

---

# El óxido nítrico en la erección: del laboratorio a la aplicación clínica

---

Iñigo Sáenz de Tejada y Gorman

Fundación para la Investigación y el Desarrollo en Andrología (FI + DA). Madrid.

---

## Introducción

La relajación del músculo liso del pene (de las arterias y del tejido trabecular) inicia y mantiene la erección. La liberación local de óxido nítrico (NO), desde nervios dilatadores autonómicos y el endotelio vascular, es fundamental en la iniciación y mantenimiento de este proceso. Las siguientes observaciones apoyan el papel del NO en la erección.

### *Estudios in vitro*

La relajación neurogénica y la dependiente del endotelio, tanto del músculo arterial como trabecular del cuerpo cavernoso, es inhibida o bloqueada por los siguientes tratamientos: inhibidores de la sintetasa del óxido nítrico (NOS) (p. ej., N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina o N<sup>G</sup>-metil-L-arginina), inhibidores de la guanilato ciclasa soluble/generadores de superóxido (p. ej., azul de metileno) y captadores del NO (p. ej., oxihemoglobina)<sup>1</sup>. El contacto de tiras de cuerpo cavernoso con acetilcolina o la estimulación eléctrica transmural de los nervios dilatadores da como resultado la acumulación de GMPc en este tejido<sup>2,3</sup> (fig. 1). La estimulación eléctrica transmural de tiras de cuerpo cavernoso estimula la formación de nitrito, un producto de oxidación del NO<sup>3</sup>. Finalmente, el NO y los donadores de NO son potentes dilatadores del músculo liso de las arterias y del tejido trabecular del cuerpo cavernoso<sup>1</sup>.

Estudios inmunohistoquímicos en tejidos del cuerpo cavernoso han demostrado una inmunoreactividad NOS-like presente en los nervios autonómicos y el endotelio<sup>4</sup>.

Homogenados del tejido del cuerpo cavernoso presentan una actividad considerable de NOS, como se ha demostrado mediante ensayos con citrulina<sup>2</sup> (fig. 2).

### *Estudios in vivo*

En animales experimentales (perro, conejo y rata), la estimulación eléctrica de los nervios pélvicos/plexos o raíces sacras (en las ratas) produce erección peneana<sup>4</sup>. Estas respuestas son inhibidas o bloqueadas por la administración local intracavernosa o sistémica de inhibidores de los NOS<sup>4</sup>. Además, la aplicación intracavernosa de donadores de NO produce erección.

---

## La presión de oxígeno modula la relajación del músculo liso del cuerpo cavernoso mediada por el óxido nítrico

---

La concentración de oxígeno a la que se exponen las tiras de cuerpo cavernoso modula la magnitud de la relajación neurogénica y la mediada por el endotelio del músculo liso del cuerpo cavernoso<sup>2</sup>. El oxígeno ejerce este control mediante la modulación de la síntesis del NO, debido a la dependencia de la NOS, una oxigenasa, del oxígeno molecular como sustrato. Esta observación es muy relevante a la fisiología y fisiopatología de la función eréctil. Las presiones de oxígeno fisiológicamente bajas presentes en el pene flácido pueden desempeñar un papel en el mantenimiento del estado flácido al inhibir la producción de NO, mientras que los incrementos insuficientes de las presiones de oxígeno (por enfermedad vascular) en el inicio de la erección puede impedir una respuesta eréctil completa. El umbral de la pO<sub>2</sub> para una síntesis completa del NO y, por tanto, para una relajación dependiente del endotelio y neurogénica máxima, es de aproximadamente 50 mmHg en el tejido del cuerpo cavernoso<sup>2</sup>. Las presiones de oxígeno inferiores a este valor crítico inhiben progresivamente la relajación de la formación y liberación de NO.

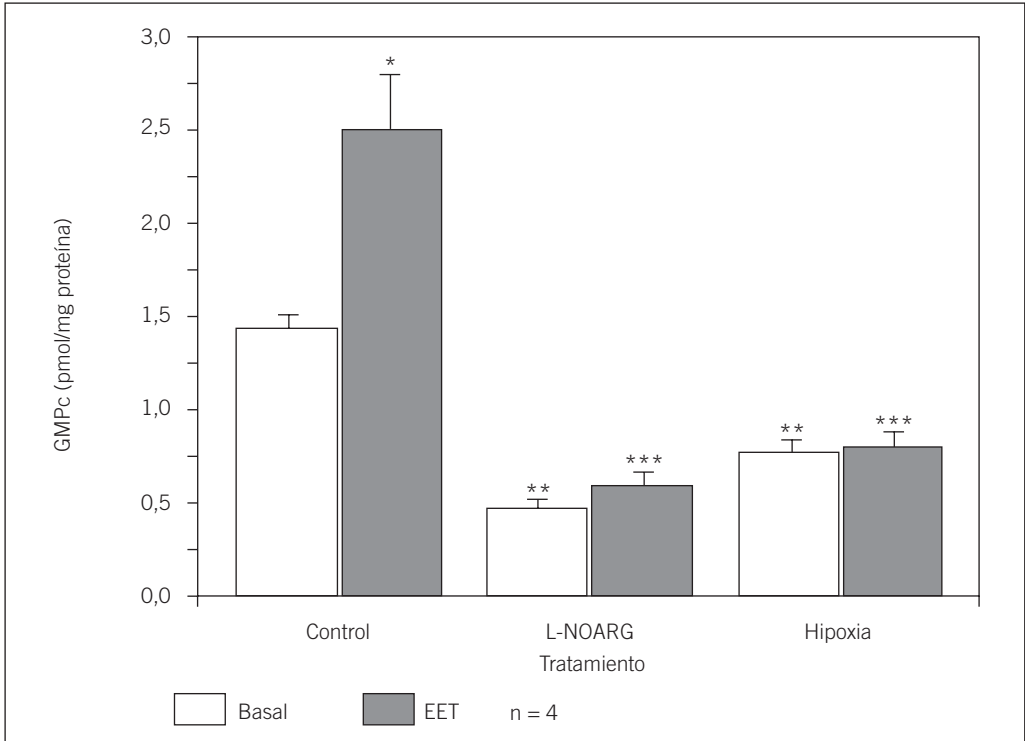


Fig. 1. Acumulación de GMP cíclico en el cuerpo cavernoso de conejo. Las tiras de cuerpo cavernoso se incubaron en solución salina fisiológica oxigenada (control,  $pO_2 = 145$  mmHg) a  $37^\circ\text{C}$  en presencia de indometacina ( $3\ \mu\text{M}$ ), bretilio ( $10\ \mu\text{M}$ ), atropina ( $0,1\ \mu\text{M}$ ), zaprinast ( $100\ \mu\text{M}$ ) y fenilefrina ( $1\ \mu\text{M}$ ). Algunos tejidos también se incubaron con  $N^G$ -nitro-L-arginina (L-NOARG;  $50\ \mu\text{M}$ ) o bajo condiciones de hipoxia. Todas las tiras de tejido fueron entonces sometidas a estimulación eléctrica transmural (EET) a 5 Hz durante 20 s, y rápidamente congeladas en nitrógeno líquido. Los tejidos se homogeneizaron en ácido perclórico y se determinó el contenido de GMPc por radioinmunoanálisis (RIA). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EE; \* $p < 0,025$  respecto al valor basal; \*\* $p < 0,0005$  respecto al valor basal en condiciones control; \*\*\* $p < 0,0005$  respecto al control estimulado eléctricamente.

### Modelos de enfermedad que interfieren con la relajación del músculo liso del pene mediada por el óxido nítrico

#### Hipercolesterolemia

Conejos blancos de Nueva Zelanda que reciben una dieta alta en colesterol (un 0,5% de colesterol y un 4% de aceite de cacahuete) durante un período de 8-10 semanas desarrollan hipercolesterolemia grave. Las concentraciones plasmáticas de colesterol de estos animales son de  $1.628 \pm 149$  mg/dl a las 10 semanas en comparación con  $53 \pm 10$  y  $33 \pm 3$  mg/dl en los animales de control<sup>5</sup>. Los tejidos del cuerpo cavernoso de animales alimentados con colesterol presentan una deficiente relaja-

ción, dependiente del endotelio, a la acetilcolina. En estos animales, las respuestas a los donadores del NO, como el nitroprusiato, son comparables a las registradas en los animales de control<sup>5</sup>, lo que indica que la hipercolesterolemia induce una alteración en la síntesis o en la disponibilidad de NO, preservándose la capacidad del músculo liso del pene de relajarse en respuesta a esta molécula.

#### Diabetes

La diabetes está fuertemente asociada a la probabilidad de desarrollar impotencia. Estudios in vitro han demostrado en tejido trabecular de pacientes diabéticos que la relajación mediada por el NO, tanto dependiente del en-

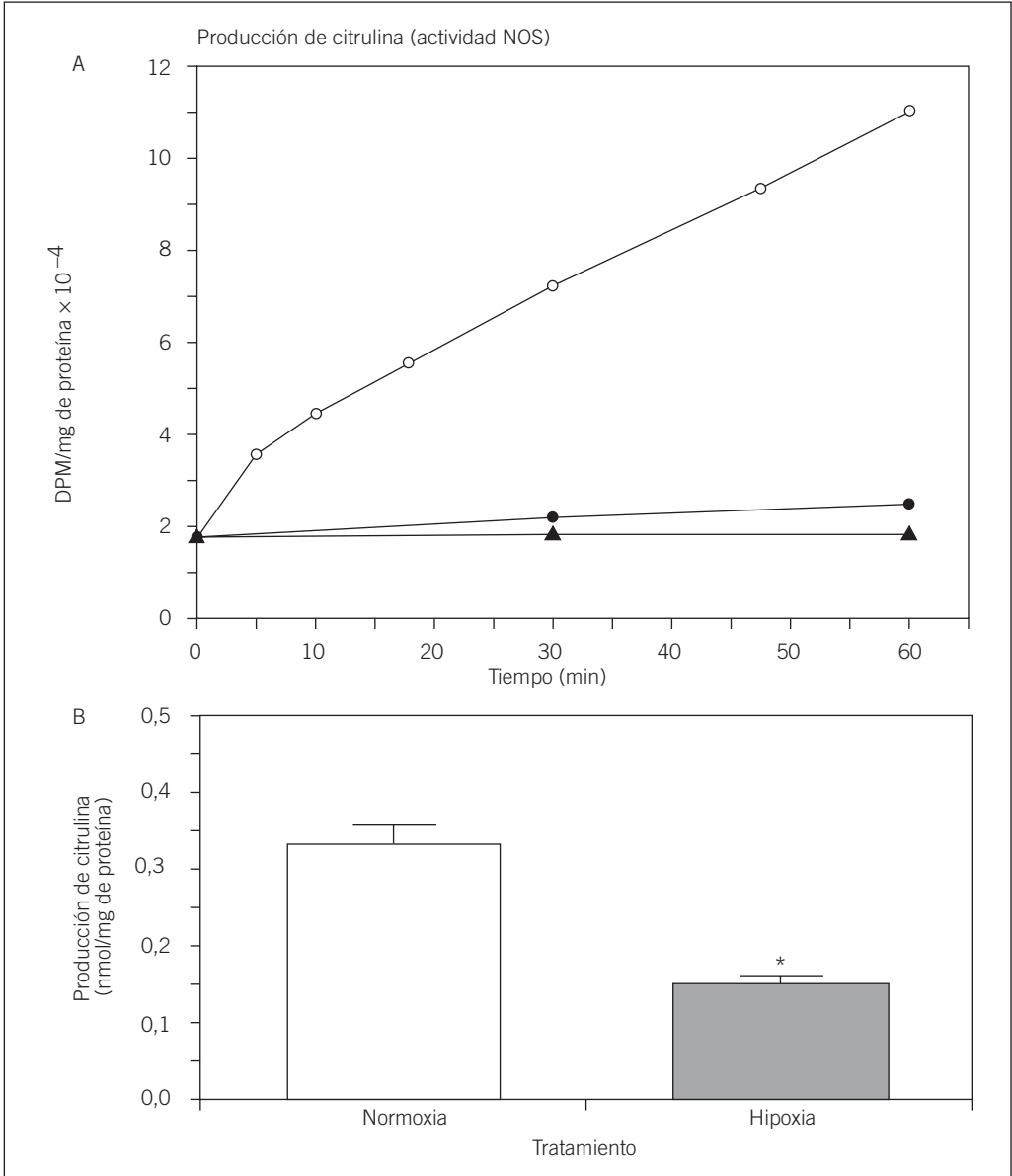


Fig. 2. Actividad de la NOS en tejido cavernoso de conejo. A: en función del tiempo. Las preparaciones citosólicas de cuerpo cavernoso de conejo se incubaron a 37 °C con L-[2,3-<sup>3</sup>H]-arginina durante períodos variables de tiempo (círculos blancos). Se realizaron incubaciones paralelas a 2 °C (círculos negros) y también a 37 °C en presencia de N<sup>6</sup>-nitro-L-arginina (L-NOARG; 30 μM) (triángulos blancos). En los tiempos indicados, la incubación se finalizó mediante la adición de 2 ml de tampón frío y se cuantificó la radiactividad empleando un contador de centelleo. Cada punto representa la media de los duplicados; B: efecto de la hipoxia. La fracción citosólica del cuerpo cavernoso de conejo se incubó a 37 °C con arginina tritiada bajo condiciones de normoxia (pO<sub>2</sub> = 130-150 mmHg) o de hipoxia (pO<sub>2</sub> = 15-25 mmHg). Se llevaron a cabo incubaciones paralelas a 2 °C para determinar la actividad inespecífica. La concentración de citrulina tritiada fue calculada restando la actividad inespecífica de la actividad total. Los valores se expresan como media ± EE (n = 6); \*p < 0,0005.

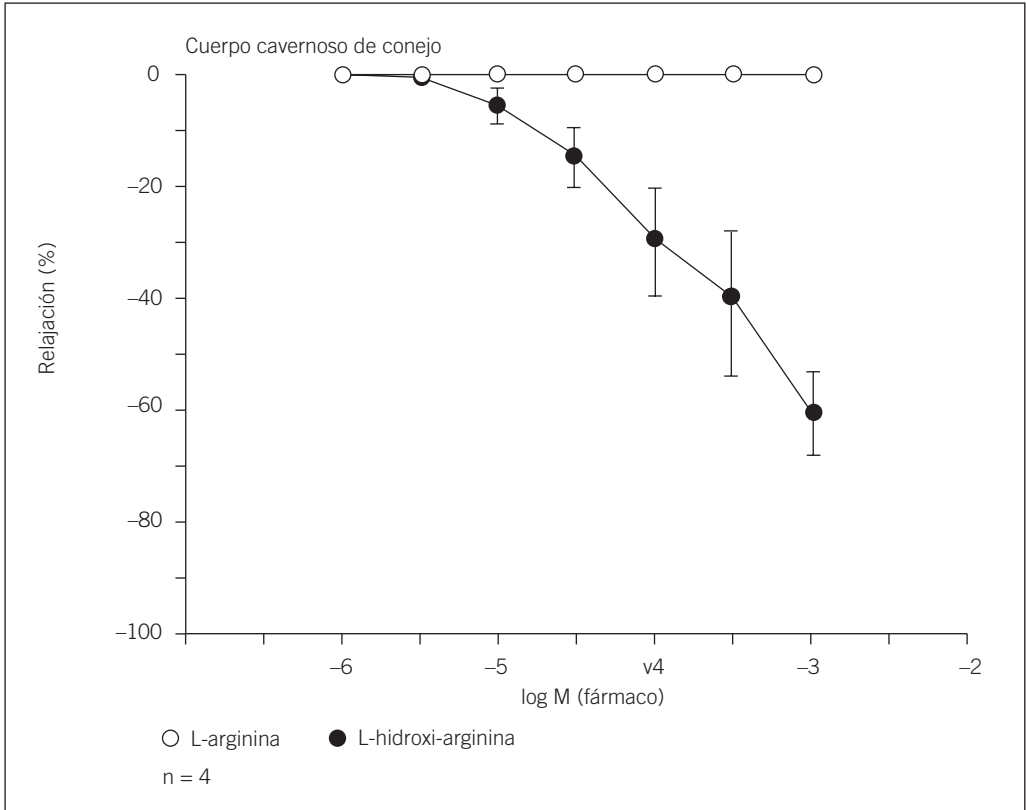


Fig. 3. Relajaciones inducidas por la adición de concentraciones crecientes (0,1  $\mu$ M a 1 mM) de L-arginina y L-hidroxi-arginina en tiras de cuerpo cavernoso de conejo previamente contraídas con fenilefrina (1  $\mu$ M). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EE del porcentaje de la relajación total obtenida con 0,1 mM de papaverina. n indica el número de tejidos empleados, cada uno de un animal diferente.

dotelio como neurogénica, se encuentra disminuida comparada con la respuesta en tejidos de pacientes no diabéticos<sup>6</sup>. Estas observaciones en tejidos humanos se han corroborado en animales de experimentación.

En tejidos trabeculares del cuerpo cavernoso de conejos tratados con aloxano para inducir diabetes se ha demostrado, a las 6 semanas, una relajación dependiente del endotelio y neurogénica deficiente del músculo liso trabecular cuando se compara con los tejidos de animales control<sup>7</sup>. Las respuestas al donador de NO nitroprusiato son, sin embargo, comparables en tejidos de animales diabéticos y controles. De nuevo, y como ocurre con la hipercolesterolemia, la diabetes altera las respuestas relajantes que dependen de la generación del NO. Queda sin determinar si esto se debe a

TABLA I  
DIANAS FARMACOLÓGICAS PARA POTENCIAR LA VÍA DEL NO/GMPc EN EL TRATAMIENTO DE LA IMPOTENCIA

Sustratos	L-arginina
	L-hidroxi-arginina
Donadores del NO	Nitratos
	Moléculas nitrosiladas (p. ej., antagonistas de los receptores alfaadrenérgicos nitrosilados)
Inhibidores de las PDE	Sildenafil (inhibidor selectivo de la PDE5)

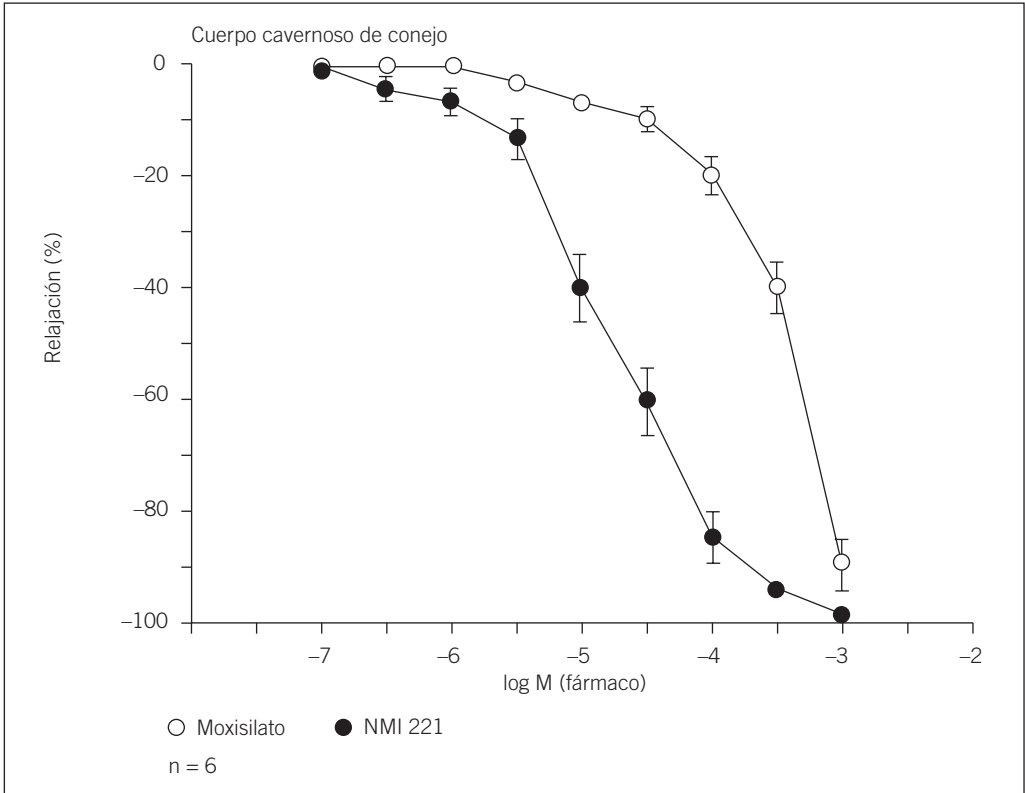


Fig. 4. Relajaciones inducidas por la adición de concentraciones crecientes (0,1  $\mu$ M a 1 mM) de moxidilato y NMI 221 en tiras de cuerpo cavernoso de conejo previamente contraídas con endotelina (10 nM). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EE del porcentaje de la relajación total obtenida con 0,1 mM de papaverina; n indica el número de tejidos empleados, cada uno de un animal diferente. Las respuestas inducidas por NMI 221 fueron más potentes que las producidas por moxidilato, obteniéndose una diferencia estadísticamente significativa al comparar las curvas mediante un análisis de la variancia (ANOVA;  $p < 0,005$ ).

una alteración en la síntesis o en la disponibilidad de esta molécula.

### Aplicación clínica

La evidencia del papel fundamental de la vía del NO/GMPc en la iniciación y el mantenimiento de la erección y de su alteración en condiciones patológicas hace de ésta una diana farmacológica para el tratamiento de la impotencia. En la tabla I se enumeran las distintas formas en las que es posible potenciar la vía del NO/GMPc.

La administración de L-arginina a los pacientes ha demostrado una escasa efectividad en cuanto a la mejoría de la capacidad de erección. Este resultado concuerda con la falta de

efecto relajante que tiene la L-arginina sobre el músculo liso del cuerpo cavernoso (fig. 3). No obstante, la L-hidroxi-arginina, producto intermedio en la síntesis del NO, sí tiene un efecto relajante dependiente de la generación de NO. Por tanto, es posible que en un futuro la administración de sustratos y/o intermediarios en la síntesis de NO represente una vía terapéutica para la impotencia asociada a una deficiente producción de NO.

La administración local, intracavernosa, de nitratos donadores del NO, específicamente el nitroprusiato, se ha evaluado experimentalmente en algunos pacientes. Aunque hubo respuesta en muchos de ellos, los efectos secundarios, especialmente la hipotensión arterial, fueron importantes en muchos casos. En

este sentido, se está considerando la utilización de nitrosotioles, cuya transferencia del NO es casi inmediata para conseguir un efecto local con escaso efecto sistémico. Esto ha llevado a proponer la nitrosilación de moléculas que por sí mismas presentan un efecto proerectogénico, convirtiéndolas de esta manera en moléculas con una doble funcionalidad: donadores del NO y, por ejemplo, antagonistas de los receptores alfaadrenérgicos. Estas moléculas han demostrado poseer potentes efectos relajantes del músculo liso del pene in vitro (fig. 4) y la capacidad de inducir erección in vivo, en animales de experimentación, con escasos efectos sistémicos.

La inhibición de la actividad fosfodiesterasa en el cuerpo cavernoso es la diana terapéutica que ha alcanzado el uso clínico<sup>8</sup>. El NO ejerce su acción en el músculo trabecular y arterial mediante la activación de la forma soluble de la guanilato ciclasa con el consecuente aumento de la concentración intracelular de GMPc. En la regulación de segundos mensajeros, las fosfodiesterasas son enzimas clave. Se han identificado nueve familias distintas de fosfodiesterasas (PDE), con un patrón de distribución específico en distintos órganos. Se ha descrito la existencia de cuatro familias de PDE en el tejido del cuerpo cavernoso humano: PDE2, PDE3, PDE4 y PDE5. Dos de estas enzimas, la PDE2 y la PDE5, son capaces de hidrolizar el GMPc, siendo esta última selectiva para este nucleótido cíclico con una Km baja. El sildenafil es un inhibidor potente y selectivo de la actividad PDE5<sup>9</sup>. In vitro, el sildenafil aumenta la acumulación de GMPc en el tejido del cuerpo cavernoso humano, lo que potencia la relajación inducida por el NO endógeno y exógeno<sup>9</sup>. En animales de experimentación el sildenafil potencia la capacidad de erección tras la estimulación del nervio pélvico<sup>10</sup>. En humanos, el sildenafil ha demostrado un alto grado de efectividad en el tratamiento de la impotencia de gravedad moderada e incluso en algunos casos graves<sup>8</sup>. Este fármaco se administra por vía oral una hora antes de tener relaciones sexuales y su ventana terapéutica es de 4 h. Dada la facilidad de la vía de administración oral y su alta efectividad, el sildenafil se ha convertido en la primera línea de tratamiento farmacológico de la impotencia. Su efectividad es menor (40%) en pacientes en los que la impotencia es secundaria a la cirugía pélvica debido a la lesión que se produce en los nervios liberadores de NO. Así mismo, la efectividad es limitada (55%) en pacientes diabéticos, mientras

que en el resto de los pacientes la efectividad oscila entre el 60 y el 80% dependiendo de la etiología<sup>8</sup>.

Actualmente se están desarrollando segundas generaciones de inhibidores de la PDE5 con mayor selectividad por esta enzima y diferente farmacocinética.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Kim N, Azadzo KM, Goldstein I, Sáenz de Tejada I. A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J Clin Invest* 1991; 88: 112-118.
2. Kim N, Vardi Y, Padma-Nathan H, Goldstein I, Sáenz de Tejada I. Oxygen tension regulates the nitric oxide pathway: physiological role in penile erection. *J Clin Invest* 1993; 91: 437-443.
3. Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukuto JM, Rajfer J. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 170: 843-850.
4. Burrett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science* 1992; 257: 401-403.
5. Azadzo KM, Sáenz de Tejada I. Hypercholesterolemia impairs endothelium dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle. *J Urol* 1991; 146: 238-240.
6. Sáenz de Tejada I, Goldstein I, Azadzo KM, Krane RJ, Cohen RA. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N Engl J Med* 1989; 320: 1.025-1.030.
7. Azadzo KM, Sáenz de Tejada I. Diabetes mellitus impairs neurogenic and endothelium dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle. *J Urol* 1992; 148: 1.587-1.591.
8. Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med* 1998; 33: 1.397-1.404.
9. Ballard SA, Gingell CJ, Tang K, Turner LA, Price ME, Naylor AM. Effects of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. *J Urol* 1998; 159: 2.164-2.171.
10. Carter AJ, Ballard SA, Naylor AM. Effect of selective phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil on erectile function in the anesthetized dog. *J Urol* 1998; 160: 242-246.

## DISCUSIÓN

- A. GARCÍA SÁNCHEZ: ¿Es, en general, la isoforma 5 de la fosfodiesterasa predominante en tejido muscular de los vasos?
- I. SÁENZ DE TEJADA: En el músculo liso de los vasos predominan las isoformas 2 y 5.
- A. GARCÍA SÁNCHEZ: ¿Cómo se explicaría que sildenafil no tenga más efectos indeseables como, por ejemplo, producción de hipotensión?
- I. SÁENZ DE TEJADA: Sorprende porque no son excesivamente potentes, pero sildenafil sí que presenta efectos vasodilatadores a otros niveles. Entre otros, disminuye la presión arterial sistólica una media 8 mmHg, en un 16% de pacientes produce cefaleas (posiblemente por vasodilatación), causa sensación y enrojecimiento facial, así como sensación de congestión nasal por efecto sobre el tejido eréctil de la nariz.
- A. GARCÍA SÁNCHEZ: Puesto que hay datos de subsensibilización o *down-regulation* de guanilato-ciclasa mediada por GMPc en determinadas situaciones experimentales, ¿existen estudios realizados a largo plazo en animales de experimentación con sildenafil para comprobar si también se produce dicha subsensibilización de la guanilato-ciclasa?
- I. SÁENZ DE TEJADA: No existen evidencias de ello, como tampoco las hay de la estimulación de la expresión de las fosfodiesterasas por parte de este fármaco. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la administración de este fármaco es a demanda, que tiene una semivida biológica de 4 h aproximadamente, y que su efecto es transitorio. Por tanto, los aumentos de GMPc no son mantenidos.
- A. GARCÍA SÁNCHEZ: Estaba pensando en situaciones de abuso del fármaco. Por otro lado, has mencionado que en uno de los experimentos la hidroxil-arginina era eficaz, mientras que la arginina no lo era. ¿Se ha descrito tal vez algún tipo de hipofunción de la NOS en algún paciente que pudiese explicar que el intermediario sea eficaz y no el sustrato?
- I. SÁENZ DE TEJADA: La verdad es que no lo sabemos. Nos interesamos en la hidroxil-arginina fundamentalmente por el tema de la hipoxia, pensando que en situaciones de hipoxia, la hidroxil-arginina, como ya contenía oxígeno molecular incorporado, iba a requerir la mitad de concentración de oxígeno para poder reinstaurar la síntesis de NO. Y fue en estos experimentos in vitro donde constatamos que no había respuesta a la arginina y sí a la hidroxil-arginina. Esto también se ha observado en arterias, en las que para observar una respuesta vasodilatadora había que depleccionar la arginina primeramente. Esto puede inducir a pensar que tal vez exista una reserva para L-arginina que no existe para hidroxil-arginina y que, por tanto, no sea un factor que influya en su efecto vasodilatador.
- A. GARCÍA SÁNCHEZ: ¿Se dispone de algún estudio sobre la funcionalidad de la NOS que sugiera la existencia de correlación entre impotencia e hipofunción o disminución de NOS?
- I. SÁENZ DE TEJADA: Se ha demostrado disminución en la respuesta funcional en la diabetes, en la hipercolesterolemia y en la isquemia. En este último caso, hemos visto que se producía una disminución de la actividad NO sintetasa. Cabría destacar también el papel regulador de la actividad en el cuerpo cavernoso humano de los andrógenos. Son importantes reguladores de la actividad de la sintetasa del NO, de manera que si disminuyen se reduce la actividad y, lo que es más discutido, la expresión de la NOS. Otro mecanismo regulador son las bajas concentraciones fisiológicas de oxígeno, que en el pene en estado de flacidez son atribuibles al aporte sanguíneo de tipo venoso.