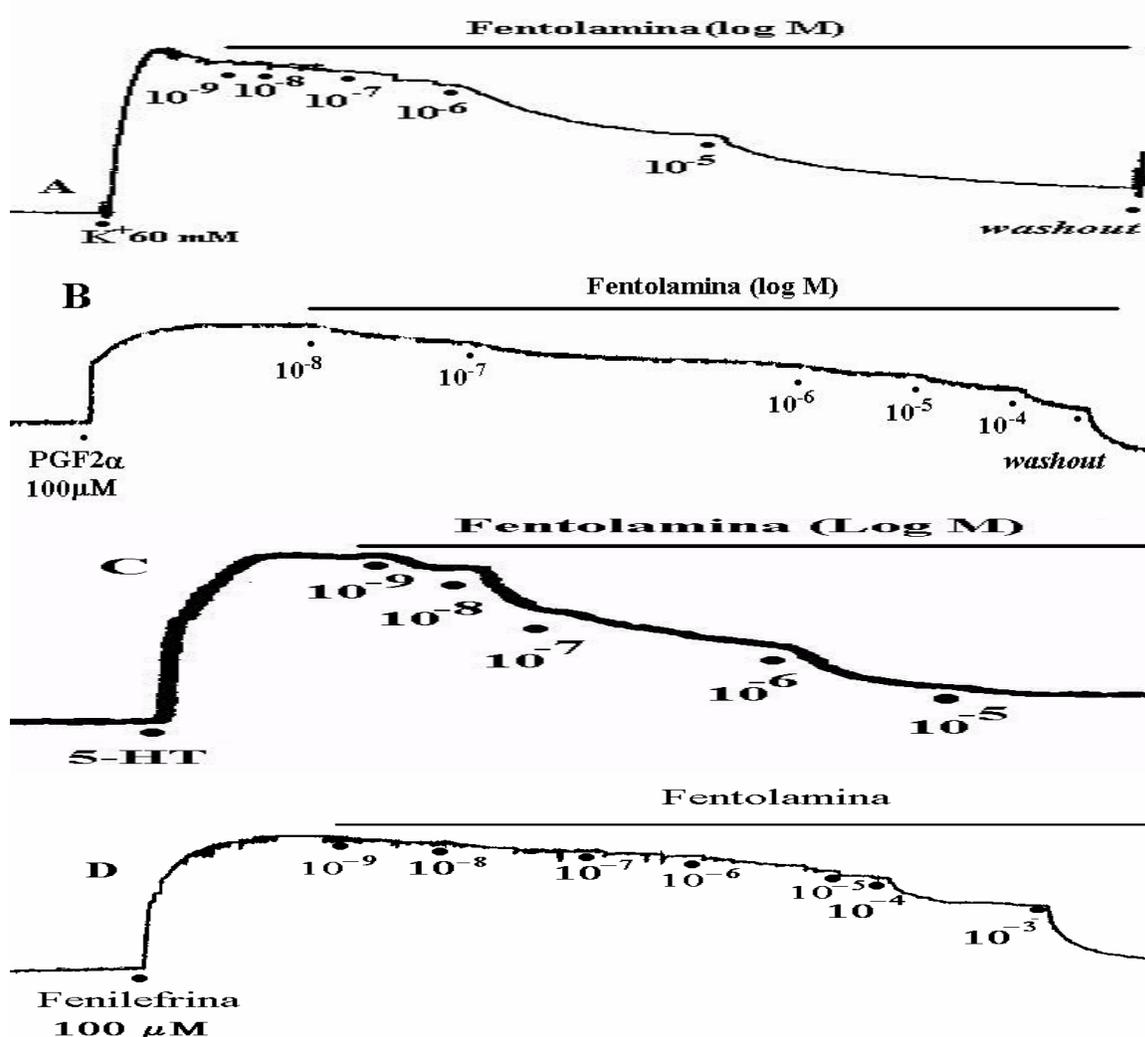


Figura 12. Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com (A) solução rica em K^+ , (B) prostaglandina sintética $PGF_{2\alpha}$ (cloprostenol), (C) 5-hidroxitriptamina (5-HT) ou (D) fenilefrina.

O mesilato de fentolamina relaxou em diferentes percentuais os fragmentos de corpo cavernoso humano pré-contraídos por diferentes agonistas. Destaque para o relaxamento frente a fenilefrina, que alcançou o máximo na concentração de 10^{-3} M (figura 13, tabela 4).

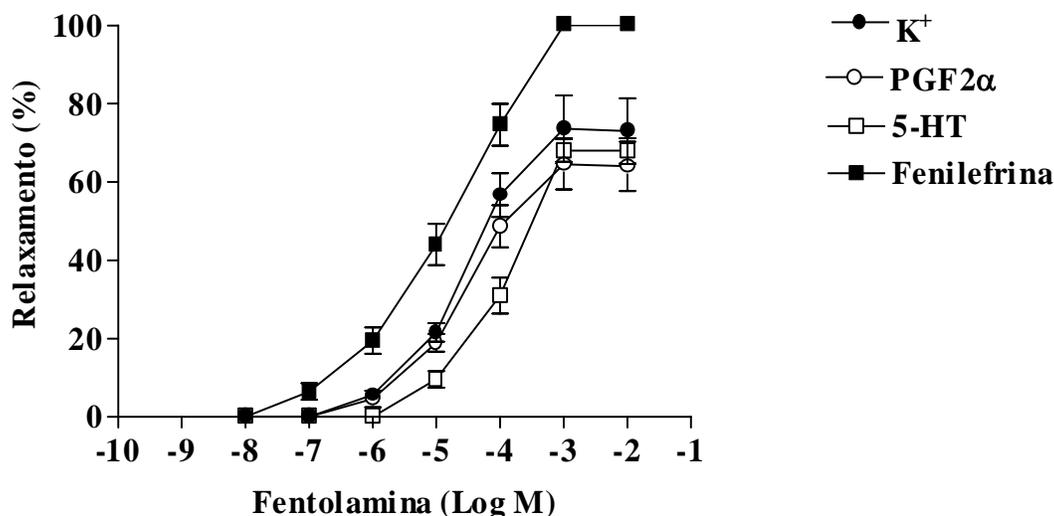


Figura 13. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K⁺, prostaglandina PGF_{2α} (cloprostenol), 5-hidroxitriptamina (5-HT) ou fenilefrina. Os dados são expressos como média ± EPM (n ≥ 5). O relaxamento está como porcentagem da contração prévia.

Tabela 4. Relaxamento percentual de diferentes concentrações de fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com vários agonistas

Agonistas	% de relaxamento da fentolamina *						
	-8 Log M	-7 Log M	-6 Log M	-5 Log M	-4 Log M	-3 Log M	-2 Log M
K ⁺	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	5,6 ± 1,2	21,6 ± 2,4	56,7 ± 5,6	73,6 ± 8,4	73,0 ± 8,4
PGF ₂	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	4,6 ± 2,1	18,9 ± 2,3	48,7 ± 5,4	64,5 ± 6,4	64,0 ± 6,3
5-HT	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	9,6 ± 2,1	31,0 ± 4,6	68,0 ± 3,2	68,0 ± 3,2
Fenilefrina	0,0 ± 0,0	6,5 ± 2,1	19,5 ± 3,4	44,0 ± 5,3	74,6 ± 5,3	100 ± 0,0	100 ± 0,0

Legenda: * tiras pré-contraídas com solução rica em K⁺ (60 mM), prostaglandina sintética (cloprostenol), 5-hidroxitriptamina (5-HT) ou fenilefrina. Os dados são expressos como média ± EPM (n ≥ 5). O relaxamento está como porcentagem da contração prévia.

Os Valores calculados da concentração, em base molar, de fentolamina necessária para produzir 50% da resposta relaxante máxima (Concentração Inibitória 50% - CI_{50}) e seu cologaritmo (PD_2), com seus respectivos intervalos de confiança de 95%, em corpos cavernosos de humanos pré-contraídos de maneira sub-máxima com solução despolarizante rica em potássio (K^+), prostaglandina 2-alfa sintética ($PGF_{2\alpha}$), serotonina (5-HT) ou fenilefrina, estão contemplados na tabela 5.

Tabela 5. CI_{50} , em base molar, e seu cologaritmo (PD_2), com seus respectivos $IC_{95\%}$, da fentolamina em corpos cavernosos de humanos pré-contraídos de maneira sub-máxima com K^+ , $PGF_{2\alpha}$ 5-HT ou fenilefrina.

Drogas	IC_{50} ($IC_{95\%}$) - Molar	PD_2
K^+	$2,7 \times 10^{-5}$ [$1,9 \times 10^{-5}$ - $3,8 \times 10^{-5}$]	4,6 [4,7-4,4]
$PGF_{2\alpha}$	$2,8 \times 10^{-5}$ [$1,9 \times 10^{-5}$ - $4,1 \times 10^{-5}$]	4,5 [4,7-4,4]
5-HT	$1,2 \times 10^{-4}$ [$6,5 \times 10^{-5}$ - $2,1 \times 10^{-4}$]	3,9 [4,2-3,7]
Fenilefrina	$1,6 \times 10^{-5}$ [$5,5 \times 10^{-6}$ - $4,9 \times 10^{-5}$]	4,8 [5,3-4,3]

CI_{50} : Concentração inibitória 50%. Concentração necessária para produzir 50% da resposta relaxante máxima

$IC_{95\%}$: Intervalo de confiança de 95%

PD_2 : cologaritmo da CI_{50}

K^+ : solução despolarizante rica em potássio

$PGF_{2\alpha}$: prostaglandina 2-alfa sintética

5-HT: serotonina ou fenilefrina.

Na figura 14 estão as curvas originais do relaxamento induzido por fentolamina 10^{-4} M, em tiras de corpo cavernoso humano montadas em banho de registro isométrico, ante as contrações obtidas por diferentes soluções despolarizantes (K^+ a 40, 60, e 80 mM).

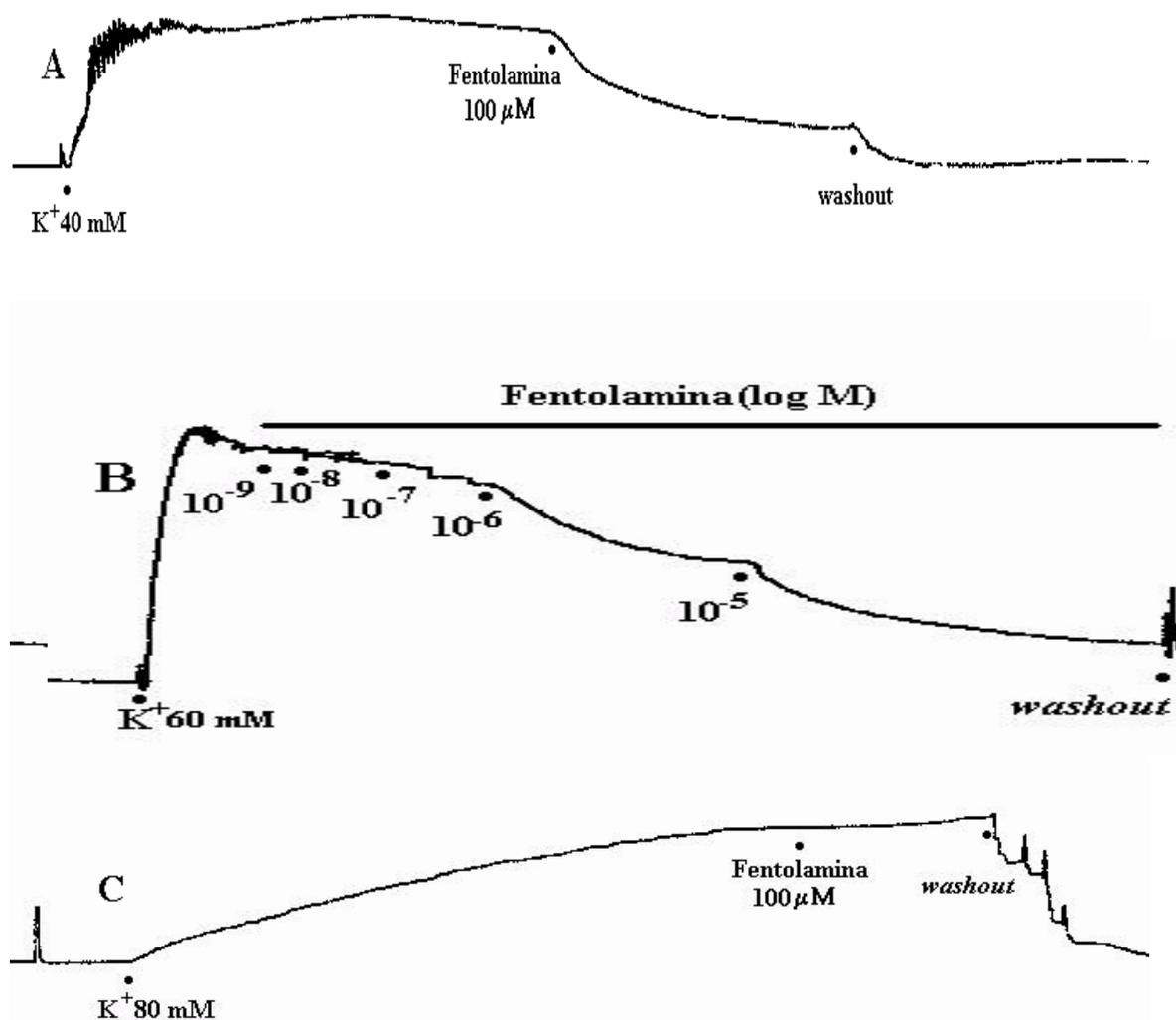


Figura 14. Traçado original do efeito da variação das concentrações de soluções despolarizantes de K^+ (A - 40 mM, B - 60 mM e C - 80 mM) no relaxamento induzido por fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano.

Frente a pré-contração induzida por diferentes soluções despolarizantes, o mesilato de fentolamina a 10^{-4} M apresentou percentuais de relaxamentos desiguais. Ele relaxou em média 90% enquanto a concentração de K^+ era 20 mM e 7%, quando aquela era 80 mM (Figura 15 e tabela 6).

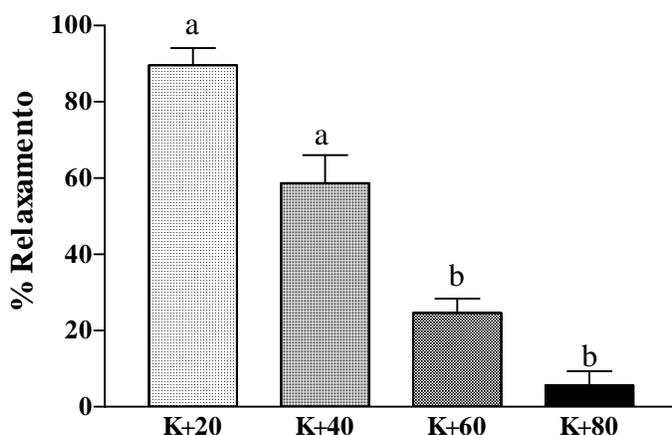


Figura 15. Efeitos da variação das concentrações de soluções despolarizantes no relaxamento induzido por fentolamina (10^{-4} M) em tiras de corpo cavernoso humano. Dados expressos como média \pm EPM ($n = 5$, $n = 18$, $n = 7$ e $n = 4$). * $p < 0,05$ versus controle.

Tabela 6. Efeitos de diferentes concentrações de soluções despolarizantes no relaxamento induzido por fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano

Agonista	% relaxamento da fentolamina (10^{-4} M)
K^+ 20 μ M	89,6 \pm 4,5
K^+ 40 μ M	58,7 \pm 7,3
K^+ 60 μ M	24,6 \pm 3,8
K^+ 80 μ M	5,6 \pm 3,8

Legenda: Dados expressos como média \pm EPM ($n = 3$, $n = 18$ e $n = 4$). * $p < 0,05$ versus controle.

Na figura 16 e tabela 7 estão contempladas as comparações percentuais entre vários estímulos relaxantes, obtidos em tiras de corpo cavernoso humano, pré-contraídas com solução despolarizante de K^+ (40 mM).

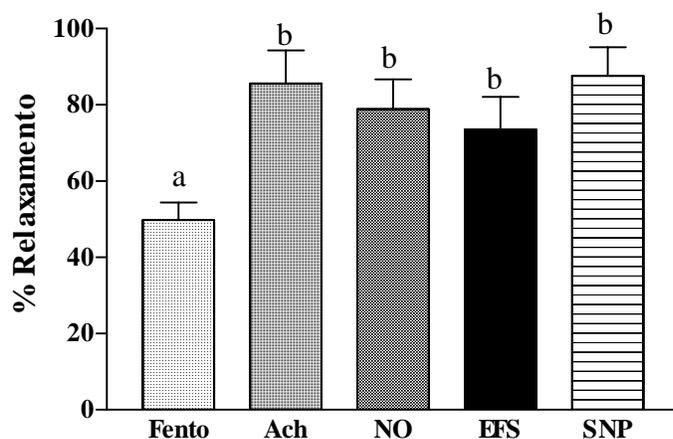


Figura 16. Efeito de varios estímulos relaxantes em tiras de corpo cavernoso humano

Pré-contraídas com solução rica em K^+ (40 mM).

Fento – fentolamina (10^{-4} M)

ACh – acetilcolina (10^{-6} M)

NO – nitrato de sódio (10^{-5} M)

SNP – nitroprussiato de sódio

EFS – estímulo por campo elétrico (20v 0,5 ms 20Hz)

Dados expressos como média ± EPM (n = 6)

* p < 0,05.

Tabela 7 Efeito de varios estímulos relaxantes em tiras de corpo cavernoso humano

Pré-contraídas com solução rica em K^+ (40 mM).

Estímulo relaxante	% relaxamento
Fentolamina	49,8 ± 4,6
Acetilcolina	85,6 ± 8,7
NO	78,9 ± 7,8
EFS	73,5 ± 8,6
SNP	87,6 ± 7,5

Legenda: Dados expressos como média ± EPM (n = 6) .

* p < 0,05 versus controle.

Fentolamina 10^{-4} M foi testada em corpo cavernoso humano em banho de registro isométrico, contraído por K^+ 40 mM na presença ou ausência de tetrodotoxina (10^{-4} M), potente toxina neuronal, bloqueadora dos canais de sódio das membranas de neurônios. Os achados originais estão na figura 17.

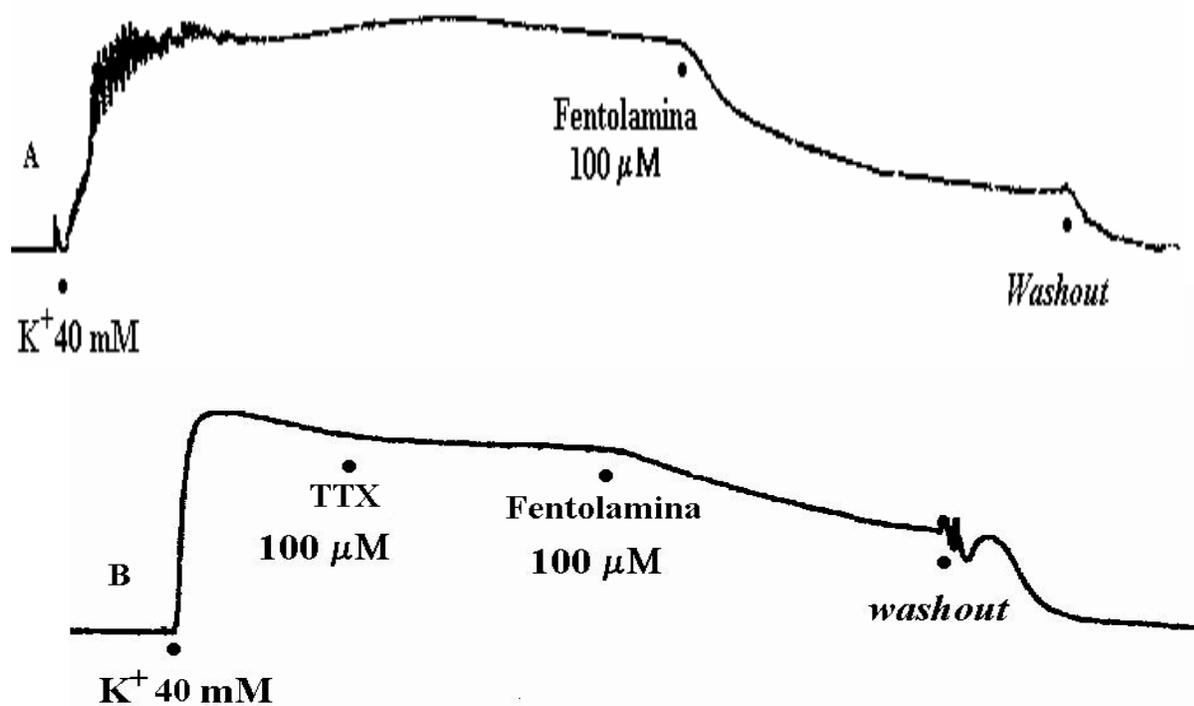


Figura 17. Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraiadas submaximamente com solução rica em K^+ (40 mM), pré-tratadas (B) ou não (A) com tetrodotoxina (100 μ M).

O Relaxamento da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ , não foi afetado pela presença de tetrodotoxina ($100 \mu M$) (figura 18, tabela 8).

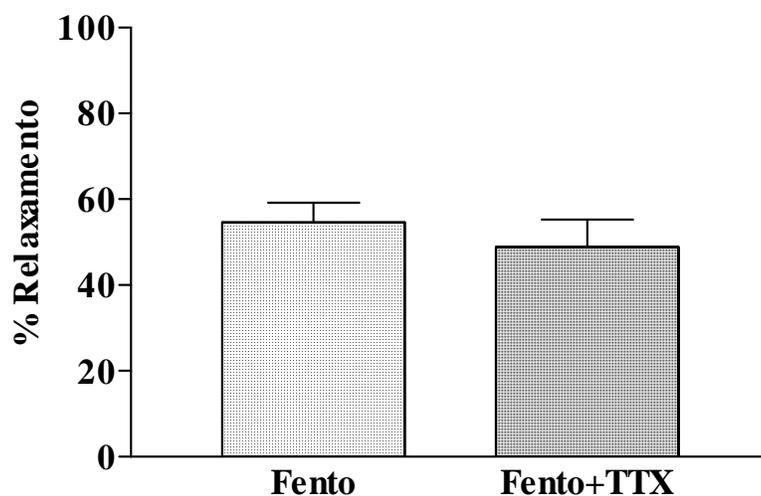


Figura 18. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ (40 mM), pré-tratadas ou não com tetrodotoxina ($100 \mu M$). Os dados são expressos como média \pm EPM ($n \geq 6$).

Tabela 8. Relaxamento percentual da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-tratados ou não com tetrodotoxina

Substâncias	% relaxamento
Fentolamina	54,6 \pm 4,6
Fentolamina + TTX	48,9 \pm 6,4

Legenda: Tiras pré-contraídas com solução rica em K^+ (60 mM)

Dados expressos como média \pm EPM ($n \geq 6$).

TTX - tetrodotoxina

O traçado original do relaxamento de fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com K^+ na presença ou ausência de Atropina (10^{-5} M) está contemplado na figura 19.

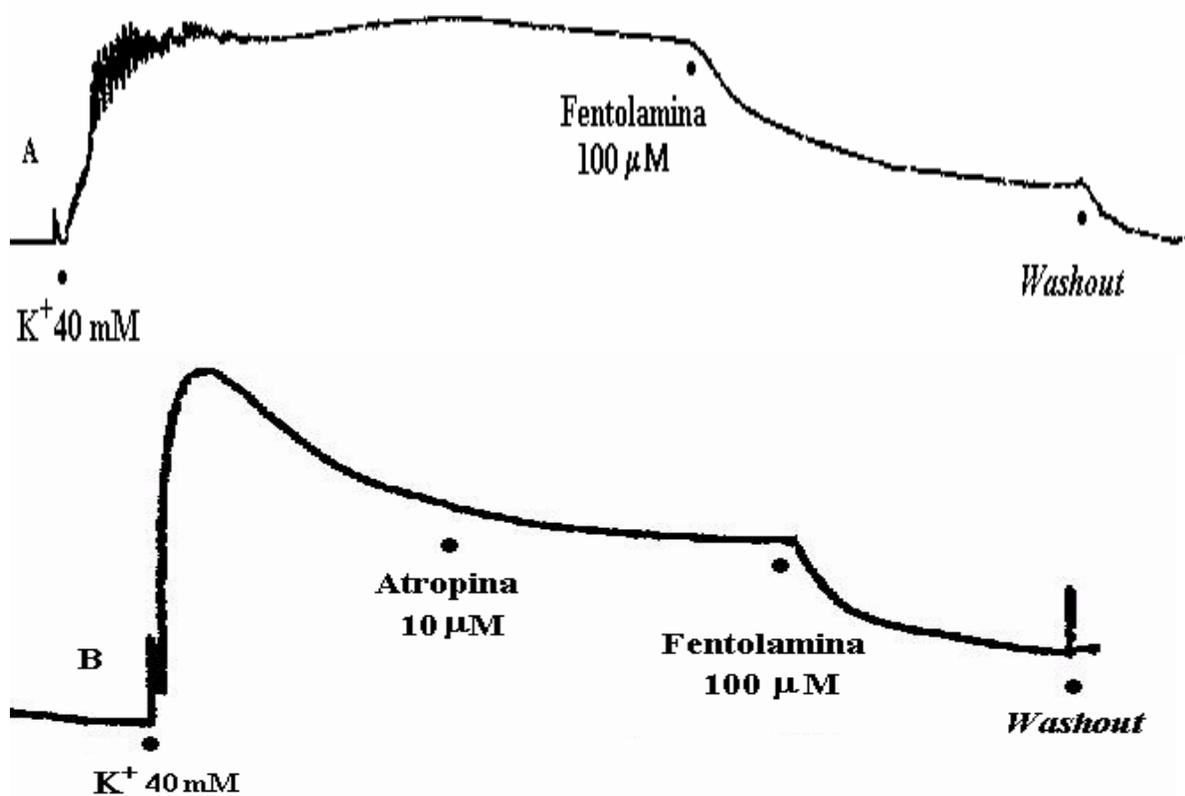


Figura 19. Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ , pré-tratadas (B) ou não (A) com atropina (10 μ M).

Atropina em concentração de 10 μM não alterou o relaxamento resultante da aplicação de fentolamina 10^{-4} M em corpo cavernoso humano pré-contraído com solução rica em potássio (figura 20, tabela 9).

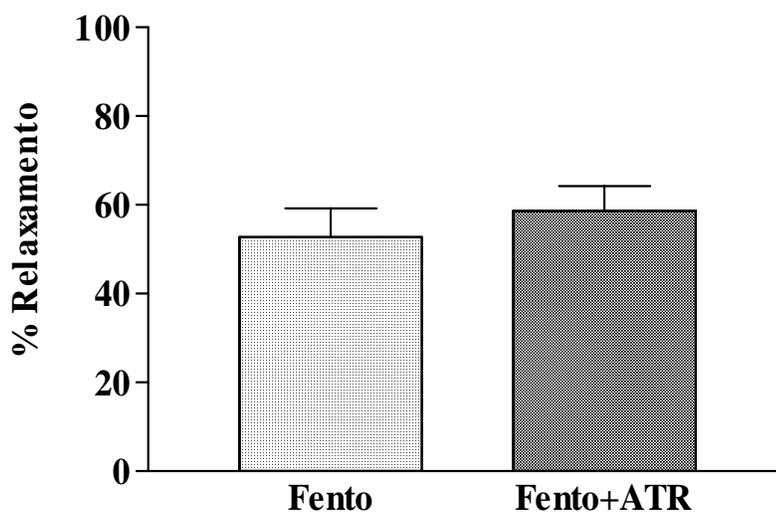


Figura 20. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ (40 mM), pré-tratadas ou não com atropina (10 μM).
Dados expressos como média \pm EPM, (n \geq 6).

Tabela 9. Relaxamento percentual da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-tratados ou não com atropina

Substâncias	% relaxamento
Fentolamina	52,7 \pm 6,5
Fentolamina + ATR	58,6 \pm 5,6

Legenda: Tiras pré-contraídas com solução rica em K^+ (60 mM)

Dados expressos como média \pm EPM (n \geq 6).

ATR - atropina

No experimento seguinte o mesilato de fentolamina 100 μM foi testado em fragmentos de corpo cavernoso humano pré-contraídos com K^+ na presença e ausência de L-nitro-metil ester de arginina (N^{G} -nitro-L-arginine methyl ester) (L-NAME) (100 μM) bloqueador inespecífico da óxido nítrico sintetase. As curvas originais estão na figura 21.

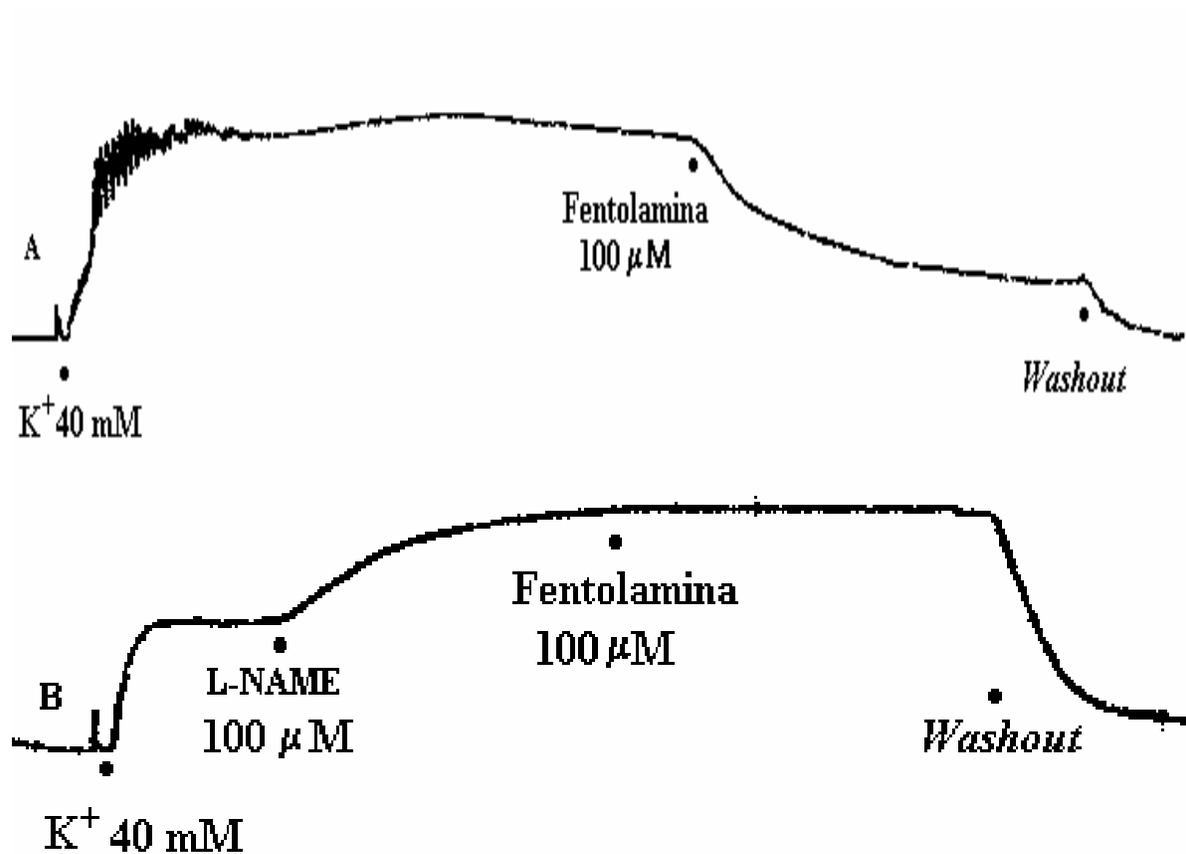


Figura 21 Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ , pré-tratadas (B) ou não (A) com L-nitro-metil ester de arginina (N^{G} -nitro-L-arginine methyl ester) (L-NAME)

L-nitro-metil ester de arginina (N^G -nitro-L-arginine methyl ester) (L-NAME), diminuiu de modo estatisticamente significativo, o relaxamento induzido por fentoalmina 100 μ M em frangmentos de corpo cavernoso humano pré-contraídos com solução rica em K^+ (figura 22, tabela 10) ($p < 0,05$).

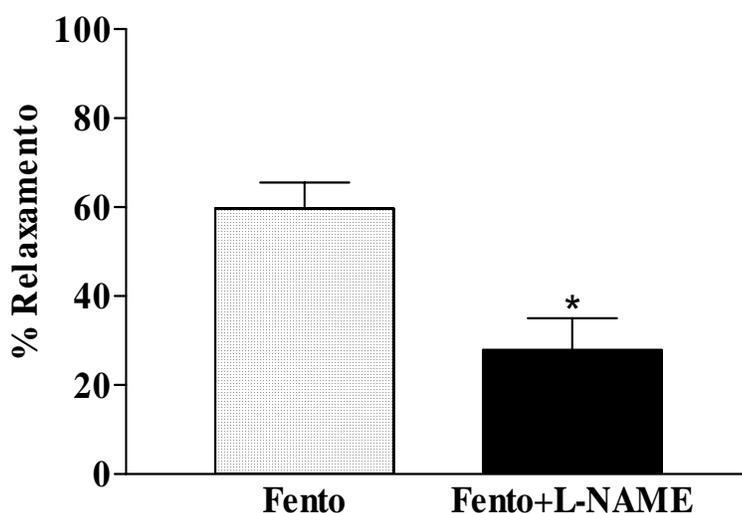


Figura 22. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ (40 mM), pré-tratadas ou não com L-nitro-metil ester de arginina (N^G -nitro-L-arginine methyl ester) (100 μ M) Dados expressos como média \pm EPM, ($n \geq 8$).
* $p < 0,05$

Tabela 10. Relaxamento percentual da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-tratados ou não com L-NAME (100 μ M)

Substâncias	% relaxamento
Fentolamina	59,7 \pm 5,8
Fentolamina + L-NAME	27,8 \pm 7,1*

Legenda: Tiras pré-contraídas com solução rica em K^+ (60 mM)

Dados expressos como média \pm EPM ($n \geq 8$).

L-NAME - L-nitro-metil ester de arginina (N^G -nitro-L-arginine methyl ester)

* $p < 0,05$

Um grupo de experimentos objetivou estudar o comportamento do mesilato de fentolamina no corpo cavernoso humano pré-contráido com K^+ na presença ou ausência de 1H-[1,2,4] Oxadiazole ODQ (100 μ M), um inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel. As curvas originais estão na figura 23.

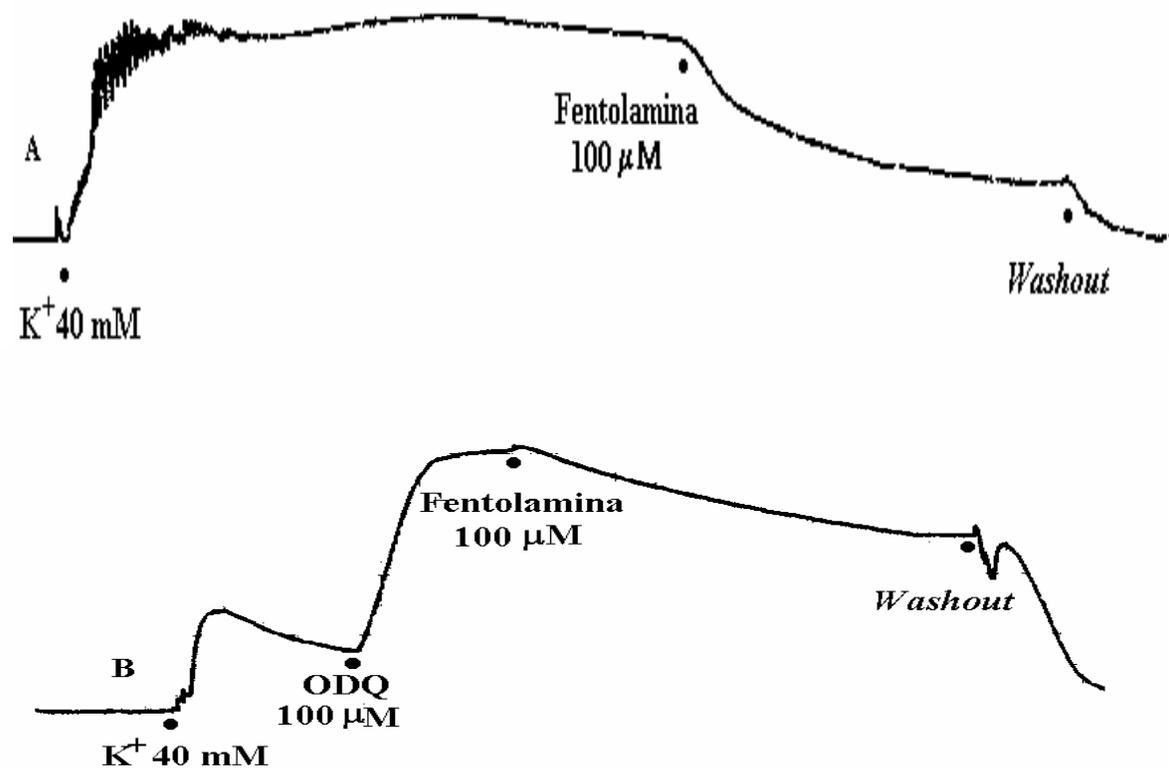


Figura 23. Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contráidas submaximamente com solução rica em K^+ , pré-tratadas (B) ou não (A) com ODQ (100 μ M).

Este grupo de experimentos evidenciou que 1H-[1,2,4] *Oxadiazole* [4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) (100 μ M) causou queda significativa no relaxamento produzido por fentolamina 10^{-4} M em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com solução despolarizante rica em K^+ (figura 24, tabela 11) ($p < 0,05$).

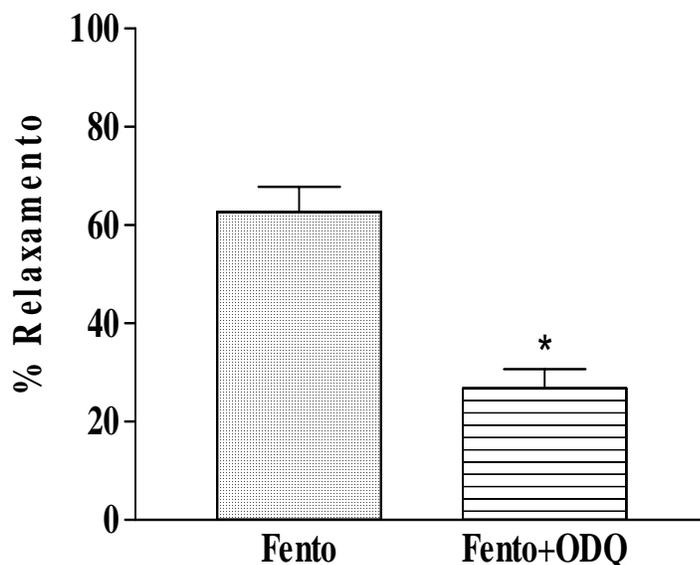


Figura 24. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ (40 mM), pré-tratadas ou não com 1H-[1,2,4] *Oxadiazole* [4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) (100 μ M) [4,3-a]quinoxalin-1-one (100 μ M).

Dados expressos como média \pm EPM, ($n \geq 8$).

* $p < 0,05$

Tabela 11. Relaxamento percentual da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-tratados ou não com 1H-[1,2,4] *Oxadiazole* [4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ)

Substâncias	% relaxamento
Fentolamina	62,7 \pm 5,1
Fentolamina + ODQ	26,8 \pm 3,9*

Legenda: Tiras pré-contraídas com solução rica em K^+ (60 mM)

Dados expressos como média \pm EPM ($n \geq 8$).

ODQ - 1H-[1,2,4] *Oxadiazole* [4,3-a]quinoxalin-1-one

* $p < 0,05$

A figura 25 mostra os achados originais da fentolamina 10^{-4} M, em corpo cavernoso humano, pré-contráido com K^+ , na presença e ausência de glibenclamida (10^{-4} M), um bloqueador do canal de potássio dependente de ATP.

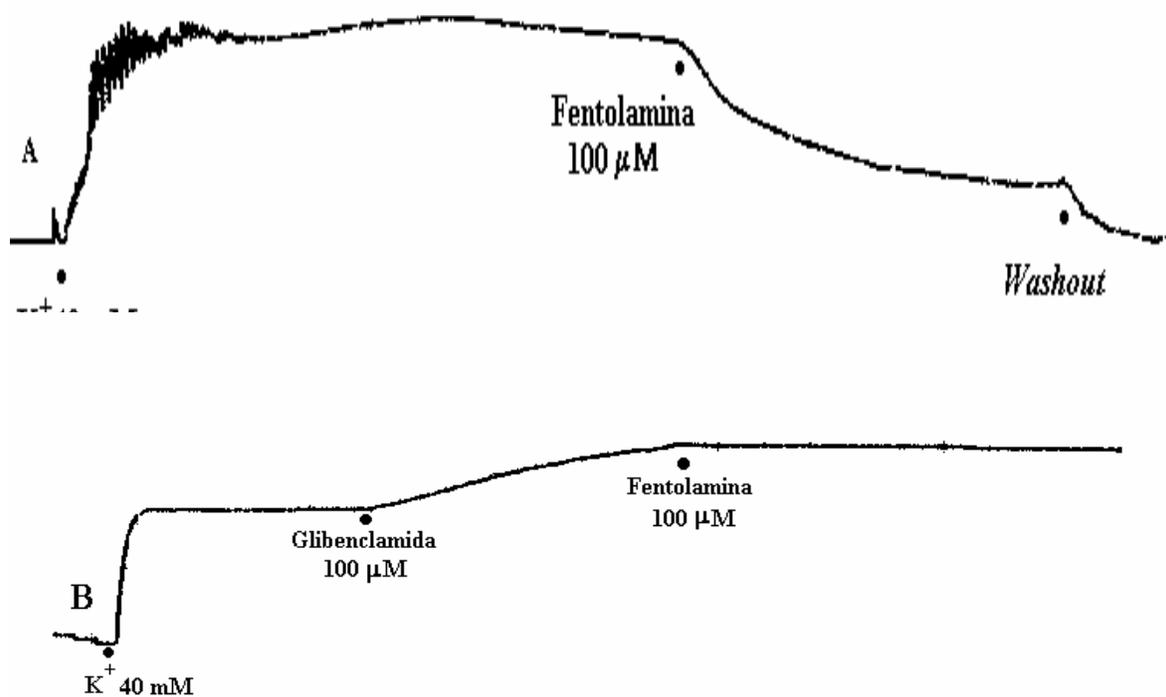


Figura 25. Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contráidas submaximamente com solução rica em K^+ , pré-tratadas (B) ou não (A) com Glibenclamida ($100 \mu\text{M}$).

A glibenclamida causou diminuição estatisticamente significativa no relaxamento da fentolamina, em corpo cavernoso humano pré-contraído com solução rica em K^+ (figura 26, tabela 12) ($p < 0,05$).

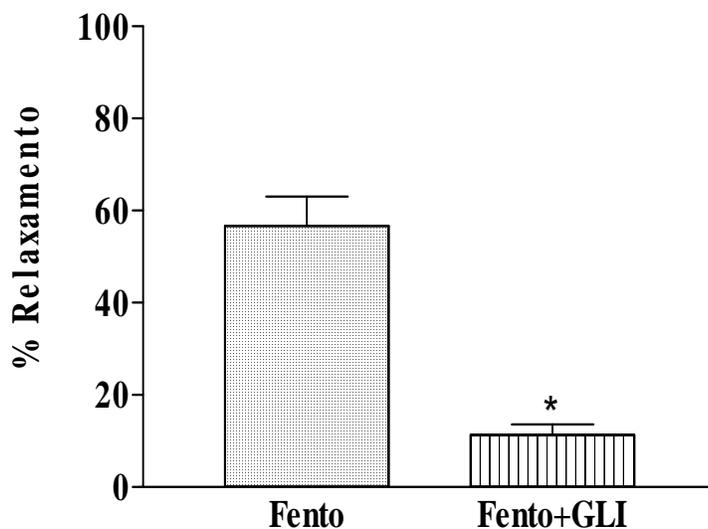


Figura 26. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ (40 mM), pré-tratadas ou não com Glibenclamida (100 μ M).
Dados expressos como média \pm EPM, ($n \geq 8$).
* $p < 0,05$

Tabela 12. Relaxamento percentual da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-tratados ou não com glibenclamida (100 μ M)

Substancias	% relaxamento
Fentolamina	56,7 \pm 6,3
Fentolamina + GLI	11,3 \pm 2,3*

Legenda: Tiras pré-contraídas com solução rica em K^+ (60 mM)

Dados expressos como média \pm EPM ($n \geq 8$).

GLI - glibenclamida

* $p < 0,05$

Para compreender melhor o caminho farmacológico pelo qual a glibenclamida bloqueia o efeito relaxante da fentolamina, foi realizado experimentos adicionando-se L-NAME, o bloqueador inespecífico da óxido nítrico sintetase. O traçado original está na figura 27.

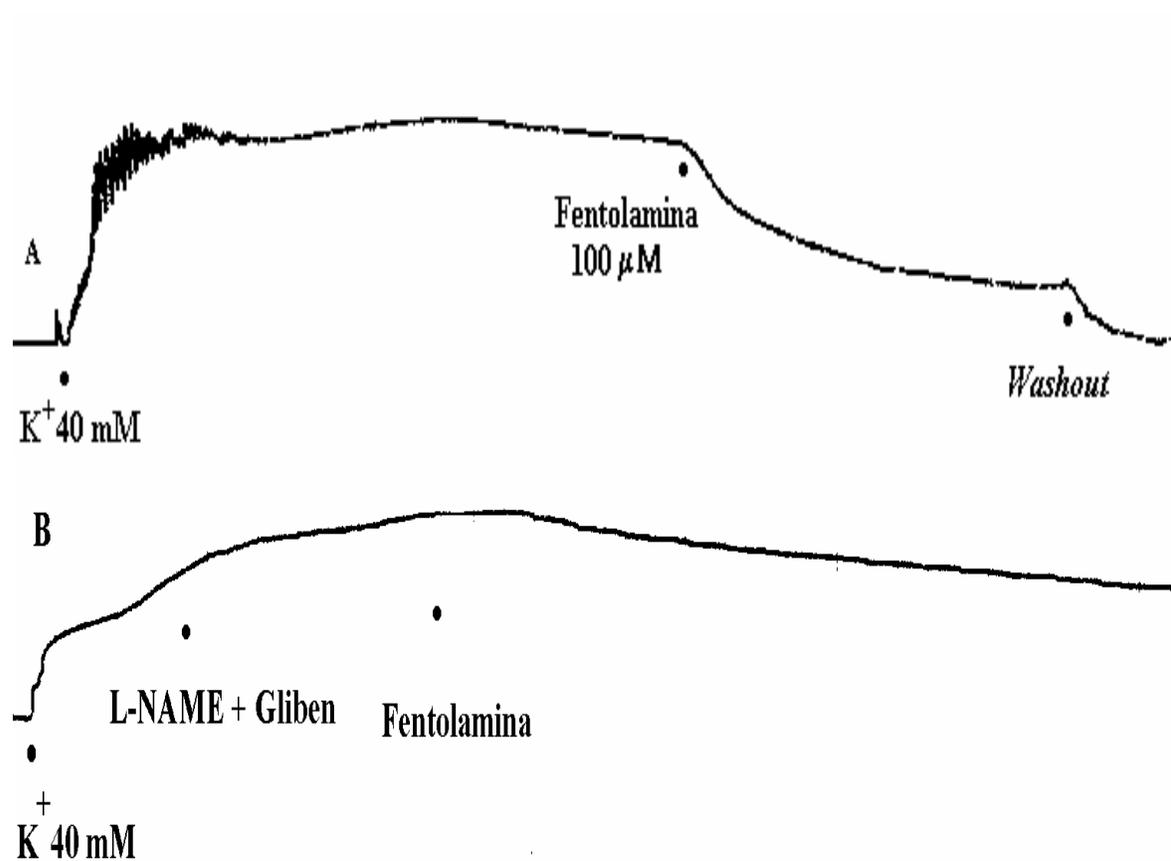


Figura 27. Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K⁺, pré-tratadas (B) ou não (A) com L-NAME + Glibenclamida (100 μM).

A adição de L-NAME (10^{-4} M) a glibenclamida (10^{-4} M) bloqueou quase que por completo o relaxamento da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com KCL 40 mM (Figura 28, tabela 13) ($p < 0,05$).

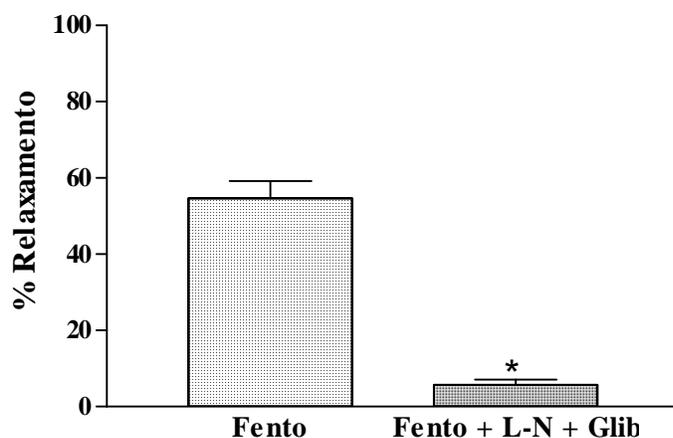


Figura 28. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ (40 mM), pré-tratadas ou não com L-NAME +Glibenclamida (100 μ M).
Dados expressos como média \pm EPM, (n = 8).
* $p < 0,05$

Tabela 13. Relaxamento percentual da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-tratados ou não com L-NAME + glibenclamida (100 μ M)

Substancias	% relaxamento
Fentolamina	54,6 \pm 5,6
Fentolamina + L-NAME + GLI	* 5,7 \pm 1,4

Legenda: Tiras pré-contraídas com solução rica em K^+ (60 mM)

Dados expressos como média \pm EPM (n \geq 8).

L-NAME - L-nitro-metil ester de arginina (N^G -nitro-L-arginine methyl ester

GLI - glibenclamida

* $p < 0,05$

Uma série de experimentos procurou estudar o papel dos bloqueadores do canal de potássio sensível a Ca^{2+} , de baixa e alta condutância, apamina e caribdotoxina (10^{-7} M) no relaxamento da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano. O traçado original está na figura 29.

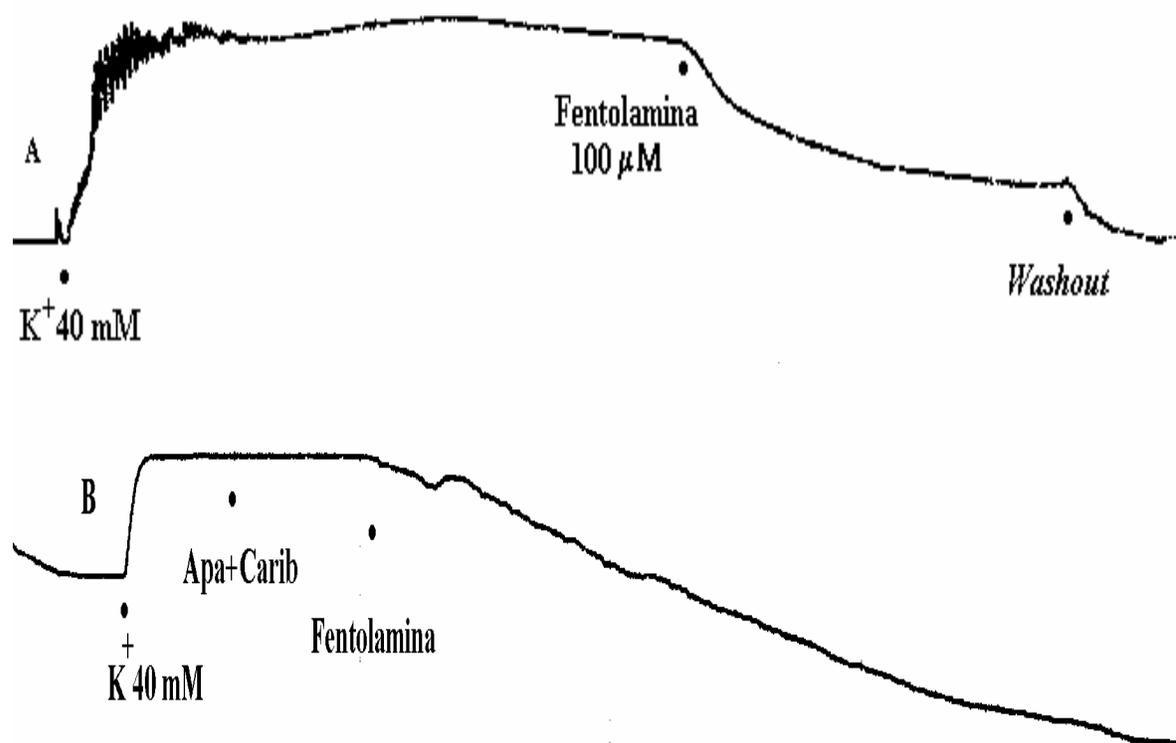


Figura 29. Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^{+} (40 mM), pré-tratadas ou não com apamina e caribdotoxina (0,1 μM).

Os Bloqueadores do canal de potássio de baixa e alta condutância, dependente de C^{++} , Apamina e Caribdotoxina, não modificaram o relaxamento da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano, pre-contraídas com solução despolarizante de K^+ 40 mM (Figura 30, tabela 14).

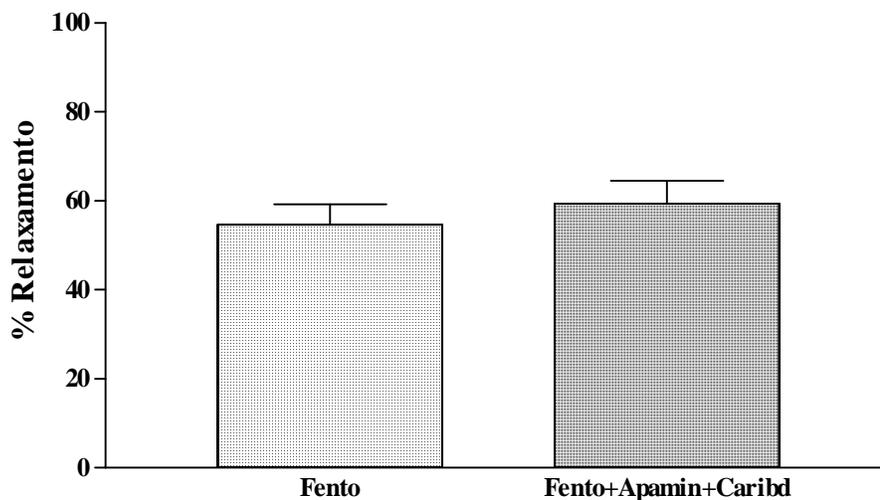


Figura 30. Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com solução rica em K^+ (40 mM), pré-tratadas ou não com Apamina e Caribdotoxina (0,1 μ M).
Dados expressos como média \pm EPM, (n = 8).

Tabela 14. Relaxamento percentual da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-tratados ou não com Apamina + Caribdotoxina (0,1 μ M).

Substancias	% relaxamento
Fentolamina	54,6 \pm 4,6
Fentolamina + Apa + Caribdo	59,3 \pm 5,2*

Legenda: Tiras pré-contraídas com solução rica em K^+ (60 mM)

Dados expressos como média \pm EPM (n = 8).

Apa + Caribdo: apamina + caribdotoxina

* p < 0,05

Em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($10\mu\text{M}$), foi estudada a influência da concentração extracelular de cálcio sobre o relaxamento produzido pelo mesilato de fentolamina. As curvas originais estão na figura 31.

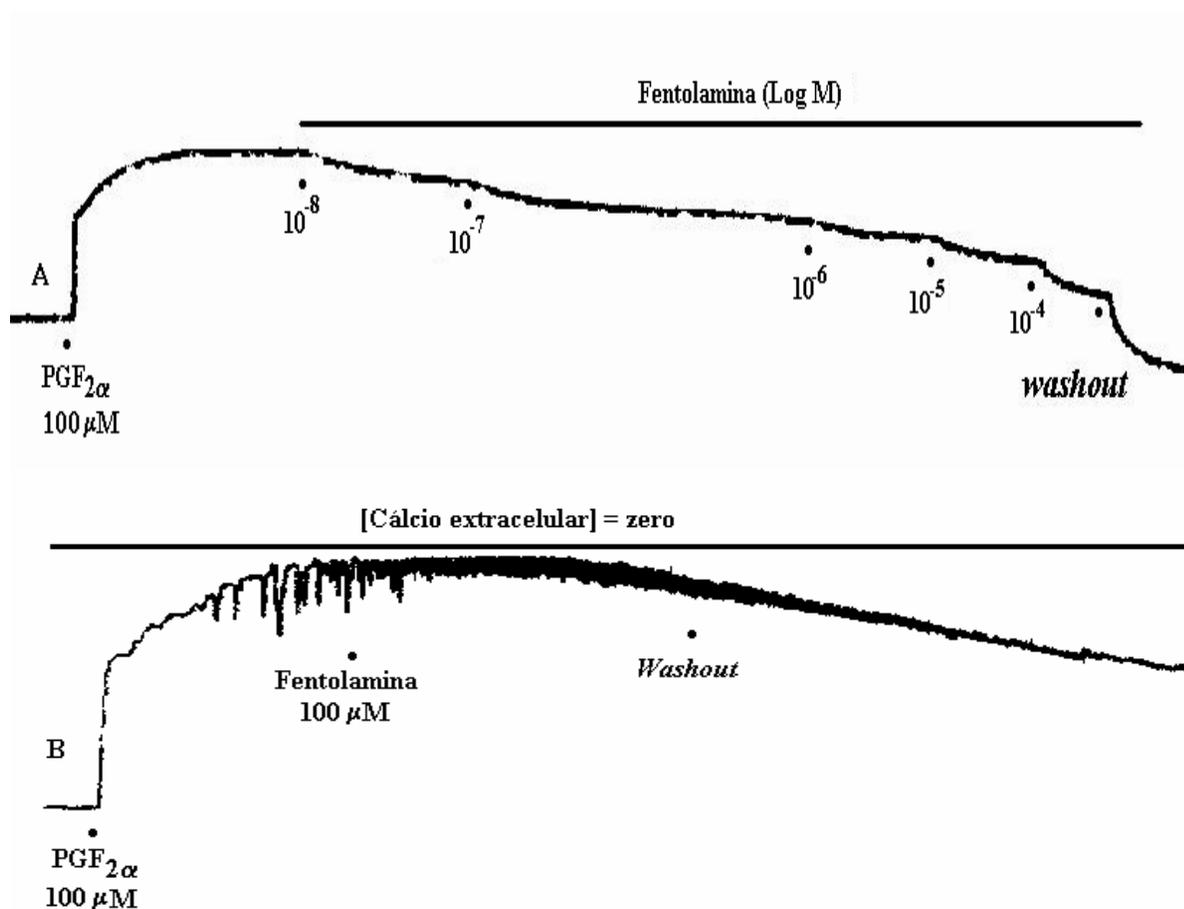


Figura 31. Traçado original do efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas submaximamente com $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($100\mu\text{M}$), em meio com cálcio nominal zero acrescida de EDTA ($100\mu\text{M}$)

Em meio com cálcio nominal zero, acrescido de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) – um potente quelante de íons, a fentolamina 10^{-4} M causou relaxamento significativamente menor, em tiras de corpo cavernoso humano, pré-contraídas com $\text{PGF}_{2\alpha}$, quando comparado seu efeito em meio extracelular habitual (figura 32, tabela 15) ($p < 0,05$).

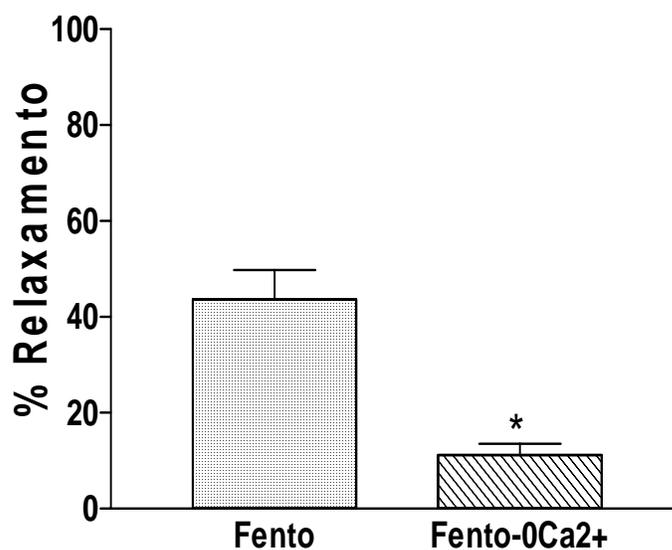


Figura 32 Efeito da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($10\mu\text{M}$), em meio com cálcio nominal zero acrescida de EDTA ($100\mu\text{M}$)
 Dados expressos como média \pm EPM, ($n \geq 8$).
 * $p < 0,05$

Tabela 15. Relaxamento percentual da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($10\mu\text{M}$), em meio com cálcio nominal zero acrescida de EDTA ($100\mu\text{M}$)

Substâncias	% relaxamento
Fentolamina	43,6 \pm 6,2
Fentolamina + 0Ca^{2+}	11,2 \pm 2,3*

Legenda: Tiras pré-contraídas com solução rica em K^+ (60 mM)

Dados expressos como média \pm EPM ($n \geq 8$).

$\text{PGF}_{2\alpha}$ - Prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$

0Ca^{2+} - meio com cálcio nominal zero

EDTA - ácido etilenodiaminotetraacético

* $p < 0,05$

Para dirimir dúvidas se Fentolamina relaxa o corpo cavernoso humano via bloqueio de canais de cálcio, foram realizados experimentos com tiras de tecidos pré-tratados previamente com o fármaco antes da aplicação da solução despolarizante de cloreto de potássio 40 mM. Para efeito de comparação, a nifedipina, um bloqueador dos canais de Ca^{++} foi utilizada da mesma forma. Os efeitos das duas drogas sobre o percentual de contração de K^+ está na figura 33 e tabela 16).

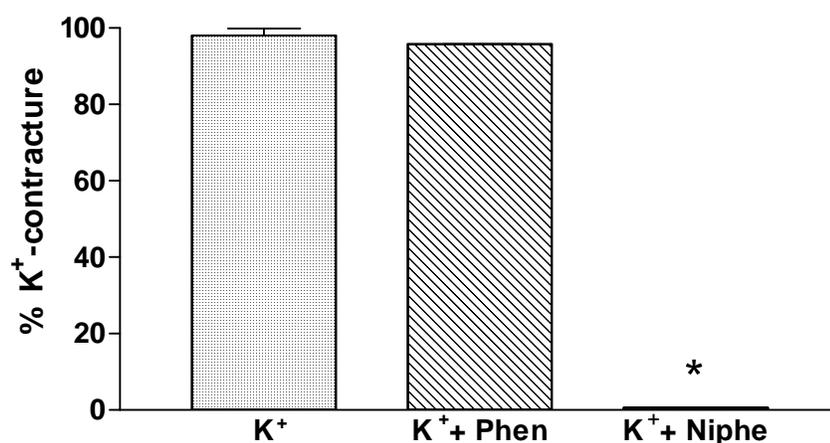


Figura 33 Efeito comparativo da fentolamina e nifedipina sobre o percentual de contração de K^+ em tiras de corpo humano.

Dados expressos como média \pm EPM, (n \geq 8).

* p < 0,05

Tabela 16. Contração percentual de cloreto de potássio em tiras de corpo cavernoso humano pré-tratadas fentolamina e nifedipina (100 μM).

Substâncias	% contração do K^+
Fentolamina	95,8 \pm 0,5
Nifedipina	0,64 \pm 0,0*

Legenda: Solução rica em K^+ (40 mM)

Dados expressos como média \pm EPM (n \geq 8).

p < 0,05

Discussão

Farmacocinética em voluntários sãos.

A fentolamina é no geral bem tolerada, com um perfil de segurança bastante satisfatório. O evento adverso mais relatado é congestão nasal. Este sintoma foi o mais freqüente (18,4%) entre 3.800 pacientes em estudo clínico de fase III. Mais raros foram, cefaléia, taquicardia e tonturas (< 5%) [Moncada 1999].

O único destes efeitos adversos observado após administração oral de fentolamina nos voluntários sãos, foi congestão nasal, que ocorreu em ambas as formulações: 60% entre os que tomaram Regitina e 50,4% para os do grupo Vasomax. Especificamente, este sintoma se deve à ação direta sobre os receptores colinérgicos muscarínicos e, pode ser bloqueado por atropina [Dollery 1999].

Não havia um caso sequer de disfunção erétil entre os voluntários sadios, como demonstrado pelos resultados das respostas espontâneas do questionário IIEF, cujo score encontrado foi em média 26,5. (baseado no domínio de função erectiva) Este achado era esperado, haja vista a média de idade deles (21 anos).

O clássico *Massachusetts male aging study* demonstrou que a taxa de incidência anual de DE aumenta para cada década de vida do homem. Assim é que 12,4, 29,8, e 46,4 por 1000/homens/ano, são portadores da doença na faixa etária dos 40 - 49, 50 - 59, e 60 - 69 anos, respectivamente [Johannes 2000].

O método descrito neste estudo para quantificar a concentração de fentolamina é simples e, provou ser verdadeiro, que a cromatografia líquida de alta pressão acoplada a espectrometria de massa (LC-MS-MS) tem sensibilidade e especificidade apropriada para determinação de drogas no plasma humano [Lerner 2000].

Não foram demonstradas diferenças significativas entre as duas formulações de fentolamina quando analisados os valores de $AUC_{(0-720 \text{ min})}$, $AUC_{(0-\infty)}$, C_{max} , k_e and T_{max}

obtidos para cada formulação, considerado o intervalo de confiança de 90% das médias geométricas (tabela 2).

A fentolamina por via oral, tem absorção e atividade limitadas, quando comparada à administração parenteral. Ela é excretada na urina em cerca de 70% da dose (10 – 13% *in natura*). Excreção fecal é responsável por somente 3% do total administrado [Dollery 1999].

A formulação Vasomax® é rapidamente absorvida e eliminada no homem normal. Sua concentração plasmática máxima é alcançada em 30–60 min, e a meia vida aproxima-se de 5-7 h. Ela tem baixa afinidade pelas proteínas plasmáticas e é excretada via urina e fezes, não havendo diferenças das taxas de absorção e eliminação, relacionadas com a idade [Goldstein 2001].

O tempo médio necessário para alcançar a concentração plasmática máxima de fentolamina neste estudo, $T_{\max} = 50$ min, está de acordo com a literatura. Um pouco diferente em relação à encontrada por Goldstein foi a média obtida da $t_{1/2} = 3$ h (Figura 11, tabela 2).

Outros estudos farmacocinéticos em voluntários sadios têm revelado que a formulação oral do mesilato de fentolamina (Vasomax®) 40 mg alcança concentração plasmática média de 16 ng/mL, 30 minutos após a ingestão [Traish 1998], o que se aproxima em muito do encontrado neste estudo: $C_{\max} = 14,2$ ng/mL (Tabela 2).

A análise de bioequivalência dos resultados foi feita com teste paramétrico devido à constatação dos critérios próprios da distribuição normal, homogeneidade das variáveis e randomização das amostras [Moraes 1999].

O estudo criterioso das curvas de concentração *versus* tempo objetivando avaliar bioequivalência, não demonstrou diferenças significativas dentre os índices de absorção das duas formulações de fentolamina (Regitina® e Vasomax®), considerando o espectro de 80 – 125% para o intervalo de confiança de 90%, aos achados individuais de $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ e C_{max} (figura 11, tabela 3).

A razão das medias geométricas das concentrações máximas C_{max} de Regitina® 40 mg, foi 108.29% (90% IC = 98.58 – 118.96) relativa à formulação de Vasomax® 40 mg, já a razão das médias geométricas das áreas sob as curvas da formulação de Regitina® 40 mg foi 102.33% (90% CI = 97.21 – 107.72) consideradas as das formulações do Vasomax® 40 mg (tabela 3). Os achados estão dentro do intervalo definidor da bioequivalência entre as drogas, ou seja, 80 a 125%, portanto as duas formulações são bioequivalentes quanto a taxa e extensão da absorção [FDA 1993] (Tabela 3).

Para pacientes com disfunção erétil mínima Vasomax® 40 mg tomado por via oral demonstrou em estudos multi-institucionais, duplo-cegos, controlados por placebo uma melhora significativa na performance sexual [Goldstein 2001].

Farmacodinâmica em corpo cavernoso humano: estudo *in vitro*.

A fentolamina está aprovada para o tratamento da hipertensão relacionada com o feocromocitoma, para o diagnóstico desta enfermidade, e para o tratamento da necrose dérmica relacionada a noradrenalina. Desde o ano de 1984 tem sido utilizada conjuntamente com outros agentes vasoativos por via intracavernosa para o tratamento da disfunção erétil. Sua formulação oral para este fim foi tentada a partir das observações de Gwinup datadas de 1988 [Traish 1998, Goldstein 2001].

Os experimentos farmacodinâmicos da fentolamina em corpo cavernoso humano foram realizados em banho de registro isométrico em solução de KHS (pH 7,4, e 37°C), enriquecida com guanetidina e indometacina (10 µM), constantemente aerada (O₂-95% e CO₂-5%), sob tensão de 1,0 grama.

A guanetidina bloqueia seletivamente a transmissão pós-ganglionar dos nervos adrenérgicos, inibindo a liberação de noradrenalina, depletando-a no neurônio terminal simpático periférico e nos tecidos. Equivale a uma simpatectomia química [Benowitz 1998].

A indometacina, por seu turno, é um inibidor das cicloxigenases (COX₁ e COX₂). Está entre os mais potentes inibidores da síntese de prostaglandinas [Katzung 1998].

Assim, os dois fármacos conferem ao meio de estudo um ambiente livre da interferência adrenérgica e de prostanóides.

Neste banho, em uma primeira série de experimentos o hidrocloreto de fentolamina relaxou as tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com solução de potássio (60 mM), serotonina (5-HT) (10⁻⁴ M), prostaglandina F_{2α} (10⁻⁴ M), fenilefrina (10⁻⁴ M). O maior efeito dose resposta, foi obtido em relação a este último fármaco: relaxamento de 100% na dose de 10⁻³ M e IC₅₀ = 1,6 x 10⁻⁵ M (Figuras 12, 13 e Tabelas 4, 5).

Achado previsto uma vez que a fentolamina é um potente antagonista adrenérgico competitivo inespecífico e a fenilefrina um α-agonista relativamente puro [Hoffman 1998 a b].

Traish em seu trabalho publicado 1998 comprovou que o mesilato de fentolamina é um efetivo bloqueador α₁α₂-adrenérgico no tecido erétil do corpo cavernoso de coelhos e

de humanos. Ela competitivamente desloca o ligante específico do receptor α_1 -adrenérgico, prazosin e do α_2 , rauwolscine [Traish 1998].

No mesmo estudo o autor documentou que a fentolamina relaxava o músculo liso cavernoso humano pré-contraído pela fenilefrina (3×10^{-6} M), de um modo dependente da dose. A IC_{50} ocorreu na concentração de fentolamina entre 10^{-8} – 3×10^{-8} M e a resposta máxima a 10^{-6} M. A diferença entre a IC_{50} entre os dois estudos reflete provavelmente a diversidade das doses de fenilefrina e das formulações da fentolamina utilizadas.

De qualquer modo os dois trabalhos, este e o de Traish comprovam que a atividade de antagonista aos receptores α -adrenérgicos da fentolamina modula em algum grau, a inibição fisiológica do tônus contrátil simpático no corpo cavernoso humano e o relaxamento resultante [Traish 1998].

A figura 14 mostra o traçado original da contração de tiras de corpo cavernoso humano frente a diferentes soluções despolarizantes de cloreto de potássio (KCl) e os relaxamentos causados pela fentolamina. Os percentuais estão representados no gráfico da figura 15 e na tabela 6.

Há no mínimo quatro mecanismos contráteis para o músculo liso: despolarização da célula muscular aumentando o fluxo de Ca^{++} para dentro da célula via ativação do canal de cálcio tipo L. (e.g. aumento do potássio extracelular $[K^+]_o$); agonistas que liberam cálcio do estoque intracelular (e.g. noradrenalina via trifosfato de inositol IP_3); aqueles que ativam os canais de cálcio dependentes e independentes de voltagem para além do fluxo esperado para o grau de despolarização (e.g. acetilcolina no intestino) e os agonistas que aumentam a sensibilidade da maquinaria contrátil para o Ca^{++} intracelular $[Ca^{++}]_i$ (e.g. ésteres de forbol) [Rembold 1996].

Soluções despolarizantes de cloreto de potássio induzem a contração do músculo liso por acoplamento eletromecânico, via aumento do $[K^+]_o$ e despolarização da membrana celular ativando o canal de cálcio tipo L, incrementando assim a entrada de Ca^{++} para dentro da célula [Rembold 1996].

Se o cloreto de potássio, em tecidos pré-tratados com guanetidina, causa contração do músculo liso cavernoso por mecanismo não mediado por receptores α -adrenérgicos, que outros meios podem explicar a ação relaxante da fentolamina neste músculo pré-contraído por ele? Esta pergunta foi o que motivou a realização deste estudo.

A pesquisa de Traish em 1998, seguido por Vemulapalli em 2001 já sugeriam um mecanismo adicional não adrenérgico-não colinérgico para explicar o relaxamento do corpo cavernoso de coelhos pelo mesilato de fentolamina. [Traish 1998, Vemulapali 2001].

Retomando à figura 15 e tabela 6 observa-se que o efeito relaxante da fentolamina diminui em função inversa da concentração despolarizante de cloreto de potássio. Na célula em repouso, por gradiente químico, o K^+ tende a sair para o espaço extra-celular onde é menor sua concentração, destarte mantendo a célula hiperpolarizada, (i.e. potencial de membrana em repouso e músculo relaxado [Christ 2000].

Com a mudança brusca de sua concentração extracelular se quebra este equilíbrio, e a corrente do íon se inverte, perturbando o potencial de membrana, a ponto de resultar na abertura dos canais de cálcio regulados por voltagem, e contratura muscular [Rembold 1996]. É fácil entender que quanto maior esta instabilidade pelo aumento do $[K^+]_o$, maior a concentração de cálcio intracelular e portanto, mais difícil se faz o relaxamento da fentolamina (figura 15, tabela 6). Nestas condições, i.e. alto $[K^+]_o$, é menor a probabilidade

de um fármaco que aumente a condutância ao potássio (e.g. cromocalim) provoque alterações no tônus da musculatura lisa.

O fato do relaxamento induzido pela fentolamina diminuir com o aumento das concentrações extracelulares de potássio aponta para uma provável ação ativadora do fármaco sobre os canais deste íon.

Por outro lado, para examinar se a fentolamina estava agindo como um bloqueador do canal de cálcio regulado por voltagem do tipo L (VDCC) , foi realizada uma série de experimentos comparando seu efeito com o do bloqueador específico daquele canal, nifedipina. Como se depreende da análise da figura 33 e tabela 16 a fentolamina não afetou a contração induzida pelo KCl, enquanto que a nifedipina a bloqueou completamente ($95,8 \pm 0,5\% \times 0,64 \pm 0,0\%$) ($p < 0,05$). Este dado nos permite concluir que a fentolamina não atua por meio de bloqueio de canais VDCC.

Similarmente, Traish (1998) em experimentos de ligação a receptores, com agonistas marcados, em membrana celular de corpo cavernoso humano demonstrou que o mesilato de fentolamina não atua como bloqueador de canal de Ca^{++} tipo L [Traish 1998].

A flacidez e a ereção peniana são controlados por um balanço fino entre fatores contráteis e relaxantes, envolvendo sofisticados sistemas de transmissores de sinais [Anderson 2001]. Os nervos e o endotélio dos sinusóides e vasos do pênis produzem e liberam transmissores e moduladores que por fim interagem no controle do estado contrátil de seu músculo liso [Moreland 2001].

O neurônio provê a maior parte do NO do tecido peniano, o que aponta para um papel relevante no processo de ereção, no entanto, é o endotélio uma importante fonte adicional da molécula gasosa [Teixeira 2001]. Na verdade, o óxido nítrico neuronal é ainda

considerado ser o mais importante fator para o relaxamento cavernoso, entretanto o gerado a partir do endotélio parece ser capital na manutenção da ereção e, um dano endotelial pode contribuir para disfunção erétil [Anderson 2003].

A comparação entre vários estímulos relaxantes ao músculo liso cavernoso está contemplada na figura 16, tabela 7. O relaxamento induzido pela fentolamina por mecanismo não-adrenérgico foi de $49,8 \pm 4,6$ % correspondendo a $\approx 50\%$ dos outros estímulos utilizados. Este fato revela que este componente é importante e pode ser preponderante em situações de diminuição do tônus adrenérgico.

A acetilcolina, o neurotransmissor parassimpático, relaxa o músculo liso cavernoso, estimulando via receptores muscarínicos, sub-tipo M_3 do endotélio vascular, a liberação de óxido nítrico [Saenz de Tejada 1989, Traish 1990].

O nitroprussiato de sódio e outros doadores de NO usam desta molécula gasosa para ativar a enzima guanilato ciclase na via metabólica NO/cGMP [Benowitz 1998].

Evidências de vários estudos sugerem que o estímulo por campo elétrico (EFS) relaxa o corpo cavernoso de coelhos pela liberação neuronal de óxido nítrico [Burnett 1995, Burnett 1997, Rajfer 1992, Ignarro 1990].

Em seu artigo publicado em 2001 Vemulapalli e Kurowski também trabalhando com coelhos demonstraram que EFS produz relaxamento frequência-dependente, do músculo liso peniano, que é atenuado por, L-NAME (bloqueador da síntese de NO) e ODQ (inibidor da guanilato ciclase solúvel) e, abolida completamente por TTX (bloqueador de canal de sódio neuronal). Concluíram então, os autores, que a liberação neuronal de NO contribui efetivamente para o fenômeno [Vemulapalli 2001].

Estaria a fentolamina agindo também por intermédio da molécula gasosa óxido nítrico para produzir relaxamento ao músculo liso cavernoso?

Continuando sua pesquisa com corpo cavernoso de coelhos Vemulapalli e Kurowski. incubaram os fragmentos no banho contendo indometacina, atropina e guanetidina com o mesilato de fentolamina em duas doses (30 e 100 nM) por 20 minutos. Depois o que, foram eles contraídos com endotelina-1 (peptídeo vasoconstrictor potente) (30 nM) e, após alcançar o platô da contração, foram submetidos a estimulação com EFS. O estudo demonstrou que a fentolamina em altas doses (100 nM) aumentava o relaxamento induzido pela EFS em todas as frequências testadas [Vemulapalli 2001].

Este aumento não foi afetado por tratamento dos tecidos com prazosin (antagonista α_1) e ioimbina (antagonista α_2) sugerindo que a fentolamina relaxa o corpo cavernoso de coelhos por mecanismo independente de bloqueio α -adrenérgico [Vemulapalli 2001].

No final dos experimentos os autores pré-trataram as tiras de tecidos com L-NAME (inibidor da NOS), e demonstraram uma diminuição significativa do relaxamento, comprovando que a fentolamina agia ativando a NOS [Vemulapalli 2001].

Na sua conclusão do estudo de 1998, Traish demonstrou que a resposta relaxadora da fentolamina em corpo cavernoso de coelhos pré-contraídos com KCl ou endotelina era atenuada pelo inibidor competitivo da óxido nítrico sintetase, L-nitroarginina e pela destruição mecânica do endotélio sugerindo que ela mediava o relaxamento dos tecidos eréteis, via mecanismo adicional não adrenérgico, baseado no NO do endotélio [Traish 1998].

No presente estudo, com tiras de corpo cavernoso pré-contraídas com solução despolarizante de KCl (40 mM) e pré-tratadas em experimentos isolados, com tetrodotoxina

(bloqueador de canais de Na^+) e atropina (antagonista colinérgico muscarínico) em meio que também continha guanetidina (simpatectomia química) e indometacina (inibidora das cicloxigenases), não se demonstrou modificação no relaxamento induzido pela fentolamina, comprovando ser este fenômeno independente de ação neuronal, agonismo muscarínico ou de prostanóides ($54,6 \pm 4,6\%$ x $48,9 \pm 6,4\%$) ($52,7 \pm 6,5\%$ x $58,6 \pm 5,6\%$) (Figuras 17, 18, 19 e 20) e (tabelas 8 e 9)

A fentolamina estaria relaxando o músculo cavernoso humano por mecanismo não neuronal via NO? Para responder esta indagação foi feita uma série de experimentos com músculo pré-contraído com K^+ e pré-tratado com L-NAME (figura 21, 22) e (tabela 10).

L-NAME, L-nitro-metil ester de arginina (*N^G-nitro-L-arginine methyl ester*), um análogo da L-arginina, inibe de maneira competitiva e irreversível a enzima óxido nítrico sintetase NOS [Dale 1995].

Os experimentos demonstraram que o L-NAME bloqueou (53,4%), e o fez de modo estatisticamente significativo o relaxamento da fentolamina em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com KCl, ($59,7 \pm 5,8\%$ x $27,8 \pm 7,1\%$) ($p < 0,05$) (Figura 22 e tabela 10), comprovando que, pelo menos em parte, sua ação se concretiza via molécula gasosa NO. Os dados deste estudo estão de acordo com os encontrados pelos dois anteriormente discutidos.

Inclusive em suas considerações Traish chega a especular que a fentolamina tem um duplo mecanismo de ação nos tecidos eréteis do pênis. Uma via pela qual age diretamente como antagonista em receptores $\alpha_1\alpha_2$ -adrenérgicos, diminuindo o $[\text{Ca}^{++}]_i$, daí inibindo a contractilidade. E um outro mecanismo por onde atuaria de forma indireta ligando-se a um

receptor ainda não identificado no endotélio, para ativar a enzima NOS com conseqüente liberação de NO [Traish 1998].

O sistema NO-guanilato ciclase- c GMP é um dos maiores efetores do relaxamento do músculo liso peniano e portanto de sua função erectiva [Brioni 2002].

Quando em estado flácido as arteríolas helicinas estão contraídas principalmente através de mecanismos α -adrenérgicos. A ereção peniana é o resultado final do relaxamento do músculo liso que se inicia a partir de estimulação sensorial ativando o SNC. O NO liberado dos nervos e do endotélio ativa a guanilato ciclase solúvel. Esta última converte por efeito enzimático o GTP a c GMP, que por fim dilata o músculo cavernoso [Brioni 2002].

A enzima guanilato ciclase contém duas sub-unidades α e β com um domínio terminal-C que constitui seu centro catalítico e um terminal-N essencial para sua estimulação pelo NO (figura 34).

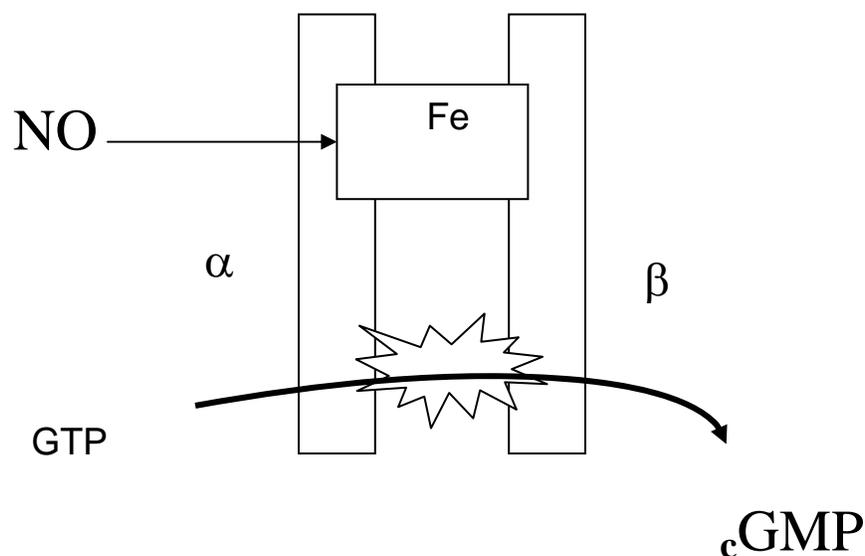


Figura 34: Desenho esquemático da guanilato ciclase solúvel com seu sítio (heme) de ligação com o NO (modificado de Brion 2002).

A molécula 1H-[1,2,4] *Oxadiazole* [4,3-a]*quinoxalin-1-one* (ODQ) é um potente e seletivo inibidor da guanilato ciclase solúvel (sGC). Ele inibe por mecanismo competitivo a estimulação promovida pelo óxido nítrico, no seu sítio de ligação, através de oxidação reversível da fração heme. Constitui um excelente instrumental para investigar a via de sinalização dependente daquela enzima [Schrammel 1996].

Neste estudo foram feitos experimentos utilizando o ODQ para consubstanciar a investigação e definir se estava a fentolamina agindo via sistema NO/ sGC / $cGMP$.

Os achados demonstraram que o inibidor da guanilato ciclase solúvel ODQ bloqueou, de maneira estatisticamente significativa (57,2%) o relaxamento produzido pela fentolamina a tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com cloreto de potássio (40 mM) ($62,7 \pm 5,1\%$ x $26,8 \pm 3,9\%$) ($p < 0,05$) (Figura 23, 24 e tabela 11), não restando dúvidas de que a via metabólica NO/ sGC / $cGMP$ estava participando daquele fenômeno.

Na verdade não é o NO per si que promove a ereção peniana, mas seu segundo mensageiro $cGMP$ via ativação da proteína cinase G [Archer 2002]. Evidências recentes colhidas de estudos em músculo liso vascular e não vascular e de séries de experimentos com tecido contrátil peniano apontam para o envolvimento dos canais de potássio [Holmquist 1990, Hedlung 1994, Malysz 2001].

Eles são os reguladores primeiros do potencial de membrana celular e do fluxo de Ca^{++} conseqüente, e portanto, do grau de contração do músculo liso, incluindo o do corpo cavernoso de humanos [Wang 2000]. Especialmente, dois deles o K_{ca} e o K_{ATP} são os maiores moduladores do tônus do músculo liso dos tecidos eréteis [Lee 1999].

Hedlung *et al* utilizou nicorandil em experimentos *in vitro* com corpo cavernoso humano (30 pacientes com idade variando entre 24 e 75 anos). Nicorandil relaxa músculo liso através de ativação do canal de potássio sensível à ATP, resultando em hiperpolarização das membranas celulares. Os autores demonstraram nas suas preparações

que o fármaco causava relaxamento das tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com NA ou endotelina 1 [Hedlung 1994].

Trabalhando com dois outros ativadores de canais de potássio (cromacalim e pinacidil), em corpo cavernoso de coelhos, Holmquist, documentou que as drogas agem no músculo liso cavernoso daqueles animais, muito provavelmente via abertura dos canais de potássio, resultando em aumento da corrente do íon para o exterior da célula, causando hiperpolarização e relaxamento [Holmquist 1990].

Experimentos com gatos anestesiados utilizando-se injeções intracavernosas de pinacidil, nicorandil e lemacalim (ativam canais K^+), comparadas com doses padrões da associação: papaverina 1,65 mg, fentolamina 25 μ g, PGE_1 0,5 ug, demonstraram que as três primeiras drogas produziam ereções significativamente maiores [Hellstrom 1992].

O mecanismo da ereção peniana normal poderia então ser assim representado.

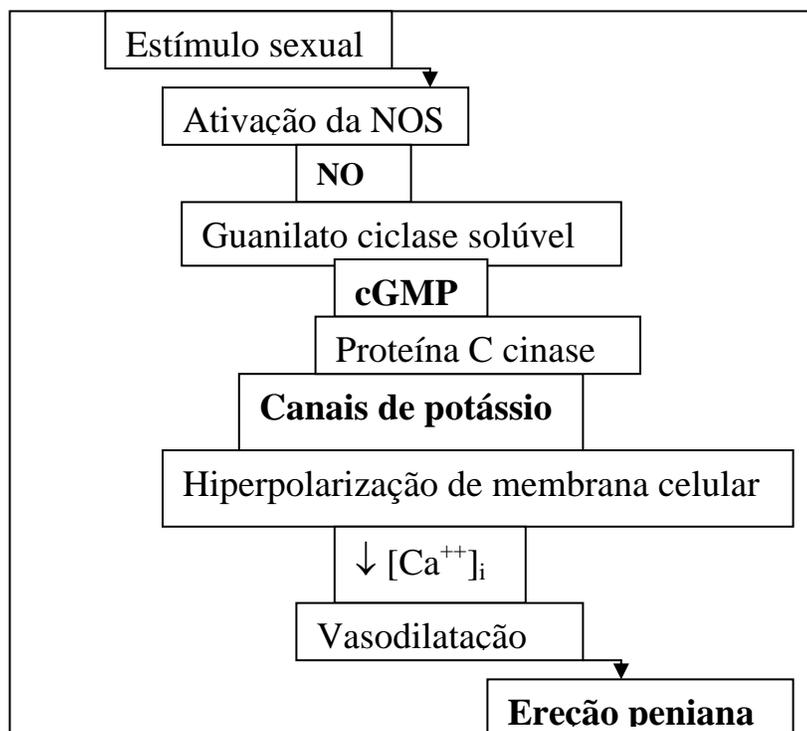


Figura 35: mecanismo fisiológico da ereção peniana

As correntes de potássio têm um papel proeminente na determinação do potencial de membrana, nas células excitáveis, incluindo a muscular lisa do corpo cavernoso. A concentração intracelular do íon $[K^+]_i \cong 155 \text{ mM}$ é muito maior do que a extracelular $[K^+]_o \cong 4 \text{ mM}$, o que produz um fluxo de corrente para o exterior destas células, uma vez que a condutância ao potássio é maior que para qualquer outro, hiperpolarizando-as e mantendo-as relaxadas [Christ 2000].

O fluxo do íon é controlado por três principais via metabólicas: as duas primeiras cAMP/PKA e cGMP/PKG , ativados por PGE_1 e NO respectivamente, aparentemente modulam a atividade do K_{ca} . A terceira via é aquela dos moduladores de canais que exercem seu efeito relaxante no corpo cavernoso alterando a atividade do K_{ATP} (Moon 1999).

Portanto, os dois canais de potássio são importantes na regulação da atividade erétil do pênis. K_{ca} de alta condutância dependente de cálcio e K_{ATP} sensível a pinacidil e regulado metabolicamente. O primeiro é ativado pela PGE_1 , a droga de uso intracavernoso mais comumente usada. O segundo conduz à ereção em macacos e humanos quando seus agonistas: pinacidil, cromacalim e nicorandil são injetados no corpo cavernoso [Anderson 2001, Christ 2000].

Para investigar se a fentolamina relaxa o corpo cavernoso humano via ativação de canais de potássio foram realizados experimentos com bloqueadores específicos. Numa primeira série o fármaco utilizado foi a glibenclamida.

Uma sulfoniluréia de segunda geração, de uso definido como hipoglicemiante oral para tratar pacientes diabéticos, a glibenclamida é um bloqueador específico do canal de potássio regulado por adenosina trifosfato, K_{ATP} [Moon 1999].

A glibenclamida (10^{-4} M) bloqueou de maneira estatisticamente significativa (88%) o relaxamento da fentolamina (10^{-4} M) em tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com solução despolarizante de cloreto de potássio (40 mM) ($56,7 \pm 6,3\%$ x $11,3 \pm 2,3\%$) (figuras 25, 26 e tabela 12). ($P < 0,05$), sugerindo fortemente a participação do canal de potássio de regulação metabólica K_{ATP}

Objetivando dar maior substância ao achado anterior, foram feitos experimentos utilizando uma associação de L-NAME e glibenclamida, infundidos antes da fentolamina, ou seja um duplo bloqueio na cascata de eventos $NO/sGC/cGMP/K_{ATP}$.

A associação de L-nitro-metil ester de arginina (L-NAME) + glibenclamida produziu uma inibição ligeiramente maior do relaxamento da fentolamina (90%) a tiras de corpo cavernoso humano pré-contraídas com KCl (40 mM) ($54,6 \pm 5,6\%$ x $5,7 \pm 1,4\%$) ($p < 0,05$) (figuras 27, 28 e tabela 13).

Estes achados robustecem a proposição de que a fentolamina relaxa o corpo cavernoso humano também por uma outra via metabólica além de seu bloqueio adrenérgico, envolvendo a participação do óxido nítrico, ativação da enzima guanilato ciclase, produção de $cGMP$ e com o concurso final do canal de potássio de regulação metabólica K_{ATP} .

O canal de potássio K_{ATP} foi primeiramente descrito no músculo cardíaco em 1983 [Noma 1983]. Hoje ele está documentado em muitas células excitáveis, incluindo células β do pâncreas, neurônios, músculo liso e esquelético. É um retificador de entrada de íons. Quando cátions adentram a célula ele se abre, permitindo a saída de K^+ minimizando a despolarização e estabilizando o potencial de membrana. Sua característica proeminente é a alta sensibilidade à inibição pela molécula adenosina trifosfato [Baukrowitz 2000].

Tem papel relevante na secreção de insulina das células β do pâncreas em resposta ao aumento da captação intracelular de glicose. É o seu efeito mais nobre como sensor metabólico. O incremento de glicose conduz à elevação da concentração intracelular de ATP que por seu turno liga-se a sítio específico no canal, fechando-o, o que resulta em despolarização da membrana celular e ativação do canal de Ca^{++} dependente de voltagem. Este finalmente dispara a liberação de insulina. Por este motivo o canal K_{ATP} é dito ter regulação metabólica (Figura 36) [Baukrowitz 2000].

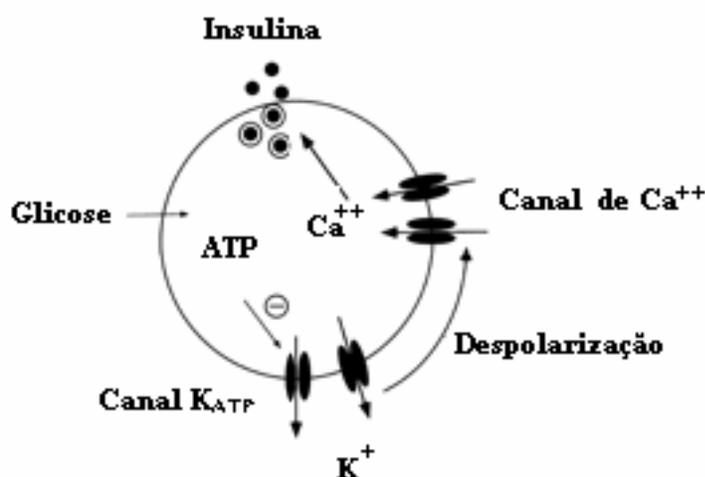


Figura 36. Mecanismo de liberação de insulina via K_{ATP} (Baukrowitz 2000)

Foi a partir de estudos com ativadores exclusivos do canal de potássio de regulação metabólica K_{ATP} (pinacidil, cromacalim, nicorandil, minoxidil e diazóxido) que se começou a especular se aqueles canais teriam algum papel na fisiologia e farmacologia da ereção peniana [Anderson 1992].

Giraldi *et al* em 1990 trabalhando com pinacidil demonstrou em estudo *in vitro* que ela induzia uma inibição da resposta contrátil do corpo cavernoso à incubação com noradrenalina e soluções despolarizantes de K^+ , em humanos e porcos. No mesmo estudo os autores fizeram experimentos com injeções intracavernosas do fármaco em macacos e demonstraram tumescência e rigidez peniana [Giraldi 1990].

Outros autores no mesmo ano de 1990, já citados, estudaram os ativadores do canal K_{ATP} , cromacalim e pinacidil, comparando seus efeitos com o da paraverina um inibidor inespecífico de fosfodiesterase, em experimentos isolados de corpo cavernoso de coelhos. Eles evidenciaram que os dois primeiros fármacos deprimiam as contrações induzidas por EFS, NA e K^{++} , mais eficazmente que o terceiro e especularam que eles relaxavam os tecidos eréteis penianos provavelmente abrindo os canais de K^+ e subsequente hiperpolarização [Holmquist 1990].

Pesquisa eletrofisiológica e farmacológica conduzida com miócitos isolados de corpo cavernoso humano, publicada em 1999, demonstrou a presença de canais com características próprias do K_{ATP} , (eram inibidos por adenosina trifosfato, sensíveis a glibenclamida e tinham atividade aumentada por pinacidil e levromacalim,). Caracterizou definitivamente a presença destes canais na célula muscular lisa de corpo cavernoso humano [Lee 1999].

Em modelo felino, estudo *in vivo*, Moon e colaboradores, trabalhando com os compostos eretogênicos, ACh, PGE_1 e L-arginina, o ativador de canal de potássio pinacidil e os bloqueadores de canais de potássio 4-aminopiridina (K_V), glibenclamida (K_{ATP}) e tetraetilamonio (TEA) (K_{ATP} e K_{Ca}) comprovaram terem aqueles canais de íons papel relevante na ereção peniana [Moon 1999].

Em outros grupos experimentais, para elucidar a dúvida sobre a participação do canal de potássio sensível a Ca^{++} , (K_{ca}) no relaxamento induzido pela fentolamina foram efetuados estudos com fragmentos de corpo cavernoso humano pré-contraídos com KCl (40 mM) e pré-incubados com apamina e caribdotoxina (10^{-7} M)

Estes dois fármacos exibem um efeito inibitório sobre o canal K_{ca} . A Caribdotoxina é um bloqueador potente deste canal na sua variedade de alta condutância (Maxi-K), não afetando aqueles sensíveis a apamina, que são considerados ativos em baixa condutância [Archer, 2002].

Pré-incubação com apamina e caribdotoxina em tiras de corpo cavernoso pré-contraídas com solução despolarizante de cloreto de potássio (40 mM) não exerceram qualquer influencia sobre o relaxamento induzido pela fentolamina ($54,6 \pm 4,6\%$ x $59,3 \pm 5,2\%$) (figuras 29, 30 e tabela 14), tornando improvável a participação do canal de potássio K_{ca} na sua ação relaxadora.

O canal de potássio sensível à voltagem K_{ca} é o mais descrito no músculo liso cavernoso humano, em estudos moleculares e em pesquisas com miócitos isolados frescos ou em cultura de tecidos. Sua ativação tem importante papel no relaxamento induzido pela PGE_1 [Christ 2000]. Ele age como um freio na vasoconstrição promovendo repolarização e relaxamento e é ativado pelo NO e cGMP através de fosforilação envolvendo a proteína cinase G.[Archer 2002].

Trabalhando com fragmentos de corpo cavernoso colhidos de pacientes operados para implante de prótese peniana, (62 pacientes, 154 preparações) Spektor fez estudos farmacológicos e eletrofisiológicos e, demonstrou a onipresença e importância do canal de potássio K_{ca} no corpo cavernoso de humanos, confirmando os resultados anteriores, em

ratos e em animal *nobili*, de sua modulação ao relaxamento e contração do músculo liso [Spektor 2002].

Fan e colaboradores estudaram culturas celulares obtidas de corpo cavernoso de dois grupos de pacientes: 1) sem evidência de DE orgânica e 2) com DE de causa orgânica. Os autores mostraram que 90% do fluxo de K^+ saindo das células passavam por canais cuja condutância era similar a descrita para o K_{ca} e documentaram alterações de sensibilidade ao inibidor seletivo (TEA) naqueles com DE orgânica. Especularam então que o K_{ca} tem importante papel na fisiologia do músculo liso cavernoso e que modificações na sua função/regulação pode ser responsável pela DE deste grupo de pacientes [Fan 1995].

Em estudos com pequenas artérias de pênis de cavalo, Prieto demonstrou que seu relaxamento endotélio-dependente envolve a liberação de NO e de um fator não-NO-não-prostanóide, que hiperpolarizam o músculo liso por dois mecanismos diferentes: aumento da condutância do canal de potássio sensível a voltagem K_{ca} e ativação da bomba $Na^+K^+ATP_{ase}$ [Prieto 1998].

Wang *et al* em 2000 publicaram um artigo comparando o canal de potássio K_{ca} de humanos e de ratos. Eles fizeram estudos com culturas de células obtidas de pacientes operados de prótese peniana e de ratos Sprague-Dawley. Foi a primeira evidencia eletrofisiológica da presença daquele canal em ratos. Eles Demonstraram numerosas similaridades morfo, eletro e fisiológicas e, especularam que o mesmo canal é importante na regulação da ereção peniana nas duas espécies estudadas [Wang 2000].

O presente estudo não evidenciou qualquer papel do K_{ca} no relaxamento induzido pela fentolamina (10^{-4} M) nos fragmentos de corpo cavernoso humano, pré-contraídos com KCl (40 mM) o que poderia parecer contraditório em relação aos trabalhos citados nos

parágrafos anteriores, no entanto o modelo experimental é diferente e nenhum deles negou a existência e a importância do canal K_{ATP} nos tecidos estudados.

Estudo recente publicado em 2002 por Venkateswarlu e colaboradores vem reforçar ainda mais os achados desta pesquisa. Os autores trabalhando com 215 fragmentos obtidos de pênis de pacientes durante aposição de prótese peniana, documentaram um relaxamento do músculo cavernoso, pré-contraído com fenilefrina, induzido pela infusão de pinacidil e levocromacalim e, sensível à glibenclamida. Estudos eletrofisiológicos de miócitos isolados evidenciaram uma corrente de potássio com característica similar. Os dados demonstraram inequivocamente que o canal K_{ATP} tem também um importante papel no relaxamento do músculo liso cavernoso [Venkateswarlu 2002].

Um último experimento procurou avaliar a influência de um meio isento de Ca^{++} sobre o efeito da fentolamina. Tiras de corpo cavernoso humano foram incubados em banho com cálcio nominal zero acrescido de EDTA, pré-contraído com $PGF_{2\alpha}$ e infundidos com o bloqueador α -adrenérgico. Houve um bloqueio (75%) do relaxamento da fentolamina ($43,6 \pm 6,3 \times 11,2 \pm 2,3$) ($p < 0,05$) (figuras 31,32 e tabela 15), demonstrando que sua ação se faz, pelo menos parcialmente, a nível extracelular, não atuando na liberação intracelular de cálcio, na interação cálcio-calmodulina ou quaisquer outros eventos relacionados à ação do cálcio como segundo mensageiro e, que não afeta a maquinaria contrátil intracelular. A reversibilidade deste efeito demonstra também que este composto não produz dano tóxico na musculatura lisa.

Considerações finais

A fentolamina um antagonista α -adrenérgico não seletivo, associada a papaverina (inibidor das fosfodiesterases) e PGE_1 , tem sido usada por via intracavernosa, para o tratamento da disfunção erétil. A partir da segunda metade da década de 90 foi desenvolvida uma formulação nova para uso oral objetivando dissolução e picos séricos mais rápidos.

A propósito de estudo de bioequivalência realizado, os parâmetros farmacocinéticos encontrados não foram muito divergentes dos relatos da literatura: $T_{max} = 50$ min, $t_{1/2} = 4$ h e $C_{max} = 14,2$ ng/mL.

No estudo farmacodinâmico em uma primeira série de experimentos, a fentolamina relaxou tiras de corpo cavernoso de humanos pré-contraídos com 5-HT, $PGF_{2\alpha}$, KCl e fenilefrina, com a maior eficiência frente a esta última, demonstrando sua ação primordial com antagonista α -adrenérgica.

No entanto também teve ação relaxadora nas preparações com as outras drogas, incluindo KCl, em ambiente livre da influência adrenérgica e de prostanóides, evidenciando efeito por outra via.

Em experimentos a seguir conduzidos com pré-incubações com TTX e atropina não se constatou modificações no efeito da fentolamina, robustecendo a evidência de uma via metabólica alternativa NANC.

Na presença de um ambiente livre de cálcio e em experimentos comparativos com o bloqueador do canal de Ca^{++} (nifedipina) se demonstrou que sua atuação não se fazia na maquinaria contrátil intracelular e sim nos receptores de membrana, porém não associada àquele canal.

Estudos na presença do L-NAME (inibidor da NOS) e ODQ (inibidor da sGS) foram evidenciados bloqueios (53%) e (57%) respectivamente, à ação relaxante da fentolamina nos fragmentos de corpo cavernoso humano, sobrando evidências da ação do fármaco no eixo L-Arginina/NO/ $cGMP$.

Nos últimos anos se tem dado muito destaque à função/regulação dos canais de potássio sobre o tecidos eréteis penianos, em humanos e em animais de experimentação, principalmente o K_{ATP} e o K_{ca} .

Para investigar se ocorre ativação deles para a concretização do efeito relaxante da fentolamina no músculo liso cavernoso humano, foi feita uma série de experimentos com os bloqueadores caribdotoxina e apamina (bloqueadores do K_{ca}) e Glibenclamida (bloqueador do K_{ATP}).

Os achados apontam para uma ação sobre os canais de potássio K_{ATP} . Estudo com pré-incubação com glibenclamida e outro com glibenclamida + L-NAME demonstrou bloqueio de 88% e 90% respectivamente, no relaxamento da fentolamina em fragmentos de corpo cavernoso humano, sugerindo fortemente a participação daquele canal de íons.

Que efetor estaria ativando o canal K_{ATP} , o $cGMP$ ou a fentolamina *per si*? Os dados obtidos deste estudo parecem indicar que o NO não o ativa neste modelo, haja vista que o bloqueio levado a efeito pelo L-NAME e ODQ foram similares.

O bloqueio do relaxamento da fentolamina em músculo cavernoso humano para o ODQ ($\approx 60\%$) e Glibenclamida + L-NAME (90%) sugere que o $cGMP$ ativa diretamente o canal de potássio K_{ATP} , no entanto há um percentual do efeito não atribuído a ele ($\approx 30\%$). Este dado final aponta para um papel direto da fentolamina naquele canal.

O fármaco agiria então, no corpo cavernoso humano por outros mecanismos, além do seu próprio (bloqueio α -adrenérgico), Pela via metabólica NANC / K_{ATP} e ainda ativando diretamente este canal de potássio regulado metabolicamente.

Uma representação esquemática das ações da fentolamina, pode ser vista na figura 37, porém uma interrogação persiste, como a fentolamina estimula a liberação de NO da célula endotelial? Há um receptor ainda não identificado como sugeriu Traish em seu artigo? Se poderia especular que ela agiria de algum modo inibindo uma pressuposta proteína inibitória do receptor M_3 na célula endotelial.

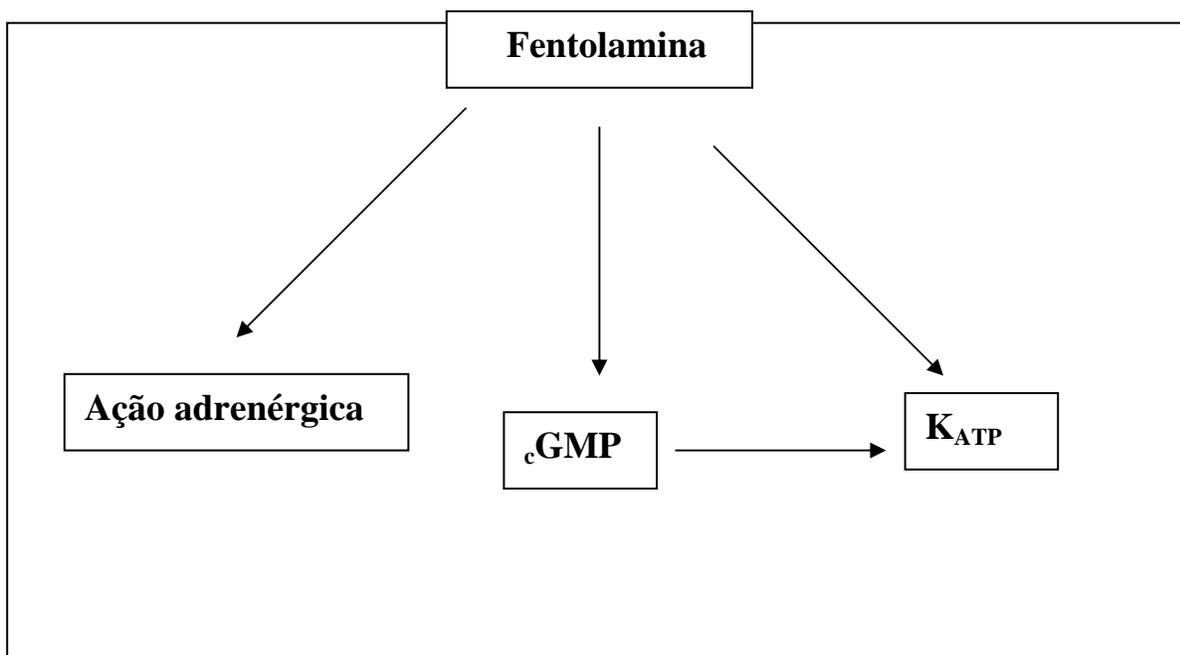


Figura 37. Ações farmacológicas da fentolamina

Conclusões

As duas formulações disponíveis de fentolamina para tratar a disfunção erétil são bioequivalentes.

A fentolamina relaxa o corpo cavernoso de humanos por mecanismo outro que não o seu bloqueio adrenérgico.

Este relaxamento não adrenérgico independe:

- Da síntese e liberação de prostanóides relaxantes e bloqueio do efeito de prostanóides contraturantes
- De ações em receptores colinérgicos muscarínicos (efeito não colinérgico)
- Da ativação de neurônios nitrérgicos ou bloqueio de neurônios excitatórios
- De alterações na condutância do canal de Ca^{++} voltagem-dependente tipo L
- Da ativação de canais de potássio retifivadores e ativados por cálcio K_{Ca} e do aumento do Ca^{++} intracelular.

O relaxamento não adrenérgico induzido pela fentolamina em corpo cavernoso humano depende:

- Parcialmente da atividade das enzimas NOS endotelial e guanilato ciclase solúvel.
- Primordialmente da atividade do canal de potássio K_{ATP}
- Da interação entre a via NO-cGMP / canal K_{ATP} e, da ação direta da fentolamina neste canal.

REFERÊNCIAS

- ACHER, S. L. Potassium channels and erectile dysfunction. **Vasc. Pharmacol.**, v. 38, p. 61-71, 2002.
- ALTWEIN, J. E.; KEULER, F. U. Oral treatment of erectile dysfunction with apomorphine SL. **Urol. Int.**, v. 67, p. 257-263, 2001.
- ANDERSSON, K. E. Clinical pharmacology of potassium channel openers. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 70, p. 244-254, 1992.
- _____. Pharmacology of penile erection. **Pharmacol. Rev.**, v. 53, p. 417-450, 2001.
- _____. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. **J. Urol.**, v. 170, p. S6-S14, 2003.
- ANDERSSON, K. E.; SITIEF, C. G. Neurotransmission and the contraction and relaxation of penile erectile tissues. **World J. Urol.**, v. 15, p. 14-20, 1997.
- ANDERSSON, K. E.; WAGNER, G. Physiology of penile erection. **Physiol Rev.**, v. 75, p. 191-236, 1995.
- ARGIOLAS, A. Oxytocin stimulation of penile erection. Pharmacology, site, and mechanism of action. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 652, p. 194-203, 1992.
- ARGIOLAS, A.; MELIS, M. R.; MURGIA, S.; SCHIOTH, H. B. ACTH and alpha-MSH-induced grooming, stretching, yawning and penile erection in male rats: site of action in the brain and role of melanocortin receptors. **Brain Res. Bull.**, v. 51, p. 425-431, 2000.
- ARMSTRONG, D. K.; CONVERY, A.; DINSMORE, W. W. Intracavernosal papaverine and phentolamine for the medical management of erectile dysfunction in a genitourinary clinic. **Int. J. STD AIDS**, v. 4, p. 214-216, 1993.
- AZADZOI, K. M.; VLACHIOTIS, J.; PONTARI, M.; SIROKY, M. B. Hemodynamics of penile erection: III. Measurement of deep intracavernosal and subtunical blood flow and oxygen tension. **J. Urol.**, v. 153, p. 521-526, 1995.
- BARADA, J. H.; BENETT, A. H. A computerized database for outcome analysis in impotent patients treated with intracavernous papaverine/phentolamine/PGE1. **J. Urol.**, v. 145, p. 875-879, 1991.
- BAUKROWITZ, T.; FAKLER, B. KATP channels gated by Intracellular nucleotides and phospholipids. **Eur. J. Biochem.**, v. 267, p. 5842-5848, 2000.
- BECHER, E. F. Tratamento da disfunção erétil com bomba de vácuo. In: GLINA, S. **Disfunção sexual humana: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Instituto H. Ellis, 2002. cap. 3.5, p. 231-234.

BEJIN, A. Épidémiologie de léjaculation prématurée et de son cumul avec la dysfonction érectile. **Andrologie**, v. 9, p. 211, 1999.

BENOWITZ, N. L. Antihypertensive agents. In: KATZUNG, B. G. **Basic and clinical pharmacology**. 7th ed. Stamford: Appleton & Lange, 1998. cap.11, p.153–178.

BENSON, G. S.; BOILEAU, M. A. The penis: sexual function and dysfunction. In: GILLENWATER, J. Y. **Adult and pediatric urology**. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. v. 2, cap. 42, p. 1937.

BEUTEL, M. Psychosomatic aspects in the diagnosis and treatment of erectile dysfunction. **Andrologia**, v. 31, suppl. 1, p. 37-44,1999.

BEVILACQUA, T. J.; CHAMPIOIN, H. C.; HELLSTRON, W. J. G.; KADOWITZ, P. J. Pharmacotherapy for erectile dysfunction. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 21, p. 484-499, 2000.

BEZERRA, A. J. C. **As belas artes da medicina**. Brasília: Conselho Regional de Medicina do DF, 2003. cap. 1, p. 18.

BOYCE, E. G.; UMLAND, E. M. Sildenafil citrate: a therapeutic update. **Clin. Ther.**, v. 23, p. 2-23, 2001.

BRADING, A. F.; BURDYGA, T. V.; ACRIPNYUK, Z. D. The effects of papaverine on the electrical and mechanical activity of the guinea-pig ureter. **J. Physiol.**, v. 334, p. 79-89, 1983.

BRAGA, R. S.; JARDIM, C. R. Tratamento da disfunção erétil por auto-injeção. In: GLINA, S. **Disfunção sexual humana: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Sp. Instituto H. Ellis, 2002. cap. 3.2, p. 217-221.

BRAUNSTEIN, G. D. Endocrine causes of impotence: optimistic outlook for restoration of potency. **Postgrad. Med.**, v. 74, p. 207-217, 1983.

BRENOTT, P. H. apud LUE, T. F. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and Priapism. In: **CAMPBELL'S Urology**. 8th ed. Philadelphia: Saunders, 2002. v. 2, cap. 45, p. 1591.

BRINDLEY, G. S. Cavernosal alpha-blockade: a new technique for investigating and treating erectile impotence. **Br. J. Psychiatry**, v. 431, p. 332-337, 1983.

BROCK, G. B.; LUE, T. F. Drug-induced male sexual dysfunction. An update. **Drug Saf**, v. 8, p. 414-426, 1993.

BROCK, G. B.; MCMAHON, C. G.; CHEN, K. K.; COSTIGAN, T.; SHEN, W.; WATKINS, V.; ANGLIN, G.; WHITAKER, S. Efficacy and safety of tadalafil for the

treatment of erectile dysfunction: results of integrated analyses. **J. Urol.**, v. 168, p. 1332-1336, 2002.

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

BURNETT, A. L. Role of nitric oxide in the physiology of erection. **Biol. Reprod.**, v. 52, p. 485-489, 1995.

_____. Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. **J. Urol.**, v. 157, p. 320-324, 1997.

_____. Oral pharmacotherapy for erectile dysfunction : current perspectives. **Urology**, v. 54, p. 392-400, 1999.

BRIONI, J. D.; NAKANE, M.; HSIEH, G. C.; MORELAND, R. B.; KOLASSA, T.; ULLIVAN, J. P. Activators of soluble guanylate cyclase for the treatment of male erectile dysfunction. **Int. J. Impot. Res.**, v. 14, p. 8-14, 2002.

CELLEK, S.; MONCADA, S. Nitregic control of peripheral sympathetic responses in the human corpus cavernosum: a comparison with other species. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 94, p. 8226-8231, 1997.

CELLEK, S.; RODRIGO, J.; LOBOS, E.; FERNANDEZ, P.; SERRRANO, J.; MONCADA, S. Selective nitregic neurodegeneration in diabetes mellitus a nitric oxide-dependent phenomenon. **Br. J. Phamacol.**, v. 128, p. 1804-1812, 1999.

CERQUEIRA, J.; MORAES, M.; GLINA, S. Erectile dysfunction: prevalence and associated variables in patients with chronic renal failure. **Int. J. Impot. Res.**, v. 14, p. 65-71, 2002.

CHEW, K. K.; EARLE, C. M.; STUCKEY, B. G.; JAMROZIK, K.; KEOGH, E. J. Erectile dysfunction in general medicine practice: prevalence and clinical correlates. **Int. J. Impot. Res.**, v. 12, p. 41-45, 2000.

CHITALEY, K.; WINGARD, C. J.; CLINTON WEBB, R. C.; BRANAN, H.; STOPPER, V. S.; LEWIS, R. W.; MILLS, T. M. Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-independent pathway. **Nat. Med.**, v. 7, p. 119-122, 2001.

CHITALEY, K.; WEBB, R. C.; MILLS, T. M. RhoA / Rho-kinase: a novel player in the regulation of penile erection. **Int. J. Impot. Res.**, v. 13, p. 67-72, 2001.

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.

CHRIST, G. J.; WANG, H. Z.; VENKATESWARLU, Z.; ZHAO, W.; DAY, N. S. Gap junctions and ion channels: relevance to erectile dysfunction. **Int. J. Impot. Res.**, v. 12, p. S15-S20, 2000.

CHRIST, G. J.; MAAYANI, S.; VALCIC, M.; MELMAN, A. Pharmacologic study of human erectile tissue: Characteristics of spontaneous contractions and alterations in alpha-adrenoceptor responsiveness with age and disease in isolates tissues. **Br. J. Pharmacol.**, v. 101, p. 375-381, 1990.

CORNELY, C. M.; SCHADE, R. R.; VAN THIEL, D. H.; GAVALER, J. S. Chronic advanced liver disease and impotence: cause and effect? **Hepatology**, v. 4, p. 1227-1230, 1984.

DAHYIA, R.; LIN, A.; BAKIRCIOGLU, M. E.; HUANG, S. T.; LUE, T. F. mRNA and protein expression of nitric oxide synthase and adrenoceptor alpha 1 in young and old rat penile tissue. **Br. J. Urol.**, v. 80, p. 300-306, 1997.

DALE, M. M. Nitric oxide. In: RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Pharmacology**. 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1995. cap.10, p.210-211.

DALLAL, G. E.; WILKINSON, L. An analytic approximation to the distribution of Lilliefors' test statistic for normality. **Am. Stat.**, v. 40, p. 294-296, 1986.

DE BROS, F.; WOLSHIN, E. M. Determination of phentolamine in blood and urine by high performance liquid chromatography. **Anal. Chem.**, v. 50, p. 521-525, 1978.

DOLLERY, C. Phentolamine mesylate. In: DOLLERY, C. **Therapeutic drugs**. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone, 1999. p. 97-99.

DONATUCCI, C. F.; LUE, T. F. Erectile dysfunction in men under 40: etiology and treatment choice. **Int. J. Impot. Res.**, v. 5, p. 97-103, 1993.

EARDLEY, I. Tadalafil (Cialis) for men with erectile dysfunction. **Int. J. Clin. Pract.**, v. 56, p. 300-304, 2002.

EARDLEY, I.; SETHIA, K.; DEAN, J. **Erectile dysfunction** - a guide for the first degree assistance. London: Mosby-Wolfe Medical Communication – Harcourt Publishers Ltda, 1999. cap. 8, p. 87.

ESCRIG, A.; MARIN, R.; MAS, M. Repeated PGE1 treatment enhances nitric oxide and erection responses to nerve stimulation in the rat penis by upregulating constitutive NOS isoforms. **J. Urol.**, v. 162, p. 2205-2210, 1999.

FAN, S. F.; BRINK, P. R.; MELMANN, A.; CHRIST, G. J. An analysis of the Maxi-K⁺ (Kca) channel in cultured human corporal smooth muscle cells. **J. Urol.**, v. 153, p. 818-825, 1995.

FARIA, G. E. Complicações pós-implante. In: GLINA, S. **Disfunção sexual humana: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Instituto H. Ellis, 2002. cap. 3.8.4, p. 276-283.

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.

FIRST INTERNATIONAL Consultation on Erectile Dysfunction, Paris, 1999.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **In vivo bioequivalence guidances**. 1998.

FOREMAN, M. M.; WERNICKE, J. F. Approaches for the development of oral drug therapies for erectile dysfunction. **Semin. Urol.**, v. 8, p. 107-112, 1990.

GARBAN, H.; MARQUEZ, D.; CAI, L.; RAJFER, J.; GONZALEZ-CADAVID, N. F. Restoration of normal adult penile erectile response in aged rats by long-term treatment with androgens **Biol. Reprod.**, v. 53, p. 1365-1372, 1995.

GEUMEI, A.; MILLER, J. R.; MILLER, W. F. Effects of phentolamine inhalation on patients with bronchial asthma. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v 2, p. 539-540, 1975.

GIRALDI, A.; WAGNER, G. Effects of pinacidil upon penile erectile tissue, in vitro and in vivo. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 67, p. 235-238, 1990.

GIULIANO, F.; ALLARD, J.; RAMPIN, O.; DROUPY, S.; BENOIT, G.; ALEXANDRE, L.; BERNABE, J. Pro-erectile effect of systemic apomorphine: existence of a spinal site of action. **J. Urol.**, v.167, p. 402-406, 2002.

GIULIANO, F.; RAMPIN, O.; BROWN, K.; COURTOIS, F.; BENOIT, G.; JARDIN, A. Stimulation of the medial preoptic area of the hypothalamus in the rat elicits increases in intracavernous pressure. **Neurosci. Lett.**, v. 209, p. 1-4, 1996.

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, , 2002. cap. 2.1, p. 131-133.

GLINA, S. Disfunção erétil. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA. **Programa de Educação Continuada da Escola Superior de Urologia**. São Paulo, 2002. p.11.

GLINA, S.; BERTERO, E.; CLARO, J.; DAMIAO, R.; FARIA, G.; FREGONESI, A.; JASPERSEN, J.; MENDOZA, A.; MATTOS, D.; ROCHA, L. C.; SOTOMAIOR, M.;

TELOKEN, C.; URETA, S.; ZONANA, E.; UGARTE, F. Efficacy and safety of flexible-dose oral sildenafil citrate (Viagra) in the treatment of erectile dysfunction in Brazilian and Mexican men. **Int. J. Impot. Res.**, v. 14, suppl. 2, p. 27-32, 2002.

GOLDSTEIN, I. Oral phentolamine: an alpha-1, alpha-2 adrenergic antagonist for the treatment of erectile dysfunction. **Int. J. Impot. Res.**, v. 19, p. 51-56, 2000.

GOLDSTEIN, I.; CARSON, C.; ROSEN, R.; ISLAM, A. Vasomax for the treatment of male erectile dysfunction. **World J. Urol.**, v. 19, p. 51-56, 2001.

GOLDSTEIN, I.; LUE, T. F.; PADMA-NATHAN, H.; ROSEN, R. C.; STEERS, W. D.; WICKER, P. A. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. **N. Engl. J. Med.**, v. 338, p. 1397-1404, 1998.

GOLDSTEIN, I.; FELDMAN, M. I.; DECKERS, P. J. Radiation-associated impotence: a clinical study of this mechanism. **JAMA**, v. 251, p. 903-910, 1984.

GOULD, L.; REDDY, C. V. Phentolamine. **Am. Heart J.**, v. 92, p. 397-402, 1976.

GWINUP, G. Oral phentolamine in nonspecific erectile insufficiency. **Ann. Intern. Med.**, v. 109, p. 162-163, 1988.

HAKIN, L. S.; GOLDSTEIN, I. Diabetic sexual dysfunction. **Endocrinol. Metab. Clin. North Am.**, v. 25, p. 379-400, 1996.

HATZCHRISTOU, D.; GOLDSTEIN, I. Penile microvascular arterial bypass: indications and surgical considerations. **Surg. Annu.**, v. 25, p. 207-229, 1993.

HAUCK, E. W.; SCHROEDER-PRINCTZEN, I.; WEIDNER, W. Rational diagnosis of erectile dysfunction. **Urologe A**, v. 37, p. 495-502, 1998.

HEATON, J. P. Characterizing the benefit of apomorphine SL (Uprima) as an optimized treatment for representative populations with erectile dysfunction. **Int. J. Impot. Res.**, v. 13, suppl. 3, p. 35-39, 2001.

HEDLUNG, P.; HOLMQUIST, F.; HEDLUNG, H.; ANDERSON, K. E. Effects of nicorandil on human isolated corpus cavernosum and cavernosus artery. **J. Urol.**, v. 151, p. 1107-1113, 1994.

HELLSTROM, W. J. G.; WANG, R.; KADOWITZ, P. J.; DOMER, F. R. Potassium channel agonists cause penile erection in cats. **Int. J. Impot. Res.**, v. 4, p. 35, 1992.

HOFFMAN, B. B. Adrenoceptor-activating & other sympathomimetic drugs. In: KATSUNG, B. G. **Basic and clinical pharmacology**. Stamford: Appleton & Lange, 1998. cap.9, p.128.

_____. Adrenoceptor antagonist drugs. In: KATSUNG, B. G. **Basic and clinical pharmacology**. 7th ed. Stamford: Appleton & Lange, 1998. cap.10, p.138.

HOLMMQUIST, F.; ANDERSON, K. E.; FOVAEUS, M.; HEDLUNG, H. K⁺ channel openers for relaxation of isolated penile ereectile tissue from rabbit. **J. Urol.**, v. 144 p. 146-151, 1990.

HWANG, T. I.; YANG, C. R. Penile vein ligation for venogenic impotence. **Eur. Urol.**, v. 26, p. 46-51, 1994.

IBANEZ, M.; AGUILLAR, J. J.; MADERAL, M. A.; PRATS, E.; FARRERO, E.; FONT, A.; ESCARRABILL, J. Sexuality in chronic respiratory failure: coincidences and divergences between patient and primary caregiver. **Respir. Med.**, v. 95, p. 975-979, 2001.

IGNARRO, L. J.; BUSH, P. A.; BUGA, G. M.; WOOD, K. S.; FUKUTO, J. M.; RAJFER, J. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimularion cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 170, p. 843-850, 1990.

ISHII, N.; WATANABE, H.; IRISAWA, C.; KIKUCHI, Y.; KAWAMURA, S.; SUSUKI, K.; CHIBA, R.; TOKIWA, M.; SHIRAI, M. Studies on males sexual impotence. Report 18. Therapeutic trial with prostaglandin E1 for organic impotence. **Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi**, v. 77, p. 954 – 962, 1986.

JOCELYN, H. D.; SETCHELL, B. P.; REGNIER, D. E.; GRAAF, . On the human reproductive organs: an annotated translation of Tracratus de virorum organis generations inservevientibus. **J. Reprod. Fertil.**, v. 17, p. 97-99, 1972.

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.

JONAS, U. The history of erectile dysfunction management. **Int. J. Impot. Res.**, v. 13, suppl. 3, p. 3-7, 2001.

JONLER, M.; MOON, T.; BRANNAN, W.; STONE, N. N.; HEISEY, D.; BRUSKEWITZ, R. C. The effect of age, ethnicity and geographical location on impotence and quality of life. **Br. J. Urol.**, v.75, p. 651-655, 1995.

JOHNSON, A. R. D.; JAROW, J. P. Is routine endocrine testing of impotent men necessary? **J. Urol**, v. 147, p. 1542 - 1543, 1992;

JUNEMANN, K. P.; LUE, T. F.; LUO, J. A.; BENOWITZ, N. L.; ABOZEID, M.; TANAGHO, E. A. The effect of cigarette smoking on penile erection. **J. Urol.**, v. 138, p. 438-441, 1987.

KAISER, F. E.; VIOSCA, S. P.; MORLEY, J. E.; MOORANDIAN, A. D.; DAVIS, S. S.; KORENMAN, S. G. Impotence and aging: clinical and hormonal factors. **J. Am. Geriatr. Soc.**, v. 36, p. 511-519, 1988.

KAPOOR, V. K.; CHAHAL, A. S.; JYOTI, S. P.; MUNDKUR, Y. J.; KOTWAL, S. V.; MEHTA, V. K. Intracavernous papaverine for impotence in spinal cord injured patients. **Papaplegia**, v. 31, p. 675-677, 1993.

KATZUNG, B. G.; FURTS, D. E. Nonsteroid anti-inflammatory drugs; disease modifying antirheumatic drugs; nonopioid analgesics; drugs used in gout. In: KATSUNG, B. G. **Basic and clinical pharmacology**. 7th ed. Stamford: Appleton & Lange, 1998. cap. 36, p. 588.

KEEGAN, A.; COTTER, M. A.; CAMERON, N. E. Effects of diabetes and treatment with antioxidant alpha-lipoic acid on endothelial and neurogenic responses of corpus cavernosum in rats. **Diabetologia**, v. 42, p. 343-350, 1999.

KESSLER, W. O. Nocturnal penile tumescence. **Urol. Clin. North Am.**, v. 15, p. 81-86, 1988.

KIM, N. H.; HUANG, Y. H.; GOLDSTEIN, I.; BISCHOFF, E.; TRAIS, A. M. T. Inhibition of cyclic GMP hydrolysis in human corpus cavernosum smooth muscle cells by vardenafil, a novel, selective phosphodiesterase type 5 inhibitor. **Life Sci.**, v. 69, p. 2249-2256, 2001.

KIM, N. H.; VARDI, Y.; PADMA-NATHAN, H.; DALEY, J.; GOLDSTEIN, I.; SAENZ, D. E.; TEJADA, I. Oxygen tension regulates the nitric oxide pathway: physiological role in penile erection. **J. Clin. Invest.**, v. 91, p. 437-442, 1993.

KINSEY, A. C.; POMEROY, W. B.; MARTIN, C. E. *apud* LUE, T. F. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and Priapism. In: **CAMPBELL'S urology**. 8th ed. Philadelphia: Saunders, 2002. v. 2, cap. 45, p. 1591.

KONGKANAND, A.; ATANA-OLARN, K.; WUDDHIKARN, S.; LUENGWATTANAKIT, S.; TANTIWONG, A.; RUENGDILOKRAT, S.; OPANURAKS, J.; SRIPALAKIT, S. Evaluation of transurethral alprostadil for safety in men with erectile dysfunction. **J. Med. Assoc. Thai**, v. 85, p. 223-228, 2002.

LEE, S. W.; WANG, H. Z. M.; CHRIST, G. J. Characterization of ATP-sensitive potassium channels in human corporal smooth muscle cells. **Int. J. Impot. Res.**, v. 11, p. 179-188, 1999.

LEONARD, M. P.; NICKEL, C. J.; MORALES, A. Hyperprolactinemia and impotence : Why and how to investigate. **J. Urol.**, v. 142, p. 992-994, 1989.

LERNER, F. E.; CALIENDO, G.; SANTAGADA, V.; SANTANA, G. S. M.; MORAES, M. E. A.; DE NUCCI, G. Claritromycin bioequivalence study of two oral formulations in healthy human volunteers. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, v. 38, p. 345-354, 2000.

LERNER, S. E.; MELMAN, A.; CHRIST, G. J. A review of erectile dysfunction: new insights and more questions. **J. Urol.**, v. 149, p. 1246-1255, 1993.

LEVINE, F. J.; GREEFIELD, A. J.; GOLDSTEIN, I. Arteriographically determined occlusive disease within the hypogastric-cavernous bed in impotent patients following blunt perineal and pelvic trauma. **J. Urol.**, v. 144, p. 1146-1153, 1990.

LEVINE, L. A.; LENTING, E. L. Use of nocturnal penile tumescence and rigidity in the evaluation of male erectile dysfunction. **Urol. Clin. North Am.**, v. 22, p. 775-788, 1995.

LEWIS, R. W.; JORDAN, G. H. Surgery for erectile dysfunction. In: **CAMPBELL'S Urology**. 8th ed. Philadelphia: Saunders, 2002. v. 2, cap. 47, p. 1674.

LINCOLN, T. M.; CORNWELL, T. L. Intracellular cyclic GMP receptor proteins. **FASEB J.**, v. 7, p. 328-338, 1993.

LINET, O. I.; OGRINC, F. G. Efficacy and safety of intracavernosal alprostadil in men with erectile dysfunction. The Alprostadil Study Group. **N. Engl. J. Med.**, v. 334, p. 873-878, 1996.

LIZZA, E. F.; ROSEN, R. C. Definition and classification of erectile dysfunction: report of the Nomenclature Committee of the International Society of Impotence Research. **Int. J. Impot. Res.**, v. 11, p. 141-143, 1999.

LUCAS, K. A.; PITARI, G. M.; KAZEROUNIAN, S.; RUIZ-STEWART, I.; PARK, J.; SCHULZ, S.; CHEPENIK, K. P.; WALFMAN, S. A. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. **Pharmacol. Rev.**, v. 52, p. 375-414, 2000.

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

_____. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and Priapism. In: **CAMPBELL'S Urology**. 8th ed. Philadelphia: Saunders, 2002. v. 2, cap. 45, p. 1591.

_____. Penile venous surgery. **Urol. Clin. North Am.**, v. 16, p. 607-611, 1989.

MALYSZ, J.; GIBBONS, S. J.; MILLER, S. M.; GETTEMAN, M.; NEHRA, A.; SZURSZEWSKI, J. H.; FARRUGIA, G. Potassium outward currents in freshly dissociated rabbit corpus cavernosum myocytes. **J. Urol.**, v. 166, p. 1167-1177, 2001.

MANNINO, D. M.; KLEVENS, R. M.; FLANDERS, W. D. Cigarette smoking: an independent risk factor for impotence? **Am. J. Epidemiol.**, v. 140, p. 1003-1008, 1994.

MARANHÃO, M. F.; LOPES, M.; ROCHA, S. W.; OLIVEIRA, P. F.; OLIVEIRA, J. C.; FURLANE, L.; RAMALHO, J.; ROMERO ROJAS, T. I.; CARVALHO, R. D.; LOURES,

D. R.; DA CUNHA, G. P. Treatment of heart arrhythmia with Phentolamine (preliminary report). **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 28, p. 107-115, 1976.

MARIN, R.; ESCRIG, A.; ABREU, P.; MAS, M. Androgen-dependent nitric oxide release in rat penis correlates with levels of constitutive nitric oxide synthase isoenzymes. **Biol. Reprod.**, v. 61, p. 1012-1016, 1999.

MARSON, L.; PLATT, B.; MCKENNA, K. E. Central nervous system innervation of the penis as revealed by the transneuronal transport of pseudorabies virus. **Neuroscience**, v. 55, p. 263-280, 1993.

MARSON, L.; MCKENNA, K. E. A role for 5-hydroxytryptamine in descending inhibition of spinal sexual reflexes. **Exp. Brain Res.**, v. 88, p. 313-320, 1992.

MASTER, W. H.; JONHSON, V. E. **On Human sexuality**. Boston: Little Brown, 1977. cap. 3, p. 237.

McCLEANE, G. J. Phentolamine abolishes the pain of chronic pancreatitis. **Br. J. Hosp. Med.**, v. 55, p. 521, 1996.

McKENNA, K. E. Central control of penile erection. **Int. J. Impot. Res.**, v. 10, suppl1, p. S25-S34, 1998.

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

McMAHON, C. G. Erectile dysfunction. **Med. J. Aust.**, v. 173, p. 492-497, 2000.

MEGSON, I. L.; WEBB, D. J. Nitric oxide donor drugs. Current status and future trends. **Exp. Opin. Invest. Drugs**, v. 11, p. 587-601, 2002.

MELIS, M. R.; SUCCU, S.; IANNUCCI, U.; ARGIOLAS, A. N-methyl-D- aspartic acid induced penile erection and yawning: role of hypothalamic paraventricular nitric oxide. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 328, p. 115-123, 1997.

MELIS, M. R.; ARGIOLAS, A. Central oxytocinergic neurotransmission: a drug target for the therapy of psychogenic erectile dysfunction. **Curr. Drug Targets**, v. 4, p. 55-66, 2003.

MELIS, M. R.; SUCCU, S.; IANNUCCI, U.; ARGIOLAS, A. Prevention by morphine of apomorphine and oxytocin-induced penile erection and yawning: involvement of nitric oxide. **Naunyn Schnuedeberts Arch. Pharmacol.**, v. 355, p. 595-600, 1997.

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

- MELMAN, A.; CHRIST, G. J. The effects of age and disease on gap junctions and ion channels and their potential value to the treatment of erectile dysfunction. **Urol. Clin. North Am.**, v. 28, p. 217-231, 2001.
- METZ, P.; EBBENHOJ, J.; UHRENHOLDT, A.; WAGNER, G. Peyronie's disease and erectile failure. **J. Urol.**, v. 130, p. 1103-1104, 1983.
- MILLER, T. A. Diagnostic evaluation of erectile dysfunction. **Am. Fam. Physician**, v. 61, p. 95-104, 2000.
- MILLS, T. M.; STOPPER, V. S.; WIEDMEIER, V. T. Effects of castration and androgen replacement on the hemodynamics of penile erection in the rat. **Biol. Reprod.**, v. 51, p. 234-238, 1994.
- MONCADA IRIBARREN, I.; SAENZ DE TEJADA, I. Pharmacological treatment of erectile dysfunction. **Curr. Opin. Urol.**, v. 9, p. 547-551, 1999.
- MONTAGUE, D.; BARADA, J. H.; BELKER, A. M.; LEVINE, L. A.; NADIG, P. W.; ROEHBORN, C. G.; SHARLIP, I. D.; BENNET, A. H. Clinical guidelines panel on erectile dysfunction: summary report on the treatment of organic erectile dysfunction. **J. Urol.**, v. 156, p. 2007-2011, 1996.
- MONTAGUE, D. K. Nonpharmacologic treatment of erectile dysfunction. **Rev. Urol.**, v. 4, suppl. 3, p. S9-S16, 2002.
- MONTORSI, F.; GUAZZONI, G.; BARBIERI, L.; RIGATTI, P.; PIZZINI, G.; MIANI, A. The effect of intracorporeal injection plus genital and audiovisual sexual stimulation versus second injection on penile color Doppler sonography parameters. **J. Urol.**, v. 155, p. 536-540, 1996.
- MOON, D. G.; BYUN, H. S.; KIM, J. J. A KATP- channel opener as a potential treatment modality for erectile dysfunction. **BJU Int**, v. 83, p. 837-841, 1999.
- MORAES, M. O.; LERNER, F. E.; CORSO, G.; FROTA BEZERRA, F. A.; MORAES, M. E. A.; De NUCCI, G. Fluoxetine bioequivalence study: Quantification of fluoxetine and norfluoxetine by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS). **J. Clin. Pharmacol.**, v. 39, p. 1-9, 1999.
- MORALES, A.; GINGELL, C.; COLLINS, M.; WICKER, P. A.; OSTERLOH, I. H. Clinical safety of oral sildenafil citrate (VIAGRA) in the treatment of erectile dysfunction. **Int. J. Impot. Res.**, v. 10, p. 69-73, 1998.
- MORALES, A.; PAGANI, E.; GLINA, S. Tratamento oral para a disfunção erétil: uma história de evolução. In: GLINA, S. **Disfunção sexual humana: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Instituto H. Ellis, 2002. cap. 3.2, p. 217 – 221.

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.

MORELAND, R. B.; GOLDSTEIN, I.; TRAISH, A. Sildenafil, a novel inhibitor of phosphodiesterase type 5 in human corpus cavernosum smooth muscle cells. **Life Sci**, v. 62, p. 309-318, 1998.

MORELAND, R. B.; HSIEH, G.; NAKANE, M.; BRIONI, J. D. The biochemical and neurological basis for the treatment of male erectile dysfunction. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 296, p. 225, 2001.

MUIRHEAD, G. J.; RANCE, D. J.; WALKER, D. K.; WASTALL, P. Comparative human pharmacokinetics and metabolism of single-dose oral and intravenous sildenafil. **Br. J. Clin Pharmacol.**, v. 53, suppl 1, p. 13-30, 2002.

MULLIGAN, T.; SCHMIT, B. Testosterone for erectile failure. **J. Gen. Inter. Med.**, v. 8, p. 517-521, 1993.

NAKADA, T.; KUBOTA, Y.; SASAGAWA, I.; IZUMIYA, K.; SUZUKI, H. Phentolamine test for operative complication of pheochromocytoma: its prognostic importance. **Int. J. Urol.**, v. 1, p. 17-22, 1994.

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

NOMA, A. ATP regulated K⁺ channels in cardiac muscle. **Nature**, v. 305, p. 147-148, 1983.

PADMA-NATHAN, H.; GOLDSTEIN, I.; KLIMBERG, I.; COOGAN, C.; AUERBACH, S.; LAMMERS, P. Long-term study safety and efficacy of oral phentolamine mesylate (Vasomax) in men with mild to moderate erectile dysfunction. **Int. J. Impot. Res.**, v. 14, p. 266-270, 2002.

PAGANI, E.; GLINA, S.; TORRES, L. O.; PUECH-LEÃO, P.; REIS, J. M. S. M. Antropometria peniana em brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE UROLOGIA, 27., 1999, Rio de Janeiro. **Anais...**

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.

PARKER, J. D.; NEWTON, G. E.; LANDZBERG, J. S.; FLORAS, J. D.; COLUCCI, W. S. Functional significance of presynaptic alpha-adrenergic receptors in failing and non failing human left ventricle. **Circulation**, v. 92, p. 1793-1800, 1995.

PENSON, D. F.; NG, C.; CAI, L.; RAJFER, J.; GONZALEZ-CADAVID, N. F. Androgen and pituitary control of penile nitric oxide synthase and erectile function in the rat. **Biol. Reprod.**, v. 55, p. 567-574, 1996.

PORST, H. IC351 (tadalafil, Cialis): update on clinical experience. **Int. J. Impot. Res.**, v. 14, suppl. 1, p. 57-64, 2002.

_____. The rationale for prostaglandin E1 in erectile failure: a survey of worldwide experience. **J. Urol.**, v. 55, p. 802-815, 1996.

PORST, H.; ROSEN, R.; PADMA-NATHAN, H.; GOLDESTEIN, I.; GIULIANO, F.; ULBRICH, E.; BANDEL, T. The efficacy and tolerability of vardenafil, a new oral, selective phosphodiesterase type 5 inhibitor in patients with erectile dysfunction: the first at home clinical trial. **Int. J. Impot. Res.**, v. 13, p. 192-199, 2001.

PRIETO, D.; SIMONSEN, U.; HERNÁNDEZ, M.; GARCIA-SACRISTÁN, A. Contribution of K⁺ channel and ouabain-sensitive mechanisms to the endothelin-dependent relaxations of horse penile small arteries. **Br. J. Pharmacol.**, v. 123 p. 1609-1620, 1998.

PRYOR, J. Vardenafil: update in clinical experience. **Int. J. Impot. Res.**, v.14, suppl 1, p. 65-69, 2002.

RA, S.; AOKI, H.; FUJIOKA, T.; SATO, F.; KUBO, T.; YASUDA, N. In vitro contraction of the canine corpus cavernosum penis by direct perfusion with prolactin or growth hormone. **J. Urol.**, v. 156, p. 522-525, 1996.

RAO, D. S.; DONATUCCI, C. F. Vasculogenic impotence: Arterial and venous surgery. **Urol. Clin. North Am.**, v. 28, p. 309-319, 2001.

RAJFER, J.; ARONSON, W. J.; BUSH, P. A.; DOREY, F. J.; IGNARRO, L. J. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to noreadrenergic, noncholinergic neurotransmission. **N. Engl. J. Med.**, v. 326, p. 90-94, 1992.

REHMAN, J.; MELMAN, A. Fisiopatologia das principais causas de disfunção erétil. In: GLINA, S. **Disfunção sexual humana**: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Instituto H. Ellis, 2002. cap. 1.3, p. 59-79.

REILLY, C. M.; LEWIS, R. W.; STOPPER, V. S.; MILLS, T. M. Androgen maintenance of the rat erectile response via a non-nitric-oxide-dependent pathway. **J. Androl.**, v. 18, p. 588-594, 1997.

REMBOLD, C. M. Electromechanical and pharmacomechanical coupling. In: BARABY, M. (Ed.) **Biochemistry of smooth muscle contraction**. San Diego: Academic Press, 1996. p. 227-239.

RICHTER, S.; SHALEV, M.; NISSENKORN, I. Use of phentolamine in hypertensive crises. **Pol. Tyg. Lek.**, v. 38, p. 235-237, 1983.

RICHTER, S.; VARDI, Y.; RINGEL, A.; SHALEV, M.; NISSENKORN, I. Intracavernous injections: still the gold standard for treatment of erectile dysfunction in elderly men. **Int. J. Impot. Res.**, v. 13, p. 172-75, 2001.

RIDET, J. L.; TAMIR, H.; PRIVAT, A. Direct immunocytochemical localization of 5-hydroxytryptamine receptors in the adult rat spinal cord: a light and electron microscopic study using an anti-idiotypic antiserum. **J. Neurosci. Res.**, v. 38, p. 109-121, 1994.

ROSEN, M. P.; GREENFIELD, A. J.; LEVINE, L. A.; LENTING, E. L. Use of nocturnal penile tumescence and rigidity in the evaluation of male erectile dysfunction. **Urol. Clin. North Am.**, v. 22, p. 775-788, 1995.

ROSEN, R. C.; CAPPELLERI, J. C.; SMITH, M. D.; LIPSKY, J.; PENA, B. M. Development and evaluation of an abridged, 5-item version of the International Index of Erectile Function (IIEF-5) as a diagnostic tool for erectile dysfunction. **Int. J. Impot. Res.**, v. 11, p. 319-326, 1999.

ROSEN, R. C.; RILEY, A.; WAGNER, G.; OSTERLOH, I. H.; KIRKPATRICK, J.; MISHRA, A. The International index of erectile function (IIEF): A multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. **Urology**, v. 49, p. 822-830, 1997.

ROSEN, M. P.; GREENFIELD, A. J.; WALKER, T. G.; GRANT, P.; DUBROW, J.; BETTMANN, M. M.; FRIED, L. E.; GOLDSTEIN, I. Cigarette smoking: an independent risk factor for atherosclerosis in the hypogastric-cavernous arterial bed of men with arteriogenic impotence. **J. Urol.**, v. 145, p. 759-763, 1991.

ROWLAND, D. L.; GREENLEAF, W. J.; DORFMAN, L. J.; DAVIDSON, J. M. Aging and sexual function in men. **Arch. Sex. Behav.**, v. 22, p. 545-557, 1993.

SADOVSKY, R.; MILLER, T.; MOSKOWITZ, M.; HACKETT, G. Three-year update of sildenafil citrate efficacy and safety. **Int. J. Clin. Pract.**, v. 55, p. 115-128, 2001

SAENZ DE TEJADA, I.; GOLDSTEIN, I.; AZADZOI, K.; KRANE, R. J.; COHEN, R. A. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. **N. Engl. J. Med.**, v. 320, p. 1025-1030, 1989.

SAENZ DE TEJADA, I.; CARSON, M. P.; DE LAS MORENAS, A.; GOLDSTEIN, I.; TRAISH, A. M. Endothelin localization synthesis, activity, and receptor types in human penile corpus cavernosum. **Am. J. Physiol.**, v. 261, p. H1078-H1085, 1991.

SATTAR, A. A.; WESPES, E.; SCHULMAN, C. C. Computerized measurement of penile elastic fibres in potent and impotent men. **Eur. Urol.**, v. 25, p. 142-144, 1994.

SCHARAMMEL, A.; BEHREND, S.; SCHMIDT, K.; KOESLING, D.; MAYER, B. Characterization of 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinolaxin-1-one as a heme site inhibitor of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. **Mol. Pharmacol.**, v. 50, p. 1-5, 1996.

SEFTEL, A. D.; GOLDSTEIN, I. Vascular testing for impotence. **J. Nucl. Med.**, v. 33, p. 46-48, 1992.

SEFTEL, A. D.; VAZIRI, N. D.; NI, Z.; RAZMJOUEI, K.; FOGARTY, J.; HAMPEL, N.; POLAK, J.; WANG, R. Z.; FERGUSON, K.; BLOCK, C.; HAAS, C. Advanced glycation end products in human penis: elevation in diabetic tissue, site of deposition and possible effect through in os orenos. **Urology**, v. 50, p. 1016-1126, 1997.

SESSA, W. C. The nitric oxide synthase family of proteins. **J. Vasc. Res.**, v. 31, p. 131-143, 1994.

SHABDIGH, R. The effects of testosterone on the cavernous tissue and erectile function. **World J. Urol.**, v. 15, p. 21-26, 1997.

SHULTHEISS, D.; DENIL, J.; JONAS, U. Rejuvenation in the early 20th century. **Andrologia**, v. 29, p. 351-355, 1997.

SHRENK, G.; MELMAN, A.; CHRIST, G. Gene therapy for erectile dysfunction. **Curr. Urol. Rep.**, v. 2, p. 480-487, 2001.

SIBLEY, D. R. New insights into dopaminergic receptor function using antisense and genetically altered animals. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 39, p. 313-341, 1999.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA. Reunião de Diretrizes Básicas em Disfunção Erétil e Sexualidade. Consenso Brasileiro de Disfunção Erétil, 2. Rio de Janeiro, 2002. cap. 1, p. 1.

SOLSTAD, K.; HERTOFT, P. Frequency of sexual problems and sexual dysfunction in middle-aged Danish men. **Arch. Sex. Behav.**, v. 22, p. 51-58, 1993.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Signal transduction by G- proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. **J. Physiol.**, v. 15, p. 177-185, 2000.

SPEKTOR, M.; RODRIGUEZ, R.; ROSENBAUM, R. S.; WANG, H. Z.; MELMAN, A.; CHRIST, G. J. Potassium channel 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.**, v. 167, p. 2628-2635, 2002.

STEERS, M. D.; WILLAM, D.; SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Signal transduction by G- proteins, Rho-kinase ad protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. **J. Physiol.**, v. 15, p.177-185, 2000.

STEERS, M. D.; WILLAM, D. Pharmacologic treatment of erectile dysfunction. **Rev. Urol.**, v. 4, suppl. 3, p. S17-S25, 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.

STEERS, W. D. neural control of penile erection. **Semin. Urol.**, v. 8, p. 66-79, 1990.

STEIDLE, C.; PADMA-NATHAN, H.; SALEN, S.; TAYSE, N.; THWING, D.; FENDL, J.; YEQAGER, J.; HARNING, R. Topical alprostadil cream for the treatment of erectile dysfunction: a combined analysis of the phase II program. **Urology**, v. 60, p. 1077–1082, 2002.

STIEF, C. G.; NOACK, T.; ANDERSSON, K. E. Signal transduction in cavernous smooth muscle. **World J. Urol.**, v. 15, p. 27-31, 1997.

SUBHANI, M.; SRIDHAR, S.; DE CRISTOFARO, J. D. Phentolamine use in a neonate for the prevention of dermal necrosis caused by dopamine: a case report. **J. Perinatol**, v. 21, p. 324-326, 2001.

TEIXEIRA, C. E.; FARO, R.; MORENO, R. A.; NETTO Jr., N. R.; FREGONESI, A.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. Nonadrenergic noncholinergic relaxation of human isolated corpus cavernosum induced by scorpion venom. **Urology**, v. 57. p. 816-820, 2001.

TELÖKEN, C. Próteses penianas – histórico. In: GLINA, S. **Disfunção sexual humana: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento.** São Paulo: Instituto H. Ellis, 2002. cap. 3.8, p. 249-252,

_____. Disfunção erétil - tratamento. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA. **Programa de Educação Continuada da Escola Superior de Urologia.** São Paulo, 2002. p. 16.

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

TRAISH, A. M.; CARSON, M. P.; KIM, N.; GOLDSTEIN, I.; SAENZ DE TEJADA, I. Characterization of muscarinic acetylcholine receptors in human penile corpus cavernosum: studies on whole tissue and cultured endothelium. **J. Urol.**, v. 144, p. 1036-1040, 1990.

TRAISH, A.; GUPTA, S.; GALLANT, C.; HUANG, Y. H.; GOLDSTEIN, I. Phentolamine mesylate relaxes penile corpus cavernosum tissue by adrenergic and non-adrenergic mechanisms. **Int. J. Impot. Res.**, v. 10, p. 215-223, 1998.

TRAISH, A. M.; PARK, K.; DHIR, V.; KIM, N. N.; MORELAND, R. B.; GOLDSTEIN, I. Effects of castration and androgen replacement on erectile function in a rabbit model. **Endocrinology**, v. 140, p. 1861-1868, 1999.

UCKERT, S.; KUTHE, A.; STIEF, C. G.; JONAS, U. Phosphodiesterase insoenzymes as pharmacological targets in the treatment of male erectile dysfunction. **World J. Urol.**, v. 19, p. 14 – 22, 2001.

VEMULAPALLI, S.; KUROWSKI, S. Phentolamine mesylate relaxes rabbit corpus cavernosum by a nonadrenergic noncholinergic mechanism. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v. 15 p. 1-7, 2001.

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.

VICKERS, M. The anatomy, physiology and molecular pathways of vascular erectile dysfunction. **Curr. Med. Res. Opin.**, v. 16, suppl. 1, p. S37-S41, 2000.

VIRAG, R. Intracavernous injection of papaverine for erectile failure. **Lancet**, v. 23, p. 938, 1982.

VON KEITZ, A.; STROBERG, P.; BUKOFZER, S. MALLARD, N.; HIBBERD, M. A. European multicentre study to evaluate the tolerability of apomorphi en sublingual administered in a forced dose-escalating regimen in patients with erectile dysfunction. **BJU Int.**, v. 89, p. 409-15, 2002.

WALKER, T. G.; GRANT, P.; DUBROW, J.; BETTMANN, M. M.; FRIED, L. E.; GOLDSTEIN, I. Cigarette smoking: an independent risk factor for atherosclerosis in the hypogastric-cavernous arterial bed of men with arteriogenic impotence. **J. Urol.**, v.145, p. 759-763, 1991.

WALSH, M. P. The Auerst Award Lecture 1990. Calcium-dependent mechanisms of regulation of smooth muscle contraction. **Biochem. Cell Biol.**, v. 691, p. 771-800, 1991.

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.

WANG, H. Z.; LEE, S. W.; CHRIST, G. J. Comparative studies of the maxi-K (K_{ca}) channel in freshly isolated myocytes in human and rat corpora. **Int. J. Impot. Res.**, v. 12, p. 9-18, 2000.

WERMUTH, L.; STENAGER, E. Sexual aspects of Parkinson's disease. **Semin. Neurol.**, v. 12, p. 125-127, 1992.

WESSELLS, H.; LUE, T. F.; MCANNINCH, J. W. Penile length in the flaccid and erect states: Guidelines for penile augmentation. **J. Urol.**, v. 156, p. 995-997, 1996.

WU, H. Y.; BRODERICK, G. A.; SUH, J. K.; HYPOLITE, J. A.; LEVIN, R. M. Effects of purines on rabbit corpus cavernosum contractile activity. **Int. J. Impot. Res.**, v. 5, p. 161-167, 1993.

WU, X.; HAYSTEAD, T. A.; NAKAMOTO, R. K.; SOMLYO, A. V.; SOMLYO, A. P. Acceleration of myosin light chain dephosphorylation and relaxation of smooth muscle by telokin. Synergism with cyclic nucleotide-activated kinase. **J. Biol. Chem.**, v. 273, p. 11362-11369, 1998.

WYSOWSKI, D. K.; SWANN, J. Use of medications for erectile dysfunction in the United States, 1996 through 2001. **J. Urol.**, v. 169, p. 1040-1042, 2003.

XIE, Y.; GARVAN, H.; NG, C.; RAJFER, J.; GONZALEZ-CADAVID, N. F. Effect of long-term passive smoking on erectile function and penile nitric oxide synthase in the rat. **J. Urol.**, v. 157, p. 1121-1126, 1997.

ZIPPE, C. D.; JHAVERI, F. M.; KLEIN, E. A.; KEDIA, S.; PASQUALOTTO, F. F.; KEDIA, A.; AGARWAL, A.; MONTAGUE, D. K.; LADIN, M. M. Role of Viagra after radical prostatectomy. **Urology**, v. 55, p. 241 – 245, 2000.

ZEISS, A. M.; DAVIES, H. D.; WOO, D. M.; TINKLENBERG, J. R. The incidence and correlates of erectile problems in patients with Alzheimer's disease. **Arch. Sex. Behav.**, v. 19, p. 325-331, 1990.

ZONAGEN. Pharmacoprojects. Cidade: PJB Publications, 1999.

Anexos**Anexo 1** F A X M E S S A G E 04.March 2003**International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics****Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle**

Bajuwarenring 4,D-82041 Oberhaching, Germany

Message from:**Editor in Chief, PD Dr. B.G. Woodcock,**

Institute for Clinical Pharmacology, Theodor-Stern-Kai 7, D-60590 Frankfurt, Germany, Phone +49-69/6301-7676, Fax +49-69/6301-7636

Email woodcock@em.uni-frankfurt.de

To: Dr. Lucio Flavio G. SILVA ,**FAX: +55 85 223 2903**

Unidade de Farmacologia Clinica

Departamento de Farmacologia,

Rua Cel. Nunes de Melo, 1127, Rodolfo Teófilo,

Caixa Postal 3219, CEP 60431-970, Fortaleza – Ceara – Brazil

Re: MS:CPH02-242 Phentolamine bioequivalence study of two oral formulations in healthy human volunteers by Silva et al. Recd. 24.09.2002

Dear Dr Silva,

Your above mentioned manuscript has been reviewed by members of the Editorial Board.

One of the reviewers states that the manuscript should refer to the newer version (2000) of the FDA Guidelines and not the older version.

Other remarks are on the enclosed report (as Fax).

I will be glad to publish your article in our journal provided you can rewrite it according to these comments.

When returning a revised version:

- include a short title
- include a covering letter detailing changes made and containing replies to questions raised by the reviewers.
- it is recommended that the manuscript be checked by a native English speaker.
- enclose the revised text on a disk compatible with MS-DOS (or send as email).

Thank you for submitting this manuscript to the International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics.

Sincerely yours,

PD. Dr. Barry G. Woodcock

Phentolamine bioequivalence study

Silva, LFG, Moraes MO, Santana GSM, Frota Bezerra FA, De Nucci G, Moraes MEA.

- * Lucio Flavio G. Silva – MD MSc, Professor of Urology, Federal University of Ceara
- Manoel Odorico de Moraes – MD PhD, Professor of Clinical Pharmacology, Clinical Pharmacology Unit (UNIFAC), Federal University of Ceara
- Fernando Frota Bezerra – MD MSc, Professor of Clinical Pharmacology, Clinical Pharmacology Unit (UNIFAC), Federal University of Ceara
- Gilmara S. de M. Santana – BSP Pharm MSc, Professor of Clinical Pharmacology, Clinical Pharmacology Unit (UNIFAC), Federal University of Ceara
- Gilberto de Nucci – MD PhD, Professor of Clinical Pharmacology, State University of Sao Paulo
- Maria E. Amaral Moraes – MD PhD, Professor of Clinical Pharmacology, Clinical Pharmacology Unit (UNIFAC), Federal University of Ceara

* Address of author for request
Unidade de Farmacologia Clínica
Departamento de Farmacologia
Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
Rodolfo Teófilo
Caixa Postal 3219
CEP 60431-970
Fortaleza – Ceara – Brazil
E-mail: unifac@roadnet.com.br
luciofl@secrel.com.br

Abstract.

Objective: To assess the bioequivalence of two tablet formulations of phentolamine (Regitine® phentolamine 40 mg tablet formulation by Novartis, Brazil, as the test formulation, and Vasomax®, phentolamine 40 mg tablet formulation by Schering Plough SA, Brazil, as the reference formulation).

Methods: A single 40 mg oral dose of each formulation was administered in 36 male healthy volunteers. The study was conducted open, randomized, two-period crossover design with a 7-day interval between doses, after screening and wash-out period of at least 4 weeks. Plasma samples for determination of phentolamine were obtained pre-dose and at frequent intervals for up to 720 min post-dose. Its plasma concentrations were quantified by reversed phase liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) with positive ion electrospray ionization using multiple reactions monitoring (MRM) method. The precision of the method was evaluated using calibration curves and plasma quality control samples. The subjects were monitored throughout the study. Systolic and diastolic blood pressure and pulse rate measurement were taken pre-dose and at intervals up to 720 min. Tolerance of both products was good. No serious adverse reactions were reported. The pharmacokinetic parameters calculated for both compounds included: $AUC_{(0-720 \text{ min})}$, $AUC_{(0-\infty)}$, C_{max} , $C_{\text{max}}/AUC_{(0-720 \text{ min})}$, T_{max} , $t_{1/2}$ and k_e .

Results: The maximum concentrations reached (C_{max}) were compared. Regitine® 40 mg formulation C_{max} geometric mean ratio was 108.29% (90% CI = 98.58 – 118.96) of Vasomax® 40 mg formulation. The areas under the curve [$AUC_{(0-720 \text{ min})}$] were compared. Regitine® 40 formulation [$AUC_{(0-720 \text{ min})}$] geometric mean ratio was 102.33% (90% CI = 97.21 – 107.72) of Vasomax® 40 mg formulation.

Conclusion: Since the 90% CI for both C_{max} and AUC ratio were inside the 80 – 125% interval proposed by the Food and Drug Administration, it is concluded that Regitine® 40 mg tablet is bioequivalent to Vasomax® for the rate and extent of absorption.

Key words: bioavailability – human - mass spectrometry - pharmacokinetic - phentolamine

Introduction

Phentolamine (2-[m-hydroxy-N-p-tolylanilinomethyl]-2-imidazoline) is a nonselective competitive alfa-adrenoceptor antagonist acting on both α_1 and α_2 adrenoceptors with almost equal efficacy. Phentolamine also acts as a weak antagonist of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and releases histamine from mast cells [Anderson 2001].

The drug, by an independent α -blockade direct effect, causes a smooth muscle relaxation as well, maybe to direct receptor stimulation. It produces cardiac arrhythmias due to increased sympathetic activity mediated via the baroreflex, and some stimulation of lacrimal, salivary, and respiratory tract secretions and it has also a more marked effect on gastric and pancreatic secretions probably through a direct effect on muscarinic cholinergic receptors [Dollery 1999].

Phentolamine also seems to have another important action, resulting in smooth muscle relaxation, possibly involving NOs activation [Traish et al.1998].

There is a lack of information about its pharmacokinetics. The drug has a reduced efficacy when given orally, compared to intravenous injection, probably due extensive first-pass metabolism. The plasma half-life is 30 min with around 70% excreted in urine within the first 24 hour. The common side effects after intravenous administration are orthostatic hypotension and tachycardia [Anderson 2001].

It was introduced in the clinical practice in 1950 as a vasodilating drug for intravenous and oral administration [De Bros and Wolshin 1978]. It has been reported as a useful agent for therapy in congestive heart failure [Parker et al 1995], myocardial infarction [Gould and Reddy 1976], heart arrhythmia [Maranhão et al. 1976], hypertensive crises [Richter et al. 1983], bronchial asthma [Geumei et al. 1975], in the prevention of drug-induced dermal necrosis [Subhani et al. 2001], to treat the chronic pancreatitis pain [McCleane 1996], and operative complication of pheochromocytoma [Nakada et al. 1994].

Since the mid- to late 1980s pharmacologic intracavernous injection using phentolamine, prostaglandin E₁ and papaverine has been a popular mode of treatment of erectile dysfunction. The former, in combination with one or two above mentioned drugs is injected directly in the corpora cavernosum, resulting in vasodilatation, penile smooth muscle relaxation and subsequent penile tumescence [Purohit and Hellstrom 2000].

Phentolamine is also used in oral therapies for erectile dysfunction. In an early clinical investigation conducted in 1988, this drug used at a 50 mg oral dosage produced erection that enabled successful sexual intercourse in 11 (68,8%) of 16 patients [Gwinup 1988].

A review of large multicenter placebo-controlled pivotal Phase III clinical trials concluded that oral phentolamine (40mg and 80 mg) is safe, well tolerated and efficacious for the treatment of erectile dysfunction [Goldstein 2000].

The aim of this study was to evaluate on human healthy volunteers the performance of one phentolamine tablets formulation (Regitine®, Phentolamine 40 mg tablet formulation, by Novartis, Brazil) against one standard Phentolamine tablet formulation (Vasomax ®, Phentolamine 40 mg tablet formulation, by Schering Plough S.A., Brazil).

Methods

Clinical protocol

Thirty-six healthy male volunteers mean age 21.5 years old, within the 15% of their ideal body weight were selected for study. All subjects gave their written informed consent, and the Federal University of Ceara Hospital Ethics Committee approved the clinical protocol.

The volunteers were free from significant cardiac, hepatic, renal, pulmonary, neurological, gastrointestinal, hematological and psychiatric disease as determined by history, physical examinations, EKG and laboratory screen (blood glucose, urea, creatinine, AST, ALT, alkaline phosphatase, γ -GT, total bilirubin, albumin, total protein, triglyceride, total cholesterol, hemoglobin, hematocrit, total and differential white cell count, erythrocyte sedimentation rate, and routine urinalysis). All subjects were negative for HIV, HBV and HCV.

The following exclusion criteria were elected for the purpose of this study: those who had participated in a volunteer study within the previous three months; volunteers who had received a regular course of medication during the four weeks prior the study, who had a history of alcohol and/or drug abuse, those that regularly drinking more than 2 units of alcohol per day (1 unit = 1/2 pint of beer/1 glass of wine/1 measure of spirit), weight greater than 100 Kg or outside 15% of ideal body weight and volunteers who smoke 15 or more cigarettes/day.

The volunteers were required to attend the Clinical Pharmacology Unit Ward at approximately 10.00 h on the evening prior to each dose, and to remain within the Unit until 12 hours after dosing. After an overnight fast, they received (approximately at 07:00 a.m.) a single oral dose of either: Regitine® 40 mg (lot N^o 49459-CX004, expiration date: 03/2000, produced by Novartis, Brazil) as test formulation (Reg), or Vasomax® 40 mg (lot N^o 8MSYA-009, expiration date 05/2000, produced by Schering Plough S.A. Brazil) as reference formulation (Vas) in an open, randomized, two-period crossover fashion with a 7-day washout period between doses.

All volunteers were required to remain fasten until three hours after dose administration in the following morning, when 200 (two hundred) mL of orange juice and sandwich were available. A standard lunch was provided after five hours. An evening meal was provided at twelve hours after dosing. No other food was permitted during the “in-house” period. Liquid refreshment was permitted *ad libitum* after lunch, but xanthine containing drinks (including tea, coffee and cola) were avoided. Smoking was not allowed during the “in-house” period.

Concomitant medication was to be avoided where possible during the study. Any medicine, including over the counter medication, was to be recorded.

Alcohol consumption was limited throughout the study period and avoided completely during 48 hours prior to each dose.

At each blood sampling time, systolic and diastolic arterial pressure (measured non-invasively with a sphygmomanometer) and heart rate were recorded.

Reports of side effects and penile erections during the “in-house” period were recorded.

Drug analysis

Blood sampling for plasma drug assay were taken from a suitable forearm vein, pre-dose and at 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 480, 600 and 720 min post-dosing. On each occasion, one 10 mL blood sample was taken either via “butterfly” or syringe into clean tube containing heparin. The actual times of sampling were recorded using 24 hours clock notation.

The blood samples were spun at 4,000 rpm for ten minutes and the plasma removed and stored at -20°C until used for drug assay.

All samples from a single volunteer were analyzed in duplicate on the same day to avoid interassay variation. Phentolamine plasma concentration was analyzed by combined reversed phase liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) with positive ion electrospray ionization using a multiple reaction monitoring (MRM) method.

Sample extraction procedure

Two hundred microliters of plasma were extracted from the appropriate tube after adding 200 μL of carbonate-bicarbonate buffer containing internal standard (propranolol, $1 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$). The tubes were vortex-mixed briefly and allowed to stand at room temperature for 5 min. Diethyl ether/dichloromethane (70/30 v/v; 3 mL) was then added and the samples were vortex-mixed for 30 s. The tubes were centrifuged at 2000 rpm for 10 min at 4°C .

The upper organic layers were carefully removed and transferred using siliconized Pasteur pipettes to siliconized test tubes. The solvent was removed by a gentle stream of nitrogen in a dry bath at 37°C and 200 μL of mobile phase were added to the tubes followed by vortex-mixing for 15 s to reconstitute the residue. The solutions were transferred to microvials, capped and placed in a HP 1100 autosampler rack. Ten microlitre aliquots were injected automatically into the liquid chromatograph.

Preparation of standard solutions and reagents

Phentolamine standards were prepared by dilution from stock solution ($1 \text{ mg} \times \text{mL}^{-1}$) in methanol: water to give 0.4, 0.8, 2, 4, 8, 20, 40 and $100 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$. Internal standards (propranolol) were prepared by dilution from a stock solution ($1 \text{ mg} \times \text{mL}^{-1}$) in methanol: water to a final concentration of $1 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$. The carbonate-bicarbonate buffer solution was prepared by mixing one part of sodium carbonate and four parts of sodium bicarbonate (1 M each) followed by dilution and diluted with water to obtain a solution of 0.25 M (pH 9.4). Diethyl ether/dichloromethane (70/30, v/v) was prepared freshly each day.

Preparation of calibration and quality control samples

Calibration standards were prepared by spiking control human plasma with standard solutions containing phentolamine to give standards of 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5 and $10 \mu\text{g}$

$\times \text{mL}^{-1}$. A fixed concentration of propranolol was added to all assay tubes as an internal standard.

The calibration standards and blanks were freshly prepared (in duplicate) for each assay and were extracted along with plasma samples and quality controls (QC). These (QC) samples were prepared by spiking control human plasma with 0.5, 2 and 6 $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ of phentolamine. One QC sample was thawed for each of the three concentrations in every assay and was extracted along with the plasma samples.

Mass spectrometry and chromatography conditions

An HPLC model 1100 system from Hewlett-Packard (USA) consisting of a binary pump, degasser, autosampler, thermostat column component, analytical column (Genesis C₁₈, 4 μm , 150 mm \times 4.6 mm, i.d.) and guard column (Genesis C₁₈, 4 μm , 10 mm \times 4 mm, i.d.) from Jones Chromatography (UK) were used.

The mobile phase consisted of ammonium acetate 0.2 M in water (10%), acetonitrile (57%), methanol (18%) and water (15%), the pH of this solution (about 7.7) was not adjusted. An isocratic solution (1.0 mL $\times \text{min}^{-1}$) was used to elude the analytes and the internal standard (total run time was 4.5 min).

The eluent from HPLC was split and monitored by mass spectrometry. The column was operated at a temperature of 40 °C and a column switch was employed to divert to column eluent to waste at appropriate times. The temperature of the autosampler was maintained at 10 °C and the injection volume was 10 μL . A wash bottle containing freshly prepared 50% acetonitrile in water was used to wash the autosampler needle to prevent carry over.

Mass spectrometry was performed using a Quattro II triple stage quadrupole mass spectrometer, equipped with API electrospray source operating in the positive-ion mode using a crossflow as the counter electrode (from Micromass, Manchester UK). The mass spectrometer was previously calibrated with sodium iodide/cesium iodide solution in the range from m/z 20 to m/z 1000 according to the instrument specifications.

The mass spectrometric conditions (tuning and collision-induced dissociation) for all compounds studied were optimized with standard solutions in the mobile phase (5 $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ each at a flow rate of 10 $\mu\text{l} \times \text{mL}^{-1}$) using an infusion pump connected directly to the electrospray probe.

Recovery

Preliminary experiments were conducted to evaluate the recovery with the extraction method described above. The recovery (%) was calculated as the ratio of the peak area for extracted blank plasma spiked with each standard relative to the peak area of the equivalent unextracted standard solutions.

Imprecision and inaccuracy

Between-run inaccuracy and imprecision were calculated for calibration, and quality control samples also within-run imprecision were calculated for quality control samples. The calibration curves were prepared in duplicate.

Pharmacokinetics analysis

Plasma Phentolamine concentration was plotted as a function of the time and the following pharmacokinetic parameters were obtained for each formulation.

The areas under the phentolamine plasma concentration vs. time curves from 0 – 720 min [$AUC_{(0-720 \text{ min})}$] were calculated by applying the linear trapezoid rule. Extrapolation of these areas to infinity [$AUC_{(0-\infty)}$] was done by adding the value $C_{720 \text{ min}} h/k_e$ to the calculated $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ (where $C_{720 \text{ min}} h$ = plasma concentration calculated from the log-linear regression equation obtained for the estimation of k_e 720 min after dose).

The maximum observed plasma concentration C_{max} and the time taken to achieve this concentration T_{max} were obtained directly from the curves.

From the terminal long-decay phase, a first-order elimination rate constant k_e was estimated by linear regression and the terminal half-life ($t_{1/2}$) was estimated using the equation $t_{1/2} = \ln 2 \times k_e^{-1}$.

Statistical analysis

The population distribution was analyzed using histograms; normal transform value plots (NTV), probit plots and Kolmogorov-Smirnov's test (KS). A normal distribution was accepted when no breakpoint was observed in the probit or in the NTV plots, and Kolmogorov-Smirnov's test would be considered consistent with Gaussian distribution if $p > 0.05$ [Dallal and Wilkinson 1986]. Analysis of variance between populations was done with the F-test.

The 90% CI of the geometric mean for the individual test/reference ratios (Reg/Vas) for $AUC_{(0-720 \text{ min})}$, $AUC_{(0-\infty)}$ and C_{max} were obtained to assess the bioequivalence between formulations. Bioequivalence between both formulation was assessed by calculating C_{max} , $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ and $AUC_{(0-\infty)}$ mean ratios and their 90% confidence interval (90% CI) on log-transformed data. The inclusion of the 90% CI for the ratio in the 80-125% bioequivalence interval, and that of the zero value in the 90% CI for the differences were analyzed using a parametric test (ANOVA).

Results

Both phentolamine formulations were well tolerated at the administered dose. The volunteer's biochemical parameters remained unchanged within the reference range. Nasal congestion was a common adverse event with 60% for Regitine® and 54.3% for Vasomax® group.

The International index of penile erectile dysfunction (IIEF) a multidimensional scale for measurement of erectile dysfunction was self-administered to volunteers before the phentolamine administration, whose results was 26.5 in average, (based in the erectile function domain of the IIEF).

Incidence of penile erection was 42.8% among volunteers who were taken Regitine® and 34.2% to those who were taken Vasomax®. It did not represent statistical difference.

The mean phentolamine plasma concentrations vs. time curves obtained after a single oral administration of each phentolamine tablet formulation for 35 volunteers are shown in figure 1.

Table 1 shows the geometric mean \pm SD for $AUC_{(0-720 \text{ min})}$, $AUC_{(0-\infty)}$, C_{max} , k_e , $t_{1/2}$ and T_{max} values obtained for each formulation. Table 2 summarizes the bioequivalence analysis of individual $AUC_{(0-720 \text{ min})}$, and C_{max} for the phentolamine formulations. No period effect was observed for the pharmacokinetics parameters studied (data not shown).

Discussion

The unique side effect observed after oral phentolamine administration on healthy volunteers was nasal congestion, which occurred in both formulations: 60% for Regitine® and 50.4% for Vasomax® group. It may be due to a direct effect on muscarinic cholinergic receptors and can be blocked by atropine [Dollery 1999].

This symptom was the most frequent adverse effect (18.4%) among 3800 patients in Phase III clinical studies. Less frequent were headache, tachycardia or dizziness, which occurred in less than 5% of patients. The overall incidence of adverse effects was less than 2% [Moncada Iribarren and Tejada 1999].

There was no case of erectile dysfunction among volunteers as demonstrated by the results of self-administered IIEF, whose result was 26.5 in average, (based in the erectile function domain of the IIEF). This was expected due the mean age of the study population (21.5 years old).

Massachusetts male aging study demonstrated that the annual incidence rate of erectile dysfunction increases with each decade of age and was 12.4, 29.8 and 46.4 per 1,000 man-years for men 40 to 49, 50 to 59 and 60 to 69 years old, respectively [Johannes et al. 2000].

The method described here to quantify the plasma phentolamine concentration is simple and show to be true that LC-MS-MS has appropriate sensitivity and specificity for determination of that drug in human plasma [Huang et al. 1990].

Propranolol was chosen as the internal standard due to its structural analogy to the analyte (phentolamine) since it has the same chemical groups. This analogy is sought in order to ensure a similar behavior during extraction, chromatography and detection. In fact, what could be observed was that both compounds eluted almost at the same time from the chromatographic system having a clear detection (no crosstalk) when monitored by LC-MS-MS using transitions 292.2 > 211.8 for phentolamine and 260.0 > 115.9 for propranolol, respectively.

Table 1 demonstrates no significant differences between the two formulations when analyzed the mean $AUC_{(0-720 \text{ min})}$, $AUC_{(0-\infty)}$, C_{max} , k_e and T_{max} values obtained for each formulation as assessed by the 90 % confidence interval (CI) of the geometric means.

Phentolamine is absorbed to some extent when it is administered orally; it has only limited activity in comparison to that after parenteral administration. It is excreted in urine around 70% (only 10-13% is excreted in urine unchanged). Fecal excretion accounts for only 3% of the total dose [Dollery 1999].

Vasomax® formulation is rapidly absorbed and eliminated in normal males. Maximum plasma concentration (C_{max}) is achieved in 30–60 min, and the half-life approximates 5-7 h. It has low protein binding and it is excreted via urine and feces and there are no clear age-related differences in absorption or elimination rates [Goldstein et al. 2001].

The mean time necessary to achieve the peak plasma concentration of phentolamine in this study, $T_{\max} = 50$ min, is in accordance with literature. In the other hand, the average half-life obtained, $t_{1/2} = 3$ h was a little different of the study presented above.

On of the bioequivalence analysis of these results was done with parametric tests due to the acceptance of all criteria that included normal distribution, homoscedasticity and random sampling [Moraes et al. 1999].

The analysis of concentration-time curves aiming to assess bioequivalence, did not demonstrate significant difference in the extent and rate of absorption among the two phentolamine formulations in the bioequivalence range of 80-125% to the 90% confidence interval for individual $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ and C_{\max} (Figure 1, Table 2).

The Regitine® 40 mg formulation maximum concentration C_{\max} geometric mean ratio was 108.29% (90% CI = 98.58 – 118.96) of Vasomax® 40 mg formulation. The Areas Under the Curve (AUC_{all}) geometric mean ratio of Regitine® 40 mg formulation was 102.33% (90% CI = 97.21 – 107.72) of Vasomax® 40 mg formulation (Table 2).

Conclusion

Since the 90% CI for both C_{\max} and $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ ratio where inside the 80 –125% interval proposed by the Food and Drug Administration [FDA Guidance's 2000], it is concluded that Regitine® 40 mg Tablet is bioequivalent to Vasomax® for the rate and extent of absorption.

References

1. Anderson KE 2001 Pharmacology of Penile erection. *Pharmacol Rev* 53: 417-450.
2. Dollery C. Phentolamine mesylate. In: Dollery C (2nd ed.), *Therapeutic drugs*. New York, Churchill Livingstone, pp. 97-99, 1999.
3. Traish A, Gupta S, Gallant C, Huang YH, Goldstein I 1998 Phentolamine mesylate relaxes penile corpus cavernosum tissue by adrenergic and non-adrenergic mechanisms. *Int J Impot Res* 10: 215-223.
4. De Bros F, Wolshin EM 1978 Determination of Phentolamine in Blood and urine by high performance liquid chromatography. *Analytical chemistry* 50: 521-525.
5. Parker JD, Newton GE, Landzberg JS, Floras JD, Colucci WS 1995 Functional significance of presynaptic alpha-adrenergic receptors in failing and non failing human left ventricle. *Circulation* 92: 1793-1800.
6. Gould L, Reddy CV 1976 Phentolamine. *Am Heart J* 92: 397-402.
7. Maranhão MF, Lopes M, Rocha SW, Oliveira PF, Oliveira JC, Furlane L, Ramalho J, Romero Rojas TI, Carvalho RD, Loures Dr, da Cunha GP 1976 Treatment of heart arrhythmia with Phentolamine (preliminary report). *Arq Bras Cardiol* 28: 107-115.
8. Richter S, Shalev M, Nissenkorn I 1983 Use of phentolamine in hypertensive crises. *Pol Tyg Lek* 38: 235-237.
9. Geumei A, Miller JR, Miller WF 1975 Effects of phentolamine inhalation on patients with bronchial asthma. *Br J Clin Pharmacol* 2: 539-540.
10. Subhani M, Sridhar S, de Cristofaro JD 2001 Phentolamine use in a neonate for the prevention of dermal necrosis caused by dopamine: a case report. *J Perinatol* 21: 324-326.
11. McCleane GJ 1996 Phentolamine abolishes the pain of chronic pancreatitis. *Br J Hosp Med* 55: 521.
12. Nakada T, Kubota Y, Sasagawa I, Izumiya K, Suzuki H 1994 Phentolamine test for operative complication of pheochromocytoma: its prognostic importance. *Int J Urol* 1: 17-22.
13. Purohit SK, Hellstrom, WJG 2000 Erectile dysfunction. In: *Rakel Conn's Current Therapy* 52nd ed. New Orleans, WB Saunders Company, chapter 172, pp 691-694.
14. Gwinup G 1988 Oral phentolamine in non-specific erectile insufficiency. *Ann Intern Med* 109: 162-168.
15. Goldstein I 2000 Oral phentolamine: an alpha-1, alpha-2 adrenergic antagonist for the treatment of erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 19: 51-56.
16. Dallal GE, Wilkinson L 1986 An analytic approximation to the distribution of Lilliefors' test statistic for normality. *Am Statistician* 40: 294-296.
17. Hauschke D, Steinijans VW, Diletti E 1990 A distribution-free procedures for the statistical analysis of bioequivalence studies. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 28: 72.
18. Moncada Iribarren I, Saenz de Tejada I 1999 Pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Current Opinion in Urology* 9: 547-551.
19. Johannes CB, Araujo AB, Feldman HA, Derby CA, Kleinman KP, and McKinlay JB 2000 Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: longitudinal results from the Massachusetts male aging study *J Urol* 163: 460-463.
20. Huang EC, Wachs T, Conboy JJ 1990 The quantification of drugs in biological matrices by LC/MS/MS is becoming more usual, improving sensitivity and selectivity of methods. *Anal Chem* 62: 713.

21. Goldstein I, Carson C, Rosen R, Islan A 2001 Vasomax® for the treatment of male erectile dysfunction. *World J Urol* 19: 51-56.
22. Moraes MO, Lerner FE, Corso G, Frota Bezerra FA, Moraes MEA, De Nucci G 1999 Fluoxetine bioequivalence study: Quantification of fluoxetine and norfluoxetine by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS). *J Clin Pharmacol* 39: 1-9.
23. Food and Drug Administration, In vivo bioequivalence guidance's 2000 Pharmacopeial Forum 19: 6501.

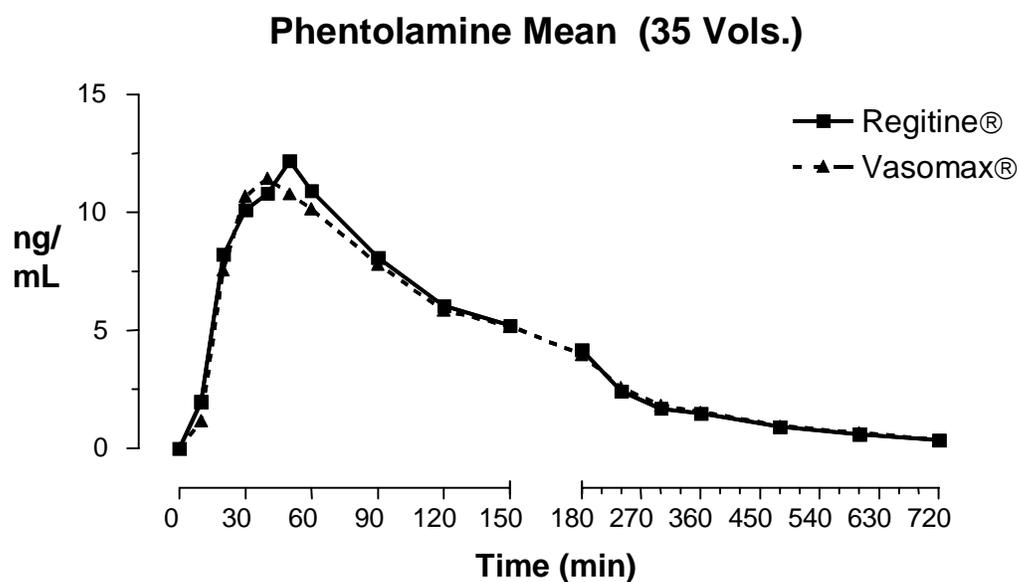


Figure 1: Plasma Phentolamine concentrations versus time curves in 35 healthy male volunteers after a single dose

Table 1. Mean pharmacokinetic parameters for 35 volunteers after the administration of phentolamine

Parameter	Phentolamine	
	Regitine® (mean ± SD)	Vasomax® (mean ± SD)
AUC _(0-720 min) (ng x m x mL ⁻¹)	1961 ± 882	1942 ± 964
AUC _(0-∞) (ng x mL ⁻¹)	2106 ± 959	2105 ± 1050
C _{max} (ng x mL ⁻¹)	15.4 ± 7.8	14,2 ± 7.2
k _e , (h ⁻¹)	0,22 (0,15 – 0,38)	0,21 (0,15 – 0,34)
t _{1/2} (min)	187 ± 80	192 ± 72
T _{max} (min)	50 20 - 150	40 20 - 90

Table 2. Statistical analysis of individual AUC_(0-720 min) and C_{max} % ratios for the phentolamine formulations

Test / reference Regitine® / Vasomax®	Statistical analysis			
	Parametric analysis		Non-parametric analysis*	
	Geometric mean %	90% CI	Point Estimate %	90% CI
AUC _(0-720 min) % ratio	102.33	97.21 - 107.72	102,1	95.9 – 107.6
C _{max} % ratio	108,29	98.58 – 118.96	108	99.2 - 118.7

Legend: * According to [Hauschke et al. 1990] and FDA non-parametric results are expressed as point estimates and 90% CI of individual ratios, except for T_{max} (expressed as point estimates and 90% CI of individual differences).

Anexo 2. Resultados individuais do primeiro estudo apresentados em gráficos e tabelas contemplando as concentrações plasmáticas de fentolamina versus o tempo em minutos (figuras 38 - 73) e, os parâmetros farmacocinéticos (tabelas 17-52).

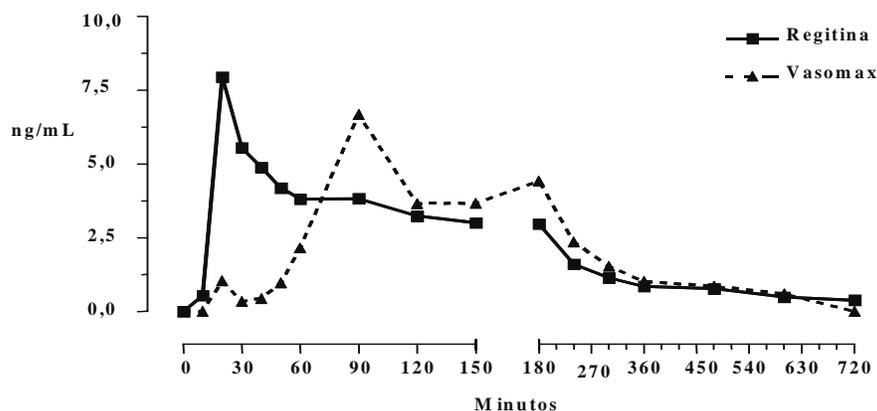


Figura 38. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário I, em função do tempo

Tabela 17. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário I

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all (0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1159	1189
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1309	1283
$AUC_{all (0-720min)} / \infty (\%)$	88,6%	92,7%
$C_{max} (ng/ml)$	8,0	6,7
$T_{max} (min)$	20	90
$T_{1/2} (min)$	273	150

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

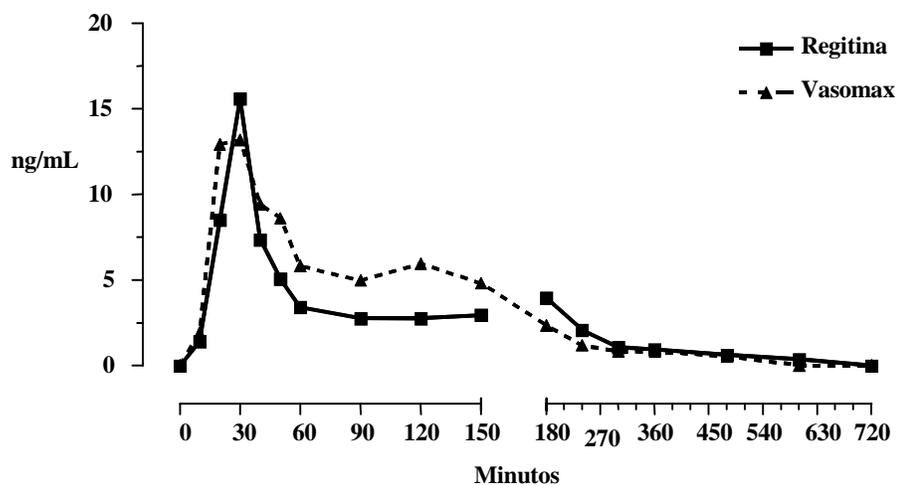


Figura 39 Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário II, em função do tempo

Tabela 18. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário II

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1278	1412
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1354	1451
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	94,3%	97,3%
$C_{max} (ng/ml)$	15,6	13,2
$T_{max} (min)$	30	30
$t_{1/2} (min)$	182	92

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

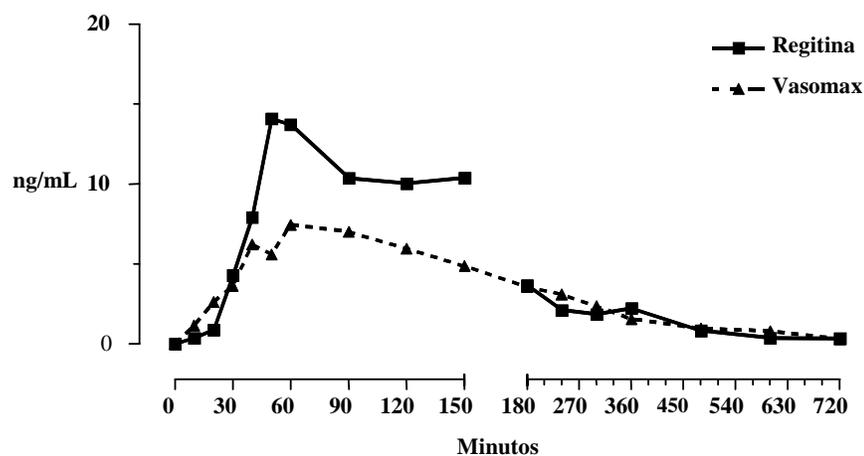


Figura 40. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário III, em função do tempo

Tabela 19. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário III

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all} (0-720min) (ng \times min \times ml^{-1})$	2240	1726
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2297	1785
$AUC_{all} (0-720min) / \infty (\%)$	97,5%	96,7%
$C_{max} (ng/ml)$	14,1	7,4
$T_{max} (min)$	50	60
$t_{1/2} (min)$	116	146

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

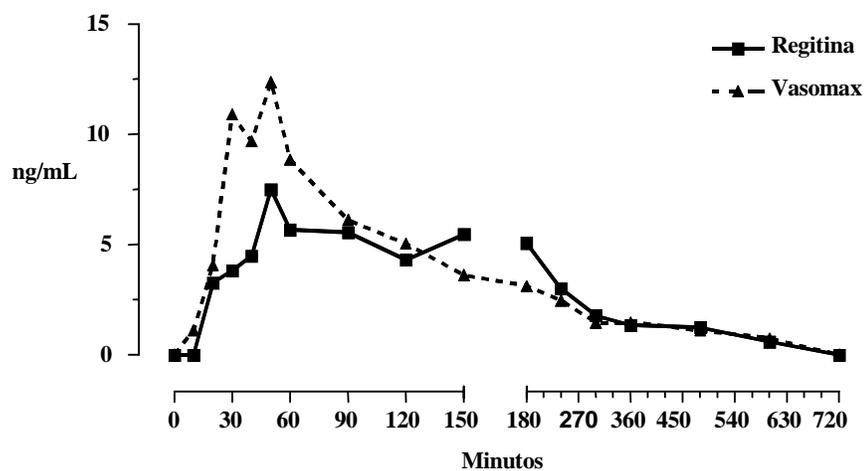


Figura 41. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário IV, em função do tempo

Tabela 20. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário IV

	Fentolamine	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all (0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1625	1731
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1727	1945
$AUC_{all (0-720min)} / \infty (\%)$	94,1%	89,0%
$C_{max} (ng/ml)$	7,5	12,4
$T_{max} (min)$	50	50
$t_{1/2} (min)$	157	242

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

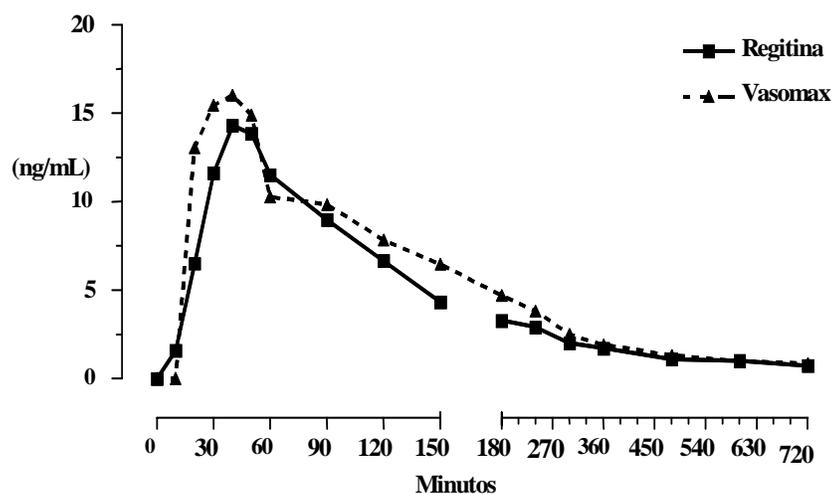


Figura 42. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário V, em função do tempo

Tabela 21. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário V

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	2203	2604
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2512	2934
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	87,7%	88,7%
$C_{max} (ng/ml)$	14,3	16,0
$T_{max} (min)$	40	40
$t_{1/2} (min)$	294	269

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

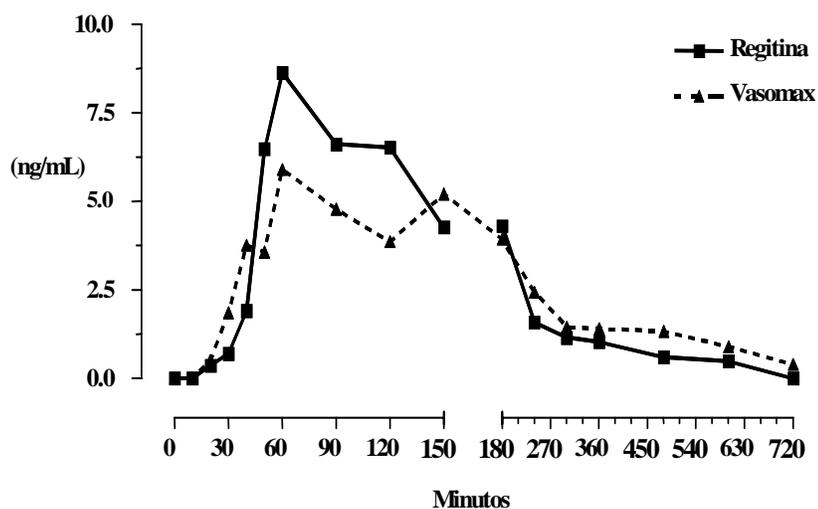


Figura 43. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário VI, em função do tempo

Tabela 22. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário VI

	Fentolamine	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all (0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1373	1456
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1493	1559
$AUC_{all (0-720min) / \infty} (\%)$	92,0%	93,4%
$C_{max} (ng/ml)$	8,6	5,9
$T_{max} (min)$	60	60
$t_{1/2} (min)$	211	181

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

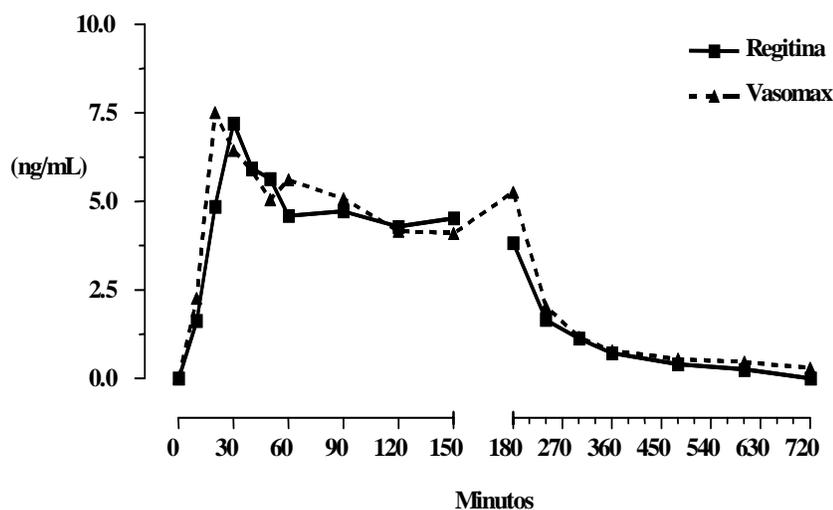


Figura 44. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário VII, em função do tempo

Tabela 23. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário VII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1234	1419
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1276	1530
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	96,7%	92,7%
$C_{max} (ng/ml)$	7,2	7,5
$T_{max} (min)$	30	20
$t_{1/2} (min)$	157	266

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

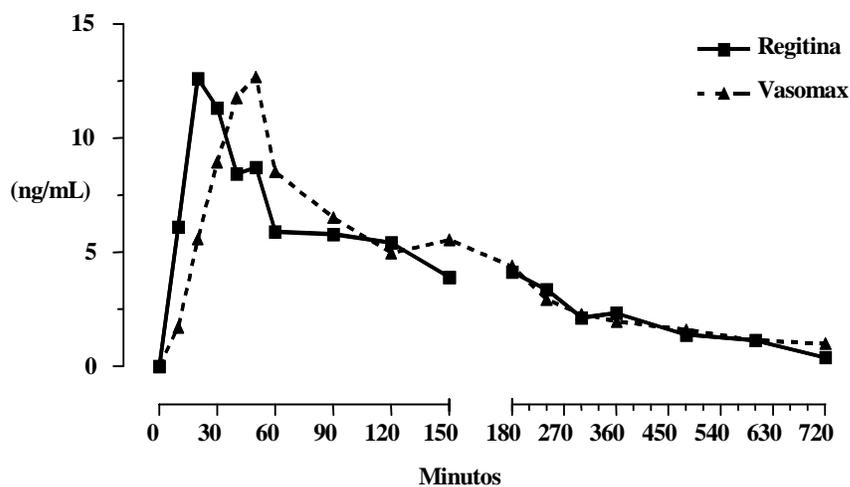


Figura 45. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário VIII, em função do tempo

Tabela 24. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário VIII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	2099	2161
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2201	2642
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	95,4%	81,8%
$C_{max} (ng/ml)$	12,6	12,7
$T_{max} (min)$	20	50
$t_{1/2} (min)$	177	336

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

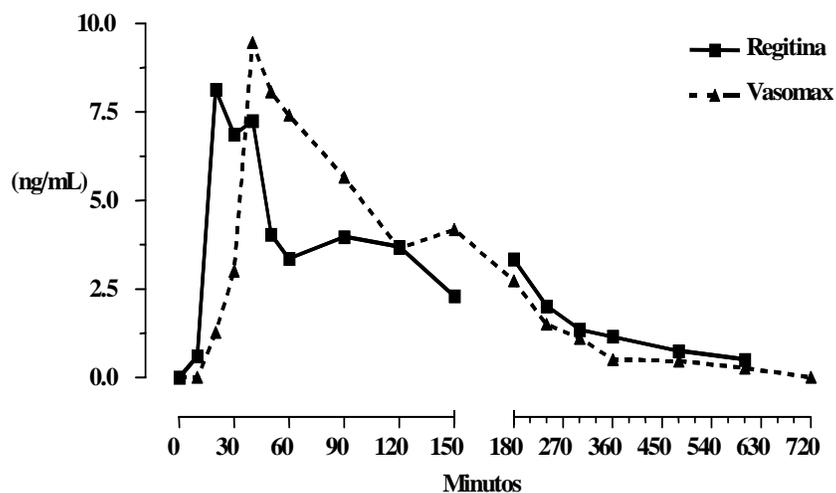


Figura 46. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário IX, em função do tempo

Tabela 25. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário IX

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1214	1184
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1368	1208
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	88,8%	98,1%
$C_{max} (ng/ml)$	8,1	9,5
$T_{max} (min)$	20	40
$t_{1/2} (min)$	208	104

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

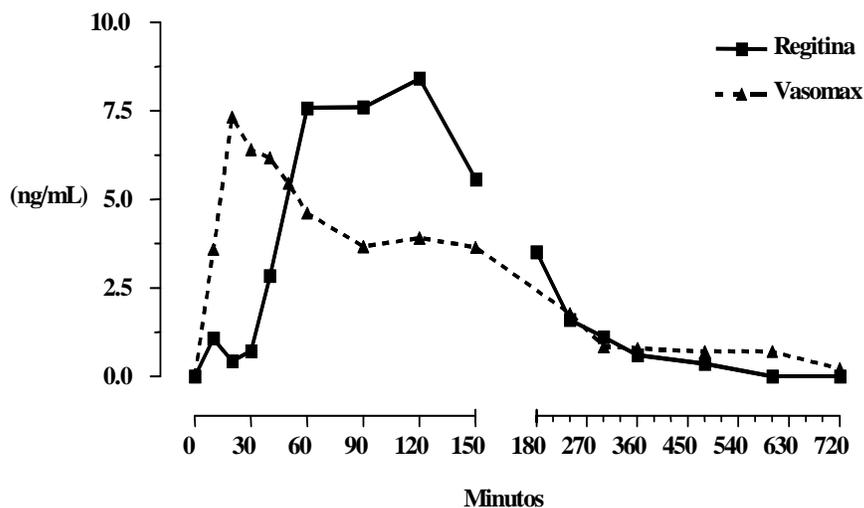


Figura 47. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário X, em função do tempo

Tabela 26. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário X

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all (0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1325	1265
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1345	1313
$AUC_{all (0-720min) / \infty} (\%)$	98,5%	96,4%
$C_{max} (ng/ml)$	8,4	7,3
$T_{max} (min)$	120	20
$t_{1/2} (min)$	80	149

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

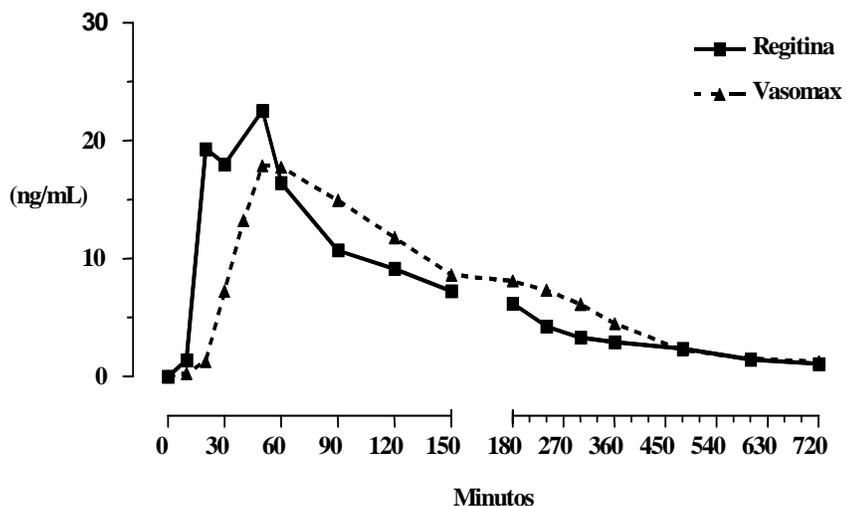


Figura 48. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XI, em função do tempo

Tabela 27. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XI

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)}$ (ng ^x min ^x ml ⁻¹)	3477	3906
AUC_{∞} (ng ^x min ^x ml ⁻¹)	3858	4202
$AUC_{all(0-720min) / \infty}$ (%)	90,1%	92,9%
C_{max} (ng/ml)	22,6	17,9
T_{max} (min)	50	50
$t_{1/2}$ (min)	247	167

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

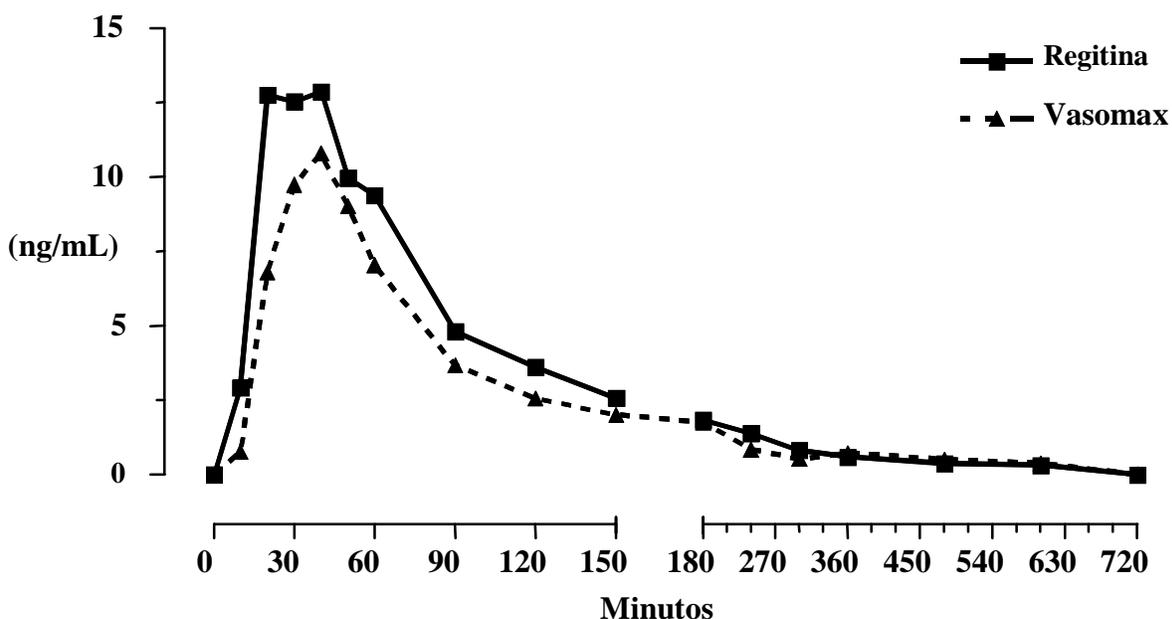


Figura 49. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XII, em função do tempo

Tabela 28. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1383	1089
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1424	1200
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	97,1%	90,7%
$C_{max} (ng/ml)$	12,9	10,8
$T_{max} (min)$	40	40
$t_{1/2} (min)$	128	250

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

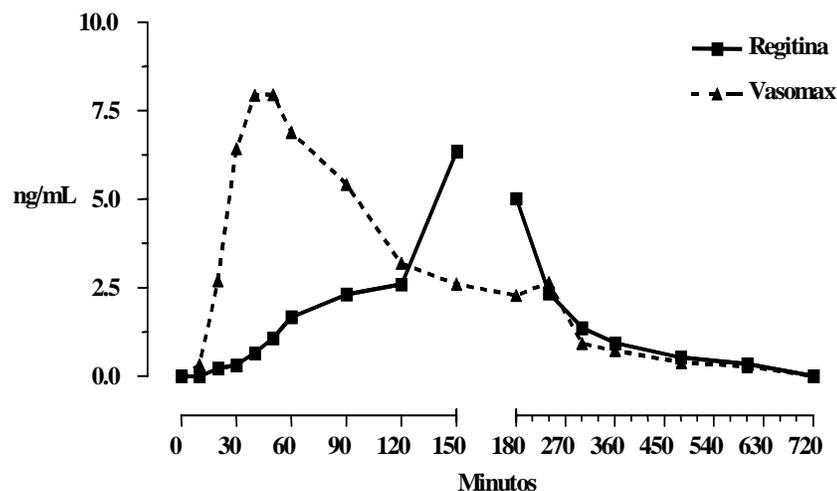


Figura 50. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XIII, em função do tempo

Tabela 29. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XIII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1034	1187
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1098	1234
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	94,2%	96,1%
$C_{max} (ng/ml)$	6,4	8,0
$T_{max} (min)$	150	50
$t_{1/2} (min)$	168	165

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

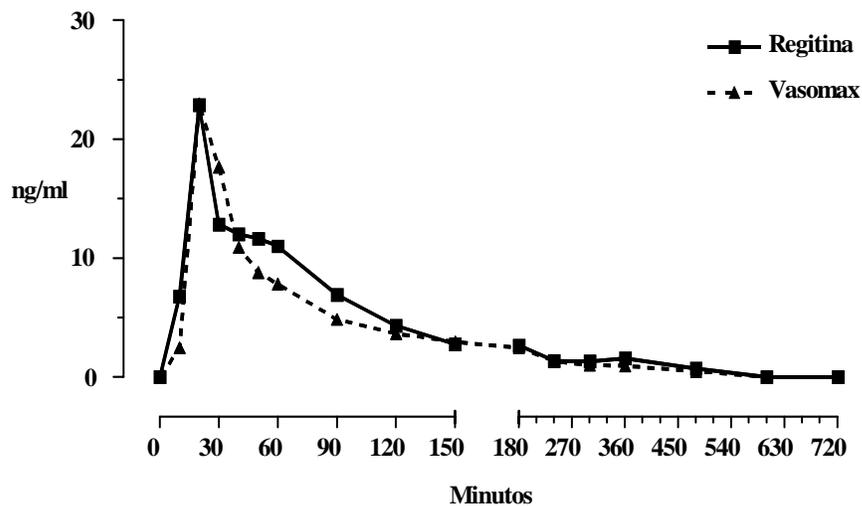


Figura 51. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XIV, em função do tempo

Tabela 30. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XIV

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all (0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1819	1571
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1886	1658
$AUC_{all (0-720min) / \infty} (\%)$	96,4%	94,8%
$C_{max} (ng/ml)$	22,9	23,0
$T_{max} (min)$	20	20
$t_{1/2} (min)$	104	196

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

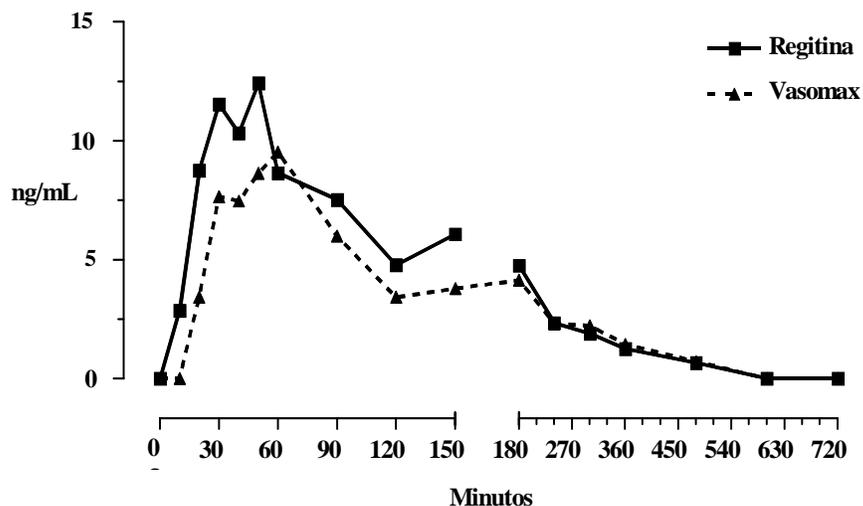


Figura 52. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XV, em função do tempo

Tabela 31. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XV

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1943	1616
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2237	1758
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	86,9%	91,9%
$C_{max} (ng/ml)$	12,4	9,5
$T_{max} (min)$	50	60
$t_{1/2} (min)$	442	260

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

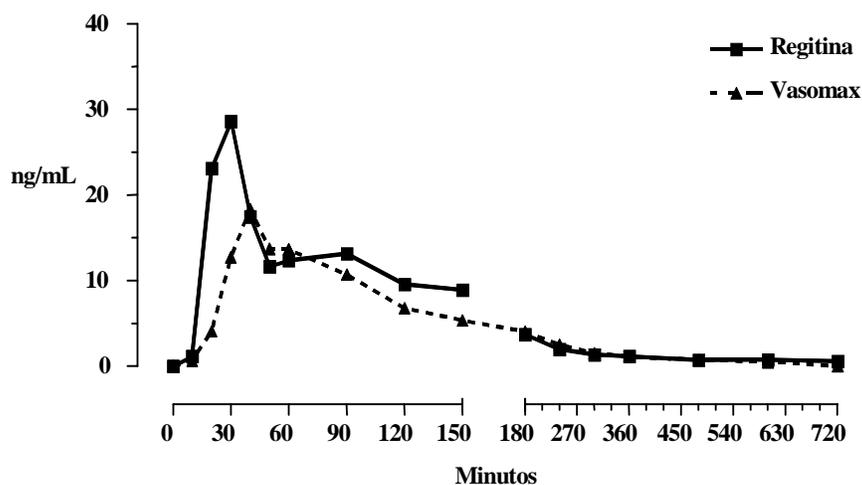


Figura 53. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XVI, em função do tempo

Tabela 32. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XVI

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	2701	2113
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2985	2210
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	90,5%	95,6%
$C_{max} (ng/ml)$	28,6	18,3
$T_{max} (min)$	30	40
$t_{1/2} (min)$	351	192

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

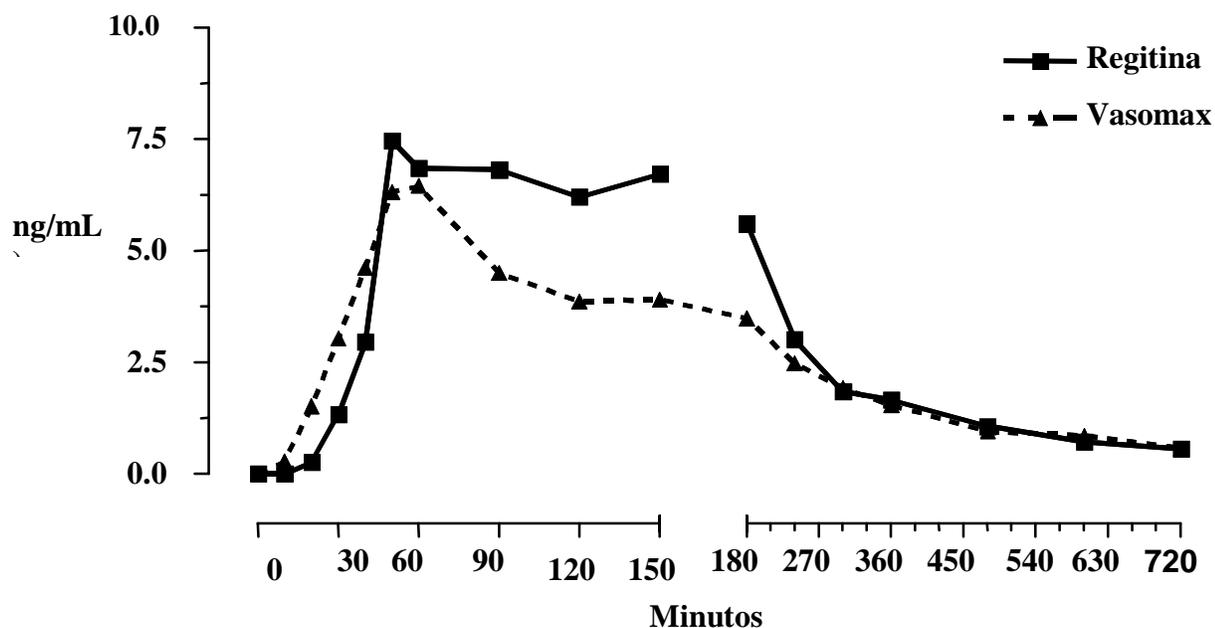


Figura 54. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XVII, em função do tempo

Tabela 33. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XVII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1792	1465
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1979	1633
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	90,5%	89,7%
$C_{max} (ng/ml)$	7,5	6,5
$T_{max} (min)$	50	60
$t_{1/2} (min)$	232	205

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

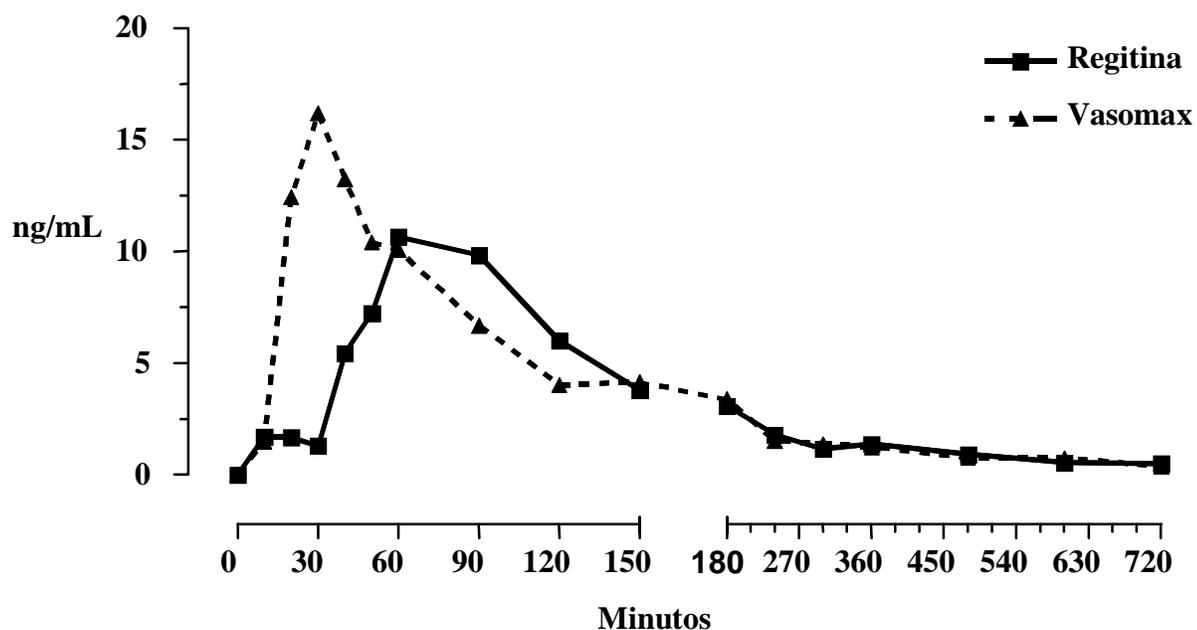


Figura 55. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XVIII, em função do tempo

Tabela 34. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XVIII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1623	1816
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1791	1944
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	90,6%	93,4%
$C_{max} (ng/ml)$	10,7	16,2
$T_{max} (min)$	60	30
$t_{1/2} (min)$	234	246

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

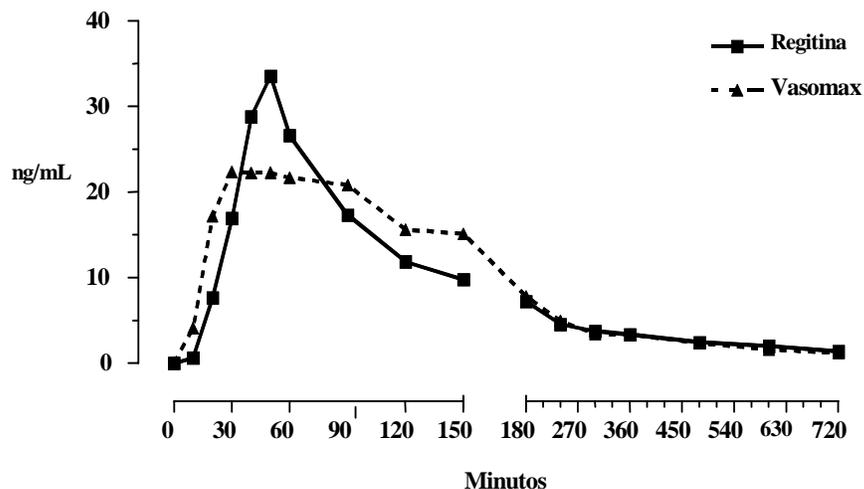


Figura 56. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XIX, em função do tempo

Tabela 35. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XIX

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	4323	4543
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	4902	4947
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	88,2%	91,8%
$C_{max} (ng/ml)$	33,5	22,3
$T_{max} (min)$	50	30
$t_{1/2} (min)$	291	237

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

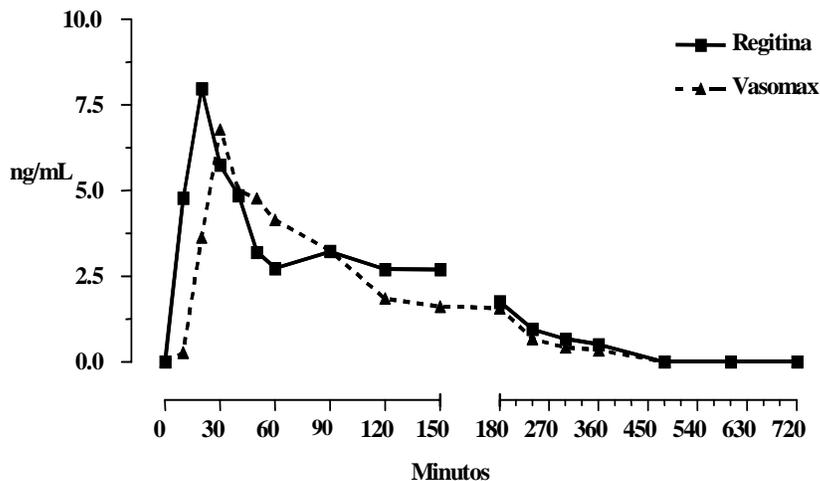


Figura 57. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XX, em função do tempo

Tabela 36. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XX

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all} (0-720min) (ng \times min \times ml^{-1})$	803	656
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	869	675
$AUC_{all} (0-720min) / \infty (\%)$	92,4%	97,2%
$C_{max} (ng/ml)$	8,0	6,8
$T_{max} (min)$	20	30
$t_{1/2} (min)$	132	78

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

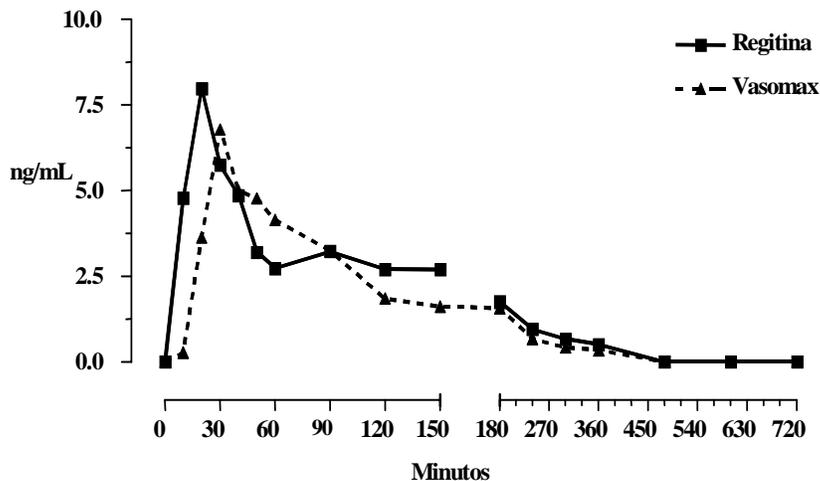


Figura 58. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXI, em função do tempo

Tabela 37. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXI

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	2399	1783
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2434	1880
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	98,5%	94,8%
$C_{max} (ng/ml)$	24,4	10,3
$T_{max} (min)$	40	20
$t_{1/2} (min)$	123	152

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

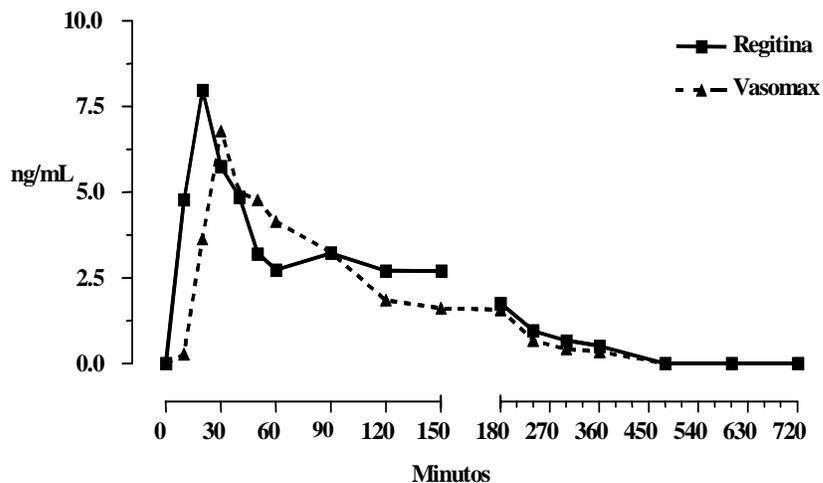


Figura 59. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXII, em função do tempo

Tabela 38. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all} (0-720min) (ng \times min \times ml^{-1})$	3348	3122
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	3467	3610
$AUC_{all} (0-720min) / \infty (\%)$	96,6%	86,5%
$C_{max} (ng/ml)$	31,6	20,5
$T_{max} (min)$	50	40
$t_{1/2} (min)$	188	402

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

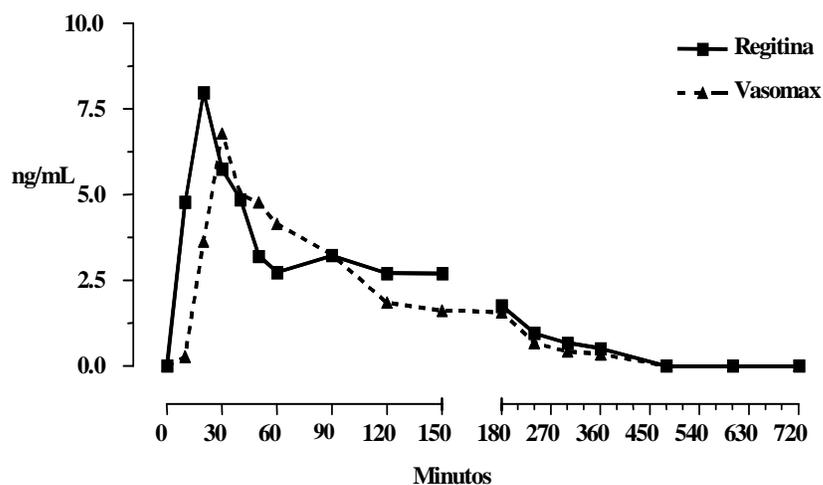


Figura 60. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXIII, em função do tempo

Tabela 39. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXIII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1578	1123
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1745	1298
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	90,4%	86,5%
$C_{max} (ng/ml)$	11,9	6,9
$T_{max} (min)$	30	20
$t_{1/2} (min)$	184	164

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

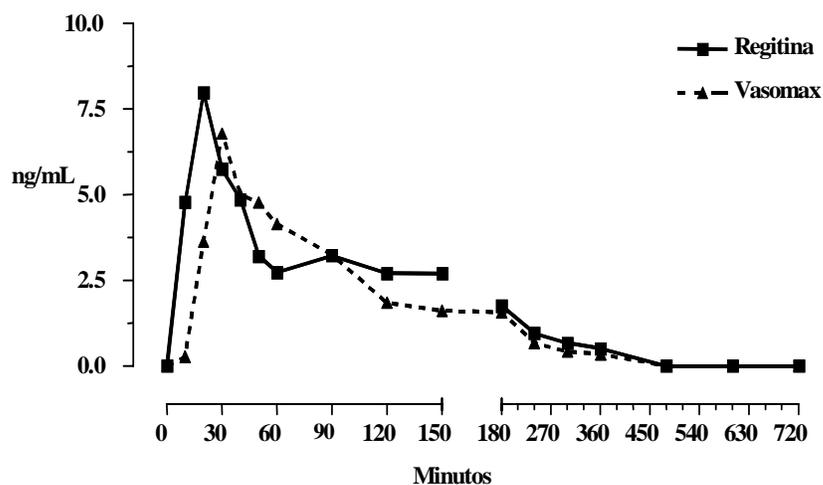


Figura 61. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXIV, em função do tempo

Tabela 40. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXIV

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	4647	4533
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	4891	4731
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	95,0%	95,8%
$C_{max} (ng/ml)$	32,4	25,8
$T_{max} (min)$	50	30
$t_{1/2} (min)$	197	163

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

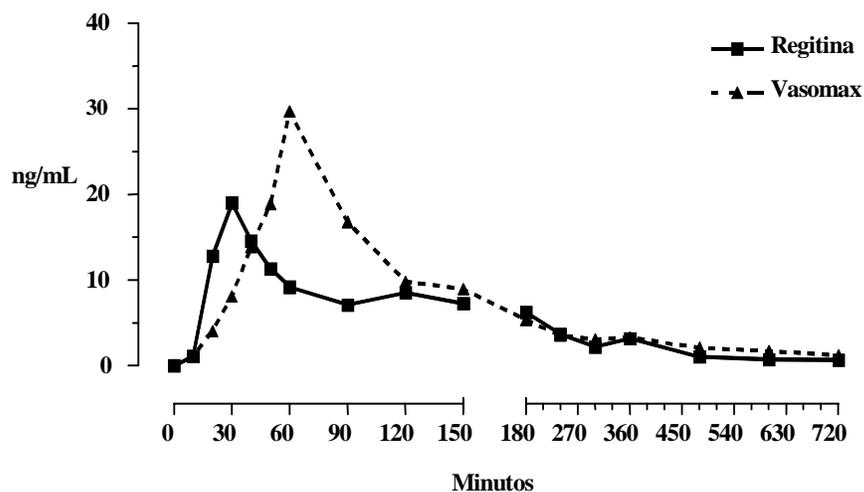


Figura 62. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXV, em função do tempo

Tabela 41. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXV

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	2639	3562
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2790	3990
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	94,6%	89,3%
$C_{max} (ng/ml)$	19,0	29,7
$T_{max} (min)$	30	60
$t_{1/2} (min)$	154	254

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

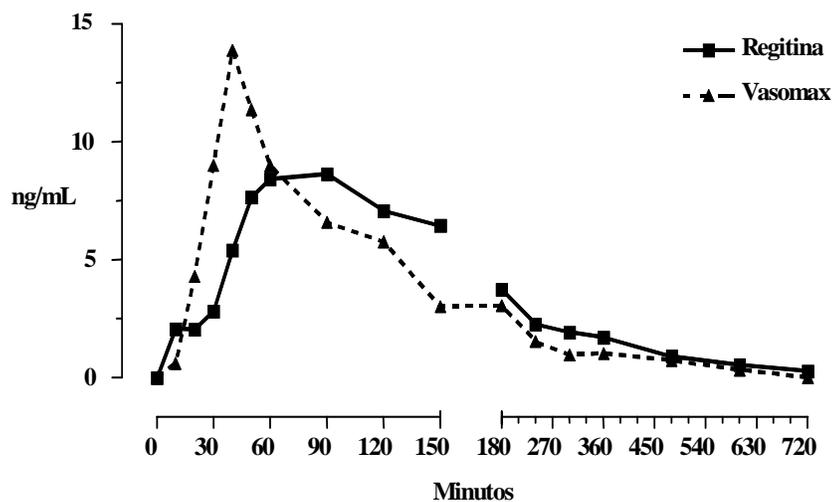


Figura 63. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXVI, em função do tempo

Tabela 42. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXVI

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1798	1536
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1855	1568
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	96,9%	98,0%
$C_{max} (ng/ml)$	8,6	13,9
$T_{max} (min)$	90	40
$t_{1/2} (min)$	140	108

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

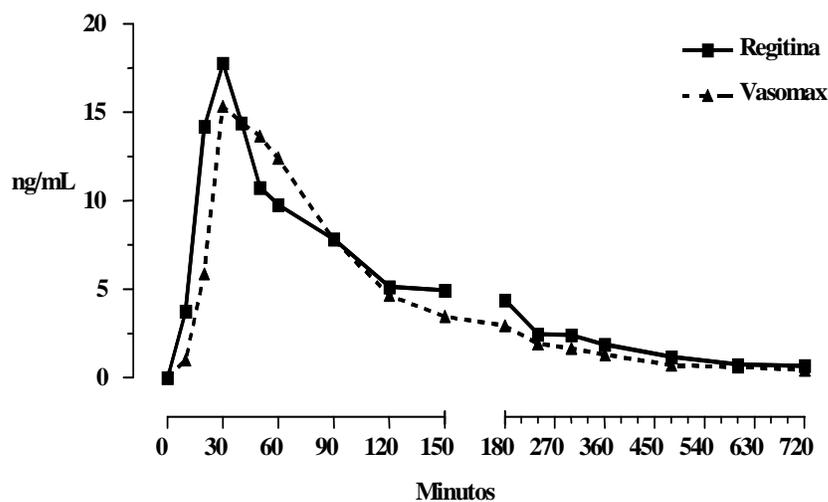


Figura 64. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXVII, em função do tempo

Tabela 43. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXVII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all} (0-720min) (ng \times min \times ml^{-1})$	2272	1867
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2459	2006
$AUC_{all} (0-720min) / \infty (\%)$	92,4%	93,1%
$C_{max} (ng/ml)$	17,8	15,3
$T_{max} (min)$	30	30
$t_{1/2} (min)$	192	218

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

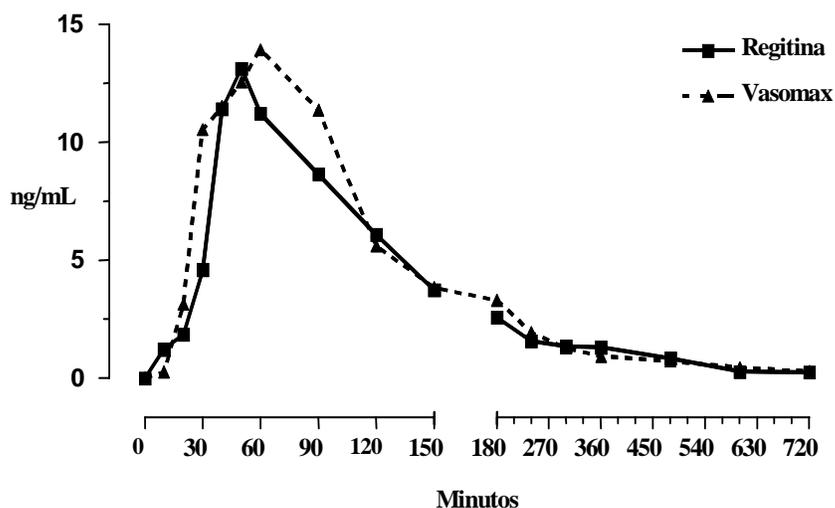


Figura 65. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXVIII, em função do tempo

Tabela 44. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXVIII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all} (0-720min) (ng \times min \times ml^{-1})$	1661	1870
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1702	1941
$AUC_{all} (0-720min) / \infty (\%)$	97,6%	96,3%
$C_{max} (ng/ml)$	13,1	15,2
$T_{max} (min)$	50	60
$t_{1/2} (min)$	143	176

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo
 C_{max} – concentração máxima
 T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima
 $t_{1/2}$ – meia vida

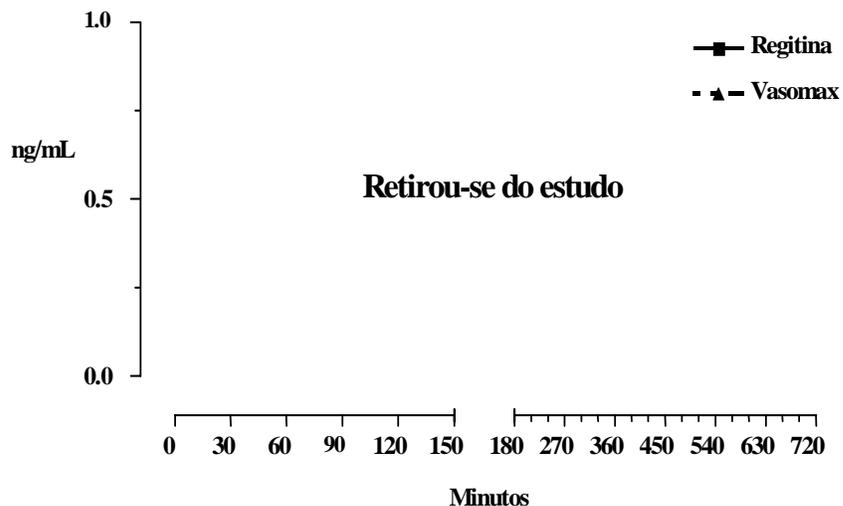


Figura 66. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXIX, em função do tempo

Tabela 45 . Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXIX

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$		
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$		
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$		
$C_{max} (ng/ml)$		
$T_{max} (min)$		
$t_{1/2} (min)$		

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

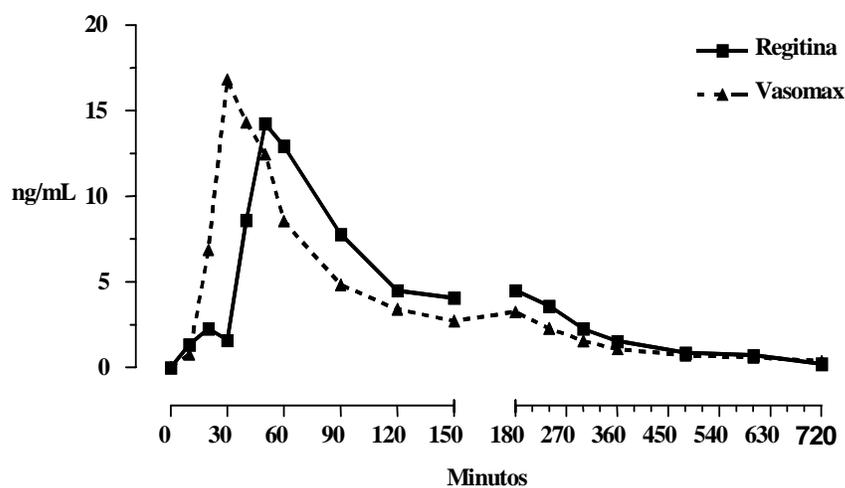


Figura 67. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXX, em função do tempo

Tabela 46. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXX

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1926	1658
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1968	1790
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	97,9%	92,6%
$C_{max} (ng/ml)$	14,3	16,8
$T_{max} (min)$	50	30
$t_{1/2} (min)$	137	249

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo
 C_{max} – concentração máxima
 T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima
 $t_{1/2}$ – meia vida

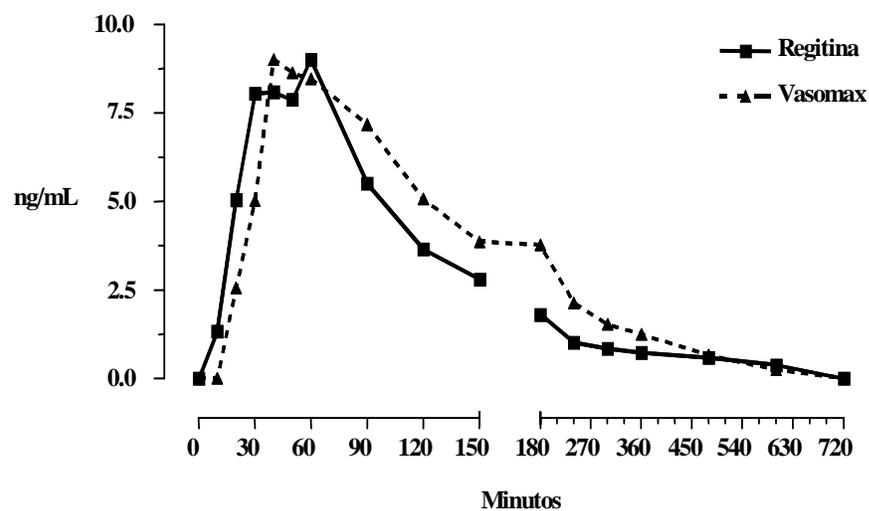


Figura 68. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXXI, em função do tempo

Tabela 47 . Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXXI

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1220	1516
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1343	1541
$AUC_{all(0-720min)/\infty} (\%)$	90,9%	98,4%
$C_{max} (ng/ml)$	9,0	9,0
$T_{max} (min)$	60	40
$t_{1/2} (min)$	265	110

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

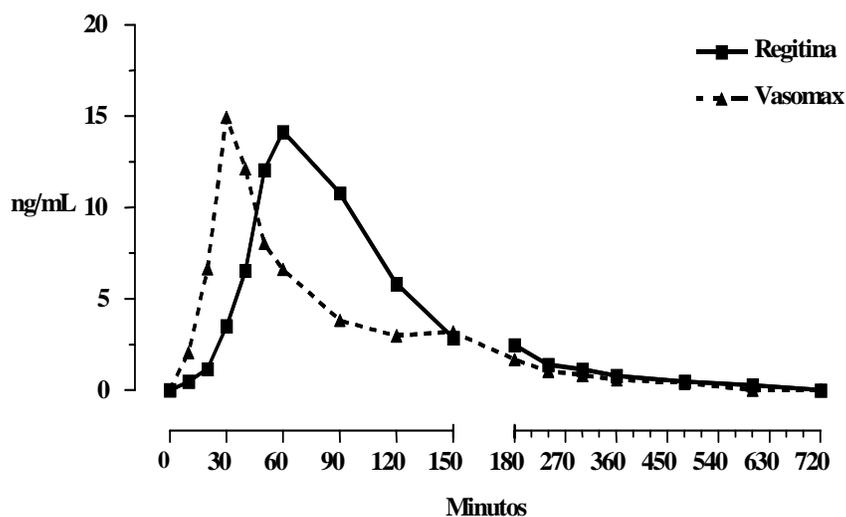


Figura 69. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXXII, em função do tempo

Tabela 48 . Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXXII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all (0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1529	1150
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1571	1218
$AUC_{all (0-720min) / \infty} (\%)$	97,3%	94,4%
$C_{max} (ng/ml)$	14,1	14,9
$T_{max} (min)$	60	30
$t_{1/2} (min)$	150	166

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

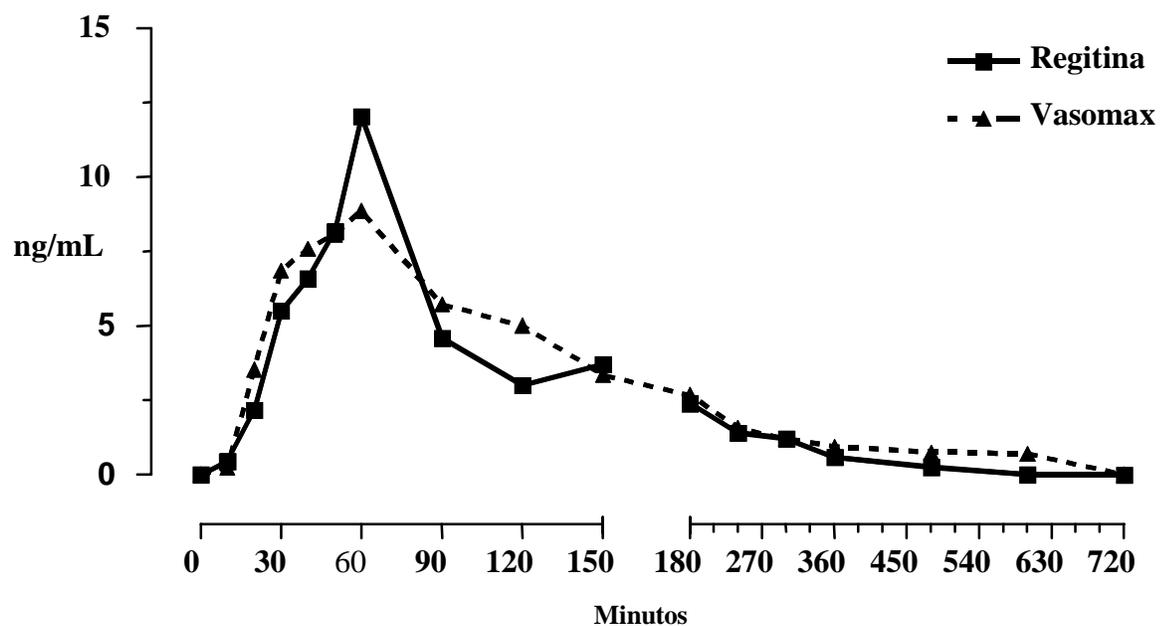


Figura 70. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXXIII, em função do tempo

Tabela 49 . Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXXIII

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all(0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1157	1405
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1174	1502
$AUC_{all(0-720min) / \infty} (\%)$	98,6%	93,5%
$C_{max} (ng/ml)$	12,0	8,9
$T_{max} (min)$	60	60
$t_{1/2} (min)$	88	138

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo
 C_{max} – concentração máxima
 T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima
 $t_{1/2}$ – meia vida

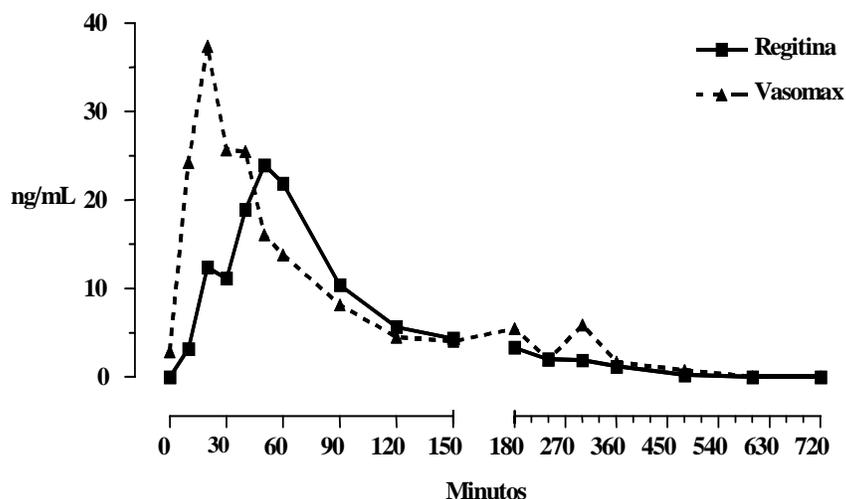


Figura 71. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXXIV, em função do tempo

Tabela 50 . Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXXIV

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all} (0-720min) (ng \times min \times ml^{-1})$	2274	3022
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2280	3077
$AUC_{all} (0-720min) / \infty (\%)$	99,7%	98,2%
$C_{max} (ng/ml)$	23,9	37,4
$T_{max} (min)$	50	20
$t_{1/2} (min)$	59	92

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

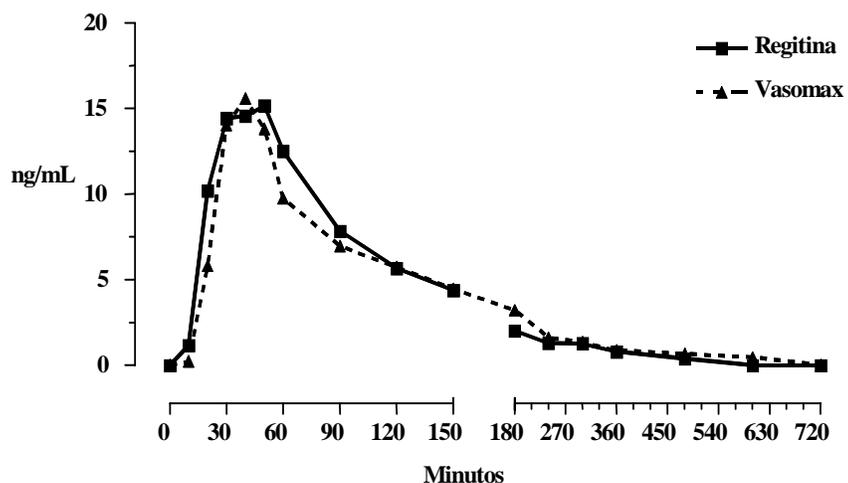


Figura 72. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXXV, em função do tempo

Tabela 51 . Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXXV

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all (0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	1707	1737
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	1744	1874
$AUC_{all (0-720min) / \infty} (\%)$	97,9%	92,7%
$C_{max} (ng/ml)$	15,2	15,6
$T_{max} (min)$	50	40
$t_{1/2} (min)$	108	252

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

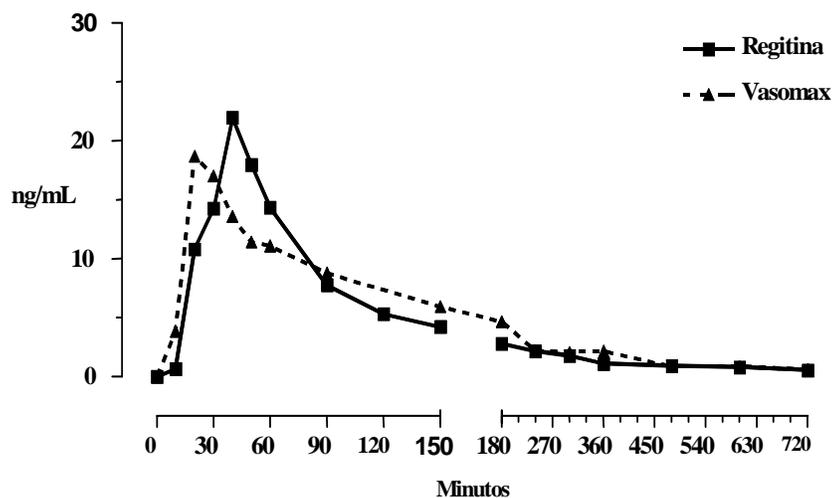


Figura 73. Concentração plasmática de fentolamina (ng/mL) do voluntário XXXVI, em função do tempo

Tabela 52. Parâmetros farmacocinéticos das formulações de fentolamina do voluntário XXXVI

	Fentolamina	
	Regitina	Vasomax
$AUC_{all (0-720min)} (ng \times min \times ml^{-1})$	2172	2426
$AUC_{\infty} (ng \times min \times ml^{-1})$	2375	2555
$AUC_{all (0-720min) / \infty} (\%)$	91,5%	94,9%
$C_{max} (ng/ml)$	22,0	18,7
$T_{max} (min)$	40	20
$t_{1/2} (min)$	246	147

Legenda: AUC – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

C_{max} – concentração máxima

T_{max} – tempo necessário para alcançar a concentração máxima

$t_{1/2}$ – meia vida

Anexo 3. Protocolo de Pesquisa

Descrição dos propósitos e hipóteses

Esta pesquisa objetiva definir através de um estudo *in vitro*, de fácil execução e de baixo custo, usando corpo cavernoso de doador cadáver, os mecanismos pelos quais a fentolamina produz ereção peniana no ser humano.

Este fármaco tem papel definido no tratamento da disfunção erétil peniana por sua ação bloqueadora dos receptores α -adrenérgicos, no entanto, é necessário estabelecer em definitivo se há outros meios de ação. A hipótese a ser testada é a seguinte:

- A fentolamina age estimulando diretamente a enzima guanilato ciclase e, portanto incrementando a produção intracelular do GMPc, principal efetor da ereção peniana humana.
- A fentolamina ativa a enzima óxido nítrico sintase promovendo a cascata de eventos que culmina com a elevação do nível intracelular do GMPc.

Antecedentes científicos e dados que justifiquem a pesquisa.

Disfunção erétil (DE) é definida como incapacidade persistente de manter ereção peniana suficiente para uma relação sexual ⁽¹⁾. Desde o consenso extraído da conferência de 1992 do *National Institutes of Health* que se usa o termo “Disfunção Erétil” substituindo “impotência” porque define melhor o problema e tem conotação menos pejorativa ⁽²⁾.

A prevalência da doença, baseada em estudos realizados em comunidades, oscila em torno 4-9% ⁽³⁾. Constitui queixa comum no Brasil, afetando em algum grau, cerca de 25 milhões de brasileiros ⁽⁴⁾. Aproximadamente 52% dos homens na faixa etária entre os 40-70 anos sofrem de disfunção erétil ⁽⁵⁾.

Os dados epidemiológicos acima comprovam a importância da disfunção erétil como problema de saúde em nosso meio, prejudicando sobre modo a qualidade de vida e sobretudo o relacionamento dos casais. Vários fármacos são usados atualmente por diversas vias para o tratamento da enfermidade, dentre eles a fentolamina.

A fentolamina é antagonista competitivo dos receptores α -adrenérgicos, agindo com quase igual eficácia sobre os receptores α_1 e α_2 . Também tem um efeito mesmo que fraco sobre os receptores 5-HT e ainda atua liberando histamina de mastócitos. Parece ter ainda uma outra ação, possivelmente envolvendo a ativação da enzima óxido nítrico sintase (NOS) ⁽⁶⁾.

O Bloqueio combinado dos receptores α_1 e α_2 -adrenérgicos pode facilitar a ereção por vários mecanismos possíveis: atividade bloqueadora adrenérgica pós-juncional e facilitadora da neurotransmissão nitrérgica. A ação da fentolamina sobre os α_2 -adrenoceptores pode ter um efeito no Sistema Nervoso Central que facilita a ereção e possivelmente a libido ⁽⁷⁾.

Estudo publicado em 1999 entre 3800 pacientes tomando fentolamina oral em duas apresentações reportou melhora da disfunção erétil de 53% para aqueles em uso de 40 mg e 63% para 80 mg, em comparação com 28% do grupo placebo. O evento adverso mais freqüente foi rinite, que ocorreu em 18,4% dos pacientes; menos freqüentes foram cefaléia, taquicardia, tonturas, que ocorreram em menos de 5% dos pacientes ⁽⁷⁾.

Grandes *trials* multicêntricos envolvendo pacientes portadores de DE mínima de várias causas, constituindo-se de estudos duplo-cegos, randomizados controlados por placebo,

utilizando-se duas doses orais de fentolamina ou placebo e por estudo cruzado com dose fixa de fentolamina, demonstraram os seguintes resultados:

Melhora da ereção peniana

Na dose de 40mg → 37% para o grupo fentolamina e 17% para o grupo placebo

Na dose de 80 mg → 45% para o grupo fentolamina e 16% para o grupo placebo.

Na dose fixa de 40 mg → 34% fentolamina e 21% placebo ⁽⁸⁾.

A fentolamina agindo nos receptores α -adrenérgicos desativa a cascata de eventos que compreendem a desintegração do polifosfato de inositol em trifosfato de inositol e Diacilglicerol (aumento do Ca^+ intracelular e contração muscular), relaxando a musculatura lisa com resultante ereção peniana ⁽⁹⁾.

A ereção peniana se dá principalmente pela via metabólica do sistema de segundos mensageiros nucleotídeos cíclicos pela ativação da guanilato ciclase solúvel produzindo o3'5-monofosfato de guanosina cíclica que ativando várias proteínas cinases conduz a relaxamento da musculatura lisa. O principal ativador deste é o óxido nítrico que é liberado das terminações nervosas e do endotélio vascular ⁽¹⁰⁾.

O objetivo deste estudo é tentar definir se a fentolamina age e como o faz, sobre o sistema de segundo mensageiros nucleotídeos cíclicos.

Descrição detalhada e ordenada do projeto de pesquisa.

Material e Métodos

Estudo *in vitro* com corpo cavernoso de doador cadáver, constituindo-se de seis experimentos (6 fragmentos de corpo cavernoso humano) Os fragmentos serão obtidos de doador cadáver por ocasião da captação de órgãos para transplantes, pela mesma incisão utilizada para aquele propósito.

Os corpos cavernosos serão dissecados para retirada dos tecidos circunjacentes e da túnica albugínea. Após isolamento serão montados em banhos de 5 ml em Krebs-Henseleit mantido a 37° C, pH 7,4 e oxigenado com mistura carbogênica. Os tecidos serão mantidos sob tensão de 1 g e permanecerão em repouso por 1 h com lavagens sucessivas de 15 em 15 min.

As alterações na tensão serão registradas por intermédio de polígrafo com transdutor de força isométrico (Narco Biosystems, Houston, Texas, USA). Após o período de equilíbrio, o corpo cavernoso será contraído com 100 μM de fenilefrina e a resposta à estimulação de campo elétrico (ECE; 0,5ms, 20 V, 2-16 Hz), acetilcolina (Ach ; 1 μM), NaNO_2 (NO;1-100 μM) e nitroprussiato (SNP; 1 μM) obtida em experimentos isolados. A indometacina (10 μM) e guanetidina (1 μM) serão adicionadas à solução de Krebs-Henseleit para diminuir a atividade mecânica basal do tecido.

Para examinar o efeito da droga teste na formação de GMPc no tecido cavernoso os mesmos serão isolados como descrito anteriormente e seccionados longitudinalmente. Os tecidos serão subseqüentemente incubados individualmente a 37° C por 60 min em 3 mL de Krebs-Henseleit aerado com mistura carbogênica (95% O_2 e 5% CO_2) e lavados sucessivamente com quatro trocas sucessivas do meio.

No final deste período, os tecidos serão transferidos para um meio fresco (2 mL) e incubados com a droga teste por 5 minutos. Após este tempo de incubação, eles serão rapidamente transferidos para tubos contendo 2mL de ácido tricloroacético (TCA) 10% (estocado a 4° e mantido no gelo) e homogeneizado em tubo mantido no gelo por intermédio de um sistema Ultraturax T-25 (Henkel, Germany).

Os homogenatos serão centrifugados a 4000 x g por 30 min a 4°C e o supernadante isolado, coletado e lavado com um volume equivalente de tri-*n*-octylamina (0.5M) em 1,1,2, triclorofluoroetano, seguido por agitação vigorosa para remover o TCA. Após a lavagem, os tubos foram centrifugados (1-2 min) em temperatura ambiente e a camada aquosa superior contendo GMPC será removida, seca a 55-60 °C e as amostras assim processadas serão estocadas a -20 °C até serem realizados os ensaios utilizando-se kits comerciais de enzima-imunoensaio, assim processando a dosagem de cGMP em homogenatos de corpo cavernoso (Amersham Life Science, Little Chalfont, UK).

A concentração de proteína das amostras precipitadas com TCA será determinada pelo método de Lowry como descrito por (Stoscheck (1990) após digerir as amostras por 24 hs em 1mL de NaOH (1 M) a 55°C. Os níveis de GMPC serão expressos como pmol/mg de proteína ⁽¹¹⁾.

Análise crítica dos riscos e benefícios

Trata-se de pesquisa in vitro utilizando-se corpo cavernoso de doador cadáver obtido no momento da captação de órgãos para transplante, obedecendo-se os rigores da lei específica.

O estudo tem elevada possibilidade de gerar conhecimento novo para compreender melhor os mecanismos primeiros pelos quais a fentolamina age na promoção da ereção peniana e, portanto potencial para oferecer alternativas de tratamento a problema tão prevalente em nosso meio, qual seja e disfunção erétil, trazendo em seu bojo as características do princípio bioético do benefício.

Duração total da pesquisa

Os pesquisadores estimam um prazo de seis meses para a conclusão do estudo a partir da aprovação deste projeto de pesquisa. Neste tempo é muito provável que se tenha, obtido os fragmentos de corpo cavernoso de doador cadáver em número suficiente para a realização completa do experimento.

A duração da pesquisa será determinada pela disponibilidade dos tecidos, haja vista que todo o instrumental necessário está devidamente montado e a equipe treinada.

Explicitação das responsabilidades dos pesquisadores

Os pesquisadores, Lúcio Flávio Gonzaga Silva, Manasses Claudino Fonteles, Nilberto Robson Falcão do Nascimento, Gilberto De Nucci, Manoel Odorico de Moraes Filho, têm plena ciência das responsabilidades que envolvem pesquisas com órgãos e tecidos obtidos de cadáver de *anima nobile* e conhecimento das prescrições da legislação específica.

Crêterios para suspender ou encerrar a pesquisa.

A pesquisa será encerrada quando forem completados os seis experimentos planejados no desenho deste estudo.

Um outro critério para a imediata suspensão da pesquisa seria a constata o durante os experimentos da inviabilidade da obten o de dados relevantes e úteis.

Local da pesquisa

A pesquisa será realizada no Laboratório de Farmacologia Cardiovascular do Instituto de Biomedicina da Universidade Federal do Ceará.

Declara o de divulga o dos resultados da pesquisa

Os pesquisadores se comprometem ao final da pesquisa a publicarem os resultados, tornando-os públicos, independente de serem eles favoráveis ou não.

Informa es relativas aos sujeitos da pesquisa

Os tecidos a serem utilizados nesta pesquisa serão obtidos de doador cadáver por ocasião da cirurgia para capta o de órgãos para transplante. O doador não será identificado em nenhum momento do estudo.

Termo de compromisso

Os pesquisadores responsáveis comprovam conhecer os termos da Resolu o CNS 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos e comprometem-se a cumpri-la na íntegra.

Referências

01. Miller TA. Diagnostic evaluation of erectile dysfunction. *Am Fam Physician* 2000; 61:104.
02. NIH Consensus Conference on Impotence. *JAMA* 1993; 270:83–90.
03. Spector IP, Carey MP. Incidence and prevalence of the sexual dysfunction: a critical review of the empirical literature. *Arch Sex Behav* 1990; 19:389–408. Moreira ED,
04. Abdo CH, Torres EB, Lobo CF, Fittipaldi JA. *Urology* 2001; 58:583-588.
05. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, Mckinlay JB: Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol* 1994; 151:54–61.
06. Traish A; Gupta S; Gallant C; Huang YH; Goldstein I Phentolamine mesylate relaxes penile corpus cavernosum tissue by adrenergic and non-adrenergic mechanisms. *Int J Impot Res* 1998; 10:215.
07. Iribarren IM, de Tejada IS: Pharmacological Treatment of erectile dysfunction. *Current Opinion in Urology*, 9: 547 – 551, 1999
08. Goldstein I: efficacy and safety of oral phentolamine (Vasomax) for the treatment of minimal erectile dysfunction. *J Urol* 1998; 159:240.
09. Burnett AL: Oral pharmacotherapy for erectile dysfunction : current perspectives.

- Urology 1999; 54: 392-400.
10. Stief CG, Noack T, Andersson K-E: signal transduction in cavernous smooth muscle. World J Urol 1997; 15:27-31.
11. Stoscheck CM. Quantitation of protein. *Method Enzymol* 1990; 182:50-58.

Anexo 4.

ESTADO DO CEARÁ
SECRETARIA DE SAÚDE
CENTRAL DE TRANSPLANTES DO CEARÁ

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA RETIRADA DE ÓRGÃOS E TECIDOS

Pelo presente Termo de Autorização, eu _____
(Reponsável pela doação)

_____, _____, _____
(Identidade) (Naturalidade)
(Estado civil)

Residente _____, _____
(Bairro)

_____, _____ do (a) _____
(Cidade) Parentesco) (Nome do doador)

_____, _____, _____, internado no

Hospital _____, N^o. prontuário _____,

Em ___/___/___, tendo sido constatado sua morte encefálica / PCR às _____ do dia
___/___/___, após exames clínicos e complementares por equipe médica especializada,

autorizo, de minha livre e espontânea vontade, a remoção de órgãos e tecidos:

que serão transplantado(s) em outra(s) pessoa(s) com finalidade terapêutica, nos termos da Lei N^o. 9.434 de 4 de fevereiro de 1997, regulamentada pelo Decreto Lei N^o. de 2.268 de 30 de junho de 1997 e _____

que será utilizado para fins científicos nos termos da Lei N^o. 8.489 de 18 de novembro de 1992, regulamentada pelo Decreto N^o. 879 de 22 de julho de 1993.

_____, _____ de _____ de _____

ASSINATURA

TESTEMUNHAS

NOME _____ R.G.: _____

ASSINATURA: _____

NOME _____ R.G.: _____

ASSINATURA _____

PROFISSIONAL RESPONSÁVEL: _____

Anexo 5. Índice Internacional de Função erétil (IIEF)

Por favor, marque com um “X” somente um quadrinho

1. Nas últimas quatro semanas, com que frequência você capaz de ter uma ereção durante uma atividade sexual**?

0. Sem atividade sexual
 5. Quase sempre ou sempre
 4. A maioria das vezes (muito mais que a metade da vezes)
 3. Às vezes (aproximadamente a metade das vezes)
 2. Algumas vezes (muito menos do que a metade das vezes)
 1. Quase nunca ou nunca

2. Nas últimas quatro semanas, quando você teve ereções sexuais com estimulação sexual, com que frequência suas ereções foram duras o suficiente para a penetração***?

0. Sem estimulação sexual
 5. Quase sempre ou sempre
 4. A maioria das vezes (muito mais que a metade da vezes)
 3. Às vezes (aproximadamente a metade das vezes)
 2. Algumas vezes (muito menos do que a metade das vezes)
 1. Quase nunca ou nunca

3. Nas última quatro semanas, quando você tentou ter relação sexual*, com que frequência você foi capaz de penetrar (entrar) na parceira?

0. Não manteve relações sexuais
 5. Quase sempre ou sempre
 4. A maioria das vezes (muito mais que a metade da vezes)
 3. Às vezes (aproximadamente a metade das vezes)
 2. Algumas vezes (muito menos do que a metade das vezes)
 1. Quase nunca ou nunca

4. Nas últimas quatro semanas, durante uma relação sexual*, com que frequência você foi capaz de manter sua ereção após você ter penetrado (entrado) na sua parceira?

0. Não manteve relações
 5. Quase sempre ou sempre
 4. A maioria das vezes (muito mais que a metade da vezes)
 3. Às vezes (aproximadamente a metade das vezes)
 2. Algumas vezes (muito menos do que a metade das vezes)
 1. Quase nunca ou nunca

5. Nas últimas quatro semanas, durante a relação sexual*, o quanto foi difícil para manter a sua ereção até o fim da relação?

- 0. Sem atividade sexual
- 1. Extremamente difícil
- 2. muito difícil
- 3. Difícil
- 4. Ligeiramente difícil
- 5. Sem dificuldade

6. Nas últimas quatro semanas, quantas vezes você tentou ter relação sexual*?

- 0. Não tentou
- 5. 1-2 tentativas
- 4. 3-4 tentativas
- 3. 5-6 tentativas
- 2. 7-10 tentativas
- 1. 11 ou mais tentativas

7. Nas últimas quatro semanas, quando você tentou uma relação sexual*, com que frequência ela foi satisfatória para você?

- 0. Sem atividade sexual
- 5. Quase sempre ou sempre
- 4. A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes)
- 3. Às vezes (aproximadamente a metade das vezes)
- 2. Algumas vezes (muito menos do que a metade das vezes)
- 1. Quase nunca ou nunca

8. Nas últimas quatro semanas, o quanto você aproveitou a atividade sexual**?

- 0. Não manteve relações sexuais
- 5. MUITÍSSIMO agradável
- 4. Muito agradável
- 3. Bastante agradável
- 2. Não muito agradável
- 1. Nada agradável

9. Nas últimas quatro semanas, quando você teve estimulação**** ou atividade sexual**, com que frequência ejaculou?

- 0. Sem estimulação / atividade sexual
- 5. Quase sempre ou sempre
- 4. A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes)
- 3. Às vezes (aproximadamente a metade das vezes)
- 2. Algumas vezes (muito menos do que a metade das vezes)
- 1. Quase nunca ou nunca

10. Nas últimas quatro semanas, quando você teve estimulação**** ou relação sexual*, com que frequência você teve a sensação de orgasmo (com ou sem ejaculação)?

- 0. Sem estimulação / atividade sexual
- 5. Quase sempre ou sempre

- 4. [] A maioria das vezes (muito mais que a metade da vezes)
- 3. [] Às vezes (aproximadamente a metade das vezes)
- 2. [] Algumas vezes (muito menos do que a metade das vezes)
- 1. [] Quase nunca ou nunca

11. Nas últimas quatro semanas, com que frequência você teve sentido desejo sexual?

- 5. [] Quase sempre ou sempre
- 4. [] A maioria das vezes (muito mais que a metade da vezes)
- 3. [] Às vezes (aproximadamente a metade das vezes)
- 2. [] Algumas vezes (muito menos do que a metade das vezes)
- 1. [] Quase nunca ou nunca

12. Nas últimas quatro semanas, o quanto você consideraria o seu nível de desejo sexual?

- 5. [] Muito alto
- 4. [] Alto
- 3. [] Moderado
- 2. [] Baixo
- 1. [] Muito baixo ou inexistente

13. Nas últimas quatro semanas, qual foi seu nível de satisfação em relação a sua vida sexual em geral?

- 5. [] Muito satisfeito
- 4. [] Moderadamente satisfeito
- 3. [] Mais ou menos satisfeito ou insatisfeito
- 2. [] Moderadamente insatisfeito
- 1. [] Muito insatisfeito

14. Nas últimas quatro semanas, qual foi seu nível de satisfação com seu relacionamento sexual com sua parceira?

- 5. [] Muito satisfeito
- 4. [] Moderadamente satisfeito
- 3. [] Mais ou menos satisfeito ou insatisfeito
- 2. [] Moderadamente insatisfeito
- 1. [] Muito insatisfeito

15. Nas últimas quatro semanas, qual foi o seu nível de confiança em você poder conseguir e manter a sua ereção?

- 5. [] Muito alto
- 4. [] Alto
- 3. [] Moderado
- 2. [] Baixo
- 1. [] Muito baixo ou inexistente

Estas questões referem-se ao efeito que seus problemas de ereção têm acarretado na sua vida sexual nas últimas quatro semanas. Por favor, responda a estas questões da maneira mais honesta e clara possível. Por favor, responda a cada questão marcando com um X no quadradinho correspondente. Se você tem certeza de como responder, por favor, marque a melhor resposta que puder.

- * Relação sexual – é definida como a penetração (entrada na vagina da parceira)
- ** Atividade sexual – inclui a relação, as carícias, brincadeiras amorosas e a masturbação
- *** Ejaculação – é definida como ejeção de sêmem pelo pênis (ou sensação desta ejeção)
- **** Estimulação sexual – inclui situações como brincadeiras amorosas com uma parceira, assistir a filmes ou olhar fotos eróticas, etc.