UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

LEEVAN JOSÉ SOUSA LEITE

POLIMORFISMOS DO GENE *PDE5A* E SUAS IMPLICAÇÕES NA RESPOSTA AO SILDENAFIL NA DISFUNÇÃO ERÉTIL

São Paulo
2019

LEEVAN JOSÉ SOUSA LEITE

POLIMORFISMOS DO GENE *PDE5A* E SUAS IMPLICAÇÕES NA RESPOSTA AO SILDENAFIL NA DISFUNÇÃO ERÉTIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do Titulo de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Dr. José Eduardo Tanus dos Santos

Coorientador: Dr. Riccardo Lacchini

São Paulo

2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

Leite, Leevan José Sousa

Polimorfismos do gene *PDE5A* e suas implicações na resposta ao sildenafil na disfunção erétil. Ribeirão Preto, 2019. 56f.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Tanus-Santos, José Eduardo.

1. Disfunção erétil. 2. Fosfodiesterase tipo 5. 4. Polimorfismo no gene *PDE5A.* 5. *IIEF*

Dedico este trabalho à minha mãe e aos meus irmãos pelo amor incondicional e apoio. À minha mãe especialmente, por ser admirável, por me apoiar e ajudar a realizar esse sonho.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me presenteado com o dom da vida.

Gostaria de agradecer o meu orientador Dr. José Eduardo Tanus dos Santos por ter aceite orientar-me e pelos ensinamentos. Pela orientação e paciência. Pela disponibilidade e atenção dada a cada momento de desespero. Pelo carinho e amizade dispensados a mim e a todos do laboratório. Pela dedicação e capacidade cientifica imensurável. Enfim, foi uma honra tê-lo como orientador.

Gostaria de agradecer o meu coorientador Dr. Riccardo Lacchini, pela generosidade ao ceder o espaço para desenvolvimento do meu trabalho. Por ter auxiliado sempre que podia. Pela amizade e carinho dispensados a mim e a todos do laboratório. Pela sua dedicação na pesquisa. Por tentar extrair o melhor de cada aluno. Por todo aprendizado durante esses meses.

Gostaria de agradecer a minha mãe Maria da Glória Lopes Sousa por ter-me dado a vida. Por apoiar-me sempre nas minhas decisões, mesmo estando longe. Pela minha criação. Pelos ensinamentos e persistência. Por mostrar o melhor caminho a tomar. Por sempre pensar no meu futuro. Por ser essa mãe excepcional. Por ser essa pessoa que sempre estará de braços abertos. Por ser a primeira a torcer para o meu sucesso. Enfim, o meu agradecimento é imensurável para você, te amo.

Meus agradecimentos aos meus irmãos: Kelino Leite, Denise Leite e Erika Ramos. Por sempre me apoiarem, pelo carinho e atenção. Por ter-vos como irmãos. Enfim, amo vocês.

Gostaria de agradecer os meus amigos: Victor Cabrera, Gabriel Rúbio, Kelvin Jun, Victor Ramos, Douglas Feltrim, Moustaphar Djinan. Pela amizade, companheirismo, carinho. Pelo apoio, mesmo nos momentos que vocês nem sabiam que estava mal. Enfim, quero agradecer por tudo, por confiar em vocês. Vocês são a minha família em Ribeirão Preto.

Que agradecer a Brenda Lima, Nathalia Soarez, Isabella Claudino, Caroline Pettarelli, Giovana Gasperini, Gabriela Santos. Por ter conhecido vocês. Pela amizade, carinho e apoio. Pelos momentos de convivência. Por serem sempre uma ótima companhia.

Quero agradecer os meus amigos Julia Kato, Vitoria Mesquita, Gabriel Queiroz, Ana Clara (Fea), Melissa Martins, Paulinha, Ana Clara, Carlos Xavier, Leticia e

Gabriela. Pelo carinho, brincadeiras e apoio. Enfim, por deixarem o ambiente acadêmico mais leve e alegre.

Quero agradecer a Danielle, Maryelle, Lorraynne. Pela amizade e carinho. Por me acompanharem durante todo o processo do mestrado. Pela força e apoio. Enfim, tenho um carinho enorme por vocês.

Queria agradecer os meus amigos da casa 111, Viviane, Jonathas, Marcelo, Laércio, Thiago Coelho, Thiago Santos, Paulo e Júlio. Pela amizade e apoio. Pela convivência diária. Enfim, tenho enorme consideração por vocês.

Aos meus amigos de laboratório: Evandro, Jessica, Rose, Indiara, Grazielle, Renato, Thiago, Danielle, Jefferson, Célio, Gusthavo, Juliana, Lucas por todo carinho e incentivo. Pela companhia diária no laboratório. Em especial quero agradecer ao Evandro Neto, pelo apoio, atenção. Pela ajuda durante a escrita da dissertação. Pelas conversar e chamadas de atenção sempre que precisava. Queria dizer-te que a tua ajuda foi muito importante para mim.

Meus agradecimentos aos alunos do Dr. Riccardo Lacchini: Anderson, Sherliane, Leticia, Ana, Vitoria, Fernanda. Pela amizade e convivência diária. Pelo apoio durante o meu mestrado. Por acreditarem no meu potencial. Pela companhia no café da tarde. Por todos momentos bons que passamos. Quero agradecer em especial a Leticia por todos os ensinamentos. Pelo carinho e atenção. Por me ajudar a desenvolver o meu projeto.

Aos meus amigos, Gabriel, Victor e Andrea, que mesmo estando longe foram capazes de me apoiarem em bons s maus momentos. Obrigado por serem esses irmãos que fiz durante a graduação.

Meus agradecimentos à CAPES e CNPQ pelo apoio financeiro.

Enfim quero agradecer todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização do trabalho.

RESUMO

Leite, L. J. S. Polimorfismos do gene *PDE5A* e as suas implicações sobre a resposta ao sildenafil na disfunção erétil [Dissertação (Mestrado em Farmacologia)]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2019.

A disfunção erétil (DE) é considerada uma manifestação funcional e estrutural anormal que afeta a capacidade de atingir ou manter a ereção peniana suficiente para alcançar uma relação sexual satisfatória. Os fatores de riscos que podem levar ao desenvolvimento de DE, sâo: doenças cardiovasculares, diabetes *Mellitus*, tabagismo, alcoolismo, medicamentos. O sildenafil, como outros inibidores de PDE-5, é um fármaco de primeira linha de escolha para o tratamento da DE. A fosfodiesterase tipo 5 regula a via NO-GMPc por meio de uma reação de hidrólise, transformando o GMPc em GMP, o qual não apresenta capacidade de relaxar o músculo. Com a inibição da PDE-5 aumenta a biodisponibilidade de GMPc, favorecendo ao relaxamento do músculo liso e por fim facilitando a ereção. Apesar dos inibidores de PDE-5 serem eficazes no tratamento de DE, cerca de 30 a 40% dos pacientes não respondem ao tratamento. Estudos mostram que a presença de alelos variantes de polimorfismos no gene *PDE5A* podem influenciar na resposta ao sildenafil. Tendo base nisso, a hipótese do nosso trabalho é que a presença de alelos variantes de polimorfismos do gene *PDE5A*: rs2389866, rs3733526 e rs13124592 estão associados a variações na resposta ao sildenafil. Para o estudo foram recrutados pacientes com disfunção erétil clínica (DEC, n=71) e pós prostatectomia (DEPP, n=71) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, nas quais foram aplicados o questionário IIEF (Índice internacional de função erétil, IIEF - sigla em inglês) e coletadas amostras de sangue para realização de genotipagem pela técnica de Real Time - PCR. De acordo com os resultados o alelo variante “C” do polimorfismo rs2389866 está associado a pior resposta ao sildenafil nos pacientes com DEPP.

Palavras chaves: Disfunção erétil, fosfodiesterase tipo 5, Polimorfismos, polimorfismos no gene *PDE5A*

ABSTRACT

Leite, L. J. S. Influence of PDE5A gene polymorphism on the response to erectile dysfunction therapy with sildenafil. (Master in Pharmacology). Ribeirão Preto Medical School of São Paulo University, 2019

Erectile dysfunction (ED) is considered a functional and structural abnormal manifestation that affects the capacity of achieve and maintain a sufficient penile erection in order to have a satisfactory sexual relation. The risk factors for the erectile dysfunction development are: cardiovascular diseases, diabetes *Mellitus*, smoking, alcoholism, medicines. Sidenafil as others PDE-5 inhibitors are first line drugs of choice for erectile dysfunction. Phosphodiesterase type 5 regulates the way NO-GMPc converts GMPc in GMP, that is incapable to relax the muscle, through a hydrolysis reaction. With PDE-5 inhibition, the GMPc bioavailability increases smooth muscle relaxation finally facilitating the erection. Although PDE-5 inhibitors are the most effective in erectile dysfunction treatment about 30 to 40% of the patients are unresponsive to the treatment. Studies demonstrate that alleles variants of polymorphism present in gene PDE5A can influence sildenafil response. Based on that, our work hypothesis is that the presence of gene PDE5A alleles variants of polymorphism (rs2389866, rs3733526 and rs13124592) are associated to the variation in sildenafil response. For the study were enrolled patients with clinical erectile dysfunction (CED, n=71) and erectile dysfunction post-prostatectomy (EDPP, n=71) from Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. The *International Index* of *Erectile Function* (IIEF) was applied for those patients and blood samples were collected to perform the genotyping by the Real Time – PCR technique. According to the results, the variant “C” allele of polymorphism rs2389866 is associated with a worse response to sildenafil in patients with EDPP.

Keywords: Erectile dysfunction, Phosphodiesterase type 5, PDE5A polymorphism, *IIEF*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - A) Estrutura anatômica peniana; B) Estrutura anatômica do corpo cavernoso, corte transversal. 14
Figura 2 - Vascularização arterial peniana 15
Figura 3 - Vascularização venosa do pênis 16
Figura 4 - Representa estrutura anatômica do pênis no estado flácido e de ereto. . 19
Figura 5- Relaxamento das células do músculo liso do corpo cavernoso durante a ereção. 21
Figura 6 - Mecanismo molecular do processo de detumescência peniana, sinalização simpática**.**. 22
Figura 7 - Score função erétil (FE) pós-tratamento x genótipos dos polimorfismos do gene PDE5A, rs2389866, do DEC e DEPP, modelo dominante. 34
Figura 8 - ∆IIEF x genótipos dos polimorfismos do gene PDE5A, rs2389866, do DEC e DEPP. 35
Figura 9 - % MRP x genótipos do polimorfismo do gene PDE5A, rs2389866, do DEC e DEPP.. 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação do grau de De segundo a pontuação do dominio função erétil do questionário IIEF 25
Tabela 2 - Características clínicas e laboratoriais dos grupos estudados. 33
Tabela 3 - Distribuição dos genótipos do polimorfismo estudado entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) - Grupo DEC 37
Tabela 4 - Distribuição dos genótipos do polimorfismo estudado entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) - Grupo DEPP 38
Tabela 5 - Análise de regressão linear multivariada mostrando os efeitos dos genótipos do polimorfismo do gene PDE5A nos parâmetros de responsividade do Sildenafil em DEC e DEPP, Modelo dominante 39
Tabela 6 - Análise de regressão linear multivariada mostrando os efeitos dos genótipos dos polimorfismos do gene PDE5A nos parâmetros de responsividade do Sildenafil em DEC e DEPP, Modelo dominante 40

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ATP – Adenina trifosfato

ADP – Adenina difosfato

BR – Bons respondedores

CEP – Comitê Ética em Pesquisa

DE – Disfunção Erétil

DEC – Disfunção erétil Clinica

DEPP – Disfunção erétil pós prostatectomia

∆IIEF – Delta do Índice Internacional de Função Erétil

***eNOS* –** Oxido nítrico sintase endotelial

***ER* –** Reticulo endoplasmático

FE – Função erétil

GMP – Guanosina monofosfato

GMPc – Guanosina monofosfato cíclico

GTP – Guanosina trifosfato

HP – Hipertensão pulmonar

IIEF – Índice Internacional de Função Erétil

***iNOS* –** Oxido nítrico sintase induzível

***MCL* –** Cadeia leve de Miosina

***MCLK* -** Miosina cinase da cadeia leve

MR – Maus Respondedores

NANC – Não colinérgica e não adrenérgica

***NO* –** Oxido Nítrico

***NOS* –** Oxido nítrico sintase

***nNos* –** Oxido nítrico sintase neuronal

PDE-5 – Fosfodiesterase tipo 5

PDE5A – gene da fosfodiesterase tipo 5

%MRP – Percentual de máxima resposta possível

TCLE -Termo consentimento Livre Esclarecido

***InsP3* -** Fosfatidilinositol trifosfato

***Ptdins(4,5)P2* -** Fosfatidilinositol 4,5-Bifosfato

Sumário

1. INTRODUÇÃO 13
1.1 Contextualização da saúde sexual 13
1.2 Fisiologia da ereção peniana 13
1.2.1 Fisiologia peniana 13
1.2.1.1 Anatomia do pênis 13
1.2.1.2 Vascularização peniana 14
1.2.1.3 Sistema de inervação peniana 16
1.2.2 Equilíbrio do fluxo sanguíneo no tecido peniano 17
1.2.2.1 Fase da ereção peniana ou tumescência 17
1.2.2.2 Processo de detumescência ou estado flácido. 18
1.2.3 Mecanismo molecular de tumescência e detumescência peniano 20
1.3 Etiologia da doença e epidemiologia 22
1.4 Avaliação clínica de disfunção erétil 24
1.5 Tratamento de disfunção erétil 26
1.6 PDE-5 e Inibidores de PDE-5 26
1.7 Polimorfismos no gene *PDE5A* 27

2. OBJETIVOS 29
2.1 Objetivo geral 29
2.2 Objetivos específicos 29

3. MATERIAIS E MÉTODOS 29
3.1 Voluntários 29
3.2 Aspectos Éticos 30
3.3 Critérios de inclusão 30
3.4 Critérios de exclusão 30
3.5 Avaliação da função erétil e da resposta ao sildenafil. 31
3.6 Avaliações genéticas 31
3.6.1 Genotipagens dos SNPs 31

4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS 32

5. RESULTADOS 33

7. CONCLUSÃO 44

8. REFERÊNCIAS 45

Anexo I 51
Anexo II 54

1. INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização da saúde sexual

Durante séculos, a sociedade considerou que sexualidade e reprodução caminhavam juntas, ou seja, de forma dependente. Após a segunda metade do século XX, esses conceitos foram modificados e ambos passaram a ser considerados como duas coisas independentes (Benagiano *et al.*, 2010). Para isso, levou-se em consideração fatos antropológicos, reflexões filosóficas, normas éticas e questões religiosas, além dos contextos biológicos (Benagiano *et al.*, 2010).

A sexualidade é um aspecto fundamental para a qualidade de vida tanto do homem como da mulher e a sua compreensão envolve vários aspetos, como desejo, atração e comportamento sexual. Além disso, está sob constante influência social, guiada por crenças religiosas e tabus (Benagiano *et al.*, 2010). A organização Mundial de Saúde (OMS) considera a saúde sexual e reprodutiva como uma das principais prioridades de saúde pública (Allen e Walter, 2018).

A saúde sexual é definida como um estado de equilíbrio físico, emocional, mental e social relacionada com a sexualidade do indivíduo (Lewis *et al.*, 2010). Os distúrbios sexuais relacionados a disfunção sexual, quando persistentes e frequentes influenciam de forma negativa a qualidade de vida do indivíduo, dos parceiros e da família (Mccabe *et al.*, 2016; Allen e Walter, 2018). A alta prevalência de disfunção sexual na população adulta manifesta-se pela falta de desejo e prazer sexual, falta de resposta genital, disfunção orgásmica, ejaculação precoce ou dispareunia (Mccabe *et al.*, 2016). Nos homens, a disfunção sexual é frequentemente associada a ejaculação precoce, falta de desejo, interesse sexual ou disfunção erétil (Mccabe *et al.*, 2016).

1.2 Fisiologia da ereção peniana

1.2.1 Fisiologia peniana

1.2.1.1 Anatomia do pênis

O pênis é constituído por três estruturas cilíndricas, sendo dois corpos cavernosos e um corpo esponjoso (Figura a1) (Dean e Lue, 2005). O corpo esponjoso envolve a uretra e forma a glande na posição distal (Figura a1) (Andersson e Wagner, 1995). Os corpos cavernosos são envolvidos por um tecido fibroso e compacto

constituído por fibras de colágeno e elastina, denominado túnica albugínea (Figura b1) (Andersson e Wagner, 1995; El-Sakka e Lue, 2004; Dean e Lue, 2005). A túnica albugínea confere rigidez, flexibilidade e resistência ao tecido do pênis, sendo muito importante no processo da ereção (Andersson e Wagner, 1995). O tecido erétil dos corpos cavernosos é constituído por uma rede vascular chamada sinusóides ou trabéculas (Andersson e Wagner, 1995; El-Sakka e Lue, 2004; Dean e Lue, 2005). A comunicação entre as trabéculas dá-se por células do musculo liso, sustentado pelo estroma composto por colágeno, elastina, vasos sanguíneos e nervos (Andersson e Wagner, 1995). Internamente os espaços trabeculares são circundados por célula endoteliais e irrigados por ramificações da artéria peniana profunda (Andersson e Wagner, 1995).

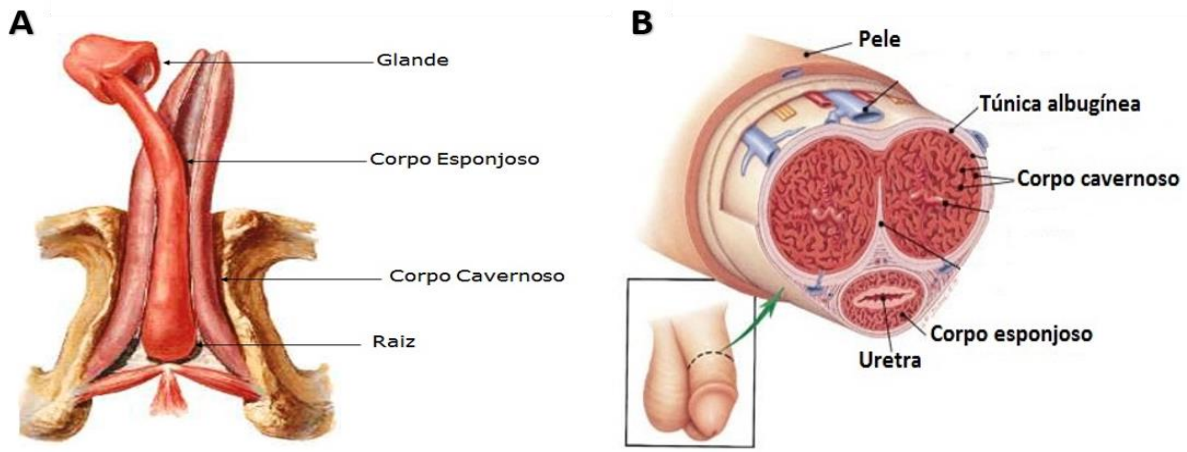


Figura 1 - A) Estrutura anatômica peniana; B) Estrutura anatômica do corpo cavernoso, corte transversal.
Fonte: A) Atlas de anatomia, NETTER

1.2.1.2 Vascularização peniana

O suprimento sanguíneo peniano é realizado pelos ramos indiretos da artéria pudenda interna e ramo da artéria ilíaca interna (Panchatsharam e Zito, 2018). A trifurcação da artéria pudenda interna origina artéria do corpo esponjoso, artéria do corpo cavernoso e artéria dorsal do pênis (Panchatsharam e Zito, 2018). A artéria dorsal é responsável pelo suprimento sanguíneo da glande. A artéria do corpo esponjoso é responsável pela irrigação do corpo esponjoso e bulbo (Panchatsharam e Zito, 2018). As artérias do corpo cavernoso emergem longitudinalmente pelo tecido formando estruturas arteriais helicoidais responsáveis pelo fluxo nos espaços vasculares do corpo cavernoso (Panchatsharam e Zito, 2018). As artérias helicoidais

favorecem suprimento do tecido das trabéculas e espaços trabeculares (Panchatsharam e Zito, 2018). Durante o estado flácido essas artérias encontram-se contraídas. Por sua vez, no estado ereto, devido ao aumento do fluxo sanguíneo, há uma dilatação das artérias. (Mcvary, 2009; Yafi *et al.*, 2016).

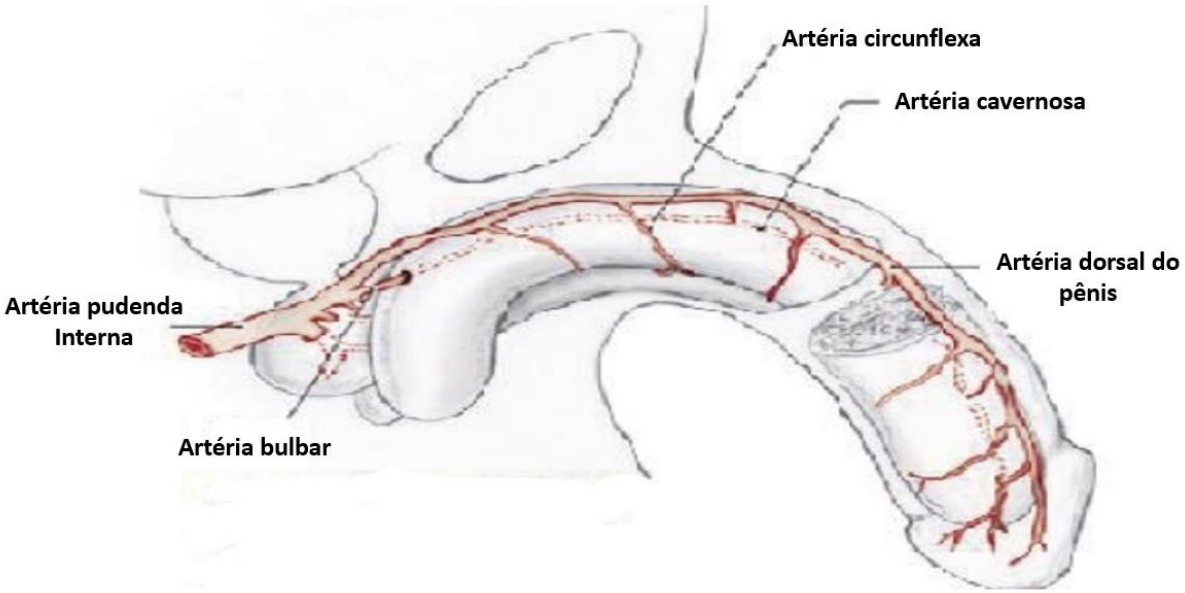


Figura 2 - Vascularização arterial peniana
Fonte: Imagem adaptada de (Del Pozo-Jimenez *et al.*, 2014)

A drenagem venosa é realizada pela veia profunda e superficial. A veia superficial drena o sangue de todo tecido acima da fáscia de Buck para a veia safena magna (Andersson e Wagner, 1995; Panchatsharam e Zito, 2018). Contudo, a drenagem abaixo da fáscia de Buck é realizada pela veia pudenda interna (sistema venoso profundo) (Andersson e Wagner, 1995; Panchatsharam e Zito, 2018). A veia pudenda interna é responsável pela drenagem do sangue dos corpos cavernosos, esponjoso e da glande (Andersson e Wagner, 1995; Panchatsharam e Zito, 2018). A drenagem venosa do corpo cavernoso ocorre, especialmente por meio das veias subtúnicas, as quais são comprimidas e ocluídas pela expansão dos espaços sinusóidais durante a ereção (Panchatsharam e Zito, 2018).

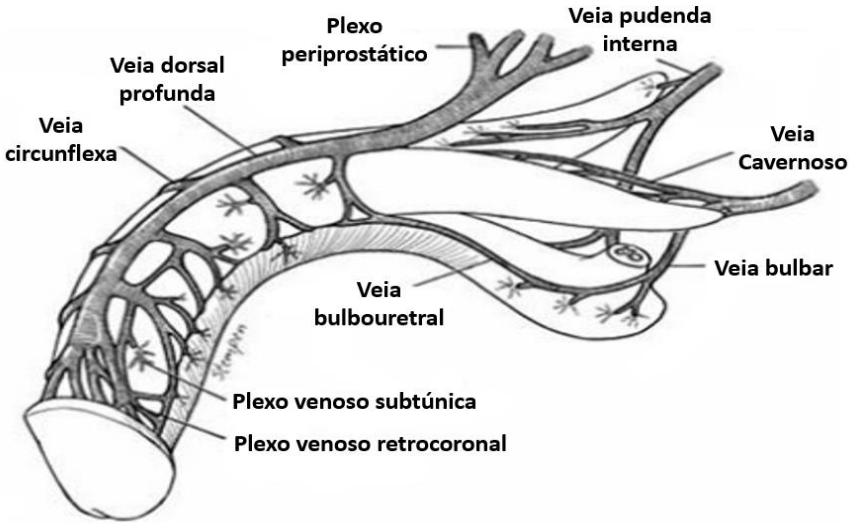


Figura 3 - Vascularização venosa do pênis
Fonte: Adaptada de (Bertolotto, 2008)

1.2.1.3 Sistema de inervação peniana

A inervação peniana é autonômica (simpática e parassimpática) e somática (sensorial e motora) (Panchatsharam e Zito, 2018). A inervação somática é responsável pela contração do musculo bulboesponjoso e esquiocavernoso (Dean e Lue, 2005; Panchatsharam e Zito, 2018). Ademais, é responsável pela sensação de temperatura, dor, toque, assim como pela sua função motora na contração dos músculos durante a fase rígida da ereção e ejaculação (Dean e Lue, 2005; Panchatsharam e Zito, 2018).

Os complexos de nervos autônomos formam os nervos cavernosos, estes se encontram imersos nos corpos cavernosos e esponjoso (Dean e Lue, 2005; Yang e Jiang, 2009). Essa inervação é responsável pelos processos de ereção e detumescência (Yang e Jiang, 2009). A inervação simpática tem origem no decimo primeiro segmento espinal torácico (T11) até o segundo segmento espinal lombar (L2) (Dean e Lue, 2005). A partir da liberação dos seus mediadores vasoconstritores, a inervação simpática, promove contração das artérias helicoidais e dos músculos lisos das trabéculas, mantendo o pênis no estado flácido. Já as fibras parassimpáticas originam-se a partir do quarto segmento da medula espinal sacral (S2-S4) (Dean e Lue, 2005). Através da liberação dos seus mediadores vasoativos, a inervação parassimpática, promove o processo de ereção ou tumescência (Yafi *et al.*, 2016).

1.2.2 Equilíbrio do fluxo sanguíneo no tecido peniano

O equilibro entre o influxo arterial e o efluxo venoso caracteriza o processo da ereção peniana, fenômeno essencialmente vascular. Em uma condição em que influxo arterial é baixo e é compensado pelo efluxo venoso, o pênis permanece no estado flácido. Por sua vez, quando o influxo arterial aumenta e o efluxo venoso cai, ocorre a tumescência.

O pênis no estado flácido tem seu tecido muscular liso em estado de contração e é regulado pela combinação do controle adrenérgico, miogênico intrínseco e fatores de contração derivados do endotélio (endotelina e prostaglandinas) (Yafi *et al.*, 2016; Andersson, 2018). O processo denominado tumescência é constituído por 5 fases, denominado de tumescência (Chiou *et al.*, 1998; Dean e Lue, 2005). Já o processo reverso denominado de detumescência é constituído por 3 fases (Bosch *et al.*, 1991; Simonsen *et al.*, 2002; El-Sakka e Lue, 2004; Dean e Lue, 2005). A seguir uma breve descrição de ambos processos:

1.2.2.1 Fase da ereção peniana ou tumescência

1. Fase flácida

A fase flácida é caracterizada pelo progressivo relaxamento do musculo liso arterial resultando em aumento do influxo de sangue no corpo cavernoso. Concomitante a isso, ocorre um aumento da pressão intra peniana de 11 mmHg para 25 mmHg. Contudo, ainda nessa fase há um controle predominante de estímulos da inervação simpática.

2. Fase de enchimento

Com predominância de estimulação parassimpática, ocorre a dilação arterial levando ao aumento do fluxo sanguíneo. Ademais, é marcada pelo relaxamento das trabéculas, que por sua vez, promove o enchimento dos espaços sinusóides.

3. Fase de tumescência

Nesta fase ocorre elevação da pressão intracavernosa acima da pressão diastólica, marcado com o fluxo sanguíneo somente na fase sistólica. A contínua expansão dos sinusóides promovida pelo influxo de sangue comprime as veias emissárias contra a túnica albugínea. Esse mecanismo, denominado de venoclusão, limita o retorno venoso. Concomitante a isso, o pênis se alonga e atinge a sua capacidade máxima.

4. Fase de ereção completa

Essa fase é caracterizada pelo continuo aumento da pressão sanguínea, até valores próximos a sistólica. Com a expansão continua dos sinusóides, há um bloqueio completo do retorno venoso pelo mecanismo de venoclusão.

5. Fase de ereção rígida

Nessa fase há elevação da pressão acima da sistólica, tornando o pênis rígido e ereto. É marcada pela contração do musculo isquiocavernoso sob a estimulação sensorial. Além disso, o fluxo tanto venoso como arterial cessa, tornando o pênis um sistema fechado. Após isso, há um decaimento na pressão retornando a circulação ao tecido venoso.

1.2.2.2 Processo de detumescência ou estado flácido.

1. Fase inicial da detumescência

Com a liberação de mediadores vasocontritores, há um aumento transitório da pressão intracavernosa promovida pela contração do músculo liso contra o sistema venoso fechado.

2. Fase lenta da detumescência

Nesta fase ocorre uma lenta descompressão das veias emissárias, provendo o retorno venoso, com progressiva e lenta diminuição da pressão.

3. Fase rápida da detumescência

Nesta fase o retorno venoso restabelece totalmente, promovida pela rápida queda da pressão intracavernosa.

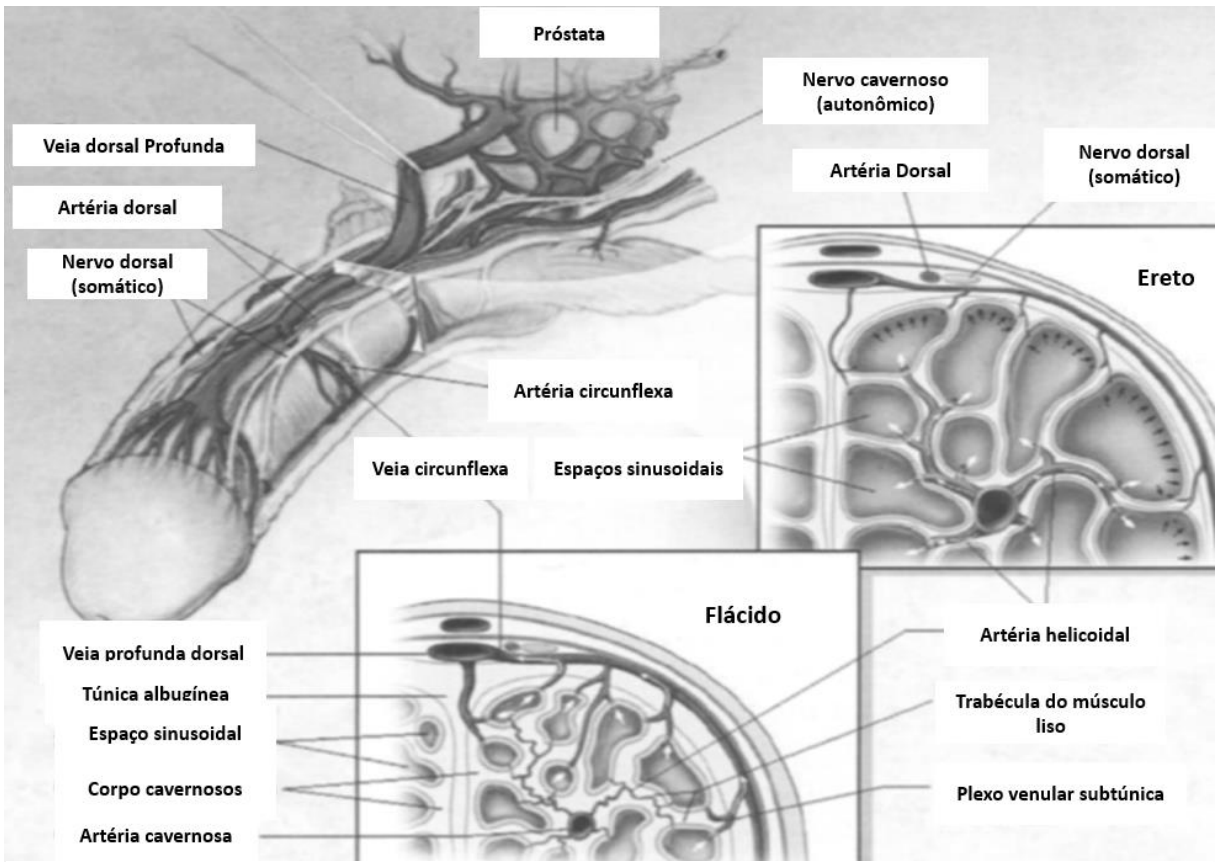


Figura 4 - Representa estrutura anatômica do pênis no estado flácido e de ereto.
Fonte: Versão traduzida (Ralph, 2005) (versão original em inglês)

1.2.3 Mecanismo molecular de tumescência e detumescência peniano

O pênis no estado flácido tem seu tecido muscular liso no estado contraído e regulado pela combinação do controle adrenérgico, miogênico intrínseco e fatores de contração derivados do endotélio (endotelina e prostaglandinas) (Andersson, 2018; Panchatsharam e Zito, 2018). Após o estímulo sexual (sensorial, tátil, visual, olfativo e imaginário) ocorre a liberação de neurotransmissores a partir dos nervos terminais cavernosos, levando ao relaxamento do músculo liso (Dean e Lue, 2005). A ativação da inervação parassimpática leva a ativação das fibras não adrenérgicas e não colinérgicas (NANC) e estimula a produção de oxido nítrico (NO) (Panchatsharam e Zito, 2018). O NO é formado a partir do aminoácido precursor, L-arginina, pela ação da enzima sintase do oxido nítrico (NOS) (Lundberg *et al.*, 2008). A NOS possui três isoformas descritas: NOS neuronal (nNOS), NOS induzível (iNOS), NOS endotelial (eNOS) (Lundberg e Weitzberg, 2010). As três isoformas podem ser encontradas no tecido peniano, sendo a iNOS presente somente em processos inflamatórios (Lundberg e Weitzberg, 2010).

O NO formado é liberado e se difunde através da membrana das células no músculo liso do corpo cavernoso, ativando guanilato ciclase solúvel favorecendo a formação da guanosina monofosfato cíclico (GMPc) a partir da guanosina trifosfato (GTP), este mecanismo está representado na Figura 5 (Shamloul e Ghanem, 2013). O GMPc, por sua vez, ativa a proteína cinase I dependente de GMPc, a qual diminui a concentração de cálcio intracelular, levando ao relaxamento (Figura 5) (Shamloul e Ghanem, 2013). Esse processo no tecido peniano é evidenciado pelo aumento das trabéculas devido ao relaxamento do músculo do corpo cavernoso e do aumento do fluxo arterial, promovendo a compressão das veias subtúnicas contra a parede da túnica albugínea e causando a venoclusão (Prieto, 2008; Shamloul e Ghanem, 2013).

O aumento do fluxo sanguíneo promove estresse de cisalhamento nas células endoteliais. Assim, levando à formação e liberação de NO, a qual sustenta o processo de ereção peniano iniciado pela estimulação das fibras NANC (Figura 5) (Prieto, 2008).

O acúmulo de GMP ocorre durante a ereção. Para que este efeito cesse, há uma enzima, chamada fosfodiesterase, responsável pela hidrolise do GMPc (Figura 5) (Lin, 2009). A fosfodiesterase tipo 5 (PDE-5) é importante no corpo cavernoso,

regula a via NO-GMPc por meio da reação de hibrólise, transformando a GMPc em GMP, o qual não apresenta capacidade de relaxar o músculo (Figura 5) (Salvi *et al.*, 2004; Andersson, 2018). Com a degradação de GMPc, ocorre aumento da concentração de cálcio intracelular, que leva à contração do musculo liso do corpo cavernoso e o retorno do pênis ao estado flácido (Salvi *et al.*, 2004).

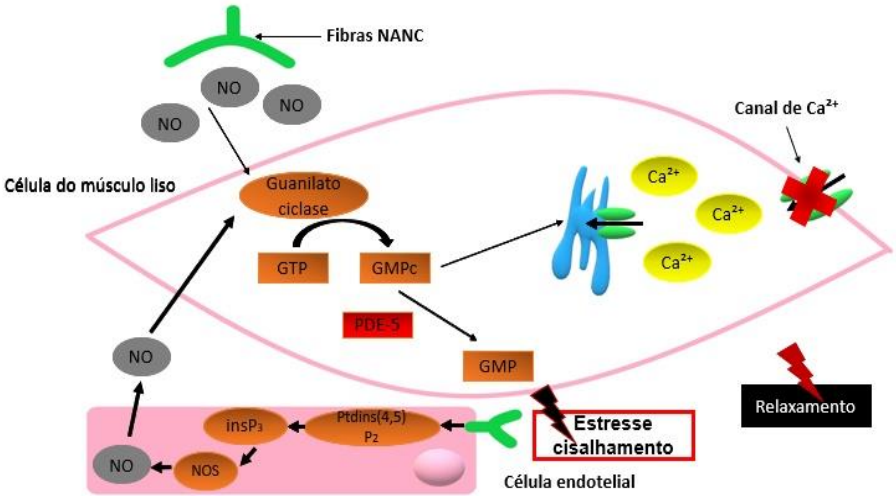


Figura 5- Relaxamento das células do músculo liso do corpo cavernoso durante a ereção. Após o estimulo sexual, ocorre ativação da inervação não adrenérgica e não colinérgica (NANC) e estimula a produção de oxido nítrico (NO). O NO formado é liberado e se difunde através membrana e ativa guanilato ciclase solúvel, e esse por sua vez, converte guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfosfato cíclico (GMPc). O GMPc promove o sequestro dos íons cálcio (Ca^{2+}) pelo reticulo sarcoplasmático e inativa os canais de Ca^{2+} e favorece o relaxamento. O estresse de cisalhamento, ativa o receptor nas células endoteliais, promovendo a formação fosfafotidilinositol trifosfato (*insP3*) a partir de fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (*Ptdins (4,5) P2*). O insP3 ativa a enzima oxido nítrico sintase, levando a formação de NO, e este é liberado e se difunde através da membrana das células do músculo liso. Esse processo é regulado pela fosfodiesterase tipo 5, que degrada GMPc formando GMP.
Fonte: Imagem adaptada (Yafi *et al.*, 2016)

Como mencionado anteriormente, o retorno do processo da ereção ao estado flácido é dependente também da estimulação simpática (Prieto, 2008; Panchatsharam e Zito, 2018). A estimulação da inervação simpática promove a liberação de norepinefrina, como representado de forma simplificada na Figura 6 (Prieto, 2008). A norepinefrina liga-se ao receptor α ativando a proteína G, que por sua vez ativa a fosfolipase C, favorecendo a formação de fosfatidilinositol trifosfato (IP3) a partir de fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2) (Prieto, 2008). A IP3 ativa os canais de cálcio na membrana das células do músculo liso, assim como os canais de cálcio no retículo sarcoplasmático (Prieto, 2008). Com o aumento intracelular do cálcio, desencadeia-se a ligação do cálcio à proteína calmodulina (Prieto, 2008). O complexo cálcio-

calmodulina ativa a miosina cinase da cadeia leve (MCLK), levando à fosforilação da miosina de cadeia leve (MLC) (Prieto, 2008).

Este processo no tecido peniano é marcado pela contração das arteríolas e músculo liso, retomando o efluxo venoso, também conhecido como detumescência (Shamloul e Ghanem, 2013).

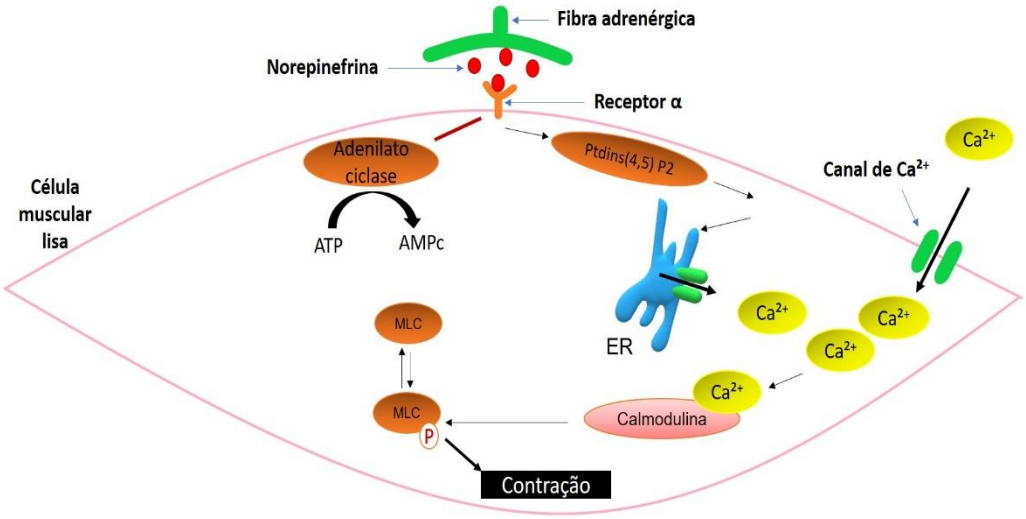


Figura 6 - Mecanismo molecular do processo de detumescência peniana, sinalização simpática. No estado flácido há uma regulação continua da inervação adrenérgica, via norepinefrina. A norepinefrina se liga no receptor α promove a conversão de fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (Ptdins (4,5) P2) em fosfatidilinositol trisfosfato (insP3), este por sua vez ativa os canais de cálcio (Ca^{2+}) na membrana da célula muscular lisa e no reticulo sarcoplasmático, aumentando a concentração de Ca^{2+} intracelular. O aumento de Ca^{2+} promove a formação do complexo Ca^{2+} + calmodulina e este ativa a miosina cinase de cadeia leve, que fosforila a cadeia leve de miosina (MCL), favorecendo a contração. A via simpática inativa gualinato ciclase solúvel, inibindo assim a formação de adenosina monofosfato cíclica via adenosina trisfosfato.
Fonte: Imagem adaptada (Yafi et al., 2016)

Dessa forma, a interferência continua em alguma destas vias (que comprometa o processo de tumescência peniana), acarreta o desenvolvimento de disfunção erétil (Decaluwe *et al.*, 2014).

1.3 Etiologia da doença e epidemiologia

A disfunção erétil (doravante DE) é considerada uma manifestação funcional e estrutural anormal que afeta a capacidade de atingir ou manter uma ereção peniana suficiente para alcançar satisfação durante a relação sexual (Decaluwe *et al.*, 2014; Hackett *et al.*, 2018). Essa condição, pode acarretar dificuldades emocionais e de

relacionamento do homem, causando impacto na qualidade de vida, na autoestima e no humor (Modesto e Couto, 2018).

A DE possui prevalência maior em homens com idade entre 40 a 70 anos, acometendo cerca de 150 milhões de homens no mundo e possui estimativa de 322 milhões de casos até 2025 (Shamloul e Ghanem, 2013; Decaluwe *et al.*, 2014). De forma mais detalhada, a prevalência em homens com menos de 40 anos é de 1-10%, já em homens com idade entre 40-49 anos é de 2-9% e maior que 20% em homens acima dos 49 anos (Shamloul e Ghanem, 2013). No Brasil, cerca de 49% dos homens com idade entre 40-69 anos tem DE (Moreira *et al.*, 2003). Ainda, estimam-se que cerca de 11 milhões de homens sofrem com algum grau de DE, com incidência de 1 milhão de novos casos a cada ano no Brasil (Moreira *et al.*, 2003; Jackson, 2004). Apesar de não ser uma doença letal, indivíduos com DE possuem maiores riscos de eventos cardiovasculares (Fan *et al.*, 2018; Kluge e Hamburg, 2018).

A DE possui etiologia dividida em orgânica e psicogênica ou a associação entre elas (mistas) (Panchatsharam e Zito, 2018). As causas psicogênicas principalmente mediadas pela adrenalina são associadas à fatores como: stress, depressão e ansiedade (Yafi *et al.*, 2016). Estes fatores podem estar relacionados a experiências traumáticas, pressões sociais e familiares, problemas em relacionar, medo de falhar no intercurso sexual entre outros (Shamloul e Ghanem, 2013). Apesar da relevância clínica das causas psicogênicas, alguns estudos apontam que a maioria dos casos de DE são decorrentes de causas orgânicas (Shin *et al.*, 2011; Yafi *et al.*, 2016).

As causas orgânicas são divididas em neurogênica, endocrinológica e vasculogênica. As causas neurogênicas são decorrentes da falta de resposta da sinalização dos nervos do corpo cavernoso (Shamloul e Ghanem, 2013). No que tange as vias de sinalização neurais, pode ocorrer comprometimento tanto no sistema nervoso central como periférico (aferente e eferente). Condições neuropatológicas do sistema nervoso central, tais como: esclerose múltipla, epilepsia de lobo temporal, doença de Alzheimer e danos na corda espinhal já foram associadas a DE (Yafi *et al.*, 2016). Além disso, danos periféricos podem modificar a resposta do nervo periférico eferente e aferente. A dessensibilização aferente no nervo em pacientes com Diabete *Mellitus* já foi associada à DE. Já outras condições, tais como cirurgias radicais pélvicas podem afetar regiões eferentes de sinalização do nervo cavernoso e como decorrência leva à DE. De fato, após a cirurgia de prostatectomia radical, cerca de 20

a 75% dos pacientes desenvolvem DE, associada à danos nos nervos cavernosos (Nelson *et al.*, 2013).

Ademais, hormônios andrógenos possuem participação importante na fisiologia e ereção peniana (Yafi *et al.*, 2016). Distúrbios endócrinos podem levar ao desenvolvimento de disfunção erétil (Shamloul e Ghanem, 2013; Yafi *et al.*, 2016). Um dos principais hormônios, a testosterona, possui participação importante na expressão de NOS e PDE-5 no tecido peniano (Shamloul e Ghanem, 2013). Níveis baixos de testosterona decorrente de hipogonadismo já foram associados à DE (Shamloul e Ghanem, 2013).

Contudo, apesar destas causas serem bastante relevantes, cerca de 70% das causas orgânicas de DE são decorrentes de fatores vasculares, ou seja, vasculogênicas (Hale *et al.*, 2009; Yafi *et al.*, 2016). A disfunção endotelial no tecido peniano, pode diminuir os níveis de NO e comprometer a função erétil normal. Fisiologicamente, o NO desempenha uma função essencial no tecido peniano, pois a sua liberação pelos terminais das fibras NANC e células endoteliais favorece o início e a sustentação da ereção peniana. Além disso, interessante que os fatores de riscos que contribuem para desenvolvimento da DE são semelhantes aos das doenças cardiovasculares (Shin *et al.*, 2011). Como exemplo podem ser citadas diabetes *Mellitus*, tabagismos, etilismo, hiperlipidemia, hipertensão e doenças coronarianas (Jackson, 2004; Watts *et al.*, 2007). Dessa forma, estudos apontam que a DE pode ser considerada um marcador de doenças cardiovasculares silenciosas, como aterosclerose e doença arterial coronariana (Jackson, 2004; Billups, 2005).

Outros parâmetros, como algumas classes de fármacos, também podem estar associados ao desenvolvimento de DE. Dentre esses fármacos podem ser citados: beta e alfa bloqueadores, diuréticos tiazídicos, bloqueadores de receptores de angiotensina, estatinas, fibratos, agentes psicotrópicos entre outros (Jackson, 2004; Lotti e Maggi, 2018).

Assim, para amenizar a condição de disfunção erétil, diversas abordagens terapêuticas são aplicadas na prática clínica.

1.4 Avaliação clínica de disfunção erétil

Como vimos, a DE possui causas multifatoriais, o que torna o seu diagnóstico complexo (Mcvary, 2009; Yafi *et al.*, 2016). Por isso, a avaliação do paciente baseia-

se no entendimento do histórico psicossocial, clínico e sexual (Mcvary, 2009; Shamloul e Ghanem, 2013). O histórico clinico auxilia na exclusão ou inclusão de fatores que afetam a função erétil. Já o histórico sexual permite entender a performance, comportamento e atitudes sexuais do indivíduo (Shamloul e Ghanem, 2013). Essa abordagem permite distinguir a disfunção erétil de outras doenças sexuais, como exemplo, ejaculação precoce, desejo e interesse sexual (Mcvary, 2009). Ocasionalmente, problemas psicológicos podem afetar a função erétil. Por isso o histórico psicossocial é de suma importância e acompanhado, quando aplicável, de diagnósticos psiquiátricos.

Além disso, questionários padrões são frequentemente utilizados para confirmação de DE e servem para mensurar a severidade da disfunção (Mcvary, 2009). Atualmente o questionário índice internacional de função erétil (*IIEF*) é o padrão ouro utilizado na prática clínica. O *IIEF* avalia 5 domínios função sexual, que são: 1) Função erétil, 2) Função orgásmica, 3) Desejo sexual, 4) Satisfação intercurso sexual e 5) Satisfação geral (Rosen *et al.*, 1997; Gonzáles *et al.*, 2013). Como representado na tabela 1, a classificação varia mediante a pontuação do questionário no domínio função erétil (Gonzáles *et al.*, 2013). O questionário permite acompanhar a evolução do paciente ao longo do tratamento (Gonzáles *et al.*, 2013).

Tabela 1 - Classificação do grau de DE segundo a pontuação do domínio função erétil do questionário IIEF

Categoria	Pontuação
Severa	6 a 10
Moderada	11 a 16
Leve para Moderada	17 a 21
Leve	22 a 25
Função erétil normal	26 a 30

Fonte: Adaptado de Gonzáles et al (2013) (Gonzáles *et al.*, 2013)

Assim, ao confirmar a condição sexual do paciente como disfunção erétil diversas abordagens terapêuticas são aplicadas na prática clínica.

1.5 Tratamento de disfunção erétil

Em meados de 1970, o tratamento para DE era feito por aconselhamento psicológico e em casos severos implantes penianos. Desde então, com o avanço das pesquisas em medicina surgiram os inibidores de PDE-5. Atualmente, os inibidores de PDE-5 são amplamente utilizados na pratica clínica, sendo a primeira linha de escolha para o tratamento da DE (Lin, 2009; Andersson, 2018). Dentre os inibidores da PDE-5 podem ser citados citrato de sildenafila, tadalafila, vardenafila e avanafila, entre outros (Salmasi *et al.*, 2016). Essas drogas facilitam a ereção pela inibição da enzima PDE-5, ao qual é responsável pela degradação de GMPc. Além do uso dos inibidores de PDE-5, é recomendado mudanças no estilo de vida, prática de exercícios físicos, não fumar ou ingerir bebidas alcoólicas (Shamloul e Ghanem, 2013).

Quando o paciente não responde ao tratamento com os inibidores de PDE-5, existem outras abordagens terapêuticas que podem ser utilizadas, tais como, injeção intracavernosa, supositório intrauretral, dispositivos de ereção a vácuo. Mas em casos severos recorre-se ao tratamento cirúrgico, sendo por prótese peniana ou revascularização peniana.

1.6 PDE-5 e Inibidores de PDE-5

A PDE-5 tem participação em diversos processos fisiológicos e patológicos, sendo amplamente conhecida por afetar a via de sinalização de GMPc no músculo liso (Lin, 2009). A regulação do GMPc por ação da enzima da PDE-5 leva à contração do músculo liso peniano. Assim, sua inibição aumenta a biodisponibilidade de GMPc, favorecendo o relaxamento do músculo liso do corpo cavernoso (Lin, 2009). Isso explica a eficácia dos inibidores de PDE-5 no tratamento de DE (Lin, 2009). Todos os inibidores de PDE-5 possuem o mesmo mecanismo de ação, somente diferindo no perfil farmacológico. O sildenafil, vardenafil e avanafil atingem tempos de concentração máxima plasmática (Tmáx) similares, enquanto que o tadafil atinge em maior tempo (Le *et al.*, 2019).

O uso do sildenafil foi aprovado em 1998, sendo o primeiro inibidor a ser comercializado (Le *et al.*, 2019). A administração é por via oral, sendo as doses de 25, 50 e 100 mg, dependendo da resposta do paciente. Após a administração oral, ele é rapidamente absorvido, atingindo a concentração máxima plasmática em 30 a 60

minutos (Le *et al.*, 2019). Possui um tempo de meia vida de 4 horas, tempo de ação no organismo de 12 horas (Le *et al.*, 2019). A sua eficácia pode ser modificada pela dieta, por isso não é recomendada a ingestão alimentos pesados ou carnes gordurosas após a sua administração (Le *et al.*, 2019). Estudos mostram que o sildenafil possui efeitos neuroprotetores, diminuem expressão de fatores pró inflamatórios: assim como, aumenta a viabilidade celular (Wright, 2006; Salmasi *et al.*, 2016).

Os efeitos adversos do uso dos inibidores de PDE-5 são comuns, pois não existe 100% de seletividade quanto à enzima PDE-5. Já foram descritas 11 isoformas de PDEs, sendo: PDE-1; PDE-2; PDE-3; PDE-4; PDE-5; PDE-6; PDE-7; PDE-8; PDE-9; PDE-10; PDE-11, localizadas em diferentes tecidos no corpo (Lin *et al.*, 2006). A PDE-5 é a mais abundante no corpo cavernoso (Lin *et al.*, 2006). Esses efeitos são decorrentes da interação dos inibidores de PDE-5 com outras PDEs em outros tecidos do músculo liso no organismo. Os efeitos adversos comuns são cefaléia, rubor, tontura, congestão nasal (Lin *et al.*, 2006).

No entanto, apesar da eficácia clínica do uso de inibidores das PDE-5 na DE, cerca de 30 a 40% dos pacientes não respondem adequadamente ao tratamento (Shamloul e Ghanem, 2013).

Alguns fatores de riscos da DE podem interferir na resposta aos inibidores de PDE-5, podendo ser citados: Diabete *Mellitus*, tabagismo, alcoolismo, doenças cardiovasculares (Abdel-Hamid e Andersson, 2009). Contudo, variações genéticas também podem interferir na resposta ao inibidor de PDE-5 (Hahn *et al.*, 2010; Marchal-Escalona *et al.*, 2016).

1.7 Polimorfismos no gene *PDE5A*

Como mencionado anteriormente, as variações genéticas podem influenciar as respostas a um determinado fármaco. As variabilidades genéticas intra espécies conferem aos indivíduos respostas adaptativas às mudanças ambientais e podem ter implicações na saúde humana (Ellegren e Galtier, 2016).

Com os avanços na genética surgiram conceitos bastante relevantes no conhecimento do genoma humano e da caracterização das variabilidades (Abdel-Hamid e Andersson, 2009; Ellegren e Galtier, 2016). As variações genéticas, conhecidas como polimorfismos, são designadas como variações em genes com

frequência maior que 1% na população (Ellegren e Galtier, 2016). Os polimorfismos estão localizados ao longo do loci ou cromossomos e dependendo da natureza podem ser classificados de troca, deleção, inserção ou por sequências repetidas ao longo do gene (VNTR/ microssatélites) (Lin, 2009; Ellegren e Galtier, 2016). Os polimorfismos classificados como de troca, são conhecidos como polimorfismo de nucleotídeo de base única (*SNP* – Sigla em inglês, *Single nucleotide polymorphism*), caracterizados pela troca de uma base nitrogenada (Ellegren e Galtier, 2016). A presença de polimorfismos nos genes pode afetar diretamente a saúde ou na resposta a fármacos (Ellegren e Galtier, 2016). Estas influências podem ser decorrentes de modificações na absorção, metabolismo ou no mecanismo de ação (Abdel-Hamid e Andersson, 2009). Por esse motivo, surgiu a farmacogenética, que estuda a influência de características genéticas hereditárias nas respostas farmacológicas (Lacchini e Tanus-Santos, 2014).

Até o momento, diversos polimorfismos já foram mapeados no gene da *PDE5A* localizados na região promotora, de íntrons ou de éxons (Abdel-Hamid e Andersson, 2009). O gene *PDE5A* fica localizado no cromossomo 4 (4q26), possui 21 éxons, comprimento de 4415 pares de base e codifica uma proteína de 875 aminoácidos (Andersson, 2018). Diversos polimorfismos genéticos já foram associados a alterações na eficácia do sildenafil, incluindo variantes de PDE5A (Sperling *et al.*, 2003; Lacchini *et al.*, 2014; Marchal-Escalona *et al.*, 2016; Azevedo *et al.*, 2017; Lacchini *et al.*, 2018). Apesar de existirem poucos estudos relacionados ao gene, evidência em estudo de genômica ampla mostrou que polimorfismos no gene *PDE5A* podem ter relevância clínica (Vasan *et al.*, 2007). Nesse estudo associou-se o polimorfismo rs2389866 como marcador de velocidade de fluxo hiperêmico da artéria braquial e como fator de risco de doenças cardiovasculares (Vasan *et al.*, 2007). De fato, outro estudo em pacientes diabéticos e não diabéticos mostrou associação da presença de polimorfismo no gene *PDE5A* a pior resposta ao fármaco em pacientes não diabéticos (Marchal-Escalona *et al.*, 2016). Já em outros tecidos, associaram a progressão das doenças relacionadas à nefropatia por depósito de imunoglobulina A com a presença de polimorfismo no gene *PDE5A* (Hahn *et al.*, 2010).

Com base no exposto acima, a hipótese do nosso trabalho é que a presença de alelos variantes no gene *PDE5A* está associada à resposta ao sildenafil.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a associação de polimorfismo do gene *PDE5A* com a resposta ao sildenafil em pacientes com DE.

2.2 Objetivos específicos

Verificar associação dos genótipos e haplótipos de rs2389866, rs3733526 e rs13124592 com a resposta ao sildenafil em pacientes com DE de diferentes etiologias (Disfunção erétil clínica, DEC e Disfunção erétil pós-prostatectomia, DEPP)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Voluntários

Os pacientes com DE são oriundos do Ambulatório de Urologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP), sob coordenação do Prof. Dr. Sílvio Tucci Junior da FMRP-USP. O estudo foi realizado em pacientes com disfunção erétil clínica (DEC) e pós prostatectomia (DEPP).

Os pacientes (DEC e DEPP) foram recrutados por convite pessoal. A abordagem do paciente foi sempre realizada em locais reservados, evitando a exposição de sua condição a demais usuários dos serviços do hospital.

Os pacientes foram subdivididos em 2 grupos mediante a origem etiológica da doença, sendo, um grupo constituído por 71 pacientes com DEC e outro por 71 pacientes com DEPP. Após a consulta com o médico andrologista, foi feita a análise da prescrição médica e, caso o paciente tenha recebido prescrição de Sildenafil (50/ 100 mg), este foi acompanhado ao longo do tratamento por um mês ou até que fossem utilizadas 8 doses do fármaco. Antes do tratamento, foi aplicado o questionário IIEF. No retorno habitual do paciente ao HC, foram aplicados novos questionários e novas coletas de sangue.

A coleta de sangue (30 mL) foi feita por punção venosa no antebraço utilizando seringas tradicionais ou a vácuo. Brevemente, após a coleta, o sangue foi processado

para obtenção leucócitos, soro e plasma. As amostras de plasma, soro, leucócitos e sangue total foram aliquotadas em tubos de 2,0 mL previamente identificados e congeladas imediatamente em gelo seco no local de coleta, sendo posteriormente armazenadas em biorrepositório no freezer - 80 °C (leucócitos, soro e plasma) e -20ºC (sangue total).

3.2 Aspectos Éticos

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, CAE nº 03973718.6.0000.5393.

A coleta de dados só foi realizada em indivíduos que, uma vez convidados, concordaram em participar do estudo, sendo incluídos somente aqueles que se encaixaram nos critérios de inclusão e que leram, compreenderam e autorizaram sua participação, por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), devidamente aprovado pelo CEP.

3.3 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão para o estudo foram: idade entre 18 e 80 anos; queixas envolvendo a atividade sexual; pacientes elegíveis para uso do sildenafil; diagnóstico médico de disfunção erétil; e pontuação do IIEF > 26.

3.4 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão considerados para o estudo foram: presença de hipogonadismo; bexiga neurogênica; ejaculação precoce; implantes penianos; acidentes cerebrovasculares; traumas no sistema nervoso central; e, anormalidades anatômicas (doença de Peyronie).

3.5 Avaliação da função erétil e da resposta ao sildenafil.

Para avaliação da função erétil foi aplicado o questionário *International Index for Erectile Function* (IIEF) igualmente a todos os participantes do estudo antes e depois do tratamento com sildenafil. A dose de sildenafil foi de 50 ou 100 mg (definidos a critério médico). O valor máximo de pontuação do domínio função erétil (FE) considerado foi de 30, os cálculos foram feitos da seguinte forma:

a) P2 **-** P1 = ΔIIEF;

b) 30 **-** P1 = MRP;

c) ΔIIEF / MRP 100 = % MRPatingida

Onde: P1 = 5-IIEF antes tratamento, P2 = 5-IIEF após tratamento e MRP = máxima resposta possível.

Com as pontuações da função erétil foi calculado a mediana onde que os indivíduos com pontuações acima foram considerados bons respondedores e abaixo como maus respondedores.

3.6 Avaliações genéticas

3.6.1 Genotipagens dos SNPs

A extração do DNA genômico foi realizada pelo método *salting-out* (com purificação com fenol-clorofórmio), a partir de amostras de 500 µL de sangue total. As amostras de DNA genômico foram quantificadas no espectrofotômetro NanoDropTM 100 (*Thermo Fisher Scientific* Inc.), diluídas (quando necessário) a 300 ng/µL e armazenadas em freezer a - 20ºC. Partindo das amostras concentradas, foram feitas soluções de DNA a 5 ng/ µL para as análises, que foram armazenadas em geladeira.

O polimorfismo rs2389866, rs3733526 e rs13124592 foram genotipados utilizando um ensaio de discriminação alélica *TaqMan*. Todas as reações foram realizadas utilizando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real no aparelho *StepOne Plus* (*Applied biosystems*). Os iniciadores e sondas foram desenhados pela *Applied Biosystems*. Brevemente, a reação foi preparada para um volume final de 10 µL (5 ng de DNA, *Taqman Master* Mix 1x, *Taqman genotyping assay* 1x). Os resultados obtidos foram quantificados e analisados pelo software do fabricante.

4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram feitas através de tabelas de contingência (dados qualitativos), teste T de *Student* ou *Mann Whitney* (no caso de dois grupos, variáveis quantitativas paramétricas ou não paramétricas, respectivamente), ANOVA com pos-teste de *Tukey* ou teste *Kruskal-Wallis* (mais de dois grupos, variáveis quantitativas e paramétricas ou não paramétricas, respectivamente). Os valores foram considerados estatisticamente significativos para $p<0.05$ e expressos em média ± desvio padrão.

Os efeitos dos genótipos e alelos sobre as medidas de resposta ao sildenafil e sobre a qualidade das respostas dos pacientes foram avaliados por análises de regressão linear multivariada e de regressão logística multivariada, respectivamente, utilizando o *software* JMP 13.0.0 (*SAS Institute*). Nessa análise foram incluídas as variáveis de importância clinica idade, diabetes e tabagismo e, também, os genótipos e alelos como variáveis independentes nos modelos de regressão linear e logística multivariada. Os valores ∆IIEF, ∆IIEF% e scores IIEF (pós-tratamento) foram convertidos em escala logarítmica e incluídos como variáveis dependentes para regressão linear multivariada. Para a regressão logística multivariada, a classificação como bons ou maus respondedores foi considerada como variáveis dependente. Os valores foram considerados significativos quando $P < 0,05$.

Outra abordagem utilizada foi a análise de desiquilíbrio de ligação entre os polimorfismos rs2389866, rs3733526 e rs13124592 estudados. Pelos dados encontrados observamos que estão altamente ligados no gene. Mediante os dados, o rs13124592 está perfeitamente ligado com o rs2389866 (D'=1,00). E o rs373326 está altamente ligado com rs2389866 (D'=0,88). Em outras palavras, ao avaliarmos os efeitos de um dos polimorfismos citados, estamos avaliando também a influência do outro polimorfismo no gene. Por esse motivo optamos por analisar somente o rs2389866 para este estudo, o que infere os resultados dos outros polimorfismos.

5. RESULTADOS

As características clinicas e laboratoriais dos dois grupos foram similares, apresentando diferenças estatísticas somente nos parâmetros de idade, colesterol total e score de IIEF pós-tratamento (Tabela 2).

Tabela 2 - Características clínicas e laboratoriais dos grupos estudados.

Características	**DEC (n=71)**	**DEPP (n=71)**
Idade (anos)	55 ± 11	65 ± 6*
Etnia (brancos/ não Brancos)	36/35	33/38
IMC (Kg/m²)	27,5 ± 4,5	28,1 ± 4,4
Praticam atividade física (%)	46	42
Tabagismo (n)		
Fumantes	13	7
Ex-fumantes	35	34
Não fumantes	24	30
Etilismo[3] (%)	10	10
PAS (mmHg)	139 ± 18	145 ± 22
PAD (mmHg)	91 ± 11	93 ± 12
Colesterol total (mg/dL)	183 ± 36	174 ± 46*
Colesterol HDL (mg/dL)	41 ± 8	40 ± 5
Colesterol LDL (mg/dL)	114 ± 33	99 ± 40
Triglicerídeos (mg/dL)	143 ± 80	155 ± 85
Glicose (mg/dL)	118 ± 39	119 ± 40
Ureia (mg/dL)	33 ± 12	32 ± 13
Creatinina (mg/dL)	1,1 ± 0,4	1,2 ± 0,5
Hipertensos (%)	46	58
Diabéticos (%)	42	41
Score IIEF		
pré-tratamento	9,6 ± 6,3	8,4 ± 5,6
pós-tratamento	16,5 ± 8,9	13,3 ± 8,0*

DEC, disfunção erétil clínica; DEPP, disfunção erétil pós prostatectomia; IMC, índice de massa corporal; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; HDL, lipoproteína de alta densidade; LDL, lipoproteína de baixa densidade; IIEF, Índice Internacional de Função Erétil. a Consumo de etanol >30 g/dia. Dados expressos como média ± desvio padrão, valores absolutos ou frequências relativas (%).*P<0,05 vs DEC.

A distribuição dos genótipos no polimorfismo do gene *PDE5A* está de acordo com o equilíbrio de Hardy – Weinberg (p > 0,05).

As pontuações no domínio FE do IIEF pós-tratamento da DE com sildenafil foram analisadas em relação aos genótipos (Figura 7) dos pacientes com DEC e DEPP e não houve diferenças estatísticas para ambos grupos.

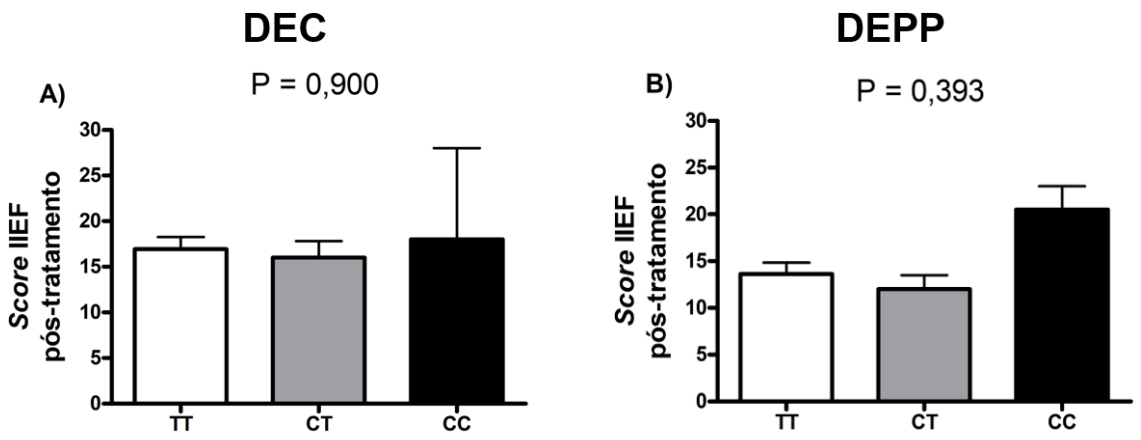
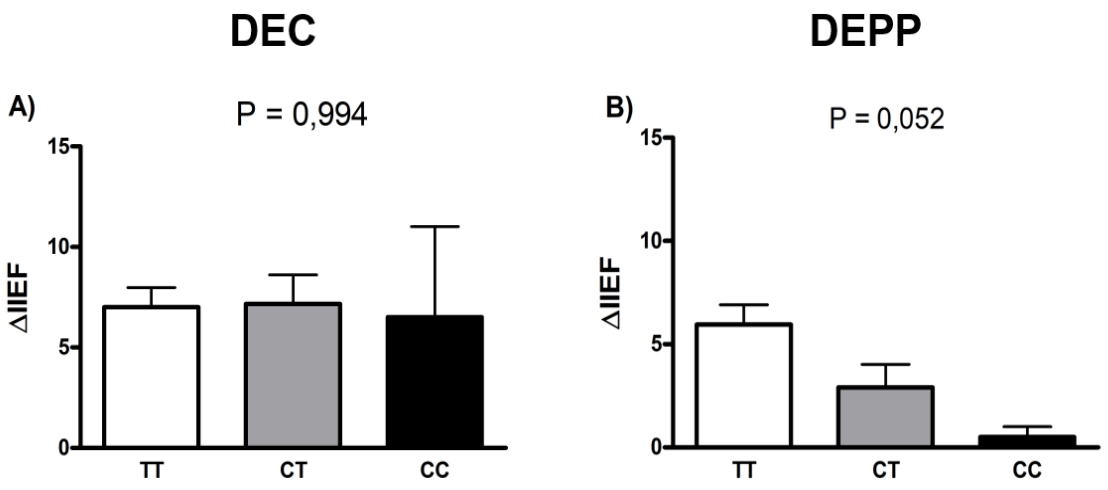


Figura 7 - Score função erétil (FE) pós-tratamento x genótipos dos polimorfismos do gene PDE5A, rs2389866, do DEC e DEPP, modelo dominante. A) DEC, disfunção erétil clínica; B) DEPP, disfunção pós prostatectomia. Valores considerados estatisticamente significativos quando $p < 0.05$, expressos como média ± desvio padrão. Teste de Kruskal-wallis

Pelas análises de ΔIIEF X genótipos do polimorfismo no gene *PDE5A* (Figura 7) nos pacientes com DEC (Figura 8a) não houve diferença estatísticas, em ambos modelos. Porém, no modelo dominante, como podemos observar houve associação da variante “C” a pior resposta ao sildenafil no grupo DEPP (Figura 8b).

Modelo aditivo



Modelo dominante

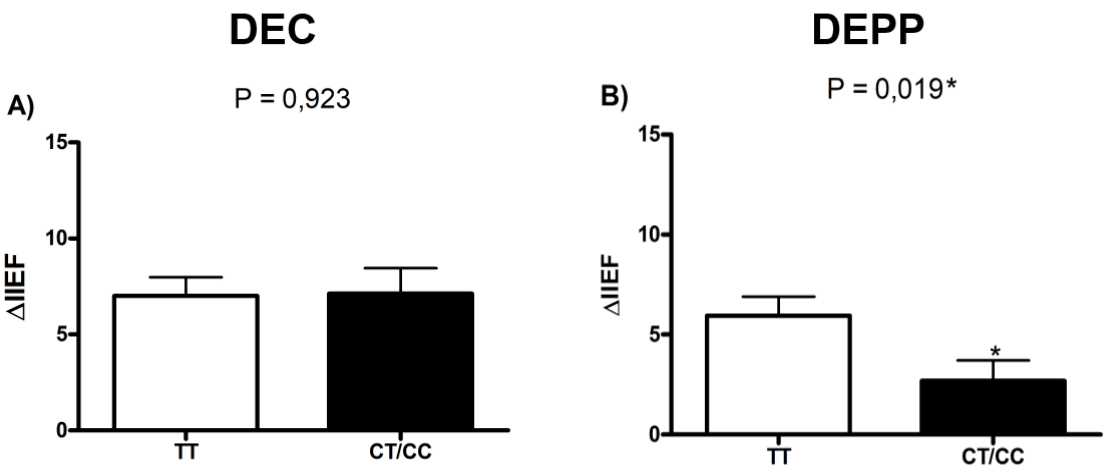
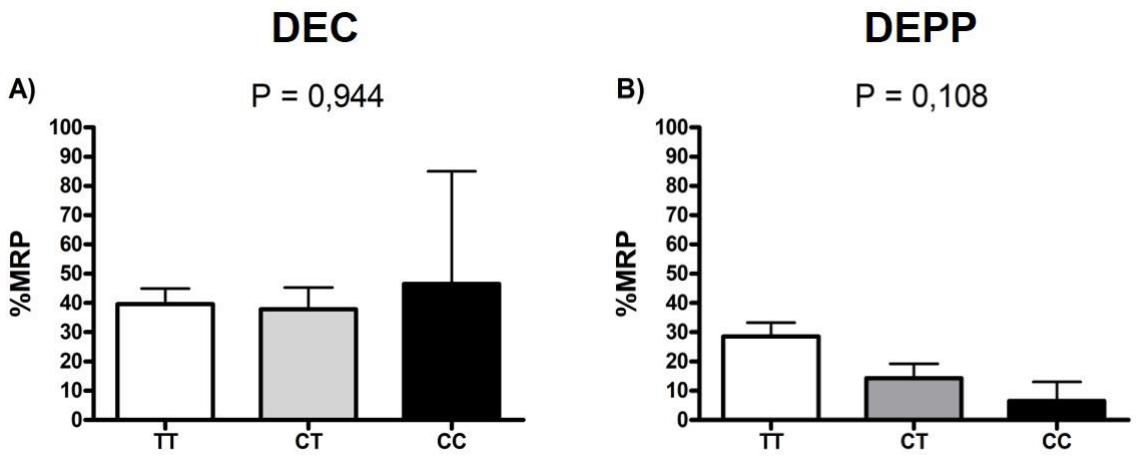


Figura 8 - ΔIIEF x genótipos dos polimorfismos do gene PDE5A, rs2389866, do DEC e DEPP. A) DEC, disfunção erétil clínica; B) DEPP, disfunção pós prostatectomia. Modelo aditivo – Teste de Kruskal-wallis; Modelo dominante – Teste de Mann Whitney. Valores considerados estatisticamente significativos quando *p < 0.05, expressos como média ± desvio padrão.

De acordo com os valores do percentual de máxima resposta possível (%MRP) associados aos genótipos dos pacientes DEC e DEPP (Figura 9) não houve diferença estatística no modelo aditivo, em ambos grupos. Em relação ao modelo dominante, foi observado associação do alelo variante “C” do polimorfismo rs2389866 com a pior resposta ao sildenafil no grupo DEPP

Modelo aditivo



Modelo Dominante

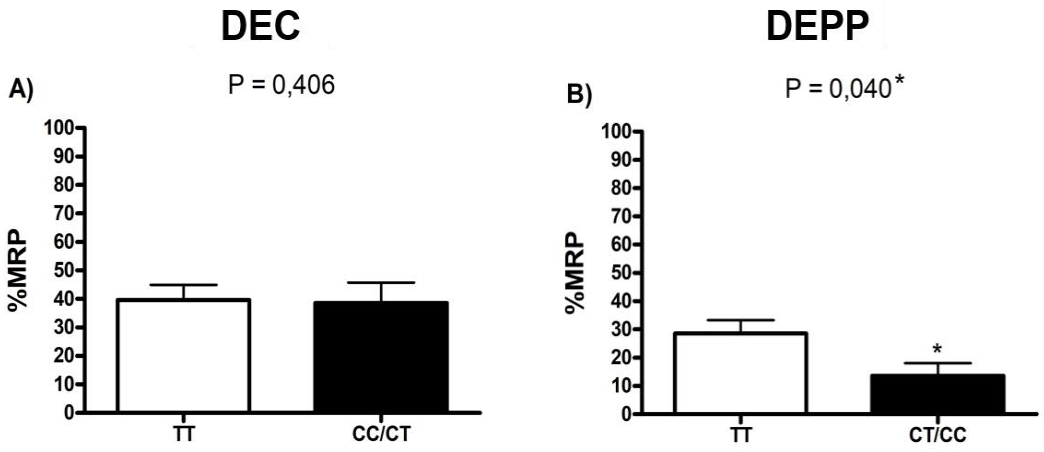


Figura 9 - % MRP x genótipos do polimorfismo do gene PDE5A, rs2389866, do DEC e DEPP. A) Dec, disfunção erétil clínica; B) DEPP, disfunção pós prostatectomia. Modelo aditivo – Teste de Kruskal-wallis; Modelo dominante – Teste de Mann Whitney. Considerados estatisticamente significativos quando *p < 0.05. Valores expressos como média ± desvio padrão.

Outra abordagem usada para verificar a resposta foi dicotomizar pacientes cujo valor de ΔIIEF estavam acima ou abaixo da mediana. Esses foram classificados em bons e maus respondedores, respectivamente, (Tabela 3 e 4) nos grupos DEC e DEPP. Não encontramos associação entre os genótipos e a presença no grupo bom e mau respondedor na análise não corrigida, como também na corrigida

Tabela 3 - Distribuição dos genótipos do polimorfismo estudado entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) - Grupo DEC

SNP	Genótipo	BR (n = 36)	MR (n = 30)	P_{nc}	OR_{nc} (IC)	P_c	OR_c (IC)
rs2389866	TT	23 (0,64)	19 (0,64)	-	1,00 (referência)	-	1,00 (referência)
	CT	12 (0,33)	10 (0,33)	0,686	1,20 (0,43 – 3,38)	0,52	2,08 (0,08 – 25,15)
	CC	1 (0,03)	1 (0,03)	0,894	1,00 (0,06 – 17,1)	0,99	1,01 (0,01 – 12,99)
		P_{nc} Geral = 0,991					
		P_c Geral = 0,998					

SNP, *single nucleotide polymorphism*; DEC, disfunção erétil clínica; P_{nc}, valor de P referente a estatística não corrigida; P_c, valor de P referente a estatística corrigida; OR_{nc}, valor de odds ratio referente a estatística não corrigida; OR_c, valor de odds ratio referente a estatística corrigida; IC, intervalo de confiança de 95%. Dados mostrados como n (frequências relativas)..

Tabela 4 - Distribuição dos genótipos do polimorfismo estudado entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) - Grupo DEPP

SNP	Genótipo	BR (n = 30)	MR (n = 34)	P_{nc}	OR_{nc} (IC)	P_c	OR_c (IC)
rs2389866	TT	30 (0,83)	20 (0,59)	-	1,00 (referência)	-	1,00 (referência)
	CT	5 (0,17)	12 (0,35)	0,066	2,75 (0,90 – 9,94)	0,52	2,08 (0,17 – 25,15)
	CC	0 (0,00)	2 (0,06)	0,123	1,25 (0,28 – 137,0)	0,99	1,01 (0,01 – 83,53)
		P_{nc} Geral = 0,074					
		P_c Geral =0,404					

SNP, *single nucleotide polymorphism*; DEPP, disfunção erétil pós-prostatectomia P_{nc}, valor de P referente a estatística não corrigida; P_c, valor de P referente a estatística corrigida; OR_{nc}, valor de odds ratio referente a estatística não corrigida; OR_c, valor de odds ratio referente a estatística corrigida; IC, intervalo de confiança de 95%. Dados mostrados como n (frequências relativas).

Para verificar se a resposta ao sildenafil poderia estar sendo influenciada pelos fatores de riscos, analisamos os nossos dados pela estatística corrigida, representada nas tabelas 5 e 6. Observamos que os fatores de confusão, idade, diabetes, tabagismo, uso de anti-hipertensivo, considerados no nosso modelo de regressão linear, não interferem na resposta ao sildenafil. Além disso (tabela dominante), os resultados considerados significativos na estatística não corrigida foram significativos na estatística corrigida (Tabela 6).

Tabela 5 - Análise de regressão linear multivariada mostrando os efeitos dos genótipos do polimorfismo do gene *PDE5A* nos parâmetros de responsividade do Sildenafil em DEC e DEPP, Modelo dominante

Modelo		**△IIEF**				**△IIEF%**				***Score* IIEF pós-tratamento**			
		DEC		**DEPP**		**DEC**		**DEPP**		**DEC**		**DEPP**	
		Aditivo		**Aditivo**		**Aditivo**		**Aditivo**		**Aditivo**		**Aditivo**	
		R^2 = 0,10		**R^2 = 0,12**		**R^2 = 0,12**		**R^2 = 0,098**		**R^2 = 0,20**		**R^2 = 0,07**	
		RMSE = 0,47		**RMSE = 0,47**		**RMSE = 0,76**		**RMSE = 0,76**		**RMSE = 0,29**		**RMSE = 0,29**	
		β	**P**	**β**	**P**	**β**	**P**	**β**	**P**	**β**	**P**	**β**	**P**
Idade		-0,001	0,846	0,01	0,261	-0,009	0,344	0,01	0,32	<-0,006	0,092	<0,006	0,267
Tabagismo													
Fumante		0,11	0,248	0,10	0,437	0,095	0,563	0,17	0,425	-0,04	0,480	<0,05	0,512
Ex-fumante		-0,09	0,263	-0,09	0,343	-0,11	0,403	-0,15	0,309	0,03	0,534	-0,04	0,461
Não fumante		<-0,02	0,785	<-0,01	0,859	-0,018	0,899	-0,01	0,894	<0,01	0,821	0,01	0,830
Ser diabético		-0,08	0,178	-0,06	0,358	-0,14	0,179	-0,08	0,328	-0,06	0,086	-0,03	0,457
Uso de anti-hipertensivo		0,05	0,389	-0,04	0,430	0,074	0,489	-0,05	0,541	-0,01	0,125	-0,01	0,608
PDE5A													
rs2389866	TT	-0,09	0,499	0,25	0,051	-0,15	0,480	0,30	0,144	0,009	0,903	-0,06	0,441
	CT	-0,07	0,609	-0,00	0,999	-0,16	0,470	-0,07	0,720	-0,02	0,778	-0,11	0,172
	CC	0,16	0,503	-0,25	0,277	0,31	0,419	-0,22	0,549	0,01	0,924	-0,17	0,218
		P Global = 0,784		**P Global =** 0,071		**P Global =** 0,719		**P Global =** 0,142		**P Global =** 0,908		**P Global =** 0,390	

DEC: disfunção erétil clínica; DEPP: disfunção erétil pós-prostatectomia; IIEF: índice internacional de função erétil; ΔIIEF: subtração do escore IIEF antes do tratamento do escore IIEF após o tratamento. ΔIIEF%: percentil da resposta máxima possível que o paciente poderia obter (consulte Materiais e métodos para mais detalhes); R2: fração da variabilidade da variável dependente que é explicada por este modelo. β: estimativa de efeito. Todas as variáveis contínuas, exceto a idade, foram normalizadas. Todos os modelos foram corrigidos por idade, tabagismo, diabetes e tratamento atual com anti-hipertensivos.

Tabela 6 - Análise de regressão linear multivariada mostrando os efeitos dos genótipos dos polimorfismos do gene *PDE5A* nos parâmetros de responsividade do Sildenafil em DEC e DEPP, Modelo dominante

Modelo		**△IIEF**				**△IIEF%**				***Score* IIEF pós-tratamento**			
		DEC		**DEPP**		**DEC**		**DEPP**		**DEC**		**DEPP**	
		Dominante R^2 = 0,10 RMSE = 0,47		**Dominante R^2 = 0,12 RMSE = 0,47**		**Dominante R^2 = 0,11 RMSE = 0,76**		**Dominante R^2 = 0,09 RMSE = 0,76**		**Domiante R^2 = 0,16 RMSE = 0,29**		**Dominante R^2 = 0,04 RMSE = 0,29**	
		β	**P**	**β**	**P**	**β**	**P**	**β**	**P**	**β**	**P**	**β**	**P**
Idade		<-0,01	0,827	0,1	0,263	<-0,009	0,328	0,01	0,326	<-0,006	0,088	<0,006	0,262
Tabagismo													
Fumante		0,11	251	0,11	0,418	0,09	0,573	0,17	0,416	-0,04	0,475	<0,05	0,550
Ex-fumante		-0,08	0,306	-0,09	0,343	-0,09	0,485	-0,15	0,306	0,03	0,502	-0,04	0,459
Não fumante		<-0,03	0,705	<-0,02	0,821	0,000	0,999	-0,02	0,879	<0,01	0,838	-0,006	0,901
Ser diabético		-0,08	0,189	-0,06	0,403	-0,13	0,196	-0,07	0,499	-0,06	0,124	-0,04	0,357
Uso de anti-hipertensivo		-0,048	0,452	-0,04	0,437	0,05	0,589	-0,05	0,541	-0,01	0,643	-0,01	0,590
PDE5A													
rs2389866	TT	-0,01	0,764	0,13	0,028	-0,01	0,895	-0,19	0,049*	-0,01	0,683	0,01	0,715
	CT/CT	0,01	0,764	-0,13	0,028	0,01	0,895	-0,19	0,049*	-0,01	0,683	-0,01	0,715
		P Global = 0,764		**P Global =** 0,028*		**P Global =** 0,895		**P Global =** 0,049*		**P Global =** 0,683		**P Global =** 0,715	

DEC: disfunção erétil clínica; DEPP: disfunção erétil pós-prostatectomia; IIEF: índice internacional de função erétil; ΔIIEF: subtração do escore IIEF antes do tratamento do escore IIEF após o tratamento. ΔIIEF%: percentil da resposta máxima possível que o paciente poderia obter (consulte Materiais e métodos para mais detalhes); R2: fração da variabilidade da variável dependente que é explicada por este modelo. β: estimativa de efeito. Todas as variáveis contínuas, exceto a idade, foram normalizadas. Todos os modelos foram corrigidos por idade, tabagismo, diabetes e tratamento atual com anti-hipertensivos.

6. DISCUSSÃO

Os inibidores de PDE-5 são amplamente utilizados na DE pela sua eficácia no tratamento (Yafi *et al.*, 2016). No decorrer do tempo observaram que cerca de 30% dos pacientes não respondem ao tratamento. A hipótese do nosso estudo foi que a presença de polimorfismos no gene *PDE5A* poderia influenciar a resposta ao sildenafil.

De acordo com os nossos achados, a resposta ao sildenafil nos pacientes DEPP está associada à presença do polimorfismo no gene *PDE5A*. Já os resultados no grupo DEC não foram considerados significativos. Estudo de Marchal-Escalona e colaboradores (2016) no qual foi estudada DEC e associação de outros polimorfismos no gene *PDE5A* na resposta ao sildenafil, mostrou resultados semelhantes ao nosso (Marchal-Escalona *et al.*, 2016). Nesse estudo, analisou-se a DEC e associação de outros polimorfismos no gene *PDE5A* em pacientes diabéticos e não diabéticos. Os autores encontraram resultados consistentes da influência genética sobre a resposta ao sildenafil (Marchal-Escalona *et al.*, 2016). De acordo com este estudo o polimorfismo rs3806808 está associado a pior resposta ao sildenafil nos pacientes não diabéticos (Marchal-Escalona *et al.*, 2016). Apesar de não terem encontrado diferença estatística nos pacientes diabéticos, eles observaram que os níveis glicêmicos elevados influenciavam de forma negativa a resposta ao sildenafil (Marchal-Escalona *et al.*, 2016). De fato, distúrbios metabólicos, como diabetes *Mellitus,* podem influenciar a resposta dos inibidores de PDE-5 (Lewis *et al.*, 2010; Kirilmaz *et al.*, 2015). No nosso estudo, após os dados serem corrigidos pelos fatores de confusão, como diabetes *Mellitus*, nós não observamos influência de diabete *Mellitus* na resposta ao sildenafil, o que é diferente do achado no estudo de Marchal-Escalona. Interessante notar que, cerca de aproximadamente 55% dos pacientes com DEPP no nosso estudo são diabéticos, o que torna ainda mais consistentes os nossos resultados. Além de diabetes *Mellitus,* foram utilizados outros fatores de confusão, como idade, tabagismo e uso de anti-hipertensivos, o que não influenciou a resposta ao sildenafil. Contudo, uma das críticas do estudo de Marchal-Escalona, foi aplicação de um questionário IIEF-5 simples e pouco sensível, quando comparado com outros questionários IIEF mais completos. Note-se que questionários completos tendem a avaliar mais parâmetros, o que torna os resultados a partir delas mais consistentes.

O sildenafil, tal como outros inibidores de PDE-5, inibe a degradação do GMPc e potencializa os efeitos da via NO-GMPc. Por isso além de serem utilizados no tratamento da DE, também são usados na hipertensão pulmonar (HP) (Lowson, 2004; Hoeper *et al.*, 2016). A resposta aos inibidores da PDE-5 no tratamento HP é decorrente da importante presença dessa enzima no tecido pulmonar e da alta responsividade ao NO (Hoeper *et al.*, 2016). O sildenafil melhora a qualidade de vida dos pacientes com HP, assim como observado em estudos em cães (Galie *et al.*, 2005; Kellum e Stepien, 2007). Semelhante aos nosso achados, estudo em cães mostrou que polimorfismo no gene PDE5A afeta na resposta ao sildenafil na HP (Ueda *et al.*, 2019). Nesse estudo, observaram que a presença do polimorfismo *PDE5A* E90K estava associado a menores pontuações na qualidade de vida dos cães (Ueda *et al.*, 2019). Noutro estudo desse mesmo grupo, associaram a presença do polimorfismo E90K a menores valores de concentração de GMPc, o que poderia explicar a baixa eficácia (Stern *et al.*, 2014).

Apesar dos estudos mencionados mostrarem influência de polimorfismos no gene *PDE5A* na resposta ao sildenafil em pacientes do grupo DEPP, não ocorrem os mesmos efeitos quando se leva em consideração os pacientes do grupo DEC. Contudo outros estudos não associados a polimorfismos mostram que possivelmente a PDE-5 possui outros mecanismos de ação dentro da célula (Hahn *et al.*, 2010; Sirad *et al.*, 2011; Salmasi *et al.*, 2016). Evidências desses estudos mostram que a PDE-5 pode participar em processos inflamatórios e de reparos teciduais (Sirad *et al.*, 2011; Salmasi *et al.*, 2016). Estudo de Salmasi e colaboradores (2016) demonstrou tanto *in vitro* como *in vivo* os efeitos benéficos dos inibidores de PDE-5. *In vitro,* submeteram culturas de células em duas situações diferentes, de hipóxia e citotoxicidade por peroxido de hidrogênio. Observou-se que o sildenafil aumenta a viabilidade celular comparado com a tadalafil e vardenafil (Salmasi *et al.*, 2016). Nos estudos, in vivo, submeteram-se os ratos a cirurgia bilateral de prostatectomia e observou-se que o tratamento com sildenafil encapsulado em nanopartículas melhora a função erétil, o que é promovido pelos seus efeitos neuroprotetores. Além do efeito neuroprotetor do sildenafil, esse estudo mostrou a participação do sildenafil na viabilidade celular. Isso leva-nos a pensar que a PDE-5 pode influenciar algum mecanismo de ação que inviabiliza as células em algumas situações, como exemplo hipóxia e citotoxidade. Outro estudo, mostrou a participação da PDE-5 em processos de fibrose. Nesse

estudo submeteram ratos a cirurgia bilateral de prostatectomia e observou-se que os ratos tratados com sildenafil apresentavam menor expressão de mediadores pró-inflamatórios. Além disto foi observado que os ratos tratados com sildenafil, apresentavam maior expressão de mediadores que estimulam a revascularização, o que favorece a oxigenação tecidual, leva a menor comprometimento celular. Esta argumentação envolvendo processos inflamatórios se justifica pelo fato de que a cirurgia de prostatectomia cerca de 20 a 75% dos pacientes desenvolvem DE. Isto está, associado a danos diretos aos nervos cavernosos ou indiretamente, por processos inflamatórios que afetam a capacidade funcional dos nervos (Nelson *et al.*, 2013). Esses estudos levam-nos a imaginar que, possivelmente, o polimorfismo no gene *PDE5A* influencia a atividade da enzima, acarretando aumento dos processos de fibrose e reparo tecidual em processos inflamatórios. Com isso, poderíamos ter dano tecidual maior, prejudicando a resposta do tecido ao sildenafil.

Com base nos estudos e resultados obtidos, imaginamos que o alelo variante "C" do polimorfismo no gene *PDE5A* possa condicionar participação intensificada de processos inflamatórios e reparos teciduais. Além disso, a elevada atividade da enzima pode depletar ou diminuir a concentração de GMPc exageradamente.

Até o momento há poucos estudos associando polimorfismos no gene *PDE5A* com a resposta ao sildenafil, sendo assim uma limitação do estudo. Além disso não há estudos funcionais destes polimorfismos, apenas estudos genéticos de amplo espetro (Vasan *et al.*, 2007), nos quais não encontramos quaisquer informações funcionais relativas aos polimorfismos. Por ser um gene pequeno, a probabilidade de encontrarmos desiquilíbrio ligação é alta. Assim, o polimorfismo rs2389866 pode estar em desiquilíbrio ligação com outro polimorfismo da PDE, e isso influenciar a resposta ao sildenafil. Ademais, com o n amostral relativamente pequeno deste, podemos não ter capturado toda influência destes polimorfismos talvez associadas genótipos raros. Por fim, mesmo ao tentar controlar quase todos os fatores que influenciam na resposta ao sildenafil, não conseguimos controlar todos possíveis fatores, tais como: stress, ansiedade e depressão.

7. CONCLUSÃO

O alelo variante “C” do polimorfismo do gene *PDE5A* rs2389866 está associado a pior resposta ao sildenafil nos pacientes com disfunção erétil. Nossos achados indicando que esta variação genética afeta a resposta ao sildenafil é consistente com a ideia de que variações genéticas contribuem para a resposta ao sildenafil, podendo auxiliar na predição de resposta terapêutica.

8. REFERÊNCIAS

ABDEL-HAMID, I. A.; ANDERSSON, K. E. Pharmacogenetics and pharmacogenomics of sexual dysfunction: current status, gaps and potential applications. **Pharmacogenomics,** v. 10, n. 10, p. 1625-44, Oct 2009. ISSN 1462-2416. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.2217/pgs.09.104 >.

ALLEN, M. S.; WALTER, E. E. Health-Related Lifestyle Factors and Sexual Dysfunction: A Meta-Analysis of Population-Based Research. **J Sex Med,** v. 15, n. 4, p. 458-475, Apr 2018. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.jsxm.2018.02.008 >.

ANDERSSON, K. E. PDE5 inhibitors - pharmacology and clinical applications 20 years after sildenafil discovery. **Br J Pharmacol,** v. 175, n. 13, p. 2554-2565, Jul 2018. ISSN 0007-1188. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/bph.14205 >.

ANDERSSON, K. E.; WAGNER, G. Physiology of penile erection. **Physiol Rev,** v. 75, n. 1, p. 191-236, Jan 1995. ISSN 0031-9333 (Print)0031-9333. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1152/physrev.1995.75.1.191 >.

AZEVEDO, A. M. M. et al. Relationship between asymmetric dimethylarginine, nitrite and genetic polymorphisms: Impact on erectile dysfunction therapy. **Nitric Oxide,** v. 71, p. 44-51, Dec 1 2017. ISSN 1089-8603. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2017.10.006 >.

BENAGIANO, G.; CARRARA, S.; FILIPPI, V. Sex and reproduction: an evolving relationship. **Hum Reprod Update,** v. 16, n. 1, p. 96-107, Jan-Feb 2010. ISSN 1355-4786. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmp028 >.

BERTOLOTTO, M. **Color Doppler US of the Penis**. Springer: 2008. Disponível em: < https://b-ok.cc/fulltext/ >.

BILLUPS, K. L. Sexual dysfunction and cardiovascular disease: integrative concepts and strategies. **Am J Cardiol,** v. 96, n. 12b, p. 57m-61m, Dec 26 2005. ISSN 0002-9149 (Print)0002-9149. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.10.007 >.

BOSCH, R. J. et al. Penile detumescence: characterization of three phases. **J Urol,** v. 146, n. 3, p. 867-71, Sep 1991. ISSN 0022-5347 (Print)0022-5347. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >.

CHIOU, R. K. et al. Hemodynamic patterns of pharmacologically induced erection: evaluation by color Doppler sonography. **J Urol,** v. 159, n. 1, p. 109-12, Jan 1998. ISSN 0022-5347 (Print)0022-5347. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >.

DEAN, R. C.; LUE, T. F. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. **Urol Clin North Am,** v. 32, n. 4, p. 379-95, v, Nov 2005. ISSN 0094-0143 (Print)0094-0143. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.ucl.2005.08.007 >.

DECALUWE, K. et al. Treatment of erectile dysfunction: new targets and strategies from recent research. **Pharmacol Biochem Behav,** v. 121, p. 146-57, Jun 2014. ISSN 0091-3057. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2013.11.024 >.

DEL POZO-JIMENEZ, G. et al. [Anatomy and vascularization on the male urethra and penis]. **Arch Esp Urol,** v. 67, n. 1, p. 5-11, Jan-Feb 2014. ISSN 0004-0614. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >.

EL-SAKKA, A. I.; LUE, T. F. Physiology of penile erection. **ScientificWorldJournal,** v. 4 Suppl 1, p. 128-34, Jun 7 2004. ISSN 1537-744x. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1100/tsw.2004.58 >.

ELLEGREN, H.; GALTIER, N. Determinants of genetic diversity. **Nat Rev Genet,** v. 17, n. 7, p. 422-33, Jul 2016. ISSN 1471-0056. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/nrg.2016.58 >.

FAN, Y. et al. Erectile dysfunction and risk of cardiovascular and all-cause mortality in the general population: a meta-analysis of cohort studies. **World J Urol,** v. 36, n. 10, p. 1681-1689, Oct 2018. ISSN 0724-4983. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/s00345-018-2318-3 >.

GALIE, N. et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. **N Engl J Med,** v. 353, n. 20, p. 2148-57, Nov 17 2005. ISSN 0028-4793. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa050010 >.

GONZÁLES, A. I. et al. Validation of the International Index of Erectile Function (IIFE) for Use in Brazil. **Arq Bras Cardiol,** v. 101, n. 2, p. 176-82, Aug 2013. ISSN 0066-782X (Print)1678-4170 (Electronic). Disponível em: < http://dx.doi.org/10.5935/abc.20130141 >.

HACKETT, G. et al. British Society for Sexual Medicine Guidelines on the Management of Erectile Dysfunction in Men-2017. **J Sex Med,** v. 15, n. 4, p. 430-457, Apr 2018. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.jsxm.2018.01.023 >.

HAHN, W. H.; SUH, J. S.; CHO, B. S. Phosphodiesterase-5 gene (PDE5A) polymorphisms are associated with progression of childhood IgA nephropathy. **Pediatr Nephrol,** v. 25, n. 9, p. 1663-71, Sep 2010. ISSN 1432-198X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20563733 >.

HALE, T. M. et al. Targeting vascular structure for the treatment of sexual dysfunction. **J Sex Med,** v. 6 Suppl 3, p. 210-20, Mar 2009. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1743-6109.2008.01174.x >.

HOEPER, M. M. et al. Treatment of pulmonary hypertension. **Lancet Respir Med,** v. 4, n. 4, p. 323-36, Apr 2016. ISSN 2213-2600. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/s2213-2600(15)00542-1 >.

JACKSON, G. Treatment of erectile dysfunction in patients with cardiovascular disease : guide to drug selection. **Drugs,** v. 64, n. 14, p. 1533-45, 2004. ISSN 0012-6667 (Print)0012-6667. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.2165/00003495-200464140-00003 >.

KELLUM, H. B.; STEPIEN, R. L. Sildenafil citrate therapy in 22 dogs with pulmonary hypertension. **J Vet Intern Med,** v. 21, n. 6, p. 1258-64, Nov-Dec 2007. ISSN 0891-6640 (Print)0891-6640. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1892/07-006.1 >.

KIRILMAZ, U. et al. The effect of lifestyle modification and glycemic control on the efficiency of sildenafil citrate in patients with erectile dysfunction due to type-2 diabetes mellitus. **Aging Male,** v. 18, n. 4, p. 244-8, 2015. ISSN 1368-5538. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.3109/13685538.2015.1072154 >.

KLUGE, M. A.; HAMBURG, N. M. Erectile dysfunction in the trajectory of cardiovascular disease. **Vasc Med,** v. 23, n. 1, p. 21-22, Feb 2018. ISSN 1358-863x. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1177/1358863x17744038 >.

LACCHINI, R. et al. Influence of arginase polymorphisms and arginase levels/activity on the response to erectile dysfunction therapy with sildenafil. **Pharmacogenomics J,** v. 18, n. 2, p. 238-244, Apr 2018. ISSN 1470-269x. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2017.2 >.

_____. nNOS polymorphisms are associated with responsiveness to sildenafil in clinical and postoperative erectile dysfunction. **Pharmacogenomics,** v. 15, n. 6, p. 775-84, Apr 2014. ISSN 1462-2416. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.2217/pgs.14.30 >.

LACCHINI, R.; TANUS-SANTOS, J. E. Pharmacogenetics of erectile dysfunction: navigating into uncharted waters. **Pharmacogenomics,** v. 15, n. 11, p. 1519-38, Aug 2014. ISSN 1462-2416. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.2217/pgs.14.110 >.

LE, T. V.; TSAMBARLIS, P.; HELLSTROM, W. J. G. Pharmacodynamics of the agents used for the treatment of erectile dysfunction. **Expert Opin Drug Metab Toxicol,** v. 15, n. 2, p. 121-131, Feb 2019. ISSN 1742-5255. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1080/17425255.2019.1560421 >.

LEWIS, R. W. et al. Definitions/epidemiology/risk factors for sexual dysfunction. **J Sex Med,** v. 7, n. 4 Pt 2, p. 1598-607, Apr 2010. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1743-6109.2010.01778.x >.

LIN, C. S. Phosphodiesterase type 5 regulation in the penile corpora cavernosa. **J Sex Med,** v. 6 Suppl 3, p. 203-9, Mar 2009. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1743-6109.2008.01179.x >.

LIN, C. S. et al. Expression, distribution and regulation of phosphodiesterase 5. **Curr Pharm Des,** v. 12, n. 27, p. 3439-57, 2006. ISSN 1381-6128. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >.

LOTTI, F.; MAGGI, M. Sexual dysfunction and male infertility. **Nat Rev Urol,** v. 15, n. 5, p. 287-307, May 2018. ISSN 1759-4820. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29532805 >.

LOWSON, S. M. Alternatives to nitric oxide. **Br Med Bull,** v. 70, p. 119-31, 2004. ISSN 0007-1420 (Print)0007-1420. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1093/bmb/ldh028 >.

LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E. NO-synthase independent NO generation in mammals. **Biochem Biophys Res Commun,** v. 396, n. 1, p. 39-45, May 21 2010. ISSN 0006-291x. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.136 >.

LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E.; GLADWIN, M. T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. **Nat Rev Drug Discov,** v. 7, n. 2, p. 156-67, Feb 2008. ISSN 1474-1776. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/nrd2466 >.

MARCHAL-ESCALONA, C. et al. PDE5A Polymorphisms Influence on Sildenafil Treatment Success. **J Sex Med,** v. 13, n. 7, p. 1104-10, Jul 2016. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.jsxm.2016.04.075 >.

MCCABE, M. P. et al. Incidence and Prevalence of Sexual Dysfunction in Women and Men: A Consensus Statement from the Fourth International Consultation on Sexual Medicine 2015. **J Sex Med,** v. 13, n. 2, p. 144-52, Feb 2016. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.jsxm.2015.12.034 >.

MCVARY, K. T. Erectile Dysfunction. **http://dx.doi.org/10.1056/NEJMcp067261**, 2009-10-09 2009. Disponível em: < https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMcp067261 >.

MODESTO, A. A. D.; COUTO, M. T. Erectile Dysfunction in Brazilian Primary Health Care: Dealing with Medicalization. **Am J Mens Health,** v. 12, n. 2, p. 431-440, Mar 2018. ISSN 1557-9883. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1177/1557988317736174 >.

MOREIRA, E. D., JR. et al. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: results from a population-based cohort study in Brazil. **Urology,** v. 61, n. 2, p. 431-6, Feb 2003. ISSN 0090-4295. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >.

NELSON, C. J. et al. Back to baseline: erectile function recovery after radical prostatectomy from the patients' perspective. **J Sex Med,** v. 10, n. 6, p. 1636-43, Jun 2013. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/jsm.12135 >.

PANCHATSHARAM, P. K.; ZITO, P. M. Physiology, Erection. 2018/07/18 2018. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ >.

PRIETO, D. Physiological regulation of penile arteries and veins. **Int J Impot Res,** v. 20, n. 1, p. 17-29, Jan-Feb 2008. ISSN 0955-9930. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/sj.ijir.3901581 >.

RALPH, D. J. Normal erectile function. **Clin Cornerstone,** v. 7, n. 1, p. 13-8, 2005. ISSN 1098-3597 (Print)1873-4480. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >.

ROSEN, R. C. et al. The international index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. **Urology,** v. 49, n. 6, p. 822-30, Jun 1997. ISSN 0090-4295 (Print)0090-4295. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >.

SALMASI, A. et al. Off-Target Effect of Sildenafil on Postsurgical Erectile Dysfunction: Alternate Pathways and Localized Delivery System. **J Sex Med,** v. 13, n. 12, p. 1834-1843, Dec 2016. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.jsxm.2016.10.003 >.

SALVI, F. et al. Cardiovascular effects of sildenafil in hypertensive men with erectile dysfunction and different alleles of the type 5 cGMP-specific phosphodiesterase (PDE5). **Int J Impot Res,** v. 16, n. 5, p. 412-7, Oct 2004. ISSN 0955-9930 (Print)0955-9930. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/sj.ijir.3901246 >.

SHAMLOUL, R.; GHANEM, H. Erectile dysfunction. **Lancet,** v. 381, n. 9861, p. 153-65, Jan 2013. ISSN 1474-547X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23040455 >.

SHIN, D.; PREGENZER, G., JR.; GARDIN, J. M. Erectile dysfunction: a disease marker for cardiovascular disease. **Cardiol Rev,** v. 19, n. 1, p. 5-11, Jan-Feb 2011. ISSN 1061-5377. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1097/CRD.0b013e3181fb7eb8 >.

SIMONSEN, U.; GARCIA-SACRISTAN, A.; PRIETO, D. Penile arteries and erection. **J Vasc Res,** v. 39, n. 4, p. 283-303, Jul-Aug 2002. ISSN 1018-1172 (Print)1018-1172. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1159/000065541 >.

SIRAD, F. et al. Sildenafil promotes smooth muscle preservation and ameliorates fibrosis through modulation of extracellular matrix and tissue growth factor gene expression after bilateral cavernosal nerve resection in the rat. **J Sex Med,** v. 8, n. 4, p. 1048-60, Apr 2011. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1743-6109.2010.02195.x >.

SPERLING, H. et al. Sildenafil response is influenced by the G protein beta 3 subunit GNB3 C825T polymorphism: a pilot study. **J Urol,** v. 169, n. 3, p. 1048-51, Mar 2003. ISSN 0022-5347 (Print)0022-5347. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1097/01.ju.0000058369.72348.ba >.

STERN, J. A. et al. Identification of PDE5A:E90K: a polymorphism in the canine phosphodiesterase 5A gene affecting basal cGMP concentrations of healthy dogs. **J Vet Intern Med,** v. 28, n. 1, p. 78-83, Jan-Feb 2014. ISSN 0891-6640. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/jvim.12256 >.

UEDA, Y. et al. Effect of a phosphodiesterase-5A (PDE5A) gene polymorphism on response to sildenafil therapy in canine pulmonary hypertension. **Sci Rep,** v. 9, n. 1, p. 6899, May 3 2019. ISSN 2045-2322. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-43318-z >.

VASAN, R. S. et al. Genome-wide association of echocardiographic dimensions, brachial artery endothelial function and treadmill exercise responses in the Framingham Heart Study. In: (Ed.). **BMC Med Genet**, v.8, 2007. p.S2. ISBN 1471-2350 (Electronic).

WATTS, G. F.; CHEW, K. K.; STUCKEY, B. G. The erectile-endothelial dysfunction nexus: new opportunities for cardiovascular risk prevention. **Nat Clin Pract Cardiovasc Med,** v. 4, n. 5, p. 263-73, May 2007. ISSN 1743-4297. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/ncpcardio0861 >.

WRIGHT, P. J. Comparison of phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitors. **Int J Clin Pract,** v. 60, n. 8, p. 967-75, Aug 2006. ISSN 1368-5031 (Print)1368-5031. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-1241.2006.01049.x >.

YAFI, F. A. et al. Erectile dysfunction. **Nat Rev Dis Primers,** v. 2, p. 16003, 02 2016. ISSN 2056-676X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27188339 >.

YANG, C. C.; JIANG, X. Clinical autonomic neurophysiology and the male sexual response: an overview. **J Sex Med,** v. 6 Suppl 3, p. 221-8, Mar 2009. ISSN 1743-6095. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1743-6109.2008.01180.x >.

ANEXO I

Questionário Índice Internacional Função Erétil

Número do Prontuário HC:_____Data:_____

Estado Civil/Parceira fixa:_____

Uso de fármaco estimulante da ereção (tipo/resposta):_____

Resposta ao caverjet:_____

Score IIEF: Pré-prostatectomia____ Pós-prostatectomia____ Pré-sildenafil_____ Pós-sildenafil_____

1. Nas últimas quatro semanas, com que frequência você foi capaz de ter uma ereção durante uma relação sexual?	( ) Sem atividade sexual ( ) Quase sempre ou sempre ( ) A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) ( ) Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) ( ) Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) ( ) Quase nunca ou nunca
2. Nas últimas quatro semanas, quando você teve ereções sexuais com estimulação, com que frequência foram suas ereções, duras o suficiente para penetração?	( ) Sem estimulação sexual ( ) Quase sempre ou sempre ( ) A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) ( ) Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) ( ) Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) ( ) Quase nunca ou nunca
3. Nas últimas quatro semanas, quando você tentou ter relação sexual com que frequência foi capaz de penetrar (entrar) na sua parceira?	( ) Não tentei ter relação sexual ( ) Quase sempre ou sempre ( ) A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) ( ) Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) ( ) Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) ( ) Quase nunca ou nunca
4. Nas últimas quatro semanas, durante uma relação sexual com que frequência você foi capaz de manter	( ) Não tentei ter relação sexual ( ) Quase sempre ou sempre ( ) A maioria das vezes (muito mais que a metade das

sua ereção após ter penetrado (entrado) na sua parceira?	vezes) ( ) Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) ( ) Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) ( ) Quase nunca ou nunca
5. Nas últimas quatro semanas, durante uma relação sexual, o quanto foi difícil para você manter sua ereção até o fim da relação?	( ) Não tentei ter relação sexual ( ) Extremamente difícil ( ) Muito difícil ( ) Difícil ( ) Pouco difícil ( ) Não difícil
6. Nas últimas quatro semanas, quantas vezes você tentou ter relação sexual?	( ) Não tentou ( ) 1-2 tentativas ( ) 3-4 tentativas ( ) 5-6 tentativas ( ) 7-10 tentativas ( ) 11 ou mais tentativas
7. Nas últimas quatro semanas, quando você tentou ter relação sexual com que frequência ela foi satisfatória para você?	( ) Não tentei ter relação sexual ( ) Quase sempre ou sempre ( ) A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) ( ) Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) ( ) Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) ( ) Quase nunca ou nunca

8. Nas últimas quatro semanas, o quanto você aproveitou a relação sexual?	( ) Não teve relação sexual ( ) Aproveitou extremamente ( ) Aproveitou muito ( ) Aproveitou um tanto ( ) Aproveitou muito pouco ( ) Não aproveitou
9. Nas últimas quatro semanas, quando você teve estimulação sexual ou relação sexual com qual frequência você teve uma ejaculação?	( ) Não teve estimulação sexual ou relação sexual ( ) Quase sempre ou sempre ( ) A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) ( ) Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) ( ) Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) ( ) Quase nunca ou nunca

10. Nas últimas quatro semanas, quando você teve estimulação sexual ou relação sexual com que frequência você teve a sensação de orgasmo com ou sem ejaculação?	( ) Não teve estimulação sexual ou relação sexual ( ) Quase sempre ou sempre ( ) A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) ( ) Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) ( ) Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) ( ) Quase nunca ou nunca
11. Nas últimas quatro semanas, com que frequência você tem sentido desejo sexual?	( ) Quase sempre ou sempre ( ) Freqüentemente (muito mais que a metade do tempo) ( ) Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo) ( ) Poucas vezes (muito menos que a metade do tempo) ( ) Quase nunca ou nunca
12. Nas últimas quatro semanas, o quanto você consideraria o seu nível de desejo sexual?	( ) Muito alto ( ) Alto ( ) Moderado ( ) Baixo ( ) Muito baixo ou inexistente
13. Nas últimas quatro semanas, de modo geral, o quão satisfeito você tem estado com sua vida sexual?	( ) Muito satisfeito ( ) Moderadamente satisfeito ( ) Igualmente satisfeito e insatisfeito ( ) Moderadamente insatisfeito ( ) Muito insatisfeito
14. Nas últimas quatro semanas, de modo geral, o quão satisfeito você tem estado com o seu relacionamento sexual com a sua parceira?	( ) Muito satisfeito ( ) Moderadamente satisfeito ( ) Igualmente satisfeito e insatisfeito ( ) Moderadamente insatisfeito ( ) Muito insatisfeito
15. Nas últimas quatro semanas, como você consideraria a sua confiança em conseguir ter e manter uma ereção?	( ) Muito alta ( ) Alta ( ) Moderada ( ) Baixa ( ) Muito baixa

ANEXO II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Bases genéticas da disfunção erétil: da resposta ao stress à produção de óxido nítrico”

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo cujos detalhes são:

1) Este projeto pretende estudar seus genes (que transmitem características hereditárias) que podem estar associados a uma maior chance de desenvolver disfunção erétil e podem alterar o sucesso do tratamento. Além disso, pretendemos estudar como seus genes podem modificar as quantidades de algumas substâncias produzidas pelo seu organismo presentes no seu sangue. Isto poderá nos auxiliar no entendimento da disfunção erétil. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), que tem como finalidade proteger eticamente os participantes de pesquisas.

2) Sua participação neste estudo consistirá em: serão retirados 30 mL do seu sangue por punção venosa utilizando técnica adequada. Este volume de sangue é cerca de 20 (vinte) vezes menor do que o volume de sangue habitualmente doado quando um indivíduo doa sangue para bancos de sangue, e equivale a duas colheres de sopa. Este sangue será usado para todos os estudos laboratoriais mencionados acima. Serão feitas entrevistas de até duas horas de duração abordando assuntos relativos ao seu humor, vida sexual, episódios estressantes de seu passado, histórico familiar, entre outros assuntos pertinentes ao projeto. Se você for paciente, dados do seu prontuário do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto serão obtidos citando, por exemplo, nível de glicose sanguínea, medicamentos em uso, ou outras informações clínicas relevantes. Caso você tenha recebido indicação médica para uso de Sildenafil ou outros, repetiremos as entrevistas e coletas de sangue no momento de seu retorno após o tratamento com esse fármaco.

3) Seu material genético (DNA) será coletado, depositado, armazenado em um banco (termo técnico: biorrepositório) por até dez anos sob responsabilidade do coordenador do projeto. Após este período seu material genético poderá ser destruído. A qualquer momento você pode solicitar que suas amostras biológicas sejam devolvidas ou destruídas. O uso deste material será com fins unicamente de pesquisa relacionada à análise das informações genéticas contidas na amostra. Estudos futuros serão realizados

mediante sua aprovação e análise do novo projeto pelo CEP. Em caso de não conseguirmos entrar em contato o CEP poderá decidir pelo uso das suas amostras em estudos futuros.

4) Você tem garantido o conhecimento dos resultados obtidos com a utilização do seu material biológico e às orientações quanto as suas implicações, incluindo aconselhamento genético quando aplicável, a qualquer tempo.

5) Você tem direito à indenização caso ocorra dano decorrente de sua participação na pesquisa por parte do pesquisador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa. Além disso, você terá direito a ressarcimento financeiro caso ocorram gastos gerados exclusivamente pela sua participação como voluntário desta pesquisa, tendo como exemplo o transporte e alimentação, estendendo-se ao paciente e acompanhante, conforme as leis vigentes no país.

6) Os riscos físicos decorrentes da pesquisa são apenas os causados pela coleta de sangue por punção intravenosa. Pode ocorrer dor e formação de hematoma no local da punção. Se isto ocorrer, a equipe está orientada a aguardar sua absorção espontânea e utilizar compressas frias para amenizar a dor local. Além disto, há o risco de gerar tristeza e/ou ansiedade devido a perguntas de caráter pessoal contidas nos instrumentos de avaliações usados. Neste caso será oferecido apoio pela equipe envolvida na coleta, e se isto não for suficiente, entraremos em contato com a equipe médica. O paciente/voluntário que venha participar dessa pesquisa, caso tenha algum dano decorrente da pesquisa, não abre mão dos seus direitos de indenização de acordo com as leis vigentes no país.

7) NÓS NÃO PODEMOS E NÃO GARANTIREMOS QUE VOCÊ RECEBERÁ QUALQUER BENEFÍCIO DIRETO DESTE ESTUDO.

8) Indiretamente, acreditamos que este estudo trará como benefício um entendimento dos aspectos hereditários da disfunção erétil e seu tratamento.

9) Qualquer dado que possa ser publicado posteriormente em revistas científicas, não revelará a sua identidade. Entretanto, órgãos governamentais ligados à saúde podem solicitar informações a respeito da pesquisa e identidade dos voluntários nela envolvidos.

10) Você pode retirar o seu consentimento para participar deste estudo a qualquer momento, inclusive sem justificativas e sem qualquer prejuízo para você.

11) Você terá a garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida a respeito dos procedimentos, riscos, benefícios e de outras situações relacionadas com a pesquisa e o procedimento a que será submetido. Qualquer questão a respeito do estudo ou de sua saúde deve ser dirigida ao Prof. Dr. Riccardo Lacchini (EERP) e ao Prof. Dr. Sílvio Tucci Júnior (FMRP). O telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da EERP é 16-3315-3386 (horário de funcionamento de segunda à sexta, das 8h às 17h) e o endereço é: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Avenida dos Bandeirantes, 3900, Campus Universitário - Bairro Monte Alegre, Ribeirão Preto - SP – Brasil, CEP: 14040-902.

Eu, _____, abaixo assinado, declaro que em ____/____/____ fui informado em detalhes pelo pesquisador responsável sobre os objetivos da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido, aos riscos e benefícios, à forma de ressarcimento no caso de eventuais despesas, bem como à indenização quanto por danos decorrentes da pesquisa. Declaro que tenho pleno conhecimento dos direitos e das condições que me foram asseguradas e acima relacionadas. Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade de participar do referido projeto.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

_____ _____

Assinatura do voluntário Assinatura do investigador/testemunha

Responsáveis: Prof. Dr. Riccardo Lacchini (FMRP-USP) (0xx16 3315 3447) e Prof. Dr. Silvio Tucci Júnior (FMRP-USP) (0xx16)