

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

ALINE ESPOSITO

Análise dos polimorfismos rs266729 e rs1501299 e dos níveis de adiponectina em homens com disfunção erétil e sua associação com a resposta ao tratamento com sildenafil

Ribeirão Preto

2023

ALINE ESPOSITO

VERSÃO ORIGINAL

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Linha de pesquisa: Farmacogenética

Orientador: Prof. Dr. Riccardo Lacchini

Ribeirão Preto

2023

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

Preparada pela Biblioteca Central do Campus Administrativo de Ribeirão Preto/USP

Esposito, Aline

Análise dos polimorfismos rs266729 e rs1501299 e dos níveis de adiponectina em homens com disfunção erétil e sua associação com a reposta ao tratamento com sildenafil, 2023.

P114.: il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Lacchini, Riccardo

1.Farmacologia. 2.Genética. 3. Farmacogenética. 4.Fisiopatologia.
5.Metabolismo.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Aline Esposito

Título: Análise dos polimorfismos rs266729 e rs1501299 e dos níveis de adiponectina em homens com disfunção erétil e sua associação com a resposta ao tratamento com sildenafil

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Farmacologia

Aprovado em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr.:

Instituição:

Assinatura: _____

Prof. Dr.:

Instituição:

Assinatura: _____

Prof. Dr.:

Instituição:

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Obrigada pelo apoio financeiro a essa pesquisa e a ciência no Brasil.

Gostaria de agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Riccardo Lacchini por aceitar a minha orientação e por me auxiliar durante o mestrado, por toda paciência e ensinamentos transmitidos.

Agradeço também a minha banca, tanto de qualificação quanto de defesa, obrigada por colaborarem com o meu trabalho.

Agradecimento em especial a minha família pelo suporte e cuidado durante minha estadia em Ribeirão Preto, principalmente aos meus pais Ana Cavalheiro e Ademir Esposito que sempre foram o meu “ socorro ” nos dias mais difíceis.

Deixo o meu agradecimento aos meus amigos de laboratório que se tornaram minha família, obrigada pela gentileza ao me acolher, pela paciência ao ensinar. Mas meu agradecimento mais sincero fica a minha amiga Sandra Conde Tella que me acolheu como parte da sua família, com cuidado, amor e carinho sempre me aconselhou, mas também me corrigiu nos erros. Uma pessoa de caráter excepcional com muita humanidade e ombridade, e por fim, um exemplo de profissional.

Á um casal de amigos de longa data: Dra. Maria Tereza e Dr. Laurentino, como sempre deixo meu mais sincero agradecimento por todo o suporte e carinho que sempre tiveram comigo e principalmente pelos incentivos nos estudos.

Por fim, mas com toda certeza o mais importante: a Deus, pela sua graça e por ser meu refúgio nos dias mais difíceis, pela sua palavra de amor, justiça e verdade que sempre me ajuda a ver o melhor nas pessoas.

“Qualquer resolução ou decisão que você toma hoje precisa ser refeita amanhã e no dia seguinte e no outro e assim por diante. Se você der continuidade ao processo de tomar essa decisão a cada manhã e a mantiver ao longo do dia, em uma certa manhã você finalmente vai acordar diferente em um mundo diferente e vai se perguntar o que aconteceu com você e com o mundo em que você vivia”

Citação do livro: “The common denominator of success “de Albert Gray.

RESUMO

ESPOSITO A. Análise dos polimorfismos rs266729 e rs1501299 e dos níveis de adiponectina em homens com disfunção erétil e sua associação com a resposta ao tratamento com sildenafil 2023, Dissertação (Mestrado em farmacologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

A Disfunção erétil (DE) é definida pela como a incapacidade consistente ou recorrente de atingir e / ou manter uma ereção peniana suficiente para a satisfação sexual. Alterações na produção de NO pelas fibras NANC ou por uma disfunção do endotélio podem levar a problemas na resposta a estímulos eréteis. O comprometimento da função endotelial é um fator em comum entre diversas doenças e a DE, como as doenças cardiovasculares, obesidade e a diabetes. A adiponectina importante mediador no processo de manutenção do NO. Estudos atuais demonstram a alteração dos níveis plasmáticos de adiponectina em várias doenças comorbidas com DE como a obesidade. Além disso, polimorfismos genéticos podem levar a alterações nos níveis plasmáticos de adiponectina. Esse trabalho teve como objetivo analisar a associação dos polimorfismos da adiponectina rs266729 e rs1501299 com a disfunção erétil, resposta ao sildenafil e marcadores plasmáticos relacionados à função erétil. Este estudo possui duas vertentes um estudo caso-controle e outro apenas com os pacientes em uso de sildenafil, avaliando a resposta a esse fármaco. A função erétil dos voluntários e pacientes desta pesquisa foi avaliada através da escala Índice Internacional de Função Erétil (IIEF). Os genótipos de ambos os polimorfismos foram obtidos por PCR em tempo real e a quantificação da adiponectina plasmática por *ELISA*. No estudo caso controle os resultados principais mostram níveis plasmáticos mais altos de adiponectina no grupo paciente e uma correlação negativa significativa entre os níveis de adiponectina e nitrito. Na segunda vertente do estudo o resultado principal foi a associação do genótipo CC do rs1501299 no grupo DEPP com menores níveis de adiponectina enquanto que os portadores dos genótipos CG+GG apresentaram maiores níveis de adiponectina. Além disso, pacientes com DEC portadores dos genótipos variantes de rs266729 e de rs1501299 tiveram uma pior resposta ao Sildenafil quando comparados aos portadores de genótipos ancestrais. Pacientes com DEPP portadores de genótipos variantes de rs1501299 tiveram piores respostas ao Sildenafil. Concluímos que há associação dos níveis de Adiponectina com DE, há correlação entre níveis de adiponectina e marcador do óxido nítrico, mas não em resposta ao sildenafil e polimorfismos genéticos se associaram a risco para DE e resposta ao sildenafil.

Palavras chave: Adiponectina, Adipocina, Disfunção erétil, Polimorfismos genéticos

ABSTRACT

ESPOSITO A. **Analysis of the rs266729 and rs1501299 polymorphisms and adiponectin levels in men with erectile dysfunction and their association with the response to treatment with sildenafil** 2023, Dissertação (Master in pharmacology) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Erectile Dysfunction (ED) is defined as the consistent or recurrent inability to achieve and/or maintain a penile erection sufficient for sexual satisfaction. Alterations in nitric oxide (NO) production by NANC fibers or by endothelial dysfunction can lead to problems in response to erectile stimuli. Compromised endothelial function is a common factor between several diseases and ED, such as cardiovascular disease, obesity and diabetes. Adiponectin is an important mediator in the maintenance process of NO. Current studies have shown the alteration of plasma levels of adiponectin in several diseases comorbid with ED such as obesity. Besides, genetic polymorphisms can lead to changes in plasma levels of adiponectin. This study aimed at analyzing the association of adiponectin polymorphisms rs266729 and rs1501299 with erectile dysfunction, response to sildenafil and plasma markers related to erectile function. This study has two arms, a case-control study and another with only patients using sildenafil, evaluating the response to this drug. The erectile function of volunteers and patients in this research was evaluated using the International Index of Erectile Function (IIEF) scale. Genotypes of both polymorphisms were obtained by real-time PCR and quantification of plasma adiponectin by ELISA. In the case-control study the main results show higher plasma levels of adiponectin in the patient group and a negative correlation between adiponectin and nitrite levels. At the second arm of the study, the main result was the association of the rs1501299 CC genotype in the DEPP group with lower levels of adiponectin, while the carriers of the CG+GG genotypes had higher levels of adiponectin. Besides that, patients with clinical ED carriers of variants of rs266729 and rs1501299 polymorphisms shown worse responses to Sildenafil when compared to wild-type carriers. Patients with post-prostatectomy ED carriers of variants of rs1501299 had worse responses to Sildenafil. We conclude that there is association between Adiponectin levels and ED, there is a correlation between adiponectin levels and a marker of NO, but not in response to sildenafil, and genetic polymorphisms associated to ED risk and Sildenafil responsiveness.

Keywords: Adiponectin, Adipokine, Erectile Dysfunction, Genetic polymorphisms

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Correlação entre os níveis de adiponectina e nitrito no plasma nos grupos controles e DE	40
Figura 2 – Correlação entre a função erétil (pontuação IIEF) e os níveis de adiponectina ou nitrito no plasma em controles e grupos de ED.....	41
Figura 3 – Score FE vs genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> no grupo pacientes	45
Figura 4 – Score FE vs haplótipos do gene da <i>ADIPOQ</i> no grupo pacientes	46
Figura 5 – Adiponectina vs genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> no grupo pacientes.	49
Figura 6 – Adiponectina vs haplótipos do gene <i>ADIPOQ</i> no grupo pacientes	50
Figura 7 – Nitrito vs genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> no grupo Pacientes	53
Figura 8 – Nitrito vs haplótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> no grupo Pacientes	53
Figura 9 – Correlação entre os três parâmetros da resposta ao sildenafil e os níveis de adiponectina grupos DEPP e DEC	64
Figura 10 – Associação dos genótipos do SNP rs1501299 com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEPP	65
Figura 11 – Associação dos genótipos do SNP rs266729 com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEPP	66
Figura 12 –Associação dos genótipos do SNP rs1501299 com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEC	67
Figura 13 –Associação dos genótipos do SNP rs266729 com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEC	68
Figura 14 –Associação dos haplótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEPP e DEC	69
Figura 15 – Adiponectina vs genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> no grupo DEPP...80	
Figura 16 – Adiponectina vs genótipos dos SNP da <i>ADIPOQ</i> no grupo DEC	82
Figura 17 – Adiponectina vs haplótipos do gene <i>ADIPOQ</i> no grupo DEPP e DEC.....	84
Figura 18 – Nitrito vs genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> no grupo DEPP.....	87

Figura 19– Nitrito vs genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* no grupo EDC88

Figura 20– Nitrito vs haplótipos do gene *ADIPOQ* no grupo DEPP e DEC89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação do grau de DE segundo a pontuação no domínio função erétil do questionário IIEF	20
Tabela 2 – Características clínicas e laboratoriais dos grupos estudados.....	39
Tabela 3 – Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> entre os grupos controles e pacientes (DE)	43
Tabela 4 – Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos haplótipos do gene <i>ADIPOQ</i> entre os grupos controles e pacientes.....	44
Tabela 5 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de score FE no grupo pacientes.....	47
Tabela 6 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos do gene <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de score FE no grupo pacientes	48
Tabela 7 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de adiponectina no grupo pacientes	51
Tabela 8 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos do gene <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de adiponectina no grupo pacientes	52
Tabela 9 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo pacientes.....	54
Tabela 10 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos do gene <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de nitrito nos grupos pacientes.....	55
Tabela 11 –Características clínicas e laboratoriais dos grupos DEPP e DEC.....	58
Tabela 12 – Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) no grupo DEPP	59

Tabela 13 – Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) no grupo DEC	60
Tabela 14 – Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos haplótipos do gene <i>ADIPOQ</i> entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) no grupo DEPP	61
Tabela 15 – Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos haplótipos do gene <i>ADIPOQ</i> entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) no grupo DEC	62
Tabela 16 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de Δ IIEF no grupo DEPP	71
Tabela 17 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP da <i>ADIPOQ</i> sobre a MRP pós tratamento no grupo DEPP	72
Tabela 18 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de IIEF pós tratamento no grupo DEPP	73
Tabela 19 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de Δ IIEF no grupo DEC	74
Tabela 20 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de MRP% no grupo DEC.....	75
Tabela 21 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores do IIEF pós tratamento no grupo DEC	76
Tabela 22 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos dos SNP da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de Δ IIEF, MRP% e IIEF pós-tratamento no grupo DEPP	77
Tabela 23 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos dos SNP da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de Δ IIEF, MRP% e IIEF pós-tratamento no grupo DEC.....	78

Tabela 24 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de adiponectina no grupo DEPP	81
Tabela 25 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de adiponectina no grupo DEC	83
Tabela 26 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos Haplótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de Adiponectina no grupo DEPP	85
Tabela 27 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos Haplótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de Adiponectina no grupo DEC	86
Tabela 28 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo DEPP90	
Tabela 29 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo DEC .	91
Tabela 30 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos Haplótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo DEPP92	
Tabela 31 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos Haplótipos dos SNP do gene da <i>ADIPOQ</i> sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo DEC .	93

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADIPOQ**– gene da adiponectina
- AdipoR1**– receptor da adiponectina tipo 1
- AdipoR2**– receptor da adiponectina tipo 2
- APPL1**– *adaptor protein, phosphotyrosine interacting with PH domain and leucine zipper 1*
- BR**- Bons respondedores
- DCV** – doenças cardiovasculares
- DE** – disfunção erétil
- DEC** – disfunção erétil clínica
- DEPP** – disfunção erétil pós prostatectomia
- DM** – Diabetes mellitus
- DNA** – ácido desoxirribonucleico
- EDTA** – ácido etileno diamino tetra acético
- eNOS** – enzima óxido nítrico sintase endotelial
- FE** – função erétil
- GMPc** – guanosina monofosfato cíclico
- HCFMRP** – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
- HDL** – lipoproteína de alta densidade
- HMW** multímero de alto peso molecular
- Hsp90**– *heat shock protein of 90 kDa*
- IC** – Intervalo de confiança
- IIEF** – *International Index for Erectile Function*
- iNOS** – enzima óxido nítrico sintase induzível
- iPDE-5** – Inibidores da fosfodiesterase tipo 5
- IMC**–Índice de massa corporal
- LD** – *Linkage Disequilibrium*
- LDL** – lipoproteína de baixa densidade
- LMW**–trímero de baixo peso molecular
- MAF** – *minor allele frequency*
- MAF**– *Minor Alele Frequency*
- MMW**–hexâmero de médio peso molecular
- MR**- Maus respondedores
- MRP** – máximo respondedor possível
- NANC** – fibras não-adrenérgicas não-colinérgicas
- nNOS** – enzima óxido nítrico sintase neuronal
- NO** – óxido nítrico
- NOS** – enzima óxido nítrico sintase
- OR** – *odds ratio*

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PPAR γ - receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama

PRMTs – *protein arginine methyltransferases*

score FE – pontuação no domínio função erétil do IIEF

SNP – *single nucleotide polymorphism*

Teste χ^2 – teste do qui quadrado

TNF- α - fator de necrose tumoral

TZDs– peroxissoma tiazolidinedionas

VNTR - *Variable Number of Tandem Repeats*

Δ IIEF – diferença entre as pontuações pré e pós-tratamento com sildenafil no IIEF

Δ IIEF% – percentagem da máxima resposta possível atingida pelo paciente

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	18
	<i>1.1 Definição e aspectos epidemiológicos da DE</i>	<i>18</i>
	<i>1.2 Índice Internacional de Função Erétil (IIEF)</i>	<i>19</i>
	1.3 Fisiologia e fisiopatologia da DE	20
	<i>1.3.1 Fisiopatologia da DE</i>	<i>22</i>
	<i>1.4 Adipocina: Adiponectina.....</i>	<i>23</i>
	<i>1.3.1 Polimorfismos da Adiponectina</i>	<i>26</i>
	<i>1.4 Tratamento para a DE</i>	<i>28</i>
2	HIPOTESE.....	30
3	OBJETIVO	31
	<i>3.1 Objetivo Geral.....</i>	<i>31</i>
	<i>3.2 Objetivo Especifico.....</i>	<i>31</i>
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
	<i>4.1 Seleção dos participantes</i>	<i>32</i>
	<i>4.2 Avaliação da função erétil e da resposta ao tratamento com sildenafil</i>	<i>33</i>
	<i>4.3 Análises laboratoriais.....</i>	<i>34</i>
	<i>4.4 Genotipagens</i>	<i>35</i>
	<i>4.5 Quantificação de nitrito</i>	<i>35</i>
	<i>4.6 Quantificação da adiponectina.....</i>	<i>36</i>
	<i>4.7 Análises estatísticas.....</i>	<i>36</i>
5	RESULTADOS	38
	<i>5.1 Resultados: primeira vertente estudo caso-controle</i>	<i>38</i>
	<i>5.2 Resultados: segunda vertente resposta ao tratamento com sildenafil.....</i>	<i>56</i>
6	DISCUSSÃO	94

7	FORTALEZA E LIMITAÇÕES DO ESTUDO	100
8	CONCLUSÕES.....	101
9	REFERÊNCIAS.....	102
10	ANEXOS	107

1. INTRODUÇÃO

1.1 Definição e aspectos epidemiológicos da DE

A disfunção erétil (DE) é definida pela Quarta Consulta Internacional de Medicina Sexual como a incapacidade consistente ou recorrente de atingir e / ou manter uma ereção peniana suficiente para a satisfação sexual (McCabe et al. 2016).

No Brasil a prevalência de DE é de 37,2 % para homens com idade igual ou superior a 18 anos, já na Itália a prevalência para esse mesmo grupo de homens é de 48,6 %. Entre o subconjunto de homens com 40 a 70 anos, a prevalência aumenta para 42,1 % no Brasil e 52,2% na Itália, visto que a idade é um importante fator para o desenvolvimento da DE (Goldstein et al. 2020). Estima-se que a prevalência de DE irá aumentar globalmente atingindo 322 milhões de casos até 2025 (Ayta, McKinlay and Krane 1999).

Os fatores de risco para o desenvolvimento de DE incluem: idade, tabagismo, obesidade, estilo de vida sedentário e uso excessivo de álcool (Goldstein et al. 2020). Pacientes com diagnóstico prévio de diabetes mellitus, hipertensão, dislipidemia e depressão também apresentam maior risco de desenvolver DE (Grover et al. 2006). Além disso, o uso de medicamentos como diuréticos, anti-hipertensivos, antidepressivos, entre outros, podem levar ao desenvolvimento de DE (Yafi et al. 2016).

A classificação da DE é feita de acordo com a sua etiologia principal, dividida em DE orgânica, psicogênica e mista. Dentre os tipos de DE a orgânica é a etiologia da maioria dos casos que envolvem causas como endócrinas, vasculares, neurológicas ou induzidas via uso de fármacos.

Estudos populacionais longitudinais demonstram claramente que os fatores de risco cardiovascular, como hipertensão, dislipidemia, obesidade e resistência à insulina, também são

os principais fatores de risco para DE vasculogênica (Grover et al. 2006). Além disso, dados recentes sugerem que o agrupamento desses fatores, como ocorre em pacientes com síndrome metabólica, aumenta ainda mais o risco para o desenvolvimento de DE (Jackson 2006, Heidler et al. 2007)

Os fatores de risco mencionados acima se conectam ao processo de disfunção erétil especialmente ao considerarmos uma disfunção do endotélio de vasos penianos e do tecido muscular liso cavernoso, levando a alterações funcionais e estruturais nas artérias cavernosas. De fato, estudos clínicos e epidemiológicos suportam uma associação entre síndrome metabólica e disfunção erétil (Esposito et al. 2005, Jackson 2006, Kupelian et al. 2006, Heidler et al. 2007)

A síndrome metabólica e o aumento da relação cintura-quadril foram associados a uma frequência maior de disfunção erétil moderada a grave em homens com mais de 50 anos (Heidler et al. 2007). Por outro lado, a DE pode ser preditiva da presença de síndrome metabólica em homens com índice de massa corporal (IMC) $<25 \text{ kg/m}^2$ (Esposito et al. 2005). Esta descoberta interessante sugere que a disfunção erétil pode ser um sinal de alerta de risco cardiovascular futuro em homens que hoje são considerados de baixo risco cardiovascular.

1.2 Índice Internacional de Função Erétil (IIEF)

Os questionários sintomáticos de auto-resposta são amplamente utilizados na avaliação da função sexual masculina e o Índice Internacional de Função Erétil (do inglês: *International Index of Erectile Function-IIEF*), é o mais utilizado (Gonzáles et al. 2013). Esse questionário possibilita classificar a gravidade da disfunção erétil e monitorar a eficácia do tratamento (Gonzáles et al. 2013). Composto por 15 questões divididas em 5 categorias da função sexual, sendo elas: Função Erétil, Função Orgásmica, Desejo Sexual, Satisfação no Intercurso e Satisfação Global, de acordo com a pontuação do homem no IIEF a DE é

classificada de acordo com o grau em severa, moderada, leve para moderada, leve e sem disfunção erétil (Rosen et al. 1997, Gonzáles et al. 2013). Atualmente o IIEF está validado em 32 línguas, foi utilizado como objetivo primário em mais de 50 estudos clínicos e é aceito como um instrumento válido e confiável para a avaliação da função sexual masculina (Rosen, Cappelleri and Gendrano 2002)

A partir do domínio Função Erétil do IIEF, classificou-se a DE em cinco categorias diferentes, com pontuação de 06 a 30, conforme mostrado na tabela abaixo

Tabela 1- Classificação do grau de DE segundo a pontuação no domínio função erétil do questionário IIEF

Categoria	Pontuação
Severa	6 a 10
Moderada	11 a 16
Leve para moderada	17 a 21
Leve	21 a 25
Sem disfunção erétil	26 a 30

DE: disfunção erétil; IIEF: índice internacional de função erétil. Adaptado de Gonzáles et al. (2013)

1.3 Fisiologia e fisiopatologia da DE

A ereção ocorre em resposta a estímulos sexuais (estímulos visuais, auditivos, olfativos ou táteis). Diversas ações simultâneas deve ocorrer para que haja a ereção peniana por exemplo, aumento do fluxo sanguíneo arterial para dentro dos corpos cavernosos, diminuição do fluxo sanguíneo venoso para fora dos corpos cavernosos, liberação de agentes

vasodilatadores, relaxamento das células musculares lisas dos corpos cavernosos, entre outros (McKenna 1998).

O Óxido Nítrico (NO) é o fator de destaque no processo citado acima, atua como neurotransmissor em nervos que inervam a parede vascular e no músculo liso no trato vascular (Toda and Okamura 1990). A produção do NO via L-arginina através da ação de uma enzima chamada NO sintase, há três isoformas dessa enzima, chamadas de endotelial (eNOS), neuronal (nNOS) e induzível (iNOS) (Lee et al. 2007).

Os estímulos sexuais levam a liberação do óxido nítrico (NO) pelas fibras nervosas não adrenérgicas e não colinérgicas (NANC), essas fibras produzem NO pela atividade da NO sintase neuronal (nNOS). O NO ao entrar na célula muscular lisa ativa a guanilato ciclase solúvel, o que leva ao aumento da concentração de guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e a diminuição dos níveis intracelulares de Ca^{2+} , resultando no relaxamento das células musculares lisas do corpo cavernoso bem como a vasodilatação das artérias aferentes do pênis (Ignarro et al. 1987). O aumento do volume sanguíneo gera uma tensão de cisalhamento nas células endoteliais dos vasos e nas cavidades sinusóides, ativando a NO sintase endotelial (eNOS), causando a produção de NO derivado do endotélio. À medida que o músculo liso relaxa, o sangue é capaz de preencher os espaços lacunares dos corpos cavernosos, levando à compressão das vênulas subtúnicas, bloqueando assim o fluxo venoso (veno-oclusão) causando o intumescimento do pênis (Bivalacqua et al. 2000). Durante a ereção peniana, a produção de NO é sustentada pela fosforilação da nNOS e da eNOS, porém, sua atividade de produção é mantida mesmo com a ausência de novos estímulos.

Fim desse processo ocorre quando a enzima Fosfodiesterase tipo 5 (PDE-5) (Palit and Eardley 2010). Esta enzima degrada o GMPc, e assim o pênis retorne ao estado de detumescência. Outros mediadores também possuem um papel no processo de fim do estímulo com Noradrenalina e Angiotensina II. (Kifor et al. 1997, Comiter et al. 1997)

1.3.1 Fisiopatologia da DE

A hipertensão e outras doenças como a obesidade podem compartilhar vias fisiopatológicas com a disfunção erétil. O NO tem um papel fundamental no processo de ereção. Estudos demonstram uma associação clara na diminuição da produção do NO e hipertensão devido ao comprometimento na vasodilatação e manutenção dos níveis pressóricos normais (Perticone et al. 2005).

A menor biodisponibilidade do NO, está ligada a menor disponibilidade endógena do seu substrato a L-arginina (Gore et al. 2013, Lüneburg et al. 2012), bem como o sequestro do NO por stress oxidativo, podemos citar também os polimorfismos genéticos e competição das formas metiladas da L-arginina com a L-arginina pela mesma enzima (Burnett et al. 2006, Tain et al. 2010).

Alterações nos níveis de adipocinas também podem alterar a biodisponibilidade do NO uma vez que tônus vascular, a inflamação e a função endotelial agem sobre a regulação das citocinas produzidas pelo tecido adiposo (Giugliano et al. 2004). Somado a isso nem todos casos de DE são semelhantes. De fato, os pacientes com DE. apresentam um estado metabólico

mais complicado, caracterizado por sobrepeso e obesidade e associado à alteração dos hormônios sexuais (Galic, Oakhill and Steinberg 2010, Rondinone 2006). Todos esses fatores tem impacto significativo na modulação dos níveis de adipocinas e consequentemente na função endotelial (Galic et al. 2010, Rondinone 2006).

1.4 Adipocina: Adiponectina

O tecido adiposo foi considerado por muito tempo um tecido inerte, cuja única função seria o armazenamento de triglicerídeos (Rondinone 2006). Atualmente o tecido adiposo é reconhecido como um órgão endócrino capaz de secretar uma variedade de componentes biologicamente ativos (Taylor and Macqueen 2010). Esses produtos foram denominados de adipocinas e incluem: leptina, resistina, adiponectina, visfatina, e um conhecido fator inflamatório, o fator de necrose tumoral (TNF- α), entre outros (Galic et al. 2010, Rondinone 2006).

As adipocinas influenciam uma variedade de processos fisiológicos, por meio de suas ações sobre diferentes vias de sinalizações. Dentre as adipocinas podemos destacar a adiponectina, amplamente estudada por seus efeitos benéficos em diversas doenças.

A adiponectina é produzida e secretada predominantemente pelo tecido adiposo e exerce seus efeitos benéficos em vários tecidos, incluindo coração, fígado, células β pancreáticas, cérebro, ossos, rins, vasos sanguíneos e células imunes (Wang, Ma and Lau 2017). A adiponectina circulante existe em três multímeros oligoméricos principais: um trímero de baixo

peso molecular (LMW), um hexâmero de médio peso molecular (MMW) e um multímero de alto peso molecular (HMW) :. A adiponectina HMW representa a forma biologicamente mais ativa de adiponectina (Wang et al. 2017),

A interação da adiponectina com seus receptores que são acoplados a proteína G (AdipoR1 e AdipoR2), resulta na ativação de múltiplas vias de sinalização, provendo a sensibilização a insulina, efeitos anti-inflamatórios e a antifibróticos (Kershaw and Flier 2004).

Os níveis de adiponectina estão inversamente correlacionados com a massa gorda e a hipoadiponectinemia associada à obesidade pode servir como uma ponte entre a obesidade e os distúrbios cardiovasculares e conseqüentemente a DE. Resultados que sustentam a associação entre hipoadiponectinemia e disfunção endotelial vem crescendo nos últimos anos. Em 2007, (Fésüs et al. 2007) descobriram que aumento concentrações séricas de adiponectina produziram vaso relaxamento da aorta de ratos e artérias mesentéricas de camundongos. Camundongos com deficiência de adiponectina apresentaram vasodilatação dependente do endotélio prejudicada e menor produção de NO (Ouchi et al. 2003, Ouedraogo et al. 2007).

Em humanos, os baixos níveis de adiponectina estão associados a uma menor resposta vasodilatadora em pacientes diabéticos (Ohashi, Ouchi and Matsuzawa 2011, Tan et al. 2004), além disso a administração de adiponectina aumenta a produção de NO em células endoteliais aórticas (Tan et al. 2004). Foi postulado que a adiponectina regula a atividade enzimática da sintase endotelial do óxido nítrico (eNOS) e a produção de NO através de uma variedade de

mecanismos, incluindo aumento da estabilidade do mRNA e maior expressão da eNOS.(Wang and Scherer 2008, Fulton et al. 1999). O tratamento com adiponectina globular de células endoteliais da veia umbilical humana resultou em aumento de duas vezes no mRNA da eNOS, principalmente devido ao aumento da estabilidade do mRNA (Hattori et al. 2003).

Além disso, foi demonstrado que a adiponectina, por meio de um mecanismo dependente de fosfatidilinositol 3-quinase, estimula a fosforilação da eNOS em Ser1179, aumentando a atividade enzimática da eNOS. A AMPK pode mediar a fosforilação a jusante da sinalização da adiponectina (Wang and Scherer 2008). O efeito estimulatório da adiponectina na eNOS também depende de APPL1, uma molécula adaptadora com um domínio de homologia pleckstrina e um domínio de ligação de fosfotirosina que interage com o fragmento intracelular de AdipoR1 (Hattori et al. 2003). O nocaute de APPL1 reduz significativamente a produção de NO(Cheng et al. 2016).

O tratamento com adiponectina pode regular a localização subcelular e a atividade enzimática da eNOS. Em estado de repouso, a eNOS está associada à caveolina-1 em estruturas de Jangadas lipídicas. A estimulação pela adiponectina aumenta a liberação de cálcio e a dissociação da eNOS. Posteriormente, a eNOS é fosforilada por quinases em um processo mediado por Hsp90. Esta por sua vez leva a ativação contínua de eNOS após a liberação de cálcio (Wang and Scherer 2008).

Como demonstrado acima há um robusto corpo de evidências relacionando a adiponectina e NO (Hong et al. 2010). Considerando que polimorfismos em genes relacionados ao NO impactam na biodisponibilidade do NO, e considerando que esses polimorfismos também estão associados a diversas doenças (Esposito, Cotta Filho and Lacchini 2022), é razoável imaginar que polimorfismos da adiponectina possam se associar tanto ao risco quanto à resposta ao tratamento para disfunção erétil.

1.3.1 Polimorfismos da Adiponectina

Diversos tipos alterações podem ocorrer no ácido desoxirribonucleico (DNA). Quando a frequência da alteração é mais de 1% da população, é denominado de polimorfismos genéticos (Abdel-Hamid and Andersson 2009). Os polimorfismos são herdados e podem persistir em uma população quando não causam alterações graves no que diz respeito ao desenvolvimento, crescimento e reprodução. Uma vez que quando essas variações ocorrem em regiões codificantes, podem levar a alterações na estrutura proteica, alterando função e/ou atividade da proteína, quando presentes em regiões não codificantes, podem ocorrer alterações na regulação da expressão gênica (Abdel-Hamid and Andersson 2009) . Por outro lado, algumas dessas mutações podem conferir vantagens adaptativas sendo selecionadas positivamente e tendem a se tornar polimorfismos após várias gerações de uma população (Hong et al. 2010).

Os *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), ou polimorfismos de base única, são as variações mais comuns. Os diferentes alelos de um locus podem ser chamados ancestral e

variante sendo que o ancestral é quando se sabe o alelo original que sofreu a mutação e o variante novo alelo situado em um determinado locus (Hong et al. 2010). Uma pessoa pode herdar mais de um polimorfismo em um mesmo gene a análise desses polimorfismos em conjunto é denominado de haplótipo (Hong et al. 2010, Abdel-Hamid and Andersson 2009).

O gene da adiponectina (*ADIPOQ*) está localizado no braço longo do cromossomo 3 na posição 27.3 (3q27.3). (Wang and Scherer 2008). Dentre os SNPs mais estudados da *ADIPOQ* nas doenças cardiovasculares, dois têm se mostrado de grande importância: rs266729 (C/A; C/G; C/T), localizado na região promotora, em que a presença do alelo variante tem sido associada à redução na expressão da adiponectina e rs1501299 (C/G), situado na região do íntron 2, que têm efeitos opostos, com regulação positiva dos níveis de adiponectina.(Cunha et al. 2023).

A associação desses polimorfismos com impacto direto nos níveis de adiponectina com polimorfismos na NOS já foi testada em pacientes com hipertensão, além disso novos estudos têm se concentrado na associação de ambos polimorfismos em resposta a fármacos (Cunha et al. 2023, de Faria et al. 2015), mas nenhum avaliou seu envolvimento com inibidores da PDE-5.

1.4 Tratamento para a DE

O Sildenafil, assim como o Tadalafil e Vardenafil são representantes da classe de medicamentos cujo mecanismo de ação se baseia na inibição da Fosfodiesterase tipo 5 (iPDE-5). Inibindo a PDE-5, se aumenta os níveis plasmáticos de GMPc, seguidode desfosforilação de cadeias leves de miosina e consequente amplificação da sinalização para relaxamento da musculatura lisa nos corpos cavernosos mantendo a ereção. Devido a sua seletividade pela PDE-5 dos corpos cavernosos do pênis esses medicamentos tratam a DE sem afetar de maneira significativa a PDE-5 de outros tecidos (Gratzke et al. 2010).

Embora os inibidores da PDE-5 sejam amplamente utilizados para no tratamento da DE, aproximadamente 30% a 35% dos pacientes não respondem a esta terapia (McMahon, Smith and Shabsigh 2006). A maior taxa de eficácia do sildenafil foi obtida em homens com DE e depressão (90%) e homens com lesão da medula espinhal (75 a 88%) (Kendirici et al. 2006).

É importante o estudo de marcadores que acelerem o processo de encontrar a terapia mais adequada para determinado indivíduo há estudos na literatura atual que fornecem evidencias de que as variações genéticas em alvos de drogas, transportadores e moléculas de sinalização podem estar associadas à suscetibilidade e / ou a proteção contra disfunções sexuais, bem como a resposta aos inibidores da PDE-5 (Abdel-Hamid and Andersson 2009).

Devida a relevância da via NO e do GMPc para a DE, bem como, para o seu tratamento, a maioria dos estudos farmacogenéticos sobre DE tem se concentrado nessa via (Muniz et al.

2013, Lacchini et al. 2014). Mas como já mencionado anteriormente outras vias impactam significativamente nesses mesmos mediadores. Sendo assim é plausível supor que polimorfismos nessas vias como da adiponectina podem impactar na DE quando em seu tratamento.

2 HIPOTESE

Formulamos a seguinte hipótese: polimorfismos genéticos estão associados a alteração nas concentrações da adiponectina, a alterações nas concentrações de nitrito (um marcador da produção recente de NO), a alterações no risco para desenvolver DE e com a resposta aos iPDE-5 em pacientes com DE.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

Analisar a associação dos polimorfismos da adiponectina com a disfunção erétil, resposta ao sildenafil e marcadores plasmáticos relacionados à função erétil.

3.2 Objetivo Especifico

3.2.1 Analisar se os diferentes genótipos e haplótipos dos polimorfismos da *ADIPOQ* rs266729 e rs1501299 estão associados ao risco para disfunção erétil.

3.2.2 Analisar se os diferentes genótipos e haplótipos dos polimorfismos da *ADIPOQ* rs266729 e rs1501299 estão associados à resposta ao sildenafil

3.2.3 Avaliar a associação dos genótipos e haplótipos estudados com mudanças nas concentrações de adiponectina e nitrito no plasma dos pacientes com DE

3.2.4 Avaliar se há associação entre parâmetros clínicos de severidade da DE e de resposta ao tratamento do sildenafil com os níveis plasmáticos de adiponectina

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Seleção dos participantes

Para a primeira vertente do estudo caso controle foram selecionados homens com DE clínica e para grupo controle voluntários sem DE e sem vínculo familiar com os pacientes. Para a segunda vertente do trabalho que é a resposta ao tratamento com sildenafil foram selecionados pacientes com DE pós-prostatectomia (DEPP) e com DE clínica (DEC), todos atendidos no Ambulatório de Urologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP), sob a coordenação do Prof. Dr. Sílvio Tucci Junior da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP) e voluntários saudáveis sem vínculo familiar com os pacientes.

As amostras e dados clínicos utilizadas nesse projeto estão contidas em um biorepositório “Bases genéticas da disfunção erétil: da resposta ao stress à produção de óxido nítrico” já aprovado pelo CEP/EERP e com CAAE: 51408515.9.0000.5393, esse projeto foi aceito pelo Comitê de Ética e Pesquisa da escola de enfermagem de ribeirão preto CEP/EERP com CAAE: 47073521.4.0000.5393 (Anexo 3).

Os critérios de inclusão para os homens o grupo paciente nesse trabalho estão elencados a baixo bem como os critérios de inclusão:

INCLUSÃO:

Idade entre 18 e 80 anos; queixas envolvendo a atividade sexual; diagnóstico médico de DE; ter prescrição médica para o uso de sildenafil; e resultado do questionário IIEF com pontuação < 26 no domínio FE.

EXCLUSÃO:

Presença de hipogonadismo; hipotireoidismos; bexiga neurogênica; ejaculação precoce; implantes penianos; acidentes cerebrovasculares; traumas no sistema nervoso central; e anormalidades anatômicas, como a doença de Peyronie. Foram excluídos também pacientes que não usaram pelo menos oito doses sildenafil ou que foram submetidos à prostatectomia radical há menos de um ano do momento de inclusão no estudo

Todos os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)(Anexo 01) e, após a assinatura, foi aplicado o questionário traduzido do IIEF (Anexo 02) e coletado sangue por punção venosa em tubos a vácuo de ácido etileno diamino tetra acético (EDTA), gel e heparina de sódio, utilizando procedimentos adequados, para obtenção de sangue total, soro e plasma, respectivamente. As amostras foram armazenadas em freezers - 20 °C (sangue total) e - 80 °C (leucócitos, soro e plasma).

É importante ressaltar que não interferimos no esquema de diagnóstico dos homens selecionados uma vez que esse trabalho é observacional, qualquer esquema de diagnóstico eram de responsabilidade profissional do Ambulatório de Urologia do HCFMRP.

4.2 Avaliação da função erétil e da resposta ao tratamento com sildenafil

A função erétil dos pacientes foi avaliada pelos scores do domínio FE do questionário IIEF antes e após o tratamento com sildenafil (tratamento por pelo menos 1 mês ou 8 doses). Para avaliação da resposta ao fármaco, sendo o valor máximo de pontuação no domínio FE do IIEF (score IIEF) igual a 30, foram feitos os seguintes cálculos para cada paciente:

1) Delta IIEF (Δ IIEF): diferença entre a pontuação do paciente no IIEF após o tratamento e a pontuação pré-tratamento;

2) Delta IIEF %;

- Consiste de dois cálculos consecutivos: o primeiro para determinar a máxima resposta possível (MRP): $30 - \text{score IIEF pré-tratamento} = \text{MRP}$
- O segundo que normaliza o delta IIEF pelo MRP: $(\Delta\text{IIEF} / \text{MRP}) * 100 = \Delta\text{IIEF}\%$.

3) IIEF pós tratamento; onde se avalia a qualidade da ereção em si pós-tratamento, ou seja, onde se chegou com o tratamento farmacológico.

Para medir as respostas dos pacientes ao tratamento com sildenafil, foi utilizado os valores de ΔIIEF e de $\Delta\text{IIEF}\%$ e IIEF pós tratamento. Nos grupos DEC e DEPP foi aplicada também a divisão dos pacientes de acordo com a mediana dos valores de $\Delta\text{IIEF}\%$: para valores acima da mediana, os homens foram classificados como bons respondedores ao sildenafil (BR); já para valores abaixo da mediana, os homens foram classificados como maus respondedores ao sildenafil (MR). Essa divisão foi realizada com o objetivo de avaliar a qualidade da resposta ao sildenafil.

4.3 Análises laboratoriais

Foi utilizado as amostras de sangue dos pacientes para as análises laboratoriais, através de kits comercialmente disponíveis (Lab Test, Brasil) com técnicas padronizadas para dosagem de lipoproteína de alta densidade (HDL), colesterol total, triglicérides, uréia, creatinina e níveis de glicemia de jejum. A concentração de lipoproteína de baixa densidade foi calculada de acordo com a fórmula Friedwald's.

4.4 Genotipagens

Utilizamos o método salting-out (com purificação com fenol-clorofórmio) para a extração do DNA genômico, a partir de amostras de 500 µL de sangue total. Após a extração as amostras foram quantificadas no espectrofotômetro NanoDrop™ 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc.), e diluídas (quando necessário) a 300 ng/µL e armazenadas em freezer a - 20°C. Partindo das amostras concentradas, foram feitas soluções de DNA a 5 ng/µL para as análises, que foram armazenadas em geladeira.

Os polimorfismos da adiponectina rs266729 e rs1501299 foram genotipados utilizando o ensaio de discriminação alélica TaqMan - todas as reações foram realizadas utilizando técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real no aparelho StepOne Plus (Applied Biosystems).

4.5 Quantificação de nitrito

O nitrito foi quantificado em amostras de plasma heparinizadas, conforme descrito em estudo prévio (Azevedo et al. 2017). Em resumo: 300 µL de amostras de plasma foram injetados em uma câmara preenchida com 8 mL de solução de triiodeto acidificada, a qual é borbulhada por fluxo constante de nitrogênio e conectada a um analisador de óxido nítrico (Sievers 280i Boulder, CO, EUA). O nitrito no plasma reage com a solução de triiodeto formando gás NO, que é transportado pelo fluxo de nitrogênio para uma câmara do aparelho, onde o NO entra em contato com ozônio, gerando uma reação quimioluminescente que é detectada e quantificada pelo analisador.

4.6 Quantificação da adiponectina

A quantificação da adiponectina foi realizado utilizando o plasma, através do método do Ensaio Imunoenzimático do inglês *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. Foi utilizado para a adiponectina o *Kit Human Total Adiponectin/Acrp30 Quantikine ELISA* da marca R&D *Systems*, seguindo as instruções do fabricante. Foi feita a leitura da absorbância 450nm e 540nm (usando o comprimento de onda 540nm como controle interno) em um espectro fotômetro de placa *Multiskan Sky Microplate Spectrophotometer* (Thermo Fisher Scientific). A curva padrão foi preparada com uma curva de diluições de um padrão seguindo as instruções do fabricante.

4.7 Análises estatísticas

A análise estatística não ajustada compreendeu a comparação de variáveis categóricas pelo teste qui-quadrado. Quando uma variável categórica com dois níveis foi comparada a uma variável contínua, foi utilizado o teste t de Student ou o teste de Mann-Whitney (variáveis contínuas paramétricas ou não paramétricas, respectivamente). Quando variáveis categóricas com três ou mais níveis foram comparadas com variáveis contínuas, usamos ANOVA seguida do teste post hoc de Tukey ou Kruskal-Wallis seguido do teste post hoc de Dunn, quando aplicável. As correlações de duas variáveis contínuas foram realizadas pelo teste de correlação de Spearman. Usamos o teste qui-quadrado para testar as distribuições genéticas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Também realizamos modelos estatísticos corrigindo fatores de confusão. Os modelos multivariados foram construídos por uma análise sequencial de cada variável independente,

avaliando se elas estavam associadas a cada variável dependente. Além disso, uma análise bivariada também foi realizada para avaliar a influência potencialmente confundidora de cada variável independente na relação entre genótipos ADIPOQ, haplótipos, níveis de nitrito e adiponectina com variáveis dependentes. Na análise multivariada, as variáveis numéricas não paramétricas foram transformadas. Usamos a transformação logarítmica nos níveis de nitrito e adiponectina e nos escores do IIEF após o sildenafil. Para normalizar os escores Δ IIEF usamos uma equação $x = [\log_{10}(y+1)]$, onde y era o escore Δ IIEF e x é o valor normalizado. Isso foi feito porque vários pacientes não apresentavam alterações antes e após o tratamento e seu escore Δ IIEF era zero, o que impedia a transformação direta de log. Este mesmo procedimento foi realizado para normalizar %MPR. Selecionamos o modelo final com o maior r^2 e o menor erro quadrático médio possível. As variáveis independentes incluídas em todos os modelos finais foram idade, consumo de etanol superior a 30 g por dia, tabagismo, presença de diabetes e hipertensão. Alguns modelos incluíram genótipos, haplótipos ou níveis log-normalizados de Nitrito e adiponectina como variáveis independentes. As variáveis dependentes foram Δ IIEF, %MPR e IIEF normalizados pós-Sildenafil ou níveis log-normalizados de nitrito e adiponectina. Os valores de P foram considerados significativos se $< 0,05$, exceto quando a análise global não foi significativa.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados: primeira vertente estudo caso-controle

A tabela 02 traz dados das características clínicas e laboratoriais do Estudo 1 – Caso-Controle. Ao todo foram 290 participantes estudados, sendo divididos em 160 participantes do grupo Controles, que não tem DE e 130 participantes do grupo Pacientes, que possuem diagnóstico médico de DE. Houve diferença estatística entre os grupos para Idade, tabagismo, níveis de ureia, hipertensão, diabetes, *Score* FE e concentração de adiponectina e de nitrito. Algumas diferenças nos valores de idade, *Score* FE, diabéticos e hipertensos são esperados para o grupo pacientes, já que estas são características clínicas relacionadas à fatores de risco para desenvolvimento de DE ou à função erétil propriamente dita (*Score* FE).

Figuras 01 e 02 mostram as análises bioquímicas dos níveis de adiponectina e nitrito plasmáticos nos grupos pacientes e controles.

Conforme a figura 01 (A), os níveis de adiponectina estavam aumentados no grupo pacientes quando comparados com o grupo controle ($P=0.011$), bem como os níveis de nitrito ($P<0.001$).

Na figura 01 (B) há a correlação entre os níveis de adiponectina e nitrito, os níveis de adiponectina e nitrito estavam negativamente correlacionados no grupo pacientes ($P=0.004$), mas não no grupo controle.

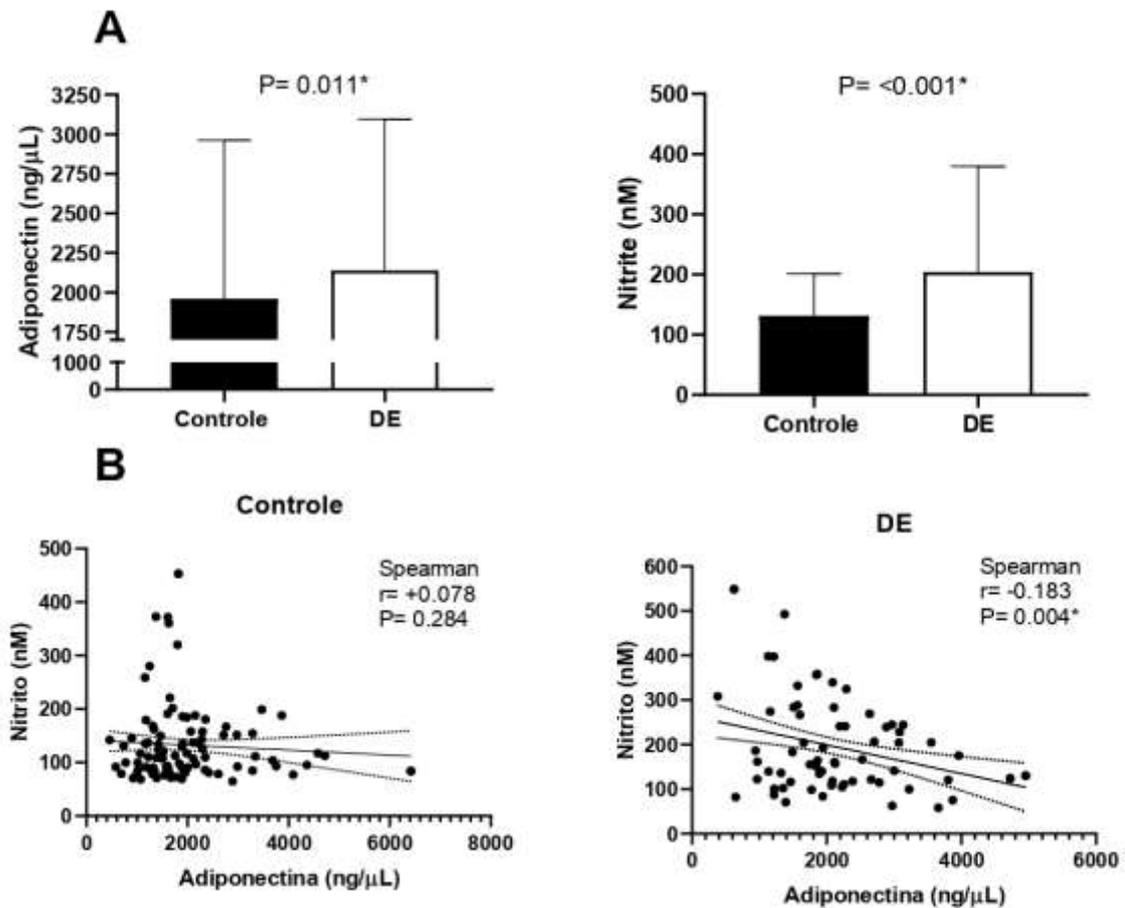
Em seguida foi feita a análise de correlação da pontuação do IIEF e os níveis de adiponectina e nitrito, para ambos os grupos não foram encontrados significância estatística (figura 02).

Tabela 2 – Características clínicas e laboratoriais dos grupos estudados

Características clínicas	Controle (n = 160)	DE (n = 130)
Idade (anos)	50 ± 9	57 ± 8*
Etnia(branco / não branco)	99/59	72/57
IMC (Kg/m ²)	27.8 ± 3.8	28.7 ± 4.8
Tabagismo		
Fumantes (n)	26	15*
Ex-fumantes (n)	90	45
Não- fumantes (n)	43	70
Consumo de etanol (%) ^a	8	4
PAS (mmHg)	130 ± 16	140 ± 15
PAD (mmHg)	90 ± 11	90 ± 10
Colesterol total (mg/dL)	197 ± 37	183 ± 32
HDL colesterol (mg/dL)	33 ± 7	40 ± 7*
LDL Colesterol (mg/dL)	121 ± 29	113 ± 30
Triglicérides (mg/dL)	175 ± 106	114 ± 76
Glicose (mg/dL)	90 ± 40	98 ± 42
Ureia (mg/dL)	37 ± 7	32 ± 9*
Creatina (mg/dL)	1.0 ± 0.3	0.9 ± 0.17
Hipertensão (n)	47	66
Diabetes (n)	17	55*
<i>EF Score</i>	28 ± 4	10 ± 7*
Adiponectina (ng/μL)	1648.4 ± 651.1 (n = 146)	2012.5 ± 734.2 (n = 66) *
Nitrito (nM)	110 ± 47 (n = 104)	157 ± 101 (n = 106) *

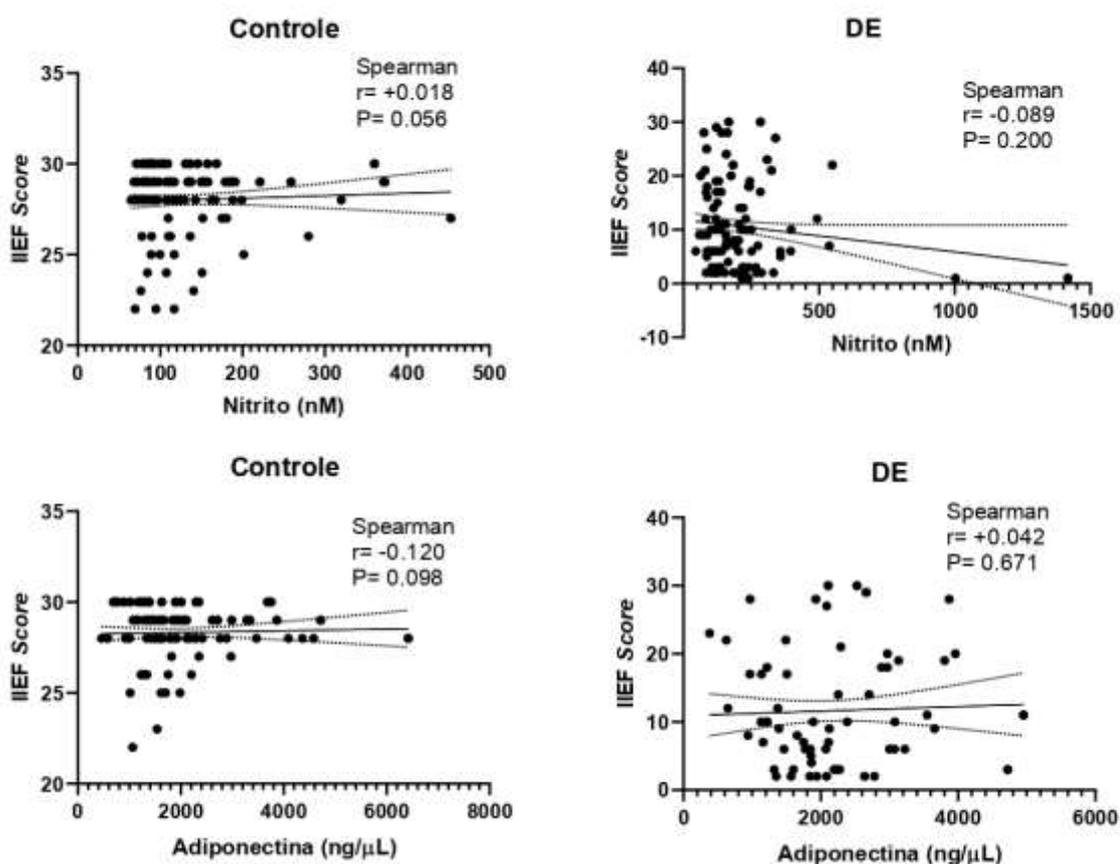
IMC, índice de massa corporal; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; HDL, lipoproteína de alta densidade; LDL, lipoproteína de baixa densidade; *Score* FE, pontuação referente ao domínio função erétil do questionário Índice Internacional de Função Erétil. ^a Consumo de etanol >30 g/dia. Dados expressos como média ± desvio padrão, valores absolutos (n) ou frequências relativas (%). *P <0,05 *versus* Controles

Figura 1– Correlação entre os níveis de adiponectina e nitrito no plasma nos grupos controles e DE



A: Níveis de adiponectina e nitrito no plasma do grupo controle e DE. Valores de concentração plasmática de nitrito e adiponectina expressos como média ± desvio padrão. **B:** Os gráficos de pontos representam dados brutos. Os dados brutos foram analisados pela correlação de Spearman. A linha contínua representa a regressão linear e a linha pontilhada representa o intervalo de confiança de 95%. * P <0,05 significativo.

Figura 2– Correlação entre a função erétil (pontuação IIEF) e os níveis de adiponectina ou nitrito no plasma em controles e grupos de ED



Os gráficos de pontos representam dados brutos. Os dados brutos foram analisados pela correlação de Spearman. A linha contínua representa a regressão linear e a linha pontilhada representa o intervalo de confiança de 95%. * $P < 0,05$ significativo.

As tabelas 03 e 04 mostram, respectivamente, a distribuição de genótipos e haplótipos dos polimorfismos estudados para os grupos controles e pacientes. Os dados estão mostrados em frequências relativas (n) para ambas as análises. Não foram encontradas associações significativas entre os grupos, na análise dos genótipos, mesmo após realizada a análise de regressão logística multivariada. Para as análises dos haplótipos, houve diferença

estatisticamente significativa na distribuição dos haplótipos entre ambos grupos ($P=0.020$). Portadores do haplótipo CA tem maior risco para DE ($P= 0,023$; $OR=1,66$; $IC= 1.08 - 2.53$; Tabela 04), ao passo que portadores do haplótipo GA tiveram menor risco para a DE ($P= <0.001^*$; $OR= 0.10$; $IC= 0.02 - 0.41$) ambas as análises mantiveram a significância após a análise corrigida.

Tabela 3– Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* entre os grupos controles e pacientes (DE)

SNP	Genotipos	Controle (n = 114)	DE (n = 118)	P _{nc}	OR _{nc} (IC)	P _c	OR _c (IC)
<i>ADIPOQ</i>							
rs1501299	CC	61 (0,54)	76(0,65)		1.00 (referência)		1.00 (referência)
	CG	44 (0.39)	37(0.31)	0.207	1.48(0.85 – 2.61)	0.311	0.53 (0.16 – 1.84)
	GG	9 (0.08)	5(0.04)	0.172	2.24 (0.72 – 6.20)	0,795	0.78 (0.11 – 4.77)
		P_{HW} = 0.678	P_{HW} = 0.991		Global P_{nc} = 0.190		Global P_c = 0.149
		Controle (n = 115)	DE (n = 118)				
rs266729	CC	52 (0.45)	44 (0.37)		1,00 (referência)		1,00 (referência)
	CA	46 (0,40)	56 (0,48)	0,256	0,70 (0,40 – 1,23)	0,348	1,59 (0,60 – 4,26)
	AA	17 (0,15)	18 (0,15)	0,700	0,80 (0,36 – 1,77)	0,430	0,58 (0,15 – 2,22)
		P_{HW} = 0,053	P_{HW} = 0,985		Global P_{nc} = 0,441		Global P_c = 0,625

R² = 0,31, SNP, *single nucleotide polymorphism*; 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%; P_{HW}, valor de P do equilíbrio de Hardy-Weinberg, Dados mostrados como n (frequências relativas),

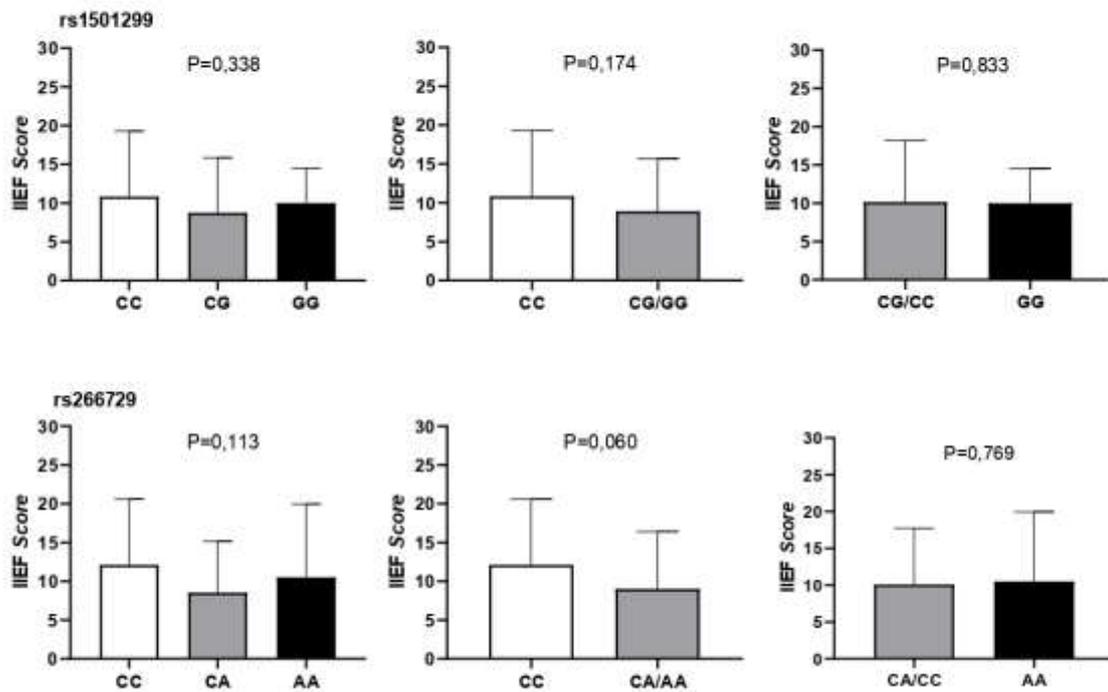
Tabela 4– Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos haplótipos do gene *ADIPOQ* entre os grupos controles e pacientes

SNP	Haplotipo	Controle (n = 228)	ED (n=235)	P _{nc}	OR _{nc} (IC)	P _c	OR _c (IC)
<i>ADIPOQ</i>							
	CC	107 (0,47)	98 (0,42)		1,00 (referência)		1,00 (referência)
	CA	58 (0,25)	88 (0,37)	0,023*	1,66 (1,08 – 2,53)	0,002*	5,01 (1,88 – 15,74)
	GC	42 (0,18)	47 (0,20)	0,449	1,22 (0,75 – 1,99)	0,133	2,39 (0,80 – 8,20)
	GA	21 (0,09)	2 (0,01)	<0,001*	0,10 (0,02 – 0,41)	0,007*	0,04 (0,01 – 0,30)
				Global P_{nc}= <0,001*	Global P_c= 0,020*		

R² = 0,32, SNP, *single nucleotide polymorphism*; 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).

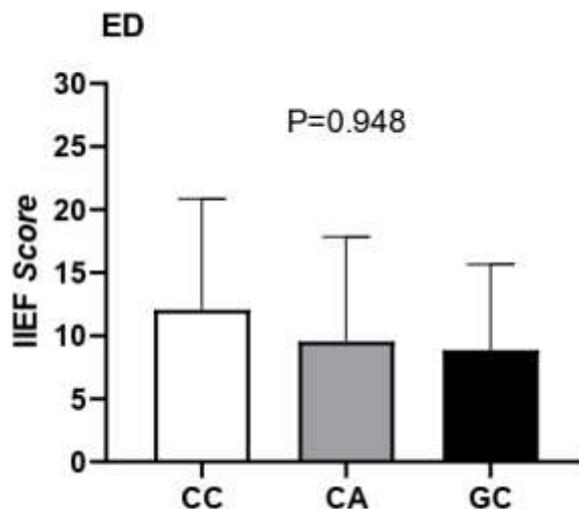
Em seguida avaliamos se os genótipos estão associados a outro parâmetro clínico que caracteriza a DE, a gravidade dos sintomas avaliada pelo IIEF. As figuras 03 e 04 trazem o Score FE associado aos genótipos e haplótipos, respectivamente, dos polimorfismos estudados no grupo Pacientes. Não foram encontradas associações com significância estatística.

Figura 3 – Score FE vs genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* no grupo pacientes



Valos expressos como média ± desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * P <0,05 significativo.

Figura 4– Score FE vs haplótipos do gene da *ADIPOQ* no grupo pacientes



Valores expressos como média \pm desvio padrão, teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's. Haplótipo GA foi excluído da análise por ter frequência <1%. * P <0,05 significativo

As tabelas 05 e 06 mostram, respectivamente, a regressão linear multivariada do efeito dos genótipos e haplótipos sobre os valores do Score FE no grupo Pacientes. Foi observada significância estatística apenas para o rs266729 onde pacientes portadores do genótipo CC apresentaram uma melhor pontuação no Score FE ($P=0.046$; $\beta=+1.59$) enquanto que pacientes portadores dos genótipos tiveram uma pior pontuação CA+AA ($P=0.046$; $\beta=-1.59$). Para os haplótipos não houve significância estatística.

Vale a pena ressaltar que as duas análises apresentadas nas figuras 03 e 04 e nas tabelas 05 e 06 foram realizadas apenas com o grupo Pacientes, por se tratar do grupo que apresenta maior variabilidade dos valores de IIEF, sendo diagnosticados com algum grau de DE. O grupo Controles não tem DE e dessa forma o IIEF se apresenta com uma pequena faixa de variabilidade entre os indivíduos. Nesse sentido fica mais difícil detectar a influência genética sobre o IIEF nos controles.

Tabela 5– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de score FE no grupo pacientes

DE (n= 116) Modelo	Aditivo		Dominante		Recessivo	
	$R^2 = 0,22$ RMSE = 7,30		$R^2 = 0,22$ RMSE = 7,24		$R^2 = 0,17$ RMSE = 7,43	
	β	P	β	P	β	P
Idade (anos)	-0,22	<0,01*	-0,21	<0,01*	-0,24	<0,01*
Tabagismo						
<i>Fumante</i>	-2,34	0,10	-2,43	0,08	-1,95	0,18
<i>Ex-fumantes</i>	-0,03	0,98	+0,04	0,97	-0,40	0,71
<i>Não - fumantes</i>	+2,38	0,02*	+2,40	0,02*	+2,35	0,03*
Diabéticos (sim)	-1,07	0,14	-1,05	0,14	-1,01	0,16
Hipertensos (sim)	-0,64	0,39	-0,67	0,36	-0,86	0,24
Alcoolismo ^a	-0,05	0,98	-0,10	0,96	-0,04	0,98
<i>ADIPOQ</i>						
rs1501299						
CC	-0,12	0,29	+1,43	0,06	-0,48	0,78
CG	-1,39	0,33	-1,43	0,06		
GG	-0,12	0,96			+0,48	0,78
	Global P = 0,198		Global P = 0,057			
rs266729						
CC	+1,96	0,09	+1,59	0,043*	-0,19	0,90
CA	-1,22	0,23	-1,59	0,043*		
AA	-0,74	0,59			+0,19	0,90
	Global P = 0,151		Global P = 0,043*			

R^2 , parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. ^a Consumo de etanol >30 g/dia. * P <0,05 significativo

Tabela 6– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos do gene *ADIPOQ* sobre os valores de score FE no grupo pacientes

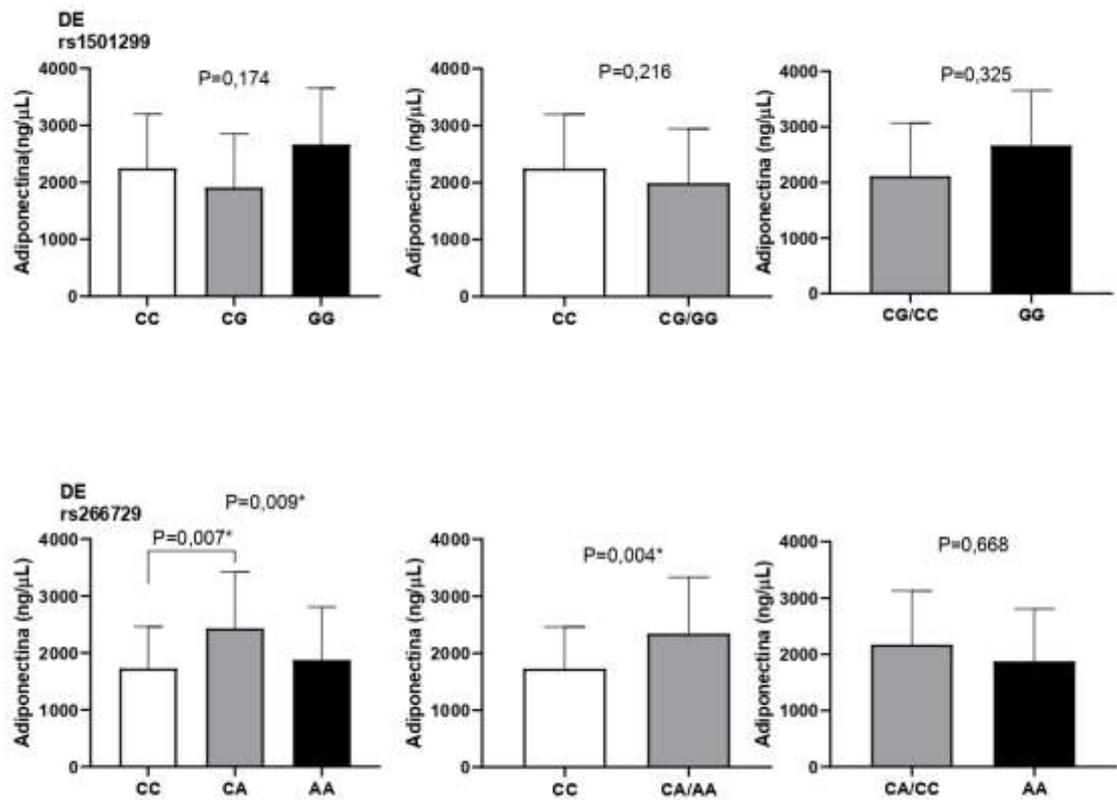
DE (n =231)		
Modelo	R ² = 0,20	RMSE = 7,20
	β	P
Idade (anos)	-0,23	<0,001*
Tabagismo		
<i>Fumantes</i>	-2,42	0,016*
<i>Ex-fumantes</i>	-0,14	0,490
<i>Não- fumantes</i>	+2,56	<0,001*
Diabéticos (sim)	-0,88	0,080
Hipertensos (sim)	-0,93	0,068
Alcoolismo ^a	-0,13	0,917
<i>ADIPOQ</i>		
	Global P = 0,284	
CC	+1,05	0,476
CA	-0,75	0,608
GC	-1,05	0,502
GA	+0,76	0,849

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio.^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo.

Em seguida, foi analisado a influência dos genótipos e haplótipos dos polimorfismos sobre as concentrações plasmáticas da adiponectina. A Figura 05 mostra a concentração plasmática de adiponectina nos portadores do genótipo dos polimorfismos estudados. No caso do rs1501299 não foi encontrada associação significativa, já para o rs266729 portadores do genótipo CC apresentaram menor nível de adiponectina plasmática quando comparado com o genótipo CA (P=0.007), resultado que também foi observado no modelo dominante (P=0.004). A figura 06 mostra a influência dos haplótipos sobre os níveis de adiponectina no grupo paciente, porém não foram encontrados resultados significativos.

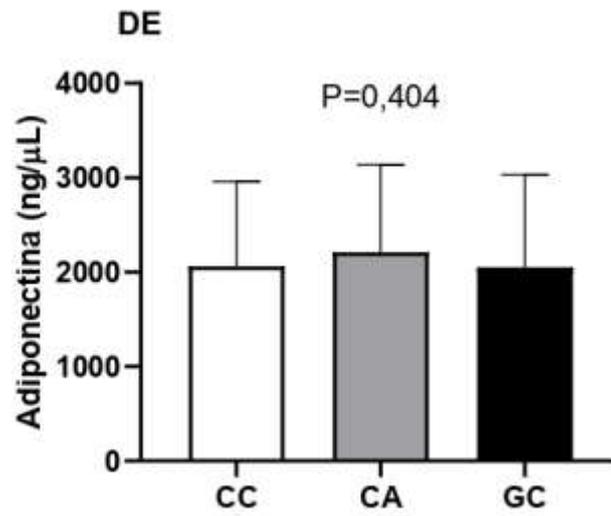
As tabelas 07 e 08 mostram a regressão logística multivariada de ambas as análises citadas a cima, possível observar que a significância estatística do rs266729 não foi mantida. Para os haplótipos não foram observados resultados significativos mesmo após a análise corrigida.

Figura 5– Adiponectina vs genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* no grupo pacientes



Valores expressos como média ± desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * P <0,05 significativo

Figura 6– Adiponectina vs haplótipos do gene *ADIPOQ* no grupo pacientes



Valores expressos como média \pm desvio padrão, teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's. Haplótipo GA foi excluído da análise por ter frequência <1%. * P <0,05 significativo.

Tabela 7– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de adiponectina no grupo pacientes

DE (n= 66)	Model	Aditivo		Dominante		Recessivo		
		R ² = 0,22 RMSE = 0,20		R ² = 0,14 RMSE = 0,21		R ² = 0,10 RMSE = 0,21		
		β	P	β	P	β	P	
Idade (anos)		+0,01	0,194	+0,01	0,095	+0,01	0,101	
Tabagismo								
	<i>Fumante</i>	-0,01	0,982	+0,01	0,860	+0,01	0,910	
	<i>Ex-fumantes</i>	-0,01	0,799	-0,01	0,880	+0,01	0,976	
	<i>Não - fumantes</i>	+0,01	0,762	-0,01	0,954	-0,01	0,861	
Diabéticos (sim)		-0,01	0,934	-0,02	0,524	-0,03	0,370	
Hipertensos (sim)		+0,01	0,795	+0,01	0,783	+0,02	0,502	
Alcoolismo ^a		+0,05	0,313	+0,06	0,280	+0,05	0,387	
	<i>ADIPOQ</i>							
	rs1501299							
		CC	-0,01	0,869	+0,02	0,407	-0,06	0,368
		CG	-0,10	0,053	-0,02	0,407		
		GG	+0,11	0,202			+0,06	0,368
			Global P = 0,134					
	rs266729							
		CC	-0,03	0,497	-0,05	0,157	+0,03	0,545
		CA	+0,09	0,027	+0,05	0,157		
		AA	-0,06	0,308			-0,03	0,545
			Global P = 0,071					

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. Os valores de concentração plasmática de adiponectina foram logaritmicamente transformados ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo.

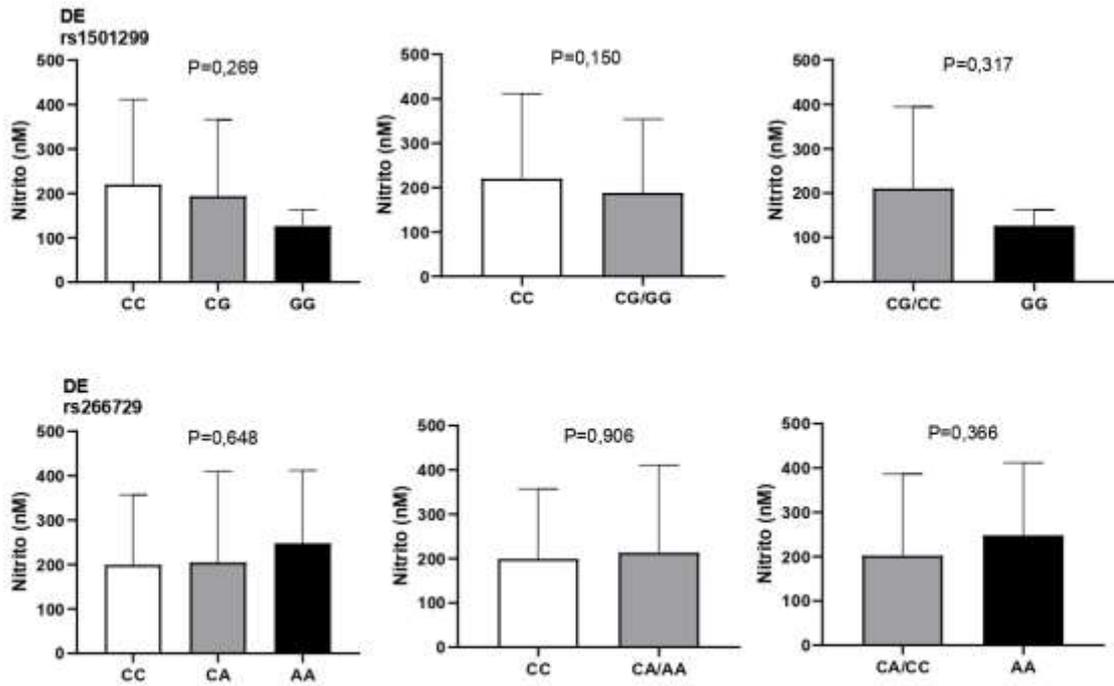
Tabela 8 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos do gene *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de adiponectina no grupo pacientes

DE (n =131)		
Model	R² = 0,08	RMSE = 0,20
	β	P
Idade (anos)	+0,01	0,007*
Tabagismo		
<i>Fumantes</i>	-0,01	0,880
<i>Ex-fumantes</i>	+0,01	0,768
<i>Não- fumantes</i>	-0,01	0,895
Diabéticos (sim)	-0,03	0,189
Hipertensos (sim)	+0,01	0,474
Alcoolismo ^a	+0,05	0,148
<i>ADIPOQ</i>		
	Global P = 0,868	
CC	+0,02	0,715
CA	+0,03	0,559
GC	-0,01	0,964
GA	-0,05	0,741

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. Os valores de concentração plasmática de adiponectina foram logaritmicamente transformados. ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo.

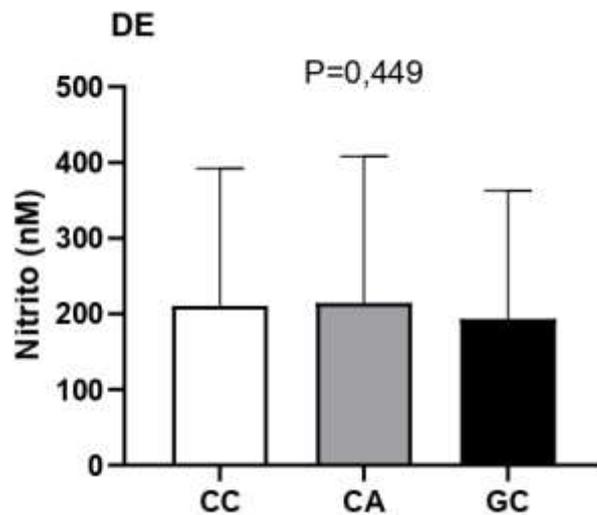
Por fim, foi realizada a análises dos níveis de nitrito associados com os genótipos e haplótipos como pode ser observado nas figuras (07 e 08) e tabelas seguintes (tabelas 09 e 10). Não houve resultados com significância estatística em nenhuma das análises tanto para análise não corrigida quanto para a análise corrigida.

Figura 7– Nitrito vs genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* no grupo Pacientes



Valores expressos como média \pm desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * P <0,05 significativo

Figura 8– Nitrito vs haplótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* no grupo Pacientes



Valores expressos como média \pm desvio padrão, teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's. Haplótipos GA foi excluído da análise por ter frequência <1%. * P <0,05 significativo

Tabela 9– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* obre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo pacientes

DE (n= 94)		Aditivo		Dominante		Recessivo	
Modelo		R ² = 0,13 RMSE = 0,25		R ² = 0,11 RMSE = 0,25		R ² = 0,18 RMSE = 0,25	
		β	P	B	P	β	P
Idade (anos)		<+0,01	0,771	<+0,01	0,836	<+0,01	0,913
Tabagismo							
	<i>Fumantes</i>	+0,03	0,579	+0,02	0,633	+0,04	0,472
	<i>Ex-fumantes</i>	-0,06	0,147	-0,06	0,132	-0,07	0,083
	<i>Não- fumantes</i>	+0,03	0,401	+0,04	0,301	+0,03	0,367
Diabéticos (sim)		-0,03	0,335	-0,02	0,405	-0,02	0,374
Hipertensos (sim)		+0,07	0,025	+0,06	0,025	+0,06	0,031
Alcoolismo ^a		<-0,01	0,987	-0,01	0,966	-0,01	0,977
ADIPOQ							
rs1501299	CC	+0,07	0,256	+0,02	0,241	+0,06	0,427
	CG	+0,02	0,737	-0,02	0,241		
	GG	-0,09	0,391			-0,06	0,427
		Global P = 0,508					
rs266729	CC	+0,01	0,782	+0,03	0,508	-0,04	0,399
	CA	-0,04	0,295	-0,03	0,508		
	AA	+0,03	0,603			+0,04	0,399
		Global P = 0,564					

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Tabela 10– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos do gene *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de nitrito nos grupos pacientes

Modelo	DE (n =131)	
	R ² = 0,08	RMSE = 0,20
	β	P
Idade (anos)	+0,01	0,007*
Tabagismo		
<i>Fumantes</i>	-0,01	0,880
<i>Ex-fumantes</i>	+0,01	0,768
<i>Não- fumantes</i>	-0,01	0,895
Diabéticos (sim)	-0,03	0,189
Hipertensos (sim)	-0,01	0,474
Alcoolismo ^a	+0,05	0,148
<i>ADIPOQ</i>		
	Global P = 0,868	
CC	+0,02	0,715
CA	+ 0,03	0,559
GC	-0,01	0,964
GA	-0,05	0,741

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados. * P <0,05 significativo.

5.2 Resultados: segunda vertente resposta ao tratamento com sildenafil

A seguir demonstramos as características clínicas dos participantes da segunda vertente desse trabalho (Estudo de Resposta) (Tabela 11). Nessa tabela não foram feitas as comparações entre os grupos, uma vez que as etiologias são diferentes. Tivemos como objetivo ver se marcadores genéticos se associavam à resposta ao sildenafil nesses grupos de forma independente. As frequências observadas dos genótipos de cada polimorfismo estudado nos grupos DEPP e DEC não apresentaram desvios relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (comparações feitas por teste χ^2 e todas com $P > 0,05$; não mostrado).

Em seguida fizemos uma divisão dos participantes de acordo com a mediana do Δ IEF%. Os participantes acima da mediana foram classificados como bons respondedores e os abaixo da mediana foram classificados como maus respondedores.

As tabelas 12,13,14 e 15 mostram a associação entre os polimorfismos estudados e bons respondedores (BR) e maus respondedores (MR) nos grupos DEPP e DEC, respectivamente.

No grupo DEPP foi observado uma diferença na distribuição dos genótipos do SNP rs266729 do gene da Adiponectina (*ADIPOQ*) entre BR e MR ($P=0.007$; Tabela 12). Quando o genótipo dominante (CC) foi comparado com o genótipo heterozigoto (CA), houve uma associação, onde portadores desse genótipo tiveram uma pior resposta ao Sildenafil ($P=0.003$; OR=5.70; IC=1.88 – 18.02) que se manteve após a análise corrigida ($P=0,027$; OR=6,74; IC=1.32 – 40.36). Quanto ao grupo DEC não foram encontrados resultados significativos. (Tabela 13)

Em seguida fizemos a mesma análise para haplótipos da *ADIPOQ* (Tabela 14 e 15) para DEPP e DEC, respectivamente, foi encontrado resultados significativos novamente para o

grupo DEPP onde foi encontrada uma diferença na distribuição dos haplótipos dos SNPs no gene da Adiponectina entre BR e MR ($P=0,008$) (Tabela 14) onde portadores do haplótipo CA tiveram uma pior resposta ao Sildenafil ($P=0.001$; $OR=3.96$; $IC=1.73 - 9.26$; Tabela 14), porém esse resultado não se manteve após a análise corrigida ($P=0,071$; $OR=4.55$; $IC=0.91 - 28.72$). Quanto a associação dos haplótipos no grupo DEC não houve nenhum resultado com significância estatística (Tabela 15)

Tabela 11–Características clínicas e laboratoriais dos grupos DEPP e DEC

Características clínicas	DEPP (n = 82)	DEC (n = 75)
Idade (anos)	65 ± 5	56 ± 8
Etnia (branco / não branco)	43 / 39	43 / 31
IMC (Kg/m ²)	28 ± 3	28 ± 4
Tabagismo		
Fumantes (n)	8	12
Ex-fumantes (n)	42	41
Não- fumantes (n)	31	22
Consumo de etanol (%) ^a	11	7
PAS (mmHg)	140 ± 17	140 ± 14
PAD (mmHg)	90 ± 10	90 ± 9
Colesterol total (mg/dL)	177 ± 33	185 ± 30
HDL colesterol (mg/dL)	40 ± 4	40 ± 6
LDL Colesterol (mg/dL)	101 ± 28	115 ± 27
Triglicerídeos (mg/dL)	167 ± 63	114 ± 59
Glicose (mg/dL)	108 ± 25	98 ± 33
Ureia (mg/dL)	90 ± 9.3	32 ± 7.3
Creatina (mg/dL)	1.1 ± 0.22	0.97 ± 0.22
Hipertensão (n)	44	34
Diabetes (n)	16	32
<i>EF Score</i>	10 ± 7	18 ± 8
Adiponectina (ng/μL)	1789.60 ± 724.44 (n=71)	1949.00 ± 745.10 (n= 65)
Nitrito (nM)	125.67 ± 60.83 (n=74)	156.25 ± 75.08 (n= 74)

IMC, índice de massa corporal; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; HDL, lipoproteína de alta densidade; LDL, lipoproteína de baixa densidade; *Score FE*, pontuação referente ao domínio função erétil do questionário Índice Internacional de Função Erétil após o uso de sildenafil. ^a Consumo de etanol >30 g/dia. Dados expressos como média ± desvio padrão, valores absolutos (n) ou frequências relativas (%).

Tabela 12– Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) no grupo DEPP

SNP	Genótipo	BR (n = 36)	MR (n = 35)	P _{nc}	OR _{nc} (IC)	P _c	OR _c (IC)
rs1501299	CC	22 (0,61)	21 (0,60)		1,00 (referência)		1,00 (referência)
	CG	12 (0,33)	10 (0,29)	>0,999	0,87 (0,32 – 2,29)	0,098	0,18 (0,02 – 1,26)
	GG	2 (0,06)	4 (0,11)	0,667	2,10 (0,44 – 11,74)	0,016	38,21 (2,34 – 1021,19)
				Global P_{nc} = 0,651	Global P_c = 0,051		
		BR(n=37)	MR(n=37)				
rs266729	CC	26 (0,70)	13 (0,35)		1,00 (referência)		1,00 (referência)
	CA	6 (0,16)	17 (0,46)	0,003*	5,70 (1,88 – 18,02)	0,027*	6,74 (1,32 – 40,36)
	AA	5 (0,14)	7 (0,19)	0,178	2,80 (0,71 – 10,09)	0,298	2,80 (0,42 – 21,18)
				Global P_{nc} = 0,007*	Global P_c = 0,003*		

R² = 0,18, SNP, *single nucleotide polymorphism*; 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). * P <0,05 significativo.

Tabela 13– Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) no grupo DEC

SNP	Genótipo	BR (n = 33)	MR (n = 35)	P _{nc}	OR _{nc} (IC)	P _c	OR _c (IC)
rs1501299	CC	22 (0,61)	19 (0,54)		1,00 (referência)		1,00 (referência)
	CG	12 (0,33)	15 (0,43)	0,445	1,66 (0,32 – 2,29)	0,233	3,42 (0,48 – 35,07)
	GG	2 (0,06)	1 (0,03)	>0,999	0,55 (0,36 – 5,11)	0,524	0,33 (0,01 – 9,05)
				Global P_{nc} = 0,502	Global P_c = 0,414		
rs266729	CC	21 (0,64)	10 (0,29)		1,00 (referência)		1,00 (referência)
	CA	10 (0,30)	20 (0,57)	0,791	1,26 (0,47 – 3,57)	0,726	0,73 (0,12 – 4,02)
	AA	2 (0,06)	5 (0,14)	0,390	3,00 (0,50 – 16,98)	0,308	3,81 (0,33 – 68,12)
				Global P_{nc} = 0,488	Global P_c = 0,534		

R² =0,07, SNP, *single nucleotide polymorphism*; 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), * P <0,05 significativo,

Tabela 14– Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos haplótipos do gene *ADIPOQ* entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) no grupo DEPP

SNP	Haplótipo	BR (n = 72)	MR (n = 70)	P _{nc}	OR _{nc} (IC)	P _c	OR _c (IC)
<i>ADIPOQ</i>							
	CC	42 (0,59)	23 (0,33)		1,00 (referência)		1,00 (referência)
	CA	14(0,19)	29 (0,41)	0,001*	3,96 (1,73 – 9,26)	0,071	4,55 (0,91 – 28,72)
	GC	14 (0,19)	17 (0,25)	0,076	2,31 (0,96 – 5,28)	0,408	2,08 (0,38 – 14,11)
	GA	2 (0,03)	1 (0,01)	>0,999	0,95 (0,06 – 8,56)	0,639	0,41 (0,01 – 16,32)
				Global P_{nc} = 0,007*		Global P_c = 0,008*	

R² = 0,08, SNP, *single nucleotide polymorphism*; 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). * P <0,05 significativo.

Tabela 15– Regressão logística multivariada mostrando a distribuição dos haplótipos do gene *ADIPOQ* entre os grupos Bons Respondedores (BR) e Maus Respondedores (MR) no grupo DEC

SNP	Haplótipo	BR (n = 65)	MR (n = 70)	P _{nc}	OR _{nc} (IC)	P _c	OR _c (IC)
<i>ADIPOQ</i>							
	CC	30 (0,46)	23 (0,33)		1,00 (referência)		1,00 (referência)
	CA	22(0,34)	30 (0,43)	0,174	1,78 (0,83 – 4,00)	0,500	1,40 (0,52 – 3,79)
	GC	13 (0,20)	17 (0,24)	0,26	1,71 (0,66 – 4,13)	0,730	1,22 (0,39 – 3,87)
	GA	0 (0,00)	0 (0,00)				
				Global P_{nc} = 0,286	Global P_c = 0,533		

R² = 0,16. SNP, *single nucleotide polymorphism*; 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). * P <0,05 significativo.

A seguir realizamos a análise dos três parâmetros de resposta ao Sildenafil sendo eles Δ IIEF, MRP% e o Δ IIEF pós tratamento com sildenafil em ambos os grupos DEPP e DEC.

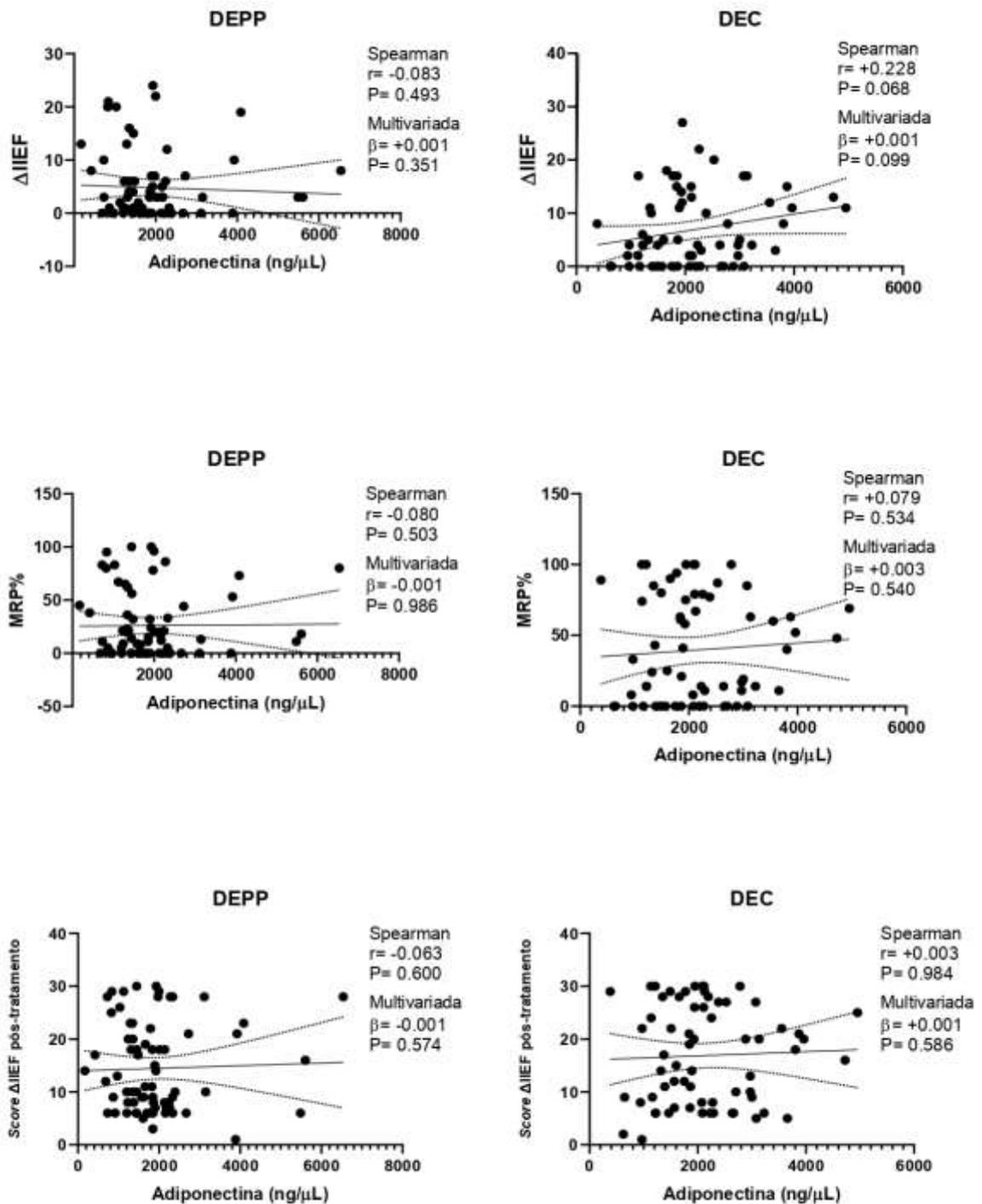
Figura 09 demonstra a correlação entre os níveis de adiponectina e os três parâmetros de resposta ao sildenafil nos grupos DEC e DEPP não houve nenhuma correlação com significância estatística em ambos os grupos.

A figura 10 mostra as associações entre o SNP rs1501299 da *ADIPOQ* com os três parâmetros de resposta ao Sildenafil no grupo DEPP, porém não foram encontrados resultados significativos. Já para o rs266729 da *ADIPOQ* no grupo DEPP (figura 11), houve diferença na distribuição dos genótipos no modelo dominante, onde pacientes portadores do genótipo CC apresentaram uma melhora na pontuação desse domínio pós-tratamento quando comparado com genótipo CA+AA (P=0,033).

A mesma sequência de análises foram realizadas para o grupo DEC demonstradas nas figuras 12 e 13. Para o rs1501299 houve diferença no score IIEF pós entre os portadores do genótipo CC quando comparado com o genótipo heterozigoto CA (P=0.046) onde pacientes portadores do genótipo CC apresentaram uma melhora na pontuação desse domínio pós-tratamento quando comparado com genótipo CG+GG (P=0.019) (Figura 12). Quanto ao rs266729 para o grupo DEC não foi encontrada nenhuma associação significativa (Figura13)

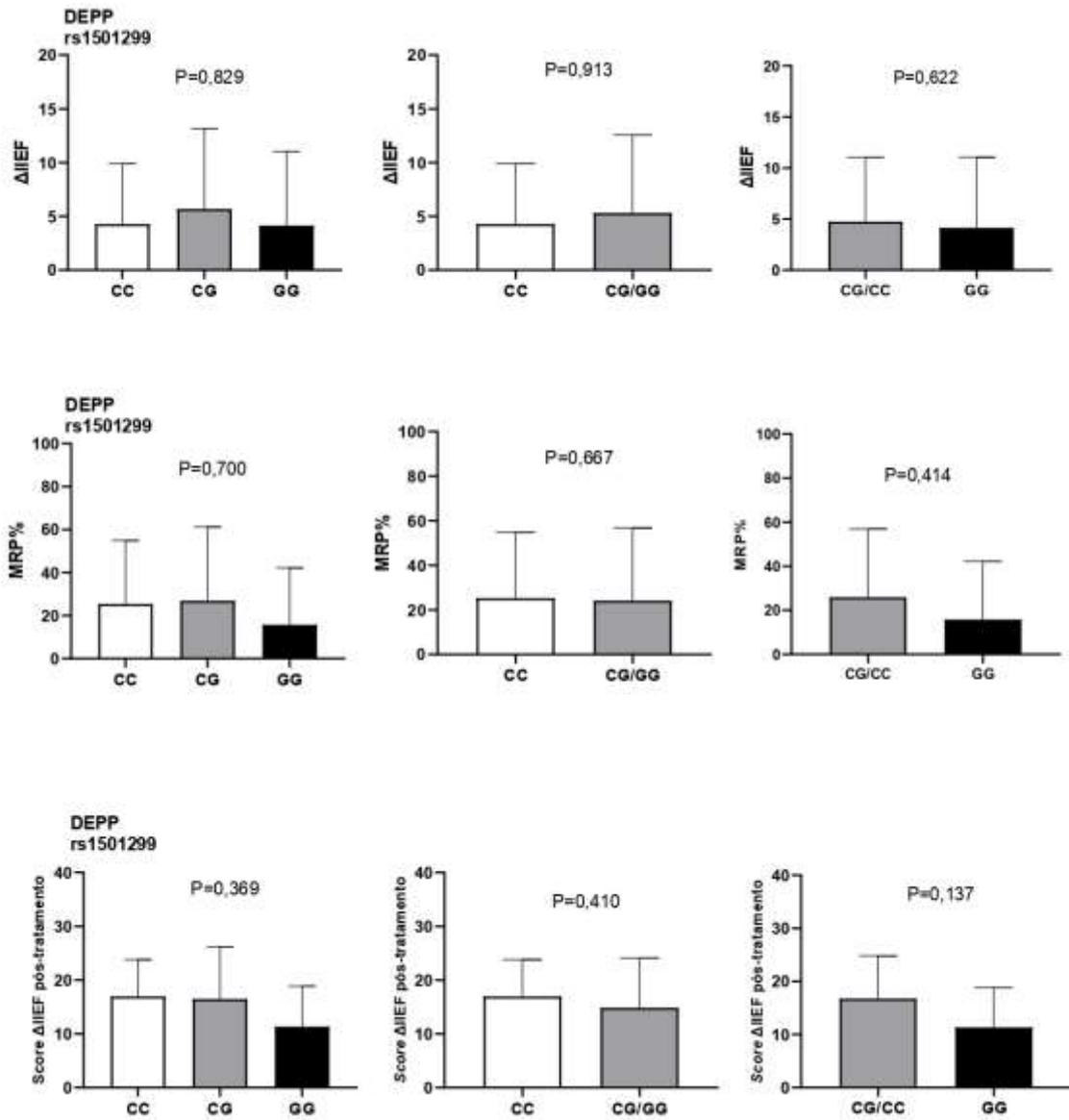
Figura 14 mostra a associação dos haplótipos também para os três parâmetros de resposta ao Sildenafil em ambos os grupos. não houve resultados significativos.

Figura 9– Correlação entre os três parâmetros da resposta ao sildenafil e os níveis de adiponectina grupos DEPP e DEC



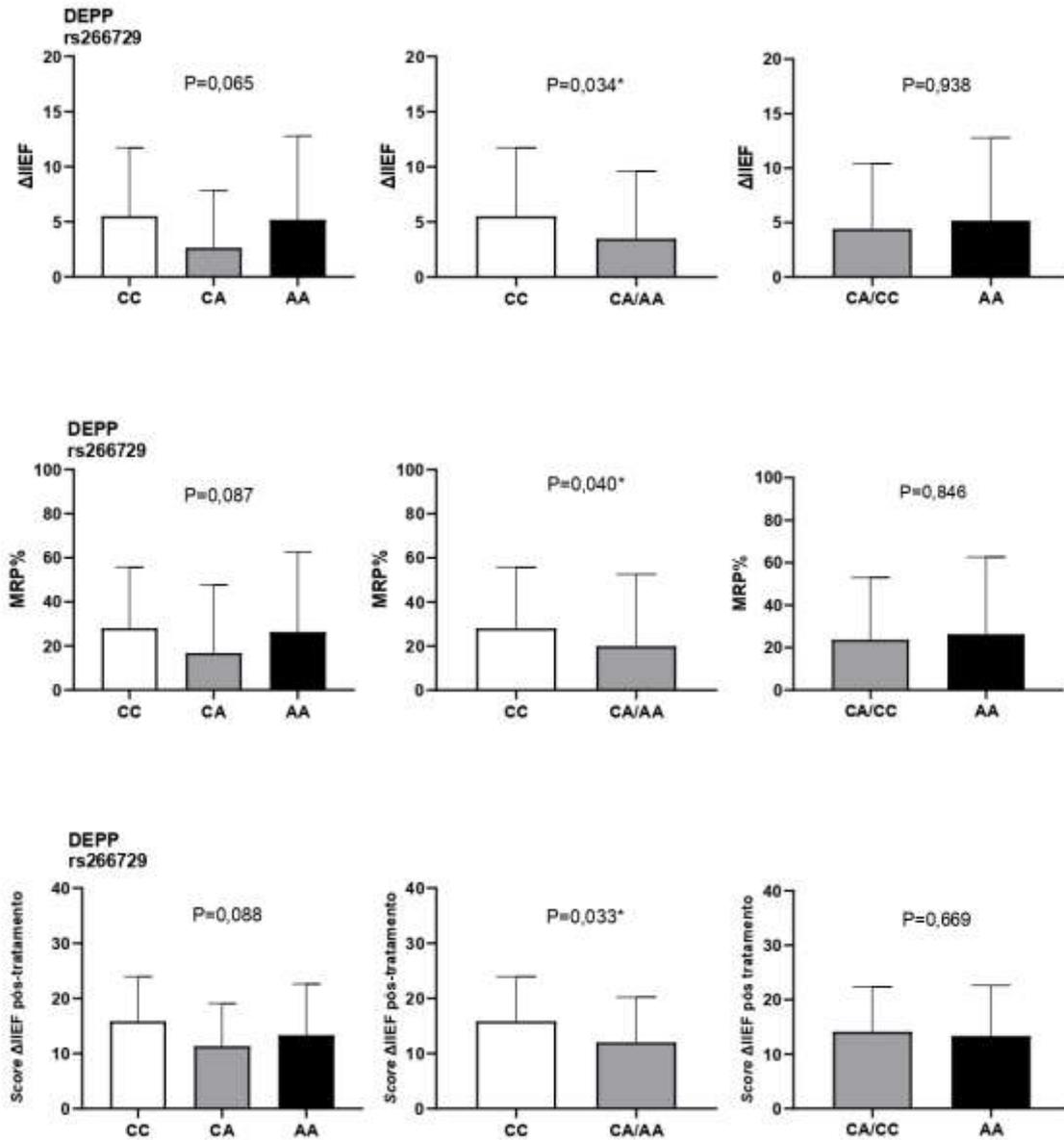
Os gráficos de pontos representam dados brutos. Os dados brutos foram analisados pela correlação de Spearman. A linha contínua representa a regressão linear e a linha pontilhada representa o intervalo de confiança de 95%. * $P < 0,05$ significativo.

Figura 10– Associação dos genótipos do SNP rs1501299 com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEPP



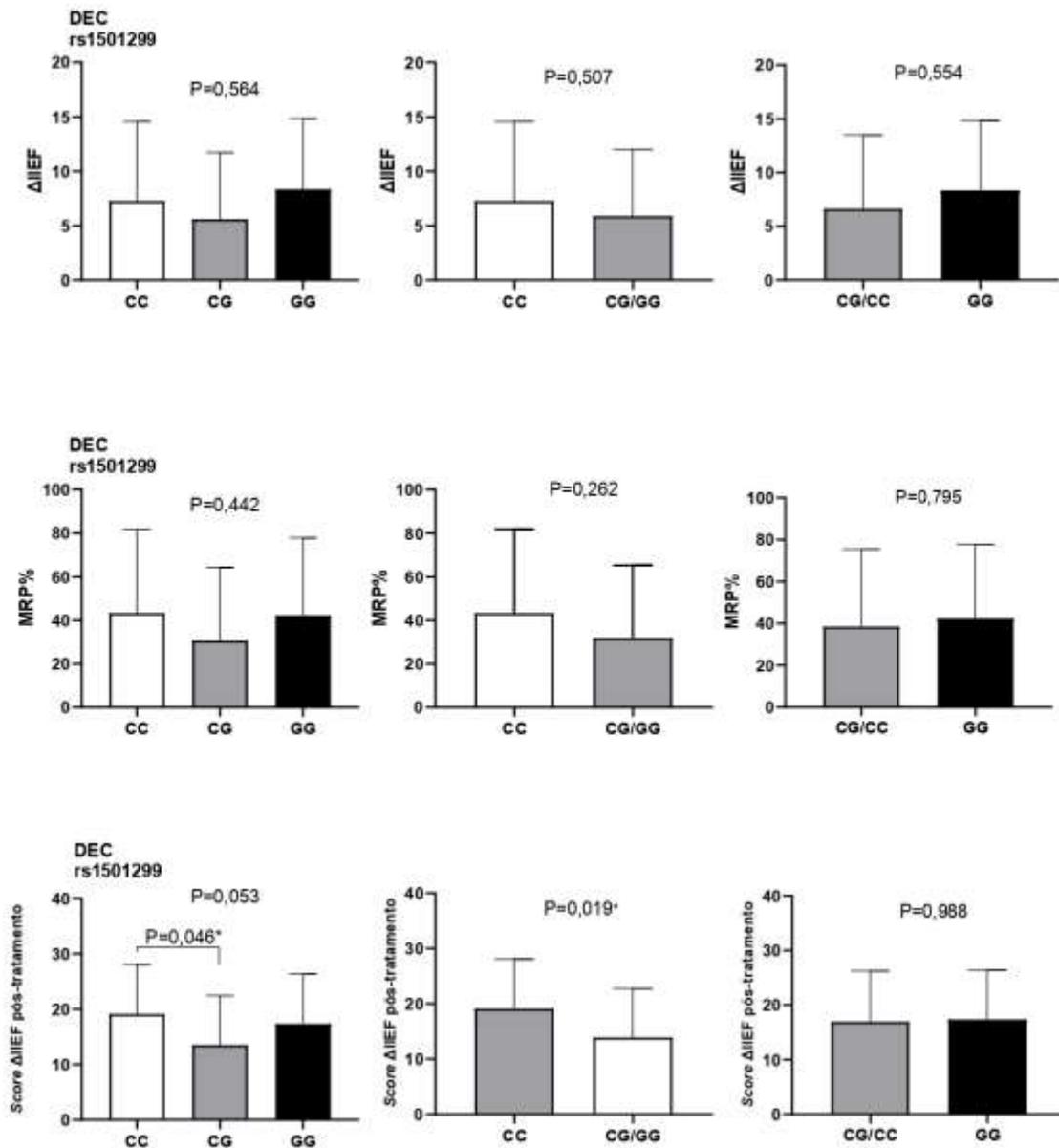
Valores expressos como média ± desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * P < 0,05 significativo

Figura 11– Associação dos genótipos do SNP rs266729 com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEPP



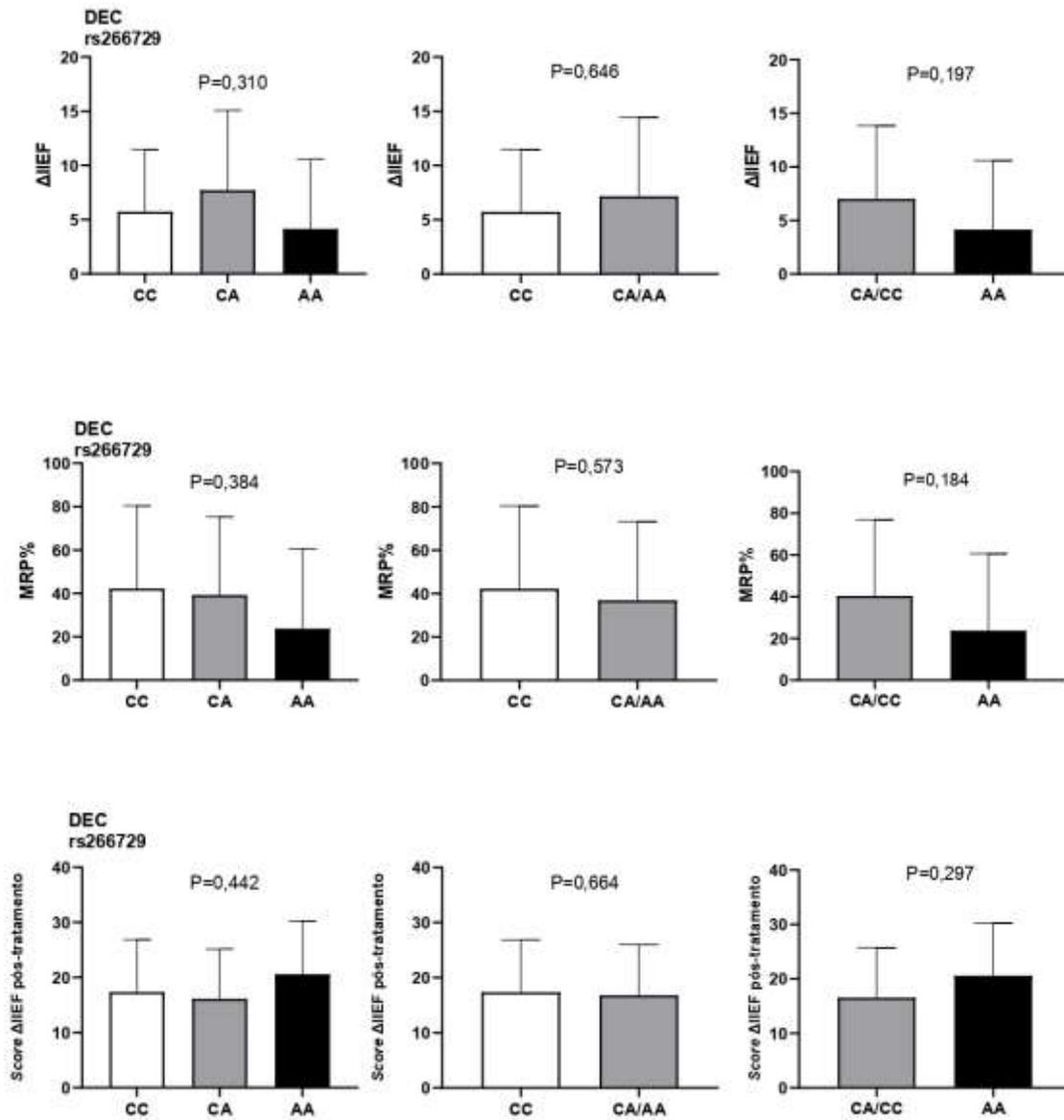
Valores expressos como média \pm desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * P <0,05 significativo

Figura 12 – Associação dos genótipos do SNP rs1501299 com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEC



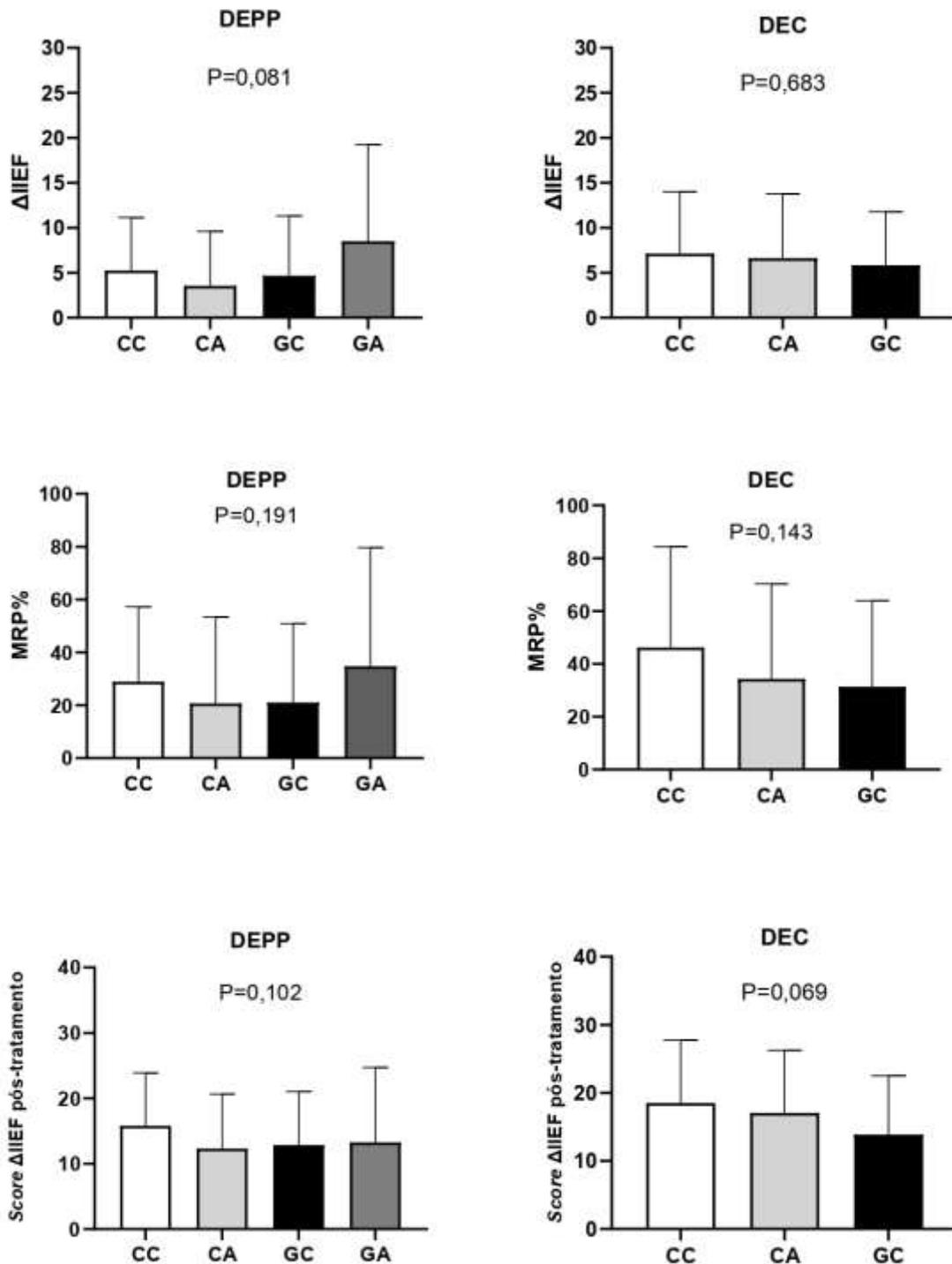
Valores expressos como média \pm desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * $P < 0,05$ significativo

Figura 13—Associação dos genótipos do SNP rs266729 com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEC



Valores expressos como média ± desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * P <0,05 significativo

Figura 14—Associação dos haplótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* com os três parâmetros da resposta ao sildenafil no grupo DEPP e DEC



Valores expressos como média \pm desvio padrão, teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's. Haplótipos GA foi excluído da análise por ter frequência <1%. * P <0,05 significativo.

As tabelas 16,17,18,19,20 e 21 a seguir mostram a regressão linear multivariada de genótipos e haplótipos e os valores de Δ IIEF, M7RP% e IIEF pós-tratamento nos grupos DEPP e DEC.

No grupo DEPP, quanto ao rs1501299, os resultados na análise não corrigida se mantiveram negativos (tabelas 16, 17 e 18). Entretanto para o rs266729 na análise corrigida podemos observar uma associação significativa para três parâmetros de resposta: no Δ IIEF portadores do genótipo homozigoto CC foram associados a maiores pontuações no Δ IIEF ($\beta=+1.34$; $P=0.011$ tabela 16) enquanto o genótipo CA+AA possuem menores pontuações no Δ IIEF ($\beta=-1.34$; $P=0.01$; tabela 16). Para a MRP% a mesma associação se repetiu; portadores do genótipo homozigoto CC foram associados a maior MRP% ($\beta=+6.18$; $P=0.022$ tabela 17) enquanto o genótipo CA+AA possuem menor MRP% ($\beta=-6.18$; $P=0.022$; tabela 17). Para o score IIEF pós tratamento o resultado encontrado na análise não corrigida se manteve, portadores dos portadores do genótipo homozigoto CC foram associados a uma melhor resposta no score IIEF pós tratamento ($\beta=+2.40$; $P=0.027$ tabela 18) enquanto o genótipo CA+AA possuem menor resposta após o tratamento com sildenafil ($\beta=-2.40$; $P=0.027$; tabela 18)

No grupo DEC houve a confirmação dos resultados encontrados na análise não corrigida (tabelas 19,20 e 21), novamente o genótipo CC do rs1501299 foram associados com uma melhor resposta no score IIEF pós tratamento com sildenafil ($\beta=+2.43$; $P=0.041$; tabela 21) enquanto que para os portadores do genótipo CG+GG a associação foi negativa ($\beta=-2.43$; $P=0.041$; tabela 21). Demais resultados foram negativos.

Quanto aos haplótipos não foram encontrados resultados significativos para ambos os grupos, concordando com os resultados obtidos na análise não corrigida (Tabelas 22 e 23).

Tabela 16– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de Δ IIEF no grupo DEPP

DEPP (n= 72)		Aditivo Δ IIEF $R^2 = 0,25$ RMSE = 5,86		Dominante Δ IIEF $R^2 = 0,20$ RMSE = 5,76		Recessivo Δ IIEF $R^2 = 0,21$ RMSE = 5,93	
Modelo		β	P	β	P	β	P
Idade (anos)		+0,33	0,007*	+0,31	<0,001*	+0,28	0,019*
Tabagismo							
	<i>Fumante</i>	+0,43	0,793	+0,20	0,862	+0,15	0,926
	<i>Ex-fumantes</i>	-0,54	0,632	-0,68	0,388	-0,51	0,654
	<i>Não - fumantes</i>	+0,11	0,923	+0,48	0,551	+0,36	0,761
Diabéticos (sim)		-1,23	0,162	-1,04	0,086	-1,12	0,203
Hipertensos (sim)		-1,91	0,013*	-1,60	0,002*	-1,52	0,040*
Alcoolismo ^a		-0,32	0,811	-0,54	0,555	-0,36	0,791
<i>ADIPOQ</i>							
rs1501299	CC	+1,08	0,347	+0,07	0,898	+0,94	0,244
	CG	+2,25	0,073	-0,07	0,898		
	GG	-3,33	0,059			-0,94	0,244
		Global P = 0,142		Global P = 0,898		Global P= 0,244	
rs266729	CC	-0,63	0,049	+1,34	0,011*	-1,29	0,099
	CA	-1,51	0,162	-1,34	0,011*		
	AA	+2,14	0,638			+1,29	0,099
		Global P=0,089		Global P=0,011*		Global P=0,099	

R^2 , parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Tabela 17– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP da *ADIPOQ* sobre a MRP pós tratamento no grupo DEPP

DEPP (n= 72)		Aditivo		Dominante		Recessivo	
Modelo		MRP% R ² = 0,16 RMSE = 30,13		MRP% R ² = 0,11 RMSE = 29,58		MRP% R ² = 0,11 RMSE = 30,71	
		β	P	β	P	β	P
Idade (anos)		+1,04	0,095	+0,88	0,033*	+0,75	0,215
Tabagismo							
<i>Fumante</i>		-1,12	0,895	-2,31	0,693	-2,70	0,753
<i>Ex-fumantes</i>		+2,27	0,698	+1,60	0,692	+2,58	0,663
<i>Não - fumantes</i>		-1,15	0,850	+0,70	0,865	+0,12	0,984
Diabéticos (sim)		-3,34	0,459	-2,33	0,452	-2,56	0,573
Hipertensos (sim)		-8,01	0,042*	-6,40	0,015*	-5,66	0,136
Alcoolismo ^a		+0,35	0,959	-0,71	0,880	+0,14	0,984
<i>ADIPOQ</i>							
rs1501299	CC	+8,53	0,151	+2,54	0,346	+2,80	0,502
	CG	+9,90	0,124	-2,54	0,346		
	GG	-18,43	0,042			-2,80	0,502
		Global P = 0,125		Global P = 0,346		Global P = 0,502	
rs266729	CC	+10,29	0,065	+6,18	0,022*	-5,53	0,172
	CA	-6,53	0,239	-6,18	0,022*		
	AA	-3,75	0,585			+5,53	0,172
		Global P=0,134		Global P=0,022*		Global P = 0,172	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Tabela 18 – Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de IIEF pós tratamento no grupo DEPP

Model	Aditivo		Dominante		Recessivo		
	Score IIEF pós-tratamento		Score IIEF pós-tratamento		Score IIEF pós-tratamento		
	$R^2 = 0,17$ RMSE = 8,23		$R^2 = 0,11$ RMSE = 8,37		$R^2 = 0,08$ RMSE = 0,31		
	β	P	β	P	β	P	
Idade (anos)	+0,21	0,226	0,16	0,343	+0,01	0,203	
Tabagismo							
<i>Fumante</i>	-1,32	0,568	-1,65	0,482	-0,02	0,778	
<i>Ex-fumantes</i>	+1,48	0,354	+1,30	0,422	+0,01	0,830	
<i>Não - fumantes</i>	-0,17	0,920	+0,35	0,836	+0,01	0,846	
Diabéticos (sim)	-1,08	0,383	-0,79	0,525	-0,04	0,382	
Hipertensos (sim)	-1,25	0,241	-0,79	0,451	-0,04	0,297	
Alcoolismo ^a	+0,78	0,677	+0,50	0,792	+0,02	0,862	
<i>ADIPOQ</i>							
rs1501299	CC	+2,81	0,085	+1,02	0,348	+0,11	0,102
	CG	+2,55	0,147	-1,02	0,348		
	GG	-5,36	0,031			-0,11	0,102
		Global P = 0,092		Global P = 0,348		Global P=0,102	
rs266729	CC	3,81	0,014*	+2,40	0,027*	+0,06	0,270
	CA	-2,12	0,162	-2,40	0,027*		
	AA	-1,68	0,372			-0,06	0,270
		Global P = 0,033*		Global P=0,029*		Global P=0,270	

R^2 , parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, ^aConsumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Tabela 19– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP da *ADIPOQ* sobre os valores de Δ IIEF no grupo DEC

DEC (n= 68)		Aditivo		Dominante		Recessivo	
Modelo		Δ IIEF		Δ IIEF		Δ IIEF	
		$R^2 = 0,14$		$R^2 = 0,12$		$R^2 = 0,12$	
		RMSE = 6,84		RMSE = 6,80		RMSE = 6,82	
		β	P	β	P	β	P
Idade (anos)		+0,04	0,650	+0,06	0,500	+0,05	0,558
Tabagismo							
	<i>Fumante</i>	+2,88	0,064	+2,95	0,053	+2,92	0,058
	<i>Ex-fumantes</i>	-1,88	0,128	-2,06	0,081	-2,16	0,076
	<i>Não - fumantes</i>	-1,00	0,437	-0,88	0,490	-0,76	0,544
Diabéticos (sim)		-0,45	0,627	-0,69	0,430	-0,72	0,418
Hipertensos (sim)		+0,32	0,729	+0,36	0,696	+0,55	0,543
Alcoolismo ^a		+1,91	0,268	+1,96	0,249	+1,82	0,290
<i>ADIPOQ</i>							
rs1501299	CC	-0,36	0,836	+0,41	0,656	-1,30	0,526
	CG	-1,80	0,282	-0,41	0,656		
	GG	+2,16	0,439			+1,30	0,526
		Global P = 0,549		Global P = 0,656		Global P = 0,526	
rs266729	CC	-0,43	0,782	-0,59	0,560	-0,34	0,815
	CA	+1,31	0,350	+0,59	0,560		
	AA	-0,89	0,668			+0,34	0,815
		Global P=0,624		Global P=0,560		Global P = 0,815	

R^2 , parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Tabela 20– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP da *ADIPOQ* sobre os valores de MRP% no grupo DEC

DEC (n= 68)		Aditivo		Dominante		Recessivo	
Modelo		MRP%		MRP%		MRP%	
		R ² = 0,12		R ² = 0,11		R ² = 0,09	
		RMSE = 37,07		RMSE = 36,80		RMSE = 37,20	
		β	P	β	P	β	P
Idade (anos)		-0,07	0,888	+0,04	0,924	-0,20	0,667
Tabagismo							
	<i>Fumante</i>	+2,15	0,796	+3,08	0,704	-0,20	0,672
	<i>Ex-fumantes</i>	-1,62	0,807	-3,14	0,619	+3,51	0,688
	<i>Não - fumantes</i>	-0,53	0,940	+0,06	0,993	-2,63	0,898
Diabéticos (sim)		-4,89	0,331	-6,41	0,179	-0,88	0,291
Hipertensos (sim)		+0,34	0,946	+0,66	0,893	-5,16	0,951
Alcoolismo ^a		+13,06	0,164	+13,77	0,137	+0,30	0,166
ADIPOQ							
rs1501299	CC	+6,75	0,471	+6,53	0,194	-2,75	0,806
	CG	-9,38	0,302	-6,53	0,194		
	GG	+2,63	0,862			+2,75	0,806
		Global P = 0,346		Global P = 0,194		Global P = 0,806	
rs266729	CC	+9,00	0,286	+4,37	0,428	+5,36	0,503
	CA	+3,41	0,654	-4,37	0,428		
	AA	-12,42	0,269			-5,36	0,503
		Global P=0,503		Global P=0,428		Global P = 0,503	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Tabela 21– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP da *ADIPOQ* sobre os valores do IIEF pós tratamento no grupo DEC

DEC (n= 68)		Aditivo		Dominante		Recessivo	
Modelo		Score IIEF pós-tratamento R ² = 0,24 RMSE = 8,70		Score IIEF pós-tratamento R ² =0,11 RMSE =8,37		Score IIEF pós-tratamento R ² = 0,19 RMSE = 8,82	
		β	P	β	P	β	P
Idade (anos)		-0,16	0,165	-0,18	0,113	-0,20	0,082
Tabagismo							
	<i>Fumante</i>	-0,28	0,884	-0,62	0,746	+0,11	0,957
	<i>Ex-fumantes</i>	+1,10	0,481	+1,44	0,331	+0,77	0,620
	<i>Não - fumantes</i>	-0,81	0,619	-0,83	0,609	-0,87	0,592
Diabéticos (sim)		-2,09	0,079	-1,88	0,094	-2,21	0,059
Hipertensos (sim)		-0,35	0,767	-0,43	0,712	-0,32	0,778
Alcoolismo ^a		+2,13	0,331	+1,87	0,384	2,10	0,343
ADIPOQ							
rs1501299	CC	+2,08	0,345	+2,43	0,041*	-0,63	0,811
	CG	-2,70	0,207	-2,43	0,041*		
	GG	+0,62	0,861			+0,63	0,811
		Global P = 0,155		Global P = 0,041*		Global P =0,811	
rs266729	CC	-0,13	0,948	+0,50	0,696	-2,33	0,222
	CA	-1,43	0,424	-0,50	0,696		
	AA	+1,56	0,553			+2,33	0,222
		Global P=0,722		Global P=0,696		Global P = 0,222	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significância

Tabela 22– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos dos SNP da *ADIPOQ* sobre os valores de Δ IIEF, MRP% e IIEF pós-tratamento no grupo DEPP

DEPP (n= 144)		Δ IIEF		MRP%		Score IIEF pós-tratamento	
Modelo		$R^2 = 0,20$		$R^2 = 0,11$		$R^2 = 0,09$	
		RMSE = 5,81		RMSE = 29,71		RMSE = 8,23	
		β	P	β	P	β	P
Idade (anos)		+0,30	<0,001*	+0,86	0,041*	+0,15	0,188
Tabagismo							
	<i>Fumante</i>	-0,31	0,792	-4,48	0,456	-2,17	0,194
	<i>Ex-fumantes</i>	-0,72	0,363	+1,71	0,672	+1,26	0,261
	<i>Não - fumantes</i>	+1,03	0,207	+2,77	0,506	+0,91	0,433
Diabéticos (sim)		-1,13	0,064	-2,79	0,369	-1,00	0,248
Hipertensos (sim)		-1,67	0,001*	-6,67	0,012*	-0,86	0,241
Alcoolismo ^a		-0,78	0,397	-1,58	0,737	+0,22	0,865
<i>ADIPOQ</i>							
Haplotype	CC	+0,81	0,424	+6,18	0,233	+2,72	0,059
	CA	-1,67	0,120	-5,58	0,308	-1,41	0,351
	GC	-0,99	0,389	-5,88	0,316	-0,86	0,594
	GA	+1,84	0,426	+5,28	0,656	-0,44	0,893
		Global P=0,145		Global P=0,147		Global P = 0,061	

R^2 , parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significância

Tabela 23– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos haplótipos dos SNP da *ADIPOQ* sobre os valores de Δ IIEF, MRP% e IIEF pós-tratamento no grupo DEC

DEC (n= 135) Model	Δ IIEF $R^2 = 0,11$ RMSE = 6,59		MRP% $R^2 = 0,10$ RMSE = 35,64		IIEF pós-tratamento $R^2 = 0,21$ RMSE = 8,44		
	β	P	β	P	β	P	
Idade (anos)	+0,05	0,355	-0,13	0,683	-0,23	0,003*	
Tabagismo							
<i>Fumante</i>	+2,94	0,005*	+3,53	0,525	-0,39	0,769	
<i>Ex-fumantes</i>	-2,07	0,011*	-2,23	0,608	+1,55	0,135	
<i>Não - fumantes</i>	-0,87	0,317	-1,30	0,782	-1,16	0,298	
Diabéticos (sim)	-0,72	0,230	-5,36	0,098	-1,70	0,028*	
Hipertensos (sim)	+0,44	0,480	-0,05	0,989	-0,55	0,485	
Alcoolismo ^a	+1,81	0,120	+13,01	0,040*	+1,65	0,269	
<i>ADIPOQ</i>							
Haplótipo	CC	+0,17	0,829	6,80	0,120	+1,36	1,028
	CA	+0,30	0,706	-1,72	0,691	+0,96	0,351
	GC	-0,48	0,606	-5,07	0,310	-2,32	0,052
		Global P= 0,871		Global P=0,295		Global P = 0,146	

R^2 , parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significância

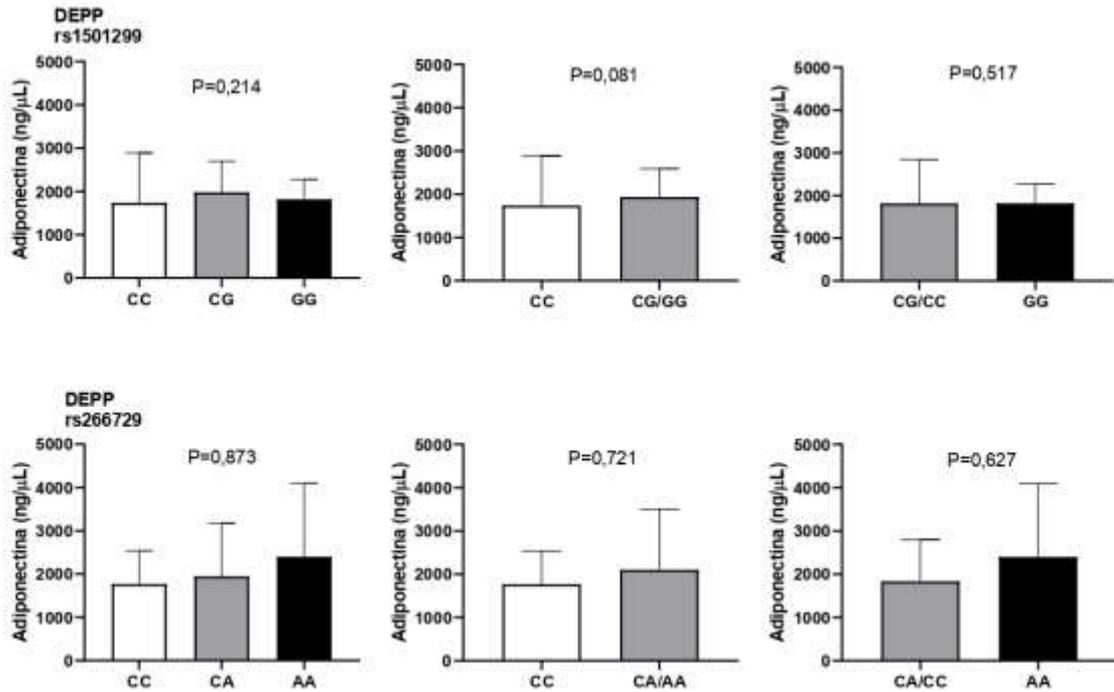
Seguindo as análises, foi feita a associação dos níveis de adiponectina plasmática e os genótipos e haplótipos dos polimorfismos da *ADIPOQ* para ambos os grupos.

Na análise não corrigida para ambos os polimorfismos rs1501299 e rs266729 no grupo DEPP não foram encontrados resultados com significância estatística (Figura 15), porém na regressão linear multivariada o genótipo CC do rs1501299 ($\beta=-0.07$; $P=0.037$; tabela 24) foi associado a menores níveis de adiponectina enquanto o grupo CG+GG apresentou níveis maiores de adiponectina ($\beta=+0.007$; $P=0.037$; tabela 24).

Para o grupo DEC e o rs1501299, não foram encontradas associações com significância estatística (figura 16), mesmo após a análise corrigida (tabela 25). No caso do rs266729 foi encontrada uma diferença na distribuição dos genótipos ($P=0.001$) (figura 16), o genótipo homocigoto CC quando foi associado a menores níveis de adiponectina quando comparado com o genótipo CA + AA ($P=0.012$), porém esse resultado não se manteve na análise corrigida (tabela 25).

Quando foi avaliada a associação dos haplótipos de *ADIPOQ* com aos níveis de adiponectina, não foram encontrados resultados com significância estatística em ambos os grupos tanto na análise não corrigida (Figura 17), quanto na análise corrigida (tabelas 26 e 27).

Figura 15 – Adiponectina vs genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* no grupo DEPP



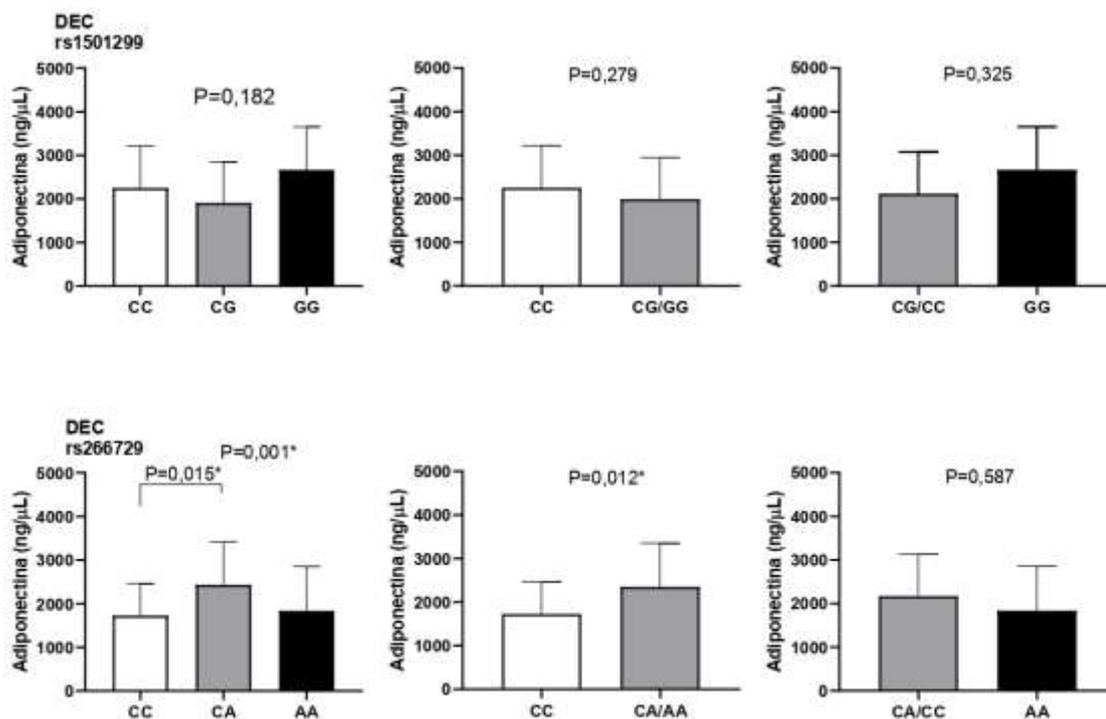
Valos expressos como média \pm desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * $P < 0,05$ significativo

Tabela 24– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de adiponectina no grupo DEPP

DEPP (n= 67)		Aditivo R ² = 0,27 RMSE = 0,23		Dominante R ² = 0,26 RMSE = 0,23		Recessivo R ² = 0,24 RMSE = 0,23	
Modelo		β	P	β	P	β	P
Idade (anos)		+0.01	0.066	+0.01	0.038*	+0.01	0.024*
Tabagismo							
	<i>Fumante</i>	+0.08	0.263	+0.08	0.244	+0.08	0.265
	<i>Ex-fumantes</i>	-0.07	0.136	-0.07	0.114	-0.07	0.170
	<i>Não - fumantes</i>	-0.01	0.888	-0.01	0.893	-0.01	0.796
Diabéticos (sim)		-0.04	0.347	-0.04	0.325	-0.04	0.339
Hipertensos (sim)		+0,02	0,591	+0,02	0,599	+0,01	0,865
Alcoolismo ^a		+0,17	0,009*	+0,17	0,009*	+0,17	0,009*
ADIPOQ							
rs1501299	CC	-0,09	0,068	-0,07	0,037*	+0,06	0,080
	CG	+0,05	0,354	+0,07	0,037*		
	GG	+0,04	0,581			-0,06	0,080
		Global P = 0,106		Global P = 0,037*		Global P = 0,080	
rs266729	CC	-0,05	0,247	-0,03	0,261	+0,01	0,951
	CA	-0,01	0,946	+0,03	0,261		
	AA	+0,05	0,307			-0,01	0,951
		Global P = 0,467		Global P=0,261		Global P = 0,951	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Figura 16– Adiponectina vs genótipos dos SNP da *ADIPOQ* no grupo DEC



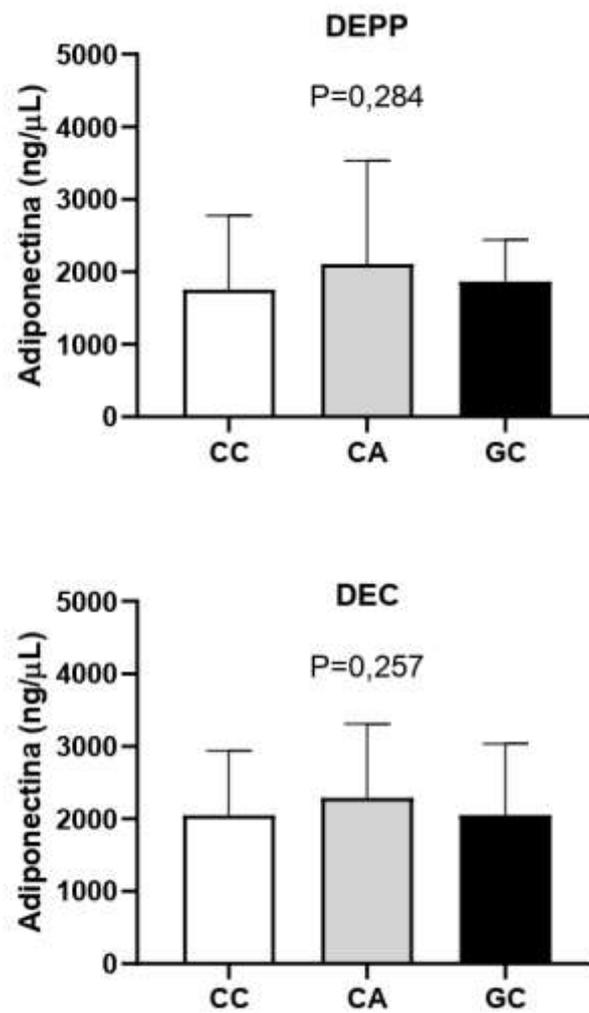
Valos expressos como média ± desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * P < 0,05 significativo

Tabela 25– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de adiponectina no grupo DEC

DEC (n= 65)		Aditivo R ² = 0,22 RMSE = 0,20		Dominante R ² = 0,14 RMSE = 0,21		Recessivo R ² = 0,11 RMSE = 0,21	
Modelo		β	P	β	P	β	P
Idade (anos)		+0,01	0,183	+0,00	0,101	+0,01	0,115
Tabagismo							
	<i>Fumante</i>	-0,01	0,963	+0,01	0,877	+0,00	0,955
	<i>Ex-fumantes</i>	+0,01	0,796	-0,002	0,956	-0,01	0,846
	<i>Não - fumantes</i>	-0,01	0,855	-0,01	0,899	+0,01	0,910
	Diabéticos (sim)	-0,01	0,978	-0,02	0,450	-0,02	0,452
	Hipertensos (sim)	+0,01	0,738	+0,01	0,723	+0,02	0,427
	Alcoolismo ^a	+0,05	0,308	+0,06	0,289	+0,05	0,395
ADIPOQ							
rs1501299	CC	-0,01	0,875	+0,02	0,403	-0,06	0,369
	CG	-0,10	0,053	-0,02	0,403		
	GG	+0,11	0,204			+0,06	0,369
		Global P = 0,133		Global P = 0,403		Global P = 0,369	
rs266729	CC	-0,02	0,244	-0,04	0,162	+0,04	0,463
	CA	+0,10	0,024	+0,04	0,162		
	AA	-0,08	0,629			-0,04	0,463
		Global P = 0,064		Global P=0,162		Global P = 0,463	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Figura 17– Adiponectina vs haplótipos do gene *ADIPOQ* no grupo DEPP e DEC



Valores expressos como média \pm desvio padrão, teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's. Haplótipos GA foi excluído da análise por ter frequência <1%. * P <0,05 significativo

Tabela 26– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos Haplótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de Adiponectina no grupo DEPP

DEPP (n= 134)		R² = 0,23	
Modelo		RMSE = 0,23	
		β	P
Idade (anos)		+0,01	0,005*
Tabagismo			
	<i>Fumante</i>	+0,08	0,093
	<i>Ex-fumantes</i>	-0,08	0,016*
	<i>Não - fumantes</i>	-0,01	0,911
Diabéticos (sim)		-0,03	0,205
Hipertensos (sim)		+0,01	0,562
Alcoolismo ^a		+0,16	0,003*
<i>ADIPOQ</i>			
Haplotype	CC	-0,09	0,039
	CA	-0,03	0,578
	GC	+0,01	0,779
Global P= 0,148			

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados. * P <0,05 significativo

Tabela 27– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos Haplótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de Adiponectina no grupo DEC

DEC (n= 129)		R² = 0,09	
Modelo		RMSE = 0,21	
		β	P
Idade (anos)		+0,01	0,009*
Tabagismo			
	<i>Fumante</i>	+0,01	0,864
	<i>Ex-fumantes</i>	-0,01	0,694
	<i>Não - fumantes</i>	+0,01	0,872
Diabéticos (sim)		-0,03	0,126
Hipertensos (sim)		+0,02	0,322
Alcoolismo ^a		+0,05	0,169
<i>ADIPOQ</i>			
Haplotype	CC	-0,01	0,924
	CA	+0,03	0,346
	GC	-0,02	0,452
		Global P= 0,618	

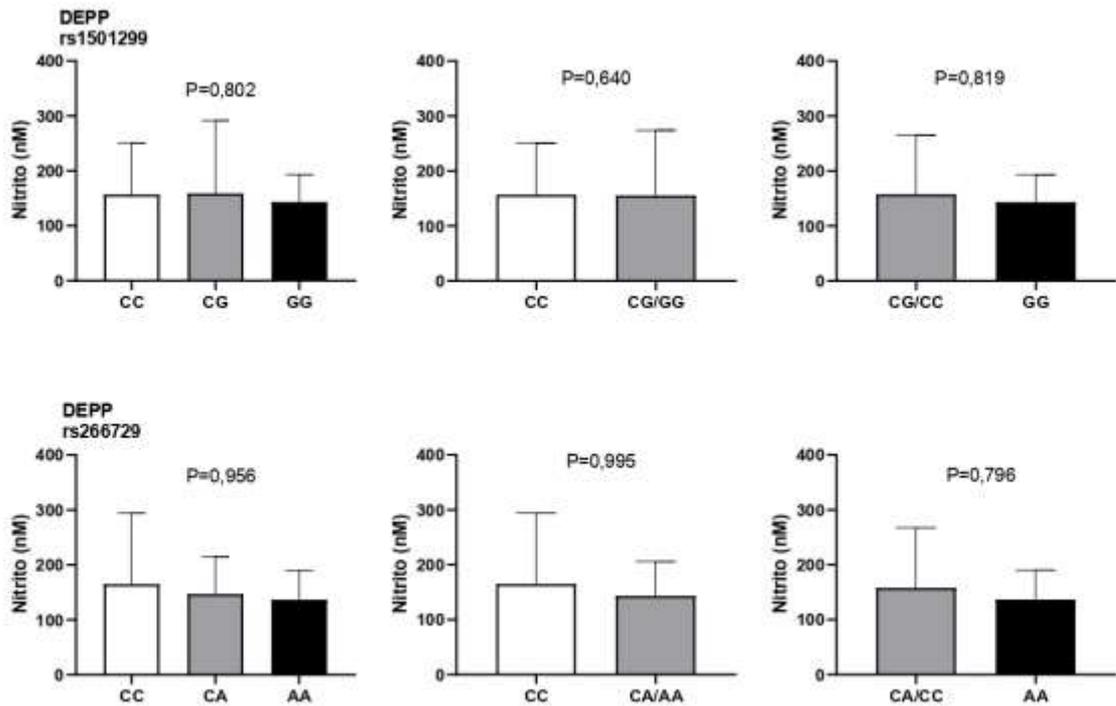
R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados. * P <0,05 significativo

Por fim, foram feitas as análises de associação entre os valores de Nitrito e os polimorfismos estudados.

As figuras 18, 19 e 20 mostram os valores de Nitrito e os genótipos e haplótipos dos polimorfismos estudados, no grupo DEPP e DEC respectivamente. Não foram encontrados resultados com significância estatística.

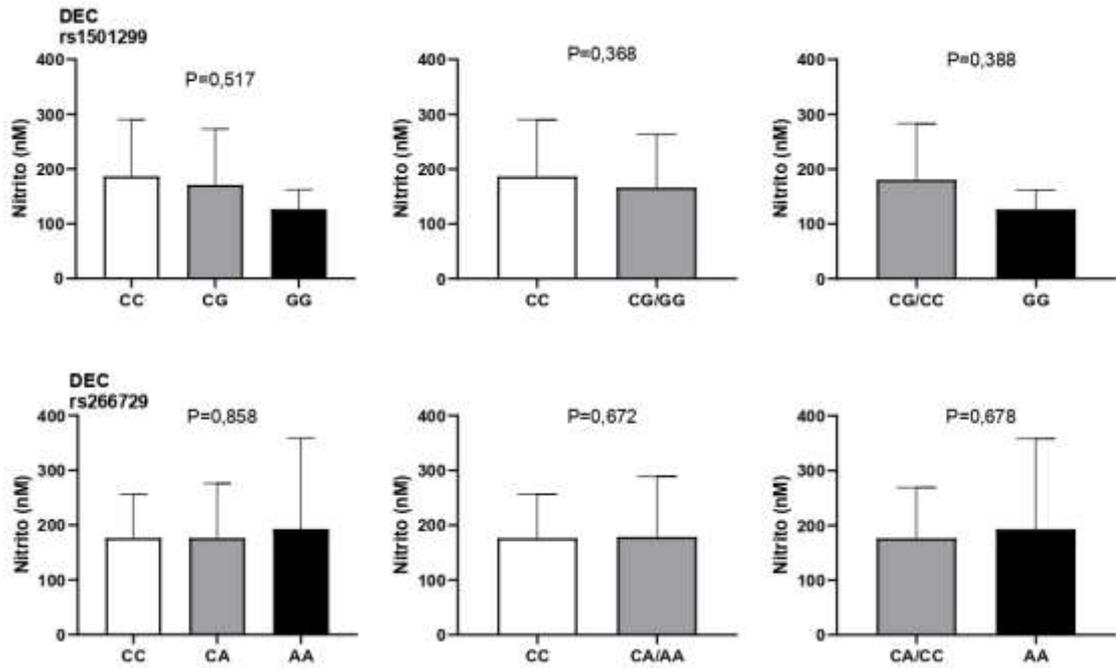
As tabelas 28, 29, 30 e 31 desmontam a regressão linear multivariada também mostrando a ausência de associação entre os polimorfismos estudados e as concentrações plasmáticas de nitrito, de forma análoga à análise sem correção no grupo DEPP e DEC. Resultado anterior se manteve.

Figura 18– Nitrito vs genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* no grupo DEPP



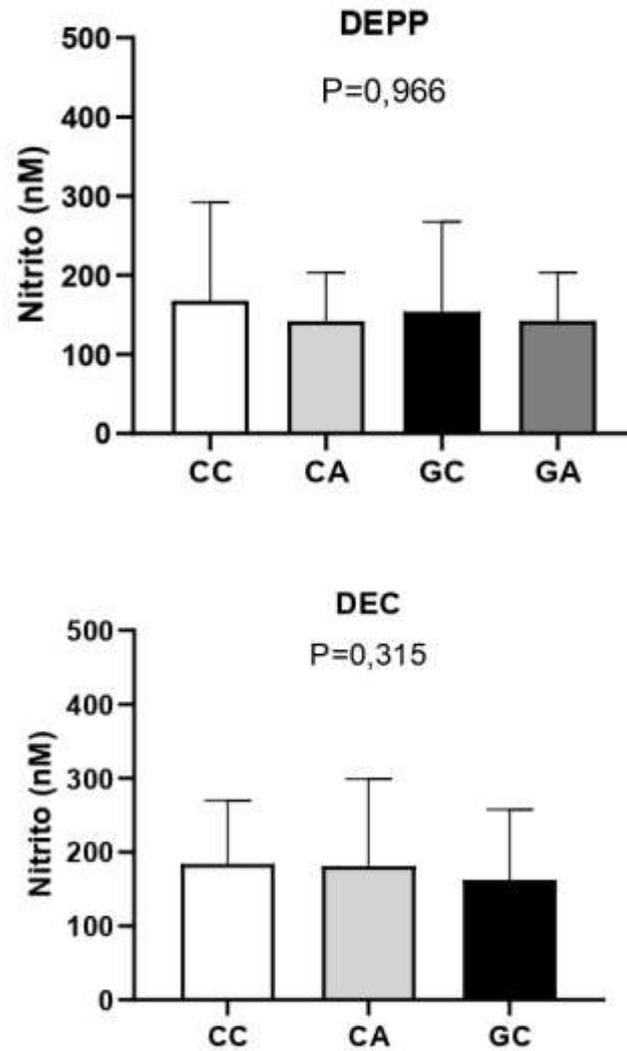
Valos expressos como média \pm desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * $P < 0,05$ significativo

Figura 19– Nitrito vs genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* no grupo EDC



Valos expressos como média \pm desvio padrão. Para modelo aditivo foi realizado teste de Kruskal Wallis com pós teste de Dunn's, modelo dominante e recessivo teste de Mann Whitney. * $P < 0,05$ significativo

Figura 20- Nitrito vs haplótipos do gene *ADIPOQ* no grupo DEPP e DEC



Valores expressos como média \pm desvio padrão, teste de Kruskal Wallis com pós-teste de Dunn's. Haplótipo GA foi excluído da análise por ter frequência <1%. * P <0,05 significativo

Tabela 28– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo DEPP

DEPP (n= 66) Modelo	Aditivo R ² = 0,09 RMSE = 107,76		Dominante R ² = 0,09 RMSE = 105,86		Recessivo R ² = 0,09 RMSE = 105,91		
	β	P	β	P	β	P	
	Idade (anos)	-3,33	0,147	-3,27	0,136	-3,46	0,117
Tabagismo							
<i>Fumante</i>	-21,66	0,501	-21,73	0,491	-21,80	0,489	
<i>Ex-fumantes</i>	+1,90	0,934	+2,11	0,924	+1,09	0,961	
<i>Não - fumantes</i>	+19,76	0,379	+19,62	0,372	+20,71	0,341	
Diabéticos (sim)	+4,43	0,793	+4,28	0,795	+4,05	0,806	
Hipertensos (sim)	+15,12	0,311	+14,76	0,300	+15,64	0,262	
Alcoolismo ^a	-2,25	0,939	-2,45	0,932	-2,65	0,927	
<i>ADIPOQ</i>							
rs1501299	CC	+4,02	0,862	+3,86	0,788	-3,47	0,813
	CG	-4,14	0,862	-3,86	0,788		
	GG	+0,12	0,997			+3,47	0,813
		Global P = 0,966		Global P = 0,788		Global P = 0,813	
rs266729	CC	+8,16	0,701	+6,74	0,643	-5,04	0,731
	CA	-5,60	0,786	-6,74	0,643		
	AA	-2,56	0,918			+5,04	0,731
		Global P = 0,915		Global P=0,643		Global P = 0,731	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Tabela 29– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos genótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo DEC

DEC(n= 68) Modelo	Aditivo R ² = 0,16 RMSE = 0,22		Dominante R ² = 0,15 RMSE = 0,22		Recessivo R ² = 0,14 RMSE = 0,22	
	β	P	β	P	β	P
Idade (anos)	-0,01	0,810	-0,01	0,848	-0,01	0,572
Tabagismo						
<i>Fumante</i>	+0,04	0,423	+0,04	0,356	+0,05	0,344
<i>Ex-fumantes</i>	+0,018	0,641	+0,01	0,706	+0,02	0,653
<i>Não - fumantes</i>	-0,06	0,165	-0,06	0,156	-0,06	0,120
Diabéticos (sim)	+0,02	0,495	+0,02	0,513	+0,02	0,419
Hipertensos (sim)	+0,07	0,031*	+0,07	0,026	+0,06	0,035*
Alcoolismo ^a	-0,01	0,936	-0,01	0,988	-0,01	0,955
<i>ADIPOQ</i>						
rs1501299						
CC	+0,07	0,245	+0,03	0,270	+0,04	0,543
CG	+0,01	0,987	-0,03	0,270		
GG	-0,07	0,465			-0,04	0,543
	Global P = 0,465		Global P = 0,270		Global P = 0,543	
rs266729						
CC	+0,05	0,321	+0,03	0,363	+0,02	0,746
CA	-0,01	0,865	-0,03	0,363		
AA	-0,04	0,527			-0,02	0,746
	Global P = 0,603		Global P= 0,363		Global P = 0,746	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio, Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados ^a Consumo de etanol >30 g/dia * P <0,05 significativo

Tabela 30– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos Haplótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo DEPP

PPED (n= 132)			
Modelo		R² = 0,06	
		RMSE = 0,21	
		β	P
Idade (anos)		-0,01	0,040*
Tabagismo			
	<i>Fumante</i>	-0,05	0,230
	<i>Ex-fumantes</i>	+0,01	0,641
	<i>Não - fumantes</i>	+0,04	0,194
Diabéticos (sim)		+0,01	0,541
Hipertensos (sim)		-0,01	0,886
Alcoolismo ^a		-0,02	0,656
<i>ADIPOQ</i>			
Haplotype	CC	+0,02	0,568
	CA	-0,01	0,862
	GC	-0,02	0,627
	GA	+0,01	0,949
		Global P= 0,809	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados. * P <0,05 significativo

Tabela 31– Regressão linear multivariada mostrando o efeito dos Haplótipos dos SNP do gene da *ADIPOQ* sobre os valores de concentração plasmática de nitrito no grupo DEC

DEC (n= 135)		R² = 0,15 RMSE = 0,21	
Modelo		β	P
Idade (anos)		-0,01	0,491
Tabagismo			
	<i>Fumante</i>	+0,05	0,160
	<i>Ex-fumantes</i>	+0,02	0,492
	<i>Não - fumantes</i>	-0,06	0,023*
Diabéticos (sim)		+0,02	0,228
Hipertensos (sim)		+0,06	0,002*
Alcoolismo ^a		-0,01	0,947
<i>ADIPOQ</i>			
Haplotype	CC	-0,03	0,167
	CA	-0,01	0,777
	GC	+0,04	0,336
		Global P= 0,376	

R², parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE, erro quadrático médio. Os valores de concentração plasmática de nitrito foram logaritmicamente transformados. * P <0,05 significativo

6 DISCUSSÃO

Na primeira vertente desse trabalho (estudo caso-controle) tivemos como resultados principais que os níveis de adiponectina estavam elevados no grupo paciente quando comparado com o grupo controle e foi encontrada uma relação negativa entre os níveis de nitrito e adiponectina no grupo paciente. O haplótipo CA foi associado a maior risco para DE, porém o haplótipo GA foi caracterizado como um haplótipo de proteção, enquanto pacientes portadores do genótipo CC tiveram uma melhor pontuação no score IIEF.

Quanto no estudo de resposta, não foi encontrada associação quando os níveis plasmáticos de adiponectina e a resposta ao tratamento com sildenafil quanto a associação genética grupo DEPP, portadores do genótipo heterozigoto do rs266729 CA tiveram uma pior resposta ao sildenafil já os portadores do genótipo CC apresentaram uma melhora na pontuação do domínio IIEF pós-tratamento maior pontuação no Δ IIEF e maior MRP% quando comparado com genótipo CA+AA. No grupo DEC portadores do genótipo CC do rs1501299 tiveram uma melhora na pontuação do domínio IIEF após o tratamento com sildenafil. O genótipo CC do rs1501299 no grupo DEPP foi associado a menores níveis de adiponectina enquanto que os portadores dos genótipos CG+GG apresentaram maiores níveis de adiponectina. Em todas as análises para ambos os grupos não foram encontradas associações com significância estatística em para os haplótipo e níveis de nitrito.

A adiponectina é um hormônio secretado pelos tecidos adiposos que tem ação anti-inflamatória e atua aumentando a sensibilidade à insulina, a oxidação de ácidos graxos e a utilização de glicose (Kershaw and Flier 2004). A redução nos níveis de adiponectina desempenha um papel fundamental nas doenças relacionadas à obesidade, incluindo diabetes e doenças cardiovasculares (Ouchi et al. 2003), foi essa diminuição marcada em doenças de fundo metabólico e arterial levou os pesquisadores a estudar o que levaria a alteração desses níveis, é plausível presumir que a genética tenha um impacto na alteração desses níveis.

Nossos resultados diferem da literatura atual uma vez que homens com disfunção erétil clínica apresentaram maiores níveis de adiponectina quando comparado com o grupo controle. Além disso há relatos na literatura apontando a diminuição da adiponectina em quadros de doenças como a obesidade (Sparrenberger et al. 2018), doença comorbida com a DE. Ainda não havia estudos que avaliassem os níveis de adiponectina frente a disfunção erétil além disso o próprio mecanismo de variação dos níveis de adiponectina carece de explicação completa. Em diferentes estudos, os níveis de adiponectina também variaram de acordo com idade, sexo e estágio puberal, além da alimentação (Artimani et al. 2016, Sparrenberger et al. 2018). Uma explicação plausível para o fato do aumento da adiponectina no grupo paciente está no chamado “paradoxo” da adiponectina (Teoh et al. 2006). Níveis mais altos de adiponectina foram associados ao alto risco de morte ou infarto em populações com evento cardiovasculares adversos, o que hipoteticamente não deveria ocorrer, levando em consideração o papel a proteção vascular promovida pela adiponectina (Cavusoglu et al. 2006). Segundo os autores (Teoh et al. 2006), os níveis mais altos de adiponectina podem ser uma resposta ao meio inflamatório que desencadeia uma expressão, síntese e liberação aumentadas da adiponectina, em uma tentativa fisiológica de limitar danos endoteliais adicionais. Outra explicação plausível é a regulação negativa dos receptores da adiponectina (Kreth et al. 2014). Em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva foram reportados níveis plasmáticos elevados de adiponectina, mas sua expressão miocárdica muito baixa. Nesses pacientes, foi identificado um miRNA (mir-150) que reprimiu especificamente a expressão de AdipoR2 nesta população de pacientes, o que poderia justificar a ausência de um efeito protetor dessa adipocina.

Embora algumas explicações tenham sido propostas e estudadas, o mecanismo biológico subjacente à relação paradoxal entre níveis mais elevados de adiponectina e eventos cardiovasculares é desconhecido.

Alguns fármacos alteram os níveis de adiponectina aumentando em resposta aos agonistas do receptor γ (PPAR γ) ativado por proliferadores de peroxissoma tiazolidinedionas (TZDs) (Wang et al. 2018) . Desde o advento do TZD, uma classe de drogas sensibilizadoras de insulina usadas para tratar o DM2, vários estudos abordaram a questão de saber se essa ação poderia ser mediada por uma regulação positiva da adiponectina. Os TZDs estimulam uma produção substancial de adiponectina e, considerando que o PPAR γ é predominantemente expresso no tecido adiposo e o tecido adiposo parece essencial para os TZDs melhorarem a sensibilidade à insulina, isso sugere um papel central para a adiponectina na melhora da sensibilidade à insulina observada com os TZDs.(Polyzos and Mantzoros 2016). Nessa mesma linha, um antagonista do receptor canabinoide tipo 1, rimonabant foi associado ao aumento na adiponectina plasmática (+46,2%) em ratos obesos. O aumento da adiponectina está, em parte, relacionado à perda de peso, além de um efeito direto do rimonabant em promover a expressão do mRNA da adiponectina (Thornton-Jones et al. 2006). Há um único estudo que avaliou o efeito do tratamento com sildenafil sobre os níveis de adiponectina, (Areola et al. 2021). Nesse estudo se utilizou ratos Wistar fêmeas, mostrando que o sildenafil era capaz de aumentar os níveis de adiponectina placentária em um tratamento associado a testosterona (Areola et al. 2021). Porém mais uma vez os mecanismos associados a alterações nos níveis de adiponectina causados por fármacos carecem de explicações. Mas as observações reportadas trazem importantes perspectivas quanto ao possível papel dessa adipocina na doença e tratamento. É importante ressaltar que em estudos de associação clínicos é muitas vezes impossível retirar dos estudos os pacientes que utilizam medicamentos que potencialmente modulem os níveis de adiponectina, o que torna ainda impossível a clarificação de um mecanismo para essas associações em humanos.

Quanto aos níveis de adiponectina e NO sabe-se que de ambos são importantes para o bom funcionamento do sistema vascular. Neste estudo avaliamos também a relação entre os níveis de adiponectina e nitrito e observamos uma relação negativa entre os níveis de nitrito e adiponectina.

Em camundongos nocaute para adiponectina (camundongos adiponectina $-/-$), o vaso relaxamento aórtico induzido por acetilcolina foi prejudicado, acompanhado por produção aumentada de superóxido e peroxinitrito. A expressão de eNOS foi conservada em camundongos adiponectina ($-/-$), mas a fosforilação de NO e eNOS foi significativamente reduzida além disso a adiponectina é capaz de estimular a migração e diferenciação de células endoteliais para a estrutura vascular capilar para prevenir a morte de células endoteliais, bem como proteger as células endoteliais dentro da vasculatura através da promoção da fosforilação de eNOS e aumento da síntese de NO (Cao et al. 2009). Na literatura em células endoteliais, a adiponectina aumenta a atividade da NOS3 induzindo a fosforilação enzimática e a formação de complexos com Hsp90 através da ativação da AMPK (Chen et al. 2003) A diminuição dos níveis de adiponectina pode reduzir a síntese de óxido nítrico induzida pela adiponectina, prejudicando seus efeitos benéficos sobre o tônus vascular. Assim, era esperado encontrar um efeito oposto ao que reportamos aqui. Esta questão é condizente com o fato de que também ficamos surpresos ao constatar que os pacientes tem maiores níveis de adiponectina e nitrito que os controles sem DE. Uma possibilidade para explicar isto poderia ser que o nitrito no plasma teria origem não apenas do endotélio, como consequência da produção recente de NO pela eNOS (Oliveira-Paula et al. 2016), mas também poderia em grande parte ter origem na inflamação via enzima iNOS. No caso da inflamação, a adiponectina aumentada poderia ser um mecanismo compensatório em uma tentativa de aumentar mediadores anti-inflamatórios, porém no balanço entre mediadores pró e antiinflamatórios teríamos essa situação observada em nossos pacientes.

Em relação aos marcadores genéticos estudados, neste trabalho os pacientes portadores do genótipo CC do rs266729 foram associados com uma melhor resposta ao Sildenafil em todos os parâmetros analisados em contrapartida portadores do genótipo CA tiveram uma pior resposta.

Um estudo anterior fez a avaliação desse polimorfismo em relação à resposta a anti-hipertensivos (de Faria et al. 2015). Os autores avaliaram a associação do rs266729 com

hipertensão resistente, caracterizada por como pressão arterial descontrolada apesar do uso de ≥ 3 agentes anti-hipertensivos de diferentes classes ou pressão arterial controlada com uso de ≥ 4 agentes. Apesar de não ter sido encontrada associação dos genótipos do polimorfismo rs266729 com alterações na resposta para o tratamento para a hipertensão resistente, foi encontrada associação dos níveis de adiponectina com menores níveis em portadores do alelo G em comparação com o genótipo CC. É importante ressaltar que alelo G foi significativamente associado com maior risco para hipertensão e também a pacientes necessitaram de maior número de medicamentos anti-hipertensivos para controlar a pressão arterial (de Faria et al. 2015).

Em relação ao aspecto funcional, o alelo G mostrou alterar um dos sítios de ligação da proteína estimuladora da transcrição (SP1). Assim, a presença do alelo G do polimorfismo rs266729 resulta na perda do sítio de ligação SP1 e, conseqüentemente, afeta a regulação e reduz a expressão do gene da adiponectina (Zhang et al. 2009), o que foi observado experimentalmente em condições basais e estimuladas em adipócitos 3T3-L1 de camundongos (Laumen et al. 2009).

Nossos achados corroboram com o estudo de (Cunha et al. 2023), em uma amostra de 196 pacientes com adesão à terapia anti-hipertensiva agrupados em controlados (PA < 140/90 mmHg) e hipertensos não controlados (PA $\geq 140/90$ mmHg). De fato, foi encontrada uma associação do SNP rs266729 da *ADIPOQ* com hipertensão não controlada, onde portadores do genótipo CG (modelo aditivo) foram associados a níveis mais altos de pressão arterial sistólica e pressão arterial média quando comparados com portadores do genótipo ancestral. Diferentemente dos nossos achados onde o haplótipo GA foi caracterizado como um haplótipo de proteção, os autores descrevem uma associação do haplótipo GT formado pelos alelos dos SNPs *ADIPOQ* rs266729 e rs1501299 com hipertensão não controlada e níveis mais elevados de pressão arterial média e pressão arterial diastólica (Cunha et al. 2023).

Já o genótipo CC rs1501299 por sua vez foi associado a menores níveis de adiponectina (de Faria et al. 2015, de Luis et al. 2019) em estudo que avaliou esse mesmo polimorfismo frente a uma dieta mediterrânea hipocalórica, portadores do genótipo GG apresentaram níveis mais elevados de adiponectina em condições de menor ingestão de fibras. Interessantemente outro estudo do avaliando o rs1501299 frente a pacientes com hipertensão resistente mostrou o inverso as concentrações de adiponectina foram significativamente menores no grupo GG em comparação com os portadores do alelo T(de Faria et al. 2015). Resultados conflitantes, principalmente devido às diferenças na população estudada entre os estudos. Não há dados sobre a funcionalidade deste SNP intrônico, embora *enhancers* tenham sido relatados em íntrons de genes de adiponectina (Qiao et al. 2005).

7 FORTALEZA E LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Algumas limitações deste estudo precisam ser citadas. A primeira é o número de participantes da pesquisa, que pode ser considerado pequeno, principalmente se comparado com estudos GWAS. Apesar disso, o número é relativamente robusto para as análises bioquímicas feitas aqui. Outro ponto é que o Brasil é um país miscigenado, ou seja, há aqui uma situação única em relação ao mundo que é uma interação entre fatores genéticos que usualmente não se encontram combinados nas diferentes populações do mundo. Isso pode tornar mais difícil transpor nossos resultados para outras populações diferentes. Outro fator complicador é a alimentação que pode interferir nos níveis de adiponectina, porém deixamos uma ressalva já que essa hipótese ainda está sendo estudada.

Dentre as fortalezas, este estudo é o pioneiro na sua hipótese, e é de fundamental importância para compreender a influência da adiponectina e dos polimorfismos genéticos da ADIPOQ, com a DE e seu tratamento associado. A subdivisão dos participantes do estudo de resposta em DEC e DEPP é um outro ponto de destaque, uma vez que, temos a representação de participantes que tiveram o comprometimento da sua função erétil por processo cirúrgico.

Por fim podemos citar como fortaleza o fato de que levamos em consideração na análise estatística os fatores de confusão, como idade, tabagismo, consumo de etanol, diabetes, os quais são clinicamente relevantes e estão envolvidos com o risco para desenvolvimento da DE e sua resposta aos iPDE-

8 CONCLUSÕES

Em conclusão, este estudo suporta as evidências já encontradas na literatura da alteração dos níveis de adiponectina, mas sendo inovador quanto a associação dos níveis dessa adipocina frente a DE. Pacientes com DE apresentaram níveis plasmáticos mais elevados de adiponectina. Concluimos também a partir desse estudo que os polimorfismos da *ADIPOQ* rs266729 e rs1501299, se associam a alterações na regulação dos níveis de adiponectina em pacientes com DE e os genótipos estão associados também ao resultado do tratamento com sildenafil.

9 REFERÊNCIAS

- Abdel-Hamid, I. A. & K. E. Andersson (2009) Pharmacogenetics and pharmacogenomics of sexual dysfunction: current status, gaps and potential applications. *Pharmacogenomics*, 10, 1625-44.
- Areola, E. D., I. J. Adewuyi, T. O. Usman, G. Tamunoibuomi, L. K. Arogundade, B. Olaoye, D. D. Matt-Ojo, A. O. Jeje, A. O. Oyabambi, E. A. Afolayan & L. A. Olatunji (2021) Sildenafil augments fetal weight and placental adiponectin in gestational testosterone-induced glucose intolerant rats. *Toxicol Rep*, 8, 1358-1368.
- Artimani, T., M. Saidijam, R. Aflatoonian, M. Ashrafi, I. Amiri, M. Yavangi, S. SoleimaniAsl, N. Shabab, J. Karimi & M. Mehdizadeh (2016) Downregulation of adiponectin system in granulosa cells and low levels of HMW adiponectin in PCOS. *J Assist Reprod Genet*, 33, 101-10.
- Ayta, I. A., J. B. McKinlay & R. J. Krane (1999) The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. *BJU Int*, 84, 50-6.
- Azevedo, A. M. M., G. Brites-Anselmi, L. C. Pinheiro, V. de Almeida Belo, F. B. Coeli-Lacchini, C. A. F. Molina, M. F. de Andrade, S. Tucci, E. Hirsch, J. E. Tanus-Santos & R. Lacchini (2017) Relationship between asymmetric dimethylarginine, nitrite and genetic polymorphisms: Impact on erectile dysfunction therapy. *Nitric Oxide*, 71, 44-51.
- Bivalacqua, T. J., H. C. Champion, S. K. Purohit, W. A. Murphy, D. H. Coy, P. J. Kadowitz & W. J. Hellstrom (2000) Nitric oxide-mediated erectile effects of galantide but not galanin in vivo. *Nitric Oxide*, 4, 94-102.
- Brock, G., G. L. Hsu, L. Nunes, B. von Heyden & T. F. Lue (1997) The anatomy of the tunica albuginea in the normal penis and Peyronie's disease. *J Urol*, 157, 276-81.
- Burnett, A. L., B. Musicki, L. Jin & T. J. Bivalacqua (2006) Nitric oxide/redox-based signalling as a therapeutic target for penile disorders. *Expert Opin Ther Targets*, 10, 445-57.
- Cao, Y., L. Tao, Y. Yuan, X. Jiao, W. B. Lau, Y. Wang, T. Christopher, B. Lopez, L. Chan, B. Goldstein & X. L. Ma (2009) Endothelial dysfunction in adiponectin deficiency and its mechanisms involved. *J Mol Cell Cardiol*, 46, 413-9.
- Cavusoglu, E., C. Ruwende, V. Chopra, S. Yanamadala, C. Eng, L. T. Clark, D. J. Pinsky & J. D. Marmur (2006) Adiponectin is an independent predictor of all-cause mortality, cardiac mortality, and myocardial infarction in patients presenting with chest pain. *Eur Heart J*, 27, 2300-9.
- Chen, H., M. Montagnani, T. Funahashi, I. Shimomura & M. J. Quon (2003) Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem*, 278, 45021-6.
- Cheng, K. K., K. S. Lam, Y. Wang, Y. Huang, D. Carling, D. Wu, C. Wong & A. Xu (2016) Erratum. Adiponectin-Induced Endothelial Nitric Oxide Synthase Activation and Nitric Oxide Production Are Mediated by APPL1 in Endothelial Cells. *Diabetes* 2007;56:1387-1394. *Diabetes*, 65, 3218.
- Claro, J. A., S. F. Ximenes, A. Nardoza, E. Andrade, L. Messina & M. Srougi (2003) Effect of sildenafil in cavernous arteries of patients with erectile dysfunction. *Int Braz J Urol*, 29, 320-6.
- Comiter, C. V., M. P. Sullivan, S. V. Yalla & I. Kifor (1997) Effect of angiotensin II on corpus cavernosum smooth muscle in relation to nitric oxide environment: in vitro studies in canines. *Int J Impot Res*, 9, 135-40.
- Cunha, W. R., L. C. Agostini, W. M. Dos Moreira, L. F. M Teixeira, W. C. Vital, G. N. da Silva, N. N. Silva, M. R. Luizon, G. H. Oliveira-Paula, A. A. Lima & V. A. Belo (2023) Effects of. *Pharmacogenomics*, 24, 269-281.

- de Faria, A. P., R. Modolo, A. R. Sabbatini, N. R. Barbaro, N. B. Corrêa, V. Brunelli, J. E. Tanus-Santos, V. Fontana & H. Moreno (2015) Adiponectin -11377C/G and +276G/T polymorphisms affect adiponectin levels but do not modify responsiveness to therapy in resistant hypertension. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 117, 65-72.
- de Luis, D. A., O. Izaola, D. Primo, E. Gómez-Hoyos, A. Ortola, J. J. López-Gómez & R. Aller (2019) Role of rs1501299 variant in the adiponectin gene on total adiponectin levels, insulin resistance and weight loss after a Mediterranean hypocaloric diet. *Diabetes Res Clin Pract*, 148, 262-267.
- Esposito, A., C. K. Cotta Filho & R. Lacchini (2022) Beyond eNOS: Genetic influence in NO pathway affecting drug response. *Genet Mol Biol*, 45, e20220157.
- Esposito, K., F. Giugliano, E. Martedì, G. Feola, R. Marfella, M. D'Armiento & D. Giugliano (2005) High proportions of erectile dysfunction in men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 28, 1201-3.
- Fulton, D., J. P. Gratton, T. J. McCabe, J. Fontana, Y. Fujio, K. Walsh, T. F. Franke, A. Papapetropoulos & W. C. Sessa (1999) Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. *Nature*, 399, 597-601.
- Fésüs, G., G. Dubrovská, K. Gorzelniak, R. Kluge, Y. Huang, F. C. Luft & M. Gollasch (2007) Adiponectin is a novel humoral vasodilator. *Cardiovasc Res*, 75, 719-27.
- Galic, S., J. S. Oakhill & G. R. Steinberg (2010) Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*, 316, 129-39.
- Gingerich, S. & T. L. Krukoff (2008) Activation of ERbeta increases levels of phosphorylated nNOS and NO production through a Src/PI3K/Akt-dependent pathway in hypothalamic neurons. *Neuropharmacology*, 55, 878-85.
- Giugliano, F., K. Esposito, C. Di Palo, M. Ciotola, G. Giugliano, R. Marfella, M. D'Armiento & D. Giugliano (2004) Erectile dysfunction associates with endothelial dysfunction and raised proinflammatory cytokine levels in obese men. *J Endocrinol Invest*, 27, 665-9.
- Goldstein, I., A. Goren, V. W. Li, W. Y. Tang & T. A. Hassan (2020) Epidemiology Update of Erectile Dysfunction in Eight Countries with High Burden. *Sex Med Rev*, 8, 48-58.
- González, A. I., S. W. Sties, P. G. Wittkopf, L. S. Mara, A. Z. Ulbrich, F. L. Cardoso & T. Carvalho (2013) Validation of the International Index of Erectile Function (IIFE) for use in Brazil. *Arq Bras Cardiol*, 101, 176-82.
- Gore, M. O., N. Lüneburg, E. Schwedhelm, C. R. Ayers, M. Anderssohn, A. Khera, D. Atzler, J. A. de Lemos, P. J. Grant, D. K. McGuire & R. H. Böger (2013) Symmetrical dimethylarginine predicts mortality in the general population: observations from the Dallas heart study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 33, 2682-8.
- Gratzke, C., J. Angulo, K. Chitale, Y. T. Dai, N. N. Kim, J. S. Paick, U. Simonsen, S. Uckert, E. Wespes, K. E. Andersson, T. F. Lue & C. G. Stief (2010) Anatomy, physiology, and pathophysiology of erectile dysfunction. *J Sex Med*, 7, 445-75.
- Grover, S. A., I. Lowensteyn, M. Kaouache, S. Marchand, L. Coupal, E. DeCarolis, J. Zoccoli & I. Defoy (2006) The prevalence of erectile dysfunction in the primary care setting: importance of risk factors for diabetes and vascular disease. *Arch Intern Med*, 166, 213-9.
- Hattori, Y., M. Suzuki, S. Hattori & K. Kasai (2003) Globular adiponectin upregulates nitric oxide production in vascular endothelial cells. *Diabetologia*, 46, 1543-9.
- Heidler, S., C. Temml, C. Broessner, K. Mock, M. Rauchenwald, S. Madersbacher & A. Ponholzer (2007) Is the metabolic syndrome an independent risk factor for erectile dysfunction? *J Urol*, 177, 651-4.
- Hong, H., F. Goodsaid, L. Shi & W. Tong (2010) Molecular biomarkers: a US FDA effort. *Biomark Med*, 4, 215-25.

- Ignarro, L. J., R. E. Byrns, G. M. Buga & K. S. Wood (1987) Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res*, 61, 866-79.
- Jackson, G. (2006) The metabolic syndrome and erectile dysfunction: multiple vascular risk factors and hypogonadism. *Eur Urol*, 50, 426-7.
- Kendirci, M., O. Tanriverdi, L. Trost & W. J. Hellstrom (2006) Management of sildenafil treatment failures. *Curr Opin Urol*, 16, 449-59.
- Kershaw, E. E. & J. S. Flier (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 2548-56.
- Kifor, I., G. H. Williams, M. A. Vickers, M. P. Sullivan, P. Jodbert & R. G. Dluhy (1997) Tissue angiotensin II as a modulator of erectile function. I. Angiotensin peptide content, secretion and effects in the corpus cavernosum. *J Urol*, 157, 1920-5.
- Kreth, S., C. Ledderose, S. Schütz, A. Beiras, J. Heyn, F. Weis & A. Beiras-Fernandez (2014) MicroRNA-150 inhibits expression of adiponectin receptor 2 and is a potential therapeutic target in patients with chronic heart failure. *J Heart Lung Transplant*, 33, 252-60.
- Kupelian, V., R. Shabsigh, A. B. Araujo, A. B. O'Donnell & J. B. McKinlay (2006) Erectile dysfunction as a predictor of the metabolic syndrome in aging men: results from the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol*, 176, 222-6.
- Laumen, H., A. D. Saningong, I. M. Heid, J. Hess, C. Herder, M. Claussnitzer, J. Baumert, C. Lamina, W. Rathmann, E. M. Sedlmeier, N. Klopp, B. Thorand, H. E. Wichmann, T. Illig & H. Hauner (2009) Functional characterization of promoter variants of the adiponectin gene complemented by epidemiological data. *Diabetes*, 58, 984-91.
- Lee, Y. C., C. H. Huang, C. J. Wang, C. C. Liu, W. J. Wu, L. L. Chang & H. H. Lin (2007) The associations among eNOS G894T gene polymorphism, erectile dysfunction and related risk factors. *BJU Int*, 100, 1116-20.
- Lüneburg, N., R. A. von Holten, R. F. Töpper, E. Schwedhelm, R. Maas & R. H. Böger (2012) Symmetric dimethylarginine is a marker of detrimental outcome in the acute phase after ischaemic stroke: role of renal function. *Clin Sci (Lond)*, 122, 105-11.
- McCabe, M. P., I. D. Sharlip, E. Atalla, R. Balon, A. D. Fisher, E. Laumann, S. W. Lee, R. Lewis & R. T. Segraves (2016) Definitions of Sexual Dysfunctions in Women and Men: A Consensus Statement From the Fourth International Consultation on Sexual Medicine 2015. *J Sex Med*, 13, 135-43.
- McKenna, K. E. (1998) Central control of penile erection. *Int J Impot Res*, 10 Suppl 1, S25-34.
- McMahon, C. N., C. J. Smith & R. Shabsigh (2006) Treating erectile dysfunction when PDE5 inhibitors fail. *BMJ*, 332, 589-92.
- Ohashi, K., N. Ouchi & Y. Matsuzawa (2011) Adiponectin and hypertension. *Am J Hypertens*, 24, 263-9.
- Oliveira-Paula, G. H., R. Lacchini & J. E. Tanus-Santos (2016) Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms. *Gene*, 575, 584-99.
- Ouchi, N., M. Ohishi, S. Kihara, T. Funahashi, T. Nakamura, H. Nagaretani, M. Kumada, K. Ohashi, Y. Okamoto, H. Nishizawa, K. Kishida, N. Maeda, A. Nagasawa, H. Kobayashi, H. Hiraoka, N. Komai, M. Kaibe, H. Rakugi, T. Ogihara & Y. Matsuzawa (2003) Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. *Hypertension*, 42, 231-4.
- Ouedraogo, R., Y. Gong, B. Berzins, X. Wu, K. Mahadev, K. Hough, L. Chan, B. J. Goldstein & R. Scalia (2007) Adiponectin deficiency increases leukocyte-endothelium interactions via upregulation of endothelial cell adhesion molecules in vivo. *J Clin Invest*, 117, 1718-26.

- Palit, V. & I. Eardley (2010) An update on new oral PDE5 inhibitors for the treatment of erectile dysfunction. *Nat Rev Urol*, 7, 603-9.
- Perticone, F., A. Sciacqua, R. Maio, M. Perticone, R. Maas, R. H. Boger, G. Tripepi, G. Sesti & C. Zoccali (2005) Asymmetric dimethylarginine, L-arginine, and endothelial dysfunction in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 46, 518-23.
- Polyzos, S. A. & C. S. Mantzoros (2016) Adiponectin as a target for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis with thiazolidinediones: A systematic review. *Metabolism*, 65, 1297-306.
- Qiao, L., P. S. Maclean, J. Schaack, D. J. Orlicky, C. Darimont, M. Pagliassotti, J. E. Friedman & J. Shao (2005) C/EBPalpha regulates human adiponectin gene transcription through an intronic enhancer. *Diabetes*, 54, 1744-54.
- Rondinone, C. M. (2006) Adipocyte-derived hormones, cytokines, and mediators. *Endocrine*, 29, 81-90.
- Rosen, R. C., J. C. Cappelleri & N. Gendrano (2002) The International Index of Erectile Function (IIEF): a state-of-the-science review. *Int J Impot Res*, 14, 226-44.
- Rosen, R. C., A. Riley, G. Wagner, I. H. Osterloh, J. Kirkpatrick & A. Mishra (1997) The international index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. *Urology*, 49, 822-30.
- Sattar, A. A., E. Wespes & C. C. Schulman (1994) Computerized measurement of penile elastic fibres in potent and impotent men. *Eur Urol*, 25, 142-4.
- Shinlapawittayatorn, K., S. Chattipakorn & N. Chattipakorn (2005) Effect of sildenafil citrate on the cardiovascular system. *Braz J Med Biol Res*, 38, 1303-11.
- Smith, W. B., I. R. McCaslin, A. Gokce, S. H. Mandava, L. Trost & W. J. Hellstrom (2013) PDE5 inhibitors: considerations for preference and long-term adherence. *Int J Clin Pract*, 67, 768-80.
- Sparrenberger, K., F. V. Cureau, G. H. Teló & B. D. Schaan (2018) Adiponectin levels in Brazilian adolescents: Distribution and associated factors in ERICA survey. *Clin Chim Acta*, 479, 126-131.
- Tain, Y. L., L. T. Huang, I. C. Lin, Y. T. Lau & C. Y. Lin (2010) Melatonin prevents hypertension and increased asymmetric dimethylarginine in young spontaneous hypertensive rats. *J Pineal Res*, 49, 390-8.
- Tan, K. C., A. Xu, W. S. Chow, M. C. Lam, V. H. Ai, S. C. Tam & K. S. Lam (2004) Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 765-9.
- Taylor, V. H. & G. M. Macqueen (2010) The Role of Adipokines in Understanding the Associations between Obesity and Depression. *J Obes*, 2010.
- Teoh, H., M. H. Strauss, P. E. Szmitko & S. Verma (2006) Adiponectin and myocardial infarction: A paradox or a paradigm? *Eur Heart J*, 27, 2266-8.
- Thornton-Jones, Z. D., G. A. Kennett, K. R. Benwell, D. F. Revell, A. Misra, D. M. Sellwood, S. P. Vickers & P. G. Clifton (2006) The cannabinoid CB1 receptor inverse agonist, rimonabant, modifies body weight and adiponectin function in diet-induced obese rats as a consequence of reduced food intake. *Pharmacol Biochem Behav*, 84, 353-9.
- Toda, N. & T. Okamura (1990) Possible role of nitric oxide in transmitting information from vasodilator nerve to cerebroarterial muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 170, 308-13.
- Wang, Q., J. Tang, S. Jiang, Z. Huang, A. Song, S. Hou, X. Gao & H. B. Ruan (2018) Inhibition of PPAR γ , adipogenesis and insulin sensitivity by MAGED1. *J Endocrinol*, 239, 167-180.
- Wang, Y., X. L. Ma & W. B. Lau (2017) Cardiovascular Adiponectin Resistance: The Critical Role of Adiponectin Receptor Modification. *Trends Endocrinol Metab*, 28, 519-530.
- Wang, Z. V. & P. E. Scherer (2008) Adiponectin, cardiovascular function, and hypertension. *Hypertension*, 51, 8-14.

- Yafi, F. A., L. Jenkins, M. Albersen, G. Corona, A. M. Isidori, S. Goldfarb, M. Maggi, C. J. Nelson, S. Parish, A. Salonia, R. Tan, J. P. Mulhall & W. J. Hellstrom (2016) Erectile dysfunction. *Nat Rev Dis Primers*, 2, 16003.
- Zhang, D., J. Ma, K. Brismar, S. Efendic & H. F. Gu (2009) A single nucleotide polymorphism alters the sequence of SP1 binding site in the adiponectin promoter region and is associated with diabetic nephropathy among type 1 diabetic patients in the Genetics of Kidneys in Diabetes Study. *J Diabetes Complications*, 23, 265-72.

10 ANEXOS

Anexo 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido

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 algumas variações comuns de alguns dos seus genes (que transmitem características hereditárias) que podem estar associadas a uma vulnerabilidade natural à disfunção erétil e podem alterar o sucesso do tratamento. Além disso, pretendemos estudar como estas variações 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 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 a 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 ou 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 DESTA PESQUISA.**

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. Silvio 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)

Anexo 2: Índice Internacional de Função Erétil (IIEF)

Número _____

Projeto "Bases Genéticas da disfunção erétil: Da resposta ao Stress à Produção de Oxido Nítrico"
Índice Internacional de Função Erétil (IIEF)

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?	<input type="radio"/> Sem atividade sexual <input type="radio"/> Quase sempre ou sempre <input type="radio"/> A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) <input type="radio"/> Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) <input type="radio"/> Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) <input type="radio"/> 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?	<input type="radio"/> Sem estimulação sexual <input type="radio"/> Quase sempre ou sempre <input type="radio"/> A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) <input type="radio"/> Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) <input type="radio"/> Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) <input type="radio"/> 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?	<input type="radio"/> Não tentei ter relação sexual <input type="radio"/> Quase sempre ou sempre <input type="radio"/> A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) <input type="radio"/> Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) <input type="radio"/> Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) <input type="radio"/> Quase nunca ou nunca
4. Nas últimas quatro semanas, durante uma relação sexual com que frequência você foi capaz de manter sua ereção após ter penetrado (entrado) na sua parceira?	<input type="radio"/> Não tentei ter relação sexual <input type="radio"/> Quase sempre ou sempre <input type="radio"/> A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) <input type="radio"/> Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) <input type="radio"/> Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) <input type="radio"/> 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?	<input type="radio"/> Não tentei ter relação sexual <input type="radio"/> Extremamente difícil <input type="radio"/> Muito difícil <input type="radio"/> Difícil <input type="radio"/> Pouco difícil <input type="radio"/> Não difícil
6. Nas últimas quatro semanas, quantas vezes você tentou ter relação sexual?	<input type="radio"/> Não tentou <input type="radio"/> 1-2 tentativas <input type="radio"/> 3-4 tentativas <input type="radio"/> 5-6 tentativas <input type="radio"/> 7-10 tentativas <input type="radio"/> 11 ou mais tentativas
7. Nas últimas quatro semanas, quando você tentou ter relação sexual com que frequência ela foi satisfatória para você?	<input type="radio"/> Não tentei ter relação sexual <input type="radio"/> Quase sempre ou sempre <input type="radio"/> A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) <input type="radio"/> Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) <input type="radio"/> Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) <input type="radio"/> Quase nunca ou nunca

8. Nas últimas quatro semanas, o quanto você aproveitou a relação sexual?	<input type="radio"/> Não teve relação sexual <input type="radio"/> Aproveitou extremamente <input type="radio"/> Aproveitou muito <input type="radio"/> Aproveitou um tanto <input type="radio"/> Aproveitou muito pouco <input type="radio"/> Não aproveitou
9. Nas últimas quatro semanas, quando você teve estimulação sexual ou relação sexual com qual frequência você teve uma ejaculação?	<input type="radio"/> Não teve estimulação sexual ou relação sexual <input type="radio"/> Quase sempre ou sempre <input type="radio"/> A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) <input type="radio"/> Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) <input type="radio"/> Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) <input type="radio"/> 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?	<input type="radio"/> Não teve estimulação sexual ou relação sexual <input type="radio"/> Quase sempre ou sempre <input type="radio"/> A maioria das vezes (muito mais que a metade das vezes) <input type="radio"/> Algumas vezes (aproximadamente a metade das vezes) <input type="radio"/> Poucas vezes (muito menos que a metade das vezes) <input type="radio"/> Quase nunca ou nunca
11. Nas últimas quatro semanas, com que frequência você tem sentido desejo sexual?	<input type="radio"/> Quase sempre ou sempre <input type="radio"/> Frequentemente (muito mais que a metade do tempo) <input type="radio"/> Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo) <input type="radio"/> Poucas vezes (muito menos que a metade do tempo) <input type="radio"/> Quase nunca ou nunca
12. Nas últimas quatro semanas, o quanto você consideraria o seu nível de desejo sexual?	<input type="radio"/> Muito alto <input type="radio"/> Alto <input type="radio"/> Moderado <input type="radio"/> Baixo <input type="radio"/> Muito baixo ou inexistente
13. Nas últimas quatro semanas, de modo geral, o quão satisfeito você tem estado com sua vida sexual?	<input type="radio"/> Muito satisfeito <input type="radio"/> Moderadamente satisfeito <input type="radio"/> Igualmente satisfeito e insatisfeito <input type="radio"/> Moderadamente insatisfeito <input type="radio"/> 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?	<input type="radio"/> Muito satisfeito <input type="radio"/> Moderadamente satisfeito <input type="radio"/> Igualmente satisfeito e insatisfeito <input type="radio"/> Moderadamente insatisfeito <input type="radio"/> Muito insatisfeito
15. Nas últimas quatro semanas, como você consideraria a sua confiança em conseguir ter e manter uma ereção?	<input type="radio"/> Muito alta <input type="radio"/> Alta <input type="radio"/> Moderada <input type="radio"/> Baixa <input type="radio"/> Muito baixa

Contato: Laboratório de Farmacogenética EERP
Telefone 3315 3447 ou 3315 9157
Responsáveis: Guilherme e Ana Maria

Anexo 3 – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO - USP 
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP
DADOS DA EMENDA
Título da Pesquisa: Bases genéticas da disfunção erétil: da resposta ao stress à produção de óxido nítrico
Pesquisador: Riccardo Lacchini
Área Temática: Genética Humana: (Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);
Versão: 3
CAAE: 51408515.9.0000.5393
Instituição Proponente: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
DADOS DO PARECER
Número do Parecer: 1.470.518
Apresentação do Projeto:
Trata-se de EMENDA ao Projeto que, originariamente, pretendia investigar as bases genéticas da disfunção erétil, conforme descrito em Parecer anterior deste CEP. Originariamente, eram recrutados 1000 sujeitos, sendo 500 no ambulatório de Urologia do HC de Ribeirão Preto e outros 500, como grupo de Controle, na População de Ribeirão Preto. Pretendia-se coletar amostra de sangue de cada um dos sujeitos para análises genéticas e bioquímicas.
A Emenda, conforme descrito no item 7 da mais recente versão do Projeto, é para que sejam incluídas também amostras PREVIAMENTE COLETADAS de pacientes, originários de outro estudo. Trata-se do Projeto "Farmacogenética do Tratamento de Controlados", aprovado pelo CEP do HCFMRP (ofício 2244 do ano de 2008). Tal projeto era de responsabilidade do Prof. Dr. José Tanus do Santos, que então é, neste projeto atual, incluído como colaborador. Naquele Projeto do ano de 2008 houve, como ora mostra o pesquisador, a coleta de amostras entre os anos de 2009 e 2012, também em 500 pacientes e em 500 membros da população, como controle.
A proposta de emenda, portanto, restringe-se ao uso dessas amostras já coletadas, para oferecer "um poder amostral razoável para nos permitir investigar polimorfismos mais raros".
Endereço: BANDERANTES 3900 Bairro: VILA MONTE ALEGRE CEP: 14.040-902 UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO Telefone: (16)3315-3286 E-mail: cep@wep.usp.br

Página 27 de 28

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE
RIBEIRÃO PRETO - USP



Continuação do Parecer: 1.470.516

Objetivo da Pesquisa:

Seguem os mesmos do projeto anterior: investigar bases genéticas e bioquímicas que predisponham à disfunção erétil.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Seguem os mesmos do parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O proposto na Emenda tem o objetivo de ampliar o aspecto amostral, a partir da comparação com amostras que já foram colhidas. Serão as amostras submetidas aos mesmos parâmetros, salvo a "avaliação psiquiátrica". Portanto, se ampliarão as avaliações bioquímicas e as genéticas sem, em nossa opinião, qualquer sacrifício ético.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Como documentos novos relevantes ao procedimento ético anexam-se: 1) a autorização de uso das amostras, firmada pelo Pesquisador do Projeto de 2008; e 2) Pedido de dispensa de NOVO TCLE para o aproveitamento das amostras do estudo anterior. Justifica o pedido, basicamente, com a impossibilidade de contatar os sujeitos do projeto de 2008, que já encerraram tratamento ambulatorial.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A justificativa para a dispensa do TCLE é plausível, de modo que, com a autorização do pesquisador do Projeto de 2008, não há impedimento ético para a ampliação do espectro da pesquisa, que certamente aumentará sua eficácia.

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer apreciado "ad referendum".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Typo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_676896_E1.pdf	09/03/2016 11:05:45		Aceito
Outros	TCLEdoprojetointigodaFMRP.doc	09/03/2016 11:05:08	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	EMENDApedidoaocepedispensaTCLE	09/03/2016	Riccardo Lacchini	Aceito

Endereço: BANDEIRANTES 3000
Bairro: VILA MONTE ALEGRE CEP: 14.040-902
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3315-3386 E-mail: cep@eerp.usp.br

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE
RIBEIRÃO PRETO - USP



Continuação do Process: 1.470.518

Outros	pdf	11:01:50	Riccardo Lacchini	Aceito
Declaração de Pesquisadores	autorizacaodeusodeamostraspelopesquisador.pdf	09/03/2016 11:00:53	Riccardo Lacchini	Aceito
Declaração de Pesquisadores	pedidoparausodeamostrasapoesquisador.pdf	09/03/2016 10:59:56	Riccardo Lacchini	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDisfuncaoereticlerp2015v4emendqa.pdf	09/03/2016 10:59:05	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	cartaderespostaocep.pdf	04/01/2016 14:43:18	Riccardo Lacchini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLErev2.pdf	04/01/2016 14:41:43	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	autorizacaocoletashchfmrp.pdf	30/11/2015 08:25:13	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	justificativanecessidadeutilizacaoefutura.pdf	29/11/2015 08:55:54	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	declsubmissaoestudosfuturos.pdf	29/11/2015 08:55:50	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	ORCAMENTO2.pdf	29/11/2015 08:53:58	Riccardo Lacchini	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoprgrandeassinada.pdf	23/11/2015 11:18:47	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	percepcaostress.pdf	29/10/2015 16:51:02	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	IEEF.doc	29/10/2015 16:49:48	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	YimarComeaNetoAnexoII.pdf	29/10/2015 16:41:31	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	SaudeMentaltracking0703.pdf	29/10/2015 16:41:10	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	EscalaBECKdeIdeacaoSuicida.pdf	29/10/2015 16:40:43	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	EscalaBECKdeDesesperanca.pdf	29/10/2015 16:39:20	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	entrevistaSCID.pdf	29/10/2015 16:37:28	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	ChildhoodTraumaQuestionnaire.docx	29/10/2015 16:37:15	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	Beckdepressao.doc	29/10/2015 16:37:04	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	BECKansiedade.doc	29/10/2015 16:36:51	Riccardo Lacchini	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMAv1.pdf	29/10/2015 16:34:03	Riccardo Lacchini	Aceito
Outros	EncaminhamentoCEPRiccardo.pdf	29/10/2015	Riccardo Lacchini	Aceito

Endereço: BANDEIRANTES 3900
Bairro: VILA MONTE ALEGRE CEP: 14.040-902
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3315-3388 E-mail: cep@eerp.usp.br

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE
RIBEIRÃO PRETO - USP



Continuação do Parecer: 1.470.518

Outros	Encaminhamento:CEPRRicardo.pdf	16:29:58	Ricardo Lacchini	Aceito
--------	--------------------------------	----------	------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRÃO PRETO, 30 de Março de 2016

Assinado por:
Claudia Benedita dos Santos
(Coordenador)

Endereço: BANDEIRANTES 3900
Bairro: VIA MONTE ALEGRE CEP: 14.040-902
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3315-3386 E-mail: cep@usp.usp.br

Página 03 de 08