



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Valéria Verri

**Avaliação da função do endotélio microvascular sistêmico e peniano e da
pressão arterial sistêmica após o uso do citrato de sildenafil em
hipertensos com disfunção erétil**

Rio de Janeiro

2019

Valeria Verri

Avaliação da função do endotélio microvascular sistêmico e peniano e da pressão arterial sistêmica após o uso do citrato de sildenafil em hipertensos com disfunção erétil

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Andréa Araujo Brandão

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Vera Tibiriçá

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

V554 Verri, Valeria.
Avaliação da função do endotélio microvascular sistêmico e peniano e da pressão arterial sistêmica após o uso do citrato de sildenafila em hipertensos com disfunção erétil / Valeria Verri – 2019.
190 f.

Orientadora: Andréa Araujo Brandão.
Coorientador: Eduardo Vera Tibiriçá.
Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Hipertensão – Tratamento - Teses. 2. Impotência sexual - Tratamento – Teses. 3. Citrato de sildenafila – Uso terapêutico - Teses. 4. Endotélio vascular - Doenças - Teses. I. Brandão, Andréa Araujo. II. Tibiriçá, Eduardo Vera. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.12-008.331.1:616.69-008.14

Bibliotecária: Kalina Silva CRB7/4377

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Valeria Verri

Avaliação da função do endotélio microvascular sistêmico e peniano e da pressão arterial sistêmica após o uso do citrato de sildenafila em hipertensos com disfunção erétil

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 23 de setembro de 2019.

Orientadora: Prof.^a Dra. Andréa Araujo Brandão
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Vera Tibiriçá (Coorientador)
Instituto Nacional de Cardiologia

Prof. Dr. Roberto Esporcatte
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Sergio Emanuel Kaiser
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Armando da Rocha Nogueira
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof.^a Dra. Andrea Rocha de Lorenzo
Instituto Nacional de Cardiologia

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA

Embora possa parecer estranho e até inédito, gostaria de dedicar este trabalho, a mim mesma. Sem negar a importância daqueles que acreditaram em mim e me proporcionaram esta oportunidade de realizar o sonho do doutorado, nada disso seria possível se não fosse pela minha perseverança e boa vontade. Quantos fins de semana estudando, quando poderia estar me divertindo ou descansando. Quantos “nãos” eu precisei dar à minha família, amigos e a mim mesma, pois nunca estava disponível para fazer um programa legal com eles. Quantas noites “mal dormidas”, pois para dar conta de tudo, precisava dormir mais tarde e sempre tenho que acordar muito cedo para trabalhar.

Não falo com tristeza nem arrependimento, faria tudo de novo, pois eu amo a minha profissão e adoro estudar. Acredito que a cada dia a ciência e a tecnologia avançam para melhorar o mundo, e no caso da medicina, para melhorar a nossa qualidade de vida. No entanto reconheço que foi para mim um esforço sobre-humano levar até o fim esta missão, mas o importante é que venci!!

AGRADECIMENTOS

A Deus, “inteligência suprema e causa primeira de todas as coisas”. Sem essa força maior, que me inspira e me impulsiona todos os dias, não teria chegado até aqui.

Ao Prof. Dr. Eduardo Tibiriçá. Muito além de disponível e acessível a todas as minhas dúvidas, durante todo esse tempo que trabalhamos juntos, foi mais que um orientador, um amigo. Também foi quem permitiu que muitos dos meus sonhos se tornassem realidade, pois além da realização dessa tese, apresentamos à comunidade científica vários trabalhos em congressos nacionais e internacionais, e publicamos três artigos em periódicos renomados. Obrigada Eduardo! Você me ensinou muitas coisas. Sinto-me plenamente preparada para honrar o título que receberei pela realização deste trabalho.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Andréa Araujo Brandão, também responsável pela realização dessa obra e pela disponibilidade nas orientações e correções textuais.

Agradecimento especial à Michelle da Silva Pinto Machado, amiga de trabalho do INC que me ajudou, sem cansaço, com todas as tarefas burocráticas e no relacionamento com todas as equipes envolvidas neste estudo (recepção, laboratório, biblioteca, arquivo médico...). Muito obrigada, de coração !!!! Sua ajuda foi fundamental em todas as etapas desse trabalho.

Ao Márcio Marinho Gonzalez, que realizou todos os exames de fluxometria e capilaroscopia, além da participação ativa nas dosagens de nitrito e nitrato.

A toda a equipe do Laboratório de Análises Clínicas, em especial às doutoras Angela Maria Rodrigues Dantas e Vane Saeger Lacenda.

As bibliotecárias: Francijane Oliveira da Conceição, Cyntia Mendes Aguiar e Claudia Portella Barcellos, sempre com boa vontade e presteza.

A minha professora de inglês, Ester Guimarães Teixeira Carvalho que me ajudou com os resumos em inglês e com as apresentações nos congressos internacionais.

A boa vontade e disponibilidade de todos os voluntários que participaram desta pesquisa.

A minha família, amigos, secretária e todos aqueles que fazem parte importante da minha vida pessoal, que durante todo esse tempo me apoiaram e respeitaram as minhas ausências, falta de tempo para tudo e muitas vezes, quando o cansaço batia forte, as alterações de humor. Obrigada a todos, que muitas vezes sem entender muito bem, respeitaram esse momento de pressão emocional e sobrecarga de trabalho físico e mental.

Tudo aquilo que o homem ignora, não existe para ele. Por isso o universo de cada um, se resume no tamanho de seu saber.

A vida de um indivíduo só faz sentido se ajuda a tornar a vida das demais criaturas mais nobre e mais bela.

Albert Einstein

RESUMO

VERRI, Valeria. *Avaliação da função do endotélio microvascular sistêmico e peniano e da pressão arterial sistêmica após o uso do citrato de sildenafil em hipertensos com disfunção erétil*. 2019. 190 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

A disfunção erétil (DE) vasculogênica é um problema de saúde de alta prevalência e tem relação direta com um risco cardiovascular (CV) aumentado. Os inibidores da fosfodiesterase 5 (iPDE5), além de tratar a DE, por terem a propriedade de aumentar a biodisponibilidade do óxido nítrico, seriam promissores para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica e melhora da função do endotélio vascular. Este estudo teve como objetivo principal avaliar o efeito agudo e crônico do citrato de sildenafil (SIL) na função do endotélio microvascular sistêmico e peniano e na pressão arterial sistêmica (PA) de hipertensos com DE. Trata-se de um estudo clínico, prospectivo, randomizado, duplo cego, controlado com placebo e do tipo cruzado. Foram incluídos 57 homens hipertensos e com DE, com idade média de $57,7 \pm 5,8$ anos e 50 indivíduos normotensos, pareados para a mesma faixa etária. Para avaliar a função erétil foi utilizado o Índice Internacional de Função Erétil simplificado (IIEF-5). A avaliação da função endotelial microvascular, medida no antebraço e no pênis, foi realizada através da técnica de fluxometria microvascular cutânea por laser speckle (LSCI), acoplada a iontoforese de acetilcolina. Todos os voluntários foram submetidos à LSCI antes e 1 h após o uso de SIL 100 mg por via oral. Posteriormente, apenas os hipertensos foram randomizados para avaliação do efeito crônico de SIL. Eles foram tratados por quatro semanas com SIL, 50 mg duas vezes ao dia ou placebo, em duas etapas, com um período de 30 dias de washout entre os tratamentos. O registro da pressão arterial, em cada etapa de tratamento, foi realizado através da medida da PA no consultório e da monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) de 24 h. Os hipertensos tiveram as médias das variáveis antropométricas e laboratoriais significativamente maiores em relação aos normotensos. Após 100 mg de SIL, a pressão arterial média reduziu $-4,6 \pm 8,3$ mmHg nos normotensos e $-8,2 \pm 14,6$ mmHg nos hipertensos. A avaliação da reatividade microvascular peniana revelou aumentos significativos nos valores basais da condutância vascular cutânea (CVC), do pico de CVC e da área sob a curva (ASC) de vasodilatação, tanto nos normotensos quanto nos hipertensos ($p=0,002$, $p=0,0001$ e $p=0,001$) e ($p<0,0001$, $p=0,004$ e $p=0,001$), respectivamente. A densidade capilar basal foi maior nos hipertensos do que nos normotensos; o mesmo ocorreu durante a hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO). Após o tratamento por quatro semanas com SIL, houve redução significativa da PAD ($p=0,003$) na MAPA de 24h, mas não com o placebo. A função erétil, medida pelo IIEF-5, teve melhora significativa ($p<0,0001$) apenas após o tratamento com SIL. A função microvascular peniana melhorou de forma significativa após SIL [CVC basal; $p=0,004$, pico de CVC; $p=0,001$, ASC; $p=0,003$], mas não com o placebo. Não houve diferença à iontoforese de ACh no antebraço, quanto ao efeito agudo e crônico de SIL. Conclusão: Em pacientes hipertensos e com DE, a administração aguda e crônica da sildenafil, além de otimizar a qualidade da função erétil, promoveu melhora da função microvascular peniana e redução da pressão arterial sistêmica.

Palavras-chave: Hipertensão arterial sistêmica. Disfunção erétil. Citrato de sildenafil. Disfunção endotelial microvascular. Fluxometria por laser speckle.

ABSTRACT

VERRI, Valeria. *Evaluation of systemic and penile microvascular endothelium function and systemic arterial pressure after the use of sildenafil citrate in hypertensive patients with erectile dysfunction*. 2019. 190 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Erectile dysfunction (ED) of vascular etiology is a highly prevalence health problem and is directly related to an increased cardiovascular risk. Phosphodiesterase type 5 inhibitors in addition to treating ED, as they have the property of increasing the bioavailability of nitric oxide, they could be promising for the treatment of systemic hypertension and to improve vascular endothelial function. The primary aim of this study was to evaluate the acute and chronic effect of sildenafil citrate (SIL) on systemic and penile microvascular endothelium function and systemic arterial pressure in primary arterial hypertension patients with ED. This is a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study. A total of 57 hypertensive men, with erectile dysfunction, aged 57.7 ± 5.8 years and 50 age-matched normotensive subjects were included. The Simplified International Index of Erectile Function (IIEF-5) was used to evaluate erectile function. The evaluation of forearm and penile microvascular endothelial function was performed using laser speckle contrast imaging (LSCI), coupled with acetylcholine (ACh) iontophoresis. All volunteers were evaluated by LSCI before and 1 h after oral administration of SIL 100 mg. Later, only the hypertensive patients were randomized to investigate the chronic effect of SIL. They were treated for four weeks with SIL 50 mg twice daily or placebo, in two steps, with a 30-day washout period between treatments. The blood pressure values recorded at each treatment step was performed through 24 h ambulatory blood pressure monitoring (ABPM). Hypertensive patients had significantly higher mean values of anthropometric and laboratory variables than normotensive individuals. After SIL 100 mg mean arterial pressure fell -4.6 ± 8.3 mmHg in normotensive and -8.2 ± 14.6 mmHg in hypertensive patients. There was a significant increase in basal cutaneous vascular conductance (CVC) values, CVC peak values and in the area under the curve (ASC) of penile microvascular vasodilation of both normotensive and hypertensive patients ($P=0.002$, $P=0.0001$ and $P=0.001$) and ($P<0.0001$, $P=0.004$ and $P=0.001$), respectively. The basal capillary density was higher in hypertensive patients than in normotensives; the same occurred after the post-occlusive reactive hyperemia. After 4 weeks treatment with SIL, there was a significant reduction in diastolic blood pressure ($P=0.003$) in 24 h ABPM, which did not occur after placebo. Erectile function, measured by IIEF-5, had significant improvement ($P<0.0001$) only after SIL treatment. Penile microvascular function improved significantly after SIL (basal CVC; $P=0.004$, CVC peak; $P=0.001$, ASC; $P=0.003$), but not after placebo. There was no difference to ACh iontophoresis in the forearm regarding the acute and chronic effect of SIL. Conclusion: In patients with hypertension and erectile dysfunction, acute and chronic administration of sildenafil in addition to optimizing the quality of erectile function, improves penile microvascular function and reduces systemic blood pressure.

Keywords: Systemic arterial hypertension. Erectile dysfunction. Sildenafil citrate. Microvascular endothelial dysfunction. Laser speckle contrast imaging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Desenho do estudo.....	54
Figura 2 –	Registro do fluxo microvascular por software apropriado.....	57
Figura 3 –	Posicionamento dos eletrodos na pele do antebraço e da almofada a vácuo.....	58
Figura 4 –	Gráfico representativo da resposta do fluxo microvascular à acetilcolina.....	58
Figura 5 –	Técnica experimental adaptada para avaliação da microcirculação peniana.....	59
Figura 6 –	Imagem de vídeo demonstrando as alterações do fluxo microvascular peniano, induzidas pela iontoforese de acetilcolina.....	59
Figura 7 –	Capilaroscopia por microscopia intravital.....	60
Figura 8 –	Variação da pressão arterial sistólica antes e após 100 mg de SIL.....	69
Figura 9 –	Variação da pressão arterial diastólica antes e após 100 mg de SIL.....	70
Figura 10 –	Variação da pressão arterial média antes e após 100 mg de SIL.....	71
Figura 11 –	Efeitos da iontoforese de ACh no pênis.....	73
Figura 12 –	Análise do fluxo microvascular basal peniano após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.....	74
Figura 13 –	Análise do pico de CVC no pênis após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.....	74
Figura 14 –	Análise da área sob a curva, no pênis, após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.....	75
Figura 15 –	Efeitos da iontoforese de ACh no antebraço.....	78
Figura 16 –	Análise do fluxo microvascular basal no antebraço após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e nos hipertensos.....	79
Figura 17 –	Análise do pico de CVC no antebraço após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.....	79
Figura 18 –	Análise da área sob a curva, no antebraço, após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.....	80

Figura 19 –	Análise do pico máximo da hiperemia reativa pós-oclusiva, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.....	81
Figura 20 –	Análise do delta da hiperemia reativa pós-oclusiva, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.....	81
Figura 21 –	Capilaroscopia basal e após HRPO nos normotensos e hipertensos.....	83
Figura 22 –	Análise das concentrações plasmáticas basal dos NOx nos normotensos e nos hipertensos.....	84
Figura 23 –	Variação da PAS e PAD de consultório antes e 1 h após SIL ou placebo.....	88
Figura 24 –	Delta da PAS e PAD de consultório após tratamento com SIL ou placebo.....	88
Figura 25 –	Variação das médias de PAS e PAD de 24 h pela MAPA antes e após SIL ou placebo.....	89
Figura 26 –	Delta das médias de PAS e PAD de 24 h pela MAPA após tratamento com SIL ou placebo.....	90
Figura 27 –	Variação das médias de PAS e PAD de vigília na MAPA, antes e após SIL ou placebo.....	91
Figura 28 –	Delta das médias de PAS e PAD de vigília na MAPA após tratamento com SIL ou placebo.....	91
Figura 29 –	Variação das médias de PAS e PAD do sono na MAPA antes e após SIL ou placebo.....	92
Figura 30 –	Delta das médias de PAS e PAD do sono na MAPA após tratamento com SIL ou placebo.....	93
Figura 31 –	Efeitos da microiontoforese de acetilcolina no pênis.....	94
Figura 32 –	Análise da CVC basal no pênis, antes e após o uso do placebo ou SIL por 30 dias nos hipertensos (efeito crônico).....	95
Figura 33 –	Análise do pico de CVC no pênis, antes e após o uso do placebo ou SIL por 30 dias nos hipertensos (efeito crônico).....	95
Figura 34 –	Análise da área sob a curva no pênis, antes e após o uso do placebo ou SIL por 30 dias nos hipertensos (efeito crônico).....	96
Figura 35 –	Efeitos da microiontoforese de acetilcolina no antebraço.....	98
Figura 36 –	Análise do fluxo microvascular basal, no antebraço, antes e após tratamento por 30 dias com placebo ou sildenafil nos hipertensos.....	99

Figura 37 –	Análise da condutância microvascular cutânea máxima, no antebraço, antes e após tratamento por 30 dias com placebo ou sildenafil nos hipertensos.....	100
Figura 38 –	Análise da área sob a curva da CVC, no antebraço, antes e após tratamento por 30 dias com placebo ou sildenafil nos hipertensos.....	100
Figura 39 –	Análise da CVC basal da HRPO antes e após 30 dias de SIL ou placebo.....	101
Figura 40 –	Análise do pico da CVC da HRPO, antes e após 30 dias de SIL ou placebo.....	102
Figura 41 –	Análise do delta da CVC da HRPO, antes e após 30 dias de SIL ou placebo.....	102
Figura 42 –	Análise da densidade capilar basal antes e após 30 dias de tratamento com SIL ou placebo.....	103
Figura 43 –	Análise da densidade capilar após HRPO antes e após 30 dias de tratamento com SIL ou placebo.....	104
Figura 44 –	Análise da densidade capilar basal e após HRPO antes de cada tratamento com SIL ou placebo.....	105
Figura 45 –	Análise das concentrações plasmáticas dos NOx antes e após 30 dias de tratamento com SIL ou placebo.....	106
Figura 46 –	Variação do escore do IIEF após cada etapa de tratamento.....	110
Figura 47 –	Variação do score do IIEF, na inclusão, entre os hipertensos que usavam ou não diuréticos.....	111
Figura 48 –	Variação do score do IIEF, antes e após SIL ou PLA, entre os hipertensos que não usavam diuréticos.....	112
Figura 49 –	Variação do score do IIEF, antes e após SIL ou PLA, entre os hipertensos que usavam diuréticos.....	113
Figura 50 –	Variação do SEP3 após cada etapa de tratamento.....	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos do grupo de referência e dos pacientes hipertensos.....	65
Tabela 2 –	Medicamentos de ação cardiovascular utilizados pelos normotensos e pacientes hipertensos.....	67
Tabela 3 –	Medidas das PAS, PAD e PAM na sala de exames de fluxometria, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos (efeito agudo de SIL).....	68
Tabela 4 –	Delta das PAS, PAD e PAM medidas na sala de exame de fluxometria, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos (efeito agudo de SIL).....	68
Tabela 5 –	Análise dos parâmetros da fluxometria microvascular peniana, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos (efeito agudo de SIL).....	76
Tabela 6 –	Análise dos parâmetros da fluxometria microvascular sistêmica, antes e 1 h após 100 mg de SIL nos normotensos e hipertensos (efeito agudo de SIL).....	82
Tabela 7 –	Características clínicas e laboratoriais dos pacientes hipertensos (n=50).....	85
Tabela 8 –	Medicamentos de ação cardiovascular nos pacientes hipertensos.....	86
Tabela 9 –	Medidas da PA no consultório e na MAPA, após cada etapa de tratamento nos hipertensos (n=50) (efeito crônico de SIL).....	87
Tabela 10 –	Análise dos parâmetros da fluxometria microvascular peniana após 30 dias de placebo ou sildenafil nos pacientes hipertensos (n=50) (efeito crônico de SIL).....	96
Tabela 11 –	Análise dos parâmetros da fluxometria microvascular sistêmica após 30 dias de placebo ou sildenafil nos pacientes hipertensos (n=50) (efeito crônico de SIL).....	97
Tabela 12 –	Efeitos adversos após cada etapa de tratamento nos hipertensos (n=50).....	108
Tabela 13 –	Análise comparativa dos efeitos adversos após o tratamento com placebo ou sildenafil nos hipertensos (n=50).....	109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
APU	<i>Arbitrary Perfusion Unit</i>
BRA	Bloqueador do receptor AT1 de Angiotensina II
CMP	Condutância microvascular peniana
CT	Colesterol total
CV	Cardiovascular
CVC	Condutância vascular cutânea
DE	Disfunção erétil
EAS	Elementos anormais e sedmentos
EDHF	<i>Endothelium derived hyperpolarizing factor</i>
eNOS	Isoforma endotelial do óxido nítrico
ET1	Endotelina 1
FMD	Flow mediated dilation
GMPC	Guanosina monofosfato cíclico
HAP	Hipertensão arterial pulmonar
HCTZ	Hidroclorotiazida
HDL-C	HDL - colesterol
HOMA-IR	<i>Homeostatic model assessment of insulin resistance</i>
HRPO	Hiperemia reativa pós-oclusiva
IECA	Inibidor da enzima de conversão da angiotensina
IIEF-5	<i>Simplified International Index of Erectile Function</i>
IMC	Índice de massa corporal
iNOS	Isoforma induzível do óxido nítrico
INC	Instituto Nacional de Cardiologia
iPDE5	Inibidores da fosfodiesterase 5
LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission</i>
LDL-C	LDL- colesterol
LSCI	<i>Laser speckel contrast imaging</i>
MAPA	Monitorização ambulatorial da pressão arteria

PA	Pressão arterial sistêmica
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAM-F	Valores da PAM obtidos durante o exame de fluxometria
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR-us	Proteína C reativa ultra-sensível
PGE1	Prostaglandiana E1
PLA	Placebo
POS SIL	Após o uso de sildenafil
PRE SIL	Antes do uso de sildenafil
PSA	Antígeno Prostático Específico
SEP3	Sexual encounter profile 3
SHR	<i>Spontaneously hypertensive rat</i>
SIL	Citrato de sildenafil
SM	Síndrome metabólica
SOCERJ	Sociedade de Cardiologia do Rio de Janeiro
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triglicerídeos
TGO	Transaminase oxalacética
TGP	Transaminase pirúvica
TSH	Hormônio estimulante da tireoide
UAP	Unidade arbitrária de perfusão

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	18
1	REVISÃO DA LITERATURA	21
1.1	O endotélio vascular	21
1.1.1	<u>O papel do óxido nítrico na função do endotélio vascular</u>	21
1.1.2	<u>Disfunção do endotélio na hipertensão arterial</u>	23
1.1.3	<u>Rarefação microvascular – capilaroscopia cutânea</u>	23
1.1.4	<u>Avaliação da função endotelial sistêmica e peniana</u>	27
1.2	Disfunção erétil	31
1.2.1	<u>Anatomia do pênis e fisiologia da ereção</u>	31
1.2.2	<u>Prevalência da disfunção erétil</u>	32
1.2.3	<u>Etiologia da disfunção erétil</u>	33
1.2.3.1	Hipertensão e disfunção erétil.....	37
1.2.4	<u>Disfunção erétil versus disfunção endotelial</u>	39
1.2.5	<u>Fármacos anti-hipertensivos e estatinas na DE</u>	39
1.2.6	<u>Tratamento da disfunção erétil com os inibidores da PDE5</u>	43
1.2.7	<u>Inibidores da PDE5 e disfunção erétil</u>	46
1.2.8	<u>Inibidores da PDE5 e hipertensão arterial sistêmica</u>	46
2	OBJETIVOS	50
2.1	Geral	50
2.2	Específicos	50
3	METODOLOGIA	51
3.1	Dados gerais	51
3.2	População do estudo	51
3.2.1	<u>Critérios de inclusão</u>	51
3.2.2	<u>Critérios de exclusão</u>	52
3.3	Desenho do Estudo	52
3.4	Métodos	54
3.4.1	<u>Avaliação da função erétil</u>	55
3.4.2	<u>Avaliação da reatividade microvascular</u>	55
3.4.3	<u>Capilaroscopia por microscopia intravital</u>	59

3.4.4	<u>Avaliação da biodisponibilidade sistêmica do NO</u>	61
3.5	Cálculo do tamanho da amostra	61
3.6	Análise estatística	62
4	RESULTADOS	64
4.1	Avaliação do efeito agudo do citrato de sildenafil	64
4.1.1	<u>Dados gerais</u>	64
4.1.2	<u>Medicamentos usados pelos voluntários do estudo</u>	66
4.1.3	<u>Análise da PA na sala de exame de fluxometria</u>	67
4.1.4	<u>Análise dos dados da fluxometria após o uso de SIL (efeito agudo)</u>	72
4.1.4.1	Avaliação da reatividade microvascular peniana.....	72
4.1.4.2	Análise da reatividade microvascular sistêmica.....	76
4.1.5	<u>Análise da capilaroscopia basal e após HRPO nos normotensos e hipertensos, antes do uso da sildenafil</u>	82
4.1.6	<u>Avaliação dos níveis plasmáticos dos NOx</u>	83
4.2	Avaliação do efeito crônico do citrato de sildenafil	84
4.2.1	<u>Dados gerais</u>	84
4.2.2	<u>Medicamentos utilizados durante o período de avaliação no estudo</u>	85
4.2.3	<u>Análise da pressão arterial no consultório e na MAPA</u>	86
4.2.3.1	Análise da pressão arterial no consultório.....	87
4.2.3.2	Análise da pressão arterial de 24 h pela MAPA.....	89
4.2.3.3	Análise da pressão arterial de vigília pela MAPA.....	90
4.2.3.4	Análise da pressão arterial no sono pela MAPA.....	92
4.2.4	<u>Análise dos dados da fluxometria microvascular após o uso de SIL ou placebo por 30 dias (efeito crônico)</u>	93
4.2.4.1	Avaliação da reatividade microvascular peniana.....	93
4.2.4.2	Avaliação da reatividade microvascular sistêmica.....	97
4.2.4.3	Análise da HRPO no antebraço após o uso crônico de SIL ou placebo.....	101
4.2.5	<u>Análise da capilaroscopia</u>	103
4.2.5.1	Análise da capilaroscopia basal e após HRPO nos pacientes hipertensos	103
4.2.5.2	Análise da capilaroscopia basal e após HRPO antes de cada etapa de tratamento com SIL ou placebo.....	104

4.2.6	<u>Avaliação dos níveis plasmáticos dos metabólitos do óxido nítrico (NOx), antes e após 30 dias de SIL ou placebo</u>	105
4.3	Efeitos adversos	107
4.3.1	<u>Efeitos adversos apresentados durante todas as etapas do tratamento</u>	107
4.3.2	<u>Efeitos adversos durante o tratamento crônico com SIL ou PLA</u>	108
4.4	Avaliação do tratamento sobre a função erétil	109
4.4.1	<u>Avaliação da função erétil pelo IIEF</u>	110
4.4.2	<u>Análise da influência do tratamento com diuréticos na função erétil</u>	111
4.4.2.1	Na inclusão no estudo.....	111
4.4.2.2	Antes e após o tratamento com SIL ou placebo.....	112
4.4.3	<u>Avaliação da função erétil pela análise do SEP3</u>	113
5	DISCUSSÃO	115
5.1	Análises dos dados clínicos e laboratoriais e correlações com a SM, função endotelial e disfunção erétil	115
5.2	Efeito do citrato de sildenafil nos níveis de pressão arterial sistêmica	118
5.3	Efeito do citrato de sildenafil no endotélio microvascular	122
5.3.1	<u>Na microcirculação peniana</u>	122
5.3.2	<u>Na microcirculação sistêmica</u>	126
5.4	Efeito do citrato de sildenafil na densidade capilar	130
5.5	Óxido nítrico e seus metabólitos	133
5.6	Segurança, tolerância e eficácia	136
	CONCLUSÕES	140
	REFERÊNCIAS	142
	APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido para participar em um projeto de pesquisa.....	164
	APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido para participar em um projeto de pesquisa como voluntário controle.....	168
	ANEXO A – Carta de aprovação do CEP.....	172
	ANEXO B – Motivações para descontinuidade no estudo.....	175
	ANEXO C – Certificado de aprovação das capsulas de todos os medicamentos manipulados para o estudo.....	176
	ANEXO D – Certificado de aprovação do placebo/talco.....	177

ANEXO E – Certificado de aprovação da sildenafil.....	178
ANEXO F – Questionário do Índice Internacional de Função Erétil Simplificado (IIEF-5).....	179
ANEXO G – Abstract do artigo publicado em 2015.....	180
ANEXO H – Artigo publicado em 2018, referente ao efeito agudo da sildenafil.....	181

INTRODUÇÃO

A disfunção erétil (DE) é um problema de saúde de alta prevalência e a sua relação com o risco aumentado de doenças cardiovasculares ⁽¹⁾ e com a disfunção endotelial ⁽²⁾, tem despertado interesse cada vez maior nos cardiologistas em investigar e tratar estes pacientes. A DE está fortemente associada à idade, com prevalência estimada de 39% em homens de 40 anos e de 67% aos 70 anos ⁽³⁾. Trata-se de uma doença multifatorial e apresenta-se, na maioria dos casos, com mais de um fator etiológico determinante, podendo ser classificada em DE psicogênica ou orgânica. A etiologia orgânica está presente em mais de 80% dos casos e entre as causas orgânicas, a etiologia mais comum é a doença vascular ⁽⁴⁾. Acredita-se que a DE possa ser uma manifestação precoce da doença cardiovascular. Dessa forma, a DE pode ser vista e interpretada como um marcador de disfunção endotelial sistêmica ⁽²⁾. A DE vasculogênica compartilha os mesmos fatores de risco para a doença aterosclerótica. Assim, os indivíduos tabagistas, hipertensos, diabéticos, obesos, sedentários e portadores de dislipidemias têm maior risco de apresentar problemas com a ereção ^(5,6).

No Brasil, a prevalência de hipertensão está em torno de 32,5% na população adulta e aumenta para 68% após a sexta década de vida ⁽⁷⁾. Burchardt et al. ⁽⁸⁾ registraram uma prevalência de 68,3% de disfunção erétil em homens hipertensos com uma média de idade de 62,2 anos e observaram que a DE era considerada grave em 45,2% desses pacientes. Seftel et al. ⁽⁹⁾ examinaram um banco de dados que continha 272.325 homens com diagnóstico de DE e encontraram 41,6% de hipertensos. Dessa forma, a hipertensão arterial sistêmica (HA) além de ser considerado o principal fator de risco para doença cardiovascular, também pode ser vista como a morbidade mais prevalente nos pacientes com DE ⁽⁹⁾.

A DE é uma queixa frequente no ambulatório de hipertensão arterial e muitas vezes atribuída ao uso de medicamentos anti-hipertensivos. No entanto, do ponto de vista clínico, torna-se importante esclarecer se a disfunção erétil resulta da doença hipertensiva, se existe relação com a medicação anti-hipertensiva, ou se pela combinação de ambos ⁽¹⁰⁾. Já foi demonstrado que muitos destes fármacos não só não interferem negativamente com a DE, mas por melhorar a função endotelial, possivelmente contribuem para a melhora da DE ⁽¹¹⁾.

No final dos anos 90, o citrato de sildenafil foi o primeiro fármaco de administração oral liberado para o tratamento da DE. Atualmente já não existem dúvidas quanto à eficácia e a segurança dos inibidores da fosfodiesterase tipo 5 (iPDE5) no tratamento da disfunção erétil de etiologia vasculogênica ⁽¹²⁻²⁰⁾, o que inclui os pacientes hipertensos ^(21-24, 25).

Considerando-se que as metas recomendadas para o tratamento da HA são de PAS < 140 mmHg e PAD < 90 mmHg, para medida de consultório e de PAS < 130 mmHg e PAD < 80 mmHg para a média de 24 h na MAPA ⁽²⁶⁾, frequentemente torna-se necessária à combinação de fármacos, com diferentes mecanismos de ação, de forma a se obter um efeito sinérgico para alcançar uma redução efetiva da PA. Também é de grande relevância considerar os resultados do estudo SPRINT ⁽²⁷⁾, que demonstrou benefícios na proteção cardiovascular com uma meta de PA menor que 120/80 mmHg para os pacientes com cinquenta anos ou mais, de alto risco cardiovascular, assim como evidenciou a necessidade do uso de associação de fármacos para a maioria dos pacientes.

Oliver et al. ⁽²⁸⁾ foram os primeiros a testar os iPDE5 em uso contínuo, em pacientes hipertensos e sugeriram que esses fármacos, por terem a propriedade de reduzir a pressão arterial, tanto sistólica quanto diastólica, teriam potencial para serem usados como uma nova classe de medicamentos no controle da HA. Eles registraram, após 16 dias de tratamento com a sildenafil, uma redução de $-7 \pm 1,9$ mmHg na média da pressão arterial sistólica e de $-5 \pm 1,1$ mmHg na média da pressão arterial diastólica de 24 h avaliada pela MAPA. Os pesquisadores observaram que estes níveis de redução da pressão arterial eram semelhantes aos encontrados com diferentes classes de anti-hipertensivos quando usados em monoterapia ⁽²⁹⁾.

Posteriormente Yaguas et al. ⁽³⁰⁾ avaliaram a sildenafil, em uso contínuo, por seis meses, em ratos hipertensos (SHR). Eles verificaram redução da pressão arterial nos ratos hipertensos após o tratamento com a sildenafil, atribuindo a este fato a melhora da função do endotélio vascular e sugeriram que o uso crônico dos iPDE5 deveria ser mais bem investigado como associação terapêutica no tratamento da HA.

Muitos estudos clínicos, com diferentes metodologias demonstraram que os iPDE5 são capazes de melhorar a função do endotélio vascular ⁽³¹⁻³⁴⁾.

A função endotelial sistêmica vem sendo estudada através de testes de reatividade vascular utilizando-se métodos não invasivos. Mais recentemente, a avaliação da reatividade microvascular com a utilização da técnica de fluxometria por laser speckle (LSCI) foi padronizada e validada, e tem sido utilizada com excelente reprodutibilidade ⁽³⁵⁻³⁸⁾. A avaliação da função endotelial peniana também já foi anteriormente investigada por outros grupos de estudo, através do ultrassom com Doppler associado ao uso de substâncias vasoativas (papaverina, fentolamina e PGE1) ⁽³⁹⁻⁴⁵⁾, o que pode induzir efeitos colaterais graves. Recentemente, nosso grupo publicou o primeiro estudo clínico ⁽⁴⁶⁾ em que a reatividade microvascular peniana foi avaliada através da técnica de LSCI acoplado à iontoforese cutânea de acetilcolina, sendo esta técnica utilizada no presente trabalho.

Portanto, embora a principal indicação dos iPDE5 ainda seja o tratamento da disfunção erétil, as evidências de melhora da função endotelial sistêmica e peniana e da redução dos níveis de pressão arterial sistêmica, em conjunto, sugerem que os iPDE5 representem uma promissora opção na associação medicamentosa para o tratamento da hipertensão arterial em pacientes com disfunção erétil. Apesar de bem documentada a segurança e eficácia destes fármacos em portadores de hipertensão leve e naqueles com pressão arterial controlada, o uso contínuo e a possível indicação para o controle da HA com essa classe de medicamentos ainda não foi investigado.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 O endotélio vascular

Desde 1980 quando foi descrita a vasodilatação dependente do endotélio por Furchgott⁽⁴⁷⁾, houve uma mudança no conceito de que este não se tratava de um simples tecido com função de revestimento dos vasos, mas sim de um órgão com funções endócrinas, parácrinas e autócrinas. Além disso, e mais impressionante, é que a maior parte do endotélio encontra-se na microcirculação e apenas uma pequena parte nas grandes artérias de condutância⁽⁴⁸⁾.

O endotélio exerce a função de regulação do fluxo sanguíneo tecidual através do controle da resistência periférica e isso se faz, principalmente, devido à produção de mediadores vasodilatadores e vasoconstrictores. Os mais importantes mediadores de vasodilatação são o óxido nítrico (NO), as prostaciclina e o fator hiperpolarizante dependente do endotélio (EDHF, *endothelium derived hyperpolarizing factor*). Este último, de fato, trata-se de um conjunto de substâncias capazes de promover hiperpolarização das células musculares lisas e consequente vasodilatação. Destacam-se, entre elas, os íons potássio, espécies reativas de oxigênio, o peptídeo C- natriurético e os metabólitos do citocromo P450⁽⁴⁹⁾. Entre as principais substâncias vasoconstrictoras destacam-se: a angiotensina II, as endotelinas, as prostaglandinas e o tromboxano. Em condições normais, ocorre um equilíbrio na produção e ação destes mediadores, com predomínio da produção de óxido nítrico, levando a uma situação basal de vasodilatação⁽⁵⁰⁾.

1.1.1 O papel do óxido nítrico na função do endotélio vascular

O óxido nítrico foi descoberto em 1772 por Joseph Priestley como um gás límpido e incolor com 6-10s de vida, in vivo⁽⁵¹⁾. O óxido nítrico é um radical livre, sintetizado a partir da oxidação do aminoácido L-arginina pelas enzimas óxido nítrico sintases (NOS). Já foram bem caracterizadas três isoformas de NOS: nNOS (neuronal), eNOS (endotelial) e iNOS (induzível). A isoforma induzível está mais frequentemente associada a diferentes tipos de

tumores, especialmente ao tumor de cólon. No endotélio vascular, as eNOS são as principais responsáveis pela produção do NO.

Na circulação sanguínea, devido à presença da hemoglobina, o NO é oxidado até nitrato (NO_3^-). Ao encontrar com a molécula de oxigênio, *in vitro*, é oxidado para nitrito (NO_2^-). O nitrito/nitrato pode sofrer ação de substâncias redutoras presentes na membrana celular e ser convertido de volta a óxido nítrico⁽⁵²⁾.

O óxido nítrico é um gás, que ao ser produzido pela célula endotelial, atravessa a membrana basal e o interstício da célula endotelial alcançando o músculo liso vascular. Ao entrar na célula muscular, ativa a guanilato ciclase monofosfato (GMPC), que por sua vez, sequestra o cálcio intracelular e promove o relaxamento vascular⁽⁵³⁾. A principal função do NO é a manutenção do tônus vascular em estado de relaxamento; no entanto o NO também inibe a agregação plaquetária, a proliferação de células musculares lisas e a adesão de leucócitos à parede vascular, e desta forma, modula a trombólise, a coagulação e a inflamação, interferindo negativamente no processo de aterogênese e trombose vascular⁽⁵⁴⁾. O NO também pode reagir com o ânion superóxido ou qualquer outra espécie reativas de oxigênio (EROx), sendo inativado e convertido a peroxidonitrito. A maior produção de EROx, sem o efeito oposto das forças antioxidantes, leva à perda do efeito modulador do NO e está envolvido no mecanismo fisiopatológico da HA e outras doenças vasculares.

A célula dispõe de um arsenal de substâncias antioxidantes como, as superóxido dismutases, catalases, glutathione e antioxidantes naturais como as vitaminas A, C e E, que mantêm o balanço oxidativo. Entretanto, quando existe uma maior produção de EROx ou uma menor atividade das forças antioxidantes, ocorre o estresse oxidativo^(55,56).

Assim, as células endoteliais comportam-se de forma dinâmica e respondem às alterações tanto dos estímulos físicos (*shear stress*) quanto aos estímulos químicos, promovendo a síntese e liberação de substâncias vasoativas⁽⁵⁷⁾. O principal estímulo físico para produção do óxido nítrico é o estresse de cisalhamento (*shear stress*). A turbulência do fluxo sanguíneo provoca o aumento da entrada de cálcio para o intracelular, que por sua vez, libera a eNOS para produzir o óxido nítrico. Uma vez liberado, o NO causa relaxamento do músculo liso vascular, normalizando a pressão arterial. Entre os estímulos químicos, praticamente todos utilizam o cálcio como mensageiro intracelular e incluem a acetilcolina, a bradicinina, a insulina e o estrógeno. A acetilcolina, ao se ligar ao receptor muscarínico, facilita a entrada de cálcio no endotélio, provocando o relaxamento vascular mediado pelo NO. A infusão venosa de insulina também promove dilatação vascular, demonstrando que

além de controlar o metabolismo da glicose, a insulina é capaz de modular o tônus vascular através da geração do NO⁽⁵⁸⁾.

1.1.2 Disfunção do endotélio na hipertensão arterial

Komishi e Su⁽⁵⁹⁾ foram os primeiros a demonstrar que as artérias de ratos hipertensos apresentavam comprometimento do relaxamento arterial dependente do endotélio. No entanto, o grau de disfunção endotelial pode ser variável, o que explica as discrepâncias entre os estudos clínicos de reatividade vascular que incluem pacientes hipertensos.

A função endotelial no antebraço de pacientes hipertensos foi inicialmente estudada por Panza et al.⁽⁶⁰⁾, que verificaram que a resposta do fluxo sanguíneo e a resposta vascular à acetilcolina estavam significativamente reduzidas nos pacientes hipertensos quando comparados a indivíduos normotensos e que nenhuma diferença foi observada, entre os grupos, com a infusão de nitroprussiato de sódio (resposta independente do endotélio). Este estudo concluiu que a disfunção endotelial pode levar ao aumento da resistência periférica e conseqüentemente da pressão arterial. Estudos posteriores demonstraram que a causa dessa disfunção endotelial se deve à diminuição da síntese ou a um aumento na degradação do óxido nítrico^(61,62).

A disfunção endotelial também pode ser conseqüente ao aumento da liberação dos agentes vasoconstrictores como a endotelina (ET1) e a angiotensina II^(63,64). Este fato poderia explicar porque o tratamento da hipertensão com bloqueadores do sistema renina-angiotensina melhora a função endotelial⁽⁶⁵⁾.

1.1.3 Rarefação microvascular – capilaroscopia cutânea

Em indivíduos hipertensos, a microcirculação (arteríolas e capilares) pode ser capaz de aumentar a resistência periférica, através da redução do número de vasos por unidade de volume tissular. Este fenômeno é denominado rarefação microvascular e foi descrito pela primeira vez em 1933, por Ruedemann,⁽⁶⁶⁾ na conjuntiva de pacientes com HA.

A densidade capilar cutânea média, ou seja, o número de capilares por mm^2 de pele pode ser estudada através da capilaroscopia cutânea ⁽⁶⁷⁾. A rarefação microvascular, avaliada por este método, pode ser classificada como funcional ou estrutural. A distinção entre um tipo e outro, foi inicialmente descrita por Prewitt et al. em 1989 ⁽⁶⁸⁾ e confirmada, em estudo clínico, por Antonios et al. em 1999 ⁽⁶⁹⁾. A rarefação funcional se deve a uma excessiva, porém reversível, vasoconstricção levando a uma oclusão das arteríolas de resistência e consequente não perfusão dos capilares distais. A rarefação estrutural ocorre devido à perda de algumas arteríolas e capilares, continuamente não perfundidos, por um mecanismo de apoptose. Acredita-se que a rarefação capilar, presente nos indivíduos com hipertensão essencial, possa ser a causa e não a consequência da pressão arterial elevada ^(70,71).

Noon et al. ⁽⁷⁰⁾ registraram um número reduzido de capilares cutâneos em adultos jovens descendentes de pais hipertensos, sugerindo que um defeito na angiogênese poderia ser um componente etiológico na herança da hipertensão arterial.

Na hipertensão arterial primária ocorrem alterações estruturais dos leitos microvasculares devido a uma capacidade alterada para o crescimento vascular. Uma possível explicação para essas alterações precoces no desenvolvimento da rede microvascular está baseada na diminuição do potencial angiogênico da microcirculação, em indivíduos geneticamente propensos a desenvolver hipertensão primária ⁽⁷²⁾. Esta hipótese também se apoia nos achados de que essas alterações da rede microvascular são observadas nos estágios iniciais da doença hipertensiva, antes mesmo que ocorram alterações hemodinâmicas sistêmicas significativas.

Os mecanismos subjacentes à presença da rarefação capilar em pacientes hipertensos foram inicialmente estudados por Antonios et al. ⁽⁶⁹⁾. Eles registraram uma densidade capilar basal significativamente reduzida em pacientes hipertensos em relação a indivíduos normotensos. Após o teste de oclusão venosa, a densidade capilar aumentou de forma significativa nos dois grupos; no entanto, a densidade capilar máxima permaneceu significativamente menor nos hipertensos em relação aos normotensos. Estes resultados permitiram que os pesquisadores sugerissem que a redução da densidade capilar nos hipertensos era causada por alterações estruturais (anatômicas), isto é, que se devessem muito mais à ausência de capilares do que a não perfusão dos mesmos (alterações funcionais).

Em um estudo subsequente, Antonios et al. ⁽⁷¹⁾ confirmaram seus próprios resultados e os do grupo de Noon. Eles avaliaram um grupo de 18 indivíduos pré-hipertensos (média da PA=136/83 mmHg), 32 controles normotensos (média da PA=126/77 mmHg) e 45 pacientes hipertensos não tratados (média da PA=156/98 mmHg). Os pacientes pré-hipertensos tiveram

a menor densidade capilar basal, quando comparados com os normotensos e com os hipertensos. Após o teste de congestão venosa, o grupo de pré-hipertensos persistiu com os menores valores de densidade capilar em relação aos outros grupos. Os pesquisadores concluíram que a rarefação estrutural dos capilares, ocorreria nos estágios iniciais da hipertensão arterial primária humana. Portanto, a rarefação capilar poderia ser uma anormalidade estrutural primária ou muito precoce, e não uma consequência da hipertensão sustentada.

Também já foi demonstrado, que o recrutamento capilar, resultante do teste de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO), é inversamente proporcional aos níveis de pressão arterial em indivíduos hipertensos ⁽⁷³⁾.

Serné et al. ⁽⁷⁴⁾ avaliaram a extensão da rarefação capilar estrutural versus funcional, em pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial primária não tratada, comparando-os com um grupo controle de normotensos. Eles examinaram a densidade capilar cutânea por vídeo microscopia, antes e durante congestão venosa (avaliação estrutural do número de capilares) e antes e durante HRPO (avaliação do recrutamento capilar). Eles observaram que em pacientes com hipertensão arterial primária, uma proporção menor do número máximo de capilares foi perfundida durante a HRPO, em relação aos indivíduos normotensos. Portanto o recrutamento de capilares era menor nos hipertensos, o que poderia ser explicado tanto pela rarefação funcional quanto estrutural.

Todos os estudos acima mencionados foram realizados em pacientes hipertensos não tratados. No entanto, uma vez sugerido que a terapia anti-hipertensiva poderia prevenir ou reverter às mudanças funcionais e estruturais da microcirculação, ⁽⁷⁵⁾ muitos pesquisadores passaram a testar muitas possibilidades terapêuticas. Dá-se origem ao conceito de que a terapia anti-hipertensiva ideal deveria ser direcionada não apenas aos vasos de grande calibre, mas também àqueles de pequeno calibre.

Rakusan et al. ⁽⁷⁶⁾ demonstraram, que a associação de um inibidor da enzima conversora da angiotensina (iECA), o perindopril, associado com o diurético indapamida, foi capaz de aumentar a densidade capilar na microcirculação coronária de ratos SHR. Já outros estudos falharam em demonstrar que a hidroclorotiazida ⁽⁷⁷⁾ e os β -bloqueadores: propranolol ⁽⁷⁸⁾ e atenolol ⁽⁷⁹⁾ tivessem efeitos benéficos no que concerne a mudanças estruturais nos vasos de resistência, apesar da eficácia em reduzir a pressão arterial.

Posteriormente, Debbabi e Tibiriça ⁽⁸⁰⁾ em um estudo transversal observacional, avaliaram a densidade capilar cutânea de 76 pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial primária, com média de idade de 55 ± 1 anos e que estavam com a pressão arterial controlada

com diferentes classes de fármacos anti-hipertensivos (diuréticos, β -bloqueadores, BCC, inibidores da ECA, BRA e fármacos de ação central), por pelo menos doze meses. Os hipertensos tratados foram comparados a um grupo de 24 pacientes hipertensos não tratados e a 70 indivíduos normotensos. Os pesquisadores observaram que a densidade capilar basal foi significativamente menor nos hipertensos não tratados do que nos hipertensos tratados e nos normotensos. O recrutamento capilar também foi maior nos hipertensos tratados do que nos não tratados e nos normotensos. Este estudo confirmou a presença de rarefação capilar nos pacientes com hipertensão arterial primária e demonstrou a reversão tanto da rarefação capilar funcional quanto estrutural nos pacientes hipertensos adequadamente tratados.

Hughes et al. ⁽⁸¹⁾ avaliaram o efeito do tratamento anti-hipertensivo nas alterações microvasculares da retina de 25 pacientes hipertensos não tratados, em um estudo prospectivo e duplo cego. Os pacientes foram randomizados em dois braços do estudo para o tratamento com lisinopril ou anlodipino. No final de um ano de tratamento, os pesquisadores registraram redução significativa da pressão arterial sistêmica semelhante nos dois grupos. Acompanhando a redução da pressão arterial ocorreu melhora do estreitamento arteriolar e aumento da densidade arteriolar na retina com os dois tratamentos.

He Feng et al. ⁽⁸²⁾ analisaram o efeito da redução do sal na rarefação capilar de pacientes com diagnóstico de hipertensão leve. Este foi um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego, do tipo cruzado, que incluiu 71 pacientes brancos, 69 negros e 29 asiáticos, não tratados, com média de idade de 50 ± 11 anos e pressão arterial basal de $147 \pm 13 / 91 \pm 8$ mmHg. A ingestão média de sal foi reduzida de 9,7 para 6,5 g/dia e cada etapa de avaliação teve a duração de seis semanas. Houve registro de queda significativa da pressão arterial com a redução da ingestão de sal, quando comparado ao placebo. Os dados da capilaroscopia demonstraram que houve um aumento significativo da densidade capilar cutânea basal, assim como da densidade capilar máxima, avaliada no dorso e na lateral dos dedos da mão, nos três grupos analisados. Os autores concluíram que uma redução modesta na ingestão de sal, como recomendado, foi capaz de melhorar a rarefação capilar funcional e estrutural de pacientes hipertensos ao mesmo tempo em que proporcionou redução da pressão arterial sistêmica. Embora não esteja claro se o aumento na densidade capilar foi à causa ou a consequência da redução da pressão arterial, é possível que o sal possa ter um efeito direto na microcirculação e possa ser uma das causas subjacentes da rarefação microvascular que ocorre na hipertensão primária. Existem evidências de que a disfunção endotelial esteja relacionada à rarefação microvascular ⁽⁸³⁾. Alguns estudos demonstraram, que a redução do consumo de sal foi capaz de melhorar a função endotelial ^(84,85). Sendo assim, um dos mecanismos responsáveis pelo

aumento da densidade capilar, que ocorre com a redução da ingestão de sal, poderia ser a melhora da função endotelial. Um estudo realizado em ratos demonstrou que o aumento na ingestão de sal teve um efeito direto na redução da densidade microvascular, tanto em ratos hipertensos quanto nos normotensos, e que essa perda de microvasos resultou de alterações estruturais que diferem dos processos degenerativos associados à rarefação microvascular observada em ratos com hipertensão crônica ⁽⁸⁶⁾. Portanto, o aumento na densidade capilar observado com a redução do consumo de sal provavelmente não se deva à redução da pressão arterial e sim a um efeito direto na microvasculatura. Nesse caso, o aumento da densidade capilar proporcionado pela redução da ingestão de sal, poderia reduzir a resistência vascular periférica, desse modo, reduzindo a pressão arterial sistêmica e prevenindo o dano vascular de órgãos-alvo ⁽⁸⁶⁾.

1.1.4 Avaliação da função endotelial sistêmica e peniana

A função endotelial pode ser avaliada por métodos invasivos e não invasivos. Preferencialmente, a avaliação da função endotelial vem sendo feita através de testes de reatividade vascular, utilizando-se métodos não invasivos com o objetivo de estudar a macrocirculação periférica (artérias) e a microcirculação (arteríolas e capilares) ⁽⁸⁷⁾.

Dentre estes métodos, o mais largamente utilizado é a ultrassonografia de alta resolução da artéria braquial, que avalia a vasodilatação dependente do endotélio através da medida do diâmetro desta artéria antes e após manobra de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO). Este método é conhecido como “*flow-mediated dilation*” (FMD). Para induzir a HRPO é utilizado um manguito pneumático que é inflado, em pressão supra-sistólica (50 mmHg acima da PAS do paciente), durante 3 a 5 min ⁽⁸⁷⁾.

Yugar-Toledo et al. ⁽⁸⁸⁾ avaliaram 25 pacientes com hipertensão arterial resistente quanto à função vascular dependente e independente (mediada por trinitrato de glicerina) do endotélio, através da ultrassonografia com Doppler. Eles observaram que o uso da sildenafil 50 mg, aumentou o diâmetro da artéria braquial de forma semelhante à vasodilatação basal induzida por FMD e que esta resposta foi ainda mais significativa após o uso do nitrato. Os pesquisadores concluíram que os iPDE5 promovem vasodilatação dependente da ação do NO nas células do músculo liso vascular e que, nos pacientes com hipertensão arterial resistente, a potência destes fármacos em causar vasodilatação é semelhante àquela alcançada quando o

NO é liberado por estímulos mediados pelo fluxo (FMD). Também comentaram que a resposta do endotélio vascular basal, avaliada por FMD nesses pacientes, provavelmente se deveu ao uso da terapia anti-hipertensiva, especialmente aos bloqueadores do SRAA que estavam sendo utilizados por 96% dos pacientes hipertensos analisados.

Quinaglia et al. ⁽⁸⁹⁾ também testaram o efeito agudo da sildenafil, através do ultrassom, em pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial resistente, com média de idade de $57 \pm 8,2$ anos, tratados e controlados com uma média de 4,4 fármacos anti-hipertensivos por dia. Após 30 min da administração de 37,5 mg de SIL, houve queda significativa da pressão arterial e da resistência vascular periférica, que se mantiveram estáveis mesmo após doses adicionais de 50 e 100 mg de SIL a intervalos de 30 min cada. Também foi demonstrado neste estudo melhora da função diastólica ventricular esquerda. No entanto, os índices de função endotelial, medidos por FMD, não revelaram diferenças estatísticas após a administração aguda de SIL.

Outros métodos que podem ser utilizados para a avaliação da função endotelial são: a pletismografia, a tonometria de aplanção e a fluxometria por laser Doppler.

Robinson et al. ⁽⁹⁰⁾ avaliaram o efeito da sildenafil na função do endotélio vascular sistêmico de pacientes portadores de doença arterial coronária (DAC), através da pletismografia. Este foi um estudo randomizado, duplo cego, controlado com placebo e do tipo cruzado. Eles registraram que embora tenha ocorrido uma queda significativa da PAM após a infusão venosa de SIL, em relação ao placebo $p < 0,001$, a sildenafil não melhorou os parâmetros de função endotelial nos dois grupos. No entanto, após a infusão de nitroprussiato de sódio (um doador exógeno de NO), a administração de SIL aumentou de forma significativa a vasodilatação sistêmica nos dois grupos. Os autores concluíram que uma vez que a sildenafil não foi capaz de melhorar a função vasomotora periférica dependente do endotélio nos pacientes com DAC, seria improvável considerar que os iPDE5 fossem capazes de reverter à disfunção vascular sistêmica observada nestes pacientes.

Blaise et al. ⁽³³⁾ testaram os efeitos da sildenafil na dose de 50 e 100 mg, em voluntários saudáveis, através da fluxometria por laser Doppler acoplado a testes de reatividade cutânea (HRPO e hiperemia térmica). Eles relataram que após a administração da sildenafil 50 e 100 mg, houve aumento na amplitude e na duração da HRPO, como refletido pelo aumento da área sob a curva (ASC) de vasodilatação. Os valores de pico do fluxo vascular foram significativos apenas após a dose de 100 mg. Não houve aumento significativo do fluxo, após estímulos térmicos, com nenhuma dose de SIL.

Mais recentemente, a avaliação da reatividade microvascular com a utilização da técnica de fluxometria por laser speckle (LSCI) foi padronizada e validada, e tem sido utilizada com excelente reprodutibilidade⁽³⁵⁻³⁷⁾. Nesta técnica, um sistema de LSCI, acoplado a um sistema farmacológico de microiontoforese é utilizado para a avaliação, não invasiva e em tempo real, das variações de fluxo microvascular dependente (acetilcolina) e independente (nitroprussiato de sódio) do endotélio. Para os testes de HRPO, utiliza-se a mesma metodologia da FMD, já descrita acima.

Em 2012 Tibiriçá et al.⁽³⁸⁾ publicaram um estudo em que se comparou 50 indivíduos jovens e saudáveis com 50 pacientes portadores de Síndrome Metabólica (SM) que foram submetidos à LSCI, no antebraço, com estímulo farmacológico com acetilcolina (ACh), e ao teste de HRPO. Eles registraram que a resposta vasodilatadora microvascular dependente do endotélio, induzida pela ACh e pela técnica de HRPO, estava reduzida de forma significativa, nos pacientes portadores de SM, quando comparados com os adultos jovens, e que a resposta vasodilatadora induzida pela acetilcolina foi significativamente maior nas mulheres do que nos homens jovens; muito provavelmente pela ação do estrogênio.

A função endotelial peniana também já foi avaliada de forma independente. A primeira avaliação da anatomia do pênis e da fisiologia da disfunção erétil de causa vasculogênica foi publicada em 1985 por Lue et al.⁽⁹¹⁾ Eles usaram a ultrassonografia com Doppler e injetaram papaverina no corpo cavernoso para induzir a ereção do pênis.

Muitos anos depois, Virag et al.^(39,40) originalmente propuseram a medida do diâmetro da artéria cavernosa, através do ultrassom, antes e após cinco minutos de oclusão do fluxo peniano, utilizando um esfignomanômetro adaptado. Eles correlacionaram estes resultados com o número de fatores de risco cardiovascular e com os níveis séricos de testosterona.

Mazo et al.⁽⁴¹⁾ modificaram esta técnica e associaram à oclusão peniana a injeção de prostaglandina E1 (PGE1) no corpo cavernoso. Naquele mesmo ano, este mesmo grupo publicou um estudo prospectivo, duplo cego e controlado por placebo, que envolveu 135 homens com disfunção erétil e 30 controles saudáveis. Os voluntários foram randomizados para receber 20 mg de vardenafila ou placebo e foram avaliados antes e 1 h após a administração da vardenafila, através da ultrassonografia com Doppler, para a análise da variação do diâmetro da artéria cavernosa. Os resultados deste estudo revelaram que, antes da administração da vardenafila, os valores da PICAD (percentagem de aumento do diâmetro da artéria cavernosa) não foram significativamente diferentes entre os grupos. No entanto, após o uso da vardenafila 20 mg, os valores da PICAD aumentaram de forma significativa em relação aos valores basais, porém não com o uso do placebo⁽⁴²⁾.

Nesta mesma época, outro estudo, realizado na Itália, por Sighinolfi et al. ⁽⁴³⁾ avaliou 30 homens com média de idade de 56,1 anos e diagnóstico de disfunção erétil. Os voluntários foram analisados através da ultrassonografia com Doppler colorido associado à injeção de PGE1 no pênis, antes e após o uso de SIL 100 mg duas a três vezes por semana, por um tempo médio de 12,3 meses (5 a 20 meses). Após este longo período de uso da sildenafil, eles foram novamente avaliados, após a interrupção do uso de SIL por 14 a 21 dias. Neste segundo exame, foi registrado um aumento significativo da velocidade do pico sistólico do fluxo no pênis, quando comparado aos valores basais, demonstrando uma melhora do fluxo vascular peniano, que se manteve mesmo após a interrupção do tratamento. No entanto, é relevante ressaltar que dos 30 voluntários incluídos neste estudo, 22 deles tinham a medida da velocidade do pico sistólico normal antes do tratamento com SIL, o que sugere que grande parte destes indivíduos tivesse disfunção erétil de origem psicogênica.

Recentemente, um estudo publicado por pesquisadores chineses ⁽⁴⁴⁾ avaliou a qualidade da ereção em 164 homens com diagnóstico de disfunção erétil, através do Doppler colorido, após a injeção intra-carvenosa de uma solução de papaverina, PGE1 e lidocaína, antes e após o uso de sildenafil na dose de 50 ou 100 mg. Eles sugeriram que esta metodologia poderia prever a resposta ao tratamento com um iPDE5. No entanto, este estudo não incluiu um grupo controle, nem tampouco o uso de placebo para avaliação dos resultados.

Outro estudo, conduzido por pesquisadores egípcios ⁽⁴⁵⁾, avaliou 124 homens com DE antes e após seis doses consecutivas de SIL 100 mg. Eles foram submetidos à injeção intracavernosa de uma solução contendo papaverina, fentolamina e PGE1, e a função vascular peniana foi analisada através da ultrassonografia com Doppler. Os autores concluíram que um tempo menor de duração da DE ($\leq 2,5$ anos) e um escore do IIEF mais elevado (≥ 14 pontos) foram melhores preditores da severidade da DE e da resposta ao uso da sildenafil do que a avaliação através do ultrassom. No entanto, este foi um estudo aberto, que não teve grupo controle, além de não ser controlado com placebo.

Vardi et al. ⁽⁹²⁾ avaliaram a função endotelial peniana através da técnica de pletismografia e para tal usaram um manguito de esfigmomanômetro adaptado, que foi colocado ao redor da base do pênis e depois insuflado a 50 mmHg por 5 min para induzir o enchimento venoso do pênis. Eles consideraram como índices de função endotelial a análise da área sob a curva fluxo-tempo e o fluxo máximo de sangue após indução de isquemia (HRPO).

Nosso grupo de estudos ⁽⁴⁶⁾ publicou em 2015 uma técnica original, não invasiva, para avaliação da microcirculação peniana. Esta técnica foi idealizada pelo Dr. Eduardo Tibiriçá, sendo adaptada daquela utilizada para avaliação da microcirculação sistêmica, que é realizada no antebraço, na qual um sistema de LSCI é acoplado a um sistema farmacológico de microiontoforese. Para a avaliação da microcirculação peniana um eletrodo de microiontoforese é posicionado na região dorsal do pênis e preenchido com solução de ACh a 2% e o outro eletrodo (neutro) é colado na pele da coxa. Após o registro do fluxo basal, são realizados estímulos crescentes com correntes anódicas de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 μ A, com duração de 10 s e intervalo de 1 min entre eles; desta forma, obtendo-se o registro do fluxo microvascular peniano em resposta à acetilcolina.

1.2 Disfunção erétil

1.2.1 Anatomia do pênis e fisiologia da ereção

O primeiro relato conhecido de disfunção erétil data de 2000 A.C. No entanto, o estudo da fisiologia e da fisiopatologia da ereção peniana somente progrediu após a queda de fortes tabus socioculturais que limitavam a busca desse conhecimento pela ciência médica, durante séculos. A fisiologia da ereção, bem como a importância do endotélio e principalmente do papel do óxido nítrico neste processo permaneceram obscuras até os anos de 1990.

O pênis é composto basicamente por três estruturas cilíndricas: o corpo esponjoso e os dois corpos cavernosos. Os corpos cavernosos são envolvidos pela túnica albugínea e separados entre si pelo septo intercavernoso; são constituídos por tecido erétil e consequentemente responsáveis pela rigidez do pênis durante o processo de ereção ⁽⁹³⁾.

A ereção peniana ocorre na dependência da integração dos sistemas nervoso central e periférico, do sistema vascular e ainda da integridade anatômica e funcional da musculatura lisa e do endotélio do tecido erétil dos corpos cavernosos. A musculatura lisa do corpo cavernoso e das artérias e arteríolas estão tonicamente contraídas durante o período de flacidez peniana e isso se deve à liberação de endotelina e catecolaminas ⁽⁹⁴⁾.

A ereção peniana se deve à liberação de mediadores endógenos, sendo o principal o óxido nítrico. O NO é liberado a partir das células endoteliais e das terminações nervosas e em seguida, promove a liberação do segundo mensageiro (guanosina-monofosfato cíclico – GMPc) no interior das células musculares lisas dos corpos cavernosos. Ocorre o fechamento dos canais de cálcio e a diminuição do cálcio intracelular leva ao relaxamento das fibras musculares lisas das artérias e do tecido cavernoso, com conseqüente aumento do fluxo sanguíneo para os sinusóides dos corpos cavernosos. Este aumento no volume de sangue promove a expansão dos sinusóides, que comprimem o plexo venoso contra a túnica albugínea, impedindo a saída de sangue e proporcionando pressão intracavernosa, levando à rigidez do pênis. Este mecanismo de oclusão venosa mantém a ereção, permitindo a penetração e o ato sexual ⁽⁹⁴⁾.

A detumescência do pênis decorre da degradação do GMPc, que é efetuada pela enzima fosfodiesterase, levando ao estado de contração tônica das fibras musculares lisas do tecido erétil e ao restabelecimento da drenagem venosa ⁽⁹⁵⁾.

Existem 11 tipos de fosfodiesterase isolados no ser humano. No tecido erétil do corpo cavernoso peniano foram isolados os tipos 2, 3, 4 e 5 e apenas o tipo 5 está envolvido na hidrólise do GMPc. Por este motivo, a inibição deste tipo de fosfodiesterase tem sido estudada e utilizada para o tratamento da disfunção erétil ^(96,97).

1.2.2 Prevalência da disfunção erétil

A disfunção erétil (DE) é definida como a incapacidade de obter e manter ereção suficiente para uma atividade sexual satisfatória por um período superior a três meses ⁽⁹⁸⁾.

A DE é um problema de saúde de alta prevalência e a sua relação com um aumento do risco de doenças cardiovasculares ⁽¹⁾ e com a disfunção endotelial ⁽²⁾, tem despertado interesse cada vez maior nos cardiologistas, em investigar e tratar estes pacientes. Por outro lado, a liberação para o uso dos inibidores da fosfodiesterase tipo 5, levou um maior número de homens com DE a procurarem auxílio médico, proporcionando uma excelente oportunidade aos cardiologistas para identificar e corrigir possíveis fatores de risco cardiovascular apresentados por estes pacientes ⁽⁹⁹⁾.

A DE é fortemente associada à idade, com prevalência estimada de 39% em homens de 40 anos e de 67% aos 70 anos ⁽³⁾. Estima-se que em 2025 haverá, em todo o mundo, 356

milhões de homens com mais de 65 anos de idade com diagnóstico de DE e um aumento da prevalência global de disfunção erétil de 111%, com números ainda mais expressivos nos continentes: Africano, Asiático e Sul Americano ⁽¹⁰⁰⁾.

O estudo epidemiológico mais importante de disfunção erétil foi o *Massachusetts Male Aging Study* (MMAS) ⁽¹⁰¹⁾. Neste estudo foram avaliados 1.290 homens com idade entre 40 e 70 anos, tendo sido registrado uma prevalência de 52% de disfunção erétil. No Brasil, Moreira et al. ⁽¹⁰²⁾ realizaram um estudo envolvendo 1.286 homens, com idade entre 40 e 70 anos, e encontraram uma prevalência de 48,8% de disfunção erétil.

1.2.3 Etiopatogenia da disfunção erétil

A disfunção erétil é uma doença multifatorial e apresenta-se, na maioria dos casos, com mais de um fator etiológico determinante. Pode ser classificada em DE psicogênica ou orgânica. A DE orgânica é dividida em etiologia vascular, neurológica, endócrina e aquela consequente a fatores teciduais penianos ⁽⁴⁾.

Alguns medicamentos também podem interferir na qualidade da ereção como, por exemplo, alguns medicamentos anti-hipertensivos, antipsicóticos, anticonvulsivos, bloqueadores androgênicos, antiparkinsonianos e a cimetidina. Da mesma forma, já foi constatado uma forte associação entre o uso contínuo de antidepressivos tricíclicos e dos benzodiazepínicos com a DE ⁽¹⁰³⁾.

A etiologia vascular da DE é a que apresenta o maior número de variáveis que podem ser modificadas e compartilham os mesmos fatores de risco para a doença aterosclerótica. Assim, os indivíduos tabagistas, hipertensos, diabéticos, obesos, sedentários e portadores de dislipidemias têm maior risco de apresentar problemas com a ereção ^(5,6).

Seftel et al. ⁽⁹⁾ examinaram um banco de dados que continha 272.325 homens com DE e encontraram que 68% deles tinham diagnóstico de hipertensão, dislipidemia, diabetes ou depressão, sendo que 41,6% eram hipertensos.

A hipercolesterolemia pode provocar DE através da alteração funcional da atividade da enzima óxido nítrico sintetase endotelial. Desde 1988, tornou-se claro que o NO não era apenas um importante vasodilatador, mas também um eficiente inibidor de outros processos celulares, como a adesão de leucócitos ao endotélio, a adesão e a agregação plaquetária, bem como a proliferação de células musculares lisas vasculares ⁽⁵⁰⁾. Nessa mesma época surgiram

os primeiros estudos relacionando as alterações na síntese do NO causada pela hipercolesterolemia e respostas vasculares paradoxais à acetilcolina em pacientes com aterosclerose coronária ⁽¹⁰⁴⁾. Posteriormente vários estudos demonstraram, que a hipercolesterolemia e a aterosclerose prejudicam a resposta vasodilatadora mediada pelo endotélio, tanto em modelos animais ⁽¹⁰⁵⁾, quanto em seres humanos ⁽¹⁰⁶⁻¹⁰⁸⁾.

Medindo o fluxo sanguíneo do antebraço de indivíduos com hipercolesterolemia e comparando-os com indivíduos normais, Chowienczyk et al. ⁽¹⁰⁹⁾ mostraram que a resposta vasodilatadora à acetilcolina estava reduzida em pacientes com hipercolesterolemia, em relação ao grupo controle. Este estudo foi o primeiro a demonstrar uma resposta reduzida à acetilcolina em leito vascular fora da circulação coronariana, em pacientes com hipercolesterolemia. Sendo os vasos do antebraço um dos últimos leitos vasculares a apresentar placas ateromatosas, os achados deste estudo suportam a hipótese de que a hipercolesterolemia leva à disfunção endotelial antes do desenvolvimento do ateroma.

O fator endócrino mais importante para disfunção erétil é o diabetes melito (DM). A prevalência de DE em pacientes com DM pode chegar a 75% ⁽¹¹⁰⁾.

A obesidade também pode levar à disfunção endotelial e erétil. Já foi demonstrado que a obesidade central se correlaciona a níveis séricos reduzidos de testosterona. Isso ocorre através de mecanismos variados, sendo o mais importante a ação da leptina ⁽¹¹¹⁾. Svantberg et al. ⁽¹¹²⁾ estudaram 1.548 homens com idade entre 25 e 84 anos, relacionando a medida da circunferência abdominal aos níveis de testosterona sérica. Este estudo revelou que nenhum paciente com circunferência abdominal acima de 102 cm apresentava níveis normais de testosterona.

Iara et al. ⁽¹¹³⁾ recentemente publicaram um estudo que correlacionou disfunção erétil e disfunção endotelial, após ganho ponderal, em ratos alimentados com uma dieta hipercalórica. Comparados a um grupo controle, os ratos que foram alimentados com uma dieta hipercalórica, apresentaram aumento da massa corporal e da quantidade de tecido adiposo nas regiões inguinal, retroperitoneal e epididimal. Os ratos que se tornaram obesos tiveram uma redução no número de ereções e um aumento no tempo para alcançar uma ereção. A reatividade contrátil do corpo cavernoso, dos ratos obesos, estava aumentada, relacionando-se este fato à reduzida bioviabilidade do óxido nítrico e a níveis aumentados de prostaglandina consequentes ao comprometimento da função endotelial, favorecendo assim o estado de detumescência do pênis. Além disso, a resposta ao relaxamento vascular dependente do endotélio, no corpo cavernoso dos ratos obesos, também se encontrava atenuada, associando-se este achado ao estresse oxidativo.

Outro estudo que revelou que a obesidade é um fator de risco independente para a disfunção erétil, demonstrou que este risco está diretamente relacionado com o aumento no índice de massa corporal (IMC) ⁽¹¹⁴⁾. Os autores encontraram que aproximadamente 79% dos homens com diagnóstico de disfunção erétil tinham IMC maior ou igual a 25 Kg/m², que o risco de desenvolver DE aumenta 1,5 vezes com IMC entre 25 e 30 Kg/m² e que é três vezes maior quando IMC está acima de 30 Kg/m².

Os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento de DE em indivíduos obesos são: distúrbios hormonais, fatores psicológicos, inatividade física, disfunção endotelial e resistência à insulina. A hiperinsulinemia, um importante componente da SM contribui para a elevação da pressão arterial através da estimulação do sistema nervoso simpático e retenção de sódio a nível tubular renal. Níveis plasmáticos elevados de insulina estão frequentemente associados à hipertensão, dislipidemia, obesidade central, inflamação endotelial, estresse oxidativo, hipercoagulabilidade, microalbuminúria e outros componentes da SM. O acúmulo de gordura abdominal é o principal responsável pelo hipeinsulinismo secundário e à resistência insulínica que se associam a obesidade. Além disso, a dislipidemia associada à obesidade visceral está relacionada a níveis séricos elevados de triglicerídeos, baixos níveis de HDL colesterol e ainda de níveis elevados de PAI-1, acelerando o processo de aterosclerose e predispondo mais precocemente às doenças cardiovasculares ^(115,116).

Um estudo realizado em modelos de ratos obesos (OZR) investigou os efeitos vasculares da insulina nas artérias penianas desses animais, que eram portadores de hiperglicemia, hiperinsulinemia, níveis elevados de triglicerídeos e que apresentavam disfunção endotelial, avaliada por uma resposta reduzida ao relaxamento vascular induzido pela acetilcolina. Os autores observaram que as respostas relaxantes à insulina estavam comprometidas nas artérias penianas dos ratos OZR e concluíram que a disfunção endotelial peniana, presente nestes animais insulino resistentes, se correlacionava com anormalidades estruturais e com o remodelamento vascular, com conseqüente alteração na liberação de óxido nítrico e redução da capacidade erétil ⁽¹¹⁷⁾.

Recentemente, Tibiriça et al. ⁽³⁸⁾ publicaram um estudo que constatou que a resposta vasodilatadora microvascular dependente do endotélio, induzida pela ACh e pela técnica de HRPO, foi significativamente menor nos pacientes portadores da SM, quando comparados a adultos jovens saudáveis. De acordo com o *National Health and Nutrition Examination Survey* ⁽¹¹⁸⁾, a prevalência de SM nos Estados Unidos aumenta de 7%, naqueles indivíduos com idade entre 20 e 29 anos para 44% naqueles na faixa etária entre 60 e 69 anos de idade.

Arthur Burnett ⁽¹¹⁹⁾, em uma vasta revisão da literatura, correlacionou as bases fisiopatológicas da SM e seus consequentes danos à função do endotélio vascular, o que daria origem a uma série de doenças cardiovasculares e à disfunção erétil.

Dados obtidos da *cohort* do *Massachusetts Male Aging Study* ⁽¹²⁰⁾ que avaliou homens com idade entre 40 e 70 anos, revelaram uma evolução do diagnóstico de DE surgindo concomitantemente com o desenvolvimento da SM. Entre 882 homens sem o diagnóstico de SM, no início do estudo, 29,6% desenvolveram SM no período de 8 a 15 anos de acompanhamento, e o desenvolvimento da SM foi 1,74 vezes maior entre homens com DE do que naqueles sem o diagnóstico de DE.

Outro estudo conduzido por Demir et al. ⁽¹²¹⁾, que avaliou 268 homens com idade média de 54,1±8,8 anos e que estavam sendo acompanhados em ambulatório de urologia ou endocrinologia, registrou que 74% dos 89 pacientes com diagnóstico de SM tinham DE. Nesse estudo, análises de regressão logística revelaram que o critério mais importante relacionado à DE foi a medida da circunferência abdominal. Assim, para cada 1 cm do aumento da circunferência abdominal, o risco de DE aumentou em 5%.

Outros estudos também evidenciaram uma forte associação da SM com o diagnóstico de disfunção erétil. O grupo de Bansal ⁽¹²²⁾ registrou que a SM estava presente em 43% de uma população masculina com diagnóstico de disfunção erétil de etiologia orgânica.

Bal et al. ⁽¹²³⁾ avaliaram 393 pacientes, com idade entre 40 e 70 anos, e registraram uma prevalência de 79% de DE naqueles com critérios para SM. Eles observaram que os níveis de glicemia de jejum, a hipertensão arterial e a medida da circunferência abdominal eram os fatores de risco mais significativos como preditores de risco para a DE.

Esposito et al. ⁽¹²⁴⁾ compararam 100 homens com diagnóstico de SM a um grupo controle de 50 indivíduos, pareados para a mesma faixa etária (38,4±3,3 vs. 37,9±2,9 anos). Eles registraram, que no grupo com SM a prevalência de DE foi significativamente maior do que no grupo controle (26,7% vs. 13%; $p=0,03$).

Uma meta-análise recentemente publicada por Besiroglu et al. ⁽¹²⁵⁾, na qual foram incluídos oito estudos observacionais, em que foram avaliados 12.067 indivíduos, concluiu que os pacientes com diagnóstico de SM tinham um risco 2,6 vezes maior de apresentar DE. Os pesquisadores também relataram uma correlação direta no aumento da prevalência de DE com cada um dos componentes da SM, exceto com os níveis de HDL colesterol.

A obesidade também se relaciona de forma direta com os níveis de pressão arterial sistêmica. Estima-se que 80% dos obesos apresentem HA associado à intolerância à glicose e que 67% dos hipertensos sejam diabéticos e obesos ⁽¹²⁶⁾. Os mecanismos fisiopatológicos que

associam a obesidade à hipertensão são: a ativação do SRAA, alterações de fatores pró-inflamatórios e da coagulação, além da disfunção endotelial e fatores hemodinâmicos relacionados à ação da leptina que promove o aumento da atividade simpática ^(111,115,116,126,127).

1.2.3.1 Hipertensão e disfunção erétil

A hipertensão arterial é considerada o principal fator de risco para as doenças CV e consequentemente a morbidade mais prevalente nos pacientes com disfunção erétil.

Burchardt et al. ⁽⁸⁾ registraram uma prevalência de 68,3% de disfunção erétil em homens hipertensos com uma média de idade de 62,2 anos, e observaram que a DE era considerada severa em 45,2% desses pacientes.

Já foi demonstrado que o pênis não está protegido contra alterações estruturais associadas à hipertensão. Um estudo realizado em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) revelou que alterações nos vasos sanguíneos do pênis, como o aumento da espessura do músculo liso da camada medial e estreitamento do lúmen vascular, apresentam respostas hemodinâmicas estruturais semelhantes às que ocorrem em outros leitos vasculares, sugerindo que não haja um mecanismo de controle funcional subjacente que proteja a vasculatura peniana ao impacto negativo no fluxo sanguíneo consequente à elevação da pressão arterial sistêmica ⁽¹²⁸⁾.

A pressão arterial elevada representa um fator de risco independente para a doença cardiovascular, e fica claro que com o aumento da expectativa de vida da população, a prevalência de eventos CV aumenta cada vez mais. No Brasil, a prevalência de hipertensão está em torno de 32,5% na população adulta, aumenta para 68% após a sexta década de vida e contribui, de forma direta ou indireta, para 50% das mortes de etiologia CV ⁽²⁶⁾. Entre os fatores de risco que contribuem para a mortalidade cardiovascular, a HA responde por cerca de 40% das mortes por acidente vascular cerebral (AVC) e 25% dos óbitos por doença arterial coronária ⁽¹²⁹⁾. Uma meta-análise que avaliou 61 estudos prospectivos em que se correlacionou mortalidade CV e níveis de pressão arterial sistêmica, concluiu que o risco de eventos fatais por AVC e doença cardíaca isquêmica, se inicia com níveis de pressão arterial de 115/75 mmHg e dobra a cada aumento de 20 mmHg na pressão arterial sistólica ou 10 mmHg na pressão arterial diastólica, para indivíduos na faixa etária de 40 a 69 anos ⁽¹³⁰⁾.

Por outro lado o conceito de que reduzir a PA previne eventos e reduz a mortalidade CV é de longa data bem estabelecido ⁽¹³¹⁾. Estudos randomizados que tiveram a duração de poucos anos foram capazes de demonstrar que reduzir a pressão arterial produz uma rápida redução no risco de desenvolver doenças CV ⁽¹³²⁾.

Também já foi demonstrado que reduzir a pressão arterial, de forma significativa, não é um atributo apenas às intervenções medicamentosas. A dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) ⁽¹³³⁾, rica em frutas, vegetais, laticínios magros, grãos integrais, aves e peixes, e com menor conteúdo de carne vermelha e doce, foi capaz de reduzir a PAS em 11,4 mmHg e a PAD em 5,5 mmHg de pacientes hipertensos leves, após oito semanas de acompanhamento. Também já foi demonstrado, que a dieta Mediterrânea, sabidamente hábil em modificar positivamente os fatores de risco cardiovasculares, o que inclui a hipertensão arterial, também foi capaz de prevenir a disfunção erétil ⁽¹³⁴⁻¹³⁶⁾ assim como melhorar esta condição naqueles indivíduos com diagnóstico prévio ⁽¹³⁷⁾.

Recentemente, o estudo SPRINT ⁽²⁷⁾, que avaliou 9.361 pacientes por 3,26 anos, reportou benefícios na redução da pressão arterial sistólica a menos de 120 mmHg em pacientes com 50 anos ou mais e com alto risco para eventos cardiovasculares.

Outro estudo de metanálise, ⁽¹³⁸⁾ ainda mais recente, analisou 123 estudos com um total de 613.815 indivíduos avaliados, concluiu que controlar a PAS a níveis inferiores a 130 mmHg reduz significativamente a morbidade e a mortalidade cardiovascular para diferentes níveis de pressão arterial basal elevada.

Dessa forma, poderíamos presumir que o controle adequado da pressão arterial sistêmica possivelmente contribuiria para a melhora da função erétil nos pacientes hipertensos com DE e na redução no número de novos casos de DE.

No ano passado, nosso grupo de pesquisas publicou um estudo, que comparou pacientes hipertensos tratados com indivíduos normotensos, antes e após a administração de 100 mg de sildenafil por via oral. Os voluntários foram avaliados com LSCI acoplado a um sistema de micro-iontoforese de ACh e os resultados da análise da microcirculação peniana revelaram um aumento do fluxo, em resposta à ACh, no grupo de normotensos assim como nos hipertensos, tanto antes quanto depois do uso da sildenafil, sugerindo que a reatividade microvascular peniana estava preservada nos pacientes hipertensos tratados ⁽¹³⁹⁾.

Sob outro ponto de vista, Svantberg et al. ⁽¹⁴⁰⁾ correlacionaram os níveis de testosterona à hipertensão arterial, dividindo 1500 homens em dois grupos: hipertensos e indivíduos com pressão arterial normal. Eles observaram que os níveis de testosterona nos hipertensos eram menores do que nos normotensos. Estes achados podem ser explicados, pelo

menos em parte, pela ação vasodilatadora da testosterona secundária ao aumento da produção de óxido nítrico.

1.2.4 Disfunção erétil versus disfunção endotelial

Muitos estudos já demonstraram uma correlação direta entre disfunção erétil e disfunção endotelial sistêmica. Acredita-se que a DE, de etiologia vasculogênica, possa ser uma manifestação precoce da doença CV, uma vez que a disfunção endotelial responsável pela DE vasculogênica, não poderia estar confinada ao endotélio vascular peniano. Desta forma, a DE poderia ser vista como um marcador de disfunção endotelial sistêmica nestes indivíduos, antecedendo muitas vezes o diagnóstico da doença CV ⁽²⁾.

Vlachopoulos et al. ⁽¹⁴¹⁾ observaram, que homens hipertensos e com DE apresentavam maior espessura médio-intimal das carótidas, menor resposta vasodilatadora mediada pelo fluxo da artéria braquial e níveis séricos de marcadores inflamatórios mais elevados, quando comparados aos normotensos.

Javaroni et al. ⁽¹⁴²⁾ utilizaram a ultrassonografia de alta resolução da artéria braquial (FMD), para avaliação do fluxo vascular em pacientes hipertensos com DE. Estes pacientes foram tratados com 20mg de vardenafila, um comprimido por semana, por quatro semanas. Eles observaram que os pacientes que não responderam ao tratamento com a vardenafila, apresentavam uma menor dilatação mediada pelo fluxo e concluíram que nestes pacientes a disfunção endotelial sistêmica era mais grave.

1.2.5 Fármacos anti-hipertensivos e estatinas na DE

A associação de disfunção erétil com os fatores de risco CV, o que inclui a hipertensão arterial, fortalece a hipótese de que a disfunção endotelial é o elo principal entre as doenças cardiovasculares e a DE. No entanto, do ponto de vista clínico, torna-se importante esclarecer se a disfunção erétil resulta da doença hipertensiva, se existe relação com a medicação anti-hipertensiva, ou se pela combinação de ambos ⁽¹⁰⁾.

Doumas et al. ⁽¹⁴³⁾ publicaram que a DE além de estar fortemente relacionada com a idade, nos homens hipertensos, a DE tem relação direta com a duração e a severidade do quadro hipertensivo e também com o uso e a quantidade de fármacos necessários para o controle dos níveis pressóricos. Eles registraram uma prevalência crescente de DE conforme o tempo de duração da doença, ou seja, 14% nos hipertensos com diagnóstico há menos de três anos, 24% entre três a seis anos e de 60% naqueles com mais de seis anos de doença. Em relação ao tratamento medicamentoso, a prevalência de DE foi de 40,4% e 19,8% naqueles hipertensos com e sem tratamento anti-hipertensivo, respectivamente. Por fim, aqueles com maior gravidade da HA, precisando de terapia medicamentosa combinada tinham uma prevalência de disfunção erétil de 46,7%, comparada a 36,3% dos que estavam em uso de monoterapia.

Embora muito estudada, a associação direta de DE aos fármacos de ação anti-hipertensiva, ainda é discutida e controversa. A DE é principalmente atribuída ao uso de diuréticos e aos fármacos da classe dos beta bloqueadores. Um estudo observacional, que envolveu 1007 homens hipertensos, com risco cardiovascular elevado e que estavam em uso de β -bloqueadores, revelou uma alta prevalência (71%) de DE nestes pacientes. No entanto, este estudo também trouxe uma informação muito relevante, de que a prevalência de DE variou entre os diferentes tipos de β -bloqueadores utilizados. O metoprolol e o carvedilol foram associados às maiores taxas de DE, atenolol e bisoprolol com taxas intermediárias e o nebivolol com uma menor prevalência de disfunção erétil ⁽¹⁴⁴⁾.

Estudos experimentais evidenciaram melhora da DE com o uso do nebivolol e apontam como mecanismo para a melhora da função erétil, um efeito favorável no estresse oxidativo e o aumento na síntese do óxido nítrico ^(145,146).

Por outro lado, muito embora de forma controversa, os medicamentos das classes dos inibidores da ECA e em um maior número de estudos, os bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRA), têm sido apontados como anti-hipertensivos com potencial de melhorar a função endotelial sistêmica, assim como a função erétil. No entanto, estes resultados não foram confirmados por todos os pesquisadores.

Um trabalho realizado por uma equipe de farmacovigilância sueca, não confirmou uma relação positiva do tratamento com BRA na melhora da função erétil ⁽¹⁴⁷⁾. Da mesma forma, publicado em 2010, um artigo contendo subanálises dos estudos ONTARGET e do TRANSCEND ⁽¹⁴⁸⁾, avaliou se o telmisartan, ramipril ou a combinação de ambos e se o telmisartan comparado com o placebo, respectivamente, trariam benefícios para pacientes com DE. Foram incluídos 1549 homens e o tempo médio de acompanhamento foi de 56

meses. O telmisartam mostrou apenas uma tendência à melhora da DE em relação ao placebo no estudo TRANSCEND. O uso do ramipril, telmisartan ou a combinação destes, não mostrou diferença significativa na melhora da disfunção erétil, assim como não evitou o surgimento de novos casos de DE ao longo dos cinco anos de avaliação.

Apesar destes estudos não terem apresentado resultados promissores, muitos outros estudos, que usaram diferentes fármacos das classes dos inibidores da ECA (iECAs) e dos BRAs, têm demonstrado uma melhora da função erétil, tanto quando testado em modelo animal ^(149,150), quanto em pacientes hipertensos, ou naqueles com risco cardiovascular aumentado ⁽¹⁵¹⁻¹⁵⁶⁾.

De especial importância, devido a sua metodologia, ressalta-se o trabalho de Baumhäkel et al. ⁽¹⁵⁵⁾ que avaliaram 1.069 pacientes hipertensos com diagnóstico de SM. Eles foram tratados com irbesartana ou com a combinação de irbesartana e hidroclorotiazida (HCTZ) por seis meses. O IIFE foi usado para avaliação da função erétil. Foi registrada uma redução na prevalência de disfunção erétil de 78,5% para 63,7% ($p < 0,0001$), após os seis meses de tratamento com irbesartana, independente da dose utilizada (150 ou 300 mg) ou da associação com a (HCTZ). Antes da inclusão no estudo, a média do escore de pontos do IIFE foi de $16,9 \pm 9,2$ pontos, com elevação máxima de $(4,3 \pm 7,2)$ pontos no grupo tratado com irbesartana 300 mg / HCTZ 12,5 mg.

Düsing et al. ⁽¹⁵⁶⁾ avaliaram prospectivamente 3.502 pacientes hipertensos, diabéticos ou considerados de alto risco cardiovascular. Eles foram tratados com valsartana 80-160 mg por dia durante seis meses. A avaliação da função erétil foi feita pelo IIFE. Na inclusão no estudo 75,4% dos pacientes tinham diagnóstico de DE, com redução para 53% ($p < 0,0001$) após seis meses de tratamento com a valsartana.

Llisterri et al. ⁽¹⁵²⁾ também registraram uma redução significativa na taxa de DE, em homens hipertensos, após doze semanas de tratamento com a losartana.

Em 2014, Nicolai et al. ⁽¹¹⁾ publicaram uma extensa revisão da literatura, que compreendeu um período entre 1970 e 2013 de estudos clínicos que avaliaram os efeitos de oito classes de medicamentos de ação cardiovascular na função sexual. Eles consideraram como medicamentos que interferem de forma negativa na função erétil os β -bloqueadores e diuréticos e como fármacos que podem melhorar a função erétil os BRAs e as estatinas. Por fim, aqueles que não interferem nem positiva nem negativamente com a função erétil, os das classes de alfa bloqueadores, os iECAs e os bloqueadores dos canais de cálcio (BCC).

Os mecanismos pelos quais os BRAs exercem efeito positivo na função sexual de homens hipertensos permanecem desconhecidos. Estudos realizados em ratos knockout

tratados com irbesartana demonstraram expressivo remodelamento microvascular no corpo cavernoso, com consequente melhora da função endotelial ⁽¹⁵⁷⁾.

Também já foi sugerido, que pequenos aumentos nos níveis de testosterona registrados com o uso da valsartana poderiam responder pela melhora da função erétil, uma vez que já foi demonstrado que os β -bloqueadores, considerados os fármacos com maior interferência negativa na função sexual, reduzem as taxas deste hormônio ⁽¹⁵⁴⁾.

Encontra-se bem documentado que o uso de estatinas pode melhorar a função do endotélio vascular até mesmo antes da melhora no perfil lipídico ⁽¹⁵⁸⁾. No entanto, se o uso de estatinas pode melhorar a função erétil, ainda é controverso.

Nicolai et al. ⁽¹¹⁾, em sua vasta revisão literária citaram cinco estudos em que o uso de estatinas melhorou a função erétil ⁽¹⁵⁹⁻¹⁶³⁾, contra dois trabalhos que demonstraram que o uso de estatinas contribuiu para a piora da disfunção erétil ^(164,165). Dos estudos que mostraram resultados positivos a favor das estatinas, o que envolveu o maior número de pacientes (n=131), avaliou o efeito da atorvastatina comparado com placebo, em homens com DE que não eram responsivos ao inibidor da PDE 5 (sildenafil). Eles foram randomizados para receber atorvastatina 40 mg por dia ou placebo por 12 semanas e SIL 100 mg “*on-demand*”. No final do período de avaliação, os pacientes que receberam atorvastatina tiveram um aumento significativo do escore do IIFE em relação aos que foram tratados com placebo (13.9 \pm 3.7 vs.10.5 \pm 3.3; $p=0,0001$). No entanto, nenhum paciente recuperou a função erétil, conforme definido como um escore do IIFE-5 > 21 pontos ⁽¹⁶²⁾.

Outros estudos, no entanto, não mostraram melhora da DE com o uso de estatinas. Susan Hall et al. ⁽¹⁶⁶⁾ avaliaram os dados de 1.899 homens que estavam em uso de estatina e encontraram evidências que sugerem que o uso destes medicamentos poderia estar associado a um risco aumentado de disfunção erétil em homens com menos de 55 anos com diagnóstico de doença cardiovascular e/ou diabetes.

Salomon et al. ⁽¹⁶⁷⁾ avaliaram 93 homens antes e seis meses após o uso de estatinas. Antes da inclusão no estudo, a mediana do escore do IIFE foi de 21 pontos. Após os seis meses de tratamento, 57% dos voluntários tiveram piora da função erétil e foram documentados novos casos de DE em 22% deles. No entanto, os pesquisadores concluíram que a piora da função erétil, após o tratamento com estatinas, foi mais frequentemente associado àqueles pacientes com disfunção endotelial mais grave, o que incluiu os mais idosos, os diabéticos e os fumantes. Um dado relevante da característica dos pacientes envolvidos neste estudo, é que 61% deles tinham diagnóstico de doença arterial coronária e 37% eram hipertensos.

No meio de tantas controvérsias, ainda faltam respostas para os possíveis mecanismos envolvidos responsáveis pela piora da função erétil nos pacientes em uso de estatinas. É provável que níveis reduzidos de testosterona sérica, que são encontrados nos homens quando em uso contínuo de estatinas expliquem estes achados.

Um estudo randomizado, duplo cego e do tipo cruzado ⁽¹⁶⁸⁾, testou a sinvastatina 20mg/dia versus placebo, por 12 semanas, em 120 homens de meia idade (48,4±6,2 anos) com diagnóstico de hipercolesterolemia, com objetivo de avaliar variações no humor e nas taxas de hormônios esteróides destes indivíduos. Eles registraram um aumento significativo de casos de depressão, queda nos níveis de testosterona sérica e elevação nas taxas de dehidroepiandrosterona (DHEA).

Dobs et al. ⁽¹⁶⁹⁾ também encontraram redução significativa ($p=0,035$) nos níveis de testosterona biodisponível após o uso de sinvastatina 80 mg/dia.

1.2.6 Tratamento da disfunção erétil com os inibidores da PDE5

O citrato de sildenafil foi o primeiro fármaco de administração oral utilizado para o tratamento da DE orgânica, psicogênica ou mista ⁽¹⁷⁰⁾. Inicialmente, idealizado como um medicamento de ação antianginosa, ao ser testado em seres humanos houve relato de casos de melhora da função erétil em alguns indivíduos o que motivou as pesquisas e a consequente utilização desta substância para o tratamento da DE ⁽¹⁷¹⁾.

O citrato de sildenafil promove a ereção peniana, em resposta a uma estimulação erótica, através da inibição seletiva da enzima fosfodiesterase tipo 5. Os inibidores da PDE 5 mantêm a concentração do GMPc, prolongando a sua ação e consequentemente a ereção peniana ⁽¹⁷²⁾.

A PDE 5 é uma enzima abundante e predominante nos corpos cavernosos, mas estudos com técnicas avançadas, como imunohistoquímica, já demonstraram a presença da PDE 5 em altas concentrações em outros tecidos como: na musculatura lisa vascular pulmonar e sistêmica, nas plaquetas e na bexiga ⁽¹⁷³⁾.

Os iPDE 5 estão sendo largamente utilizados para o tratamento da hipertensão arterial pulmonar (HAP). Respaldados por algoritmos e diretrizes podem ser considerados medicamentos de primeira linha para muitos pacientes com diagnóstico de HAP ^(174,175). Jing

et al. ⁽¹⁷⁶⁾ demonstraram excelente tolerância e eficácia com o uso contínuo (por até 18 meses) com os iPDE 5 no tratamento de pacientes com HAP.

A potência da sildenafil a inibir a PDE 5 é de 80 a 8500 vezes mais intensa do que a potência para inibir as PDEs 1 a 4 e 750 a 8500 vezes maior do que para inibir as PDEs 7 a 11. Torna-se, dessa forma, improvável a inibição de outras PDEs com o uso de SIL. A única exceção, do ponto de vista farmacodinâmico, seria a inibição da PDE 6, que sob a ação da sildenafil, em doses elevadas, pode desencadear o aparecimento de sintomas visuais transitórios como visão azulada e percepção aumentada à luminosidade ⁽¹⁷⁷⁾.

A sildenafil é metabolizada principalmente pela via do citocromo P450 3A4 (79%) e, em menor extensão, pela via 2C9 (20%). Dessa forma, medicamentos que usam a mesma via de metabolismo, podem potencializar ou inibir a ação de SIL. O ritonavir aumenta a exposição à sildenafil em 11 vezes. A cimetidina, um inibidor não específico menos potente do citocromo P450, aumenta a exposição ao sildenafil em 1,6 vezes. O cetoconazol inibe o metabolismo da sildenafil em grau semelhante ao ritonavir. Os seguintes inibidores 3A4 também têm potencial para aumentar a exposição aos inibidores da PDE5: eritromicina, claritromicina e inibidores da protease do HIV. Por outro lado, os indutores do P450 3A4 aumentam a depuração e diminuem as concentrações plasmáticas dos inibidores da PDE5. São eles: carbamazepina, fenitoina e fenobarbital. Os inibidores de 2C9 não afetam significativamente o metabolismo dos inibidores da PDE5. Notavelmente, o metabolismo da sildenafil não é afetado pela varfarina, azitromicina, inibidores seletivos da recaptção da serotonina, tiazídicos, inibidores da enzima conversora de angiotensina, bloqueadores dos canais de cálcio ou antiácidos ⁽¹⁷⁸⁾.

Os eventos adversos relatados com o uso dos iPDE5 geralmente são de leve intensidade e transitórios e a descontinuidade do tratamento, devido a estes eventos adversos, é extremamente baixa. Os sintomas mais frequentemente relatados são: cefaleia, rubor facial, dispepsia, alterações visuais, congestão nasal e mais raramente, priapismo ⁽¹⁷⁹⁾.

A segurança, eficácia e tolerância dos inibidores da PDE 5 já foram avaliadas em diversos estudos clínicos. Foram relatados sucessos no tratamento da disfunção erétil em homens com dislipidemia ⁽¹²⁾, em portadores da SM ⁽¹³⁾, nos pacientes com diagnóstico de doença coronária aterosclerótica estável ⁽¹⁴⁾ e naqueles em uso concomitante de medicamentos como estatinas e hipoglicemiantes orais ⁽¹⁵⁾.

Conti et al. ⁽¹⁶⁾ relataram uma melhora na função erétil de homens portadores de doença cardíaca isquêmica, tratados com sildenafil (70%), comparado ao tratamento com placebo (20%); $p < 0,001$. Em pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca e com

disfunção endotelial, já foi demonstrado que a inibição da PDE 5 pode ser benéfica, ao proporcionar um aumento da vasodilatação periférica ⁽¹⁷⁾ e da capacidade ao exercício ⁽¹⁸⁾. Também já foi demonstrado, em pacientes com insuficiência cardíaca crônica, que o uso do citrato de sildenafil não determinou alteração do QTc, nem proporcionou efeito pró-arrítmico nestes pacientes ⁽¹⁹⁾.

A incidência de eventos cardiovasculares (infarto do miocárdio não fatal, AVC e morte), não foi maior nos pacientes que usavam sildenafil quando comparado à incidência estimada para uma população de mesma faixa etária e perfil de risco cardiovascular ⁽²⁰⁾.

A associação com fármacos anti-hipertensivos já foi amplamente estudada, tanto em pacientes em uso de monoterapia, quanto naqueles que necessitavam de duas ou mais drogas anti-hipertensivas para o controle da pressão arterial. Enquanto a tolerância ao uso dos inibidores da PDE 5 foi bem documentada nesses pacientes ^(21,22), a eficácia foi questionada por outros investigadores. Manasia et al. ⁽²³⁾ relataram melhora significativa da função erétil nos hipertensos que usaram a sildenafil, exceto nos pacientes que estavam em tratamento com diuréticos. Um grupo de estudos coreano ⁽²⁴⁾ também registrou boa tolerância ao citrato de sildenafil em hipertensos tratados com quatro ou mais classes de anti-hipertensivos, mas ressaltaram que a melhora da função erétil ficou comprometida naqueles pacientes que usavam diuréticos e beta-bloqueadores.

Portanto, embora a tolerância à associação dos iPDE 5 aos anti-hipertensivos esteja bem documentada, desde que se respeite uma PA mínima de 90/60 mmHg, existem duas exceções, a saber: nitratos e alfa-bloqueadores. Qualquer medicamento que sirva como doador de NO é absolutamente contraindicado em combinação com os iPDE 5 devido ao risco de hipotensão significativa ^(180,181). Desta forma é importante ressaltar, que em homens admitidos em salas de emergências com quadro de dor precordial, deve-se questionar sobre o possível uso dos iPDE 5, uma vez que os nitratos não devem ser administrados dentro de 24 h do uso do citrato de sildenafil e da vardenafila e até 48 h do uso da tadalafila ⁽¹⁸²⁾.

Os fármacos da classe dos bloqueadores alfa adrenérgicos (doxazosina e terazosina), usados no tratamento da hipertrofia benigna da próstata, também podem causar hipotensão quando associados aos iPDE 5. Recomenda-se que a sildenafil, na dose de 50 a 100 mg, não deva ser administrada dentro de um período de 4 h do uso de um alfa bloqueador. Já a sildenafil, na dose de 25 mg, pode ser tomada a qualquer momento em pacientes que estejam fazendo uso de medicamentos alfa bloqueadores ⁽¹⁸³⁾. Outros estudos demonstraram que a associação da tamsulosina com os iPDE 5, especialmente com a tadalafila, poderia ser mais seguro ^(184,185).

1.2.7 Inibidores da PDE5 e disfunção endotelial

Muitos estudos clínicos, com diferentes metodologias demonstraram que os inibidores da PDE5 são capazes de melhorar a função do endotélio vascular.

Aversa et al. ⁽³¹⁾ registraram melhora da complacência arterial, medida pela velocidade de onda de pulso, em pacientes com DE vasculogênica tratados por quatro semanas com a vardenafila.

Blaise et al. ^(32,33) demonstraram que aos 120 min. após a dose de 100 mg de SIL, houve aumento significativo da reatividade vascular no antebraço, após manobra de HRPO, em voluntários saudáveis.

Roustit et al. ⁽³⁴⁾ registraram um aumento da condutância vascular cutânea e da temperatura da pele após o uso de 100 mg de SIL, em pacientes que apresentavam fenômeno de Raynaud. Eles atribuíram este fato a um aumento da biodisponibilidade do NO induzido pelo iPDE5.

Outros estudos foram realizados, com perspectivas futuras, para o tratamento das doenças CV com os iPDE 5. Estes fármacos já foram avaliados para o controle de doenças neuro-degenerativas, do acidente vascular cerebral, do infarto agudo do miocárdio e da cardiopatia hipertrófica ⁽¹⁸⁶⁾. Já foi relatado que o bloqueio da PDE 5 com SIL é capaz de conter a hipertrofia dos miócitos e melhorar a função ventricular em ratos que foram expostos a constrição da aorta ⁽¹⁸⁷⁾. A sildenafil também foi capaz de reverter à hipertrofia miocárdia e restaurar a função ventricular devido a um mecanismo antinecrótico/apoptótico deste medicamento. Desta forma, o uso do iPDE5 mostrou-se eficaz em melhorar a sobrecarga pressórica ventricular, reduzindo a progressão para a insuficiência cardíaca ⁽¹⁸⁸⁾.

1.2.8 Inibidores da PDE5 e hipertensão arterial sistêmica

A DE é um problema de saúde de alta prevalência em indivíduos hipertensos, correlacionando-se diretamente com a idade do paciente e com a gravidade e o tempo de duração da doença hipertensiva. Também é muitas vezes atribuída ao uso e a quantidade de medicamentos anti-hipertensivos necessários para o controle da pressão arterial ⁽¹⁰⁾. No entanto, vários estudos clínicos já demonstraram, que muitos destes fármacos não só não

interferem negativamente com a DE, mas por melhorar a função endotelial possivelmente contribuem para a melhora da DE⁽¹¹⁾.

Já não existem dúvidas quanto à eficácia e segurança dos iPDE 5 no tratamento da DE vasculogênica,⁽¹²⁻²⁰⁾ o que inclui os pacientes hipertensos^(21-24,180).

Considerando-se que as metas recomendadas para o tratamento da hipertensão arterial são de PAS < 140 mmHg e PAD < 90 mmHg, para medida de consultório e de PAS < 130 mmHg e PAD < 80 mmHg para a média de 24 h na MAPA⁽²⁶⁾, frequentemente torna-se necessária à combinação de fármacos, com diferentes mecanismos de ação, de forma a se obter um efeito sinérgico para alcançar uma redução efetiva da pressão arterial. Também é de grande relevância considerar os resultados do estudo SPRINT⁽²⁷⁾, que demonstrou benefícios na proteção cardiovascular com uma meta de PA menor que 120/80 mmHg para os pacientes com cinquenta anos ou mais, de alto risco cardiovascular, assim como evidenciou a importância do uso de associação de fármacos para a maioria dos pacientes.

Neste estudo utilizou-se uma média de 2,8 fármacos anti-hipertensivos para atingir, de forma segura, uma PA de 121,4/68,7 mmHg, tendo sido registrado 17% menos eventos cardiovasculares em relação ao grupo que recebeu tratamento padrão em que a PA alcançada foi de 136,2/76,3 mmHg. A análise crítica desse estudo sugere a revisão e atualização das metas da pressão arterial em vigentes diretrizes⁽¹⁸⁹⁾. Sem dúvida, estes achados nos trouxe mais confiança para ousarmos diversas associações medicamentosas, com diferentes mecanismos de ação, em indivíduos com idade mais avançada.

Alguns anos antes do estudo SPRINT, no entanto, alguns ensaios já haviam testado a associação do citrato de sildenafil em pacientes hipertensos em uso prévio de medicação anti-hipertensiva.

Vardi et al.⁽¹⁹⁰⁾ avaliaram 22 pacientes hipertensos e 27 indivíduos normotensos e para tal usaram a monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) em duas ocasiões. Na primeira noite os voluntários não usaram a sildenafil e na segunda, fizeram uso de 100 mg de SIL. Foram feitos registros da PA durante três horas em vigília e outras três horas durante o período de sono. Durante todo o período de avaliação, ocorreu redução significativa da PAS (-5,8 mmHg; $p=0,0003$), da PAD (-4,5 mmHg; $p=0,001$) e da PAM (-5,3 mmHg; $p=0,0008$) em todo o grupo avaliado. A PAS reduziu em média -8,5 e -3,6 mmHg, enquanto a PAD reduziu -5,7 e -3,6 mmHg nos hipertensos e nos normotensos, respectivamente. Os medicamentos anti-hipertensivos que estavam sendo utilizados pelos pacientes hipertensos que participaram do estudo incluíram: alfa-bloqueadores, bloqueadores dos canais de cálcio e os inibidores da

enzima conversora da angiotensina. Doze pacientes estavam em monoterapia e dez usavam duas ou mais classes de medicamentos.

Webb et al. ⁽¹⁹¹⁾ testaram a associação de 100 mg de SIL em pacientes hipertensos que estavam em uso de 5 a 10 mg de anlodipino. Eles registraram uma redução da PAS de -8 mmHg e -7 mmHg na PAD, quando comparado à associação de SIL com anlodipino ou com placebo. No entanto, apesar de ser considerada uma redução significativa ($p=0,002$), os autores concluíram que esta redução era semelhante àquela encontrada em indivíduos saudáveis que faziam uso isolado da sildenafil.

Mahmud et al. ⁽¹⁹²⁾ avaliaram oito pacientes hipertensos e com DE, com idade entre 57 e 76 anos, após o uso de 50 mg de SIL ou placebo. Todos os pacientes estavam em uso de fármacos anti-hipertensivos e com a PA controlada. Eles registraram uma redução máxima de -24±10 vs. -6±8 mmHg ($p<0,05$) na PAS e -8±5 vs. -3±2 mmHg ($p<0,05$) na PAD, após o uso de SIL ou placebo, respectivamente.

Vlachopoulos et al. ⁽¹⁹³⁾ estudaram os efeitos da sildenafil 50 mg na PA e na onda de reflexão arterial, em 27 indivíduos, com idade média de 69±9 anos e com fatores de risco para DE. Eles registraram que após o uso de SIL, houve uma queda significativa da pressão sistólica e diastólica (-14,4 e -9,6 mmHg), respectivamente e redução do *augmentation index* (AI) em 13%. Nesta mesma época, Mahmud et al. ⁽¹⁹²⁾ também demonstraram redução significativa na pressão aórtica e no AI, sugerindo que a vasodilatação periférica decorrente da ação da sildenafil, em aumentar a biodisponibilidade do NO, seria responsável pela queda da pressão arterial sistólica e da onda de reflexão arterial.

É possível que a sildenafil, a semelhança dos nitratos (doadores de NO), melhore a complacência arterial através da via NO-GMPc ao inibir a enzima PDE5. Já foi demonstrado que os nitratos reduzem a pressão arterial central exercendo seu efeito através desta via ⁽¹⁹⁴⁾. Também já foi evidenciado, que quando os nitratos são administrados junto com a sildenafil, ocorre uma acentuada queda da pressão arterial muitas vezes superior ao efeito observado quando do uso destes agentes de forma isolada ⁽¹⁹⁵⁾.

Um estudo realizado no Japão ⁽¹⁹⁶⁾ examinou os efeitos da sildenafil 25 ou 50 mg, comparados ao placebo, na velocidade da onda de pulso (VOP) e na PA sistêmica de indivíduos com disfunção erétil e média de idade de 61 anos. Eles classificaram os pacientes em dois grupos, com ou sem fatores de risco para aterosclerose. Uma hora após a administração da sildenafil, houve queda significativa da PAS. A PAD também reduziu, mas não de forma significativa. A VOP reduziu de forma significativa apenas naqueles voluntários portadores de fatores de risco CV. Os autores concluíram que especialmente em indivíduos

com fatores de risco para a aterosclerose, a queda da VOP indica que o uso da sildenafil foi capaz de reduzir a rigidez arterial e que a conseqüente melhora da distensibilidade vascular, resultaria em um aumento do fluxo sistêmico e peniano.

Todos estes estudos testaram apenas o efeito agudo da sildenafil em pacientes hipertensos. O primeiro estudo clínico que testou o efeito crônico do citrato de sildenafil em pacientes hipertensos foi publicado em 2006 por Oliver et al. ⁽²⁸⁾ Eles estudaram o comportamento da pressão arterial em 22 indivíduos hipertensos, não tratados, que fizeram uso do citrato de sildenafil na dose de 50 mg três vezes ao dia e registraram uma redução da PAM de $-8\pm 1,5$ mmHg, 1 h após a administração da primeira dose de SIL. Após 16 dias de tratamento, houve uma redução de $-7\pm 1,9$ mmHg na PAS e de $-5\pm 1,1$ mmHg na PAD na média da PA de 24 h avaliada pela MAPA. Os pesquisadores comentaram que estes níveis de redução da PA eram semelhantes aos encontrados com diferentes classes de anti-hipertensivos quando usados em monoterapia ⁽²⁹⁾ e sugeriram que os inibidores da PDE 5, por terem a propriedade de reduzir a pressão arterial, tanto sistólica quanto diastólica, teriam potencial para serem usados como uma nova classe de medicamentos no controle da pressão arterial.

Em 2010, Yaguas et al. ⁽³⁰⁾ avaliaram o uso da sildenafil por seis meses em subgrupos de ratos hipertensos (SHR) e normotensos (Wistar-Kyoto). Eles verificaram redução significativa da PAS ($p<0,01$), em relação à pressão arterial basal, nos ratos hipertensos (SHR) tratados com sildenafil, mas não nos normotensos (WKY). A redução da PAS, nos ratos SHR foi mais significativa ($p<0,001$) quando comparada à pressão arterial registrada nos ratos WKY. Eles concluíram que o uso da sildenafil demonstrou efeitos benéficos, de longo prazo, nos ratos hipertensos, e sugeriram que o uso crônico dos iPDE 5 deveria ser mais bem investigado como associação terapêutica no tratamento da hipertensão arterial sistêmica.

Até o momento não existe nenhum estudo clínico que tenha testado os iPDE5 em pacientes com hipertensão arterial sistêmica, por tempo prolongado e com objetivo terapêutico. Apesar de bem documentada a segurança e eficácia destes fármacos em portadores de hipertensão leve e naqueles com PA controlada ⁽²⁵⁾, o uso contínuo e a possível indicação para o controle da pressão arterial com essa classe de medicamentos ainda não foi investigado.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito do tratamento com o citrato de sildenafil na função endotelial microvascular sistêmica e peniana e na pressão arterial sistêmica de pacientes hipertensos com disfunção erétil.

2.2 Específicos:

- a) avaliar o efeito agudo do citrato de sildenafil 100 mg, em dose única, nos pacientes hipertensos comparando-os aos indivíduos normotensos, sobre as seguintes variáveis:
 - pressão arterial sistólica e diastólica de consultório;
 - reatividade microvascular peniana;
 - reatividade microvascular sistêmica;
- b) avaliar o efeito crônico do citrato de sildenafil (50 mg duas vezes ao dia) por 30 dias, comparado ao placebo, nos pacientes hipertensos, sobre as seguintes variáveis:
 - pressão arterial sistólica e diastólica de consultório;
 - pressão arterial sistólica e diastólica avaliadas pela MAPA 24h;
 - reatividade microvascular peniana;
 - reatividade microvascular sistêmica;
 - densidade capilar (capilaroscopia);
 - concentrações plasmáticas de nitrito/nitrato;
 - tolerabilidade e segurança;
 - função erétil.

3 METODOLOGIA

3.1 Dados gerais

O presente estudo foi realizado de acordo com a Declaração de Helsinque (última revisão em 2013) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Nacional de Cardiologia do Rio de Janeiro (INC) sob o protocolo # CAAE 17663813.4.0000.5272 Plataforma Brasil do Ministério da Saúde (ANEXO A). Antes da inclusão no estudo, todos os participantes tiveram que ler e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aprovado pelo CEP do INC (documento disponível nos APÊNDICES A e B). O estudo foi tornado público através de registro na base de dados internacional de ensaios clínicos (ClinicalTrials.gov da *U. S. National Library of Medicine* - protocolo NCT02 620995).

3.2 População do Estudo

Foram selecionados para este estudo homens sexualmente ativos, com idade entre 49 e 70 anos, com diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica primária e disfunção erétil, em tratamento no ambulatório do INC ou que foram encaminhados de outras unidades de saúde por seus médicos assistentes.

Um grupo de voluntários normotensos foi constituído, em grande maioria, por funcionários do hospital e uma parcela menor por parentes ou amigos destes, pareados para a mesma faixa etária dos pacientes hipertensos. Este grupo foi considerado como de referência, principalmente para a avaliação da função microvascular.

3.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos, para o grupo de hipertensos, pacientes com:

- a) PA < 160/100 mmHg, em tratamento para o controle da pressão arterial;

- b) escore ≤ 21 pontos após responder ao questionário do IIEF-5, ou seja, os com diagnóstico de disfunção erétil.

3.2.2 Critérios de exclusão para ambos os grupos estudados

Foram excluídos para o estudo voluntários:

- a) em uso de nitratos, bloqueadores alfa-adrenérgicos e beta-bloqueadores;
- b) intolerantes aos inibidores da PDE5;
- c) com diagnóstico de disfunção erétil de causas distintas da etiologia vasculogênica como: cirurgias ou traumas pélvicos e doenças da próstata;
- d) com relato de uso de qualquer ipde5 no período de 30 dias antes da inclusão no estudo;
- e) diabéticos; aqueles com diagnóstico de doença arterial coronária aterosclerótica; doenças neurológicas ou psiquiátricas; cardiopatias; nefropatias ou hepatopatias graves e os com distúrbios da glândula tireoide ou hipófise.

3.3 **Desenho do estudo**

Este estudo foi desenhado para avaliação dos resultados em duas situações distintas. Primeiro foram avaliados 50 indivíduos normotensos e 57 pacientes hipertensos, antes e 1 h após dose única do citrato de sildenafil 100mg, por via oral. Nesta etapa do estudo, o objetivo foi avaliar a resposta aguda à sildenafil, nos indivíduos normotensos e nos pacientes hipertensos. Depois foram avaliados os dados de 50 pacientes hipertensos que foram tratados, de forma randomizada, com o citrato de sildenafil por 30 dias na dose de 50 mg duas vezes ao dia e placebo, por mais 30 dias, com um período de remoção do medicamento (*washout*) de trinta dias entre os tratamentos. Nesta etapa do estudo, o objetivo foi avaliar o efeito crônico da sildenafil comparado ao placebo, apenas nos pacientes hipertensos. Sete pacientes

hipertensos incluídos no estudo não concluíram todas as etapas. Os motivos pelos quais estes pacientes saíram do estudo estão descritos no ANEXO B.

Todos os medicamentos utilizados no estudo (sildenafil e placebo) foram manipulados pela farmácia BIODERM, que forneceu relatório, numerando os frascos para posterior realização da randomização e enviou certificados de qualidade das cápsulas, do talco para a manipulação do placebo e da análise do citrato de sildenafil (ANEXOS C, D e E).

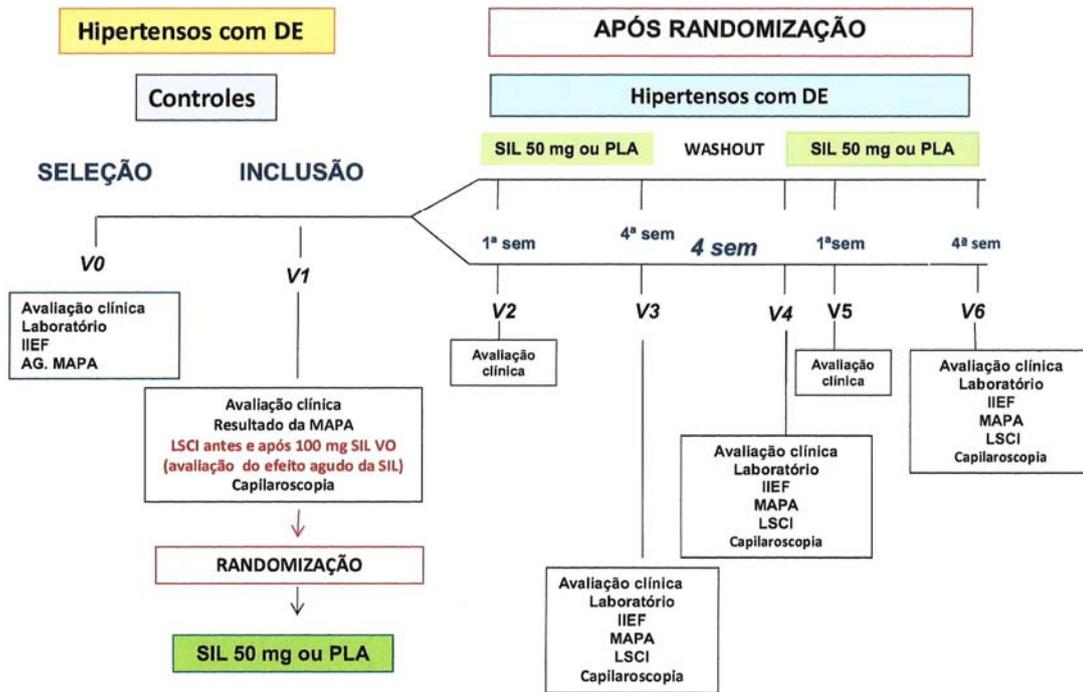
Respeitando-se o desenho do estudo (tipo cruzado), a randomização ocorreu em blocos com tamanhos variados (de 8 a 12) e com base em uma tabela de números aleatórios gerados no programa online Openepi⁽¹⁹⁷⁾. A tabela contendo a numeração gerada pelo programa, ficou em sigilo com um pesquisador, que codificou os frascos de tratamentos e não teve contato com o centro no qual o estudo foi conduzido.

Na primeira etapa, todos os voluntários incluídos no estudo foram avaliados através de anamnese, exame físico (o que incluiu a medida da PA no consultório), fizeram coleta de sangue e urina e eletrocardiograma. Também responderam ao questionário do IIEF (*International Index of Erectile Function*) e realizaram o exame de fluxometria (protocolo agudo) (Figura 1).

Quanto à segunda etapa do estudo, que chamamos de protocolo crônico, trata-se de um estudo randomizado, duplo cego, prospectivo e do tipo cruzado (*crossover*), onde somente os pacientes hipertensos foram tratados com o citrato de sildenafil ou placebo em dois períodos de 30 dias, com *washout* de 30 dias entre eles.

Antes da randomização, após o período de *washout* e após o final de cada etapa de tratamento (SIL ou placebo), os hipertensos foram avaliados através de anamnese, exame físico, exames laboratoriais, responderam ao questionário do IIEF, foram submetidos ao exame de MAPA de 24 h e à fluxometria por laser *speckle* (LSCI) (Figura 1).

Figura 1 - Desenho do estudo



Legenda: citrato de sildenafil (SIL); placebo (PLA); *International Index of Erectile Function* (IIEF); monitorização ambulatória da pressão arterial (MAPA); *laser speckel contrast image* (LSCI).

Fonte: A autora, 2019.

3.4 Métodos

Na primeira visita (seleção), foram realizados anamnese e exame físico completo. A medida da pressão arterial foi obtida com um esfigmomanômetro automático, validado e calibrado, da marca Omron, modelo M7, usando-se as recomendações da 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial ⁽²⁶⁾. Após 5 min de repouso, em posição supina, foram feitas as medidas da pressão arterial nos dois braços e foi considerado para avaliações posteriores o braço em que se constatou o maior valor da PA. Em seguida, foi feita a avaliação da PA em posição ortostática e finalmente três novas medidas, com o paciente sentado, com intervalo de 1 min entre elas, no braço selecionado. Foi considerada a média das duas últimas medidas para análises posteriores.

A avaliação da pressão arterial, nos hipertensos também foi feita pelo exame de MAPA. Para a realização deste exame, foi utilizado o aparelho da marca Spacelabs, modelo 90121, disponível no INC.

Todos os pacientes foram submetidos a exames laboratoriais que incluíram: hemograma, perfil lipídico (colesterol total, HDL-C, LDL-C e triglicerídeos), glicemia de jejum, hemoglobina glicada, insulina, HOMA-IR, ureia, creatinina, ácido úrico, eletrólitos (sódio, potássio, magnésio), PSA total e livre, PCR-us, TGP, TGO, TSH, EAS, microalbuminúria e dosagem sérica de nitrito/nitrato. Outros exames incluíram: eletrocardiograma e ecocardiograma transtorácico. Todos estes exames foram realizados por um técnico ou um médico responsável que trabalham no INC.

3.4.1 Avaliação da função erétil

Para avaliação da função erétil foi utilizado o índice internacional de função erétil simplificado (*Simplified International Index of Erectile Function - IIEF-5*)^(198,199) (ANEXO F). Foram considerados para o diagnóstico de disfunção erétil quando o IIEF-5 score foi ≤ 21 pontos e sem disfunção erétil o score entre 22 e 25 pontos. Os pacientes também responderam ao SEP3 (sexual encounter profile 3)⁽¹⁴²⁾. O SEP3 consiste em uma pergunta direta sobre a qualidade da ereção do paciente, isto é, se “a qualidade da ereção foi suficiente para completar o intercuro sexual de maneira satisfatória?” Estes instrumentos de avaliação da função erétil foram utilizados para comparação evolutiva em cada etapa do tratamento.

3.4.2 Avaliação da reatividade microvascular

A reatividade microvascular cutânea foi avaliada através da técnica de LSCI, recentemente padronizada e validada⁽³⁵⁻³⁸⁾. O LSCI é uma técnica não invasiva, que permite realizar medidas contínuas das alterações do fluxo microvascular cutâneo, em tempo real, com significativa abrangência. De fato, o LSCI mede a perfusão da pele de uma grande superfície (áreas com até 100 cm²) e com alta frequência (até 100 imagens/s)⁽²⁰⁰⁾. O fluxo microvascular cutâneo é medido em unidades arbitrárias de perfusão (UAP) e se relaciona

com a pressão arterial média, para o cálculo da condutância vascular cutânea (CVC), expressa em UAP/mmHg.

No presente estudo, um sistema de LSCI (comprimento de onda de 780 nm; PeriCam PSI-NR, Perimed AB, Järfälla, Suécia) acoplado a um sistema farmacológico de microiontoforese (PeriIont, Perimed AB) foi utilizado para a avaliação não invasiva das variações de fluxo microvascular, dependente do endotélio, utilizando-se para tal a acetilcolina (ACh). O registro do sinal do laser *speckle* é feito por um computador e as imagens são analisadas através de um software de aquisição automática de dados (PIMSoft, Perimed) (Figura 2).

Esse exame foi realizado em uma sala apropriada, em um ambiente calmo, com temperatura estável, controlada em $23\pm 1^\circ$ C e após o paciente ter repousado por 20 min em posição supina. Dois eletrodos de micro iontoforese (LI611 electrodes, Perimed) foram colados à face ventral da pele do antebraço através de adesivos de dupla face. Um eletrodo foi preenchido com 200 μ l de solução a 2% de acetilcolina (Sigma Chemical CO, USA) e o eletrodo neutro (dispersão de corrente) foi instalado 15 cm acima do eletrodo de infusão (Figura 3). Na seleção das áreas para instalação dos eletrodos foram evitadas as áreas em que havia a presença de pelos, rachaduras, pigmentações ou veias visíveis na pele. Uma almofada a vácuo (AB Germa, Sweden) foi utilizada para minimizar os artefatos gerados pelo movimento do braço, durante a gravação (Figura 3).

Ao se iniciar o exame, foi feito um registro da linha de base do fluxo microvascular durante 3 a 5 min. Seguiu-se a iontoforese de acetilcolina, que é realizada utilizando-se correntes anódicas, de intensidades crescentes de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 μ A, administradas por um período de 10 s com intervalos de 60 s entre elas (Figura 4).

É importante ressaltar que o protocolo não inclui administração de drogas injetáveis, sendo que as substâncias supracitadas ficam apenas em contato com a epiderme dos pacientes.

Para os testes de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO), a oclusão da artéria braquial foi realizada através de um manguito pneumático que foi inflado, durante 3 min, em pressão supra-sistólica (50 mmHg acima da pressão sistólica dos pacientes). Após a liberação do manguito, foram medidos os seguintes parâmetros: fluxo cutâneo basal, fluxo máximo e diferença entre pico máximo e fluxo basal (delta de fluxo).

Para a avaliação da função do endotélio microvascular peniano, por questões técnicas, foi utilizado apenas o protocolo com a ACh, como descrito em artigos previamente publicados por nosso grupo ^(46,139). A micro iontoforese de ACh foi realizada no pênis 15 min após o fim do procedimento no antebraço pela impossibilidade técnica de realizar os dois

procedimentos simultaneamente. À semelhança do que foi feito no antebraço, um eletrodo de microiontoforese foi instalado na pele do pênis e preenchido com solução de ACh a 2%. O outro eletrodo, neutro, foi instalado na pele da coxa. Todo o resto do protocolo é idêntico ao que foi descrito para o antebraço.

De forma a minimizar possíveis artefatos nos registros do fluxo microvascular peniano, foi utilizado um campo fenestrado, com uma abertura redonda no centro, por onde o pênis foi introduzido e fixado ao campo, usando-se para tal uma fita adesiva hipoalergênica (Henkel Adhesive North America, EUA) que é projetada para segurar firmemente a pele e tecidos, mas que pode ser facilmente removida sem danificar a pele.

Também é relevante salientar que as gravações do fluxo microvascular peniano foram sempre realizadas com o pênis flácido (Figuras 5 e 6).

Figura 2 - Registro do fluxo microvascular por software apropriado



Nota: o registro do sinal do laser *speckle* é feito por um computador e as imagens são analisadas através de um software de aquisição automática de dados.

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 3 - Posicionamento dos eletrodos na pele do antebraço e da almofada a vácuo

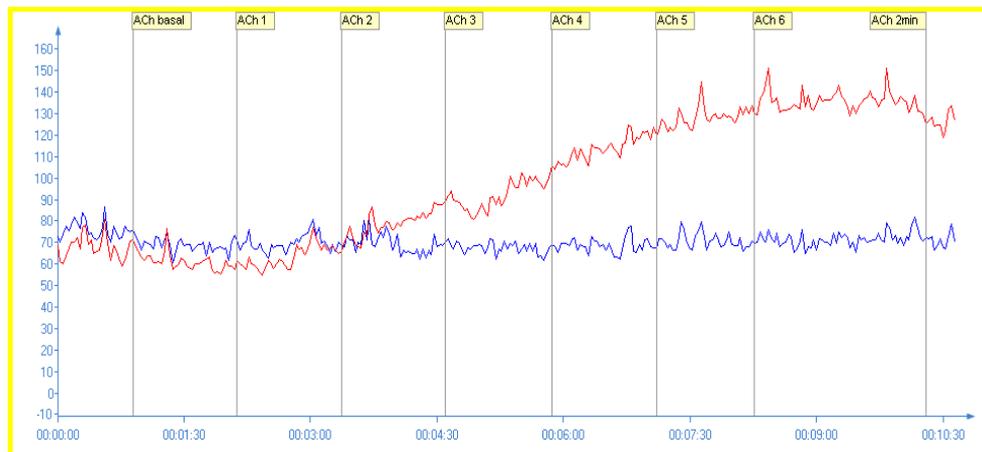


Legenda: 1, eletrodo neutro; 2, eletrodo de infusão; 3, distância entre os dois eletrodos.

Nota: eletrodos de micro iontoforese são colados na pele do antebraço através de adesivos de dupla face. Um eletrodo é preenchido com solução de ACh 2% e o eletrodo neutro é instalado 15 cm acima do eletrodo de infusão. O uso da almofada a vácuo minimiza os artefatos gerados pelo movimento do braço durante a gravação.

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

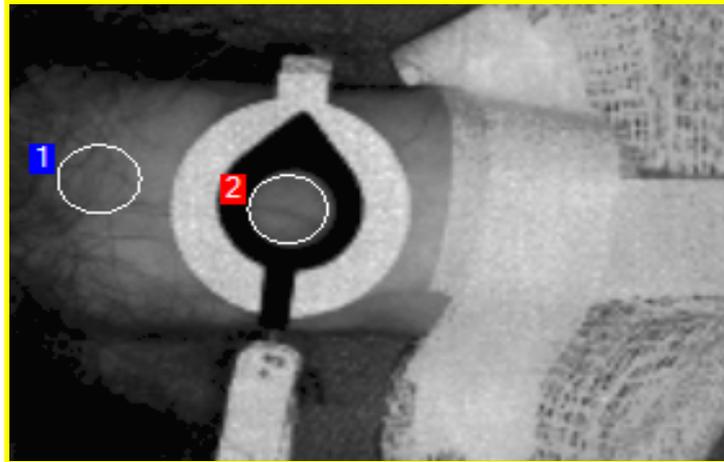
Figura 4 - Gráfico representativo da resposta do fluxo microvascular à acetilcolina



Nota: após estímulo com doses cumulativas de acetilcolina (linha vermelha), ocorre aumento do fluxo microvascular, comparado a uma área não estimulada (linha azul) em que o registro do fluxo é linear.

Fonte: Verri V. ⁽⁴⁶⁾

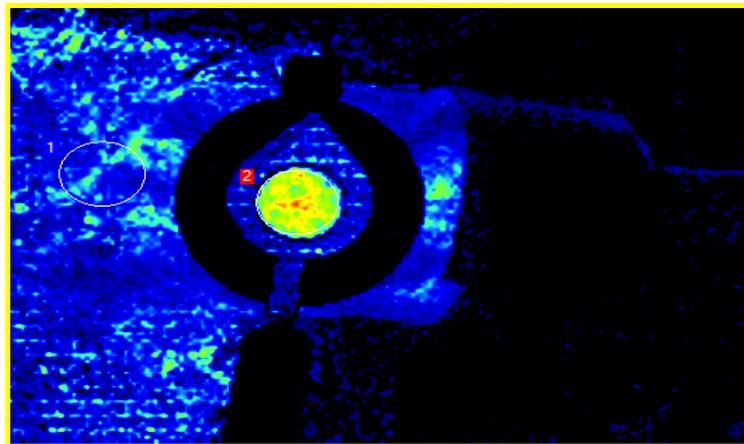
Figura 5 - Técnica experimental adaptada para avaliação da microcirculação peniana



Nota: foto ilustrativa da técnica utilizada para avaliação da microcirculação peniana, em que se utiliza um eletrodo de micro iontoforese preenchido com solução de acetilcolina (2) e outra área não estimulada (1).

Fonte: Verri V.⁽⁴⁶⁾

Figura 6 - Imagem de vídeo demonstrando as alterações do fluxo microvascular peniano induzidas pela iontoforese de acetilcolina



Nota: a área que aparece em amarelo no vídeo representa um fluxo microvascular aumentado, após estímulo com acetilcolina, comparado a uma área não estimulada, em azul, onde o fluxo é normal.

Fonte: Verri V.⁽⁴⁶⁾

3.4.3 Capilaroscopia por microscopia intravital

Na capilaroscopia, a densidade capilar cutânea média, ou seja, o número de capilares por mm² de pele dos pacientes foi avaliado através de microscopia intravital de alta resolução,

em cores (Moritex, Cambridge, UK), utilizando-se um sistema de vídeo-microscopia com objetiva de imersão equipada com um sistema de epi-iluminação. Nesse exame, a região selecionada para análise é a pele do dorso da segunda falange do dedo médio da mão não dominante ^(71,73). A temperatura do dedo não foi monitorada, mas somente procedia-se à aquisição das imagens após aclimatação do paciente, tomando-se o cuidado de evitar temperaturas ambientes inferiores a 23 graus Celsius. A aquisição das imagens, assim como o registro em disco e análise posterior das imagens foram realizados através de sistema integrado semi-automático (Microvision Instruments, Evry, France). A contagem do número total de capilares por campo microscópico (1 mm²) foi obtida através de programa de análise de imagens semi-automático calibrado previamente (Saisam, Microvision Instruments, Evry, France). A densidade capilar média de cada paciente correspondia ao cálculo da média aritmética do número de capilares contados em três campos microscópicos contíguos (Figura 7) ⁽²⁰¹⁾. A diferenciação entre as alterações funcionais e estruturais, envolvidas na redução da densidade capilar dos pacientes, foi realizada através de hiperemia reativa induzida pelo bloqueio do fluxo sanguíneo arterial, durante 3 minutos, por um manguito de esfigmomanômetro inflado a 50 mmHg acima da pressão arterial sistólica, no braço. As imagens são gravadas de 30 a 60 s após a liberação do fluxo arterial, correspondendo ao ápice da resposta hiperêmica pós-isquêmica ^(80,202).

Figura 7 - Capilaroscopia por microscopia intravital



Nota: Exemplo de imagem da rede capilar do dorso da falange do dedo médio captada por sistema de capilaroscopia intravital.

Fonte: Kaiser SE ⁽²⁰¹⁾

3.4.4 Avaliação da biodisponibilidade sistêmica do óxido nítrico (NO)

A biodisponibilidade sistêmica do NO foi avaliada através da análise das concentrações plasmáticas de nitrito e nitrato ($\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$), que têm sido usadas como um índice de formação do NO ⁽²⁰³⁾. As concentrações plasmáticas dos metabólitos do óxido nítrico (NO_x), ($\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$), foram determinadas usando-se um ensaio colorimétrico (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Michigan, USA) com uma sensibilidade de 2,5 μM e um coeficiente de variação intra-ensaio de 2,7%. Cada amostra de plasma foi medida duas vezes.

3.5 **Cálculo do tamanho da amostra**

Tendo como objetivo primário analisar a variação do fluxo microvascular após a administração da sildenafil nos pacientes hipertensos, foram consideradas as seguintes suposições para o cálculo do tamanho da amostra:

- a) nível de significância de 5% (bilateral);
- b) poder do teste estatístico de 80%;
- c) coeficiente de variação intra-individual = 0,30, ou seja, espera-se um aumento, no mínimo, de 30% no fluxo microvascular após o uso de SIL.

A análise prospectiva da potência estatística foi baseada em dados prévios de estudo de nosso grupo de pesquisa, utilizando a técnica de fluxometria laser *speckle* ⁽¹³⁹⁾. Neste estudo foram evidenciadas diferenças de 30% no aumento da condutância microvascular peniana, induzido pela iontoforese cutânea de acetilcolina, após dose única de sildenafil de 100 mg: de 0,59 para 0,77 UAP/mmHg.

Esta análise indicou que um tamanho amostral de 42 indivíduos teria um poder estatístico de 80% em nível de significância de 5%, para detectar uma diferença de 0,17 UAP/mmHg utilizando um desvio padrão de 0,29 UAP/mmHg.

Os cálculos foram feitos através da fórmula clássica de cálculo de potência estatística:

$$n = f(\alpha, \beta) \cdot \frac{2s^2}{\delta^2}$$

Onde:

α = nível de significância

β = potência do teste

$f(\alpha, \beta)$ = é um valor de função calculado a partir de α e β (neste caso 7,9)

δ = diferença nas médias dos valores que deveria ser possível detectarem

s = valor do desvio padrão de estudo prévios

O grupo de indivíduos normotensos deveria ser constituído de 42 homens, pareados para a mesma faixa etária do grupo de hipertensos.

3.6 Análise Estatística

A análise descritiva apresentou os resultados expressos pela média \pm desvio padrão ou mediana (intervalo interquartil) quando apresentavam distribuição normal (paramétrica) ou não, respectivamente, segundo o teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

A análise inferencial foi composta pelos seguintes testes:

- a) teste t de Student bicaudal não pareado (dados paramétricos) ou teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos) para comparação dos dados clínicos, laboratoriais, medidas da pressão arterial e para a análise da reatividade microvascular entre os grupos de indivíduos normotensos e pacientes hipertensos;
- b) teste t de Student bicaudal pareado (dados paramétricos) ou teste de Wilcoxon (dados não paramétricos) para comparação dos dados obtidos de pressão arterial (MAPA e pressão arterial de consultório), avaliação do IIFE e da reatividade microvascular antes e após tratamento agudo ou crônico com sildenafil ou placebo;
- c) ANOVA para medidas repetidas, juntamente com o teste de comparações múltiplas de Tukey (dados paramétricos) ou teste de Dunn (dados não paramétricos), para verificar se houve aumento de fluxo microvascular após cada um dos seis estímulos com ACh, em relação ao fluxo basal;
- d) os dados qualitativos foram analisados através do teste do Qui-Quadrado (teste exato de Fischer).

O critério de determinação de significância foi o de 5%.

A análise foi processada pelo programa estatístico *Prism version 7.0 (Graph Pad Software Inc. La Jolla, CA, USA)*.

4 RESULTADOS

Os resultados desse estudo serão apresentados em duas partes. Na primeira, serão apresentados os dados em que foi avaliada a resposta aguda das diferentes variáveis analisadas à sildenafil, nos 50 indivíduos normotensos e nos 57 pacientes hipertensos. Na segunda parte, os resultados de 50 pacientes hipertensos, com o objetivo de avaliar o efeito crônico da sildenafil comparado ao placebo.

4.1 Avaliações do efeito agudo do citrato de sildenafil

4.1.1 Dados gerais

O resultado da análise das variáveis clínicas e laboratoriais, tanto dos indivíduos normotensos (grupo referência) quanto dos pacientes hipertensos encontra-se na Tabela 1.

A média da idade dos voluntários foi de $56,3 \pm 4,9$ no grupo referência e de $57,7 \pm 5,8$ nos hipertensos, não havendo diferença estatística entre os grupos ($p=0,17$). Observou-se diferença estatística significativa dos dados antropométricos entre os grupos. Os hipertensos tinham o peso, índice de massa corporal (IMC) e medida da circunferência abdominal maiores em relação aos normotensos, com valores de $p=0,01$, $p=0,003$ e $p=0,0004$, respectivamente. Não houve diferença estatística significativa dos valores de glicemia de jejum entre os grupos ($p=0,32$); no entanto, os resultados dos exames que indicam intolerância à glicose mostraram valores significativamente maiores, no grupo de hipertensos em relação aos normotensos: insulina de jejum ($p=0,01$) e índice HOMA-IR ($p=0,0007$). Quanto ao perfil lipídico, apenas os níveis de triglicérides foram significativamente maiores nos hipertensos em relação aos normotensos ($p=0,04$). Não houve diferença estatística significativa nos valores de colesterol total ($p=0,17$), LDL-C ($p=0,13$) ou HDL-C ($p=0,14$) entre os grupos. Também foram analisados os valores da PCR-us e da microalbuminúria nos dois grupos, encontrando-se apenas as taxas de microalbuminúria significativamente maiores nos hipertensos em relação aos normotensos ($p=0,03$). Não houve diferença estatística quanto aos níveis de creatinina sérica e ácido úrico entre os grupos.

Tabela 1- Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos do grupo de referência e dos pacientes hipertensos

Parâmetros	Grupo referência (n=50)	Hipertensos (n=57)	Valor de p
Idade (anos)	56,3 ± 4,9	57,7 ± 5,8	0,17
Peso (kg)	78,9 ± 12,3	85,3 ± 13,2	0,01
Índice de massa corporal (kg/m ²)	26,6 ± 4,0	29,0 ± 4,2	0,003
Circunferência abdominal (cm)	93,2 ± 9,7	100,3 ± 10,2	0,0004
Glicemia de jejum (mg/dL)	97,8 ± 1,2	99,8 ± 1,5	0,32
Hemoglobina glicada (%)	5,6 (5,1-5,7)	5,6 (5,3-5,8)	0,13
Insulina de jejum (µUI/mL)	7,1 (5,5-9,8)	9,8 (6,3-15,3)	0,01
Índice HOMA-IR	1,7 ± 0,7	2,5 ± 1,3	0,0007
Colesterol total (mg/dL)	211,0 ± 29,7	201,5 ± 40,9	0,17
LDL-C (mg/dL)	136,6 ± 29,3	127,0 ± 35,6	0,13
HDL-C (mg/dL)	43,9 ± 8,8	41,4 ± 8,7	0,14
Triglicérides (mg/dL)	122,5 (85,5-169,3)	152,5 (118,3-203,8)	0,04
Creatinina (mg/dL)	0,9 (0,8-1,0)	0,9 (0,8-1,1)	0,99
Ácido úrico (mg/dL)	5,9 ± 1,2	6,2 ± 1,3	0,19
Microalbuminúria (mg/L)	6,0 (4,0-10,0)	9,0 (5,0-20,0)	0,03
PCR-us	0,16 (0,1-0,3)	0,23 (0,1-0,4)	0,18
PAS de consultório (mmHg)	123,4 ± 8,5	136,7 ± 12,0	<0,0001
PAD de consultório (mmHg)	78,7 ± 6,6	87,0 ± 7,4	<0,0001
IIEF-5	22,0 (18,7-23,0)	17,0 (15,0-19,0)	<0,0001

Legenda: pressão arterial sistólica (PAS); pressão arterial diastólica (PAD); *homeostatic model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR); proteína C reativa ultra sensível (PCR-us); *Simplified International Index of Erectile Function* (IIEF-5).

Nota: os resultados são apresentados como média ± desvio padrão ou mediana (intervalo interquartil) quando apresentam distribuição paramétrica ou não paramétrica, respectivamente (teste de normalidade de Shapiro-Wilk). Os valores de p foram estimados pelo teste t de Student ou teste de Mann-Whitney, quando os valores apresentam distribuição paramétrica ou não paramétrica, respectivamente. Considerou-se como significativo valor $p < 0,05$, com destaque em negrito.

Fonte: A autora, 2019.

Quanto aos valores da pressão arterial sistêmica, registrados no consultório no momento da seleção dos pacientes para o estudo, foram constatados valores significativamente maiores nos hipertensos em relação ao grupo de referência, tanto da pressão arterial sistólica (PAS), quanto da pressão arterial diastólica (PAD); com valor de $p < 0,0001$ para as duas variáveis.

Também teve significado estatístico a análise do escore do Índice Internacional da Função Erétil (IIEF5). O grupo referência apresentou valores significativamente maiores no escore do IIEF5 em relação aos pacientes hipertensos ($p < 0,0001$).

4.1.2 Medicamentos utilizados pelos voluntários do estudo

A Tabela 2 se refere aos medicamentos de ação cardiovascular que eram utilizados pelos voluntários antes da inclusão no estudo. Foi observado que grande parte dos pacientes hipertensos estava em uso de bloqueadores do sistema renina-angiotensina: bloqueadores dos receptores da angiotensina (BRA) (64,9%) ou inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) (22,8%); um número semelhante de pacientes usava bloqueadores dos canais de cálcio (49,1%) e diuréticos (49,1%) e uma quantidade inexpressiva destes estavam em uso de vasodilatadores periféricos (3,5%). Foram excluídos do estudo os indivíduos que faziam uso de anti-hipertensivos das classes dos alfabloqueadores e betabloqueadores. A quantidade de pacientes hipertensos que estavam em uso de estatinas foi de 31,6 %, comparado a 6% do grupo de normotensos (Tabela 2).

Tabela 2 - Medicamentos de ação cardiovascular utilizados pelos normotensos e pacientes hipertensos

Medicamentos	Normotensos (n=50) n (%)	Hipertensos (n=57) n (%)
Bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina II (BRAs)	—	37 (64,9)
Inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECAs)	—	13 (22,8)
Bloqueadores dos canais de cálcio (BCCs)	—	28 (49,1)
Vasodilatador periférico	—	2,0 (3,5)
Diuréticos	—	28 (49,1)
Estatinas	2,0 (6)	18 (31,6)

Fonte: A autora, 2019.

4.1.3 Análise da pressão arterial na sala de exame de fluxometria

O registro da pressão arterial sistólica, diastólica e média realizado na sala de exame de fluxometria microvascular, antes e após a ingestão da dose de 100 mg do citrato de sildenafil por via oral, revelou valores da PA significativamente menores após o uso da sildenafil, tanto nos normotensos, quanto nos pacientes hipertensos (Figuras 8 a 10) (Tabelas 3 e 4).

Os valores da PAS antes da administração da sildenafil foram de 126,0 (122-135) mmHg nos normotensos e 144,6±16,5 mmHg nos hipertensos, sendo significativamente maior nos pacientes hipertensos ($p<0,0001$). Após o uso da sildenafil, os valores da PAS reduziram de forma significativa para 123,5 (115-128) mmHg nos normotensos ($p=0,0003$) e 132,0±11,6 mmHg nos hipertensos ($p<0,0001$), quando comparado aos valores basais (Figura 8) (Tabela 3). Os valores da redução da PAS (delta PAS) foram de -5,4±11,4 mmHg nos normotensos e de -12,1±11,0 mmHg nos hipertensos; $p=0,007$ (Figura 8) (Tabela 4).

Os valores da PAD antes da administração da sildenafil foram de 77,2±8,4 mmHg nos normotensos e 85,8±9,1 mmHg nos hipertensos, sendo significativamente maior nos pacientes hipertensos ($p<0,0001$). Após o uso da sildenafil, os valores da PAD caíram de forma significativa para 73,2±6,7 mmHg nos normotensos ($p=0,001$) e 79,5±8,7 mmHg nos hipertensos ($p<0,0001$), quando comparado aos valores basais (Figura 9) (Tabela 3). Os

valores da redução da PAD (delta PAD) foram de $-4,0 \pm 8,2$ mmHg nos normotensos e $-6,2 \pm 8,1$ mmHg nos hipertensos; $p=0,17$ (Figura 9) (Tabela 4).

Os valores da PAM antes da administração da sildenafil foram de $94,5 \pm 9,3$ mmHg nos normotensos e $105,4 \pm 9,6$ mmHg nos hipertensos. Após o uso da sildenafil, os valores da PAM caíram de forma significativa para $89,9 \pm 7,4$ mmHg nos normotensos ($p=0,0003$) e $97,2 \pm 9,0$ mmHg nos hipertensos ($p<0,0001$), quando comparado aos valores basais, persistindo significativamente maior nos pacientes hipertensos; $p<0,0001$ (Figura 10) (Tabela 3). Os valores da redução da PAM (delta PAM) foram de $-4,6 \pm 8,3$ mmHg nos normotensos e $-8,2 \pm 14,6$ mmHg nos hipertensos; $p=0,13$ (Figura 10) (Tabela 4).

Tabela 3 - Medidas das PAS, PAD e PAM na sala de exame de fluxometria, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos (efeito agudo de SIL)

MEDIDAS DA PA	PRÉ-SIL N	PÓS-SIL N	<i>p</i>	PRÉ-SIL H	PÓS-SIL H	<i>p</i>
PAS (mmHg)	126,0 (122-135)	123,5 (115-128)	0,0003	$144,6 \pm 16,5$	$132,0 \pm 11,6$	<0,0001
PAD (mmHg)	$77,2 \pm 8,4$	$73,2 \pm 6,7$	0,001	$85,8 \pm 9,1$	$79,5 \pm 8,7$	<0,0001
PAM (mmHg)	$94,5 \pm 9,3$	$89,9 \pm 7,4$	0,0003	$105,4 \pm 9,6$	$97,2 \pm 9,0$	<0,0001

Legenda: pressão arterial sistólica (PAS); pressão arterial diastólica (PAD); pressão arterial média (PAM); antes do uso da sildenafil nos normotensos (PRÉ-SIL N); 1 h após o uso de 100 mg da sildenafil nos normotensos (PÓS-SIL N); antes do uso da sildenafil nos hipertensos (PRÉ-SIL H); 1 h após o uso de 100 mg da sildenafil nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: A autora, 2019.

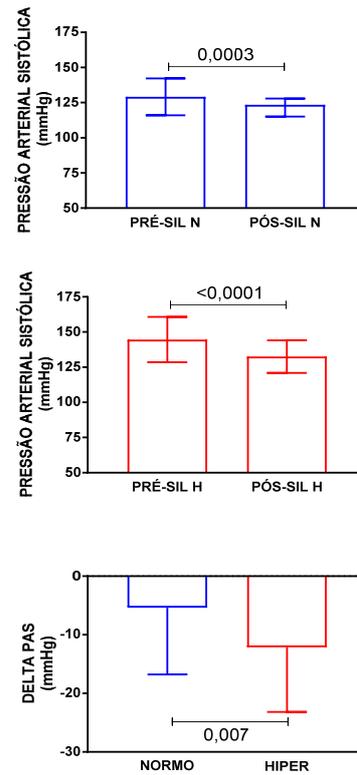
Tabela 4 - Delta das PAS, PAD e PAM medidas na sala de exame de fluxometria, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos (efeito agudo de SIL)

DELTA DA PA	PÓS-PRÉ SIL N	PÓS-PRÉ SIL H	<i>p</i>
PAS (mmHg)	$-5,4 \pm 11,4$	$-12,1 \pm 11,0$	0,007
PAD (mmHg)	$-4,0 \pm 8,2$	$-6,2 \pm 8,1$	0,17
PAM (mmHg)	$-4,6 \pm 8,3$	$-8,2 \pm 14,6$	0,13

Legenda: diferença dos valores da redução (delta) da pressão arterial de antes para depois do uso da sildenafil nos normotensos (PÓS-PRÉ SIL N); diferença dos valores da redução (delta) da pressão arterial de antes para depois do uso da sildenafil nos hipertensos (PÓS-PRÉ SIL H).

Fonte: A autora, 2019.

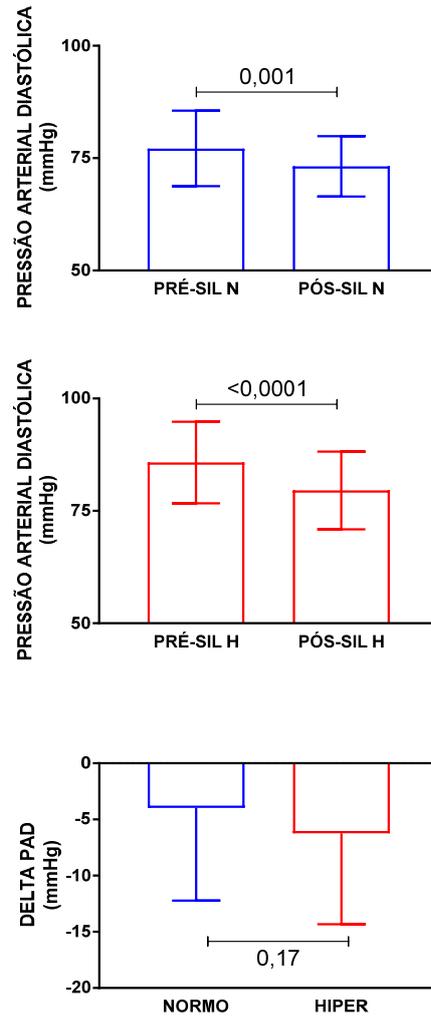
Figura 8 - Variação da pressão arterial sistólica antes e após 100 mg de SIL



Legenda: antes de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H); após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H); diferença da pressão arterial sistólica de antes para depois do uso de SIL (DELTA PAS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

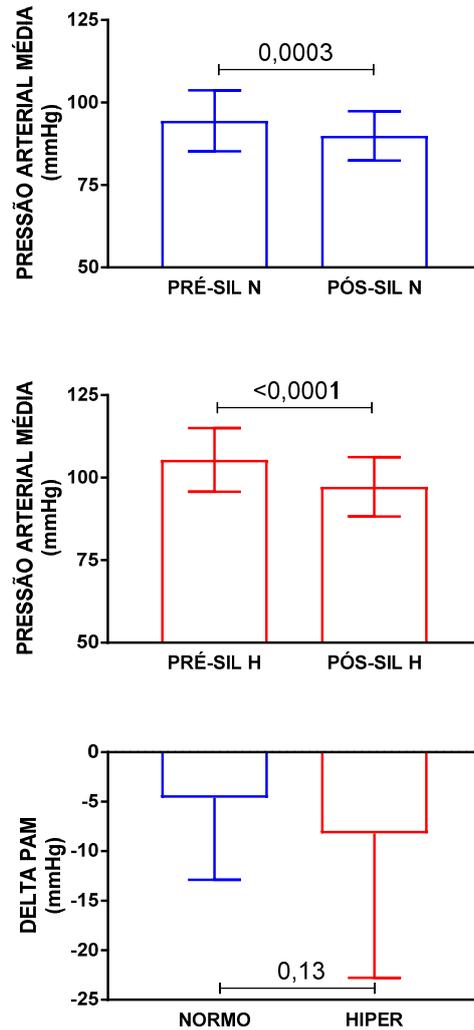
Figura 9 - Variação da pressão arterial diastólica antes e após 100 mg de SIL



Legenda: antes de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H); após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H); diferença da pressão arterial diastólica de antes para depois do uso de SIL (DELTA PAD).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 10 - Variação da pressão arterial média antes e após 100 mg de SIL



Legenda: antes de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H); após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H); diferença da pressão arterial média de antes para depois do uso de SIL (DELTA PAM).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.1.4 Análise dos dados da fluxometria microvascular após uso de 100 mg de SIL (efeito agudo)

4.1.4.1 Avaliação da reatividade microvascular peniana

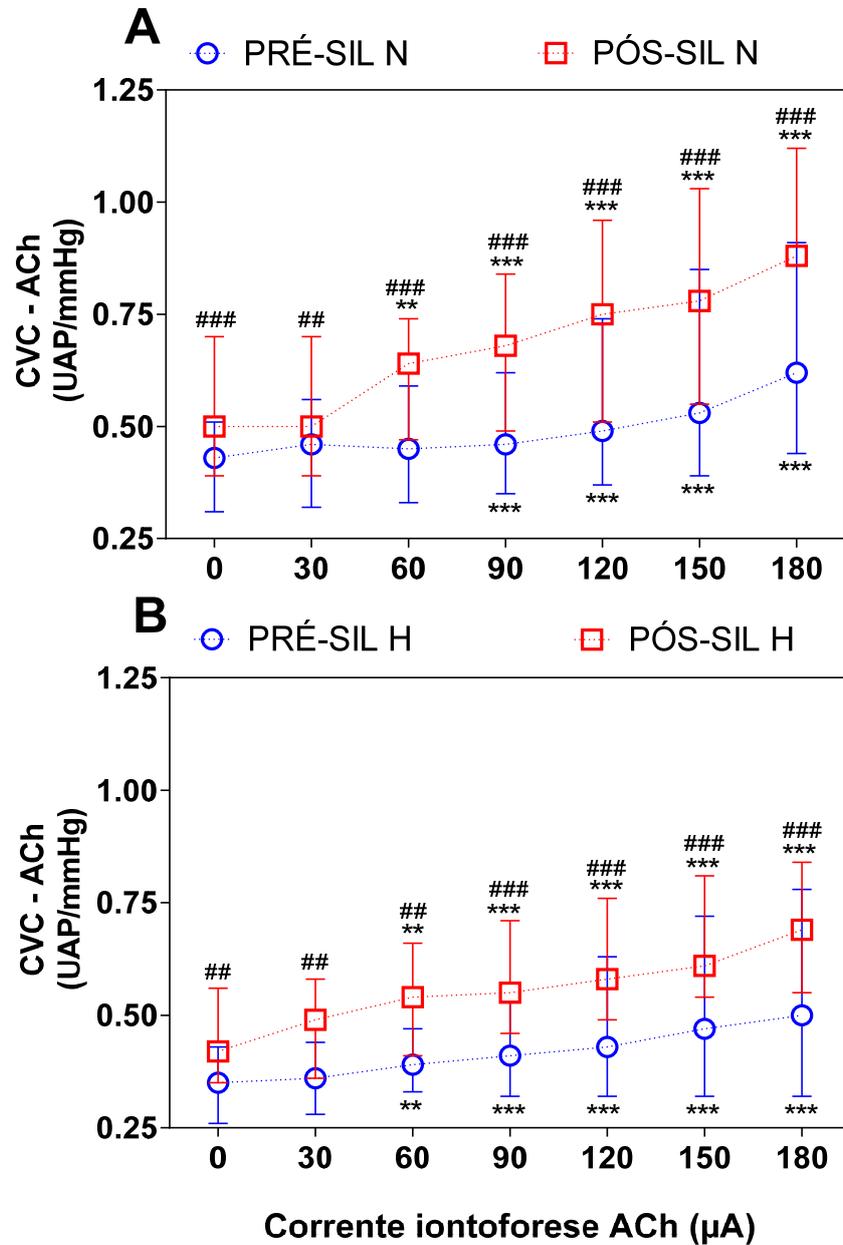
A microiontoforese cutânea de acetilcolina (ACh), no pênis, induziu aumentos crescentes e significativos da condutância vascular cutânea (CVC), antes e após a administração do citrato de sildenafil, sendo significativamente maior após a administração de SIL, tanto nos indivíduos normotensos, quanto nos pacientes hipertensos (Figura 11).

Os valores basais da CVC, no pênis, antes de SIL, foram de $0,46 \pm 0,15$ e $0,40 \pm 0,15$ unidades arbitrárias de perfusão por mmHg (UAP/mmHg) nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,02$). Após o uso da sildenafil, estes valores foram de $0,56$ ($0,42-0,68$) e $0,50 \pm 0,18$ UAP/mmHg nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,04$). A CVC basal peniana aumentou significativamente após SIL, nos normotensos ($p=0,0002$), assim como nos pacientes hipertensos ($p<0,0001$) (Figuras 11 e 12) (Tabela 5).

Os valores de pico da CVC durante a iontoforese de ACh no pênis, antes do uso da sildenafil, foram de $0,73 \pm 0,27$ e $0,52$ ($0,35-0,69$) UAP/mmHg nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,002$). Após a administração de SIL, os valores de pico da CVC, durante a iontoforese de ACh no pênis, foram de $0,87$ ($0,66-1,09$) e $0,68$ ($0,54-0,87$) UAP/mmHg nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,005$). Nos indivíduos normotensos, os valores de pico da CVC peniana, resultante da iontoforese de ACh, após SIL, foram significativamente maiores do que antes do uso de SIL ($p=0,0001$); o mesmo ocorrendo com os pacientes hipertensos ($p=0,004$) (Figuras 11 e 13) (Tabela 5).

Os valores da área sob a curva (ASC) durante a iontoforese de ACh no pênis, antes do uso da sildenafil, foram de 26.844 ± 9.691 e 25.081 ($17.172-30.545$) unidades arbitrárias de perfusão por segundo (UAP/s) nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,27$). Após a administração de SIL, os valores da ASC, durante a iontoforese de ACh no pênis, foram de 31.066 ($23.114-35.459$) e 27.656 ($19.800-36.332$) UAP/s nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,41$). Nos indivíduos normotensos, os valores da ASC peniana, resultante da iontoforese de ACh, após SIL, foram significativamente maiores do que antes do uso de SIL ($p=0,001$); o mesmo ocorrendo com os pacientes hipertensos ($p=0,001$) (Figura 14) (Tabela 5).

Figura 11 - Efeitos da microiontoforose de acetilcolina no pênis



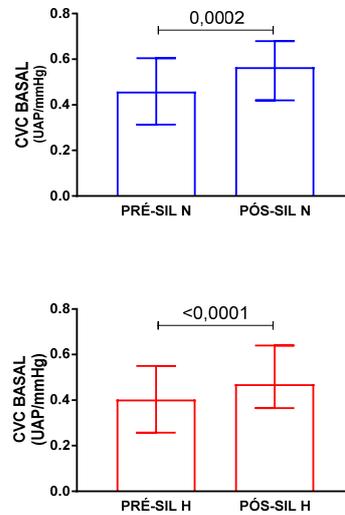
Legenda: condutância microvascular cutânea (CVC) [expressa em unidades arbitrárias de perfusão (UAP), dividida pela pressão arterial média em mmHg (UAP/mmHg)] nos normotensos (N) (A, n=50) ou nos pacientes hipertensos (H) (B, n=57); antes (PRÉ SIL) e após (PÓS SIL) a administração oral de 100 mg de sildenafil.

** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ comparados aos valores basais;

$p < 0,01$ e ### $p < 0,001$ comparados aos PRÉ-SIL.

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

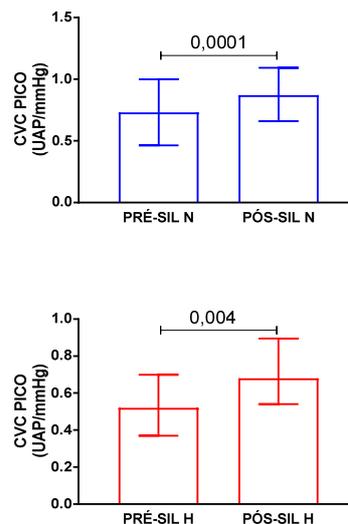
Figura 12 - Análise do fluxo microvascular basal peniano após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.



Legenda: condutância vascular cutânea basal (CVC BASAL) expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso da sildenafil nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg da sildenafil nos normotensos (PÓS-SIL N); antes do uso da sildenafil nos hipertensos (PRÉ-SIL H) e após 100 mg da sildenafil nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

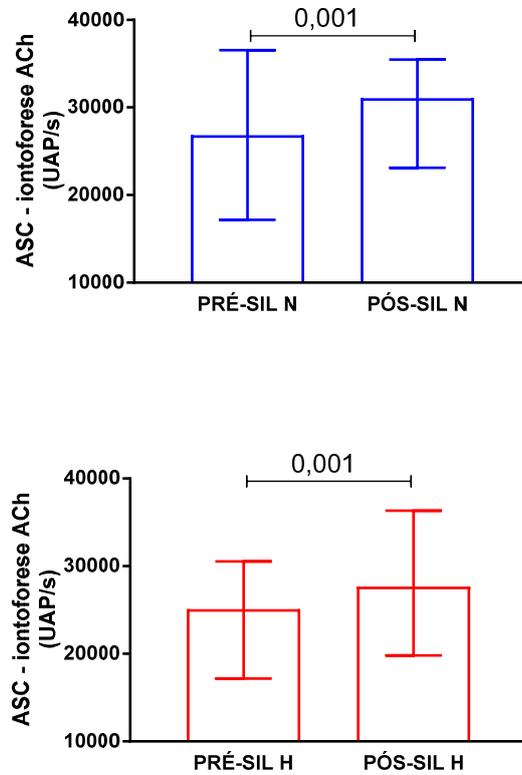
Figura 13 - Análise do pico da CVC no pênis após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos.



Legenda: valor de pico da condutância vascular cutânea (CVC PICO) expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso da sildenafil nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg da sildenafil nos normotensos (PÓS-SIL N); antes da sildenafil nos hipertensos (PRÉ-SIL H) e após 100 mg da sildenafil nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 14- Análise da área sob a curva, no pênis, após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos



Legenda: área sob a curva da iontoforese de ACh (ASC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por segundo (UAP/s); antes do uso da sildenafil nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg da sildenafil nos normotensos (PÓS-SIL N); antes da sildenafil nos hipertensos (PRÉ-SIL H); após 100 mg da sildenafil nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Tabela 5 - Análise dos parâmetros da fluxometria microvascular peniana, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos (efeito agudo de SIL)

ANÁLISE DA FLUXOMETRIA	PRÉ-SIL N	PÓS-SIL N	<i>p</i>	PRÉ-SIL H	PÓS-SIL H	<i>p</i>
CVC BASAL UAP/mmHg	0,46 ± 0,15	0,56 (0,42-0,68)	0,0002	0,40 ± 0,15	0,50 ± 0,18	<0,0001
CVC PICO UAP/mmHg	0,73 ± 0,27	0,87 (0,66-1,09)	0,0001	0,52 (0,35-0,69)	0,68 (0,54-0,87)	0,004
ASC UAP/s	26.844 ± 9.691	31.066 (23.114-35.459)	0,001	25.081 (17.172-30.545)	27.656 (19.800-36.332)	0,001
ANÁLISE DA FLUXOMETRIA	PRÉ-SIL N	PRÉ-SIL H	<i>p</i>	PÓS-SIL N	PÓS-SIL H	<i>p</i>
CVC BASAL UAP/mmHg	0,46 ± 0,15	0,40 ± 0,15	0,02	0,56 (0,42-0,68)	0,50 ± 0,18	0,04
CVC PICO UAP/mmHg	0,73 ± 0,27	0,52 (0,35-0,69)	0,002	0,87 (0,66-1,09)	0,68 (0,54-0,87)	0,005
ASC UAP/s	26.844 ± 9.691	25.081 (17.172-30.545)	0,27	31.066 (23.114-35.459)	27.656 (19.800-36.332)	0,41

Legenda: condutância vascular cutânea basal (CVC BASAL) expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); valor de pico da condutância vascular cutânea (CVC PICO) expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); área sob a curva da iontoforese de ACh (ASC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por segundo (UAP/s); antes do uso de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H) e após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: A autora, 2019.

4.1.4.2 Análise da reatividade microvascular sistêmica

A microiontoforese cutânea de acetilcolina (ACh), na pele do antebraço, também induziu aumentos crescentes e significativos na CVC antes e após a administração de SIL, quando comparado aos valores basais; no entanto o aumento nos valores da CVC, após a administração de SIL, quando comparados aos valores da iontoforese de ACh antes do uso de SIL, foram significativos nos pacientes hipertensos, mas não nos indivíduos normotensos (Figura 15).

Os valores basais da CVC, no antebraço, antes de SIL, foram de 0,26±0,06 e 0,24 (0,2-0,29) UAP/mmHg nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente (*p*=0,14). Após o uso da sildenafil, estes valores foram de 0,25±0,06 e 0,26±0,08 UAP/mmHg nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente (*p*=0,58). O aumento da CVC basal, no antebraço, não foi

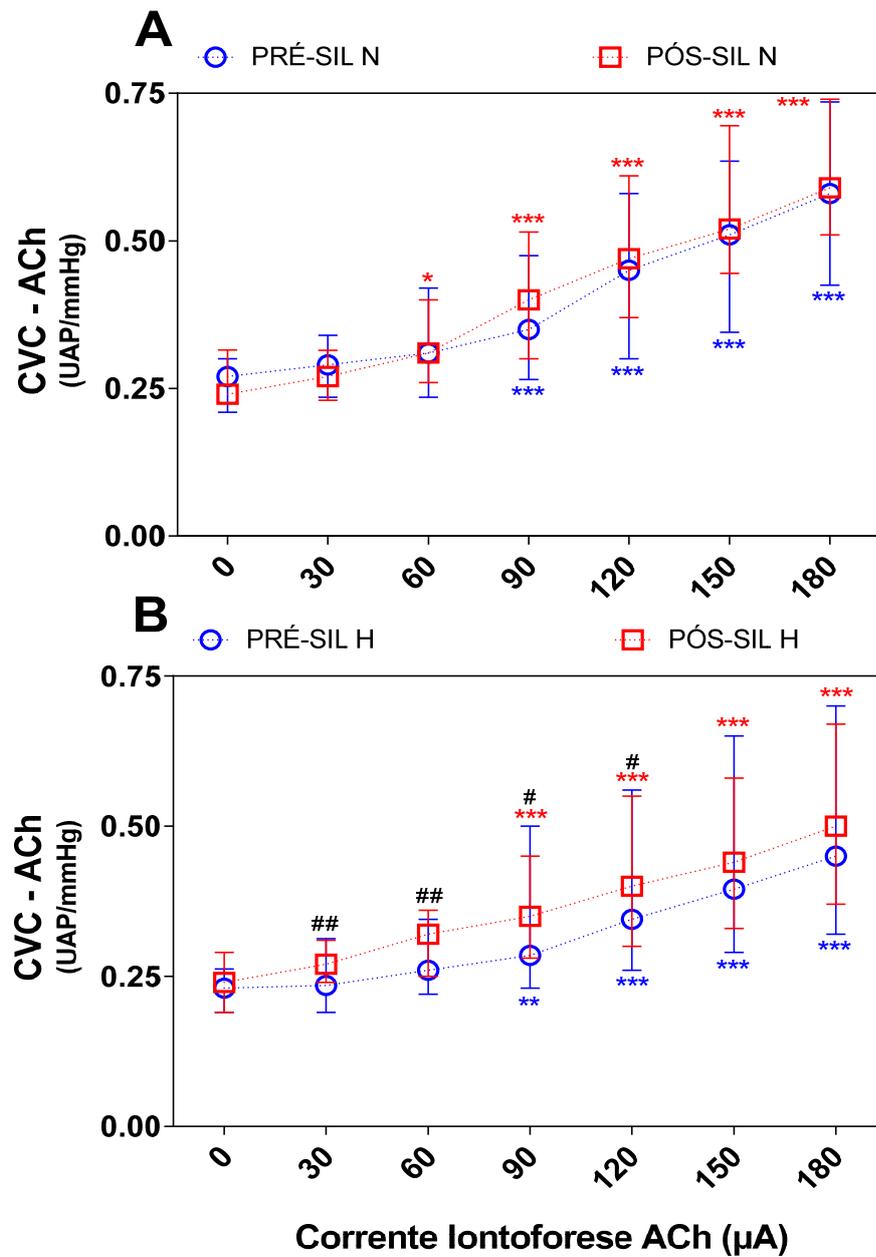
significativo após SIL nos normotensos ($p=0,21$), assim como nos pacientes hipertensos ($p=0,18$) (Figura 15 e 16) (Tabela 6).

Os valores de pico da CVC durante a iontoforese de ACh no antebraço, antes do uso da sildenafil, foram de $0,56\pm 0,17$ e $0,49\pm 0,17$ UAP/mmHg nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,06$). Após a administração de SIL, os valores de pico da CVC, durante a iontoforese de ACh no antebraço, foram de $0,59\pm 0,16$ e $0,49$ ($0,36-0,68$) UAP/mmHg nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,03$). Os valores de pico da CVC sistêmica, resultante da iontoforese de ACh, após SIL, não foram significativamente diferentes nos normotensos ($p=0,24$), assim como nos pacientes hipertensos ($p=0,80$) (Figura 15 e 17) (Tabela 6).

Os valores da área sob a curva (ASC) durante a iontoforese de ACh no antebraço, antes do uso da sildenafil, foram de 19.089 ± 5.039 e 19.474 ± 5.995 UAP/s nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,65$). Após a administração de SIL, os valores da ASC, durante a iontoforese de ACh no antebraço, foram de 19.030 ± 4.978 e 18.254 ($14.249-22.976$) UAP/s nos normotensos e nos hipertensos, respectivamente ($p=0,89$). Nos indivíduos normotensos, os valores da ASC sistêmica, resultante da iontoforese de ACh, após SIL, não foram significativamente diferentes em relação aos valores antes do uso de SIL ($p=0,93$); o mesmo ocorrendo com os pacientes hipertensos ($p=0,70$) (Figura 18) (Tabela 6).

A análise da hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO), no antebraço, revelou um valor de pico máximo da HRPO de $0,81\pm 0,18$ e $0,77\pm 0,17$ UAP/mmHg, antes e após o uso de SIL, respectivamente, nos normotensos ($p=0,09$) e de $0,68\pm 0,17$ antes de SIL e $0,68\pm 0,18$ após o uso de SIL nos hipertensos ($p=0,82$) (Figura 19) (Tabela 6). O valor do delta da HRPO antes de SIL, nos normotensos, foi de $0,47\pm 0,16$ UAP/mmHg e após o uso de SIL foi de $0,43\pm 0,15$ UAP/mmHg ($p=0,03$). Os valores do delta da HRPO nos hipertensos foram de $0,38\pm 0,14$ e $0,35\pm 0,15$ UAP/mmHg antes e após o uso da sildenafil, respectivamente ($p=0,04$) (Figura 20) (Tabela 6).

Figura 15 - Efeitos da microiontoforose de acetilcolina no antebraço



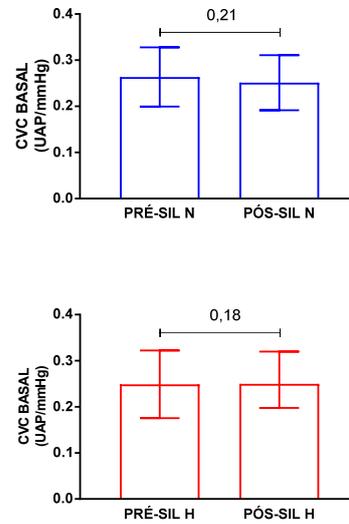
Legenda: condutância microvascular cutânea (CVC) [expressa em UAP, unidades arbitrárias de perfusão, dividida pela pressão arterial média em mmHg (UAP/mmHg)] nos normotensos (N) (A, n=50) ou nos pacientes hipertensos (H) (B, n=57); antes (PRÉ SIL) e após (PÓS SIL) a administração oral de 100 mg de SIL.

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ comparados aos valores basais;

$p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ comparados aos valores PRÉ-SIL.

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

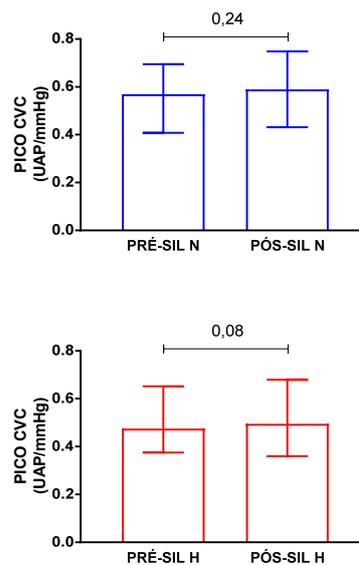
Figura 16 - Análise do fluxo microvascular basal no antebraço após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e nos hipertensos



Legenda: condutância vascular cutânea basal (CVC BASAL) expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H); após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

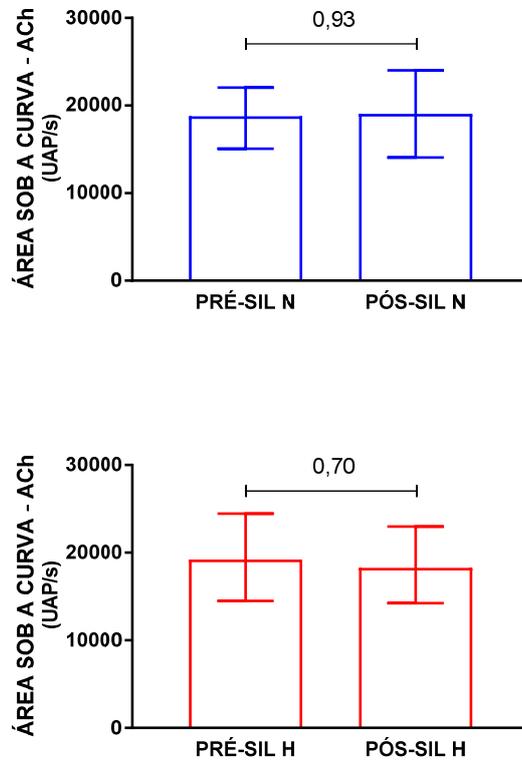
Figura 17 - Análise do pico da CVC no antebraço, após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos



Legenda: valor de pico da condutância vascular cutânea (CVC PICO) expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H) e após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

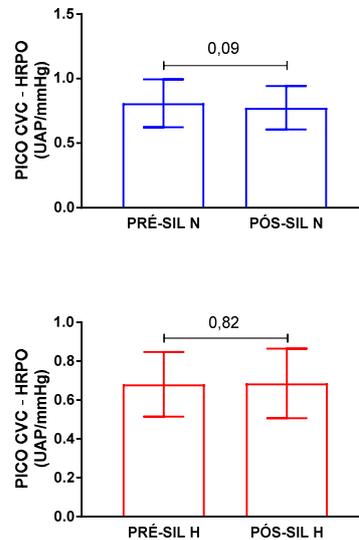
Figura 18- Análise da área sob a curva, no antebraço, após estímulo com ACh, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos



Legenda: área sob a curva da iontoforese de ACh (ASC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por segundo (UAP/s); antes do uso de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H) e após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

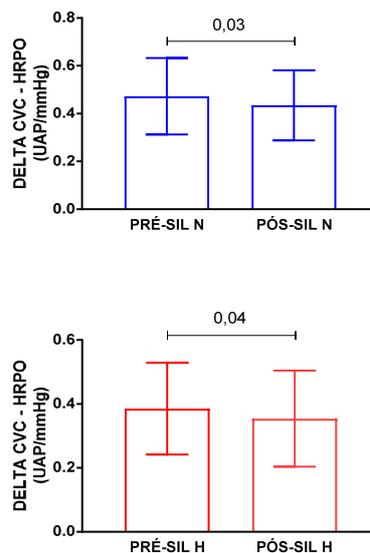
Figura 19 - Análise do pico máximo da hiperemia reativa pós-oclusiva, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos



Legenda: pico máximo da condutância vascular cutânea medida pela técnica de hiperemia reativa pós-oclusiva (PICO CVC – HRPO), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H) e após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 20 - Análise do delta da hiperemia reativa pós-oclusiva, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos



Legenda: valor do delta da condutância vascular cutânea medida pela técnica de hiperemia reativa pós-oclusiva (DELTA CVC – HRPO), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H) e após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Tabela 6 - Análise dos parâmetros da fluxometria microvascular sistêmica, antes e 1 h após 100 mg de SIL, nos normotensos e hipertensos (efeito agudo de SIL)

ANÁLISE DA FLUXOMETRIA	PRÉ-SIL N	PÓS-SIL N	<i>p</i>	PRÉ-SIL H	PÓS-SIL H	<i>p</i>
CVC BASAL (UAP/mmHg)	0,26 ± 0,06	0,25 ± 0,06	0,21	0,24 (0,20-0,29)	0,26 ± 0,08	0,18
PICO CVC (UAP/mmHg)	0,56 ± 0,17	0,59 ± 0,16	0,24	0,49 ± 0,17	0,49 (0,36-0,68)	0,80
ASC (UAP/s)	19.089 ± 5.039	19.030 ± 4.978	0,93	19.474 ± 5.995	18.254 (14.249-22.976)	0,70
HRPO PICO (UAP/mmHg)	0,81 ± 0,18	0,77 ± 0,17	0,09	0,68 ± 0,17	0,68 ± 0,18	0,82
HRPO DELTA (UAP/mmHg)	0,47 ± 0,16	0,43 ± 0,15	0,03	0,38 ± 0,14	0,35 ± 0,15	0,04
ANÁLISE DA FLUXOMETRIA	PRÉ-SIL N	PRÉ-SIL H	<i>p</i>	PÓS-SIL N	PÓS-SIL H	<i>p</i>
CVC BASAL (UAP/mmHg)	0,26 ± 0,06	0,24 (0,20-0,29)	0,14	0,25 ± 0,06	0,26 ± 0,08	0,58
PICO CVC (UAP/mmHg)	0,56 ± 0,17	0,49 ± 0,17	0,06	0,59 ± 0,16	0,49 (0,36-0,68)	0,03
ASC (UAP/s)	19.089 ± 5.039	19.474 ± 5.995	0,65	19.030 ± 4.978	18.254 (14.249-22.976)	0,89

Legenda: condutância vascular cutânea basal (CVC BASAL) expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); valor de pico da condutância vascular cutânea (CVC PICO), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); área sob a curva da iontoforese de ACh (ASC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por segundo (UAP/s); pico máximo da CVC medida pela técnica de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO PICO), em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); valor do delta da CVC medida pela técnica de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO DELTA), em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg);); antes do uso de SIL nos normotensos (PRÉ-SIL N); após 100 mg de SIL nos normotensos (PÓS-SIL N); antes de SIL nos hipertensos (PRÉ-SIL H) e após 100 mg de SIL nos hipertensos (PÓS-SIL H).

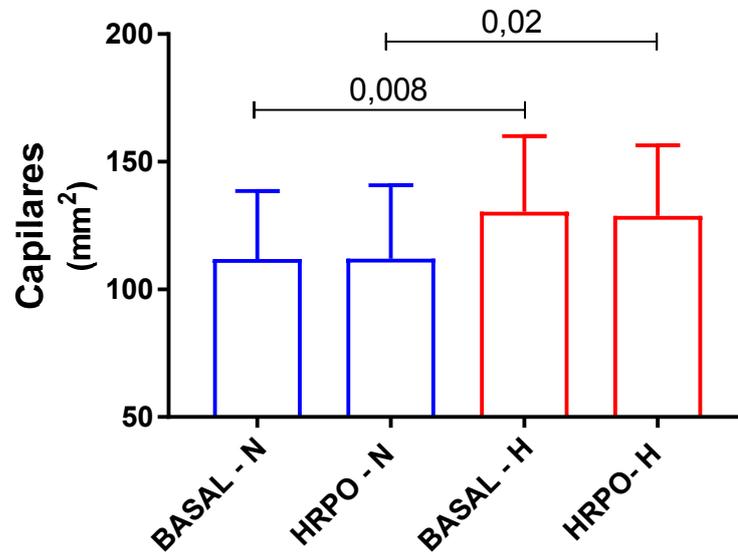
Fonte: A autora, 2019.

4.1.5 Análise da capilaroscopia basal e após HRPO, nos normotensos e hipertensos, antes do uso da sildenafil

Houve diferença estatisticamente significativa na densidade capilar basal dos pacientes hipertensos tratados em relação aos normotensos. A densidade basal nos hipertensos foi de 130,4±29,63 capilares/mm² e nos normotensos de 111,9±26,66 capilares/mm²; *p*=0,008. A análise da densidade capilar, após a realização da HRPO, mostrou comportamento

semelhante; a densidade capilar foi significativamente maior nos hipertensos do que nos normotensos ($128,8 \pm 27,61$ vs. $112,1 \pm 28,77$ capilares/ mm^2); $p=0,02$ (Figura 21).

Figura 21- Capilaroscopia basal e após HRPO nos normotensos e hipertensos



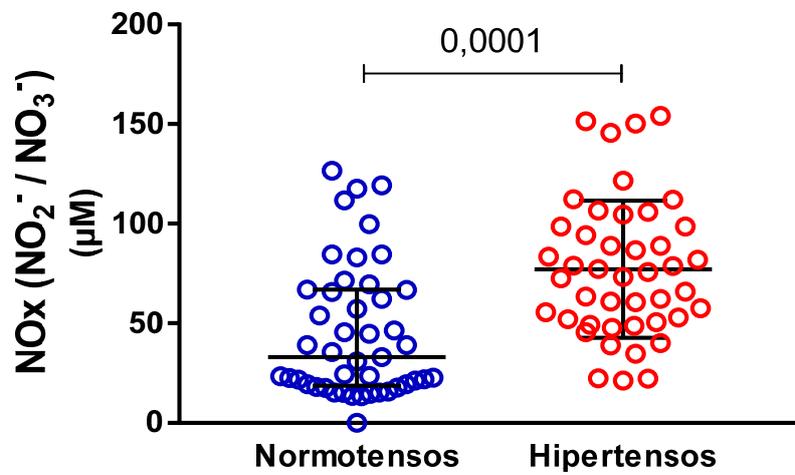
Legenda: densidade capilar basal nos normotensos (BASAL-N), expressa em capilares/ mm^2 ; densidade capilar após teste de HRPO nos normotensos (HRPO-N); densidade capilar basal nos hipertensos (BASAL-H); densidade capilar após teste de HRPO nos hipertensos (HRPO-H).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.1.6 Avaliação dos níveis plasmáticos dos metabólitos do óxido nítrico (NOx)

As concentrações plasmáticas dos NOx ($\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$), medida nos pacientes hipertensos ($77,16 \pm 34,46 \mu\text{M}$), mostraram-se significativamente maiores do que nos indivíduos normotensos que foi de $33,09$ ($18,73-66,85$) μM ; $p < 0,0001$ (Figura 22).

Figura 22 - Análise das concentrações plasmáticas basal dos NOx nos normotensos e nos hipertensos



Legenda: metabólitos do óxido nítrico (NOx); nitrito (NO₂⁻)/nitrito (NO₃⁻).
 Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.2 Avaliação do efeito crônico do citrato de sildenafila

4.2.1 Dados gerais

A análise das variáveis clínicas e laboratoriais dos pacientes hipertensos (n=50), que foram randomizados para tratamento em uso contínuo com SIL ou placebo, está descrita na Tabela 7.

Tabela 7 - Características clínicas e laboratoriais dos pacientes hipertensos (n=50)

Parâmetros	Hipertensos (n=50)
Idade (anos)	57,4 ± 5,6
Peso (kg)	85,8 ± 13,5
Índice de massa corporal (kg/m ²)	29,0 ± 4,2
Circunferência abdominal (cm)	100,2 ± 10,4
Glicemia de jejum (mg/dL)	99,1 ± 1,4
Hemoglobina glicada (%)	5,6 ± 0,4
Insulina de jejum (µUI/mL)	9,9 (6,5-15,5)
Índice HOMA-IR	2,3 (1,5-3,5)
Colesterol total (mg/dL)	196,5 ± 39,6
LDL-C (mg/dL)	122,8 ± 33,9
HDL-C (mg/dL)	40,0 (35,0-45,0)
Triglicérides (mg/dL)	155,0 (116,8-204,8)
Creatinina (mg/dL)	0,9 (0,8-1,1)
Ácido úrico (mg/dL)	6,1 ± 1,3
Microalbuminúria (mg/L)	9,0 (5,0-17,9)
PCR-us	0,22 (0,1-0,4)
IIEF-5	18,0 (16,0-20,0)

Legenda: *homeostatic model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR); (PCR-us) proteína C reativa ultra sensível (PCR-us); *Simplified International Index of Erectile Function* (IIEF-5).

Nota: Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão ou mediana (intervalo interquartil) quando apresentam distribuição paramétrica ou não paramétrica, respectivamente (teste de normalidade de Shapiro-Wilk).

Fonte: A autora, 2019.

4.2.2 Medicamentos utilizados durante o período de avaliação no estudo

A Tabela 8 se refere aos medicamentos de ação cardiovascular que eram utilizados pelos 50 voluntários hipertensos antes da inclusão e que foram mantidos durante todo o período de avaliação do estudo.

Observou-se um número expressivo de pacientes hipertensos que estavam em uso de bloqueadores do sistema renina-angiotensina: bloqueadores dos receptores da angiotensina

(BRA) (66%) ou inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) (22%); seguidos de bloqueadores dos canais de cálcio (52%), diuréticos (48%) e vasodilatadores periféricos (6%). Foram excluídos do estudo os pacientes que estavam em uso de fármacos anti-hipertensivos das classes dos alfabloqueadores e betabloqueadores. A média de medicamentos anti-hipertensivos utilizados por paciente foi de 1,9 classes diferentes de anti-hipertensivos. A quantidade de pacientes hipertensos que estavam em uso de estatinas foi de 32 %.

Tabela 8 - Medicamentos de ação cardiovascular nos pacientes hipertensos

Medicamentos	Hipertensos (n=50) n (%)
Bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina II (BRA)	33 (66)
Inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA)	11 (22)
Bloqueadores dos canais de cálcio (BCC)	26 (52)
Vasodilatador periférico	2,0 (6)
Diuréticos	24 (48)
Estatinas	16 (32)

Fonte: A autora, 2019.

4.2.3 Análise da pressão arterial no consultório e na MAPA após cada tratamento

A Tabela 9 contém o registro das pressões arteriais medidas no consultório e na MAPA, nos hipertensos, antes e após o uso de sildenafil na dose de 50 mg duas vezes ao dia por 30 dias ou placebo.

Tabela 9 - Medidas da PA no consultório e na MAPA após cada etapa de tratamento nos hipertensos (n= 50) (efeito crônico de SIL)

MEDIDAS DA PA	PLA-PRÉ	PLA-PÓS	<i>p</i>	SIL-PRÉ	SIL-PÓS	<i>p</i>
PAS CONSULTÓRIO	136 (130,8-145)	134,7 ± 13,0	0,23	136 (130-144,3)	131,5 (119-139,3)	0,02
PAD CONSULTÓRIO	86,3 ± 7,9	85,6 ± 8,4	0,51	86,8 ± 7,5	81,4 ± 9,4	<0,0001
PAS 24 h	130 (125,8-135,3)	128,5 (124,5-136,8)	0,39	129 (123,5-134)	127,9 ± 10,36	0,16
PAD 24 h	84,4 ± 7,8	83,5 ± 8,9	0,27	83,5 ± 8,9	79,9 ± 8,2	0,0003
PAS VIGÍLIA	132,5 (128-138)	131 (125,8-140)	0,55	132,5 ± 10,9	130,6 ± 10,6	0,19
PAD VIGÍLIA	86,7 ± 8,2	85,7 ± 9,1	0,25	85,5 ± 9,6	82,4 ± 8,6	0,03
PAS SONO	121,1 ± 10,2	116,5 (110,8-127,3)	0,61	119 ± 12,4	113,5 (109-122)	0,09
PAD SONO	74,3 ± 8,9	74,2 ± 9,5	0,92	73,2 ± 9,8	68 (63-75,2)	0,002

Legenda: pressão arterial sistólica (PAS); pressão arterial diastólica (PAD); antes do tratamento com placebo (PLA-PRÉ); após o tratamento por 30 dias com placebo (PLA-PÓS); antes do tratamento com sildenafil (SIL-PRÉ); (SIL-PÓS) após o tratamento por 30 dias com sildenafil (SIL-PÓS).

Fonte: A autora, 2019.

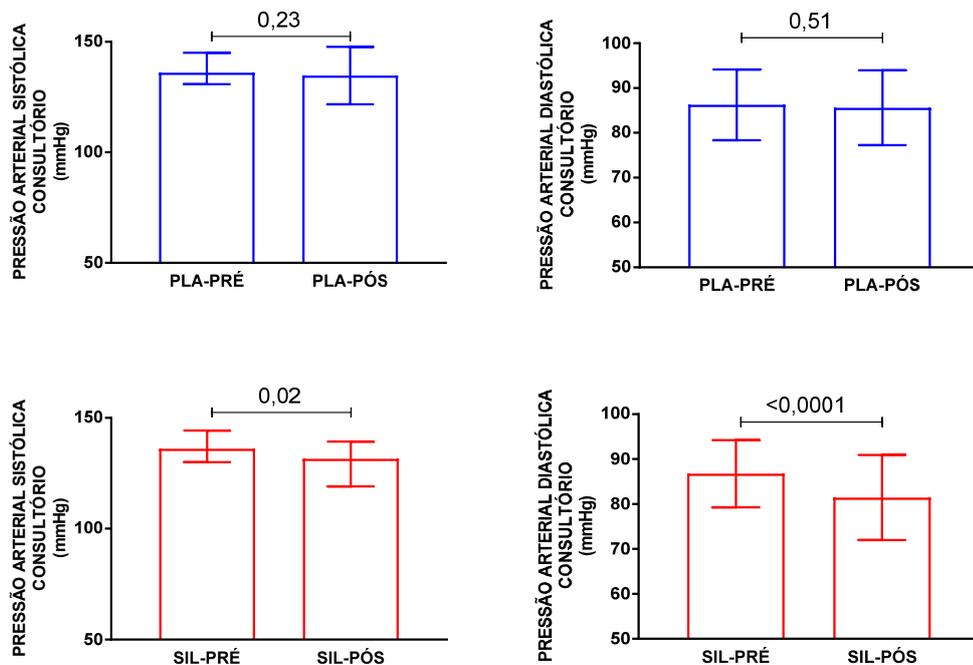
4.2.3.1 Análise da pressão arterial no consultório

Registrou-se uma redução significativa da pressão arterial sistólica; $p=0,02$ e da pressão arterial diastólica; $p<0,0001$, após os 30 dias de tratamento com sildenafil, mas não com placebo; $p=0,23$ e $0,51$ para PAS e PAD, respectivamente (Figura 23).

A média da redução (delta) da PAS, medida no consultório, após os 30 dias do uso do placebo, foi de $-2,42 \pm 12,54$ mmHg e de $-4,98 \pm 14,89$ mmHg após o tratamento com SIL; $p=0,35$. O delta de redução da PAD foi de $-0,64 \pm 6,81$ mmHg após o placebo e de $-5,32 \pm 7,91$ mmHg após o tratamento com a sildenafil; $p=0,003$, configurando uma redução significativa

da PAD, medida no consultório, após o tratamento com SIL em relação ao uso do placebo (Figura 24).

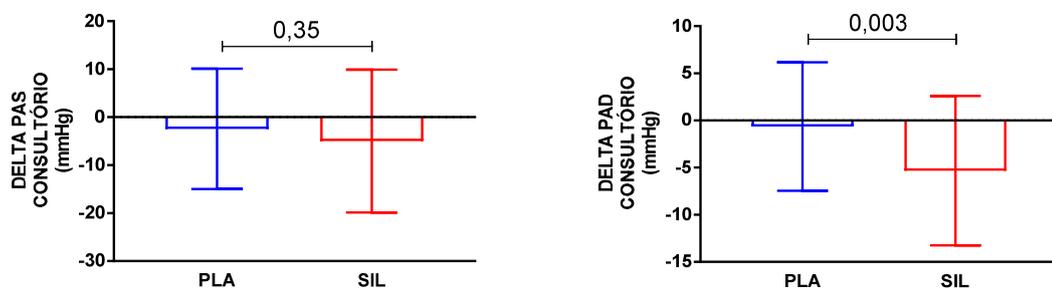
Figura 23 - Variação da PAS e PAD de consultório antes e após SIL ou placebo



Legenda: antes do tratamento com placebo (PLA-PRÉ); após o tratamento por 30 dias com placebo (PLA-PÓS); antes do tratamento com sildenafil (SIL-PRÉ); (SIL-PÓS) após o tratamento por 30 dias com sildenafil (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 24 - Delta da PAS e PAD de consultório após tratamento com SIL ou placebo



Legenda: valor de redução da pressão arterial sistólica após 30 dias do uso de placebo (PLA) (DELTA PAS) ou sildenafil (SIL); valor de redução da pressão arterial diastólica após 30 dias do uso de placebo (PLA) ou sildenafil (SIL) (DELTA PAD).

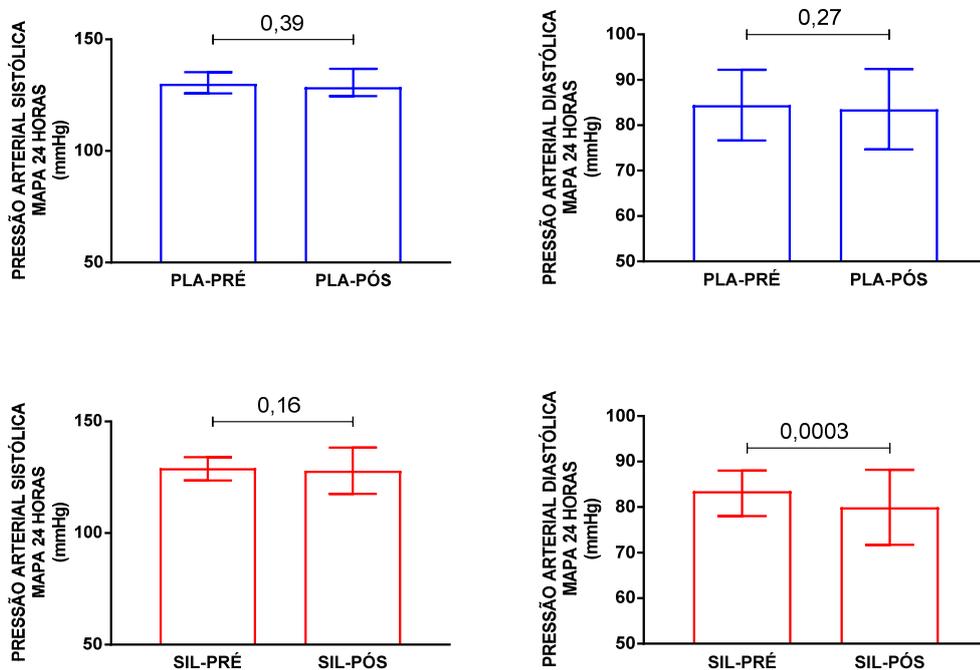
Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.2.3.2 Análise da pressão arterial de 24 h pela MAPA

Não houve redução significativa dos níveis de PAS de 24h registrados na MAPA, nem após o uso do placebo; $p=0,39$, nem após o tratamento com sildenafil; $p=0,16$. No entanto, observou-se uma queda significativa da PAD de 24 h, medida pela MAPA, após o tratamento com SIL; $p=0,0003$, mas não após o uso do placebo; $p=0,27$ (Tabela 9 e Figura 25).

O delta de redução da PAS de 24 h, medida na MAPA, após os 30 dias do uso do placebo foi de $-1,12 \pm 9,17$ mmHg e de $-2,22 \pm 9,74$ mmHg após o tratamento com SIL; $p=0,52$. Já o delta de redução da PAD foi de $-0,88 \pm 5,69$ mmHg após o placebo e de $-3,56 \pm 6,54$ mmHg após a sildenafil; $p=0,01$ (Figura 26). Estes resultados revelam uma redução estatisticamente significativa da PAD de 24h, avaliada pela MAPA, após o tratamento com a sildenafil em relação ao placebo.

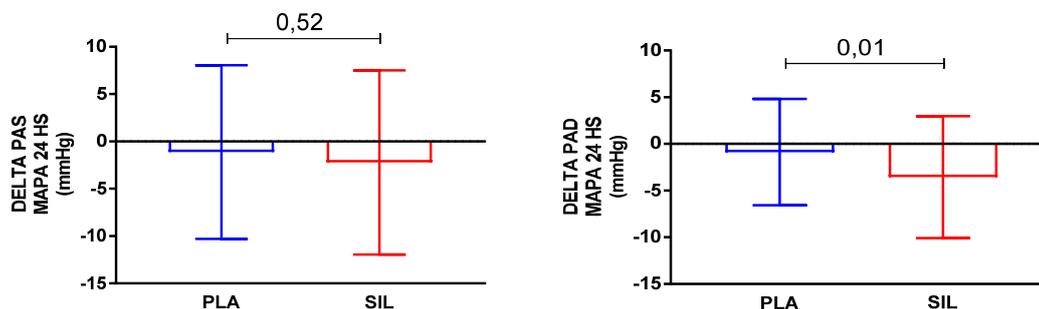
Figura 25 - Variação das médias de PAS e PAD de 24 h pela MAPA antes e após SIL ou placebo



Legenda: antes do tratamento com placebo (PLA-PRÉ); após o tratamento por 30 dias com placebo (PLA-PÓS); antes do tratamento com sildenafil (SIL-PRÉ); (SIL-PÓS) após o tratamento por 30 dias com sildenafil (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 26 - Delta das médias de PAS e PAD de 24 h pela MAPA após tratamento com SIL ou placebo



Legenda: valor de redução da pressão arterial sistólica após 30 dias do uso de placebo (PLA) (DELTA PAS) ou sildenafil (SIL); valor de redução da pressão arterial diastólica após 30 dias do uso de placebo (PLA) ou sildenafil (SIL) (DELTA PAD).

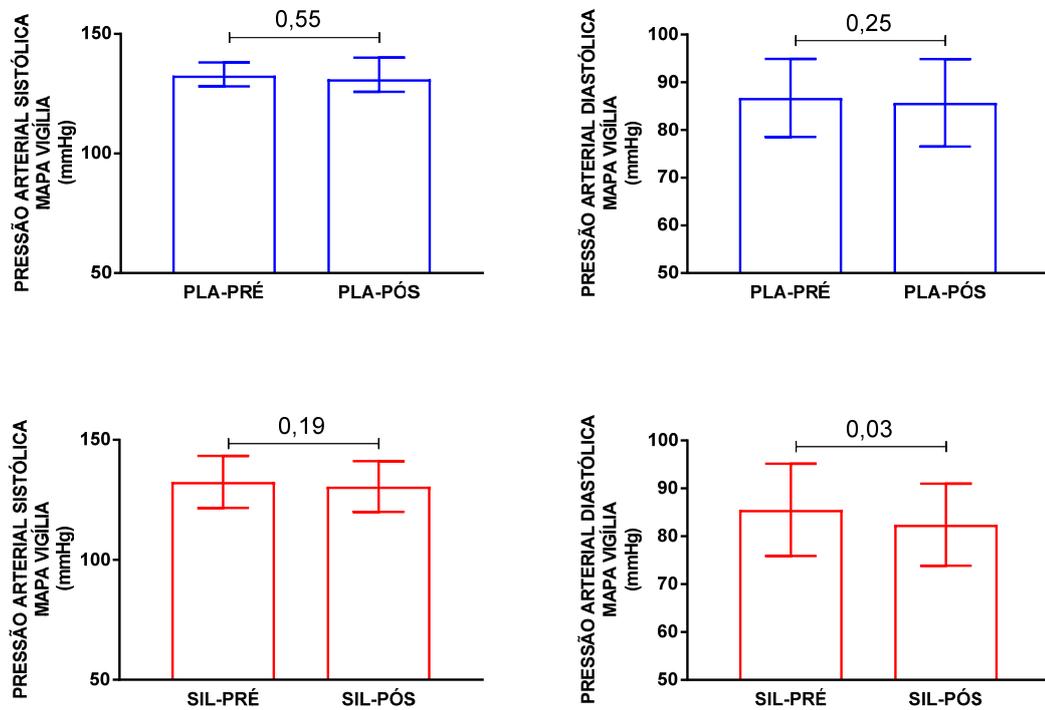
Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.2.3.3 Análise da pressão arterial de vigília pela MAPA

Não foi estatisticamente significativa a redução dos níveis de PAS de vigília registrados na MAPA nem após o uso do placebo; $p=0,55$, nem após o tratamento com a sildenafil; $p=0,19$. Todavia, observou-se uma queda significativa da PAD após o tratamento com a sildenafil; $p=0,03$, mas não após o placebo; $p=0,25$ (Tabela 9 e Figura 27).

O delta de redução da PAS de vigília, medida na MAPA, após o placebo foi de $-0,78 \pm 9,46$ mmHg e de $-1,9 \pm 10,12$ mmHg após SIL; $p=0,52$. O delta de redução da PAD foi de $-1,04 \pm 6,3$ mmHg após o placebo e de $-3,12 \pm 6,95$ mmHg após SIL; $p=0,06$ (Figura 28), não sendo, portanto, de significado estatístico a redução da pressão arterial entre os dois tratamentos, no período de vigília, porém com tendência a uma redução estatisticamente significativa da PAD após o tratamento com SIL em relação ao placebo.

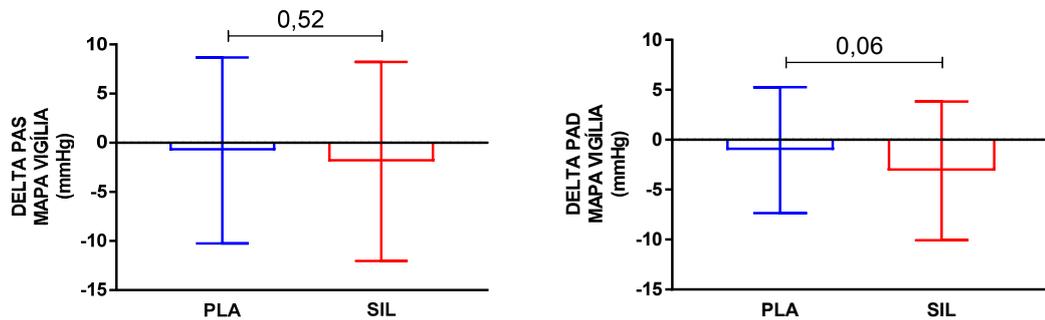
Figura 27 - Variação das médias de PAS e PAD de vigília na MAPA, antes e após SIL ou placebo



Legenda: antes do tratamento com placebo (PLA-PRÉ); após o tratamento por 30 dias com placebo (PLA-PÓS); antes do tratamento com sildenafil (SIL-PRÉ); (SIL-PÓS) após o tratamento por 30 dias com sildenafil (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 28 - Delta das médias de PAS e PAD de vigília na MAPA após tratamento com SIL ou placebo



Legenda: valor de redução da pressão arterial sistólica após 30 dias do uso de placebo (PLA) (DELTA PAS) ou sildenafil (SIL); valor de redução da pressão arterial diastólica após 30 dias do uso de placebo (PLA) ou sildenafil (SIL) (DELTA PAD).

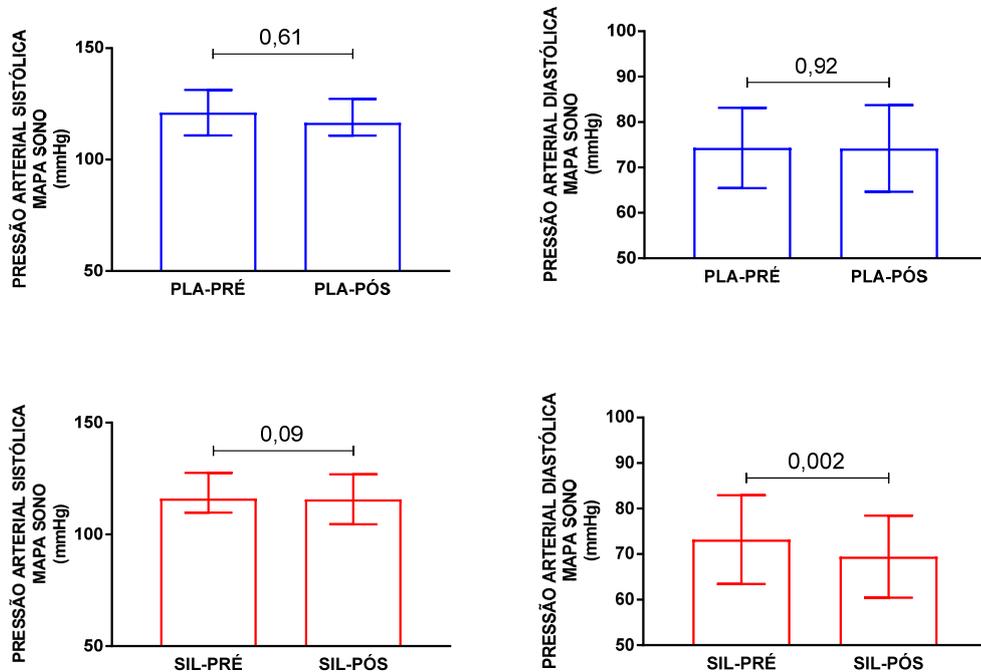
Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.2.3.4 Análise da pressão arterial no sono pela MAPA

Não houve redução significativa dos níveis de PAS no sono registrados pela MAPA após o placebo; $p=0,61$, nem após o uso de SIL; $p=0,09$. No entanto, observou-se uma queda significativa da PAD após o tratamento com a sildenafil; $p=0,002$, mas não após o placebo; $p=0,92$ (Tabela 9 e Figura 29).

O delta de redução da PAS no sono, medida pela MAPA, após o placebo foi de $-0,62 \pm 9,73$ mmHg e de $-3,32 \pm 12,36$ mmHg após SIL; $p=0,21$. Já o delta de redução da PAD foi de $-0,1 \pm 7,11$ mmHg após o placebo e de $-3,76 \pm 7,99$ mmHg após o tratamento com a sildenafil; $p=0,009$ (Figura 30). Estes resultados revelam uma redução estatisticamente significativa da PAD no sono, após o tratamento com a sildenafil em relação ao placebo, avaliada pela MAPA.

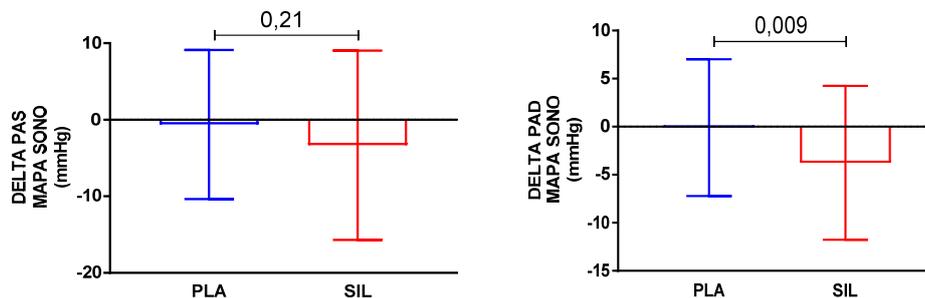
Figura 29 - Variação das médias de PAS e PAD do sono na MAPA, antes e após SIL ou placebo



Legenda: antes do tratamento com placebo (PLA-PRÉ); após o tratamento por 30 dias com placebo (PLA-PÓS); antes do tratamento com sildenafil (SIL-PRÉ); (SIL-PÓS) após o tratamento por 30 dias com sildenafil (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 30 - Delta das médias de PAS e PAD do sono na MAPA após tratamento com SIL ou placebo



Legenda: valor de redução da pressão arterial sistólica após 30 dias do uso de placebo (PLA) (DELTA PAS) ou sildenafil (SIL); valor de redução da pressão arterial diastólica após 30 dias do uso de placebo (PLA) ou sildenafil (SIL) (DELTA PAD).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.2.4 Análise dos dados da fluxometria microvascular após uso de SIL ou placebo por 30 dias (efeito crônico)

4.2.4.1 Avaliação da reatividade microvascular peniana

A microiontoforese cutânea de acetilcolina (ACh) no pênis induziu aumentos crescentes da condutância vascular cutânea (CVC), porém estes valores foram significativos apenas após o tratamento com a sildenafil, mas não com o placebo (Figura 31).

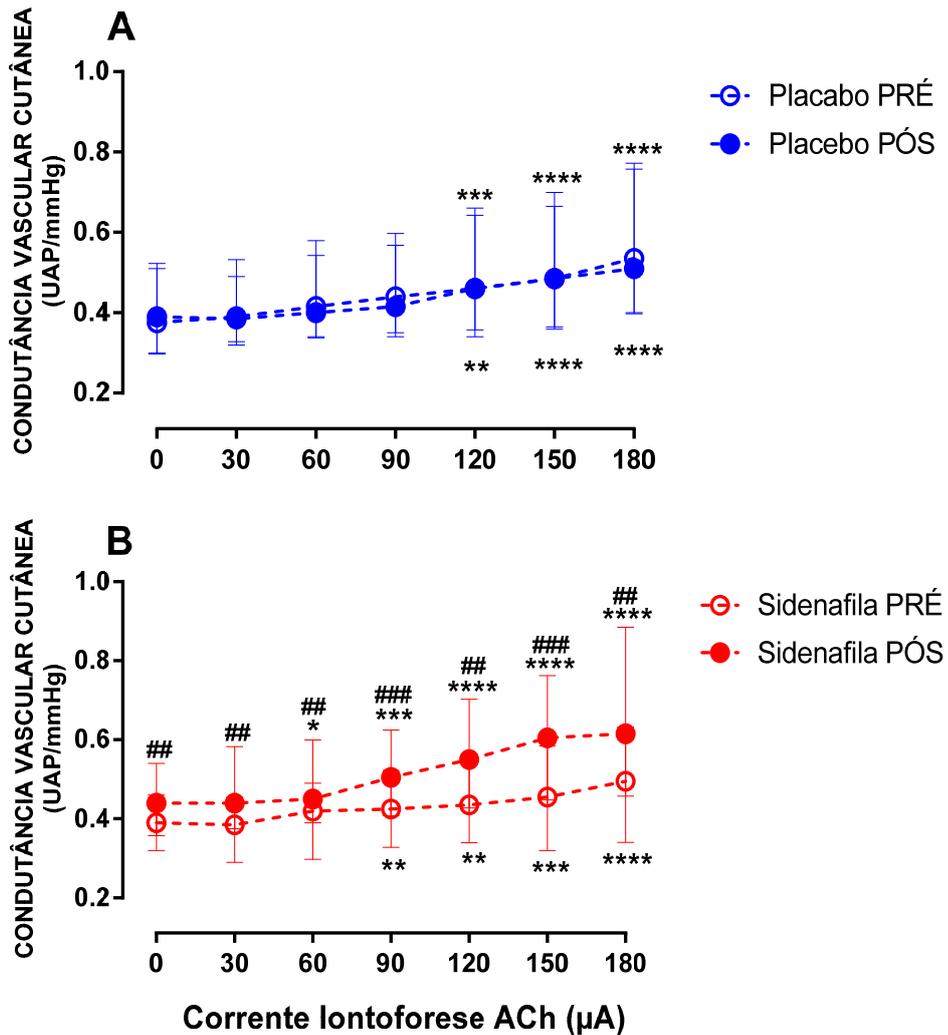
O valor basal da CVC no pênis, antes do uso do placebo, foi de $0,41 \pm 0,13$ unidades arbitrárias de perfusão por mmHg (UAP/mmHg) e de $0,41 \pm 0,13$ UAP/mmHg após os 30 dias de tratamento com placebo; $p=0,86$. Antes do uso da sildenafil, o valor basal da CVC foi de $0,39$ ($0,32-0,46$) UAP/mmHg e de $0,44$ ($0,36-0,54$) UAP/mmHg, após os 30 dias de tratamento com SIL; $p=0,004$ (Figuras 31 e 32) (Tabela 10).

O valor de pico da CVC durante a iontoforese de ACh no pênis, antes do tratamento com placebo, foi de $0,53$ ($0,40-0,76$) UAP/mmHg e de $0,51$ ($0,40-0,77$) UAP/mmHg após o uso do placebo; $p=0,63$. Antes do uso da sildenafil, o valor de pico da CVC foi de $0,49$ ($0,34-0,63$) UAP/mmHg e de $0,61$ ($0,46-0,88$) UAP/mmHg, após os 30 dias de tratamento com SIL; $p=0,001$ (Figuras 31 e 33) (Tabela 10).

O valor da área sob a curva (ASC) durante a iontoforese de ACh no pênis, antes do tratamento com placebo, foi de 25.031 ($17.703-32.334$) UAP/s e 22.976 ($18.239-32.284$)

UAP/s após os 30 dias do uso do placebo; $p=0,98$. Antes do tratamento com SIL, o valor da ASC foi de 23.301 (15.686-27.189) UAP/s e de 25.924 (20.241-31.537) após o uso por 30 dias de SIL; $p=0,003$ (Figuras 34) (Tabela 10).

Figura 31 - Efeitos da microiontoforose de acetilcolina no pênis



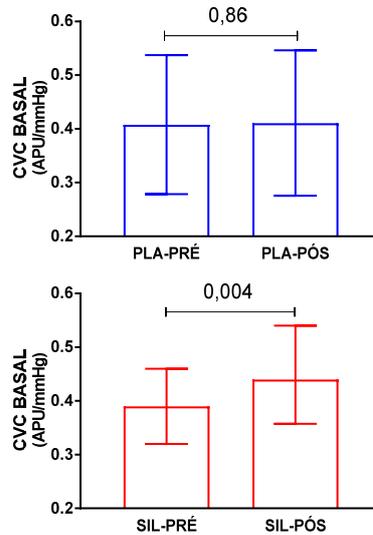
Legenda: condutância microvascular cutânea (CVC), expressa em UAP, unidades arbitrárias de perfusão dividida pela pressão arterial média em mmHg (UAP/mmHg) nos hipertensos ($n = 50$) antes e após o uso do placebo, duas vezes ao dia, por via oral, por 30 dias (A) e antes e após 50 mg de sildenafil, duas vezes ao dia, por via oral por 30 dias (B);

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ comparados aos valores basais;

$p < 0,01$ e #### $p < 0,001$ comparados aos valores PRÉ-SIL.

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

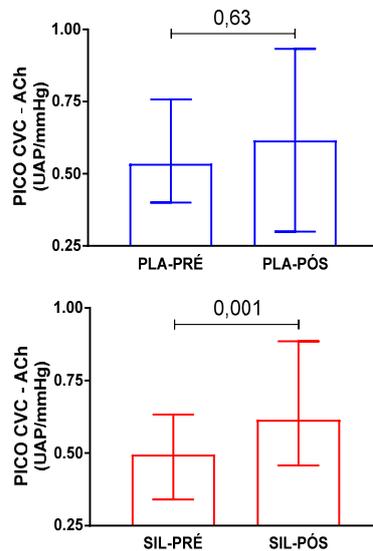
Figura 32 - Análise da CVC basal no pênis, antes e após o uso do placebo ou SIL por 30 dias nos hipertensos (efeito crônico)



Legenda: condutância vascular cutânea basal (CVC BASAL), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias PLA-PÓS; antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Autor: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

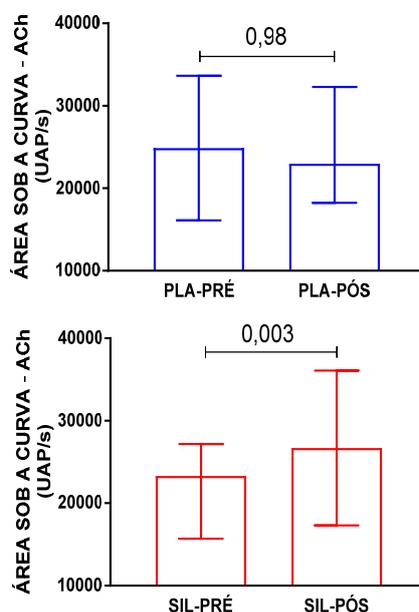
Figura 33- Análise do pico de CVC no pênis, antes e após o uso do placebo ou SIL por 30 dias nos hipertensos (efeito crônico)



Legenda: valor de pico da condutância vascular cutânea (PICO CVC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias PLA-PÓS; antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 34 - Análise da área sob a curva no pênis, antes e após o uso do placebo ou SIL por 30 dias nos hipertensos (efeito crônico)



Legenda: área sob a curva da iontoforese de ACh (ASC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por segundo (UAP/s); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Tabela 10 - Análise dos parâmetros da fluxometria microvascular peniana após 30 dias de PLA ou SIL nos pacientes hipertensos (n = 50) (efeito crônico de SIL)

ANÁLISE DA	PRÉ-PLA	PÓS-PLA	<i>p</i>	PRÉ-SIL	PÓS-SIL	<i>p</i>
FLUXOMETRIA						
CVC BASAL	0,41 ± 0,13	0,41 ± 0,13	0,86	0,39	0,44	0,004
UAP/mmHg				(0,32 - 0,46)	(0,36 - 0,54)	
CVC PICO	0,53	0,51	0,63	0,49	0,61	0,001
UAP/mmHg	(0,40 - 0,76)	(0,40 - 0,77)		(0,34 - 0,63)	(0,46 - 0,88)	
ASC	25.031	22.976	0,98	23.301	25.924	0,003
UAP/s	(17.703 - 32.334)	(18.239 - 32.284)		(15.686 - 27.189)	(20.241 - 31.537)	

Legenda: condutância vascular cutânea basal (CVC BASAL), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); valor de pico da condutância vascular cutânea (CVC PICO), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); área sob a curva da iontoforese de ACh (ASC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por segundo (UAP/s); antes do uso do placebo (PRÉ-PLA); após o uso do placebo por 30 dias (PÓS-PLA); antes do uso da sildenafil (PRÉ-SIL); após o uso da sildenafil por 30 dias (PÓS-SIL).

Autor: A autora, 2019.

4.2.4.2 Avaliação da reatividade microvascular sistêmica

A microiontoforese cutânea de ACh, realizada na pele do antebraço, induziu aumentos crescentes e significativos da CVC, tanto antes quanto após o tratamento com placebo ou com a sildenafil, quando comparado aos valores basais. No entanto, os valores da CVC sistêmica não melhoraram após os trinta dias de tratamento, nem com o placebo, nem após o uso de SIL, quando comparados aos valores registrados antes do tratamento (Figura 35) (Tabela 11).

O valor basal da CVC no antebraço, antes do uso do placebo, foi de 0,23 (0,20-0,28) UAP/mmHg e de 0,23 (0,20-0,30) UAP/mmHg após os 30 dias de uso do placebo; $p=0,64$. Antes do uso da sildenafil, o valor basal da CVC foi de 0,25 (0,19-0,29) UAP/mmHg e de 0,25 (0,19-0,34) UAP/mmHg, após os 30 dias de tratamento com SIL; $p=0,22$ (Figuras 35 e 36) (Tabela 11).

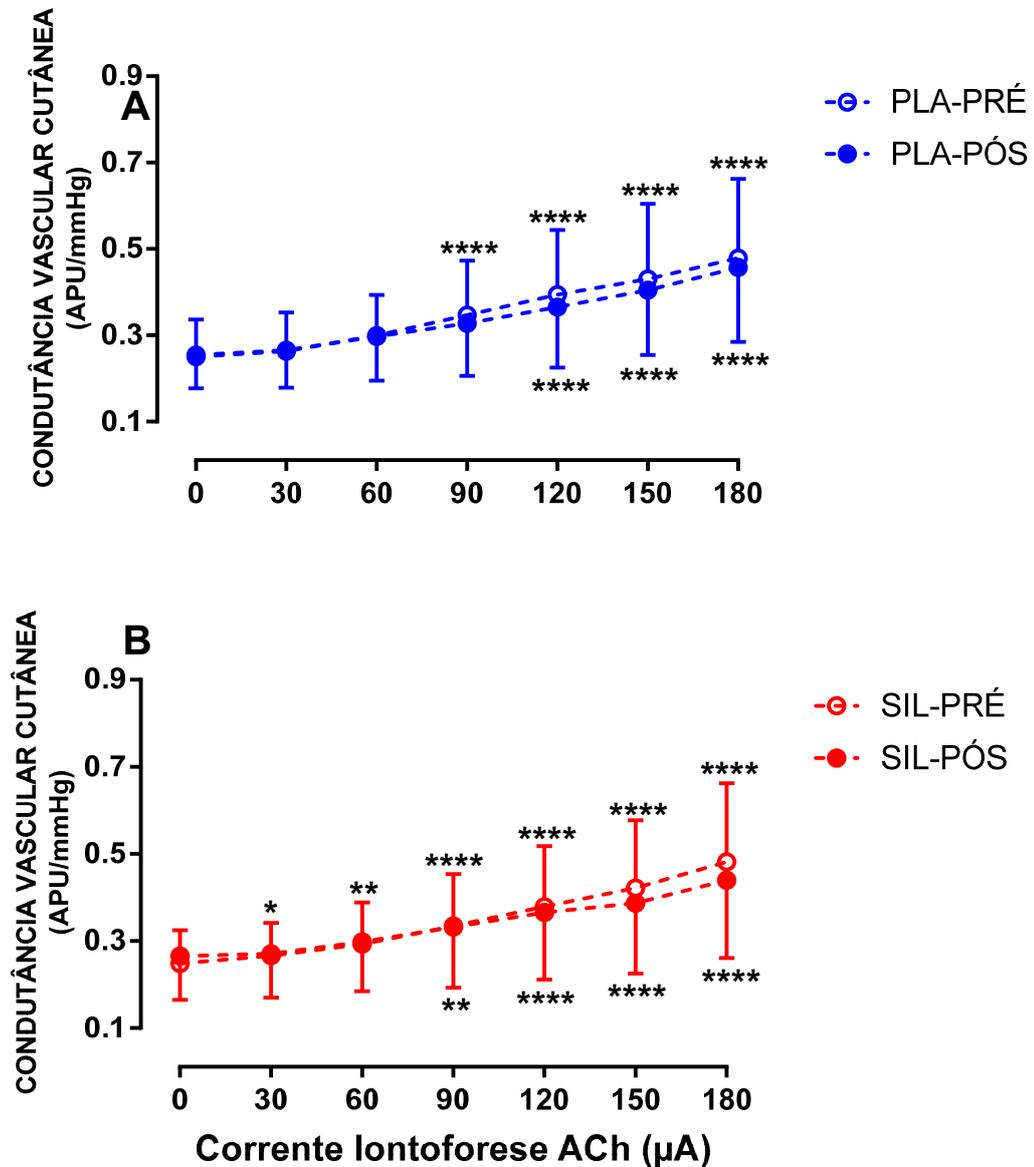
Tabela 11 - Análise dos parâmetros da fluxometria microvascular sistêmica após 30 dias de placebo ou sildenafil nos pacientes hipertensos (n = 50) (efeito crônico)

ANÁLISE DA FLUXOMETRIA	PRÉ-PLA	PÓS-PLA	<i>p</i>	PRÉ-SIL	PÓS-SIL	<i>p</i>
CVC BASAL	0,23	0,23	0,64	0,25	0,25	0,22
UAP/mmHg	(0,20 - 0,28)	(0,20 - 0,30)		(0,19 - 0,29)	(0,19 - 0,34)	
CVC PICO	0,45	0,44	0,68	0,44	0,44	0,80
UAP/mmHg	(0,35 - 0,61)	(0,32 - 0,59)		(0,35 - 0,63)	(0,28 - 0,55)	
ASC	18.877 ± 5.983	17.610 ± 5.703	0,16	18.408	16.131	0,03
UAP/s				(13.527 - 23.110)	(11.586 - 20.660)	

Legenda: condutância vascular cutânea basal (CVC BASAL), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); valor de pico da condutância vascular cutânea (CVC PICO), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); área sob a curva da iontoforese de ACh (ASC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por segundo (UAP/s); antes do uso do placebo (PRÉ-PLA); após o uso do placebo por 30 dias (PÓS-PLA); antes do uso da sildenafil (PRÉ-SIL); após o uso da sildenafil por 30 dias (PÓS-SIL).

Fonte: A autora, 2019.

Figura 35 - Efeitos da microiontoforose de acetilcolina no antebraço

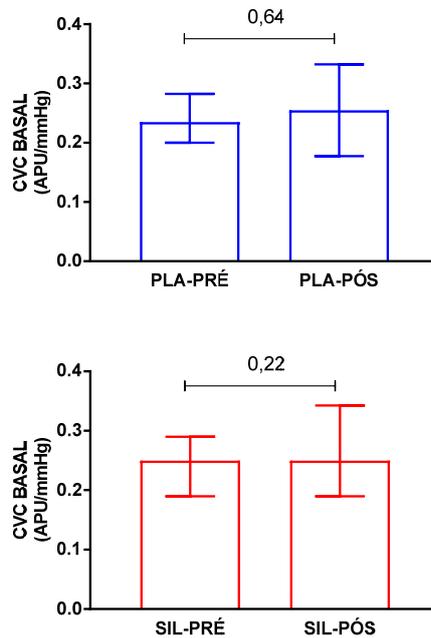


Legenda: condutância vascular cutânea (CVC) [expressa em UAP, unidades arbitrárias de perfusão, dividida pela pressão arterial média em mmHg (UAP/mmHg)] nos hipertensos (n = 50) antes e após o uso do placebo, duas vezes ao dia, por via oral, por 30 dias (A) e antes e após 50 mg de sildenafil, duas vezes ao dia, por via oral, por 30 dias (B); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS);

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e **** $p < 0,0001$ comparados aos valores basais.

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá

Figura 36 - Análise do fluxo microvascular basal, no antebraço, antes e após tratamento por 30 dias com placebo ou sildenafil nos hipertensos



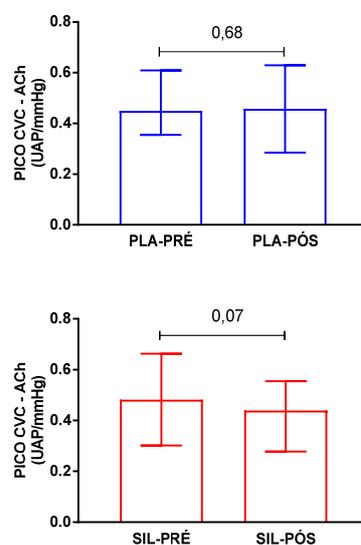
Legenda: condutância vascular cutânea basal (CVC BASAL), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

O valor de pico da CVC durante a iontoforese de ACh no antebraço, antes do tratamento com placebo, foi de 0,45 (0,35-0,61) UAP/mmHg e de 0,44 (0,32-0,59) UAP/mmHg após o uso do placebo; $p=0,68$. Antes do uso da sildenafil, o valor de pico da CVC foi de 0,44 (0,35 -0,63) UAP/mmHg e de 0,44 (0,28-0,55) UAP/mmHg, após os 30 dias de tratamento com SIL; $p=0,80$ (Figuras 35 e 37) (Tabela 11).

O valor da área sob a curva (ASC) durante a iontoforese de ACh no antebraço, antes do tratamento com placebo, foi de 18.877 ± 5.983 UAP/s e 17.610 ± 5.703 UAP/s, após os 30 dias do uso do placebo; $p=0,16$. Antes do tratamento com SIL, o valor da ASC foi de 18.408 (13.527-23.110) UAP/s e de 16.131 (11.586-20.660) após o uso por 30 dias de SIL; $p=0,03$ (Figuras 38) (Tabela 11).

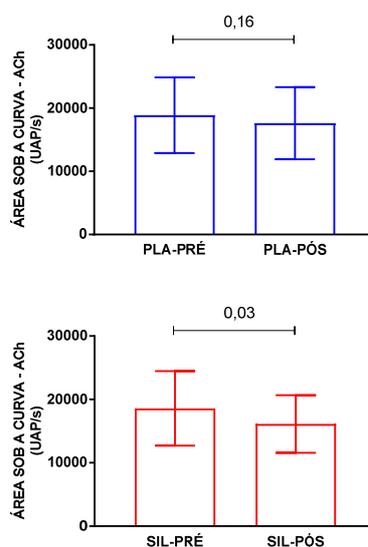
Figura 37 - Análise da condutância microvascular cutânea máxima, no antebraço, antes e após tratamento por 30 dias com placebo ou sildenafil nos hipertensos



Legenda: valor de pico da condutância vascular cutânea (PICO CVC), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg). antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 38 - Análise da área sob a curva da CVC, no antebraço, antes e após tratamento por 30 dias com placebo ou sildenafil nos hipertensos



Legenda: Área sob a curva da iontoforese de acetilcolina (ACh), expressa em unidades arbitrária de perfusão por segundo (UAP/s). antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

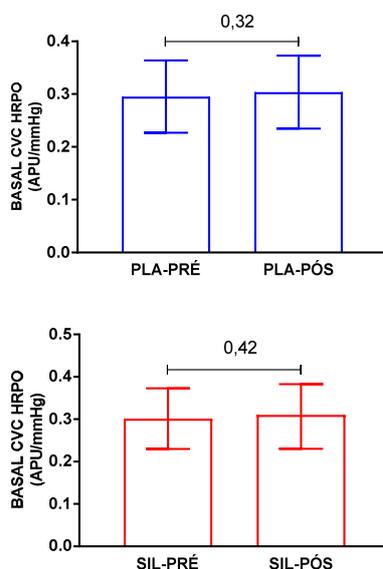
4.2.4.3 Análise da HRPO no antebraço após o uso crônico de SIL ou placebo

A análise da hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO), no antebraço, revelou um valor basal da HRPO de $0,29 \pm 0,07$ e $0,30 \pm 0,07$ UAP/mmHg antes e após o uso do placebo por 30 dias, respectivamente; $p=0,32$. Antes do tratamento com SIL, o valor basal da HRPO foi de $0,30 \pm 0,07$ e depois do tratamento com SIL de $0,32 \pm 0,11$ UAP/mmHg; $p=0,42$ (Figura 39).

O valor de pico máximo da CVC da HRPO foi de $0,67 \pm 0,17$ e $0,70 \pm 0,16$ UAP/mmHg antes e após o uso do placebo por 30 dias, respectivamente; $p=0,14$. Antes do tratamento com a sildenafil o valor de pico máximo da CVC da HRPO foi de $0,70 \pm 0,18$ e depois do tratamento com SIL de $0,70 \pm 0,18$ UAP/mmHg; $p=0,64$ (Figura 40).

O valor do delta da HRPO foi de $0,38 \pm 0,15$ e $0,40 \pm 0,13$ UAP/mmHg antes e após o uso do placebo por 30 dias, respectivamente; $p=0,20$. Antes do tratamento com a sildenafil o valor do delta da CVC da HRPO foi de $0,38$ ($0,27-0,49$) e depois do tratamento com SIL de $0,35$ ($0,25-0,46$) UAP/mmHg; $p=0,31$ (Figura 41).

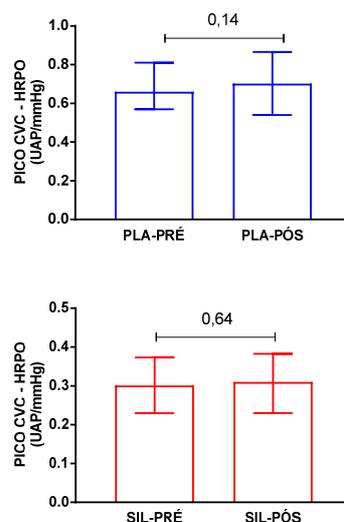
Figura 39 - Análise da CVC basal da HRPO antes e após 30 dias de SIL ou placebo



Legenda: valor da condutância vascular cutânea basal, medida pela técnica de hiperemia reativa pós-oclusiva (BASAL CVC HRPO), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

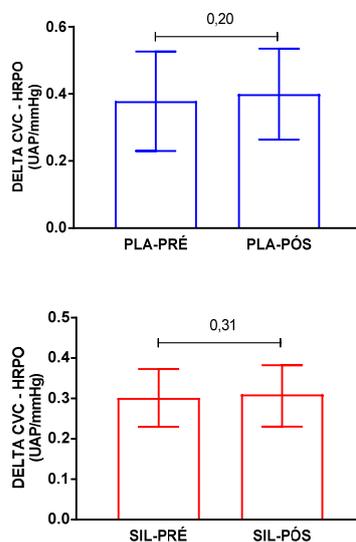
Figura 40 - Análise do pico da CVC da HRPO, antes e após 30 dias de SIL ou placebo



Legenda: pico máximo da condutância vascular cutânea medida pela técnica de hiperemia reativa pós-oclusiva (PICO CVC – HRPO), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 41- Análise do delta da CVC da HRPO, antes e após 30 dias de SIL ou placebo



Legenda: valor do delta da condutância vascular cutânea medida pela técnica de hiperemia reativa pós-oclusiva (DELTA CVC – HRPO), expressa em unidades arbitrária de perfusão por mmHg (UAP/mmHg); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

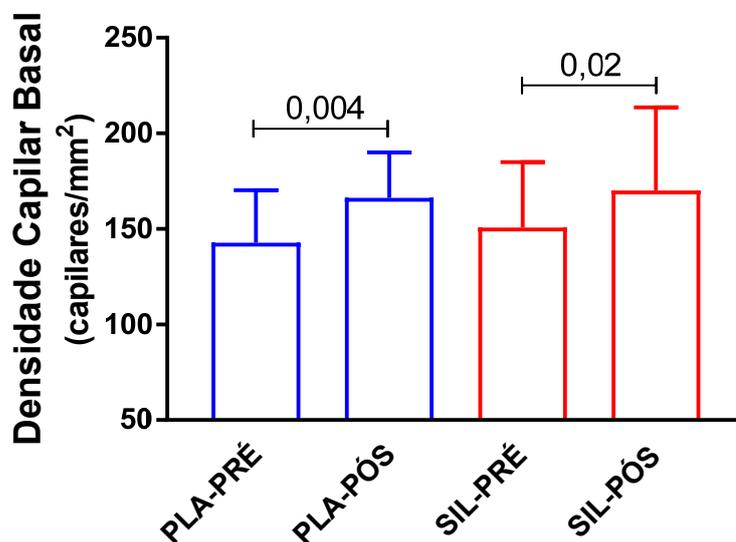
4.2.5 Análise da capilaroscopia

4.2.5.1 Análise da capilaroscopia basal e após HRPO nos pacientes hipertensos

Registrou-se uma melhora, estatisticamente significativa, da densidade capilar cutânea basal após o uso do placebo por 30 dias, $142,8 \pm 27,39$ vs. $166,3 \pm 23,8$ capilares/mm²; $p=0,004$; assim como após o tratamento por 30 dias com sildenafil, 147 (122-184) vs. 155 (133-189) capilares/mm²; $p=0,02$ (Figura 42).

Da mesma forma, após o teste de HRPO houve um aumento significativo do recrutamento capilar após o uso do placebo de 141 (125-170) para 171 (155-193) capilares/mm²; $p=0,005$; assim como após os 30 dias de tratamento com a sildenafil, de 147 (122-173) para 181 (156-195) capilares/mm²; $p=0,0004$ (Figura 43).

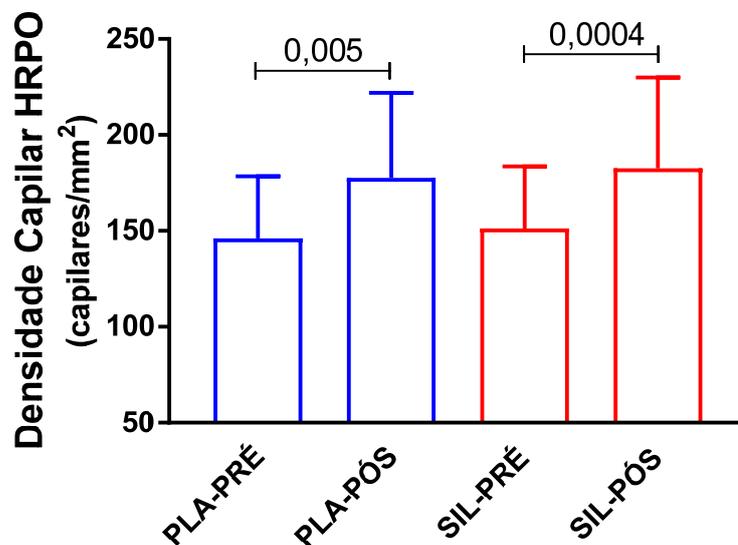
Figura 42 - Análise da densidade capilar basal antes e após 30 dias de tratamento com SIL ou placebo



Legenda: densidade capilar basal nos pacientes hipertensos, antes do uso do placebo (PLA-PRÉ), expressa em capilares/mm²; densidade capilar basal nos pacientes hipertensos após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); densidade capilar basal nos pacientes hipertensos antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); densidade capilar basal nos pacientes hipertensos após o tratamento com sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 43 - Análise da densidade capilar após HRPO antes e após 30 dias de tratamento com SIL ou placebo



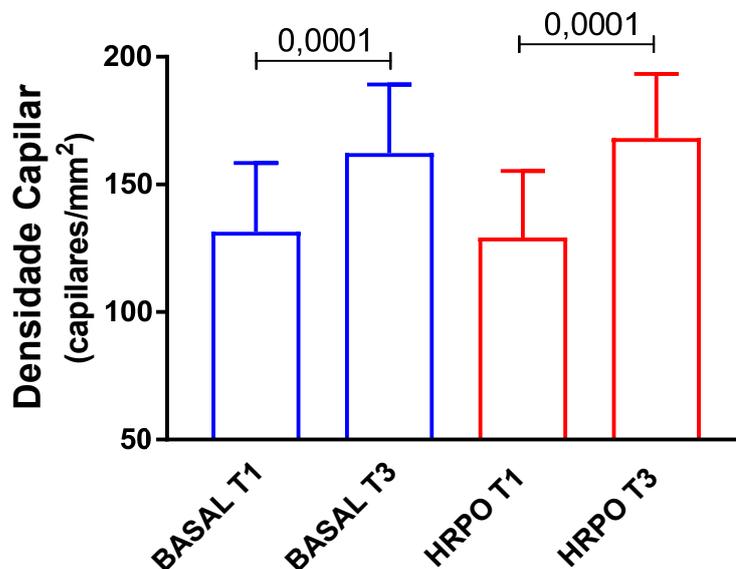
Legenda: hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO); densidade capilar após HRPO nos pacientes hipertensos antes do uso do placebo (PLA-PRÉ), expressa em capilares/mm²; densidade capilar após HRPO nos pacientes hipertensos após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); densidade capilar após HRPO nos pacientes hipertensos antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); densidade capilar após HRPO nos pacientes hipertensos após o tratamento com sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.2.5.2 Análise da capilaroscopia basal e após HRPO antes de cada etapa de tratamento com SIL ou placebo

A análise da densidade capilar basal realizada antes de cada tratamento com SIL ou placebo, ou seja, na inclusão e após o período de *washout*, revelou que houve uma melhora estatisticamente significativa da densidade capilar basal após o período de *washout* em relação ao registrado na inclusão do estudo; $131,4 \pm 26,99$ vs. $162,3 \pm 26,91$ capilares/mm²; $p < 0,0001$. Da mesma forma, a densidade capilar registrada após o teste de HRPO revelou uma densidade capilar de $129,1 \pm 26,2$ na inclusão e de $168,1 \pm 25,17$ capilares/mm² após *washout*; $p < 0,0001$, demonstrando uma melhora significativa do recrutamento capilar após a terceira etapa de acompanhamento clínico dos pacientes hipertensos no estudo (Figura 44).

Figura 44 - Análise da densidade capilar basal e após HRPO, antes de cada tratamento com SIL ou placebo



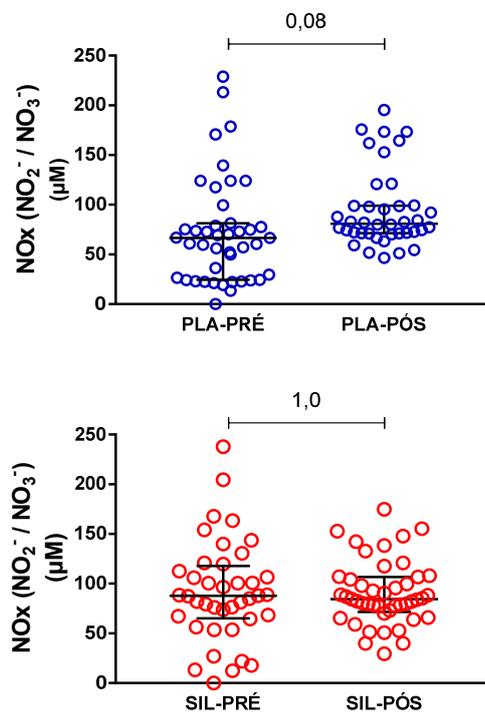
Legenda: densidade capilar basal nos hipertensos medida na inclusão no estudo (BASAL T1), expressa em capilares/mm²; densidade capilar basal nos hipertensos medida após período de *washout* (BASAL T3); densidade capilar após HRPO nos hipertensos medida na inclusão no estudo (HRPO T1); (HRPO T3) densidade capilar após HRPO nos hipertensos medida após período de *washout* (HRPO T3).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.2.6 Avaliação dos níveis plasmáticos dos metabólitos do óxido nítrico (NO_x), antes e após 30 dias de SIL ou placebo

As concentrações plasmáticas dos NO_x (NO₂⁻ / NO₃⁻) foram analisadas antes e após o uso contínuo, por 30 dias, da sildenafil ou placebo, nos pacientes hipertensos. Com o uso do placebo, os níveis plasmáticos do NO_x sérico variaram de 60,96 (24,43-78,26) para 78,62 (71,04-97,42) μM; $p=0,08$ e durante o tratamento com SIL permaneceram estáveis (91,71±50,85 vs. 90,69±32,47μM); $p=1,0$ (Figura 45).

Figura 45 - Análise das concentrações plasmáticas dos NOx antes e após os 30 dias de tratamento com SIL ou placebo



Legenda: metabólitos do óxido nítrico (NOx); nitrito (NO_2^-); nitrato (NO_3^-); concentração plasmática dos NOx, nos hipertensos, antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); concentração plasmática dos NOx após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); concentração plasmática dos NOx, nos hipertensos, antes do tratamento com a sildenafil (SIL-PRÉ); concentração plasmática dos NOx após o tratamento com a sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.3 Efeitos adversos

4.3.1 Efeitos adversos apresentados durante todas as etapas do tratamento

Os seguintes efeitos adversos foram registrados após o uso da dose única de 100 mg de sildenafil e após o uso contínuo, por 30 dias, com placebo ou sildenafil (Tabela 12).

Após a dose única de 100 mg de sildenafil 21 pacientes (42%) não apresentaram qualquer queixa. O sintoma mais prevalente foi cefaleia, referido por 12 pacientes (24%), sendo esta geralmente de leve intensidade e com remissão espontânea, não necessitando de uso de analgésicos. Em seguida, foram registrados nove casos (18%) de calor ou rubor facial, seis casos (12%) de congestão nasal e dois casos de tonteira e lacrimejamento. Calor no corpo, eritema de conjuntiva, dor muscular e epigastralgia foram referidos, cada um destes, por um paciente.

Durante os trinta dias do uso do placebo 88% dos pacientes permaneceram assintomáticos. Foram registrados três casos (6%) de cefaleia, dois casos (4%) de tonteira e um caso de rubor facial, prurido ou lacrimejamento. Durante o período de washout houve poucos casos de sintomas referidos. Foram registrados dois casos de dor muscular e um paciente com queixa de fraqueza, dispneia ou cefaleia. O número de efeitos adversos durante o tratamento crônico com a sildenafil, no entanto, foi maior do que o registrado durante o uso do placebo. Ocorreram 24 casos de cefaleia (47%). Em um dos pacientes a cefaleia, de forte intensidade, impediu que ele continuasse a fazer uso da medicação sendo, portanto, retirado do estudo. Nos outros pacientes que prosseguiram usando a sildenafil, a cefaleia foi de intensidade leve, com persistência deste sintoma no máximo até o terceiro dia de uso contínuo da medicação. O segundo sintoma mais prevalente, durante os 30 dias de tratamento com SIL, foi congestão nasal, com nove casos (18%); seguido de sete casos (14%) de calor ou rubor facial e outros sete casos (14%) de dor muscular, referida especialmente na região lombar e no glúteo. Ainda durante o tratamento com SIL, dois pacientes apresentaram tonteira/vertigem. Em um desses indivíduos o quadro de tonteira foi de grande intensidade o que motivou o paciente a sair do estudo por intolerância à medicação. Também houve relato de dois pacientes que apresentaram lacrimejamento ou eritema de conjuntiva; um paciente apresentou palpitação e um referiu visão turva. Dezoito (36%) dos 50 pacientes hipertensos que usaram a sildenafil por 30 dias consecutivos não apresentaram qualquer sintomatologia.

Tabela 12 - Efeitos adversos após cada etapa de tratamento nos hipertensos (n= 50)

EFEITOS ADVERSOS	Após 100 mg SIL	Após 30 dias placebo	Após 30 dias washout	Após 30 dias SIL
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
CEFALÉIA	12(24)	3(6)	1(2)	24(47)
CALOR/RUBOR FACIAL	9(18)	1(2)	0(0)	7(14)
CALOR NO CORPO	1(2)	0(0)	0(0)	0(0)
PRURIDO	0(0)	1(2)	0(0)	0(0)
CONGESTÃO NASAL	6(12)	0(0)	0(0)	9(18)
LACRIMEJAMENTO	2(4)	1(2)	0(0)	2(4)
VISÃO TURVA	0(0)	0(0)	0(0)	1(2)
ERITEMA CONJUNTIVAL	1(2)	0(0)	0(0)	2(4)
TONTEIRA/VERTIGEM	2(4)	2(4)	0(0)	2(4)
PALPITAÇÃO	0(0)	0(0)	0(0)	1(2)
FRAQUEZA	0(0)	0(0)	1(2)	0(0)
DOR MUSCULAR/CÃIMBRAS	1(2)	0(0)	2(4)	7(14)
PARESTESIA	0(0)	0(0)	0(0)	1(2)
DOR EPIGÁTRICA/ NÁUSEAS/PIROSE	1(2)	0(0)	0(0)	3(6)
DIARRÉIA	0(0)	0(0)	0(0)	2(4)
DISPNÉIA	0(0)	0(0)	1(2)	1(2)
NENHUM	21(42)	44(88)	45(90)	18(36)

Fonte: A autora, 2019.

4.3.2 Efeitos adversos apresentados durante o tratamento crônico com SIL ou PLA (análise comparativa)

A Tabela 13 contém o registro dos efeitos adversos mais frequentes e compara a incidência destes após cada etapa de tratamento com sildenafil ou placebo. O número de pacientes que permaneceram assintomáticos durante o tratamento com placebo foi muito superior ao encontrado durante o tratamento com a sildenafil, 44 (88%) e 18 (36%), respectivamente; $p < 0,0001$. Cefaleia, que foi a queixa mais frequente, foi referida por 24 pacientes (47%) durante o tratamento com SIL e por três pacientes (6%) durante o uso do

placebo; $p < 0,0001$. Nove pacientes apresentaram congestão nasal (18%) e sete tiveram dores musculares (14%) durante o tratamento com SIL, enquanto estes sintomas não foram referidos durante o uso do placebo; $p = 0,03$ e $p = 0,01$, respectivamente. Sete pacientes (14%) referiram calor e/ou rubor facial com a sildenafil e apenas um (2%) apresentou este sintoma durante o período em que recebeu o placebo; $p = 0,06$.

Tabela 13 - Análise comparativa dos efeitos adversos após o tratamento com placebo ou sildenafil, nos hipertensos (n= 50)

EFEITOS ADVERSOS	Após 30 dias placebo n (%)	Após 30 dias SIL n (%)	VALOR DE <i>p</i>
NENHUM	44(88)	18(36)	<0,0001
CEFALEIA	3(6)	24(47)	<0,0001
CONGESTÃO NASAL	0(0)	9(18)	0,03
DOR MUSCULAR	0(0)	7(14)	0,01
CALOR/RUBOR FACIAL	1(2)	7(14)	0,06

Fonte: A autora, 2019

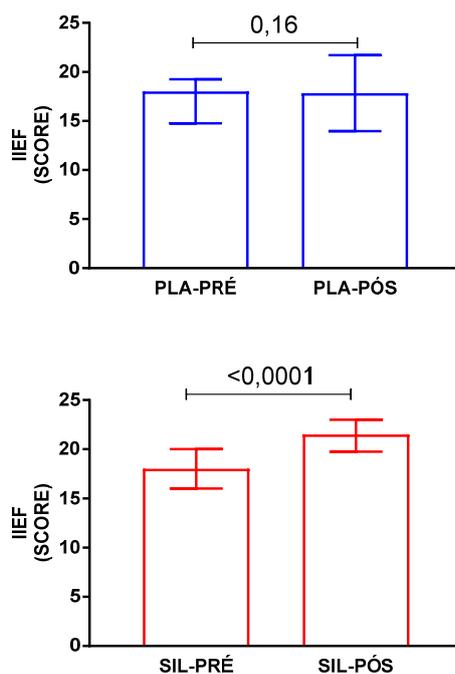
4.4 Avaliação do tratamento sobre a função erétil

Antes da inclusão no estudo e após cada etapa de tratamento com SIL ou placebo, os pacientes foram avaliados quanto à severidade da disfunção erétil e para tal responderam ao questionário do IIFE-5 (Índice Internacional de Função Erétil Simplificado) e a questão SEP3.

4.4.1 Avaliação da função erétil pelo IIEF

Antes do uso do placebo o valor do escore do IIFE foi de 18 (14,75-19,25) pontos, passando a $17,84 \pm 3,88$ pontos após os 30 dias de tratamento com PLA; $p=0,16$. A mediana do escore do IIFE antes do tratamento com SIL foi de 18 (16-20) pontos, passando a 21,5 (19,75-23) pontos após os 30 dias de tratamento com esta medicação; $p<0,0001$. Dessa forma, podemos dizer que houve melhora significativa da função erétil apenas após o tratamento com a sildenafil, mas não após o uso do placebo (Figura 46).

Figura 46 - Variação do score do IIEF após cada etapa de tratamento



Legenda: escore de pontos alcançados em resposta ao questionário para avaliação do Índice Internacional de Função Erétil (IIFE SCORE); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso do placebo por 30 dias (PLA-PÓS); antes do uso da sildenafil (SIL-PRÉ); após o uso da sildenafil por 30 dias (SIL-PÓS).

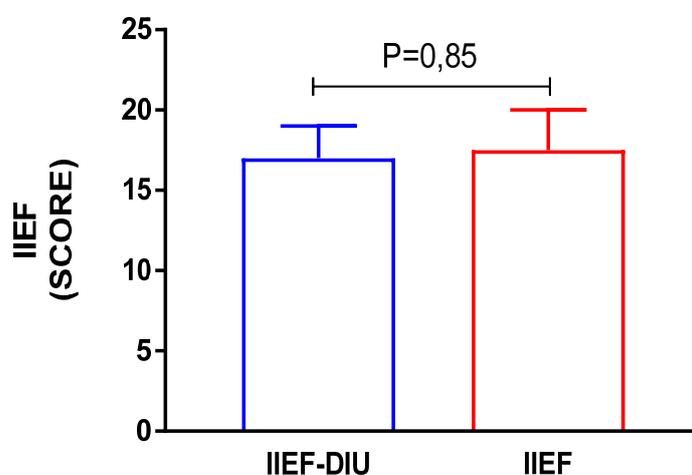
Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.4.2 Análise da influência do tratamento com diuréticos na função erétil

4.4.2.1 Na inclusão no estudo

O valor do escore do IIEF-5, no momento da inclusão no estudo, foi analisado dividindo-se os pacientes hipertensos em dois grupos: os que estavam em uso de diuréticos (n=24) e aqueles que não faziam uso de diuréticos (n=26). Os valores do escore do IIEF-5 eram de 17 (15-19) pontos no primeiro grupo e de 17,5 (14,5-20) pontos no segundo grupo; $p=0,85$. Não houve, portanto, diferença estatística significativa quanto à avaliação da função erétil, entre os hipertensos que usavam e os que não usavam diuréticos (Figura 47).

Figura 47 - Variação do score do IIEF, na inclusão, entre os hipertensos que usavam ou não diuréticos



Legenda: pontuação alcançada em resposta ao questionário do Índice Internacional de Função Erétil (IIEF SCORE); pacientes em tratamento com diuréticos (IIEF-DIU); pacientes que não faziam uso de diuréticos (IIEF).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

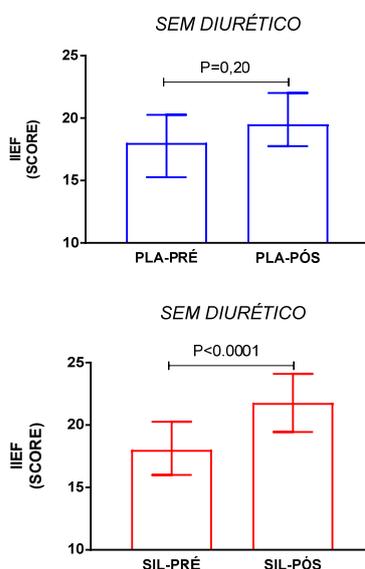
4.4.2.2 Antes e após o tratamento com SIL ou placebo

O valor do escore do IIEF-5 também foi analisado antes e após o tratamento com SIL ou placebo nos dois grupos: com ou sem terapia com diuréticos.

No grupo de hipertensos que não estavam usando diurético, os valores do escore do IIEF-5 foram de 18 (15,25-20,25) e 19,5 (17,75-22) antes e após o uso do placebo, respectivamente; $p=0,20$ e de 18 (16-20,25) e 22 (19,75-24) antes e após o uso de SIL, respectivamente; $p<0,0001$ (Figura 48). Já no grupo que estava em tratamento com diuréticos, os valores foram de 17 (14,25-19) e 17,5 (14,25-18,75) antes e após o uso do placebo, respectivamente; $p=0,94$ e de 17,5 (16-19,75) e 21 (19,25-22) antes e após o tratamento com SIL por 30 dias, respectivamente; $p=0,002$ (Figura 49).

Dessa forma, podemos dizer que o tratamento com diuréticos não teve influência na eficácia do tratamento crônico com a sildenafil, pois ambos os grupos apresentaram melhora significativa da função erétil após SIL, mas não com o placebo.

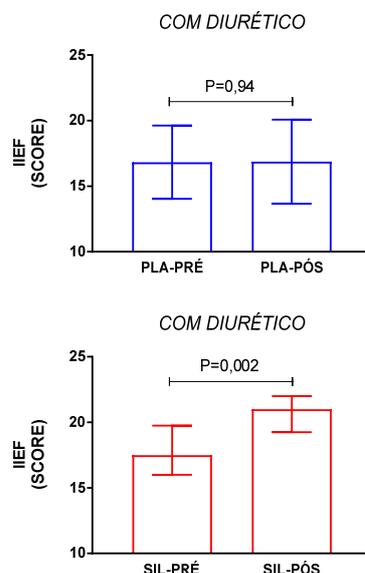
Figura 48 - Variação do score do IIEF, antes e após SIL ou PLA, entre os hipertensos que não usavam diuréticos



Legenda: pontuação alcançada em resposta ao questionário do Índice Internacional de Função Erétil (IIEF SCORE); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso por 30 dias com placebo (PLA-PÓS); antes do tratamento com sildenafil (SIL-PRÉ); após o tratamento por 30 dias com sildenafil (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

Figura 49 - Variação do score do IIEF, antes e após SIL ou PLA, entre os hipertensos que usavam diuréticos



Legenda: pontuação alcançada em resposta ao questionário do Índice Internacional de Função Erétil (IIFE SCORE); (PLA-PRÉ) antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso por 30 dias com placebo (PLA-PÓS); antes do tratamento com sildenafil (SIL-PRÉ); após o tratamento por 30 dias com sildenafil (SIL-PÓS).

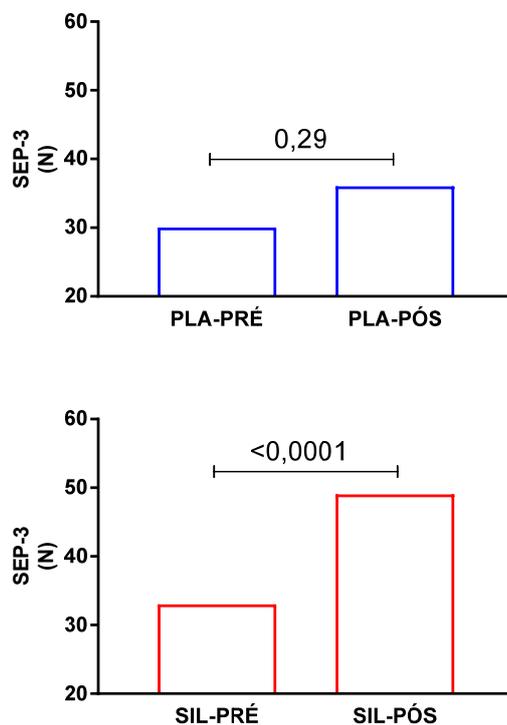
Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

4.4.3 Avaliação da função erétil pela análise do SEP3

O SEP3 (*sexual encounter profile 3*) consiste em uma pergunta direta sobre a qualidade da ereção do paciente, isto é, se “a qualidade da ereção foi suficiente para completar o intercuro sexual de maneira satisfatória?” No presente estudo, este instrumento de avaliação da função erétil foi utilizado para comparação evolutiva em cada etapa do tratamento.

Foi observado que antes do uso do placebo 60% dos pacientes (n=30) manifestaram-se satisfeitos com seu desempenho sexual, aumentado para 72% (n=36) após os 30 dias de tratamento com placebo; $p=0,29$. Um número semelhante de pacientes (n=33, 66%), responderam sim ao SEP3 antes do uso da sildenafil, porém este percentual aumentou para 98% (n=49) após os 30 dias de tratamento com a sildenafil; $p<0,0001$ (Figura 50).

Figura 50 - Variação do SEP3 após cada etapa de tratamento



Legenda: número de pacientes que responderam positivamente a questão SEP3 (*sexual encounter profile 3*) (SEP3 N); antes do uso do placebo (PLA-PRÉ); após o uso por 30 dias com placebo (PLA-PÓS); antes do tratamento com sildenafil (SIL-PRÉ); após o tratamento por 30 dias com sildenafil (SIL-PÓS).

Fonte: acervo pessoal do Professor Eduardo Tibiriçá.

5 DISCUSSÃO

No final dos anos 90, o citrato de sildenafil (SIL) foi o primeiro fármaco a ser aprovado para o tratamento da disfunção erétil (DE) ⁽¹⁷⁰⁾. Atualmente, não existem mais dúvidas quanto à eficácia e a segurança dos inibidores da fosfodiesterase tipo 5 (iPDE5) quando utilizados para o tratamento da disfunção erétil vasculogênica, o que inclui os pacientes hipertensos ^(14,21-25). No entanto, o uso contínuo, por tempo prolongado, objetivando o tratamento da pressão arterial sistêmica com essa classe de medicamentos, ainda não foi relatado. Além disso, até onde vai o nosso conhecimento, o presente estudo é o primeiro a avaliar a função endotelial microvascular peniana antes e após o tratamento com um iPDE5, em uso contínuo, em pacientes hipertensos.

Esse estudo avaliou o efeito agudo e crônico do citrato de sildenafil em pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial primária e com disfunção erétil de etiologia vasculogênica. Ficou demonstrado, que a sildenafil 100 mg em dose única foi capaz de melhorar, de forma significativa, a função do endotélio microvascular peniano, assim como reduzir a pressão arterial sistêmica de homens hipertensos em tratamento prévio com fármacos anti-hipertensivos. Da mesma forma ficou registrado, que a sildenafil 50 mg, duas vezes ao dia por 30 dias, quando comparado ao placebo, melhorou a função do endotélio microvascular peniano e reduziu a pressão arterial sistêmica de homens hipertensos. No entanto, a função endotelial microvascular sistêmica não se alterou com o uso agudo ou crônico da sildenafil na população estudada.

5.1 Análises dos dados clínicos e laboratoriais e correlações com a síndrome metabólica, função endotelial e disfunção erétil

No presente estudo, encontramos diferenças significativas nos dados antropométricos entre os grupos. Os hipertensos tinham o peso, índice de massa corporal (IMC) e circunferência abdominal aumentados, em relação ao grupo referência (normotensos). Estes achados estão de acordo com dados da literatura que revelam que a obesidade, e principalmente a obesidade central, pode contribuir para a disfunção endotelial e a disfunção erétil ⁽¹¹¹⁻¹¹⁴⁾.

A obesidade abdominal está associada à disfunção do endotélio microvascular por meio de mecanismos diretos, através da produção de adipocinas e citocinas pró-inflamatórias, tais como o interferon, interleucina e fatores de crescimento, que por sua vez induzem ao estresse oxidativo, levando à redução da biodisponibilidade do óxido nítrico; ou de forma indireta, favorecendo condições para o estado de resistência insulínica e fatores de risco correlatos ⁽²⁰⁴⁾.

O acúmulo de gordura abdominal é o principal responsável pelo hiperinsulinismo secundário e pela resistência insulínica que se associam à obesidade. Além disso, a dislipidemia associada à obesidade visceral está relacionada a níveis séricos elevados de triglicérides, baixos níveis de HDL colesterol e ainda de níveis elevados de PAI-1, acelerando o processo de aterosclerose e predispondo mais precocemente às doenças cardiovasculares ^(115,116).

Um estudo realizado em modelos de ratos obesos (OZR), portadores de hiperinsulinemia e níveis elevados de triglicérides, concluiu que a disfunção endotelial peniana, presente nestes animais, se correlacionava com baixos níveis de óxido nítrico e redução da função erétil ⁽¹⁰⁴⁾.

Tibirică et al.⁽³⁸⁾ publicaram um estudo que constatou que a resposta vasodilatadora microvascular dependente do endotélio, induzida pela ACh e pela técnica de HRPO, foi significativamente menor nos pacientes portadores da Síndrome Metabólica (SM), quando comparados a adultos jovens saudáveis.

A prevalência da SM aumenta com a idade ⁽¹¹⁷⁾, assim como a prevalência da DE. Vários estudos correlacionaram o diagnóstico da SM com a disfunção do endotélio vascular e com o diagnóstico de disfunção erétil de etiologia vasculogênica ⁽¹¹⁹⁻¹²⁵⁾.

No presente estudo, todos os pacientes hipertensos tinham diagnóstico de DE, uma vez que este era um critério para inclusão no estudo. Além do IMC e da medida da circunferência abdominal aumentados, os hipertensos também apresentavam níveis séricos de insulina, índice HOMA-IR e taxas de triglicérides significativamente maiores, em relação aos normotensos.

Uma meta-análise recentemente publicada por Besiroglu et al.⁽¹²⁵⁾, na qual foram incluídos oito estudos observacionais com um total de 12.067 participantes avaliados, revelou uma correlação direta no aumento da prevalência de DE com cada um dos componentes da SM, exceto com os níveis de HDL colesterol. No presente estudo, também não foi registrada diferença estatisticamente significativa dos níveis de HDL-C entre os grupos.

Esposito et al. ⁽¹²⁴⁾ compararam 100 homens com diagnóstico de SM a um grupo controle de 50 indivíduos, pareados para a mesma faixa etária. Eles registraram, que no grupo com SM a prevalência de DE foi significativamente maior do que no grupo controle. Também relataram que os níveis da proteína C reativa (PCR) estavam elevados no grupo com SM em relação aos controles. Entretanto, estes valores não alcançavam os níveis considerados anormais no que concerne ao aumento do risco cardiovascular. Outro estudo que encontrou valores significativamente elevados da PCR em pacientes com disfunção erétil foi o publicado por Vlachopoulos et al. ⁽¹⁴¹⁾. Eles compararam homens hipertensos com e sem disfunção erétil, e registraram valores aumentados da PCR nos hipertensos com disfunção erétil em relação àqueles sem DE.

No presente estudo, não foi registrada diferença estatisticamente significativa nos níveis de PCR entre os grupos. No entanto, alguns pontos em que os estudos diferem, talvez possam explicar as divergências nos resultados. Vlachopoulos não avaliou indivíduos normotensos. Além disso, havia um número maior de pacientes diabéticos no grupo de hipertensos com DE, o que também poderia explicar uma função endotelial mais comprometida nesse grupo. No presente estudo, o diagnóstico de diabetes foi um critério de exclusão. Ainda é relevante comentar que quanto à avaliação do escore de função erétil os grupos eram bem diferentes no estudo de Vlachopoulos; nos hipertensos com DE o escore do IIEF5 foi de 12 (10-15) pontos contra 22,5 (22-24) pontos nos hipertensos sem disfunção. No presente estudo o escore do IIEF dos hipertensos com DE foi de 17 (15-19) e 66% dos 50 pacientes avaliados tinham DE quantificada como leve, demonstrando que o grau de DE não era tão grave quanto aquele registrado no estudo de Vlachopoulos.

Diferente dos achados descritos acima, um estudo de coorte envolvendo 988 homens saudáveis, profissionais de saúde, com idade entre 46 e 81 anos, correlacionou fatores de risco CV e os biomarcadores da aterosclerose, entre eles a proteína C reativa. Após cinco anos de acompanhamento, embora tenha sido registrada uma piora da função sexual nesse grupo, não houve associação entre os diferentes graus de disfunção erétil relatados com os marcadores inflamatórios ⁽²⁰⁵⁾.

No presente estudo a taxa de microalbuminúria foi significativamente maior nos pacientes hipertensos do que nos normotensos. Estes achados estão de acordo com o estudo de Busari et al. ⁽²⁰⁶⁾ que avaliaram 81 homens hipertensos e 75 normotensos com uma média de idade de $53,8 \pm 5,6$ e $51,2 \pm 7,1$, respectivamente. A DE foi constatada em 32,1% dos hipertensos e 16% dos normotensos e taxa de microalbuminúria foi significativamente maior nos hipertensos do que nos normotensos.

Outro estudo que também avaliou a microalbuminúria em pacientes com DE, incluiu 29 pacientes diagnosticados como de origem vasculogênica e 49 considerados com DE não vasculogênica. Para a definição dos dois grupos, eles usaram o ecocardiograma com Doppler colorido para examinar as artérias cavernosas em condição basal e após a injeção intracavernosa de 10 µg de prostaglandina E1. Os pesquisadores registraram que as taxas de microalbuminúria não foram significativamente diferentes entre os dois grupos ⁽²⁰⁷⁾.

Portanto, os resultados do presente estudo estão de acordo com grande parte dos estudos previamente publicados, que evidenciam uma forte correlação entre disfunção erétil e disfunção endotelial e destas, com a resistência insulínica e com a Síndrome Metabólica.

5.2 Efeito do citrato de sildenafil sobre os níveis de pressão arterial sistêmica

No presente estudo foram analisados os efeitos agudo e crônico do citrato de sildenafil (SIL) na pressão arterial sistêmica, notando-se respostas distintas relacionadas ao tempo de uso desta medicação. Quando foram analisados os valores da pressão arterial medida na sala de exame de fluxometria microvascular, antes e 1 h após a administração de 100 mg de SIL por via oral, foram registradas reduções significativas da PAS e da PAD nos normotensos e nos hipertensos, após o uso de SIL, com maiores reduções da PAS observadas no grupo de hipertensos.

Michael Prisant ⁽²⁰⁸⁾ também registrou redução tanto da PAS quanto da PAD, em indivíduos saudáveis, que fizeram uso dos seguintes inibidores da PDE5: sildenafil 100 mg - 3,7/-3,6 mmHg, vardenafila 20 mg -7,5/-8 mmHg e tadalafila -1,6/-0,8 mmHg. Zusman et al. ⁽²⁰⁹⁾ registraram reduções de -10,2/-6,8 mmHg nas PAS e PAD, respectivamente, em indivíduos saudáveis, após o uso de 100 mg da sildenafil, por via oral. Oliver et al. ⁽²⁸⁾ documentaram uma redução na PAM de $-8,0 \pm 1,5$ mmHg, com esta mesma dose, em pacientes hipertensos que não faziam uso de medicamentos anti-hipertensivos.

Vardi et al. ⁽¹⁹⁰⁾ avaliaram 22 pacientes hipertensos tratados e 27 indivíduos normotensos e para tal usaram a monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) em duas ocasiões. Na primeira noite os voluntários não usaram a sildenafil e na segunda, eles fizeram uso de 100 mg de SIL por via oral. A PAS reduziu em média -3,7 e -8,5 mmHg, enquanto a PAD reduziu -3,6 e -5,7 mmHg, nos normotensos e hipertensos, respectivamente. Quando foram analisados os valores da PAM, apenas durante o período de vigília observou-se

redução dos níveis pressóricos nos hipertensos de -8,1 mmHg. Estes valores são muito semelhantes aos registrados no presente estudo, onde houve uma redução da PAM de -8,2 mmHg nos hipertensos.

Mahmud et al. ⁽¹⁹²⁾ avaliaram oito pacientes hipertensos e com disfunção erétil, com idade entre 57 e 76 anos, após o uso de 50 mg de sildenafil ou placebo. Todos os pacientes estavam em uso de fármacos anti-hipertensivos e com a PA controlada. Eles registraram uma redução máxima da PA (após 75 min da ingestão de SIL ou placebo) de -24,0±10 vs. -6,0±8 mmHg na PAS e de -8,0±5 vs. -3,0±2 mmHg na PAD. Os pesquisadores observaram que mesmo naqueles pacientes em que houve uma queda significativa da PA, esta não foi acompanhada de hipotensão postural ou sintomática.

No presente estudo, não comparamos o efeito agudo de SIL com placebo, no entanto, também não registramos hipotensão postural nos hipertensos que estavam em uso de fármacos anti-hipertensivos após o uso de 100 mg de SIL, embora os níveis de redução tenham sido inferiores aos encontrados pelo grupo de Mahmud. A redução média da PAS nos hipertensos foi de -12,1±11,0 mmHg e da PAD de -6,2±8,1 mmHg.

O efeito agudo da sildenafil também foi analisado em pacientes com hipertensão arterial resistente por Quinaglia et al. ⁽⁸⁹⁾ Eles avaliaram 26 pacientes com média de 57±8,2 anos de idade e PA controlada através da MAPA (PAS=131,2±18,3 mmHg e PAD=78,0±13,7 mmHg). Os voluntários fizeram uso de doses crescentes da sildenafil, por via oral, 37,5, 50 e 100 mg, com intervalos de 30 min entre elas. A redução mais pronunciada da PAM (-9,0 mmHg), assim como uma diminuição significativa da resistência vascular periférica, ocorreu com a dose de 37,5 mmHg. Não foram registradas reduções adicionais com a administração das doses de 50 e 100 mg, embora os valores de redução da PA tenha se mantido, em relação aos níveis basais e em relação ao placebo, até o final do protocolo. Nesse estudo, também foi demonstrada uma melhora da função diastólica ventricular esquerda após o uso da sildenafil. Os autores concluíram, que a redução da pressão arterial sistêmica induzida pelo efeito agudo da sildenafil, provavelmente se deveu à redução da resistência vascular periférica associado à melhora do relaxamento miocárdico do ventrículo esquerdo.

Achados semelhantes foram descritos por Jackson et al. ⁽²¹⁰⁾ em voluntários saudáveis. Esses pesquisadores relataram redução da resistência vascular periférica e da pressão arterial sistêmica (-10/-7 mmHg), após o uso de 100 ou 200 mg de SIL. Também observaram que não houve redução adicional da pressão arterial com doses maiores que 100 mg de SIL.

No presente estudo, também foi avaliado o efeito da sildenafil em uso contínuo, nos pacientes hipertensos, sobre a PA medida no consultório e nas médias da MAPA 24 horas. A

pressão arterial sistólica e diastólica, medida no consultório, reduziu de forma significativa após o tratamento com a sildenafil por 30 dias. No entanto, a redução dos níveis tensionais após o uso do placebo foi pequena e não significativa.

A análise dos dados da MAPA mostrou comportamento semelhante para os valores das médias da PA de 24 h, vigília e sono, notadamente para as médias de PAD, que reduziram de forma significativa. As médias de PAS também reduziram, porém não de forma significativa. Os valores de redução tanto da PAS quanto para a PAD, após o uso do placebo, foram irrelevantes e não significativos.

Embora os níveis de redução da PA com o uso contínuo da sildenafil, no presente estudo, tenham sido pouco expressivos, eles foram equivalentes àqueles quando se mantém uma dieta com 6,0 g de sal por dia, que de acordo com os registros do “Sodium Collaborative Research Group”⁽²¹¹⁾, foi capaz de reduzir os níveis de pressão arterial sistólica em -2,1 mmHg. Limitar o consumo de bebidas alcoólicas a quantidades moderadas também é capaz de reduzir os níveis da pressão arterial sistólica de 2 a 4 mmHg⁽¹²⁹⁾. Da mesma forma, reduzir o peso corporal, considerado uma das intervenções mais importantes para o controle da pressão arterial, também não determina grandes reduções nos níveis pressóricos. Uma meta-análise⁽²¹²⁾ que envolveu 25 estudos e um total de 4.874 participantes mostrou que reduzir o peso em 5,1 Kg resultou em uma queda na PAS de 4,4 mmHg e na PAD de 3,6 mmHg. Nesta direção, vale ressaltar que reduzir a PAM em 2 mmHg, em uma dada população, seria o suficiente para reduzir em 17% a prevalência de acidente vascular cerebral⁽²¹³⁾. Portanto, o conceito de que mesmo uma pequena redução na pressão arterial é capaz de diminuir de forma significativa o risco CV encontra-se bem documentado na literatura há muitos anos^(131,132).

O primeiro ensaio clínico que avaliou o efeito crônico do citrato de sildenafil em pacientes hipertensos foi publicado por Oliver et al.⁽²⁸⁾ em um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego e controlado com placebo. Nesse estudo foi avaliado o comportamento da pressão arterial em 22 indivíduos hipertensos, não tratados e com média de idade de 60 ± 3 anos. Após 16 dias de tratamento com a sildenafil, na dose de 50 mg três vezes ao dia, eles registraram uma redução de $-7 \pm 1,9$ mmHg na média de PAS de 24h e de $-5 \pm 1,1$ mmHg na média de PAD de 24 h. Os níveis de redução nas médias de PA na vigília foram de $-8 \pm 2,0$ mmHg e $-6 \pm 1,1$ mmHg para a PAS e PAD, respectivamente e nas médias do sono, a PAS reduziu $-5 \pm 1,9$ mmHg e a PAD $-4 \pm 1,3$ mmHg. Estes valores, maiores do que os registrados no presente estudo, talvez se justifiquem pela menor população analisada pelo grupo de Oliver e por não estarem em uso de fármacos anti-hipertensivos. As médias da PA

basal eram mais elevadas do que no presente estudo: $153 \pm 1,7$ vs. $144,6 \pm 16,5$ mmHg, para PAS e de $92 \pm 1,4$ vs. $85,8 \pm 9,1$ mmHg para PAD. Talvez uma dose maior da sildenafil (150 mg por dia), utilizada no estudo de Oliver, possa também ter contribuído, embora estudos prévios já tivessem demonstrado não haver redução adicional da PA com doses maiores que 100 mg ⁽²¹⁰⁾. Outro fator que parece ser relevante é quanto ao tempo de tratamento. Eles usaram a sildenafil por 16 dias apenas, enquanto nossos pacientes foram tratados por 4 semanas.

Behling et al. ⁽²¹⁴⁾ também registraram redução significativa da PAM 1 h após o uso da sildenafil em relação ao placebo; no entanto, após 4 semanas de tratamento com SIL (50 mg, 3 vezes ao dia), esta redução na PA deixou de ser significativa.

Portanto, parecem existir respostas diferentes quanto ao efeito agudo e o uso contínuo da sildenafil sobre a pressão arterial sistêmica. No presente estudo, após o uso de 100 mg da sildenafil, a PA reduziu de forma significativa, notadamente nos hipertensos tratados em relação aos normotensos. Esta diferença na resposta entre os dois grupos, talvez possa ser justificada pelo fato de que os hipertensos, embora tratados, tinham níveis mais elevados da pressão arterial. Além disso, a associação de SIL aos fármacos anti-hipertensivos utilizados pelos pacientes hipertensos teria um efeito sinérgico, potencializando o efeito hipotensor do tratamento vigente. Um fato que chama atenção, observado em praticamente todas as publicações prévias, é que, após a dose única da sildenafil, a PAS reduz de forma mais significativa do que a PAD. É possível que a sildenafil, a semelhança dos nitratos, melhore a complacência arterial através da via NO-GMPc (ao inibir a enzima PDE5), assim reduzindo a pressão arterial central ⁽¹⁹⁴⁾. Esta hipótese, também explicaria o grande sinergismo observado entre estes dois fármacos, provocando acentuada queda da pressão arterial, quando são utilizados de forma concomitante ⁽¹⁹⁵⁾. Também já foram descritos, em estudos prévios, que a redução da PA induzida pelo efeito agudo da sildenafil provavelmente se deve à redução da resistência vascular periférica ^(89,210) associado à melhora do relaxamento miocárdico do ventrículo esquerdo ⁽⁸⁹⁾.

Após o uso contínuo da sildenafil, por 30 dias, foi observado que a pressão arterial também reduziu, no entanto esta redução foi inferior àquela observada com a dose única de 100 mg, notadamente da PAS. Esta diferença foi ainda mais evidente quando analisamos os dados da MAPA, em que os níveis de PAS não reduziram de forma significativa em relação ao placebo, fato que não ocorreu com a PAD. Estes achados poderiam ser explicados por uma possível tolerância à sildenafil. No entanto, uma publicação única ⁽²¹⁵⁾ que descreve a taquifilaxia à sildenafil não apresentou propostas robustas a essa hipótese, enquanto outros

estudos que avaliaram o uso contínuo de SIL no tratamento da hipertensão arterial pulmonar não confirmam esta teoria ^(216,217).

Contudo, a diferença entre o efeito agudo e crônico da sildenafil sobre a pressão arterial sistêmica ainda não está bem esclarecido, necessitando de ensaios que incluam um maior número de pacientes e tempo de tratamento mais prolongado.

5.3 Efeitos do citrato de sildenafil no endotélio microvascular

5.3.1 Na microcirculação peniana

Os mecanismos de ação pelos quais os iPDE5 atuam no endotélio vascular já foram exaustivamente estudados ^(31-34, 94-97). Também já foi demonstrado que a melhora da qualidade da ereção peniana, observada após a administração dos iPDE5, é causada pela amplificação da vasodilatação mediada pelo óxido nítrico devido à inibição da degradação do GMPc nas células musculares lisas dos corpos cavernosos ^(218,219). No entanto, talvez por dificuldades metodológicas, a avaliação da função endotelial peniana e as respostas relativas às ações desta classe de fármacos no endotélio vascular dos corpos cavernosos ainda foi pouco explorada.

A avaliação da função do endotélio vascular peniano foi inicialmente relatada por Virag et al.^(39,40) Eles registraram a medida do diâmetro da artéria cavernosa, através do ultrassom, antes e após cinco minutos de oclusão do fluxo peniano, utilizando um esfigmomanômetro especial. Posteriormente, Mazo et al.⁽⁴¹⁾ modificaram esta técnica e associaram à oclusão peniana a injeção de prostaglandina E1 (PGE1) no corpo cavernoso. Naquele mesmo ano, este mesmo grupo ⁽⁴²⁾ publicou um estudo prospectivo, duplo cego e controlado por placebo, que envolveu 135 homens com disfunção erétil e 30 controles saudáveis. Este estudo demonstrou aumento significativo do diâmetro da artéria cavernosa, 1 h após o uso do iPDE5 (vardenafila 20mg), em relação ao placebo.

Nesta mesma época, outro estudo realizado por Sighinolfi et al. ⁽⁴³⁾ também utilizou a ultrassonografia com Doppler colorido associado à injeção de PGE1 no pênis, antes e após o uso de SIL 100 mg duas a três vezes por semana. Este estudo demonstrou uma melhora do fluxo vascular peniano após o tratamento.

Recentemente, um estudo publicado por pesquisadores chineses ⁽⁴⁴⁾ avaliou a qualidade da ereção em 164 homens com diagnóstico de disfunção erétil, através do Doppler colorido, após a injeção intra-carvenosa de uma solução de papaverina, PGE1 e lidocaína, antes e após o uso de sildenafil na dose de 50 ou 100 mg. Eles sugeriram que esta metodologia poderia prever a resposta ao tratamento com um iPDE5. No entanto, este estudo não incluiu um grupo controle, nem o uso de placebo para avaliação dos resultados.

Outro estudo conduzido por pesquisadores egípcios, ⁽⁴⁵⁾ apesar de usarem metodologia semelhante (avaliação da função vascular peniana através da ultrassonografia com Doppler, associada à injeção intra-cavernosa de uma solução contendo papaverina, fentolamina e PGE1), concluiu que esta técnica não foi um bom preditor da função vascular peniana. No entanto, este foi um estudo aberto, que não teve grupo controle, além de não ser controlado com placebo.

De grande importância é salientar, que os estudos supracitados incluíram o uso de substâncias vasoativas como a papaverina, fentolamina e a PGE1 em seus protocolos de avaliação e que o uso desses fármacos têm o potencial de induzir efeitos colaterais graves como o priapismo, dor intensa no pênis e até fibrose peniana.

Em 2015, nosso grupo publicou o primeiro estudo ⁽⁴⁶⁾ em que foi avaliada a reatividade microvascular peniana através da técnica de fluxometria por laser speckle (LSCI) acoplado à iontoforese cutânea de acetilcolina. Nesse estudo foram analisados voluntários saudáveis, antes e após a dose de 100 mg de sildenafil, por via oral. Ficou demonstrado que a iontoforese cutânea de acetilcolina induziu aumento significativo no fluxo microvascular peniano tanto antes quanto após a administração da sildenafil. Após o uso da sildenafil, houve uma melhora significativa do fluxo microvascular peniano, tanto dos valores basais quanto dos valores de pico da condutância microvascular cutânea (CVC), assim como da área sob a curva da vasodilatação microvascular induzida pela ACh, em relação aos valores registrados antes do uso de SIL. Esses resultados sugerem fortemente ser o LSCI, acoplado à iontoforese cutânea de acetilcolina, efetivo para a avaliação não invasiva da função microvascular peniana.

Recentemente, um estudo realizado em ratos, ⁽²²⁰⁾ usou a técnica de LSCI para avaliar a perfusão microvascular peniana (PMP) antes e após a injeção intra-cavernosa de PGE1 e ACh e compararam esses dados com os resultados obtidos com a medida do fluxo através do Doppler. Os autores concluíram que o LSCI é uma técnica não invasiva, operador independente, capaz de identificar alterações microcirculatórias em modelos animais e factível para o diagnóstico da disfunção erétil vasculogênica nos homens. Este estudo, embora

realizado em animais, confirmou os achados anteriormente publicados pelo nosso grupo ⁽⁴⁶⁾. É muito importante ressaltar que, no referido estudo, conseguimos demonstrar que o LSCI acoplado à iontoforese de acetilcolina foi capaz de demonstrar a resposta do endotélio microvascular peniano antes e depois da administração de um iPDE5, sem a necessidade da utilização de injeção intra-cavernosa de drogas vasoativas.

Em 2018, nosso grupo publicou outro estudo ⁽¹³⁹⁾ que avaliou a resposta do endotélio microvascular peniano, após a administração de 100 mg de sildenafil, em pacientes com hipertensão arterial primária e diagnóstico de disfunção erétil. Nesse estudo foram incluídos 34 pacientes hipertensos, em uso de medicação anti-hipertensiva e 33 voluntários normotensos, pareados para a mesma faixa etária. Os resultados desse estudo demonstraram que: i) de uma forma geral, a vasodilatação microvascular peniana dependente do endotélio estava reduzida nos pacientes hipertensos, comparados aos indivíduos normotensos; ii) a administração de 100 mg de sildenafil aumentou de forma significativa a vasodilatação microvascular peniana nos indivíduos normotensos e nos pacientes hipertensos; iii) os voluntários normotensos apresentaram valores mais elevados do pico máximo da vasodilatação microvascular induzida pela iontoforese de ACh no pênis após a administração da sildenafil do que os pacientes hipertensos.

A resposta do endotélio vascular peniano ao uso crônico, diário, dos iPDE5 foi investigada somente em 2009 por Vardi et al.⁽²²¹⁾. Eles avaliaram 53 pacientes com disfunção erétil, com idade média de $55,4 \pm 2$ anos, em um estudo duplo cego, no qual os participantes foram tratados com sildenafil 50 mg por dia por quatro semanas ou placebo. A análise da função endotelial peniana foi feita através da pletismografia, tendo sido considerados para a avaliação da função endotelial, o pico máximo do fluxo e a área sob a curva (ASC) induzida pela hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO), usando-se para tal um esfigmomanômetro adaptado. Após o tratamento por quatro semanas com SIL, ocorreu aumento significativo do fluxo sanguíneo peniano, assim como redução significativa da resistência vascular no pênis, porém não com o uso do placebo. Os valores do fluxo sanguíneo máximo peniano e da ASC, avaliados através da HRPO, também aumentaram de forma significativa após o tratamento com a sildenafil, mas não com o placebo. Os pesquisadores concluíram que o uso diário da sildenafil por quatro semanas, aumentou o fluxo sanguíneo peniano e melhorou, de forma significativa, a função endotelial das artérias dos corpos cavernosos.

No presente estudo foram analisadas as respostas do endotélio microvascular peniano após a administração aguda e crônica do citrato de sildenafil em hipertensos com DE. Na análise do efeito agudo de SIL os valores basais da CVC foram significativamente maiores

nos normotensos do que nos hipertensos, aumentaram de forma significativa após a administração da sildenafil nos dois grupos, mas continuaram significativamente maiores nos normotensos. Os valores de pico da CVC, em resposta a iontoforese de ACh, aumentaram de forma significativa nos dois grupos, em relação aos valores basais, no entanto estes valores foram significativamente mais elevados nos normotensos, tanto antes quanto após a administração da sildenafil. Estes resultados sugerem que a função do endotélio microvascular peniano dos indivíduos normotensos esteja mais bem preservada do que a dos hipertensos.

Importante ressaltar que os pacientes hipertensos tinham peso, índice de massa corporal e medida da circunferência abdominal, significativamente maiores em relação aos normotensos. Além disso, os parâmetros laboratoriais que caracterizam a resistência insulínica e o diagnóstico de SM como a insulina de jejum, índice HOMA-IR e níveis séricos de triglicérides elevados, também eram significativamente maiores nos hipertensos. Estes achados, como já muito bem documentado na literatura, ^(38,111-117,119,204) também poderiam explicar uma resposta do endotélio vascular deprimida nestes pacientes hipertensos, em relação aos normotensos.

Demir et al.⁽²²²⁾ investigaram a taxa do fluxo arterial peniano em 61 pacientes com disfunção erétil, com e sem diagnóstico de SM, através da ultrassonografia com Doppler no pênis. Eles encontraram uma correlação inversa entre a velocidade de pico sistólico do fluxo peniano nos pacientes com DE e diagnóstico de SM, indicando uma capacidade de relaxamento reduzida do músculo liso da artéria peniana, sugerindo uma produção diminuída de substâncias vasoativas dependente do endotélio nestes pacientes. Estes achados também estão de acordo com Corona et al.⁽²²³⁾ que publicaram que a SM está associada a uma maior gravidade da disfunção erétil.

No entanto, no atual estudo, quando foram analisados os valores da área sob a curva da CVC nos dois grupos (hipertensos vs. normotensos), observou-se que não houve diferença estatística na resposta à administração aguda da sildenafil entre os grupos. Uma possível explicação para estes achados é o fato de que o grupo de hipertensos encontrava-se com a pressão arterial controlada, com fármacos anti-hipertensivos, o que poderia interferir de forma positiva para uma melhor resposta à reatividade microvascular peniana. Muitos estudos já confirmaram que os inibidores do sistema renina angiotensina, ^(11,149-157) assim como as estatinas ^(11,158-163) são fármacos capazes de restaurar a função do endotélio vascular, podendo até agir de forma sinérgica com os iPDE5 ⁽¹⁶²⁾. No presente estudo, a maioria dos pacientes hipertensos estava em uso de BRA e um terço deles fazia uso regular de estatinas.

Toblli et al. ⁽²²⁴⁾ investigaram as alterações funcionais e estruturais ocorridas no tecido cavernoso de ratos geneticamente hipertensos (SHR) após o tratamento por seis meses com a combinação de losartana e sildenafil. Entre outros achados positivos este estudo revelou, que os SHR que foram tratados com esta associação, apresentaram uma resposta ao relaxamento vascular induzido pela ACh significativamente melhor do que a dos ratos não tratados e daqueles SHR tratados com monoterapia.

No estudo atual, os efeitos da sildenafil na função do endotélio microvascular peniano também foram analisados após o uso contínuo de SIL e foram comparados com o uso do placebo durante o mesmo período de avaliação. Após os 30 dias de tratamento com a sildenafil na dose de 50 mg duas vezes ao dia, registrou-se um aumento significativo no valor basal da CVC, no pico da CVC, assim como da ASC da vasodilatação microvascular. No entanto, o uso contínuo por 30 dias com o placebo não foi capaz de modificar estes parâmetros.

Assim, como ficou demonstrado em estudo preliminar, que a sildenafil em dose única de 100 mg foi capaz de melhorar a função microvascular peniana, avaliada pela técnica de LSCI acoplada à iontoforese de acetilcolina, tanto em pacientes hipertensos como nos indivíduos normotensos, no presente estudo estes resultados foram confirmados. Além disso, também pôde ser constatado, de forma inédita, que a resposta da microcirculação peniana ao uso contínuo de SIL, por esta mesma técnica, em pacientes hipertensos e com disfunção erétil, foi muito superior ao placebo.

5.3.2 Na microcirculação sistêmica

No presente estudo, em contraste com os resultados obtidos na microcirculação peniana, as respostas vasodilatadoras sistêmicas induzidas pela acetilcolina não se modificaram após a administração aguda da sildenafil; isto é, os valores da CVC basal, do pico de CVC, assim como da área sob a curva da CVC, não aumentaram após o uso de 100 mg da sildenafil. Os valores do fluxo máximo e da ASC, avaliados pelo teste de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO), também não se elevaram nem nos indivíduos normotensos nem nos pacientes hipertensos. De fato, de relevância estatística, foram diferentes entre os grupos apenas os valores de pico da CVC após o uso de SIL; ou seja, o valor de pico da CVC

induzido pela iontoforese de ACh no antebraço foi significativamente maior nos normotensos do que nos hipertensos, após o uso de SIL. Este achado poderia ser explicado por uma função microvascular comprometida nos hipertensos, que também tinham mais resistência insulínica em relação aos normotensos. Dessa forma, poderia se justificar que a reatividade microvascular sistêmica encontra-se deprimida nestes pacientes, mesmo após o uso da sildenafil.

Quanto à avaliação da função microvascular sistêmica, após o uso contínuo da sildenafil, os resultados foram semelhantes. Os valores da CVC basal, do pico de CVC, assim como da ASC da vasodilatação microvascular, em resposta à iontoforese de ACh, não se elevaram após os 30 dias de tratamento com SIL, como seria esperado. O mesmo ocorreu quanto aos parâmetros avaliados pela HRPO no antebraço.

Estes resultados, aparentemente discrepantes, também foram relatados por outros pesquisadores, embora por diferentes métodos de avaliação.

Quinaglia et al. ⁽⁸⁹⁾ testaram o efeito agudo da sildenafil em pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial resistente através do ultrassom. Nesse estudo, os índices de função endotelial, medidos por FMD, não revelaram diferenças estatísticas após a administração aguda da sildenafil. Embora controlado com placebo, esse estudo, não incluiu um grupo controle de pacientes normotensos para que pudéssemos comparar com os nossos dados.

Os efeitos agudos de SIL na função endotelial sistêmica, em voluntários saudáveis, foram descritos por Dishy et al.⁽²²⁵⁾. Eles registraram, que a dilatação mediada pelo fluxo (FMD) da artéria braquial, assim como os parâmetros avaliados pela HRPO, no antebraço, não aumentavam de forma significativa após a administração aguda de SIL em homens saudáveis. Por outro lado, também ficou demonstrado nesse estudo, que a administração da sildenafil potencializou a resposta vasodilatadora da nitroglicerina, cujo mecanismo de vasodilatação é endotélio independente. Os achados de Dishy, de que o uso de SIL não foi capaz de promover aumento do fluxo sanguíneo máximo, nem da ASC medidos pela HRPO no antebraço, estão de acordo com os encontrados no presente estudo, embora nossa avaliação tenha abordado a função microvascular e não a resposta das artérias de condutância do antebraço.

Dessa forma, uma vez que a resposta do endotélio à HRPO é, pelo menos parcialmente, mediada pelo óxido nítrico ⁽²²⁶⁾, é plausível acreditar que o efeito à administração da sildenafil não é o mesmo nos diferentes tecidos e órgãos. O suporte a essa especulação encontra-se baseado no trabalho de Corbin et al. ⁽²²⁷⁾. Eles examinaram a

distribuição e atividade da PDE5 em diferentes tecidos e encontraram que os níveis mais elevados desta enzima encontravam-se nos corpos cavernosos do pênis. Dessa forma, a ação predominante dos iPDE5 no endotélio vascular dos corpos cavernosos, resultaria no aumento da biodisponibilidade do NO, com consequente elevação dos níveis de GMPc, proporcionando importante vasodilatação local e melhora da função erétil ⁽²²⁸⁾.

Outra teoria que poderia explicar a melhor resposta do endotélio vascular peniano em relação ao leito vascular periférico é de que a sensibilidade ao NO difere entre esses leitos vasculares. O NO desempenha um importante papel na regulação do fluxo sanguíneo basal da circulação sistêmica. No entanto, a produção basal do NO é baixa no endotélio peniano, uma vez que esta não seria relevante para a manutenção do tônus basal deste órgão. Assim, em resposta à sildenafil, após estímulo sexual, ocorreria uma expressiva liberação aguda do óxido nítrico no corpo cavernoso. Dessa forma, seria provável que em condições basais, o NO pudesse diminuir a expressão da eNOS em um controle de *feedback* negativo na circulação peniana, de forma que um leito vascular que é exposto ao NO apenas intermitentemente como o corpo cavernoso, poderia ter uma resposta aumentada ⁽²²⁵⁾.

Vardi et al. ⁽²²¹⁾ também não registraram melhora da função vascular sistêmica após o uso contínuo com SIL. Eles avaliaram 53 pacientes com disfunção erétil, tratados com SIL 50 mg por dia, por quatro semanas, através da técnica de pletismografia sistêmica e peniana. Esses pesquisadores relataram que apesar do registro do aumento significativo do fluxo sanguíneo e redução da resistência vascular periférica, analisados no antebraço, eles não observaram mudanças na função do endotélio vascular sistêmico após as quatro semanas de tratamento com SIL.

Apesar de todas estas evidências, se o uso da sildenafil, de forma isolada ou em associação com outros fármacos de ação cardiovascular exerce, ou não, efeito positivo na função do endotélio vascular sistêmico, ainda é controverso. Poucos estudos demonstraram respostas favoráveis à primeira hipótese.

Yugar-Toledo et al. ⁽⁸⁸⁾ avaliaram 25 pacientes com hipertensão arterial resistente quanto à função vascular dependente e independente (mediada por trinitrato de glicerina) do endotélio, através da ultrassonografia com Doppler. Eles observaram que após o uso da sildenafil 50 mg o diâmetro da artéria braquial aumentou e que esta resposta foi mais significativa após o uso do nitrato.

Desouza et al. ⁽²²⁹⁾ em um estudo prospectivo, randomizado, controlado por placebo e do tipo cruzado, demonstraram que uma dose de SIL 25 mg por dia, foi capaz de melhorar os parâmetros da função endotelial sistêmica, medidos pela FMD de forma aguda (1 h após SIL)

e crônica (após duas semanas de tratamento), em 14 pacientes diabéticos e com disfunção erétil. No entanto, é importante considerar, na análise desses resultados, o número reduzido de voluntários e o curto período de tempo utilizado para a avaliação do efeito crônico de SIL.

Blaise et al. ⁽³³⁾ testaram os efeitos da sildenafil na dose de 50 e 100 mg, em voluntários saudáveis, através da fluxometria por laser Doppler acoplado a testes de reatividade cutânea (HRPO e hiperemia térmica). Após a administração da sildenafil houve aumento na amplitude e na duração da HRPO; no entanto, não houve resposta favorável após estímulos térmicos.

No presente estudo, a avaliação dos parâmetros medidos pela HRPO, não aumentaram após a administração de SIL 100mg, nem no grupo de normotensos, nem nos pacientes hipertensos. Entretanto, nesse estudo, os pacientes foram avaliados através do LSCI e não pelo laser Doppler. Embora estas técnicas tragam algumas semelhanças entre elas, a fluxometria por laser speckle parece ter algumas vantagens. A iontoforese com ACh não foi realizada nas pesquisas de Blaise, de forma a permitir a comparação com os nossos resultados. Importante também ressaltar que nos estudos de Blaise foram incluídos apenas 10 voluntários, enquanto no presente estudo foram analisados os dados de 50 indivíduos normotensos e 57 hipertensos.

Roustit et al. ⁽³⁴⁾ demonstraram que uma dose oral de 100 mg de sildenafil foi capaz de aumentar a perfusão da pele dos dedos durante o resfriamento local em pacientes com fenômeno de Raynaud primário. Eles atribuíram este fato a um aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico induzido pelo iPDE5.

Gooding et al. ⁽²³⁰⁾ relataram que a hiperemia cutânea induzida pelo estímulo térmico local no antebraço foi prolongada, embora não potencializada, pela administração da sildenafil. No entanto, diferente dos achados de Roustit e Gooding, que utilizaram estímulos térmicos, no presente estudo, o estímulo farmacológico com acetilcolina (iontoforese de ACh) foi utilizado para a avaliação da reatividade microvascular sistêmica após a administração da sildenafil.

Portanto, as divergências de resultados apresentados nos vários estudos supracitados podem residir na multiplicidade de protocolos e na diversidade de métodos utilizados. Desta forma, poderíamos dizer que diferentes estímulos possam desencadear respostas distintas desencadeadas por mediadores endógenos diversos, que ainda não foram claramente determinados.

5.4 Efeitos do citrato de sildenafila na densidade capilar

O fato de que a redução da densidade capilar (rarefação) tem relação com a hipertensão arterial primária está há muito tempo estabelecido, assim como a ideia de que a rarefação capilar desempenha um importante papel no aumento da resistência vascular periférica⁽²³¹⁾.

Os mecanismos subjacentes à presença da rarefação capilar em pacientes hipertensos foram inicialmente estudados por Antonios et al.⁽⁶⁹⁾. Eles registraram uma densidade capilar basal significativamente reduzida em pacientes hipertensos em relação a indivíduos normotensos. Após o teste de oclusão venosa, a densidade capilar aumentou de forma significativa nos dois grupos; no entanto, a densidade capilar máxima permaneceu significativamente menor nos hipertensos em relação aos normotensos. Estes resultados permitiram que os pesquisadores sugerissem que a redução da densidade capilar nos hipertensos era causada por alterações estruturais (anatômicas), isto é, que se devessem muito mais à ausência de capilares do que à não perfusão dos mesmos (alterações funcionais).

Pouco tempo depois, Serné et al.⁽⁷⁴⁾ avaliaram a extensão da rarefação capilar estrutural versus funcional, em pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial primária não tratada, comparando-os com um grupo controle de normotensos. Eles examinaram a densidade capilar cutânea antes e durante HRPO (avaliação do recrutamento capilar) e observaram que em pacientes com hipertensão arterial primária, uma proporção menor do número máximo de capilares foi perfundida durante a HRPO, em relação aos indivíduos normotensos. Portanto, o recrutamento de capilares era menor nos hipertensos, o que poderia ser explicado tanto pela rarefação funcional quanto estrutural.

Os estudos acima mencionados foram realizados em pacientes hipertensos não tratados. No entanto, uma vez sugerido que a terapia anti-hipertensiva poderia prevenir ou reverter às mudanças funcionais e estruturais da microcirculação, muitos pesquisadores passaram a testar muitas possibilidades terapêuticas⁽⁷⁵⁾.

Rakusan et al.⁽⁷⁶⁾ demonstraram, que a associação de um inibidor da ECA (perindopril) com diurético (indapamida) foi capaz de aumentar a densidade capilar na microcirculação coronária de ratos SHR.

Posteriormente Debbabi e Tibiriça,⁽⁸⁰⁾ em um estudo transversal observacional, avaliaram a densidade capilar cutânea de 76 pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial

primária e que estavam com a pressão arterial controlada com diferentes classes de fármacos anti-hipertensivos, por pelo menos doze meses. Os hipertensos tratados foram comparados a um grupo de 24 pacientes hipertensos não tratados e a 70 indivíduos normotensos. Os pesquisadores observaram que a densidade capilar basal foi significativamente menor nos hipertensos não tratados do que nos hipertensos tratados e nos normotensos. O recrutamento capilar também foi maior nos hipertensos tratados do que nos não tratados e nos normotensos. Este estudo demonstrou a reversão tanto da rarefação capilar funcional quanto estrutural nos pacientes hipertensos adequadamente tratados. Importante ressaltar, que os valores registrados da densidade capilar cutânea funcional e estrutural em pacientes hipertensos tratados foram significativamente maiores quando comparados àquelas encontradas nos indivíduos normotensos. Estes resultados permitiram aos pesquisadores concluir, que a terapia anti-hipertensiva eficaz por tempo prolongado poderia reverter à rarefação estrutural dos capilares da pele, ao proporcionar a melhora da angiogênese que se encontra reprimida na hipertensão primária.

No presente estudo, os resultados foram de acordo com os achados de Debbabi. Antes do tratamento com SIL (na inclusão no estudo), a densidade capilar basal dos pacientes hipertensos tratados, foi significativamente maior do que aquela encontrada nos normotensos. Da mesma forma, o registro da capilaroscopia durante HRPO, também revelou um número maior de capilares nos pacientes hipertensos em relação aos indivíduos normotensos.

Mais recentemente, um grupo de estudos do Instituto Oswaldo Cruz ⁽²³²⁾ avaliou o efeito do tratamento crônico com bloqueadores adrenérgicos centrais (clonidina, rilmenidina ou moxonidina), na densidade capilar de ratos SHR. Todos os fármacos utilizados proporcionaram redução da pressão arterial, que foi acompanhada de reversão funcional e da rarefação estrutural dos capilares na pele e no músculo esquelético dos SHRs. Além disso, este trabalho traz outros resultados muito interessantes. Os SHR controles (não tratados), mostraram significativa redução da densidade capilar funcional, quando comparados ao grupo de ratos normotensos (WKY). Quando esses animais normotensos foram tratados com clonidina, eles apresentaram um aumento significativo na densidade capilar funcional em relação aos ratos normotensos controles (tratados com veículo). Além disso, no grupo de SHRs tratados com clonidina a densidade capilar, quantificada no músculo esquelético, também foi significativamente maior do que nos ratos normotensos. No grupo de SHRs tratados com clonidina, rilmenidina e moxonidina, a densidade capilar foi significativamente maior do que aquela registrada nos SHRs não tratados.

Anteriormente, este mesmo grupo já havia estudado o efeito crônico de diversos fármacos anti-hipertensivos na rarefação capilar de ratos SHR. Os animais foram tratados durante 28 dias com enalapril, losartana, atenolol ou nifedipino, resultando em uma redução da pressão arterial sistólica semelhante em todos os grupos. Os resultados deste estudo revelaram, que o tratamento com o atenolol não induziu nenhuma mudança funcional na densidade capilar desses animais; o enalapril aumentou significativamente a densidade capilar funcional apenas na pele, enquanto que a losartana e o nifedipino reverteram completamente à rarefação capilar funcional nos tecidos muscular e cutâneo. Os pesquisadores concluíram que esses resultados sugerem que diferentes classes farmacológicas de drogas anti-hipertensivas com efeito similar sobre a pressão arterial diferem em seus efeitos sobre a microcirculação⁽²³³⁾. No entanto, já foi demonstrado que o recrutamento capilar varia inversamente com os níveis de pressão arterial de 24 horas tanto em indivíduos normotensos quanto nos hipertensos,⁽²³⁴⁾ sugerindo que pelo menos em parte, o aumento da densidade capilar possa estar atribuído à redução da pressão arterial.

Recentemente, Kaiser et al.⁽²⁰¹⁾ analisaram se o tratamento por longo prazo, com um β -bloqueador (succinato de metoprolol) ou com um bloqueador do receptor de angiotensina (olmesartana medoxomila) poderiam reverter à disfunção microvascular de pacientes hipertensos. Eles avaliaram, de forma prospectiva, 44 pacientes hipertensos, comparando-os a 20 indivíduos normotensos, pareados para idade e sexo. Após seis meses de tratamento, a pressão arterial sistêmica atingiu níveis normais nos dois grupos. A densidade capilar basal e após HRPO, registrada antes da intervenção medicamentosa foi significativamente menor nos hipertensos do que nos controles. Após o tratamento, ocorreu aumento da densidade capilar basal e durante HRPO nos dois grupos de tratamento, sendo significativo apenas no grupo que recebeu o metoprolol, onde alcançou níveis semelhantes àqueles registrados no grupo controle. Este estudo confirma a presença de rarefação capilar em pacientes hipertensos e que o tratamento farmacológico, por longo prazo, com redução da pressão, foi capaz de restaurar a densidade e o recrutamento capilar.

No presente estudo, quando foram comparados os resultados do tratamento por 30 dias com a sildenafil ou com placebo, verificou-se que ambos os tratamentos resultaram em aumento significativo tanto da densidade capilar basal quanto após HRPO, embora este aumento tenha sido mais significativo durante HRPO. De forma surpreendente, a análise da densidade capilar basal e após o teste de HRPO realizada antes de cada tratamento com SIL ou placebo, ou seja, na inclusão e após o período de *washout*, revelou que houve uma melhora estatisticamente significativa da densidade capilar basal e do recrutamento capilar após a

terceira etapa de acompanhamento dos pacientes no estudo, em relação ao registrado na inclusão. Estes resultados sugerem a presença do efeito Hawthorne; ⁽²³⁵⁾ aquele em que os pacientes tendem a mudar seu comportamento por estarem sendo observados e cuidados de maneira especial no ambiente do estudo clínico, podendo apresentar respostas positivas a uma intervenção. Durante os três meses de participação nesse estudo, os pacientes tiveram ao menos sete visitas presenciais, sem contar os contatos telefônicos frequentes. Desta forma, poderíamos atribuir este aumento observado na melhora da rarefação capilar à maior aderência ao tratamento vigente da hipertensão arterial durante o período de acompanhamento clínico no estudo, e não ao uso temporário do placebo ou da sildenafila.

5.5 Óxido nítrico e seus metabólitos

Por causa da sua curta meia vida, devido à sua rápida oxidação, não é possível quantificar a geração do óxido nítrico (NO), assim como estabelecer uma correlação direta deste com as diversas doenças CV. Dessa forma, os níveis plasmáticos dos metabólitos estáveis do óxido nítrico, nitrito e nitrato ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$), vêm sendo usados como marcadores da biodisponibilidade sistêmica do NO ⁽²⁰³⁾. Já foi demonstrado que os níveis plasmáticos de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ refletem alterações na atividade da NO sintase endotelial (eNOS) em humanos ⁽²³⁶⁾ e que se correlacionam com os fatores de risco CV. Kleinbongard et al. ⁽²⁰³⁾ publicaram que os níveis de nitrato plasmático aumentam de forma proporcional ao número de fatores de risco CV apresentados por voluntários saudáveis. Todavia, ainda permanece controverso, se os níveis plasmáticos de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ seriam um marcador de função endotelial confiável em pacientes com distúrbios metabólicos e doenças CV, especialmente da HA ⁽²³⁷⁾. Os níveis de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, em pacientes hipertensos, já foram registrados como sendo menores que, ^(238,239) igual a ⁽²⁴⁰⁾ ou maiores que aqueles demonstrados em indivíduos normotensos ^(237,241). Um estudo de coorte, que recrutou 3.052 pacientes, revelou que as concentrações plasmáticas reduzidas de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ não se correlacionavam com os níveis de PA ⁽²⁴²⁾.

Curiosamente, já foi demonstrado que as concentrações plasmáticas de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ têm relação com os níveis plasmáticos de insulina de jejum e estão elevados nos pacientes hipertensos que apresentam resistência insulínica. Dessa forma, torna-se possível acreditar, que em pacientes hipertensos com resistência à insulina, o aumento nas taxas de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$

possa estar relacionado a uma resposta compensatória, no sentido de prevenir elevações ainda maiores da pressão arterial sistêmica ⁽²⁴⁰⁾.

Aumentos na atividade da via NO/GMPc têm sido relatados como ocorrendo em ratos geneticamente hipertensos, como um mecanismo compensatório do tônus vascular elevado ⁽²⁴³⁾. No entanto, a produção aumentada do NO foi menos eficiente em induzir vasodilatação em ratos hipertensos do que nos normotensos ⁽²⁴⁴⁾. Estudos experimentais sugerem que a atividade da via NO/GMPc está reduzida nos animais hipertensos, ^(245,246) mesmo quando a liberação do NO está aumentada. Desta forma, uma maior concentração plasmática de NO não está relacionada a um esperado acúmulo tecidual de GMPc, impedindo o relaxamento da musculatura lisa vascular ⁽²⁴⁷⁾.

Um estudo transversal realizado no Japão, ⁽²⁴⁸⁾ registrou níveis plasmáticos de NO₂⁻/NO₃⁻ significativamente elevados em pacientes hipertensos com múltiplos fatores de risco CV, quando comparado a um grupo controle de normotensos. No entanto, eles não encontraram diferença nos níveis de NO₂⁻/NO₃⁻ entre os normotensos e hipertensos sem comorbidades, sugerindo que a hipertensão, de forma isolada, não seria o principal fator determinante das concentrações plasmáticas de NO₂⁻/NO₃⁻. Os valores mais elevados de NO₂⁻/NO₃⁻ foram registrados nos hipertensos portadores de diabetes e dislipidemia. Os pesquisadores sugeriram que as concentrações elevadas de NO₂⁻/NO₃⁻ nestes pacientes possivelmente se expliquem por um aumento na expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOs), relacionado às alterações inflamatórias crônicas do endotélio vascular, associadas à hipercolesterolemia e ao diabetes.

Recentemente um estudo demonstrou que a hiperexpressão de iNOS em hipertensos seria responsável pela resposta atenuada da vasodilatação dependente do endotélio na microcirculação ⁽²⁴⁹⁾. O mecanismo que provavelmente contribua para a disfunção microvascular associada à hipertensão é o aumento da atividade da arginase mediada pela iNOs. O aumento da atividade da arginase já foi demonstrado em várias patologias que incluem a disfunção endotelial, hipertensão, a disfunção erétil e a própria idade. A arginase compete com a eNOs pelo substrato comum, a L-arginina, resultando na redução da biodisponibilidade do NO ⁽²⁵⁰⁾. Assim, a vasodilatação encontra-se atenuada em pacientes hipertensos devido a uma redução da resposta vasodilatadora NO-dependente ⁽²⁵¹⁾. De forma inversa, já foi demonstrado que a inibição da arginase, aumenta a atividade da eNOs e conseqüentemente a produção do NO, restaurando a resposta vasodilatadora dependente do endotélio ^(250,252).

No presente estudo, os níveis plasmáticos de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ foram avaliados em condição basal, isto é, no momento da inclusão dos voluntários no estudo e após os 30 dias de tratamento com sildenafil ou placebo. Infelizmente, não foi possível analisar as taxas de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ após a administração de 100 mg de sildenafil.

Os níveis plasmáticos de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ estavam elevados nos pacientes hipertensos em tratamento com fármacos anti-hipertensivos, comparados aos normotensos. Além disso, os valores da insulina plasmática de jejum e índice HOMA-IR foram significativamente maiores nos pacientes hipertensos em relação aos normotensos. Esses resultados confirmam os achados de estudos prévios, que mostraram que os níveis plasmáticos de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ estão elevados nos hipertensos com diagnóstico de resistência insulínica, o que poderia funcionar como um mecanismo de contra regulação, que visa impedir novos aumentos da resistência vascular periférica e da pressão arterial sistêmica ^(237,241).

Além disso, o uso de medicamentos anti-hipertensivos poderia responder por uma maior concentração sérica de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. Neste contexto, já foi demonstrado que o tratamento, por longo prazo, com inibidores da ECA aumentam os níveis plasmáticos de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ em pacientes hipertensos ^(253,254). Da mesma forma, aumentos significativos nas concentrações plasmáticas de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ foram registrados em hipertensos tratados com BRAs ⁽²⁵⁵⁾.

Takase et al. ⁽²⁵⁶⁾ registraram que os níveis de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ e do GMPc estavam significativamente reduzidos em indivíduos hipertensos não tratados em relação a indivíduos normotensos, porém o tratamento com drogas anti-hipertensivas como os bloqueadores dos canais de cálcio e inibidores da ECA, por 12 semanas, foi efetivo em recuperar os níveis de NO e GMPc a valores normais. Matsuda et al. ⁽²⁵⁷⁾ avaliaram hipertensos com doença renal crônica, que foram randomizados para receber perindopril, trandolapril, candesartana e losartana e foram seguidos por dois anos. No final do estudo, os pesquisadores registraram elevação nos níveis de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ assim como redução da proteinúria e concluíram que o aumento nas taxas do óxido nítrico, após o tratamento, provavelmente contribuiu para a ação protetora renal atribuída a estes fármacos na insuficiência renal crônica.

As estatinas também foram reportadas como responsáveis pelo aumento da atividade da eNOs ⁽²⁵⁸⁾. Em um estudo realizado em coelhos tratados com sinvastatina, embora os níveis de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ não tenham mudado estatisticamente, após a administração deste fármaco, os autores concluíram que o tratamento com a sinvastatina melhorou a função do endotélio vascular, relacionando-se este fato ao aumento da atividade da eNOs e a uma redução na liberação de ânions superóxidos no endotélio vascular. Este estudo confirmou relatos anteriores de que os inibidores da HMG-CoA redutase, além de reduzir os níveis plasmáticos

de colesterol, promovem uma varredura do ânion superóxido, o que indiretamente reduz a degradação do NO⁽²⁵⁹⁾. Outros estudos também demonstraram que as estatinas foram capazes de recuperar a função endotelial antes da redução dos níveis séricos de colesterol, sugerindo efeitos adicionais (efeito pleiotrópico) sobre a função do endotélio vascular além da redução dos níveis de colesterol sérico⁽²⁶⁰⁻²⁶²⁾.

As estatinas também aumentam a atividade da eNOs através da ativação pós-traducional da via fosfatidilinositol-3-kinase/proteína kinaseAkt (P13/Akt)⁽²⁶³⁾. De fato, a produção de NO pelo endotélio pode ser regulada pela fosforilação e ativação da eNOs pela Akt, que por sua vez é fosforilada na presença das estatinas, promovendo angiogênese⁽²⁶⁴⁾.

No presente estudo a maioria dos pacientes hipertensos (88%) estava em uso de BRA ou IECA, boa parte deles também faziam uso de BCC e estatina. Baseado nos estudos descritos acima é possível acreditar, que o uso destes medicamentos, por longo prazo, explique a maior concentração de NO₂⁻/NO₃⁻ registrada no grupo de hipertensos em relação aos normotensos. No entanto, após o tratamento por 30 dias com a sildenafil, não houve registro de qualquer aumento adicional nos níveis de NO₂⁻/NO₃⁻. Talvez o curto período de uso desta medicação explique este resultado.

5.6 Segurança, tolerância e eficácia

O citrato de sildenafil, desde a sua aprovação para o tratamento da disfunção erétil, pelo *Food and Drug Administration* em 1998, vem sendo exaustivamente estudado quanto à eficácia, tolerância e segurança. Uma vez que, na maioria dos casos, a disfunção erétil está diretamente relacionada à idade e a doenças cardiovasculares, torna-se de extrema relevância atestar a segurança desta classe de fármacos em pacientes portadores de doenças CV, assim como a interação com medicamentos utilizados para o tratamento destas enfermidades.

De acordo com o último consenso de recomendações para o manejo da DE e doenças cardiovasculares, *The Princeton III Consensus*,⁽²⁵⁾ pacientes assintomáticos e com diagnóstico de hipertensão arterial controlada, se enquadram no grupo de baixo risco para o tratamento com iPDE 5.

A segurança e a tolerância dos iPDE5 já foram avaliadas em diversos estudos clínicos⁽¹³⁻²⁰⁾. Da mesma forma, quanto à associação dos iPDE5 com fármacos anti-hipertensivos,

tanto em monoterapia quanto nos que estavam em uso de duas ou mais drogas para o controle da pressão arterial, já está bem documentada ⁽²¹⁻²⁴⁾.

Uma meta-análise cujo objetivo foi avaliar a segurança da sildenafil incluiu 18 estudos controlados com placebo e envolveu 3.975 homens, dos quais 1.094 pacientes hipertensos que estavam em uso de um ou mais medicamentos anti-hipertensivos. Nesta meta-análise, a incidência de efeitos adversos foi menor no grupo que usou a sildenafil e que fazia tratamento medicamentoso para o controle da pressão arterial, do que naqueles hipertensos que não faziam uso de medicação anti-hipertensiva, embora sem diferença estatística entre os grupos ⁽²¹⁾.

Outro estudo multicêntrico, com desenho duplo cego e controlado por placebo, envolveu 568 homens hipertensos, com disfunção erétil e que estavam em uso de múltiplas drogas anti-hipertensivas. Nesse estudo, os pesquisadores registraram que o uso da sildenafil (50-100 mg) por dia, por 12 semanas, melhorou a disfunção erétil nestes pacientes sem causar qualquer efeito adverso sério diferente do placebo ⁽²⁶⁵⁾.

No presente estudo, durante os trinta dias de tratamento com o placebo, 88% dos pacientes não tiveram qualquer efeito adverso, contra 36% com o uso da sildenafil na dose de 50 mg duas vezes ao dia. Embora a incidência de efeitos adversos tenha sido maior durante período em que receberam a sildenafil, estes sintomas foram transitórios e na maioria dos casos, não precisando do uso de medicamentos para remissão. Cefaleia foi o sintoma mais prevalente durante o tratamento com SIL, ocorrendo em 47% dos pacientes. O segundo sintoma mais prevalente foi congestão nasal (18%), seguido de calor ou rubor facial (14%) e outros 14% com dor muscular. A dor muscular, referida especialmente na região lombar e no glúteo, está provavelmente associada à inibição da PDE11, o que pode ocorrer durante o uso crônico com os iPDE 5 ⁽²⁶⁶⁾.

Em um estudo em que foram avaliados 734 pacientes tratados com sildenafil (25-100 mg) e 725 com placebo, ⁽²⁶⁷⁾ os efeitos adversos mais frequentemente relatados foram: cefaleia (SIL 16% vs. PLA 4%), rubor facial (SIL 10% vs. PLA 1%), congestão nasal (SIL 4% vs. PLA 2%) e alterações visuais (SIL 3% vs. PLA 0%); hipotensão ortostática e síncope tiveram incidência menor que 2% e esta foi à mesma do grupo tratado com placebo. A taxa de descontinuação do tratamento associada a efeitos adversos foi de 0,9% tanto com a sildenafil quanto com o placebo. A taxa de descontinuação com o uso crônico de SIL no presente estudo foi de 3,5%, semelhante a que foi relatada por Zusman et al. ⁽²⁰⁹⁾, que foi em torno de 3%.

É importante ressaltar que a maior taxa de efeitos adversos relacionada ao tratamento com a sildenafil não tem relação com a associação ao tratamento concomitante com os

fármacos anti-hipertensivos utilizados pelos pacientes durante o estudo, uma vez que por se tratar de um estudo com desenho do tipo cruzado, todos os pacientes foram submetidos ao tratamento com a sildenafil e com o placebo por um período de 30 dias. É possível que a maior incidência de efeitos adversos, registrada no presente estudo, tenha relação com a dose utilizada que foi de 100 mg por dia.

A eficácia do tratamento com a sildenafil também parece não estar comprometida pela associação com medicamentos utilizados para o controle de outras patologias CV. Em um estudo que envolveu 357 homens com doença coronariana crônica, em que metade deles estava em uso de medicamentos anti-hipertensivos, Conti et al. ⁽¹⁶⁾ registraram que 70% dos pacientes que fizeram uso da sildenafil por 4 a 24 semanas, tiveram melhora da DE contra apenas 20% dos homens que usaram placebo.

De fato, embora de forma não consensual, o tratamento com estatinas ^(11,160,162,163) e com os inibidores do sistema renina angiotensina ^(11,149-157) parece exercer efeitos positivos quanto à melhora do quadro de disfunção erétil.

Baumhäkel et al. ⁽¹⁵⁵⁾ avaliaram 1.069 pacientes hipertensos que estavam em tratamento com irbesartana ou com a combinação de irbesartana 150 ou 300 mg e hidroclorotiazida (HCTZ) 12,5 mg, por seis meses. Eles registraram uma elevação máxima no escore de pontos do IIEF no grupo tratado com irbesartana 300 mg / HCTZ 12,5 mg.

Esta possível participação positiva dos diuréticos na melhora da função erétil não é compartilhada pela maioria dos autores. Nicolai et al. ⁽¹¹⁾ após uma extensa revisão literária, consideraram os diuréticos como medicamentos que interferem de forma negativa na função erétil. Manasia et al. ⁽²³⁾ relataram melhora significativa da função erétil nos hipertensos que fizeram uso do citrato de sildenafil, exceto nos pacientes que estavam em tratamento com diuréticos. Outro estudo publicado por um grupo coreano, também registrou a eficácia da sildenafil em hipertensos tratados, mas ressaltaram que a melhora da função erétil ficou comprometida naqueles pacientes que usavam fármacos das classes dos diuréticos e betabloqueadores ⁽²⁴⁾.

No presente estudo, dos 50 pacientes hipertensos avaliados, 66% estavam em tratamento com BRA, 32% usavam estatinas e 48% deles diuréticos. A análise da função erétil foi feita através do questionário do IIEF simplificado e do SEP3. A eficácia da sildenafil, em melhorar a função erétil dos pacientes hipertensos, ficou totalmente comprovada nesse estudo. Após o tratamento com SIL, por 30 dias, houve melhora significativa da função erétil, mas não com o uso do placebo. A influência negativa da terapia anti-hipertensiva com diuréticos na função erétil não se confirmou no atual estudo, uma vez

que, na inclusão, os valores do escore do IIEF5 não foram diferentes nos hipertensos que usavam diuréticos, contra os que não usavam. Nossos resultados também diferem daqueles relatados por Manasia et al. ⁽²³⁾, pois no presente estudo, o uso da sildenafil por 30 dias demonstrou melhora significativa no escore do IIEF5 tanto no grupo que usava diuréticos quanto naqueles que não faziam uso destes fármacos, mas não com o placebo. Portanto, no presente estudo ficou demonstrado que o tratamento com diuréticos em pacientes hipertensos não interferiu de forma negativa na função erétil, nem na resposta terapêutica à sildenafil.

Esses registros estão de acordo com os de Ajay Nehra ⁽²⁶⁸⁾, que em sua revisão literária incluiu 21 artigos publicados entre 2002 e 2008. Seu objetivo foi avaliar a segurança e a eficácia dos iPDE5 para o tratamento da disfunção erétil, independente da causa, gravidade, presença de co-morbidades e terapêuticas associadas. Ele mostrou que, de uma forma geral, os três iPDE5 (sildenafil, vardenafila e tadalafila) foram capazes de melhorar a função erétil de pacientes hipertensos, avaliados pelo IIEF e SEP3. Acrescenta em seus comentários, que a segurança e efetividade dos iPDE5 não têm relação com o uso concomitante de fármacos anti-hipertensivos e que a melhora da função erétil foi comparável mesmo quando em associação com betabloqueadores, diuréticos, BCC e com os inibidores da ECA.

CONCLUSÕES:

- a) após o uso do citrato de sildenafil em dose única de 100 mg em indivíduos normotensos e nos pacientes hipertensos com disfunção erétil:
- A pressão arterial sistólica e diastólica, medidas no consultório, reduziram de forma significativa tanto nos normotensos quanto nos hipertensos, sendo esta redução mais expressiva nos pacientes hipertensos.
 - O citrato de sildenafil aumentou de forma significativa à vasodilatação microvascular peniana tanto nos normotensos quanto nos hipertensos, mas não modificou a resposta do endotélio microvascular sistêmico.
- b) após o uso contínuo do citrato de sildenafil, comparado ao placebo, nos pacientes hipertensos com disfunção erétil:
- O citrato de sildenafil reduziu a pressão arterial de consultório e na MAPA, sugerindo que além do reconhecido efeito em melhorar a disfunção erétil, o tratamento em uso contínuo com a sildenafil também pode ser benéfico no controle da pressão arterial sistêmica.
 - Após os 30 dias de tratamento com a sildenafil ocorreu aumento significativo da vasodilatação microvascular peniana nos pacientes hipertensos, o que não ocorreu com o placebo.
 - O citrato de sildenafil, assim como o placebo, não modificou a resposta do endotélio microvascular sistêmico.
 - A densidade capilar basal, assim como o registro da capilaroscopia durante HRPO, revelou um número maior de capilares nos pacientes hipertensos tratados com fármacos anti-hipertensivos, em relação aos indivíduos normotensos. O tratamento por 30 dias com sildenafil, nos pacientes hipertensos, associou-se a melhora significativa da densidade capilar basal e do recrutamento capilar. No entanto, esta melhora também foi significativa após o uso do placebo, sugerindo a presença do efeito Hawthorne; ou seja, que o melhor controle da pressão arterial durante o período de avaliação no estudo tenha sido o fator determinante dessa melhora.

- Os níveis plasmáticos de nitrito/nitrato encontravam-se elevados nos pacientes hipertensos em relação aos normotensos, possivelmente relacionados com o uso, em longo prazo, de fármacos anti-hipertensivos. O uso da sildenafil por 30 dias não se acompanhou de aumento adicional dos níveis de nitrito/nitrato.
- A segurança, tolerância e principalmente a eficácia, com a sildenafil em dose única e em uso contínuo ficaram comprovadas, mesmo quando em associação com fármacos anti-hipertensivos de diferentes classes.

REFERÊNCIAS

1. Thompson IM, Tangen CM, Goodman PJ, Probstfield JL, Moinpour CM, Coltman CA. Erectile dysfunction and subsequent cardiovascular disease. *JAMA*. 2005 Dec 21;294(23): 2996-3002.
2. Solomon H, Man J W, Jackson G. Erectile dysfunction and the cardiovascular patient: endothelial dysfunction is the common denominator. *Heart*. 2003 Mar; 89(3): 251-3. Review.
3. Bortolotti A, Parazzini F, Colli E, Landoni M. The epidemiology of erectile dysfunction and its risk factors. *Int J Androl*. 1997 Dec; 20(6):323-34. Review.
4. Gratzke C, Angulo J, Chitaley K, Dai YT, Kim NN, Lue TF, et al. Anatomy, physiology, and pathophysiology of erectile dysfunction. *J Sex Med*. 2010 Jan; 7(1 Pt 2):445-75.
5. Kloner RA, Speakman M. Erectile dysfunction and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2002 Sep; 4(5):397-401. Review.
6. Grover SA, Lowensteyn I, Kaouache M, Marchand S, Coupal L, De Carolis E, et al. The prevalence of erectile dysfunction in the primary care setting: importance of risk factors for diabetes and vascular disease. *Arch Intern Med*. 2006 Jan 23; 166(2):213-9.
7. Picon RV, Fuchs FD, Moreira LB, Fuchs SC. Prevalence of hypertension among elderly persons in urban Brazil. A systematic review with meta-analysis. *Am J Hypertens*. 2013 Apr; 26(4):541-8.
8. Burchardt M, Burchardt T, Baer L, Kiss AJ, Pawar RV, Shabsigh A, et al. Hypertension is associated with severe erectile dysfunction. *J Urol*. 2000 Oct; 164(4):1188-91.
9. Seftel AD, Sun P, Swindle R. The Prevalence of hypertension, hyperlipidemia, diabetes mellitus and depression in men with erectile dysfunction. *J Urol*. 2004 Jun; 171(6 Pt 1): 2341-5.
10. Manolis A, Doumas M. Antihypertensive Treatment and Sexual Dysfunction. *Curr Hypertens Rep*. 2012 Aug; 14(4):285-92.
11. Nicolai MPJ, Liem SS, Both S, Pedger RCM, Putter H, Schaliij MJ, et al. A review of the positive and negative effects of cardiovascular drugs on sexual function: a proposed table for use in clinical practice. *Neth Heart J*. 2014 Jan; 22(1):11-9.
12. Miner MM, Barnes A, Janning S. Efficacy of phosphodiesterase type 5 inhibitor treatment in men with erectile dysfunction and dyslipidemia: a post hoc analysis of the vardenafil statin study. *J Sex Med*. 2010 May; 7(5):1937-47.

13. Schneider T, Gleissner J, Merfort F, Hermanns M, Beneke M, Ulbrich E. Efficacy and safety of vardenafil for the treatment of erectile dysfunction in men with metabolic syndrome: results of a randomized, placebo-controlled trial. *J Sex Med.* 2011 Oct; 8(10): 2904-11.
14. Chrysant SG. Effectiveness and safety of phosphodiesterase 5 inhibitors in patients with cardiovascular disease and hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2013 Oct; 15(5):475-83.
15. Eardley I, Lee JC, Shabsigh R, Dean J, Maggi M, Neuser D, et al. Vardenafil improves erectile function in men with erectile dysfunction and associated underlying conditions, irrespective of the use of concomitant medications. *J Sex Med.* 2010 Jan; 7(1 Pt 1):244-55.
16. Conti CR, Pepine CJ, Sweeney M. Efficacy and safety of sildenafil citrate in the treatment of erectile dysfunction in patients with ischemic heart disease. *Am J Cardiol.* 1999 Mar 4; 83(5A):29C-34C.
17. Katz SD, Balidemaj K, Homma S, Wu H, Wang J, Maybaum S. Acute Type 5 phosphodiesterase inhibition with sildenafil enhances flow-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Sep; 36(3):845-51.
18. Bocchi EA, Guimarães G, Mocelin A, Bacal F, Bellotti G, Ramires JF. Sildenafil effects on exercise, neurohumoral activation and erectile dysfunction in congestive heart failure: a double-blind, placebo-controlled, randomized study followed by a prospective treatment for erectile dysfunction. *Circulation.* 2002 Aug 27; 106(9):1097-103.
19. Piccirillo G, Nocco M, Lionetti M, Moisè A, Naso C, Marigliano V, et al. Effects of sildenafil citrate (Viagra) on cardiac repolarization and autonomic control in subjects with chronic heart failure. *Am Heart J.* 2002 Apr; 143(4):703-10.
20. Wysowski DK, Farinas E, Swartz L. Comparison of reported and expected deaths in sildenafil (Viagra) users. *Am J Cardiol.* 2002 Jun 1; 89(11):1331-4.
21. Kloner RA, Brown M, Prisant LM, Collins M. Effect of sildenafil in patients with erectile dysfunction taking antihypertensive therapy. Sildenafil Study Group. *Am J Hypertens.* 2001 Jan; 14(1):70-3.
22. Böhm M, Burkart M, Baumann G. Sildenafil is well tolerated by erectile dysfunction patients taking antihypertensive medications, including those on multidrug regimens. *Curr Drug Saf.* 2007 Jan; 2(1):5-8. Review.
23. Manasia P, Ribé Subirà N, Bassas L, Pomerol J. [Effectiveness and safety of the treatment with sildenafil (Viagra) in patients with erectile dysfunction and arterial hypertension]. *Arch Esp Urol.* 2003 Sep; 56(7):799-804.

24. Park HJ, Park NC, Shim HB, Park JK, Lee SW, Park K, et al. An open-label, multicenter, flexible dose study to evaluate the efficacy and safety of Viagra (sildenafil citrate) in Korean men with erectile dysfunction and arterial hypertension who are taking antihypertensive agents. *J Sex Med.* 2008 Oct; 5(10):2405-13.
25. Nehra A, Jackson G, Miner M, Billups KL, Burnett AL, Buvat J, et al. The Princeton III Consensus recommendations for the management of erectile dysfunction and cardiovascular disease. *Mayo Clin Proc.* 2012 Aug; 87(8):766-78.
26. Sociedade Brasileira de Cardiologia. 7^a Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol.* 2016; 107(Supl.3):1-83.
27. SPRINT Research Group, Wright JT Jr, Williamson JD, Whelton PK, Snyder JK, Sink KM, Rocco MV, et al. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. *N Engl J Med.* 2015 Nov 26; 373(22):2103-16. Erratum in: *N Engl J Med.* 2017 Dec 21;377(25):2506.
28. Oliver JJ, Melville VP, Webb DJ. Effect of regular phosphodiesterase type 5 inhibition in hypertension. *Hypertension.* 2006 Oct; 48(4):622-27.
29. Materson BJ, Reda DJ, Cushman WC, Massie BM, Freis ED, Kochar MS, et al. Single-drug therapy for hypertension in men. A comparison of six antihypertensive agents with placebo. The Department of Veterans Affairs Cooperative Study Group on Antihypertensive Agents. *N Engl J Med.* 1993 Apr 1; 328(13):914-21.
30. Yaguas K, Bautista R, Quiroz Y, Ferrebuz A, Pons H, Franco M, et al. Chronic sildenafil treatment corrects endothelial dysfunction and improves hypertension. *Am J Nephrol.* 2010; 31(4):283-91.
31. Aversa A, Letizia C, Francomano D, Bruzziches R, Natali M, Lenzi A. A spontaneous, double-blind, double-dummy cross-over study on the effects of daily vardenafil on arterial stiffness in patients with vasculogenic erectile dysfunction. *Int J Cardiol.* 2012 Oct 18; 160(3):187-91.
32. Blaise S, Hellmann M, Roustit M, Isnard S, Cracowski JL. Oral sildenafil increases skin hyperemia induced by iontophoresis of sodium nitroprusside in healthy volunteers. *Br J Pharmacol.* 2010 Jul; 160(5):1128-34.
33. Blaise S, Roustit M, Millet C, Cracowski JL. Effect of oral sildenafil on skin post occlusive reactive hyperemia in healthy volunteers. *Microcirculation.* 2011 Aug; 18(6): 448-51.
34. Roustit M, Hellmann M, Cracowski C, Blaise S, Cracowski JL. Sildenafil increases digital skin blood flow during all phases of local cooling in primary Raynaud's phenomenon. *Clin Pharmacol Ther.* 2012; May; 91(5):813-9.

35. Rousseau P, Mahé G, Haj-Yassin F, Durand S, Humeau A, Leftheriotis G, et al. Increasing the “region of interest” and “time of interest”, both reduce the variability of blood flow measurements using laser speckle contrast imaging. *Microvasc Res*. 2011 Jul; 82(1):88-91.
36. Roustit M, Millet C, Blaise S, Dufournet B, Cracowski JL. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. *Microvasc Res*. 2010 Dec; 80(3):505-11.
37. Roustit M, Cracowski JL. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods. *Microcirculation*. 2012 Jan; 19(1):47-64.
38. Cordovil I, Huguenin G, Rosa G, Bello A, Köhler O, Tibiriçá E, et al. Evaluation of systemic microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging. *Microvasc Res*. 2012 May; 83(3):376-9.
39. Virag R. [Flow-dependent dilatation of the cavernous artery. A potential test of penile NO content]. *J Mal Vasc*. 2002 Oct; 27(4):214-7.
40. Virag R, Floresco J, Richard C. Impairment of shear-stress-mediated vasodilation of cavernous arteries in erectile dysfunction. *Int J Impot Res*. 2004 Feb; 16(1):39-42.
41. Mazo E, Gamidov S, Anranovich S, Iremashvili V. Testing endothelial function of brachial and cavernous arteries in patients with erectile dysfunction. *J Sex Med*. 2006 Mar; 3(2):323-30.
42. Mazo E, Gamidov S, Iremashvili V. The effect of vardenafil on endothelial function of brachial and cavernous arteries. *Int J Impot Res*. 2006 Sep-Oct; 18(5):464-9.
43. Sighinolfi MC, Mofferdin A, De Stefani S, Celia A, Micali S, Bianchi G, et al. Changes in peak systolic velocity induced by chronic therapy with phosphodiesterase type-5 inhibitor. *Andrologia*. 2006 Jun; 38(3):84-6.
44. Xuan XJ, Bai G, Zhang CX, Xu C, Lu FD, Chen J, et al. The application of color Doppler flow imaging in the diagnosis and therapeutic effect evaluation of erectile dysfunction. *Asian J Androl*. 2016 Jan-Feb; 18(1):118-22.
45. Elhanbly SM, Elkholy AA, Alghobary M, Abou Al-Ghar M. Clinical predictive factors of sildenafil response: a penile hemodynamic study. *Andrology*. 2015 Mar; 3(2):241-6.
46. Verri V, Brandão A, Tibirica E. The evaluation of penile microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging in healthy volunteers. *Microvasc Res*. 2015 May; 99:96-101.
47. Furchgott RF, Zavadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980 Nov 27; 288(5789):373-6.
48. Fishman AP. Endothelium: A distributed organ of diverse capabilities. *Ann NY Acad Sci*. 1982; 401:1-8.

49. Deng LY, Li JS, Schiffrin EL. Endothelium-dependent relaxation of small arteries from essential hypertensive patients: mechanisms and comparison with normotensive subjects and with responses of vessels from spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci (Lond)*. 1995 Jun; 88(6):611-22.
50. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Eng J Med*. 1990 Jul 5; 323(1):27-36.
51. Yetik-Anacak G, Catravas JD. Nitric oxide and the endothelium: History and impact on cardiovascular disease. *Vascul Pharmacol*. 2006 Nov; 45(5):268-76.
52. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*. 1988 Jun 16; 333(6174):664-6.
53. Murad F, Forstermann U, Nakane M, Schimidt H, Pollock J, Sheng H, et al. The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction pathway in vascular smooth muscle preparations and other tissues. *Jpn J Pharmacol*. 1992; 58(Suppl 2):150P-57P.
54. Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK, Mullen MJ, Bhagat K, Taylor M, et al. Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation*. 2000 Aug 29; 102(9):994-9.
55. Xia Y, Tsai A, Berka V, Zweier JL. Superoxide generation from endothelial nitric-oxide synthase. A Ca²⁺/calmodulin-dependent and tetrahydrobiopterin regulatory process. *J Biol Chem*. 1998 Oct 2; 273(40):25804-8.
56. Wolin MS. Interaction of oxidants with vascular signaling systems. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jun; 20(6):1430-42.
57. Fisher AB, Chien S, Barakat AI, Nerem RN. Endothelial cellular response to altered shear stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001 Sep; 281(3):L529-33.
58. Kashiwagi A, Shinozaki K, Nishio Y, Maegawa H, Kanazawa A, Kojima H, et al. Endothelium-specific activation of NAD(P)H oxidase in aortas of exogenously hyperinsulinemic rats. *Am J Physiol*. 1999 Dec; 277(6):E976-83.
59. Konishi M, Su C. Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. *Hypertension*. 1983 Nov-Dec; 5(6):881-6.
60. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium - dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*. 1990 Jul 5; 323(1):22-7.
61. Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi A. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium - dependent vascular relaxation of patients with hypertension. *Circulation*. 1993 May; 87(5):1468-74.
62. Forte P, Copland M, Smith LM, Mine E, Sutherland J, Benjamin N. Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. *Lancet*. 1997 Mar 22; 349(9055):837-42.

63. Cardillo C, Campia U, Kilcoym CM, Bryant MB, Panza JA. Improved endothelium-dependent vasodilation after blockade of endothelin receptors in patients with essential hypertension. *Circulation*. 2002 Jan 29; 105(4):452-6.
64. Nickering G, Harrison DG. The AT(1)-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis. part I: oxidative stress and atherogenesis. *Circulation*. 2002 Jan 22; 105(3):393-6.
65. Schiffrin EL, Park JB, Intengan HD, Touyz RM. Correlation of arterial structure and endothelial dysfunction in human essential hypertension by the angiotensin receptor antagonist losartan. *Circulation*. 2000 Apr 11; 101(14):1653-9.
66. Ruedemann AD. A Micro-Camara for Visualization of Conjunctival Vessels. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1937; 35:419-28.
67. Hern S, Mortimer PS. Visualization of dermal blood vessels-capillaroscopy. *Clin Exp Dermatol*. 1999 Nov; 24(6):473-8. Review.
68. Stacy DL, Prewitt RL. Effects of chronic hypertension and its reversal on arteries and arterioles. *Circ Res*. 1989 Oct; 65(4):869-79.
69. Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Structural Skin capillary rarefaction in essential hypertension. *Hypertension*. 1999 Apr; 33(4):998-1001.
70. Noon JP, Walker BR, Webb DJ, Shore AC, Holton DW, Edwards HV, et al. Impaired microvascular dilatation and capillary rarefaction in young adults with a predisposition to high blood pressure. *J Clin Invest*. 1997 Apr 15; 99(8):1873-9.
71. Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Rarefaction of skin capillaries in borderline essential hypertension suggests an early structural abnormality. *Hypertension*. 1999 Oct; 34(4 Pt 1):655-8.
72. le Noble FA, Stassen FR, Hacking WJ, Struijker-Boudier HA. Angiogenesis and hypertension. *J Hypertens*. 1998 Nov; 16(11):1563-72.
73. Serné EH, Gans RO, terMaaten JC, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Capillary recruitment is impaired in essential hypertension and relates to insulin's metabolic and vascular actions. *Cardiovasc Res*. 2001 Jan;49(1):161-8.
74. Serné EH, Gans RO, terMaaten JC, Tangelder GJ, Donker AJ, Stehouwer CD. Impaired skin capillary recruitment in essential hypertension is caused by both functional and structural capillary rarefaction. *Hypertension*. 2001 Aug; 38(2):238-42.
75. Levy BI, Ambrosio G, Pries AR, Struijker-Boudier HA. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation*. 2001 Aug 7; 104(6):735-40.

76. Rakusan K, Cicutti N, Maurin A, Guez D, Schiavi P. The effect of treatment with low dose ACE inhibitor and/or diuretic on coronary microvasculature in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Microvasc Res.* 2000 Mar; 59(2):243-54.
77. Dahlöf B, Hansson L. The influence of antihypertensive therapy on the structural arteriolar changes in essential hypertension: different effects of enalapril and hydrochlorothiazide. *J Intern Med.* 1993 Sep; 234(3):271-9.
78. Chillon JM, Baumbach GL. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a beta-blocker on cerebral arterioles in rats. *Hypertension.* 1999 Mar; 33(3):856-61.
79. Thybo NK, Stephens N, Cooper A, Aalkjaer C, Heagerty AM, Mulvany MJ. Effect of antihypertensive treatment on small arteries of patients with previously untreated essential hypertension. *Hypertension.* 1995 Apr; 25(4 Pt 1):474-81.
80. Debbabi H, Uzan L, Mourad JJ, Safar M, Levy BI, Tibiriça E. Increased skin capillary density in treated essential hypertensive patients. *Am J Hypertens.* 2006; 19(5): 477-83.
81. Hughes AD, Stanton AV, Jabbar AS, Chapman N, Martinez-Perez ME, McG Thom SA. Effect of antihypertensive treatment on retinal microvascular changes in hypertension. *J Hypertens.* 2008 Aug; 26(8):1703-7.
82. He FJ, Marciniak M, Markandu ND, Antonios TF, MacGregor GA. Effect of modest salt reduction on skin capillary rarefaction in white, black, and Asian individuals with mild hypertension. *Hypertension.* 2010 Aug; 56(2):253-9.
83. Humar R, Zimmerli L, Battagay E. Angiogenesis and hypertension: an update. *J Hum Hypertens.* 2009 Dec; 23(12):773-82.
84. Oberleithner H, Riethmuller C, Schillers H, MacGregor GA, de Wardener HE, Hausberg M. Plasma sodium stiffens vascular endothelium and reduces nitric oxide release. *Proc Natl Acad Sci. U S A* 2007 Oct 9; 104(41):16281-6.
85. Li J, White J, Guo L, Zhao X, Wang J, Smart EJ, Li XA. Salt inactivates endothelial nitric oxide synthase in endothelial cells. *J Nutr.* 2009; 139(3):447-51.
86. Hansen-Smith FM, Morris LW, Greene AS, Lombard JH. Rapid microvessel rarefaction with elevated salt intake and reduced renal mass hypertension in rats. *Circ Res.* 1996 Aug; 79(2):324-30.
87. Ghiadoni L, Versari D, Giannarelli C, Fajta F, Taddei S. Non-invasive diagnostic tools for investigating endothelial dysfunction. *Curr Pharm Des.* 2008; 14(35): 3715-22.
88. Yugar-Toledo JC, Ferreira-Melo SE, Consolim-Colombo FM, Irigoyen MC, Coelho OR, Moreno H Jr. Cyclic guanosine monophosphate phosphodiesterase-5 inhibitor promotes an endothelium NO-dependent-like vasodilation in patients with refractory hypertension. *Nitric Oxide.* 2007 May; 16(3):315-21.

89. Quinaglia T, de Faria AP, Fontana V, Barbaro NR, Sabbatini JT, Moreno H, et al. Acute cardiac and hemodynamic effects of sildenafil on resistant hypertension. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013 Dec; 69(12):2027-36.
90. Robinson SD, Ludlam CA, Boon NA, Newby DE. Phosphodiesterase type 5 inhibition does not reverse endothelial dysfunction in patients with coronary heart disease. *Heart*. 2006 Feb; 92(2):170-6.
91. Lue TF, Hricak H, Marich KW, Tanagho EA. Vasculogenic impotence evaluated by high-resolution ultrasonography and pulsed Doppler spectrum analysis. *Radiology*. 1985 Jun; 155(3):777-81.
92. Vardi Y, Dayan L, Apple B, Gruenwald I, Ofer Y, Jacob G. Penile and systemic endothelial function in men with and without erectile dysfunction. *Eur Urol*. 2009 Apr; 55(4):979-85.
93. Andersson KE, Wagner G. Physiology of penile erection. *Physiol Rev*. 1995 Jan; 75(1):191-236. Review.
94. Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, Snyder SH. Nitric oxide; a physiologic mediator of penile erection. *Science*. 1992 Jul 17; 257(5068):401-3.
95. Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to noradrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med*. 1992 Jan 9; 326(2):90-4.
96. Lin CS, Lau A, Tu R, Lue TF. Expression of three isoforms of cGMP-binding cGMP-specific phosphodiesterase (PDE5) in human penile cavernosum. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Feb 16; 268(2):628-635.
97. Lue TF. Erectile dysfunction. *N Engl J Med*. 2000 Jun 15; 342(24):1802-13. Review.
98. Sociedade Brasileira de Urologia. II Consenso Brasileiro de Disfunção Erétil. Campinas: BG Cultural, 2002.
99. Kloner RA, Jarow JP. Erectile Dysfunction and Sildenafil Citrate and Cardiologists. *Am J Cardiol*. 1999 Feb 15; 83(4):576-82, A7.
100. Ayta IA, McKinlay JB, Krane RJ. The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. *BJU Int*. 1999 Jul; 84(1):50-6.
101. 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 Jan; 151(1):54-61.
102. Moreira ED Jr, Abdo CH, Torres EB, Lôbo CF, Fittipaldi JA. Prevalence and correlates of erectile dysfunction: results of the Brazilian study of sexual behavior. *Urology*. 2001 Oct; 58(4):583-8.

103. Kupelian V, Hall SA, McKinlay JB. Common prescription medication use and erectile dysfunction. Results from the Boston Area Community Health (BACH) Survey. *BJU Int.* 2013 Dec; 112(8):1178-87.
104. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1986 Oct 23; 315(17):1046-51.
105. Selke F W, Armstrong ML, Harrinson D G. Endothelium-dependent vascular relaxation is abnormal in the coronary microcirculation of atherosclerotic primates. *Circulation.* 1990 May; 81(5):1586-93.
106. Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet.* 1989 Oct 28; 2(8670):997-1000.
107. Gilligan DM, Guetta V, Panza JA, García CE, Quyyumi AA, Cannon RO 3rd. Selective loss of microvascular endothelial function in human hypercholesterolemia. *Circulation.* 1994 Jul; 90(1):35-41.
108. Von Mering GO, Arant CB, Wessel TR, McGorray SP, Bairey Merz CN, Pepine CJ, et al. Abnormal coronary vasomotion as a prognostic indicator of cardiovascular events in women: results from the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Circulation.* 2004 Feb 17; 109(6):722-5.
109. Chowienczyk P J, Watts G F, Cockcroft J R, Ritter J M. Impaired endothelium-dependent vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolaemia. *Lancet.* 1992 Dec 12; 340(8833):1430-2.
110. Hakim LS, Goldstein I. Diabetic sexual dysfunction. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1996 Jun; 25(2):379-400. Review.
111. Rahmouni K, Morgan DA, Morgan GM, Mark AL, Haynes WG. Role of selective leptin resistance in diet- induced obesity hypertension. *Diabetes.* 2005 Jul; 54(7):2012-8.
112. Svartberg J, von Mühlen D, Sundsfjord J, Jorde R. Waist circumference and testosterone levels in community dwelling men. The Tromso Study. *Eur J Epidemiol.* 2004; 19(7):657-63.
113. de Souza ILL, Barros BC, de Oliveira GA, Queiroga FR, Toscano LT, Silva AS, et al. Hypercaloric Diet Establishes Erectile Dysfunction in Rat: Mechanisms Underlying the Endothelial Damage. *Front Physiol.* 2017 Oct 4; 8:760.
114. Skrypnik D, Bogdanski P, Musialik K. [Obesity--significant risk factor for erectile dysfunction in men]. *Pol Merkur Lekarski.* 2014 Feb; 36(212):137-41. Abstract.
115. Sowers JR, Frohlich ED. Insulin and insulin resistance: impact on blood pressure and cardiovascular disease. *Med Clin North Am.* 2004 Jan; 88(1):63-82.

116. Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, Giorico MA, Oleggini M, Graziadei L, et al. Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med*. 1987 Aug 6; 317(6):350-7.
117. Contreras C, Sánchez A, Martínez P, Raposo R, Climent B, García-Sacristán A, et al. Insulin resistance in penile arteries from a rat model of metabolic syndrome. *Br J Pharmacol*. 2010 Sep; 161(2):350-64.
118. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002 Jan 16; 287(3):356-9.
119. Burnett AL. Metabolic syndrome, endothelial dysfunction, and erectile dysfunction: association and management. *Curr Urol Rep*. 2005 Nov; 6(6):470-5. Review.
120. Kupelian V, Shabsigh R, Araujo AB, O'Donnell AB, McKinlay JB. Erectile dysfunction as a predictor of metabolic syndrome in aging men: results from the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol*. 2006 Jul; 176(1):222-6.
121. Demir T, Demir O, Kefi A, Comlekci A, Yesil S, Esen A. Prevalence of erectile dysfunction in patients with metabolic syndrome. *Int J Urol*. 2006 Apr; 13(4):385-8.
122. Bansal TC, Guay AT, Jacobson J, Woods BO, Nesto RW. Incidence of metabolic syndrome and insulin resistance in a population with organic erectile dysfunction. *J Sex Med*. 2005 Jan; 2(1):96-103.
123. Bal K, Oder M, Sahin AS, Karatas CT, Demir O, Can E, et al. Prevalence of metabolic syndrome and its association with erectile dysfunction among urologic patients: metabolic backgrounds of erectile dysfunction. *Urology*. 2007 Feb; 69(2):356-60.
124. Esposito K, Giugliano F, Martedi E, Feola G, Marfella R, D'Armiento M, et al. High proportions of erectile dysfunction in men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2005 May; 28(5):1201-3.
125. Besiroglu H, Otunctemur A and Ozbek E. The relationship between metabolic syndrome, its components, and erectile dysfunction: a systematic review and a meta-analysis of observational studies. *J Sex Med*. 2015 Jun; 12(6):1309-18.
126. Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Obesidade e coração. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 1996; 6(4):447-51.
127. Rahmouni K, Correia ML, Haynes WG, Mark AL. Obesity-associated hypertension: new insights into mechanisms. *Hypertension*. 2005 Jan; 45(1):9-14.
128. Okabe H, Hale TM, Kumon H, Heaton JP, Adams MA. The penis is not protected-- in hypertension there are vascular changes in the penis which are similar to those in other vascular beds. *Int J Impot Res*. 1999 Jun; 11(3):133-40.

129. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Heart, Lung, and Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003 Dec; 42(6):1206-52.
130. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002 Dec 14; 360(9349):1903-13.
131. Prospective Studies Collaboration. Cholesterol, diastolic blood pressure, and stroke: 13,000 strokes in 450,000 people in 45 prospective cohorts. *Lancet*. 1995 Dec 23-30; 346(8991-8992):1647-53.
132. Collins R, Peto R, MacMahon S, Hebert P, Fiebach NH, Eberlein KA, et al. Blood pressure, stroke and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of randomized drug trials in their epidemiological context. *Lancet*. 1990 Apr 7; 335(8693):827-38.
133. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1997 Apr 17; 336(16):1117-24.
134. Esposito K, Giugliano F, De Sio M, Carleo D, Di Palo C, D'Armiento M, et al. Dietary factors in erectile dysfunction. *Int J Impot Res*. 2006 Jul-Aug; 18(4):370-4.
135. Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO, Lerman A. The Mediterranean diet, its components and cardiovascular disease. *Am J Med*. 2015 Mar; 128(3):229-38.
136. Ramírez R, Pedro-Botet J, García M, Corbella E, Merino J, Zambón D, et al. Xarxa de Unitats de Lípids i Arteriosclerosi (XULA) Investigators Group. Erectile dysfunction and cardiovascular risk factors in a Mediterranean diet cohort. *Intern Med J*. 2016 Jan; 46(1):52-6.
137. Esposito K, Giugliano F, Maiorino MI, Giugliano D. Dietary factors, Mediterranean diet and erectile dysfunction. *J Sex Med*. 2010 Jul; 7(7):2338-45.
138. Ettehad D, Emdin CA, Kiran A, Anderson SG, Callender T, Emberson J, et al. Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2016 Mar 5; 387(10022):957-67.
139. Verri V, Brandão AA, Tibiriça E. Penile microvascular endotelial function in hypertensive patients: effects of acute type 5 phosphodiesterase inhibition. *Braz J Med Biol Res*. 2018 Jan 11;51(3):e6601.

140. Svartberg J, von Mühlen D, Schirmer H, Barrett-Connor E, Sundfjord J, Jorde R. Association of endogenous testosterone with blood pressure and left ventricular mass in men. The Tromso Study. *Eur J Endocrinol*. 2004 Jan; 150(1):65-71.
141. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Ioakeimidis N, Rokkas K, Tsekoura D, Vasiliadou C, et al. Arterial function and intima-media thickness in hypertensive patients with erectile dysfunction. *J Hypertens*. 2008 Sep; 26(9):1829-36.
142. Javaroni V, Queiroz-Miguez M, Abreu-Casanova M, Oigman W, Neves MF. Brachial flow-mediated dilation correlates with vardenafil response in hypertensive men with vasculogenic erectile dysfunction. *Urology*. 2011 Aug; 78(2):368-74.
143. Doumas M, Tsakiris A, Douma S, Grigorakis A, Papadopoulos A, Hounta A, et al. Factors affecting the increased prevalence of erectile dysfunction in Greek hypertensive compared with normotensive subjects. *J Androl*. 2006 May-Jun; 27(3):469-77.
144. Cordero A, Bertomeu-Martínez V, Mazón P, Fácila L, Bertomeu-González V, Conthe P, et al. Erectile dysfunction in high-risk hypertensive patients treated with beta-blockers agents. *Cardiovasc Ther*. 2010 Spring; 28(1):15-22.
145. Baumhäkel M, Schlimmer N, Büyükafsar K, Arikan O, Böhm M. Nebivolol, but not metoprolol, improves endothelial function of the corpus cavernosum in a polipoproteine-knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 Jun; 325(3):818-23.
146. Toblli JE, Cao G, Casas G, Mazza ON. In vivo and in vitro effects of nebivolol on penile structures in hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 2006 Dec; 19(12):1226-32.
147. Ekman E, Hägg S, Sundström A, Werkström V. Antihypertensive drugs and erectile dysfunction as seen in spontaneous reports, with focus on angiotensin II type 1 receptor blockers. *Drug Healthc Patient Saf*. 2010; 2:21-5.
148. Böhm M, Baumhäkel M, Teo K, Sleight P, Probstfield J, Gao P, et al; ONTARGET/TRANSCEND Erectile Dysfunction Substudy Investigators. Erectile dysfunction predicts cardiovascular events in high-risk patients receiving telmisartan, ramipril, or both: The ONgoing Telmisartan Alone and in combination with Ramipril Global Endpoint Trial/Telmisartan Randomized AssessmeNt Study in ACE iNtolerant subjects with cardiovascular Disease (ONTARGET/TRANSCEND) Trials. *Circulation*. 2010 Mar 30; 121(12):1439-46.
149. Toblli JE, Stella I, Mazza ON, Ferder L, Inserra F. Different effect of losartan and amlodipine on penile structures in male spontaneously hypertensive rats. *Am J Nephrol*. 2004 Nov-Dec; 24(6):614-23.
150. Park K, Shin JW, Oh JK, Ryu KS, Kim SW, Paick JS. Restoration of erectile capacity in normotensive aged rats by modulation of angiotensin receptor type 1. *J Androl*. 2005 Jan-Feb; 26(1):123-8.

151. Fogari R, Zoppi A, Corradi L, Mugellini A, Poletti L, Lusardi P. Sexual function in hypertensive males treated with lisinopril or atenolol: a cross-over study. *Am J Hypertens*. 1998 Oct; 11(10):1244-7.
152. Llisterri JL, Lozano Vidal JV, Aznar Vicente J, Argaya Roca M, Pol Bravo C, Sanchez Zamorano MA, et al. Sexual dysfunction in hypertensive patients treated with losartan. *Am J Med Sci*. 2001 May; 321(5):336-41.
153. Fogari R, Zoppi A, Poletti L, Marasi G, Mugellini A, Corradi L. Sexual activity in hypertensive men treated with valsartan or carvedilol: a crossover study. *Am J Hypertens*. 2001 Jan; 14(1):27-31.
154. Fogari R, Preti P, Derosa G, Marasi G, Zoppi A, Rinaldi A, et al. Effect of antihypertensive treatment with valsartan or atenolol on sexual activity and plasma testosterone in hypertensive men. *Eur J Clin Pharmacol*. 2002 Jun; 58(3):177-80.
155. Baumhäkel M, Schlimmer N, Böhm M; DO-IT Investigators. Effect of irbesartan on erectile function in patients with hypertension and metabolic syndrome. *Int J Impot Res*. 2008 Sep-Oct; 20(5):493-500.
156. Düsing R. Effect of the angiotensin II antagonist valsartan on sexual function in hypertensive men. *Blood Press Suppl*. 2003 Dec; 2:29-34.
157. Baumhäkel M, Custodis F, Schlimmer N, Laufs U, Böhm M. Improvement of endothelial function of the corpus cavernosum in apolipoprotein E knockout mice treated with irbesartan. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 Dec; 327(3):692-8.
158. Tsunekawa T, Hayashi T, Kano H, Sumi D, Matsui-Hirai H, Thakur NK, et al. Cerivastatin, a hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function in elderly diabetic patients within 3 days. *Circulation*. 2001 Jul 24; 104(4):376-9.
159. Saltzman EA, Guay AT, Jacobson J. Improvement in erectile function in men with organic erectile dysfunction by correction of elevated cholesterol levels: a clinical observation. *J Urol*. 2004 Jul; 172(1):255-8.
160. Herrmann HC, Levine LA, Macaluso J Jr, Walsh M, Bradbury D, Schwartz S, et al. Can atorvastatin improve the response to sildenafil in men with erectile dysfunction not initially responsive to sildenafil? Hypothesis and pilot trial results. *J Sex Med*. 2006 Mar; 3(2):303-8.
161. Doğru MT, Başar MM, Simşek A, Yuvaç E, Güneri M, Ebinç H, et al. Effects of statin treatment on serum sex steroids levels and autonomic and erectile function. *Urology*. 2008 Apr; 71(4):703-7.
162. Dadkhah F, Safarinejad MR, Asgari MA, Hosseini SY, Lashay A, Amini E. Atorvastatin improves the response to sildenafil in hypercholesterolemic men with erectile dysfunction not initially responsive to sildenafil. *Int J Impot Res*. 2010 Jan-Feb; 22(1):51-60.

163. Gokkaya SC, Ozden C, Levent Ozdal O, Hakan Koyuncu H, Guzel O, Memis A. Effect of correcting serum cholesterol levels on erectile function in patients with vasculogenic erectile dysfunction. *Scand J Urol Nephrol*. 2008; 42(5):437-40.
164. Trivedi D, Kirby M, Wellsted DM, Ali S, Hackett G, O'Connor B, et al. Can simvastatin improve erectile function and health-related quality of life in men aged \geq 40 years with erectile dysfunction? Results of the Erectile Dysfunction and Statins Trial (ISRCTN66772971). *BJU Int*. 2013 Feb; 111(2):324-33.
165. Mastalir ET, Carvalhal GF, Portal VL. The effect of simvastatin in penile erection: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial (Simvastatin treatment for erectile dysfunction – STED TRIAL). *Int J Impot Res*. 2011 Nov-Dec; 23(6):242-8.
166. Hall SA, Kupelian V, Rosen RC, Travison TG, Link CL, Miner MM, et al. Is hyperlipidemia or its treatment associated with erectile dysfunction? Subtitle: Results from the Boston Area Community Health (BACH) Survey. *J Sex Med*. 2009 May; 6(5):1402-13.
167. Solomon H, Samarasinghe YP, Feher MD, Man J, Rivas-Toro H, Lumb PJ, et al. Erectile dysfunction and statin treatment in high cardiovascular risk patients. *Int J Clin Pract*. 2006 Feb; 60(2):141-5.
168. Hyypä MT, Kronholm E, Virtanen A, Leino A, Jula A. Does simvastatin affect mood and steroid hormone levels in hypercholesterolemic men? A randomized double-blind trial. *Psychoneuroendocrinology*. 2003; 28(2):181-94.
169. Dobs AS, Schrott H, Davidson MH, Bays H, Stein EA, Kush D, et al. Effects of high-dose simvastatin on adrenal and gonadal steroidogenesis in men with hypercholesterolemia. *Metabolism*. 2000 Sep; 49(9):1234-8.
170. Nachtsheim D. Sildenafil: a milestone in the treatment of impotence. *West J Med*. 1998 Aug; 169(2):112-3.
171. Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med*. 1998 May 14; 338(20):1397-404. Erratum in: *N Engl J Med*. 1998 Jul 2; 339(1):59.
172. Andersson KE. Neurophysiology/pharmacology of erection. *Int J Impot Res*. 2001 Aug; 13(Suppl 3):S8-17.
173. Wallis RM, Corbin JD, Francis SH, Ellis P. Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildenafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function and the contractile responses of trabeculae carneae and aortic rings in vitro. *Am J Cardiol*. 1999 Mar 4; 83(5A):3C-12C.
174. Badesch DB, Abman SH, Simonneau G, Rubin LJ, McLaughlin VV. Medical therapy for pulmonary arterial hypertension: updated ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2007 Jun; 131(6):1917-28.

175. Barst RJ, Gibbs JS, Ghofrani HA, Hoeper MM, McLaughlin VV, Rubin LJ, et al. Updated evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Jun 30; 54(1 Suppl):S78-84.
176. Jing ZC, Jiang X, Wu BX, Xu XQ, Wu Y, Ma CR, et al. Vardenafil treatment for patients with pulmonary arterial hypertension: a multicentre, open-label study. *Heart*. 2009 Sep; 95(18):1531-6.
177. Seftel AD. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: molecular pharmacology and interactions with other phosphodiesterases. *Curr Pharm Des*. 2005; 11(31):4047-58. Review.
178. Schwartz BG, Kloner RA. Drug Interactions With Phosphodiesterase-5 Inhibitors Used for the Treatment of Erectile Dysfunction or Pulmonary Hypertension. *Circulation*. 2010 Jul 6; 122(1):88-95.
179. Moreira SG Jr, Brannigan RE, Spitz A, Orejuela FJ, Lipshultz LI, Kim ED. Side-effect profile of sildenafil citrate (Viagra) in clinical practice. *Urology*. 2000 Sep 1; 56(3):474-6.
180. Reffelmann T, Kloner RA. Sexual function in hypertensive patients receiving treatment. *Vasc Health Risk Manag*. 2006; 2(4):447-55. Review.
181. Kloner RA, Zusman RM. Cardiovascular effects of sildenafil citrate and recommendations for its use. *Am J Cardiol*. 1999 Sep 9; 84(5B):11N-7N.
182. Kloner RA, Hutter AM, Emmick JT, Mitchell MI, Denne J, Jackson G. Time course of the interaction between tadalafil and nitrates. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Nov 19; 42(10):1855-60.
183. Kloner RA. Pharmacology and drug interaction effects of the phosphodiesterase 5 inhibitors: focus on alpha-blocker interactions. *Am J Cardiol*. 2005 Dec 26; 96(12B):42M-6M.
184. Auerbach SM, Gittleman M, Mazzu A, Cihon F, Sundaresan P, White WB. Simultaneous administration of vardenafil and tamsulosin does not induce clinically significant hypotension in patients with benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2004 Nov; 64(5):998-1003; discussion 1003-4.
185. Kloner RA, Jackson G, Emmick JT, Mitchell MI, Bedding A, Warner MR, et al. Interaction between the phosphodiesterase 5 inhibitor, tadalafil and 2 alpha-blockers, doxazosin and tamsulosin in healthy normotensive men. *J Urol*. 2004 Nov; 172(5 Pt1):1935-40.
186. Kerkreja RC, Salloum FN, Das A, Koka S, Ockaili RA, Xi L. Emerging new uses of phosphodiesterase-5 inhibitors in cardiovascular diseases. *Exp Clin Cardiol*. 2011 Winter; 16(4):e30-5.

187. Takimoto E, Champion HC, Li M, Belardi D, Ren S, Rodriguez ER, et al. Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5. A prevents and reverses cardiac hypertrophy. *Nat Med.* 2005 Feb; 11(2): 214-22.
188. Das A, Xi L, Kukreja RC. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling. *J Biol Chem.* 2005 Apr 1; 280(13):12944-55.
189. Phillips RA. Current and Future Treatment of Hypertension in The SPRINT Era. *Methodist DeBakey Cardiovasc J.* 2015 Oct-Dec; 11(4):206-13.
190. Vardi Y, Klein L, Nassar S, Sprecher E, Gruenwald I. Effects of sildenafil citrate (Viagra) on blood pressure in normotensive and hypertensive men. *Urology.* 2002 May; 59(5):747-52.
191. Webb DJ, Freestone S, Allen MJ, Muirhead GJ. Sildenafil citrate and blood-pressure-lowering drugs: results of drug interaction studies with an organic nitrate and a calcium antagonist. *Am J Cardiol.* 1999 Mar 4; 83(5A):21C-28C.
192. Mahmud A, Hennessy M, Feely J. Effect of sildenafil on blood pressure and arterial wave reflection in treated hypertensive men. *J Hum Hypertens.* 2001 Oct; 15(10):707-13.
193. Vlachopoulos C, Hirata K, O'Rourke MF. Effects of sildenafil on arterial stiffness and wave reflection. *Vasc Med.* 2003 Nov; 8(4):243-8.
194. Kelly RP, Gibbs HH, O'Rourke MF, Daley JE, Mang K, Avolio AP, et al. Nitroglycerine has more favorable effects on left ventricular afterload than apparent from measurement of pressure of in a peripheral artery. *Eur Heart J.* 1990 Feb; 11(2):138-44.
195. Webb DJ, Muirhead GJ, Wulff M, Sutton JA, Levi R, Dinsmore WW. Sildenafil citrate potentiates the hypotensive effects of nitric oxide donor drugs in male patients with stable angina. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Jul; 36(1):25-31.
196. Shigemura K, Arakawa S, Kamidono S, Nakano Y, Fujisawa M. Effect of sildenafil on arterial stiffness, as assessed by pulse wave velocity, in patients with erectile dysfunction. *Int J Urol.* 2006 Jul; 13(7):956-9.
197. Dean AG, Sullivan KM, MM. S. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health 2003 [cited 2010]. Available from: www.OpenEpi.com.
198. Rosen RC, Riley A, Wagner G, Osterloh IH, Kirkpatrick J, Mishra A. The international index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. *Urology.* 1997 Jun; 49(6):822-30.
199. Rosen RC, Cappelleri JC, Smith MD, Lipsky J, Peña BM. 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 Import Res.* 1999 Dec; 11(6):319-26.

200. Roustit M, Cracowski JJ. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol Sci.* 2013 Jul; 34(7):373-84.
201. Kaiser SE, Sanjuliani AF, Estado V, Gomes MB, Tibiriçá E. Antihypertensive treatment improves microvascular rarefaction and reactivity in low-risk hypertensive individuals. *Microcirculation.* 2013 Nov; 20(8):703-16.
202. Antonios TF, Rattray FE, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Maximization of skin capillaries during intra-vital video-microscopy in essential hypertension: comparison between venous congestion, reactive hyperemia and core heat load tests. *Clin Sci (Lond).* 1999 Oct; 97(4):523-8.
203. Kleinbongard P, Dejam A, Lauer T, Jax T, Kerber S, Gharini P, et al. Plasma nitrite concentrations reflect the degree of endothelial dysfunction in humans. *Free Radic Biol Med.* 2006 Jan 15; 40(2):295-302.
204. Virdis A, Neves MF, Duranti E, Bernini G, Taddei S. Microvascular endothelial dysfunction in obesity and hypertension. *Curr Pharm Des.* 2013; 19(13):2382-9.
205. Eaton CB, Liu YL, Mittleman MA, Miner M, Glasser DB, Rimm EB. A retrospective study of the relationship between biomarkers of atherosclerosis and erectile dysfunction in 988 men. *Int J Impot Res.* 2007 Mar-Apr; 19(2):218-25.
206. Busari OA, Opadijo OG, Olarewaju TO, Oladosu YO. Male erectile dysfunction and microalbuminuria in adult Nigerians with essential hypertension. *N Am J Med Sci.* 2013 Jan; 5(1):32-6.
207. Barassi A, Pezzilli R, Morselli-Labate AM, Porreca W, Piediferro G, Ciociola F, et al. Evaluation of microalbuminuria in patients with erectile dysfunction. *J Sex Med.* 2010 Mar; 7(3):1224-8.
208. Prisant LM. Phosphodiesterase-5 inhibitors and their hemodynamic effects. *Curr Hypertens Rep.* 2006 Aug; 8(4):345-51.
209. Zusman RM, Morales A, Glasser DB, Osterloh IH. Overall cardiovascular profile of sildenafil citrate. *Am J Cardiol.* 1999 Mar 4; 83(5A):35C-44C.
210. Jackson G, Benjamin N, Jackson N, Allen MJ. Effects of sildenafil citrate on human hemodynamics. *Am J Cardiol.* 1999 Mar 4; 83(5A):13C-20C.
211. Sacks FM, Svertkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, et al. DASH-Sodium Collaborative Research Group. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. *N Engl J Med.* 2001 Jan 4; 344(1):3-10.
212. Neter JE, Stam BE, Kon FJ, Grobbee DE, Geleijnse JM. Influence of weight reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension.* 2003 Nov; 42(5):878-84.

213. Strazzullo P, D'Elia L, Kandala NB, Cappuccio FP. Salt intake, stroke and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. *BMJ*. 2009 Nov 24; 339: b4567.
214. Behling A, Rohde LE, Colombo FC, Goldraich LA, Stein R, Clausell N. Effects of 5^α-phosphodiesterase four-week long inhibition with sildenafil in patients with chronic heart failure: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Card Fail*. 2008 Apr; 14(3):189-97.
215. El-Galley R, Rutland H, Talic R, Keane T, Clark H. Long-term efficacy of sildenafil and tachyphylaxis effect. *J Urol*. 2001 Sep; 166(3):927-31.
216. Wang RC, Jiang FM, Zheng QL, Li CT, Peng XY, He CY, Luo J, Liang ZA. Efficacy and safety of sildenafil treatment in pulmonary arterial hypertension: a systematic review. *Respir Med*. 2014 Mar; 108(3):531-7.
217. Lewis GD, Shah R, Shahzard K, Camuso JM, Pappagianopoulos PP, Hung J, et al. Sildenafil improves exercise capacity and quality of life in patients with systolic heart failure and secondary pulmonary hypertension. *Circulation*. 2007 Oct 2; 116(14):1555-62.
218. Ballard SA, Gingell CJ, Tang K, Turner LA, Price ME, Naylor AM. Effects of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. *J Urol*. 1998 Jun; 159(6): 2164-71.
219. Sánchez A, Villalba N, Martínez AC, García-Sacristán A, Hernández M, Prieto D. Mechanisms of the relaxant effect of vardenafil in rat penile arteries. *Eur J Pharmacol*. 2008 May 31; 586(1-3):283-7.
220. Lee SR, Kim KH, You HS, Hsieh TM, Bhargava V, Raj Rajasekaran M, et al. Characterization of age-related penile microvascular hemodynamic impairment using laser speckle contrast imaging: possible role of increase fibrogenesis. *Physiol Rep*. 2017 Nov; 5(21). pii:e13481.
221. Vardi Y, Appel B, Ofer Y, Greunwald I, Dayan L, Jacob G. Effect of chronic sildenafil treatment on penile endothelial function: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *J Urol*. 2009 Dec; 182(6):2850-5.
222. Demir O, Demir T, Kefi A, Secil M, Comlekci A, Yesil S, et al. Penile vascular impairment in erectile dysfunction patients with metabolic syndrome: penile Doppler ultrasound findings. *Urol Int*. 2009; 82(2):175-8.
223. Corona G, Mannucci E, Schulman C, Petrone L, Mansani R, Cilotti A, et al. Psychobiologic correlates of the metabolic syndrome and associated sexual dysfunction. *Eur Urol*. 2006 Sep; 50(3):595-604.

224. Toblli JE, Cao G, Lombraña A, Rivero M. Functional and morphological improvement in erectile tissue of hypertensive rats by long-term combined therapy with phosphodiesterase type 5 inhibitor and losartan. *J Sex Med.* 2007 Sep; 4(5):1291-303.
225. Dishy V, Sofowora G, Harris PA, Kandcer M, Zhan F, Wood AJ, et al. The effect of sildenafil on nitric oxide-mediated vasodilation in healthy men. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Sep; 70(3):270-9.
226. Meredith IT, Currie KE, Anderson TJ, Roddy MA, Ganz P, Creager MA. Post ischemic vasodilation in human forearm is dependent on endothelium-derived nitric oxide. *Am J Physiol.* 1996 Apr; 270(4 Pt 2):H1435-40.
227. Corbin JD, Francis SH, Webb DJ. Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction. *Urology.* 2002 Sep; 60(2 Suppl 2):4-11. Review.
228. Vaziri ND, Wang XQ. cGMP-mediated negative-feedback regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by nitric oxide. *Hypertension.* 1999 Dec; 34(6):1237-41.
229. Desouza C, Parulkar A, Lumpkin D, Akers D, Fonseca VA. Acute and prolonged effects of sildenafil on brachial artery flow-mediated dilatation in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2002 Aug; 25(8):1336-9.
230. Gooding KM, Hannemann MM, Tooke JE, Clough GF, Shore AC. Maximum skin hyperaemia induced by local heat: possible mechanisms. *J Vasc Res.* 2006; 43(3):270-7.
231. Prasad A, Dunnill GS, Mortimer PS, MacGregor GA. Capillary rarefaction in the forearm skin in essential hypertension. *J Hypertens.* 1995 Feb; 13(2):265-8.
232. Nascimento AR, Lessa MA, Sabino B, Bousquet P, Tibiriçá E. Microvascular effects of centrally acting antihypertensive drugs in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2010 Mar; 55(3):240-7.
233. Sabino B, Lessa MA, Nascimento AR, Rodrigues CA, Henriques Md, Tibiriçá E, et al. Effects of antihypertensive drugs on capillary rarefaction in spontaneously hypertensive rats: intra-vital microscopy and histologic analysis. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008 Apr; 51(4):402-9.
234. Serné EH, Gans RO, ter Maaten JC, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Capillary recruitment is impaired in essential hypertension and relates to insulin's metabolic and vascular actions. *Cardiovasc Res.* 2001 Jan; 49(1):161-8.
235. Nguyen VN, Miller C, Sunderland J, McGuinness W. Understanding the Hawthorne effect in wound research - A scoping review. *Int Wound J.* 2018 Dec; 15(6):1010-1024.
236. Dejam A, Hunter CJ, Schechter AN, Gladwin MT. Emerging role of nitrite in human biology. *Blood Cells Mol Dis.* 2004 May-Jun; 32(3):423-9.

237. Zavaroni I, Ardigo D, Rossi PC, Zuccarelli A, Pacetti E, Monti L, et al. Relationship between plasma nitric oxide concentration and insulin resistance in essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2004 Jul; 17(7):549-52.
238. Node K, Kitakaze M, Yoshikawa H, Kosaka H, Hori M. Reduced plasma concentrations of nitrogen oxide in individuals with essential hypertension. *Hypertension*. 1997 Sep; 30(3 Pt 1):405-8.
239. Pierdomenico SD, Cipollone F, Lapenna D, Bucci A, Cuccurullo F, Mezzetti A. Endothelial function in sustained and white coat hypertension. *Am J Hypertens*. 2002 Nov; 15(11):946-52.
240. Cittadino M, Gonçalves de Sousa M, Ugar-Toledo JC, Rocha JC, Tanus-Santos JE, Moreno H Jr. Biochemical endothelial markers and cardiovascular remodeling in refractory arterial hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 2003 Jan; 25(1):25-33.
241. Ouviña SM, La Greca RD, Zanaro NL, Palmer L, Sasseti B. Endothelial dysfunction, nitric oxide and platelet activation in hypertensive and diabetic type II patients. *Thromb Res*. 2001 Apr 15; 102(2):107-14.
242. Jeerooburkhan N, Jones LC, Bujac S, Cooper JA, Miller GJ, Vallance P, et al. Genetic and environmental determinants of plasma nitrogen oxides and risk of ischemic heart disease. *Hypertension*. 2001 Nov; 38(5):1054-61.
243. Qiu HY, Henrion D, Benessiano J, Heymes C, Tournier B, Levy BI. Decreased flow-induced dilation and increased production of cGMP in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1998 Dec; 32(6):1098-103.
244. Tschudi MR, Mesaros S, Luscher TF, Malinski T. Direct in situ measurement of nitric oxide in mesenteric resistance arteries. Increased decomposition by superoxide in hypertension. *Hypertension*. 1996 Jan; 27(1):32-5.
245. Koller A, Huang A. Impaired nitric oxide-mediated flow-induced dilation in arterioles of spontaneously hypertensive rats. *Circ Res*. 1994 Mar; 74(3):416-21.
246. Qiu HY, Henrion D, Levy BI. Alterations in flow-dependent vasomotor tone in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1994 Oct; 24(4):474-9.
247. Nava E, Farré AL, Moreno C, Casado S, Moreau P, Cosentino F, et al. Alterations to the nitric oxide pathway in the spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens*. 1998 May; 16(5):609-15.
248. Higashino H, Miya H, Mukai H, Miya Y. Serum nitric oxide metabolite (NO(x)) levels in hypertensive patients at rest: a comparison of age, gender, blood pressure and complications using normotensive controls. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007 Aug; 34(8):725-31.
249. Smith CJ, Santhanam L, Bruning RS, Stanhewicz A, Berkowitz DE, Holowatz LA. Upregulation of inducible nitric oxide synthase contributes to attenuated cutaneous vasodilation in essential hypertensive humans. *Hypertension*. 2011 Nov; 58(5):935-42.

250. Dunn J, Gutbrod S, Webb A, Pak A, Jandu SK, Bhunia A, et al. S-nitrosation of arginase 1 requires direct interaction with inducible nitric oxide synthase. *Mol Cell Biochem.* 2011 Sep; 355(1-2):83-9.
251. Holowatz LA, Kenney WL. Up-regulation of arginase activity contributes to attenuated reflex cutaneous vasodilatation in hypertensive humans. *J Physiol.* 2007 Jun 1; 581(Pt 2):863-72.
252. White AR, Ryoo S, Li D, Champion HC, Steppan J, Wang D, et al. Knockdown of arginase I restores NO signaling in the vasculature of old rats. *Hypertension.* 2006 Feb; 47(2):245-51.
253. Kohno M, Yokokawa K, Minami M, Yasunari K, Maeda K, Kano H, et al. Plasma levels of nitric oxide and related vasoactive factors following long-term treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitor in patients with essential hypertension. *Metabolism.* 1999 Oct; 48(10):1256-9.
254. Suda O, Tsutsui M, Morishita T, Horiuchi M, Nakata S, Nakashima Y, et al. Long-term treatment with imidapril but not with nifedipine enhances plasma NOx concentration in patients with essential hypertension. *J Pharmacol Sci.* 2006 Jun; 101(2):159-65.
255. Ono H, Minatoguchi S, Watanabe K, Yamada Y, Mizukusa T, Kawasaki H, et al. Candesartan decreases carotid intima-media thickness by enhancing nitric oxide and decreasing oxidative stress in patients with hypertension. *Hypertens Res.* 2008 Feb; 31(2):271-9.
256. Takase H, Sugiyama M, Nakazawa A, Sato K, Ueda R, Dohi Y. Long-term effect of antihypertensive therapy with calcium antagonist or angiotensin converting enzyme inhibitor on serum nitrite/nitrate levels in human essential hypertension. *Arzneimittelforschung.* 2000 Jun; 50(6):530-4.
257. Matsuda H, Hayashi K, Homma K, Yoshioka K, Kanda T, Saruta T, et al. Differing anti-proteinuric action of candesartan and losartan in chronic renal disease. *Hypertens Res.* 2003 Nov; 26(11):875-80.
258. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation.* 1998 Mar 31; 97(12):1129-35.
259. Thakur NK, Hayashi T, Sumi D, Kano H, Tsunekawa T, Iguchi A. HMG-CoA reductase inhibitor stabilizes rabbit atheroma by increasing basal NO and decreasing superoxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001 Jul; 281(1):H75-83.
260. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med.* 1995 Feb 23; 332(8):488-93.

261. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1995 Feb; 332(8):481-7.
262. O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997 Mar 4; 95(5):1126-31.
263. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999 Jun 10; 399(6736):601-5.
264. Kureishi Y, Luo Z, Shiojuma I, Bialik A, Fulton D, Lefer DJ, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med*. 2000 Sep;6(9):1004-10. Erratum in *Nat Med* 2001 Jan; 7(1):129.
265. Pickering TG, Shepherd AM, Puddey I, Glasser DB, Orazem J, Mancina G, et al. Sildenafil citrate for erectile dysfunction in men receiving multiple antihypertensive agents. *Am J Hypertens*. 2004 Dec; 17(12 Pt 1):1135-42.
266. Reffelmann T, Kloner RA. Pharmacotherapy of erectile dysfunction: focus on cardiovascular safety. *Expert Opin Drug Saf*. 2005 May; 4(3):531-40.
267. Morales A, Gingell C, Collins M, Wicker PA, Osterloh IH. Clinical safety of oral sildenafil citrate (VIAGRA) in the treatment of erectile dysfunction. *Int J Impot Res*. 1998 Jun; 10(2):69-73; discussion 73-4.
268. Nehra A. Erectile dysfunction and cardiovascular disease: efficacy and safety of phosphodiesterase type 5 inhibitors in men with both conditions. *Mayo Clin Proc*. 2009 Feb; 84(2):139-48.

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido para participar em um projeto de pesquisa

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DO ENDOTÉLIO MICROVASCULAR SISTÊMICO E PENIANO E DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA APÓS O USO DO CITRATO DE SILDENAFILA EM INDIVÍDUOS HIPERTENSOS COM DISFUNÇÃO ERÉTIL

INFORMAÇÕES

O senhor está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Antes de assinar o termo de consentimento para a sua participação, por favor, leia (ou escute) com atenção a todas as informações. Tire qualquer dúvida com o médico ou equipe médica que está lhe apresentando ao estudo agora ou a qualquer momento que julgar necessário.

DESCRIÇÃO GERAL DA PESQUISA

Esta pesquisa tem o objetivo de avaliar como estão funcionando os vasos sanguíneos do seu corpo e também do seu pênis, antes e após o tratamento por quatro semanas com um medicamento usado para disfunção erétil (impotência). O uso deste medicamento é considerado seguro mesmo quando usado em pacientes com hipertensão arterial.

EFEITOS COLATERAIS DO MEDICAMENTO

Podem ocorrer efeitos colaterais atribuídos a este medicamento que geralmente são transitórios e de leve intensidade. Caso eles ocorram, o senhor deve entrar em contato com o médico que o está assistindo. Os efeitos colaterais possíveis são: cefaléia (dor de cabeça), rubor facial (calor e vermelhidão no rosto), dispepsia (sensação de dor ou queimação no estômago), enjôo, diarreia, tonturas, visão borrada ou “azulada”, congestão nasal (nariz entupido), dor no peito e palpitação. Priapismo (ereção mantida e dolorosa) pode ocorrer, muito raramente, mas se for prolongado, deve ser tratado imediatamente. Neste caso, ligue para o médico responsável pela pesquisa ou procure um serviço de emergência.

O QUE PODE INTERFERIR COM ESTE MEDICAMENTO?

Alguns medicamentos podem interagir com o sildenafil e não devem ser usados durante o seu tratamento. São eles: cisaprida, nitratos, outros inibidores da fosfodiesterase 5, cimetidina, eritromicina, rifampicina, fluconazol, itraconazol, cetoconazol e voriconazol, alguns medicamentos para o tratamento da infecção por HIV ou SIDA por exemplo, ritonavir, saquinavir; Alfa-bloqueadores (por exemplo, a doxazosina); analgésicos narcóticos (por exemplo, dihydrocodeine), ou telitromicina.

Evitar, de preferência, não consumir bebida alcoólica enquanto tomar o sildenafil, pois o álcool pode precipitar ou potencializar efeitos colaterais.

NOTA: Este medicamento é apenas para si. Não o compartilhe com outros.

PROCEDIMENTO DO ESTUDO

Caso o senhor aceite participar desse estudo, terá que se submeter a uma rotina de exames de sangue que incluem: avaliação dos hormônios masculinos (testosterona total e livre), avaliação da função da próstata (PSA), glicemia e dosagem da hemoglobina glicada (para diagnóstico de diabetes), perfil lipídico (colesterol, triglicérido) e avaliação da função da tireóide (TSH). Além disso, também responderá a um questionário que tem como objetivo avaliar o seu desempenho sexual.

RISCOS E INCONVENIENTES

A participação no estudo exige que o senhor se submeta a vários exames. Além da medida da pressão habitual, no consultório, o senhor terá que fazer um exame de MAPA, que consiste na colocação de um aparelho de pressão que irá medir sua pressão arterial por um período de 24 horas, ou seja, tanto durante o dia, quanto durante o sono. Também deverá fazer um eletrocardiograma e um ecocardiograma para avaliação do seu coração e um exame de Doppler das artérias carótidas.

Não existem riscos significativos para coleta de sangue. O procedimento é o mesmo para qualquer exame de sangue que o senhor já faz habitualmente. Quanto aos outros exames, também não existe risco e não causam qualquer tipo de dor. Em relação aos questionários, se o senhor acha que pode ficar constrangido para responder perguntas sobre a sua intimidade sexual, então pode não aceitar participar deste estudo.

Será realizado um exame para a avaliação dos vasos sanguíneos e do pênis, no qual será colocado um eletrodo (tipo um adesivo) sobre a pele do antebraço e do pênis, para que possa ser feita a leitura da função dos vasos sanguíneos. Este exame não causa dor e não é capaz de causar qualquer prejuízo a sua saúde nem a sua atividade sexual habitual.

Após o primeiro exame o senhor receberá o citrato de sildenafila, 100 mg, em dose única e após uma hora, o exame será repetido para avaliar a resposta ao medicamento.

Após a realização destes exames, o senhor receberá, gratuitamente, 60 cápsulas do medicamento citrato de sildenafila ou placebo na dose de 50 mg, que tem como objetivo tratar a disfunção erétil e possivelmente melhorar o controle da sua pressão arterial. Este medicamento deverá ser tomado duas vezes ao dia, de 12/12 h, por trinta dias.

O senhor terá que comparecer ao hospital, após a primeira semana de tratamento para relatar possíveis efeitos colaterais e na quarta semana de tratamento, quando serão realizados novos exames, para comparação com os primeiros exames realizados antes do tratamento.

Após estes exames, o senhor ficará, por um período de quatro semanas sem usar este remédio e, depois voltará ao hospital para realizar novos exames e receber o citrato de sildenafila ou placebo, na dose de 50 mg, que deverá ser usado por mais quatro semanas. Neste período, o procedimento será o mesmo do primeiro período de avaliação.

BENEFÍCIOS

O resultado desta pesquisa pode trazer para o senhor o esclarecimento sobre um problema comum, porém pouco investigado e diagnosticado que é a queda de hormônio (testosterona) nos homens, que causa a disfunção erétil (impotência) e outras alterações nos vasos sanguíneos de todo o corpo, que aceleram o desenvolvimento de doenças como o infarto e o acidente vascular cerebral (AVC), entre outras. Também lhe trará informações sobre possível diagnóstico de diabetes, dislipidemias (aumento do colesterol e triglicéridos), alterações da função renal, doenças da próstata e da glândula tireoide. Além disso, o senhor

estará colaborando para que no futuro possamos diagnosticar e tratar, mais precocemente, pacientes com o mesmo problema.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

O senhor é livre para participar ou desistir do estudo a qualquer momento, bastando comunicar a seu médico a sua decisão. Saiba que o fato de desistir do estudo não influencia em nada o seu tratamento nem o relacionamento com a equipe de saúde que atualmente lhe acompanha.

CONFIDENCIALIDADE

Qualquer informação relacionada a esse projeto com respeito ao senhor, como história médica, exame físico e resultados de laboratório, serão mantidos em segredo, e apenas as pessoas autorizadas ficarão cientes destes resultados. Representantes do comitê de ética ou comitê científico, também poderão ter acesso ao seu prontuário.

Todos os dados médicos sobre o seu caso serão analisados junto com os dados dos outros participantes, mas nem seu nome nem nenhuma identificação sua vão aparecer nesses arquivos.

Os resultados do estudo podem ser publicados, mas sua identidade nunca será revelada.

CUSTOS E RESSARCIMENTO

Sua participação no estudo não acarretará em custos adicionais ao seu tratamento regular. Também não haverá nenhuma forma de pagamento pela sua participação.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Cardiologia revisou os objetivos e a conduta proposta desse estudo e concedeu uma aprovação favorável à sua realização.

Em caso de dúvidas quanto ao estudo, o senhor poderá entrar em contato com a Dra. Valéria Verri ou o Dr. Eduardo Tibiriçá, responsáveis pela condução do estudo, pelos telefones 999942932 e 30372270 ou nos endereços abaixo; ou com a Dra. Mônica, coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do INC pelo telefone 30372307 ou no Instituto Nacional de Cardiologia do Rio de Janeiro (INC): R. das Laranjeiras, 374. Laranjeiras. RJ, quinto andar.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA A PESQUISA

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DO ENDOTÉLIO MICROVASCULAR SISTÊMICO E PENIANO
E DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA APÓS O USO CRÔNICO DO CITRATO DE
SILDENAFILA EM HIPERTENSOS COM DISFUNÇÃO ERÉTIL

Eu tirei todas as dúvidas que eu tinha a respeito deste projeto de pesquisa.
Eu entendo que sou livre para sair do estudo no momento em que eu quiser e isso não vai prejudicar ou mudar meu tratamento atual e futuros.
Eu li e entendi o que está escrito nesse formulário.
Eu, que assino aqui, aceito participar neste projeto de pesquisa.

Assinatura do paciente:

Data:

Eu expliquei o objetivo do projeto ao senhor _____ e ele assinou esse termo de consentimento na minha presença.

Assinatura do Investigador:

Data:

APÊNDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido para participar em um projeto de pesquisa como voluntário controle

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DO ENDOTÉLIO MICROVASCULAR SISTÊMICO E PENIANO E DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA APÓS O USO DO CITRATO DE SILDENAFILA EM INDIVÍDUOS HIPERTENSOS COM DISFUNÇÃO ERÉTIL

INFORMAÇÕES

O senhor está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Antes de assinar o termo de consentimento para a sua participação, por favor, leia (ou escute) com atenção a todas as informações. Tire qualquer dúvida com o médico ou equipe médica que está lhe apresentando ao estudo agora ou a qualquer momento que julgar necessário.

DESCRIÇÃO GERAL DA PESQUISA

Esta pesquisa tem o objetivo de avaliar como estão funcionando os vasos sanguíneos do seu corpo e também do seu pênis, antes e 1h após o uso de 100 mg do citrato de sildenafil, um medicamento que age dilatando os vasos sanguíneos de todo o corpo, com maior ação nos vasos sanguíneos do pênis usado para o tratamento da disfunção erétil (impotência). O uso deste medicamento é considerado seguro, exceto quando associado a alguns medicamentos de ação vasodilatadora, quando pode causar queda da pressão arterial, ou quando usado em pacientes com doenças graves do coração, rins, fígado ou do cérebro. Também não deve ser usado em pessoas portadoras de doença psiquiátrica. Se o senhor se enquadra em algumas destas condições, não deve participar desta pesquisa.

Podem ocorrer efeitos colaterais atribuídos a este medicamento que geralmente são transitórios e de leve intensidade. Caso eles ocorram, o senhor deve relatar ao médico que o está assistindo ou, se ocorrerem posteriormente a sua saída do hospital, entrar em contato com o médico responsável, para receber a orientação devida. Os possíveis efeitos colaterais são: cefaléia (dor de cabeça), rubor facial (calor e vermelhidão no rosto), dispepsia (sensação de dor ou queimação no estômago), enjôo, diarreia, tonturas, visão borrada ou “azulada”, congestão nasal (nariz entupido), dor no peito e palpitação. Priapismo (ereção mantida) ocorre muito raramente, mas se for prolongado, deve ser tratado imediatamente. Neste caso, ligue para o médico responsável pela pesquisa ou procure um serviço de emergência.

Neste dia em que fará uso do citrato de sildenafil, evite e de preferência, não faça uso de bebida alcoólica ou de qualquer medicamento além dos que já usa regularmente e que foi relatado durante a sua entrevista e considerado seguro pelo médico que o avaliou.

PROCEDIMENTO DO ESTUDO

Caso o senhor aceite participar desse estudo, terá que se submeter a uma rotina de exames de sangue que incluem: avaliação dos hormônios masculinos (testosterona total e livre), avaliação da função da próstata (PSA), glicemia e dosagem da hemoglobina glicosilada (para diagnóstico de diabetes), perfil lipídico (colesterol, triglicérido) e avaliação da função da tireóide (TSH). Também responderá a um questionário que tem como objetivo avaliar o seu desempenho sexual.

RISCOS E INCONVENIENTES

A participação no estudo exige que o senhor se submeta a alguns exames. Além da medida da pressão habitual, no consultório, o senhor terá que fazer um eletrocardiograma, um ecocardiograma para avaliação do seu coração e um exame de Doppler das artérias carótidas.

Não existem riscos significativos para coleta de sangue. O procedimento é o mesmo para qualquer exame de sangue que o senhor já faz habitualmente. Quanto aos outros exames, também não existe risco e não causam qualquer tipo de dor. Em relação aos questionários, se o senhor acha que pode ficar constrangido para responder perguntas sobre a sua intimidade sexual, então pode não aceitar participar deste estudo.

Também será realizado um exame para a avaliação dos vasos sanguíneos, no qual será colocado um eletrodo (tipo um adesivo) sobre a pele do antebraço e do pênis, para que possa ser feito a leitura da função dos vasos sanguíneos. Este exame não causa dor e não é capaz de causar qualquer prejuízo a sua saúde nem a sua atividade sexual habitual.

Após o primeiro exame o senhor receberá o citrato de sildenafila, 100 mg, em dose única e após uma hora, o exame será repetido para avaliar a resposta ao medicamento.

BENEFÍCIOS

O resultado desta pesquisa pode trazer para o senhor o esclarecimento sobre um problema comum, porém pouco investigado e diagnosticado que é a queda de hormônio (testosterona) nos homens, que causa a disfunção erétil (impotência) e outras alterações nos vasos sanguíneos de todo o corpo, que aceleram o desenvolvimento de doenças como o infarto e o acidente vascular cerebral (AVC), entre outras. Também lhe trará informações sobre possível diagnóstico de diabetes, dislipidemias (aumento do colesterol e triglicerídeos), alterações da função renal, doenças da próstata e da glândula tireóide. Além disso, o senhor estará colaborando para que no futuro possamos diagnosticar e tratar, mais precocemente, pacientes com estes problemas de saúde.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

O senhor é livre para participar ou desistir do estudo, bastando, para isso, comunicar ao médico responsável pela pesquisa, a sua decisão.

CONFIDENCIALIDADE

Qualquer informação relacionada a esse projeto com respeito ao senhor, como história médica, exame físico e resultados de laboratório, serão mantidos em segredo, e apenas as pessoas autorizadas ficarão cientes destes resultados. Representantes do comitê de ética ou comitê científico, também poderão ter acesso ao seu prontuário, se necessário.

Todos os dados médicos sobre o seu caso serão analisados junto com os dados dos outros participantes, mas nem seu nome nem nenhuma identificação sua vão aparecer nesses arquivos.

Os resultados do estudo podem ser publicados, mas sua identidade nunca será revelada.

CUSTOS E RESSARCIMENTO

Sua participação no estudo não acarretará em custos adicionais ao seu tratamento regular. Também não haverá nenhuma forma de pagamento pela sua participação.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Cardiologia revisou os objetivos e a conduta proposta desse estudo e concedeu uma aprovação favorável à sua realização.

Em caso de dúvidas, o senhor poderá entrar em contato com a Dra. Valéria Verri ou o Dr. Eduardo Tibiriçá, responsáveis pela condução do estudo, pelos telefones 999942932 e 30372270 ou com a Dra. Mônica, coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do INC pelo telefone 30372307 ou no Instituto Nacional de Cardiologia do Rio de Janeiro (INC): R. das Laranjeiras, 374. Laranjeiras. RJ, quinto andar.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA A PESQUISA

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DO ENDOTÉLIO MICROVASCULAR SISTÊMICO E PENIANO
E DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA APÓS O USO CRÔNICO DO CITRATO DE
SILDENAFILA EM HIPERTENSOS COM DISFUNÇÃO ERÉTIL

Eu tirei todas as dúvidas que eu tinha a respeito deste projeto de pesquisa.
Eu entendo que sou livre para sair do estudo no momento em que eu quiser.
Eu li e entendi o que está escrito nesse formulário.
Eu, que assino aqui, aceito participar desta pesquisa.

Assinatura do paciente:

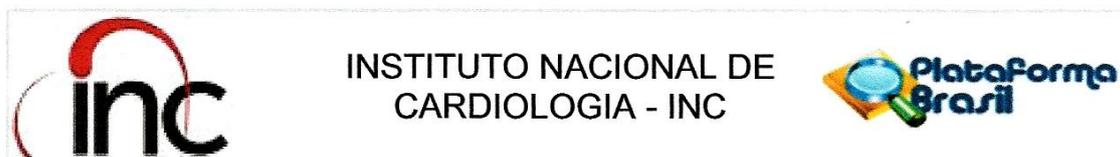
Data:

Eu expliquei o objetivo da pesquisa ao senhor _____
e ele assinou esse termo de consentimento na minha presença.

Assinatura do Investigador:

Data:

ANEXO A – Carta de aprovação do CEP



Continuação do Parecer: 939.486

Critério de exclusão: Não poderão participar do estudo os pacientes que estejam fazendo uso contínuo de nitratos ou bloqueadores alfa-1 adrenérgicos; os com comprovada intolerância aos inibidores da PDE5; aqueles com diagnóstico de disfunção erétil de causas distintas da etiologia vasculogênica como: cirurgias ou traumas pélvicos, doenças da próstata, doenças neurológicas ou psiquiátricas. Também serão excluídos os pacientes com doenças cardíacas descompensadas, nefropatias, hepatopatias ou com distúrbios das glândulas tireóide ou hipófise.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar o efeito do citrato de sildenafila, em uso contínuo, na função do endotélio microvascular sistêmico e peniano de pacientes hipertensos com disfunção erétil.

Objetivo Secundário:

- 1-Avaliar o efeito do citrato de sildenafila, em uso contínuo, nos níveis de pressão arterial sistêmica.
- 2-Avaliar a melhora da disfunção erétil, em pacientes hipertensos, após o uso contínuo do citrato de sildenafila.
- 3-Avaliar a tolerância do citrato de sildenafila, em uso contínuo, na dose de 50mg, duas vezes ao dia, por quatro semanas.
- 4-Correlacionar a espessura da camada médio-intimal das artérias carótidas nos pacientes hipertensos e com disfunção erétil e a resposta ao tratamento com o citrato de sildenafila

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos estão bem determinados e caracterizados, tanto no projeto quanto no TCLE.

A disfunção erétil é uma queixa freqüente no ambulatório de hipertensão arterial sendo muitas vezes, atribuída ao uso de medicamentos antihipertensivos, o que diminui a adesão ao tratamento. O uso contínuo do inibidor da PDE5, em pacientes hipertensos e com disfunção erétil, seria capaz de melhorar não apenas a função erétil, mas poderia contribuir para a redução dos níveis de pressão arterial e fundamentalmente, para a

melhora da função do endotélio vascular

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante, uma vez que a disfunção erétil é fator de muita preocupação dos pacientes e importante causa de interrupção do tratamento

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos e itens obrigatórios estão presentes e adequados

Endereço: Rua das Laranjeiras 374 - 5º andar
Bairro: Laranjeiras **CEP:** 22.240-006
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3037-2307 **Fax:** (21)3037-2307 **E-mail:** cepinclaranjeiras@gmail.com



INSTITUTO NACIONAL DE
CARDIOLOGIA - INC



Continuação do Parecer: 939.486

O TCLE é bem elaborado e de adequado entendimento

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

projeto aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

relatórios semestrais deverão ser encaminhado

projeto avaliado em julho de 2013, porém por erro de processo só foi encaminhado em 2014

RIO DE JANEIRO, 28 de Janeiro de 2015

Assinado por:

**monica moura de vasconcellos
(Coordenador)**

Endereço: Rua das Laranjeiras 374 - 5º andar

Bairro: Laranjeiras

CEP: 22.240-006

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3037-2307

Fax: (21)3037-2307

E-mail: cepinclaranjeiras@gmail.com



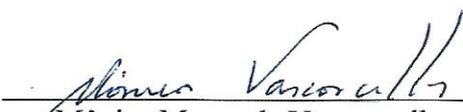
MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO A SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Nacional de Cardiologia esclarece que aprovou por unanimidade o Projeto de Estudo “**Avaliação da Função do Endotélio Microvascular Sistêmico e Peniano e da Pressão Arterial Sistêmica após o Uso Crônico de Citrato de Sildenafil em Hipertensos com Disfunção Erétil**” em reunião realizada no dia 09 de julho de 2013, mas por erro no processo de tramitação na Plataforma Brasil, o mesmo só foi liberado o parecer no sistema em 28 de janeiro de 2015.

Pesquisa sob responsabilidade da Investigadora Principal Valéria Verri sob o CAAE: **17663813.4.0000.5272.**

Rio de janeiro, 20 de maio de 2015.


Mônica Moura de Vasconcellos
Coordenadora do CEP do INC

Elaborado em 20/05/2015
Assinado em 20/05/2015
Assinado em 20/05/2015

ANEXO B - Motivações para descontinuidade no estudo após inclusão:

- 1- A esposa fez contato telefônico manifestando o desejo que seu esposo não continuasse a participar da pesquisa.
- 2- Paciente faleceu por atropelamento antes de completar o estudo.
- 3- O paciente apresentou cefaleia de forte intensidade, na segunda etapa de uso contínuo da medicação, decidindo por descontinuar sua participação no estudo.
- 4- O paciente não teve medidas noturnas no último exame de MAPA, pois retirou o aparelho durante o sono.
- 5- O paciente não prosseguiu o tratamento porque sua esposa ficou gravemente doente, necessitando iniciar tratamento dialítico.
- 6- O paciente apresentou tonteira, de forte intensidade, durante o uso contínuo da medicação.
- 7- O paciente decidiu descontinuar sua participação no estudo alegando falta de tempo para ir ao hospital realizar consultas e exames.

ANEXO C – Certificado de aprovação das cápsulas de todos os medicamentos manipulados para o estudo



www.vegsocapproved.com

Capsugel

**For: DRcaps® Capsules; Vcaps® Capsules; Vcaps® Plus Capsules;
NPCaps® Capsules & Plantcaps™ Capsules**

for a period of 12 months from

1st January 2013

to

1st January 2014

has agreed to follow the **standards** and **guidelines**
for the production of vegetarian products, listed in the trademark
licence agreement, as determined by The Vegetarian Society.

Chief Executive

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'S. ...', written over the word 'Date'.

Date

2nd January 2013

The Vegetarian Society, Parkdale, Dunham Road, Altrincham, Cheshire WA14 4QG
Tel. 0161 925 2000 Fax. 0161 926 9182 E-mail. vegsocapproved@vegsoc.org www.vegsocapproved.com
Registered Charity No. 259358

ANEXO D – Certificado de aprovação do placebo/talco



CERTIFICADO DE ANÁLISE

PRODUTO: TALCO PREMIUM

ORIGEM: NACIONAL

LOTE: N-124514-4

FABRICAÇÃO: 30/08 a 01/09/2012

VALIDADE: SETEMBRO/2017

DCB: 08264 CAS: 14807-96-6

LOTE INTERNO: 1165/12

PARÂMETROS CONTROLADOS	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO
Brançura FMV (%)	92%	Mínimo 88%
Solúveis em HCl	0,38%	Máximo 2,5%
Perda ao fogo	4,9%	Máximo 6,2%
Resíduo em 200 mesh (75 µm)	1,1%	Máximo 2,0
Aeróbios totais	<1 UFC/g	Máximo 100 UFC/g
Staphylococcus Aureus	Ausente	Ausente/10g
Pseudomonas	Ausente	Ausente/10g
Bactérias Gram Negativo	Ausente	Ausente/10g
Candidas albicans	Ausente	Ausente/10g
Clostridium	Ausente	Ausente/10g
Bolores e Leveduras Totais	1	Máximo 50 UFC/g
Escherichia Coli	Ausente	Ausente/10g
Salmonella	Ausente	Ausente/10g

GARANTIA	MÉTODO	
MgO (%) mín.	28,2 a 32,3	Espectrometria FRX
SiO ₂ (%) mín.	56,0	Espectrometria FRX
Al ₂ O ₃ (%) máx.	1,5	Espectrometria FRX
Fe ₂ O ₃ (%) máx.	0,25	Espectrometria FRX
CaO (%) máx.	0,1	Espectrometria FRX
MnO (%) máx.	0,05	Espectrometria FRX
TiO ₂ (%) máx.	0,05	Espectrometria FRX
D.A. Solta (g/cm ³)	0,350/45	Espectrometria PRX
D98 Sedigraph (µm) máx.	60,0	Schott volumeter
D50 Sedigraph (µm) máx.	15,0	SEDGRAPH
Ándulo (ppm) máx.	Ausente	USP
Umidade (%) máx.	0,3	ABNT
Chumbo (ppm) máx.	Máximo 0,001	EE Plasma
Substâncias solúveis em água (%) máximo	Máximo 0,1	Farmacopéia Europeia
Asbesto	Ausente	DRX
Acidez e Alcalinidade	Passa teste	USP 34
Ca	Máximo 0,9	USP 34
Al	Máximo 2,0	USP 34
Mg	17 a 19,5	USP 34
Fe %	Máximo 0,25	USP 34
Absorção em óleo (g/100g)	50,0065/00	ABNT

Análises transcritas do laudo do fabricante.

Elizabete Costa
Farm./Biol./Indl.
CRF-RJ 2229

COMÉRCIO E INDÚSTRIA FARMOS LTDA
TRADIÇÃO E QUALIDADE DESDE 1946

Rua Souto Carvalho nr. 52 – Engenho Novo – Rio de Janeiro/RJ – Cep 20950-310
Tel.: (21) 2501-8852 / 2261-1760 Fax: (21) 2261-2605 / 2261-5935
E-mail: vendas@farmosquimicafina.com.br
www.farmosquimicafina.com.br

RECEBIDO FARMOS
QUANTIDADE 500.000 gr
DATA 25/09/13
14.045

Trabalha Comigo? Preencha
FARMACÊUTICA RT
CPF: 147494

ANEXO E – Certificado de aprovação da sildenafil

CERTIFICADO DE ANÁLISE

INSUMO:	SILDENAFILA CITRATO		Pág 1
ORIGEM/PROCEDÊNCIA:	INDIA/BRASIL	DATA DE ANÁLISE:	31/10/2012
LOTE PHARMA NOSTRA:	12092752A	LOTE FABRICANTE:	458022012SC.
DATA DE FABRICAÇÃO:	Fevereiro/2012	DATA DE VALIDADE:	Janeiro/2017
DCB:	07991	CAS:	171599-83-0
CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM:	TEMPERATURA AMBIENTE		
OBS 1:	FM: $C_{22}H_{30}N_4O_5.S.C_6H_5O_7$		
OBS 2:	PM: 666,71		
DATA DE EMISSÃO:	28/02/2013	NF:	7-002.730
ORDEM FRACIONAMENTO:	6094-12		
TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS	REFERÊNCIAS
Descrição*	Pó cristalino branco a quase branco	Pó cristalino quase branco	Fabricante
Identificação*	IV - O espectro da amostra está de acordo com o do padrão	Positivo	Fabricante
Solubilidade*	Solúvel em dimetilformamida; Pouco solúvel em metanol	Conforme	Fabricante
Perda por dessecação*	≤ 2,0% (3 horas / 105°C)	0,07%	Fabricante
Ponto de fusão*	182°C - 196°C	184,73°C	Fabricante
pH*	3,5 - 4,0 (Solução 0,3% em água)	3,74	Fabricante
Metais pesados	≤ 20 ppm	Conforme	Fabricante
Resíduo por ignição*	≤ 0,2%	0,05%	Fabricante
Conteúdo de ácido cítrico*	28,0 - 32,0%	29,38%	Fabricante
Substâncias relacionadas	Impureza individual ≤ 0,5% Impureza total ≤ 1,0%	0,07% 0,30%	Fabricante
Teor (base anidra)	98,0 - 102,0%	99,64%	Fabricante
TESTES ADICIONAIS			
Densidade aparente*	Informativo (sem compactação)	0,23 g/mL	Mét. Gerai FB V

*Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade Pharma Nostra (UNIDADE ANAPOLIS). E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

- Feq = 1,40 (Manual de Equivalência da Anfarmag - 3ª Edição)

LEGENDA DAS REFERÊNCIAS: FB (Farmacopeia Brasileira) / USP (United States Pharmacopoeia) / EP (European Pharmacopoeia) / BP (British Pharmacopoeia) / JP (Japanese Pharmacopoeia) / MG (Método Geral farmacopeico) / Fabricante (especificação e metodologia conforme o fabricante do insumo) / Informativo (resultado fornecido como informativo pelo LCQ Pharma Nostra)

ARMAZÉM CENTRAL DE MEDICAMENTOS
 FORNECEDOR Pharma Nostra
 QUANTIDADE 250g
 DATA 04/03/13
 NF 2P30

ANÁLISE CONFORME A RESOLUÇÃO
 FARMACOVIGILÂNCIA
 LCPH - ANAPOLIS
 RA

CONCLUSÃO: (X) Aprovado () Reprovado

Responsável pelo Lab. Controle de Qualidade
 João Paulo Sartin Mendes - CRF - GO: 7355

Responsável Técnico
 Rodrigo Molinari Elias - CRF - GO Nº 3234

ANEXO F – Questionário do Índice Internacional de Função Erétil Simplificado
(IIEF-5)

1) Como está sua segurança em atingir e conseguir uma ereção?

- 1 - muito baixa
- 2 - baixa
- 3 - moderada
- 4 - alta
- 5 - muito alta

2) Quando tem uma ereção, com estímulo sexual, quantas vezes a ereção é firme o suficiente para a penetração?

- 1 - quase nunca ou nunca
- 2 - algumas vezes (menos da metade das vezes)
- 3 - algumas vezes
- 4 - a maioria das vezes (mais da metade das vezes)
- 5 - quase sempre ou sempre

3) Durante a relação sexual com que frequência consegue manter a ereção após penetrar a parceira?

- 1 - quase nunca ou nunca
- 2 - algumas vezes (menos da metade das vezes)
- 3 - algumas vezes
- 4 - a maioria das vezes (mais da metade das vezes)
- 5 - quase sempre ou sempre

4) Durante a relação sexual quanto foi difícil manter a ereção para completar o ato sexual?

- 1 - extremamente difícil
- 2 - muito difícil
- 3 - difícil
- 4 - um pouco difícil
- 5 - não foi difícil

5) Quando tentou relação sexual, com que frequência a mesma foi satisfatória?

- 1 - quase nunca ou nunca
- 2 - algumas vezes (menos da metade das vezes)
- 3 - algumas vezes
- 4 - a maioria das vezes (mais da metade das vezes)
- 5 - quase sempre ou sempre

ANEXO G – Abstract do artigo publicado em 2015

Microvascular Research 99 (2015) 96–101



Contents lists available at ScienceDirect

Microvascular Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymvre

The evaluation of penile microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging in healthy volunteers

Valéria Verri^a, Andréa Brandão^c, Eduardo Tibirica^{a,b,1}^a Department of Clinical Research, National Institute of Cardiology, Rio de Janeiro, Brazil^b Laboratory of Cardiovascular Investigation, Oswaldo Cruz Institute, Rio de Janeiro, Brazil^c State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 26 March 2015

Available online 2 April 2015

Keywords:

Microvascular dysfunction
Laser speckle contrast imaging
Penile microcirculation
Erectile dysfunction
Endothelial function

ABSTRACT

Objective: The primary aim of this study was to evaluate the effectiveness of laser speckle contrast imaging (LSCI) coupled with transdermal iontophoretic delivery of acetylcholine (ACh) for the assessment of penile microvascular function. Additionally, we tested systemic microvascular function using both LSCI and ACh iontophoresis on the forearm.

Methods: We assessed cutaneous, endothelium-dependent microvascular reactivity on the penis and forearm of healthy volunteers (aged 56.6 ± 1.0 years, $n = 26$) at rest and 60 min following the oral administration of the phosphodiesterase type 5 inhibitor (sildenafil; SIL, 100 mg). LSCI was coupled with the iontophoresis of ACh using increasing anodal currents of 30, 60, 90, 120, 150 and 180 μA during 10-second intervals spaced 1 min apart.

Results: Basal skin microvascular flow in the penis increased significantly following SIL administration. The endothelium-dependent skin microvascular vasodilator responses induced by ACh were also significantly enhanced following SIL administration for each of the following parameters: peak values of cutaneous vascular conductance (CVC); increases in CVC; and the area under the curve for ACh-induced vasodilation. ACh-induced microvascular vasodilation in the forearm was not modified by SIL. Finally, the administration of electric current alone did not affect penile microvascular flow.

Conclusion: LSCI appears to be a promising non-invasive technique for the evaluation of penile microvascular endothelial function. This methodology may be valuable for the evaluation of penile microvascular reactivity among patients with cardiovascular and metabolic diseases and to test the effectiveness of drugs used to treat vasculogenic erectile dysfunction.

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Erectile dysfunction (ED), a consequence of vascular endothelial dysfunction, is a very common disorder among patients with cardiovascular and metabolic diseases (Vlachopoulos et al., 2013). Moreover, vasculogenic ED is associated with many risk factors for cardiovascular disease, including age, hypertension, dyslipidemia, diabetes, physical inactivity, obesity and cigarette smoking (Javaroni and Neves, 2012; Miner et al., 2014; Vlachopoulos et al., 2013). ED may also be an early marker of both systemic endothelial dysfunction and premature cardiovascular disease (Gandaglia et al., 2014; Miner et al., 2014; Shin et al., 2011). ED is strongly associated with age which affects 39% of men 40 years of age and 67% of men 70 years of age (Bortolotti et al.,

1997). A key epidemiological study, the Massachusetts Male Aging Study, reported that the prevalence of ED is 52% among men between 40 and 70 years of age (Feldman et al., 1994). Seftel and colleagues (Seftel et al., 2004) studied a representative managed care claims database in the United States of America that included 272,325 men with ED and noted high prevalence rates of hypertension (41.6%), dyslipidemia (42.4%), diabetes (20.2%) and depression (11.1%).

Ultrasound has been used to estimate penile vascular function via Doppler sonography, which investigates the cavernosal and dorsal penile arteries or the penile macrocirculation (Lue et al., 1985, 1989; Lue, 2000). A modified ultrasound assessment of the flow-mediated dilation of the cavernosal arteries following penile arterial occlusion, a phenomenon known as post-occlusive reactive hyperemia, has also been used for the evaluation of penile endothelial function (Mazo et al., 2006a,b; Virag et al., 2004). Nevertheless, no studies have evaluated penile endothelial microvascular function among patients with cardiovascular disease and ED.

Laser speckle contrast imaging (LSCI) represents an innovative approach in the non-invasive evaluation of skin microvascular endothelial

Abbreviations: ACh, acetylcholine; APUs, arbitrary perfusion units; AUC, area under the curve; CVC, cutaneous vascular conductance; ED, erectile dysfunction; LSCI, laser speckle contrast imaging.

E-mail address: etibi@ioc.fiocruz.br (E. Tibirica).

¹ Avenue Brazil 4365, 21045-900, Rio de Janeiro, Brazil.

ANEXO H – Artigo publicado em 2018, referente ao efeito agudo da sildenafil

Brazilian Journal of Medical and Biological Research (2018) 51(3): e6601, <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431X20176601>
ISSN 1414-431X Research Article

1/10

Penile microvascular endothelial function in hypertensive patients: effects of acute type 5 phosphodiesterase inhibition

V. Verri¹, A.A. Brandão³ and E. Tibirica^{1,2}

¹Instituto Nacional de Cardiologia, Ministério da Saúde, Rio de Janeiro, Brasil

²Laboratório de Investigação Cardiovascular, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

³Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

Abstract

The primary aim of this study was to evaluate penile endothelial microvascular function in patients with primary arterial hypertension and age-matched normotensive subjects using laser speckle contrast imaging (LSCI). Additionally, we analyzed the acute penile microvascular effects induced by oral phosphodiesterase type 5 inhibitor (sildenafil; SIL) administration. Endothelium-dependent microvascular reactivity was evaluated in the penises and forearms of hypertensive patients (aged 58.8 ± 6.6 years, $n=34$) and age-matched healthy volunteers ($n=33$) at rest and 60 min following oral SIL (100 mg) administration. LSCI was coupled with cutaneous acetylcholine (ACh) iontophoresis using increasing anodal currents. Basal penile cutaneous vascular conductance (CVC) values were not significantly different between control subjects and hypertensive individuals. Penile CVC values increased significantly after SIL administration in control ($P < 0.0001$) and hypertensive ($P < 0.0001$) subjects. Peak CVC values were not different between the two groups during penile ACh iontophoresis before SIL administration ($P=0.2052$). Peak CVC values were higher in control subjects than in hypertensive subjects after SIL administration ($P=0.0427$). Penile endothelium-dependent microvascular function is, to some extent, preserved in patients presenting with primary arterial hypertension under effective anti-hypertensive treatment. LSCI may be a valuable non-invasive tool for the evaluation of penile vascular responses to phosphodiesterase type 5 inhibitor.

Key words: Microvascular dysfunction; Hypertension; Laser speckle contrast imaging; Penile microcirculation

Introduction

Arterial hypertension is the result of complex interactions between environmental and genetic factors that initiate and perpetuate blood pressure elevations and is one of the most prevalent cardiovascular diseases worldwide, affecting approximately 25% of the global population. Arterial hypertension is characterized by significant systemic microvascular reactivity alterations, as demonstrated by studies reporting abnormal microvascular endothelial responses to a variety of stimuli in hypertensive patients, responses identified mostly via laser perfusion monitoring technology (1,2). Moreover, several investigators have demonstrated reductions in capillary density and/or reactivity in experimental models of hypertension (3), patients with hypertension (4,5), people with borderline hypertension (6), and normotensive subjects with a familial predisposition for developing hypertension (7). Given that microvascular dysfunction and rarefaction are unquestionably involved in arterial hypertension pathophysiology and that hypertension can lead to

microvascular alterations, a bi-directional causality most likely exists between the two conditions.

In addition to having higher cardiovascular risks, hypertensive patients frequently have impaired quality of life because of vasculogenic erectile dysfunction (ED) (8). The prevalence of ED in hypertensive patients is significantly higher than that in age-matched normotensive subjects (8). It is now accepted that vasculogenic ED is associated with systemic vascular endothelial dysfunction and may be considered an early and independent marker of increased cardiovascular risk (9). Moreover, ED is associated with classical atherothrombotic disorder risk factors, such as age, sedentary lifestyle, hypertension, dysglycemia, dyslipidemia, obesity and smoking (10). It has also been suggested that patients with hypertension and ED who do not respond to type 5 phosphodiesterase enzyme (PDE-5) inhibitors may be at increased risk for cardiovascular events (11).

Correspondence: E. Tibirica: <etibi@ioc.fiocruz.br>

Received July 9, 2017 | Accepted September 25, 2017

Braz J Med Biol Res | doi: 10.1590/1414-431X20176601

The pathophysiology of ED in hypertensive patients is characterized by vascular endothelial dysfunction caused by reduced nitric oxide (NO) bioavailability and increased oxidative stress resulting from increases in NADPH oxidase activity driven by angiotensin II that ultimately result in reduced corpus cavernosum blood vessel vasodilatory capacity (12). PDE-5 inhibitors have been shown to be effective and safe in patients with cardiovascular disease and to restore penile vasculature vasodilation (13). In patients with arterial hypertension, sildenafil improves ED without exerting any serious adverse effects on blood pressure (13). PDE-5 inhibitors reduce cyclic guanosine monophosphate (cGMP) catabolism, thereby increasing cGMP levels and enhancing vasodilation (14). Moreover, PDE-5 inhibitors significantly increase NO levels (15).

Laser speckle contrast imaging (LSCI) provides an innovative approach for non-invasive evaluation of skin microvascular endothelial function (16). A major advantage of this technique is that LSCI is more reproducible than earlier procedures, such as laser Doppler flowmetry and laser Doppler imaging (17). LSCI has also previously been shown to be an effective noninvasive technique for evaluating systemic microvascular reactivity in patients presenting with cardiovascular and metabolic diseases (16,18). Moreover, we recently showed that LSCI is a valuable non-invasive method for evaluating penile microvascular endothelial function in healthy volunteers (19).

The primary objective of this study was to evaluate penile endothelial microvascular function in hypertensive patients and age-matched normotensive subject using LSCI. The secondary objective of this study was to determine the acute effects of oral sildenafil (100 mg) administration on penile and systemic microvascular endothelial function.

Material and Methods

Study design

The present study was undertaken in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, revised in 2000, and was approved by the Institutional Review Board (IRB) of the National Institute of Cardiology, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, under protocol #CAAE17663813.4.0000.5272 and registered at ClinicalTrials.gov (NCT02620995). Once deemed eligible to participate in this study, all subjects read and signed an informed consent document approved by the IRB.

Thirty-four hypertensive male outpatients who were eligible for this study were recruited from our hypertension clinics and from referrals by colleagues. The clinical characteristics of these patients are presented in Tables 1 and 2. All subjects underwent complete medical examinations, which included searches for target organ lesions. Ambulatory hypertension was diagnosed using a clinically validated Omron Intellisense M7 upper arm blood pressure monitor (Omron Healthcare Europe B.V., Hoofddorp, The Netherlands) as follows: each subject rested for 10 min in the

supine position in a cool ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) and quiet environment before undergoing blood pressure measurements in both arms. The arm exhibiting the higher blood pressure was used for subsequent evaluations. Each patient then underwent measurements in the upright (orthostatic) position and three measurements in the sitting position at 1-min intervals. The mean values of the two last measurements were used in this study. Insulin resistance was measured using the homeostatic model assessment (HOMA-IR) and calculated as the product of fasting plasma insulin (in $\mu\text{U/L}$) multiplied by 0.0555 and as the quotient of fasting plasma glucose (in mg/dL) divided by 22.5.

Sexually active male hypertensive patients aged 50 to 70 years with blood pressure levels $<160/100$ mmHg while receiving anti-hypertensive pharmacological treatment were included in this study. All patients with hypertension were evaluated via 24-h ambulatory blood pressure monitoring using oscillometric devices (Spacelabs, USA). The monitor was installed on the non-dominant arm between 7:00 and 9:00 am and removed 24 h later. Recordings were made every 15 min from 7:00 am to 11:00 pm (diurnal BP values) and every 30 min from 11:00 pm to 7:00 am (nocturnal BP values).

Patients with a history of diabetes mellitus, coronary artery disease, secondary arterial hypertension, neurologic or psychiatric disorders, or decompensated kidney or liver disease were excluded from this study. Patients using nitrates or alpha-adrenergic blockers were also excluded from this study. Patients should not have taken PDE-5 inhibitors within 30 days before enrolling in the study.

Thirty-three age-matched normotensive volunteers who were free of cardiovascular disease served as normotensive controls (Table 1). This group was considered a "reference" group for microvascular parameters. All patients and control subjects underwent detailed histories and physical examinations.

All evaluations were performed in the morning between 8:00 am and 12:00 pm after a 12-h fast. Blood specimens were collected, and subjects were asked to lie down for 20 min in a quiet environment with a constant temperature of $23 \pm 1^\circ\text{C}$. All examinations followed the same sequence, beginning with LSCI microvascular reactivity measurements in the skin of the forearm, followed by the same measurements in the skin of the penis. The microvascular tests were performed before and 60 min after oral sildenafil (100 mg) administration.

Evaluation of microcirculatory reactivity

The microcirculatory tests were performed in an undisturbed quiet room with a defined stable temperature ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) after a 20-min rest period in the supine position. The room temperature was monitored and adjusted if necessary using air conditioning, as the outside temperature was usually $>25^\circ\text{C}$. Iontophoresis was performed in the forearm 60 min after oral sildenafil administration and in the penis approximately 15 min after the forearm procedure

Table 1. Characteristics of healthy volunteers and hypertensive patients.

Parameters	Healthy volunteers (n=33)	Hypertensive patients (n=34)	P value
Age (years)	56.9 ± 5.0	58.8 ± 6.6	0.2102
Body weight (kg)	77.7 ± 11.9	84.6 ± 13.0	0.0260
Body mass index (kg/m ²)	25.9 ± 3.3	29.6 ± 4.4	0.0004
Waist circumference (cm)	93.0 ± 8.9	102.0 ± 9.3	0.0002
Fasting glucose (mg/dL)	99.4 ± 7.3	102.7 ± 10.2	0.1422
Glycated hemoglobin (%)	5.3 ± 0.4	5.6 ± 0.3	0.0211
Fasting insulin (μU/mL)	7.2 (5.5–10.0)	12.4 (7.4–15.9)	0.0009
HOMA-IR index	1.82 (1.36–2.34)	2.99 (1.96–4.25)	0.0007
Total cholesterol (mg/dL)	217.4 ± 26.4	201.1 ± 40.3	0.0566
LDL cholesterol (mg/dL)	142.9 ± 25.8	124.0 ± 33.5	0.0121
HDL cholesterol (mg/dL)	44.9 ± 8.1	43.3 ± 10.6	0.5140
Triglycerides (mg/dL)	141.0 (95.0–182.0)	155.0 (101.8–212.8)	0.2617
Urea (mg/dL)	31.6 ± 9.4	33.1 ± 9.3	0.4934
Creatinine (mg/dL)	0.9 (0.8–1.0)	0.9 (0.8–1.1)	0.6201
Uric acid (mg/dL)	5.9 ± 1.2	6.5 ± 1.5	0.1001
Microalbumin (mg/L)	5.0 (1.0–7.4)	5.0 (1.5–10.0)	0.4140
hs-CRP	0.14 (0.09–0.21)	0.20 (0.09–0.37)	0.3593
Office SAP (mmHg)	122.6 ± 8.8	136.7 ± 13.8	< 0.0001
Office DAP (mmHg)	79.3 ± 6.6	86.7 ± 7.6	< 0.0001
Office MAP (mmHg)	93.7 ± 6.8	103.4 ± 8.7	< 0.0001
ABPM			
Mean 24-h SAP (mmHg)	–	127.0 (124.0–135.3)	
Mean 24-h DAP (mmHg)	–	82.5 (75.7–86.5)	
Mean daytime SAP (mmHg)	–	130.5 (126.0–135.8)	
Mean daytime DAP (mmHg)	–	85.0 (77.7–88.0)	
Mean nighttime SAP (mmHg)	–	116.0 (112.0–128.3)	
Mean nighttime DAP (mmHg)	–	73.2 ± 9.7	
MAP-F			
PRE (mmHg)	96.3 ± 9.9	108.0 ± 8.6	< 0.0001
POST (mmHg)	90.3 ± 8.4*	99.3 ± 9.1*	< 0.0001
Δ MAP-F	–6.0 ± 7.2	–8.8 ± 6.1	0.0980

Results are reported as means ± SD. Values that did not follow a Gaussian distribution are reported as medians (25th–75th percentile) (Shapiro-Wilk normality test). P values were estimated using two-tailed unpaired Student's *t*-tests or Mann-Whitney U tests, as appropriate. P values in bold type denote statistically significant differences. MAP values were obtained during a microcirculatory flowmetry (MAP-F) before (PRE) and after (POST) oral administration of a single dose of sildenafil (100 mg). Δ MAP-F indicates the reduction in MAP after sildenafil. ABPM: ambulatory blood pressure monitoring; DAP: diastolic arterial pressure; HOMA-IR: homeostatic model assessment of insulin resistance; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; MAP, mean arterial pressure; SAP: systolic arterial pressure. *P < 0.0001, compared with MAP-F PRE.

because it was technically impossible to perform both procedures simultaneously.

Evaluation of skin microvascular flow and reactivity

Microvascular reactivity was evaluated using an LSCI system with a laser wavelength of 785 nm (PeriCam PSI system, Perimed, Sweden), which enabled us to perform noninvasive and continuous measurements of cutaneous microvascular perfusion changes, measured in arbitrary perfusion units (APU). The images were analyzed using the indicated software (PIMSoft, Perimed).

High-frame-rate LSCI is a recently marketed non-contact technique based on the analysis of the variations in speckle contrast, which allows measurements of fast changes in skin microvascular blood flow over wide skin areas with very good inter-day reproducibility (17). In fact, LSCI measures skin perfusion over wide areas (up to 100 cm²) with a high frequency (up to 100 images/s). LSCI thus presents the advantages of good temporal and spatial resolutions (20).

One skin site on the ventral surface of the forearm was randomly chosen for the recordings. Hair, broken skin,

Table 2. Antihypertensive and cardiovascular drugs used by hypertensive patients.

Drugs	Hypertensive patients (n=34)
Angiotensin II receptor blockers	26 (76.5)
Angiotensin converting enzyme inhibitors	9 (26.5)
Calcium channel blockers	17 (50)
β -adrenergic blockers	5 (14.7)
Diuretics	24 (70.6)
Statins	9 (26.5)
Fibrates	2 (5.9)

Data are reported as n (%).

areas of skin pigmentation and visible veins were avoided, and two drug-delivery electrodes were installed using adhesive discs (LI 611, Perimed). The following two measurement areas were identified: a measurement area within the electrode (ACh) and another measurement area (baseline control) adjacent to the electrode. A vacuum cushion (AB Germa, Sweden) was used to minimize recording artifacts generated by arm movements. ACh 2% w/v (Sigma Chemical Co., USA) iontophoresis was performed using a micropharmacology system (PF 751 Perilont USB Power Supply, Perimed, Sweden) with increasing anodal currents of 30, 60, 90, 120, 150, and 180 μ A, which were administered for 10-s intervals spaced 1 min apart. The total charges for the above currents were 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, and 1.8 mC, respectively. The dispersive electrode was attached approximately 15 cm from the electrophoresis chamber. The pharmacological test results are reported as peak values representing the maximal vasodilation observed after the highest ACh dose. Skin blood flow measurements in APU were divided by mean arterial pressure values to yield cutaneous vascular conductance (CVC) in APU/mmHg.

Finally, to evaluate penile skin microcirculation, the electrode was positioned on the base of the penis to perform iontophoretic ACh delivery, as described above and in a previous work (19). In this case, the dispersive electrode was attached to the thigh of each research subject. We used a fenestrated drape with a round opening in the center to lessen the effects of movement on the penile microvascular blood flow recordings. The penis was introduced through the opening of the drape and fixed to the drape using medical pressure-sensitive adhesive tape (Henkel Adhesive North America, USA). This tape features a hypoallergenic adhesive that is designed to hold firmly to the skin and dressing materials but can be easily removed without damaging the skin. The recordings of penile microvascular flow were always performed on a flaccid penis.

Statistical analysis

The results are reported as means \pm SD. Values that did not follow a Gaussian distribution are presented as

medians (25th–75th percentile; Shapiro-Wilk normality test). The results were analyzed using two-tailed paired or unpaired Student's *t*-tests, Wilcoxon matched pairs tests, the Mann-Whitney U-test or repeated measures ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test when appropriate. *P* values <0.05 were considered to be statistically significant. All statistical analyses were performed using Prism, version 6.0 (GraphPad Software Inc. USA).

Results

Clinical characteristics of the study subjects

The clinical characteristics of the healthy volunteers and hypertensive patients, including information regarding current cardiovascular drug use, are presented in Tables 1 and 2. Anthropometric parameters (body weight, body mass index and waist circumference) were significantly higher in hypertensive patients than in normotensive controls.

Systolic, diastolic and mean arterial blood pressure values were significantly higher in hypertensive patients than in normotensive controls. Moreover, mean arterial pressure measured during microvascular flowmetry (MAP-F) was higher in hypertensive patients than in normotensive controls, both before and after sildenafil administration. We also observed a significant decrease in mean arterial pressure after sildenafil administration in both study groups. However, there was no significant difference in the size of this decrease between the two groups (Table 1).

LDL-cholesterol plasma levels were lower in hypertensive patients than in normotensive controls, likely because 26.5% of patients were taking lipid-lowering drugs (statins). No other clinical parameter was different between patients and controls.

Evaluation of skin microvascular flow and reactivity

Penile skin ACh iontophoresis induced significant, current-related increases in microvascular CVC (before and after SIL administration), and CVC was significantly higher after SIL administration than before SIL administration in both healthy controls and hypertensive subjects (Figure 1).

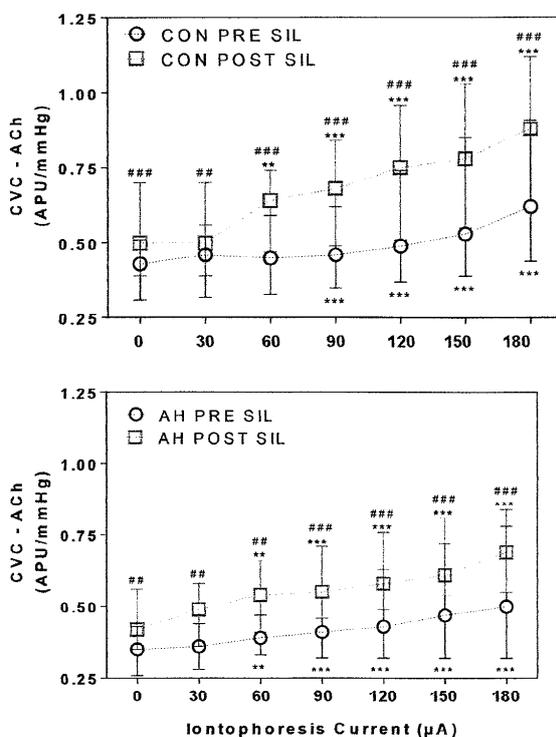


Figure 1. Effects of penile skin acetylcholine (ACh) iontophoresis on cutaneous microvascular conductance (CVC), in arbitrary perfusion units (APU) divided by mean arterial pressure in mmHg in healthy volunteers (upper panel, CON; n=33) and hypertensive patients (lower panel, AH; n=34) before (PRE SIL) and after (POST SIL) oral sildenafl (100 mg) administration. Data are reported as medians (interquartile range) and were analyzed using Wilcoxon's test, the Mann-Whitney U-test or repeated measures analysis of variance followed by Dunnett's multiple comparison test when appropriate. **P < 0.01 and ***P < 0.001 compared with baseline values. ##P < 0.01 and ###P < 0.001 compared with PRE SIL.

Before SIL administration, the basal penile skin microvascular flow values were 37.0 (28.5–48.5) and 38.0 (27.0–46.2) APU in control and hypertensive participants, respectively (P=0.5808). After SIL administration, the flow values were 46.0 (39.0–57.5) and 42.5 (31.5–54.7) APU in control and hypertensive participants, respectively (P=0.4256). Penile baseline microvascular flow was significantly increased after SIL administration compared with before SIL administration in control (P=0.0006) and hypertensive (P=0.0038) subjects. Before SIL administration, the basal penile CVC values were 0.43 (0.31–0.51) and 0.35 (0.26–0.43) APU/mmHg in control and hypertensive participants, respectively (P=0.0590). After SIL administration, the flow values were 0.50 (0.39–0.70) and 0.42 (0.35–0.56) APU/mmHg in control and hypertensive participants, respectively (P=0.0857). Penile baseline CVC values increased significantly after SIL administration compared with before SIL administration (Figure 1) in control (P < 0.0001) and hypertensive (P < 0.0001) subjects.

Before SIL administration, the peak CVC values during penile ACh iontophoresis were 0.62 (0.44–0.91) and 0.50 (0.33–0.79) APU/mmHg in control and hypertensive participants, respectively (P=0.2052). After SIL administration, the peak CVC values during penile ACh iontophoresis were 0.88 (0.66–1.12) and 0.69 (0.56–0.84) APU/mmHg in control and hypertensive participants, respectively (P=0.0427). In control subjects, the peak penile CVC values resulting from ACh iontophoresis were significantly higher after SIL administration than before SIL administration (P < 0.0001); the same was true in hypertensive subjects (P=0.0006; Figure 1).

There were no significant correlations between mean arterial pressure changes following sildenafl administration and penile microvascular reactivity (Table 3).

A subgroup analyses showed that maximum endothelium-dependent penile vasodilation was reduced in the group of patients treated with β -blockers (n=5), compared with the whole group of patients. On the other hand, penile

vasodilation in the subgroup of patients treated with statins was comparable to that observed in the whole group of patients (Table 4).

Systemic microvascular reactivity

Forearm skin ACh iontophoresis also induced significant, current-related increases in microvascular CVC (before and after SIL administration); however, CVC was higher only in hypertensive subjects following SIL administration (Figure 2).

Before SIL administration, the basal forearm skin microvascular flow values were 25.0 (22.0–28.5) and 25.5 (21.5–28.0) APU in control and hypertensive participants, respectively ($P=0.6556$). After SIL, the flow values were 22.0 (20.0–27.0) and 25.0 (18.7–29.0) APU in control and hypertensive participants, respectively ($P=0.4177$). Forearm baseline microvascular flow was not significantly increased after SIL administration compared with before SIL administration in control ($P=0.2837$) or hypertensive

($P=0.8222$) subjects. Before SIL administration, the basal CVC values were 0.27 (0.21–0.30) and 0.23 (0.19–0.26) APU/mmHg in control and hypertensive participants, respectively ($P=0.0274$). After SIL administration, the CVC values were 0.24 (0.21–0.30) and 0.24 (0.19–0.29) APU/mmHg in control and hypertensive participants, respectively ($P=1.0$). Forearm baseline CVC did not change significantly after SIL administration compared with before SIL administration in control ($P=0.5494$) or hypertensive ($P=0.0671$) subjects (Figure 2).

Before SIL administration, the peak CVC values during forearm ACh iontophoresis were 0.58 (0.42–0.73) and 0.45 (0.32–0.70) APU/mmHg in control and hypertensive participants, respectively ($P=0.1083$). After SIL administration, the peak CVC values during forearm ACh iontophoresis were 0.59 (0.51–0.74) and 0.50 (0.37–0.67) APU/mmHg in control and hypertensive participants, respectively ($P=0.0378$). In control subjects, the peak forearm CVC values resulting from ACh iontophoresis after SIL administration were not significantly different from those resulting from ACh iontophoresis before SIL administration ($P<0.3545$); however, in hypertensive subjects, there was an increase in peak CVC after SIL administration compared with before SIL administration ($P=0.0497$; Figure 1).

There were no significant correlations between mean arterial pressure changes following SIL administration and systemic (forearm) microvascular reactivity (Table 3).

Table 3. Correlations between mean arterial pressure changes induced by sildenafil, and endothelium-dependent systemic and penile microvascular reactivity in hypertensive patients.

Parameter	Δ MAP (mmHg)/r (P value)
CVC max (APU/mmHg)	
Systemic	–0.268 (0.125)
Penile	–0.268 (0.125)
Δ CVC (APU/mmHg)	
Systemic	–0.254 (0.1480)
Penile	–0.199 (0.2580)

r: Spearman's rank correlation coefficient; CVC max: maximum effects of skin acetylcholine iontophoresis on cutaneous microvascular conductance (CVC) in arbitrary perfusion units of flow (APU) divided by mean arterial pressure in mmHg; Δ CVC: increases in CVC induced by skin acetylcholine iontophoresis compared to baseline values; Δ MAP: decreases in mean arterial pressure induced by sildenafil.

Discussion

The main findings of this study are as follows: i) overall endothelial-dependent penile microvascular vasodilation decreased in hypertensive patients compared with normotensive age-matched control subjects; ii) acute SIL administration significantly increased penile microvascular vasodilation in both normotensive and hypertensive individuals; iii) control subjects experienced greater maximum increases in penile microvascular conductance induced

Table 4. Effects of penile acetylcholine iontophoresis on endothelium-dependent cutaneous microvascular conductance in hypertensive patients before (PRE SIL) and after (POST SIL) oral sildenafil (100 mg) administration, according to pharmacological treatments.

	CVC max (APU/mmHg)		
	All patients (n=34)	Beta-blockers (n=5)	Statins (n=9)
PRE SIL	0.50 (0.32–0.79)	0.32 (0.26–0.46) [#]	0.58 (0.42–0.68)
POST SIL	0.69 (0.56–0.84) ^{***}	0.44 (0.31–0.54) ^{###}	0.57 (0.43–0.72)

Data are reported as medians (interquartile range). CVC max: maximum effects of skin acetylcholine iontophoresis on cutaneous microvascular conductance in arbitrary perfusion units of flow (APU) divided by mean arterial pressure in mmHg. ^{***} $P<0.001$ compared with PRE SIL. [#] $P<0.05$ and ^{###} $P<0.01$ compared with all patients (Mann-Whitney U-test).

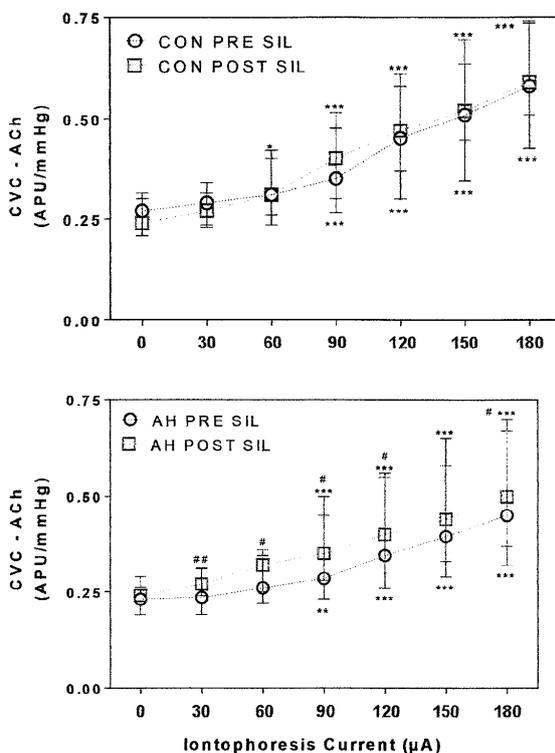


Figure 2. Effects of forearm skin acetylcholine (ACh) iontophoresis on cutaneous microvascular conductance (CVC), in arbitrary perfusion units (APU) divided by mean arterial pressure in mmHg in healthy volunteers (upper panel, CON; n=33) and hypertensive patients (lower panel, AH; n=34) before (PRE SIL) and after (POST SIL) oral sildenafil (100 mg) administration. Data are reported as medians (interquartile range) and were analyzed using Wilcoxon's test, the Mann-Whitney U-test or repeated measures analysis of variance followed by Dunnett's multiple comparison test when appropriate. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ compared with baseline values. # $P < 0.05$ and ## $P < 0.01$ compared with PRE SIL.

by acetylcholine iontophoresis after SIL administration than hypertensive patients, and iv) SIL increased systemic endothelial-dependent microvascular vasodilation in hypertensive patients, but not normotensive subjects.

In our study, hypertensive patients exhibited greater mean body weight, body mass index and waist circumference than age-matched normotensive individuals. These findings support those of previous studies demonstrating the existence of well-known links between different components of metabolic syndrome, including overweight/obesity and increased visceral fat deposition, and arterial hypertension (21). Moreover, maximum penile microvascular vasodilation was greater in normotensive individuals than in hypertensive patients after sildenafil administration. Although hypertensive patients also exhibited significantly increased microvascular responses to sildenafil, the global endothelium-dependent penile microvascular vasodilatory response induced by cutaneous acetylcholine iontophoresis appeared to be greater in normotensive

controls than in hypertensive patients, both before and after sildenafil administration.

It is also important to mention that in hypertensive patients, ED may be a complication of antihypertensive treatment (22). Antihypertensive drugs that block the sympathetic nervous system, including central and peripheral sympatholytics and β -blockers, have been frequently linked to ED (23,24). Several studies suggest that using diuretics and β -blockers other than nebivolol (25) commonly results in ED in hypertensive men (26,27), while using antihypertensive agents that block the renin-angiotensin system, such as angiotensin-converting-enzyme inhibitors (ACE-i) and angiotensin II receptor blockers (ARBs), improves endothelial function and, consequently, erectile function in hypertensive patients (22,23). Calcium-channel blockers (CCB) have been reported to have neutral effects on erectile function (28). Most hypertensive patients enrolled in the present study were receiving antihypertensive drugs that theoretically do not interfere with erectile function

(CCBs, 50% of patients) or improve erectile function (ARBs or ACE-is, 100% of patients). Only a small proportion of patients (~15%) were receiving β -blockers. Most patients (~70%) were being treated with diuretics for medical reasons. In the present study, subgroup analyses showed that maximum endothelium-dependent penile microvascular vasodilation was significantly reduced compared to that observed in the whole group of patients. In contrast, in the subgroup of patients treated with statins microvascular vasodilation was comparable to that observed in the whole group of patients. Nevertheless, it is important to note that there were only 5 patients treated with β -blockers and nine patients treated with statins in our study; thus, the small sample size, and consequently reduced statistical power, could have biased statistical analysis of subgroups of patients.

Hypertensive patients included in the present study were under chronic and effective anti-hypertensive treatment, thus explaining the significant increase in baseline penile microvascular flow, as well as the substantial vasodilator response of the penile microcirculation to the stimulation with endothelial-dependent vasodilators. In fact, it is well documented that anti-hypertensive drugs that block the renin-angiotensin system induce significant improvements in macro- and microvascular endothelial function (29). In conclusion, the present study shows that penile microvascular reactivity is satisfactory in treated hypertensive patients.

Sildenafil-induced inhibition of PDE-5, an enzyme considered very specific for the vascular smooth muscle of the penis (10), is known to increase NO bioavailability in the penis and its supplying vasculature, resulting in vasodilation and increased blood flow (13). On the other hand, long-term treatment of patients with arterial hypertension with SIL (50 mg 3 times daily) induces significant reductions in systolic and diastolic ambulatory blood pressure (30). In patients with congestive heart failure, SIL treatment improves oxygen uptake, pulmonary vascular resistance, cardiac output, and exercise capacity (31). Consequently, PDE-5 inhibitors have been proposed for the treatment of several cardiovascular diseases (15,31).

In contrast to the penile microcirculation, systemic microvascular endothelium-dependent vasodilation was

not affected by acute SIL administration in normotensive subjects. However, in hypertensive patients, acute SIL administration induced significant increases in systemic microvascular vasodilation, although reduction in arterial pressure was not correlated to microvascular vasodilation increases. These results may be explained by the fact that NO bioavailability is significantly reduced in arterial hypertension, whereas oxidative stress is increased, leading to macrovascular and predominantly microvascular endothelial dysfunction, which is a hallmark of primary arterial hypertension pathophysiology (32,33). Thus, acute increases in systemic NO bioavailability induced by SIL may enhance NO-mediated microvascular vasodilation in hypertensive patients, but not normotensive individuals. We and other groups have previously reported on functional and structural microvascular rarefaction, as well as reduced capillary recruitment, in spontaneously hypertensive rats (34,35) and hypertensive patients (1,5,36). Thus, it is reasonable to assume that although mean arterial blood pressure decreased in both experimental groups, and the reductions were not different between the groups, acute SIL administration improved systemic microvascular function in hypertensive patients, but not in normotensive individuals, via endothelium-dependent recruitment of previously closed microvessels. These findings suggest that systemic microvasculature responds differently to acute SIL administration than penile vasculature.

LSCI may well be a valuable non-invasive tool for the evaluation of penile microvascular responses to PDE-5 inhibitors in patients presenting with cardiovascular diseases.

Acknowledgments

Research supported by CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro), and the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil. Part of the present work was presented during the 26th European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection, Paris, France, June 2016.

References

- Kaiser SE, Sanjuliani AF, Estato V, Gomes MB, Tibirica E. Antihypertensive treatment improves microvascular rarefaction and reactivity in low-risk hypertensive individuals. *Microcirculation* 2013; 20: 703–716, doi: 10.1111/micc.12067.
- Farkas K, Kolossvary E, Jarai Z, Nemcsik J, Farsang C. Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser doppler flowmetry in patients with essential hypertension. *Atherosclerosis* 2004; 173: 97–102, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2003.11.015.
- Feihl F, Liaudet L, Waeber B, Levy B. Hypertension: a disease of the microcirculation? *Hypertension* 2006; 48: 1012–1017, doi: 10.1161/01.HYP.0000249510.20326.72.
- Antonios TF, Rattray FE, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, Macgregor GA. Maximization of skin capillaries during intravital video-microscopy in essential hypertension: comparison between venous congestion, reactive hyperaemia and core heat load tests. *Clin Sci* 1999; 97: 523–528, doi: 10.1042/cs0970523.

5. Serne EH, Gans RO, Ter Maaten JC, Tangelder GJ, Donker AJ, Stehouwer CD. Impaired skin capillary recruitment in essential hypertension is caused by both functional and structural capillary rarefaction. *Hypertension* 2001; 38: 238–242, doi: 10.1161/01.HYP.38.2.238.
6. Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, Macgregor GA. Rarefaction of skin capillaries in borderline essential hypertension suggests an early structural abnormality. *Hypertension* 1999; 34: 655–658, doi: 10.1161/01.HYP.34.4.655.
7. Antonios TF, Rattray FM, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, Macgregor GA. Rarefaction of skin capillaries in normotensive offspring of individuals with essential hypertension. *Heart* 2003; 89: 175–178, doi: 10.1136/heart.89.2.175.
8. Manolis A, Doumas M. Sexual dysfunction: the 'prima ballerina' of hypertension-related quality-of-life complications. *J Hypertens* 2008; 26: 2074–2084, doi: 10.1097/HJH.0b013e32830dd0c6.
9. Shin D, Pregonzer G Jr, Gardin JM. Erectile dysfunction: a disease marker for cardiovascular disease. *Cardiol Rev* 2011; 19: 5–11, doi: 10.1097/CRD.0b013e3181fb7eb8.
10. Vlachopoulos CV, Terentes-Printzios DG, Ioakeimidis NK, Aznaouridis KA, Stefanadis CI. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2013; 6: 99–109, doi: 10.1161/CIRCOUTCOMES.112.966903.
11. Javaroni V, Queiroz-Miguez M, Abreu-Casanova M, Oigman W, Neves MF. Brachial flow-mediated dilation correlates with vardenafil response in hypertensive men with vasculogenic erectile dysfunction. *Urology* 2011; 78: 368–374, doi: 10.1016/j.urology.2011.02.070.
12. Gratzke C, Angulo J, Chitaley K, Dai YT, Kim NN, Paick JS, et al. Anatomy, physiology, and pathophysiology of erectile dysfunction. *J Sex Med* 2010; 7: 445–475, doi: 10.1111/j.1743-6109.2009.01624.x.
13. Chrysant SG. Effectiveness and safety of phosphodiesterase 5 inhibitors in patients with cardiovascular disease and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2013; 15: 475–483, doi: 10.1007/s11906-013-0377-9.
14. Schwartz BG, Jackson G, Stecher VJ, Campoli-Richards DM, Kloner RA. Phosphodiesterase type 5 inhibitors improve endothelial function and may benefit cardiovascular conditions. *Am J Med* 2013; 126: 192–199, doi: 10.1016/j.amjmed.2012.08.015.
15. Nguyen H, Amanullah AM. Therapeutic Potentials of phosphodiesterase-5 inhibitors in cardiovascular disease. *Rev Cardiovasc Med* 2014; 15: 158–167.
16. Cordovil I, Huguenin G, Rosa G, Bello A, Kohler O, De Moraes R, et al. Evaluation of systemic microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging. *Microvasc Res* 2012; 83: 376–379, doi: 10.1016/j.mvr.2012.01.004.
17. Roustif M, Millet C, Blaise S, Dufoumet B, Cracowski JL. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. *Microvasc Res* 2010; 80: 505–511, doi: 10.1016/j.mvr.2010.05.012.
18. Souza EG, De Lorenzo A, Huguenin G, Oliveira GM, Tibirica E. Impairment of systemic microvascular endothelial and smooth muscle function in individuals with early-onset coronary artery disease: studies with laser speckle contrast imaging. *Coron Artery Dis* 2014; 25: 23–28, doi: 10.1097/MCA.000000000000055.
19. Verri V, Brandao A, Tibirica E. The evaluation of penile microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging in healthy volunteers. *Microvasc Res* 2015; 99: 96–101, doi: 10.1016/j.mvr.2015.03.006.
20. Roustif M, Cracowski JL. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol Sci* 2013; 34: 373–384, doi: 10.1016/j.tips.2013.05.007.
21. Sperfling LS, Mechanick JI, Neeland JI, Herrick CJ, Despres JP, Ndumele CE, et al. The cardiometabolic health alliance: working toward a new care model for the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2015; 66: 1050–1067, doi: 10.1016/j.jacc.2015.06.1328.
22. Javaroni V, Neves MF. Erectile dysfunction and hypertension: impact on cardiovascular risk and treatment. *Int J Hypertens* 2012; 2012: 627278, doi: 10.1155/2012/627278.
23. Fogari R, Preti P, Derosa G, Marasi G, Zoppi A, Rinaldi A, et al. Effect of antihypertensive treatment with valsartan or atenolol on sexual activity and plasma testosterone in hypertensive men. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; 58: 177–180, doi: 10.1007/s00228-002-0456-3.
24. Fogari R, Zoppi A, Poletti L, Marasi G, Mugellini A, Corradi L. Sexual activity in hypertensive men treated with valsartan or carvedilol: a crossover study. *Am J Hypertens* 2001; 14: 27–31, doi: 10.1016/S0895-7061(00)01214-0.
25. Brixius K, Middeke M, Lichtenhal A, Jahn E, Schwinger RH. Nitric oxide, erectile dysfunction and beta-blocker treatment (Mr Noed study): benefit of nebivolol versus metoprolol in hypertensive men. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 327–331, doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04551.x.
26. Wassertheil-Smoller S, Blafox MD, Oberman A, Davis BR, Swencionis C, Knerr MO, et al. Effect of antihypertensives on sexual function and quality of life: the Taim study. *Ann Intern Med* 1991; 114: 613–620, doi: 10.7326/0003-4819-114-9-613.
27. Viigimaa M, Doumas M, Vlachopoulos C, Anyfanti P, Wolf J, Narkiewicz K, et al. Hypertension and sexual dysfunction: time to act. *J Hypertens* 2011; 29: 403–407, doi: 10.1097/HJH.0b013e328342c659.
28. Baumhakel M, Schlimmer N, Kratz M, Hackett G, Jackson G, Bohm M. Cardiovascular risk, drugs and erectile function – a systematic analysis. *Int J Clin Pract* 2011; 65: 289–298, doi: 10.1111/j.1742-1241.2010.02563.x.
29. Ghiadoni L, Taddei S, Virdis A. Hypertension and endothelial dysfunction: therapeutic approach. *Curr Vasc Pharmacol* 2012; 10: 42–60, doi: 10.2174/157016112798829823.
30. Oliver JJ, Melville VP, Webb DJ. Effect of regular phosphodiesterase type 5 inhibition in hypertension. *Hypertension* 2006; 48: 622–627, doi: 10.1161/01.HYP.0000239816.13007.c9.
31. Schwartz BG, Levine LA, Comstock G, Stecher VJ, Kloner RA. Cardiac uses of phosphodiesterase-5 inhibitors. *J Am Coll Cardiol* 2012; 59: 9–15, doi: 10.1016/j.jacc.2011.07.051.
32. Yannoutsos A, Levy BI, Safar ME, Slama G, Blacher J. Pathophysiology of hypertension: interactions between macro and microvascular alterations through endothelial dysfunction.

- J Hypertens* 2014; 32: 216–224, doi: 10.1097/HJH.000000000000021.
33. Viridis A, Neves MF, Duranti E, Bernini G, Taddei S. Microvascular endothelial dysfunction in obesity and hypertension. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 2382–2389, doi: 10.2174/1381612811319130006.
34. Sabino B, Lessa MA, Nascimento AR, Rodrigues CA, Henriques MG, Garzoni LR, et al. Effects of antihypertensive drugs on capillary rarefaction in spontaneously hypertensive rats: intravital microscopy and histologic analysis. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 51: 402–409, doi: 10.1097/FJC.0b013e3181673bc5.
35. Nascimento AR, Lessa MA, Sabino B, Bousquet P, Tiberica E. Microvascular effects of centrally acting antihypertensive drugs in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010; 55: 240–247, doi: 10.1097/FJC.0b013e3181ce9810.
36. Debbabi H, Uzan L, Mourad JJ, Safar M, Levy BI, Tiberica E. Increased skin capillary density in treated essential hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2006; 19: 477–483, doi: 10.1016/j.amjhyper.2005.10.021.