

REVISIONES

O pénis e o endotélio. Aspectos extra genitais da disfunção eréctil

Carla Costa^{a,b,d} e Pedro Vendeira^{a-d}

^aLaboratório de Biologia Celular e Molecular. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Al. Prof. Hernâni Monteiro. Porto.

^bInstituto de Biologia Celular e Molecular da Universidade do Porto (IBMC-UP). Porto.

^cDepartamento de Urologia do Hospital de S. João. Porto.

^diSEX. Associação para o Estudo da Sexualidade Humana. Lisboa. Portugal.

RESUMO

O endotélio é composto por uma camada metabolicamente activa de células que revestem o sistema vascular, desempenhando um importante papel estrutural e funcional na manutenção da homeostase vascular. As células endoteliais (CEs) são consideradas sensores que detectam alterações humorais, respondendo-lhes com a produção de uma variedade de factores. Uma desregulação na libertação destes mediadores, conduz a alterações generalizadas nas funções das CEs, condição designada por disfunção endotelial. Esta disfuncionalidade encontra-se associada ao desenvolvimento de doenças aterosclerótica e cardiovasculares, em que muitos dos factores de risco envolvidos, actuam directamente no endotélio, danificando-o. Estas patologias vasculares associam-se também ao aumento da incidência de disfunção eréctil (DE), demonstrando a importância da integridade endotelial cavernosa. De forma a reparar o endotélio, são accionados os mecanismos de angiogéneses e vasculogéneses adulta. Na angiogéneses ocorre a proliferação e migração de CEs adjacentes, até locais afectados, reparando-os. Na vasculogéneses, células progenitoras endoteliais (EPCs) são mobilizadas para locais de neoangiogéneses, onde se diferenciam em CEs, regenerando o endotélio. O factor de crescimento endotelial vascular (VEGF) é o principal mediador destes processos, através da activação dos seus receptores nas CEs e EPCs. Em condições de DE, pressupõe-se que ambos os mecanismos de reparação local e sistémica estejam desregulados. A expressão do VEGF e receptores, parece alterada no endotélio cavernoso, condicionando as suas funções angiogénicas. Foi também demonstrado que o número de EPCs presente na circulação de indivíduos com DE se encontra significativamente reduzido. Tratamento com inibidores da fosfodiesterase tipo 5, induzem o recrutamento de EPCs, dando relevo à sua função vasculoprotectora. Permanecem por definir quais as alterações moleculares responsáveis por esta resposta, bem como o papel do sistema VEGF/VEGFR na recuperação da capacidade de endotelização das EPCs. Uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares angiogénicos e vasculogénicos envolvidos na regulação da função endotelial cavernosa, levarão no futuro ao desenvolvimento de terapias mais específicas.

Palavras chave: Endotélio. Disfunção eréctil. Angiogéneses. Células progenitoras endoteliais.

Correspondência: Carla Costa.

Laboratório de Biologia Celular e Molecular Molecular.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Al. Prof. Hernâni Monteiro. 4200-319 Porto. Portugal.

Correio electrónico: carcosta@med.up.pt

ABSTRACT

The penis and endothelium. Exogenous aspects of erectile dysfunction

The endothelium is a metabolically highly active layer of cells lining all blood vessel walls, playing important structural and functional roles in regulating vascular homeostasis. Endothelial cells (ECs) are the first to sense humoral changes, to which they respond by releasing a variety of factors. If the balanced release of these mediators is disrupted, EC dysfunction ensues. Loss of functional endothelium plays an integral role in the pathogenesis of atherosclerotic and cardiovascular diseases, in which several vascular risk factors, act by directly injuring ECs. These vascular comorbidities are associated with the increased incidence of erectile dysfunction (ED), demonstrating the crucial role of cavernosal ECs. Vascular repair mechanisms, of angiogenesis and adult vasculogenesis, are usually activated to regenerate affected endothelium. The angiogenic process refers to the proliferation and migration of adjacent ECs to injured sites, repairing them. During vasculogenesis, Endothelial Progenitor Cells (EPCs) are mobilized to neovascular sites, where they differentiate into mature ECs. The Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) is the central regulator of these processes, mediating its functions by engagement with its receptors on ECs and EPCs. It is thought, that in ED both local and systemic vascular repair mechanisms may be impaired. The expression of VEGF and its receptors may be altered in cavernosal endothelium, conditioning its angiogenic functions. It was also suggested that EPCs are present in reduced number in the peripheral circulation of individuals with ED. Treatment with phosphodiesterase type 5 inhibitors, induced the mobilization of EPCs, highlighting their vasculoprotective role. It remains to define the molecular alterations involved in this response, and the role of the VEGF/VEGFR system in the improvement of the endothelialization capability of EPCs. Further studies, will provide valuable insight into the angiogenic and vasculogenic mechanisms that govern erectile function, leading to new tailored-treatment strategies.

Key words: Endothelium. Erectile dysfunction. Angiogenesis. Endothelial progenitor cells.

FUNÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

O endotélio, considerado antigamente como uma simples barreira anatómica passiva, é actualmente reconhecido como sendo um órgão metabolicamente activo, que desempenha importantes funções autócrinas, parácrinas e endócrinas^{1,2}. A monocamada endotelial desempenha um papel importante na modulação do tônus vascular e muscular, na regulação do processo inflamatório, activação de plaquetas, trombose e na proliferação da camada muscular lisa subadjacente^{3,4}. De forma a manter a homeostase vascular, o endotélio possui a capacidade de responder a estímulos humorais, neuronais e mecânicos (pressão e shear stress) através da síntese e libertação de vários factores com funções agonista e antagonista⁵. Para tal, as CEs produzem de forma regulada moléculas vasodilatadoras e vasoconstritoras, pró-coagulantes e anti-coagulantes, inflamatórias e anti-inflamatórias, fibrinolíticas e anti-fibrinolíticas, oxidantes e anti-oxidantes⁶⁻⁸. O equilíbrio entre a libertação de mediadores vasoactivos, como o óxido nítrico (ON), a prostaciclina I2 (PGI2) e vários factores hiperpolarizadores derivados do endotélio (EDHF), e vasoconstritores como a endotelina-1 (ET-1), angiotensina II (Ang II), prostaglandina H2 (PGH2) e tromboxano A2 (TXA2), revelaram-se de extrema importância na regulação da permeabilidade e do tônus vascular^{4,9}. Para além das importantes funções vasoactivas, o ON apresenta também propriedades anti-inflamatórias (regulação da adesão de leucócitos ao endotélio), anti-trombóticas e anti-proliferativas, enquanto que a PGI2 é um potente inibidor da agregação plaquetária^{4,10,11}. Similarmente, as moléculas ET-1 e Ang II, para além de poderosos vasoconstritores exercem também efeitos pró-trombóticos e mitogénicos, enquanto que o TXA2 promove agregação de plaquetas^{4,12}. Dada a sua importância para a funcionalidade do endotélio intacto, quaisquer alterações que condicionem as actividades biológicas destas moléculas, originam alterações generalizadas nas funções das CEs, levando à perda da sua integridade funcional, condição designada por disfunção endotelial. Como consequência o endotélio vascular perde capacidade de resposta a mudanças hemodinâmicas, autócrinas e parácrinas^{3,13,14}. A disfunção endotelial é caracterizada essencialmente por uma redução na biodisponibilidade e bioactividade de ON, e por um aumento da produção de factores vasoconstritores. Como consequência, o potencial vasodilatador é reduzido sendo o tônus vascular severamente afectado. A redução da biodisponibilidade do ON leva também a que ocorram importantes alterações na expressão endotelial de moléculas de adesão, que levam a uma desregulação dos processos inflamatórios^{9,11,12}. Desta

forma, a disfunção endotelial, para além da inibição de vasodilatação, é também caracterizada por alterações pró-inflamatórias, pró-coagulantes e proliferativas, que podem levar à ocorrência de morte celular programada ou apoptose endotelial. Estas condições resultantes de disfunção endotelial encontram-se intimamente associadas com o desenvolvimento de aterosclerose e patologias cardiovasculares^{11,15-18}. Estudos recentes demonstraram também, que a disfunção endotelial é a etiologia predominante na patofisiologia da disfunção erétil (DE) masculina, e que esta condição se encontra associada ao desenvolvimento de doença cardiovascular (DCV)¹⁹⁻²¹. De facto, surgem evidências de que a DE não representa somente um sinal precoce de DCV, mas pode também ser considerada como um importante marcador de doença vascular.

EFEITOS PATOFISIOLÓGICOS DA DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

A perda da integridade funcional do endotélio, caracterizada por alterações generalizadas nas funções das CEs, conduzem a uma redução na vasodilatação e a um estadio pró-inflamatório e pró-trombótico, sendo observado como evidência de doença vascular. A disfunção endotelial encontra-se associada à patofisiologia da aterosclerose, doença arterial periférica, diabetes e de várias doenças cardiovasculares, como doença coronária e insuficiência cardíaca congestiva⁹. A função das CEs é extremamente afectada pela diabetes e por diversos factores de risco cardiovasculares como a hipertensão, a obesidade abdominal, a dislipidemia e a hiperglicemia, conjunto de factores designados actualmente por síndrome metabólica²². Estes factores podem actuar directamente no endotélio vascular, danificando-o e favorendo o aparecimento de várias lesões iniciais que contribuem para o desenvolvimento das patologias supracitadas. Entre as acções nocivas que provocam nas CEs, inclui-se a formação e acumulação de espécies de oxigénio reactivas (ROS) e de produtos avançados de glicação, que levam a alterações nos processos essenciais para a manutenção da função endotelial²³⁻²⁵. As ROS actuam em parte pela inibição da actividade e biodisponibilidade de ON, estando também envolvidas directamente na indução da apoptose endotelial, através do aumento da expressão de genes envolvidos na morte celular programada^{23,24,26}. Como previamente mencionado, níveis reduzidos de ON promovem por sua vez a ocorrência de inflamação vascular, pela indução tanto da expressão de moléculas de adesão endotelial, como da produção de proteínas quimiotácticas envolvidas no

tráfego leucocitário^{27,28}. A formação de produtos avançados de glicação nas CEs associa-se a alterações que conduzem a um decréscimo na produção de factores de crescimento vascular, essenciais para a manutenção da homeostase endotelial²⁴. Devido à localização e importantes funções das CEs presentes nas estruturas vasculares cavernosas, estas alterações moleculares endoteliais provocadas por factores de risco cardiovascular, vão afectar profundamente o endotélio peniano e consequentemente a fisiologia eréctil. De facto, a DE vasculogénica conduz a uma insuficiência vascular que provoca desordens do fluxo arterial, e consequente inibição do relaxamento do músculo liso cavernoso, orinando fibrose e disfunção veno-oclusiva^{29,30}. Existem várias evidências que revelam uma forte associação entre factores de risco cardiovascular e DE, considerando-se mesmo que a DE pode ser um factor preditivo para a ocorrência de DCV^{19,20,31,32}. A ocorrência prévia de DE deve-se ao facto de o diâmetro da artéria peniana ser substancialmente mais reduzido do que o da artéria coronária e da carótida, e desta forma alterações vaculares que condicionem o fluxo sanguíneo cavernoso, afectarão inicialmente a função erétil, podendo ser um indício para desenvolvimento de DCV. Foi mesmo reportado que a DE se manifesta aproximadamente 39 meses antes da ocorrência de um evento cardíaco^{33,34}. Contudo, a DE é cada vez mais considerada como um importante marcador não apenas de DCV, mas de doença vascular sistémica, manifestando-se previamente ao aparecimento de sintomas característicos de cada patologia vascular³⁵.

MECANISMOS DE REPARAÇÃO VASCULAR LOCAL E SISTÉMICO: ANGIOGÉNESE E VASCULOGÉNESE ADULTA

Como resposta a danos infringidos nas CEs, levando à perda da sua integridade funcional, o endotélio vascular acciona mecanismos de reparação e regeneração endotelial, designados por angiogéneses e vasculogéneses adulta. O processo angiogénico é um processo de reparação local, que envolve a proliferação e migração de CEs adjacentes até ao local vascular danificado, reparando-o³⁶⁻³⁸. Por outro lado, o processo de vasculogénesis adulta é considerado um processo de reparação sistémico, em que células progenitoras endoteliais (EPCs) residentes na medula óssea, são mobilizadas para a circulação periférica até locais de neoangiogénesis onde se diferenciam em CEs maduras, regenerando o endotélio^{37,39-41} (fig. 1). A angiogéneses é um processo essencial no crescimento e remodelação da árvore vascular, que se processa a partir de CEs de estruturas vasculares pré-existentes⁴². Durante

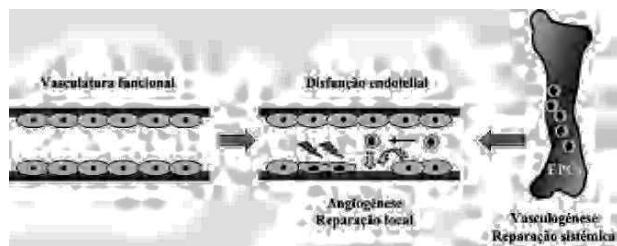


Figura 1. Regeneração endotelial mediada pelos processos de angiogénesis e vasculogénesis adulta. Após a ocorrência de danos endoteliais endógenos que originam disfunção endotelial, a camada vascular afectada é regenerada por células endoteliais adjacentes, por angiogénesis, e através do recrutamento de células progenitoras endoteliais (EPCs), por vasculogénesis.

o desenvolvimento embrionário, a vasculatura é inicialmente originada a partir de um conjunto de vasos sanguíneos previamente formados no embrião por vasculogénesis, um processo através do qual estruturas vasculares iniciais são formadas *de novo* a partir de progenitores endoteliais ou angioblastos⁴³. Após a formação do plexo vascular inicial, ocorre a sua remodelação e crescimento através da proliferação e migração coordenadas das CEs do endotélio primordial, por angiogénesis, dando origem a novas estruturas vasculares necessárias ao desenvolvimento dos vários órgãos³⁸. No indivíduo adulto a vasculatura encontra-se maioritariamente quiescente, podendo o processo angiogénico ser activado em condições fisiológicas, como processos de cicatrização, manutenção da homeostasia vascular e durante o ciclo menstrual feminino. Contudo, uma desregulação nos mecanismos angiogénicos contribui para o desenvolvimento de várias patologias como, isquemia, artrite reumatoide, retinopatia diabética, desenvolvimento tumoral, entre muitos outros^{36-38,42,44}. Durante muitos anos considerou-se que no adulto todos os processos neovasculares ocorriam somente por angiogéneses. Contudo, descobertas efectuadas na última década demonstraram que EPCs derivadas da medula óssea adulta possuem funções análogas aos angioblastos embrionários, podendo ser mobilizadas para a circulação periférica até locais neovasculares, participando neles activamente através da sua diferenciação em CEs funcionais³⁹⁻⁴¹. Vários estudos demonstraram que as EPCs desempenham um papel crucial em mecanismos fisiológicos, de reparação vascular reparação endógena e na cicatrização, e no crescimento endotelial em condições patológicas, como na isquemia do miocárdio e no desenvolvimento tumoral^{39-41,45-49}. Embora o processo de angiogéneses seja o principal mecanismo de neovascularização, a vasculogénesis adulta contribui com ele de forma sinérgistica, céle e eficiente na formação de novas estruturas vasculares.

0 processo angiogénico. Step by step

A angiogénesse refere-se ao processo complexo pelo qual novos vasos sanguíneos se formam a partir da vasculatura pré-existente, com a coordenada intervenção de múltiplos factores angiogénicos e anti-angiogénicos, a interacção de variados tipos celulares e componentes da matriz extracelular⁴². A angiogénesse processa-se em várias fases a partir de endotélio vascular quiescente, que quando estimulado inicia o processo através do aumento da vasodilatação, da permeabilidade, seguido pela degradação da matriz extracelular, permitindo às CEs activadas proliferarem, sobreviverem, migrarem, diferenciarem-se e formarem novos lumens vasculares. As estruturas resultantes são posteriormente remodeladas, com a deposição de nova matriz extracelular e de células peri-vasculares diferenciadas^{50,51}. Sabe-se actualmente que o processo angiogénico é sequencialmente orquestrado por uma dinâmica interacção entre vários factores, que actuam de forma coordenada controlando a série de eventos envolvida na formação de novas estruturas vasculares. Moléculas angiogénicas como as Angiopoietinas-1 e -2 (Ang-1 e -2), o Factor de Crescimento de Fibroblastos (FGF) e o Factor de Crescimento Derivado das Plaquetas (PDGF), entre muitos outros, ligam-se aos seus receptores membranares nas CEs contribuindo directa ou indirectamente para o processo neovascular⁵². Contudo, o Factor de Crescimento Endotelial Vascular ou VEGF, uma potente citoquina mitogénica, é reconhecido como sendo a molécula chave em todo o processo, dado que se encontra presente espacial e temporalmente em todas as fases do crescimento vascular, participando nelas activamente^{53,54}. O VEGF medeia as suas accções biológicas através da ligação a dois receptores de tirosina cinase transmembranares presentes nas CEs, designados por VEGFR-1 e VEGFR-2. Os receptores do VEGF são constituídos por um domínio extracelular semelhante às imunoglobulinas (“Ig-like domain”), seguido por uma região transmembranar e por um domínio de tirosina cinase localizado na parte citoplasmática (fig. 2). O VEGF após a sua interacção com ambos receptores induz autofosforilação dos resíduos de tirosina cinase citoplasmáticos, activando posteriormente várias moléculas intermediárias por fosforilação, que iniciam variadas cascatas de sinalização intracelular. Como consequência o endotélio activado é estimulado a proliferar, sobreviver e migrar, ocorrendo também vasodilatação, permeabilidade vascular e produção de proteases de matriz (MMPs)⁵⁵⁻⁵⁹. Embora os VEGFRs sejam estruturalmente homólogos, após a ligação do VEGF os efeitos biológicos por eles mediados são bastante distintos.

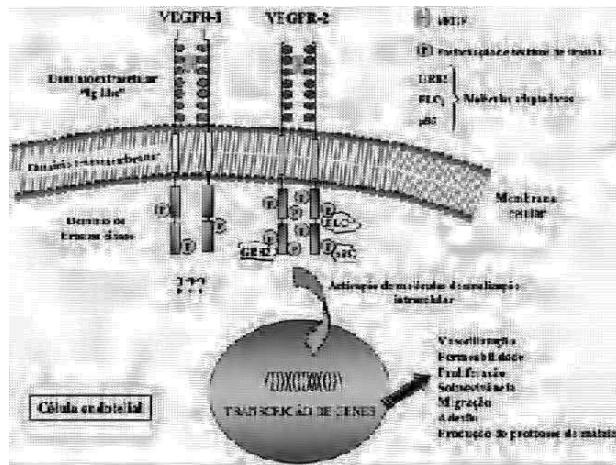


Figura 2. Estrutura e funções desempenhadas pelo VEGF e seus receptores no endotélio vascular. O VEGF liga-se aos seus receptores de tirosina cinase VEGFR-1 e VEGFR-2 nas células endoteliais, induzindo uma potente fosforilação dos resíduos de tirosina cinase no VEGFR-2, que por sua vez recrutam várias moléculas adaptadoras (GRB2, PLC γ , p85), iniciando cascatas de sinalização intracelular que culminam com a activação nuclear da expressão de vários genes angiogénicos. Embora o VEGFR-1 apresente uma homologia estrutural com o VEGFR-2, as suas funções no endotélio são ainda controversas.

Encontra-se actualmente estabelecido que todas as respostas endoteliais são mediadas pela ligação do VEGF ao VEGFR-2 originando uma potente fosforilação e activação de sinais intracelular. O papel desempenhado pelo VEGFR-1 nas CEs no decorrer da angiogénesse permanece ainda controverso e discutível (Figura 2)^{60,61}. Desta forma, após a interacção VEGF/VEGFR-2 no endotélio o processo angiogénico é iniciado, com o aumento de produção de ON e consequentemente de vasodilatação vascular⁶². A mesma via angiogénica, induz o aumento da permeabilidade vascular, originando o extravasamento de proteínas plasmáticas que formam uma estrutura temporária, que vai servir de suporte às CEs activadas aquando da sua migração. Simultaneamente vai ocorrendo degradação da matriz extracelular através do aumento da produção de MMPs, induzidas por acção do VEGF^{63,64}. As MMPs desempenham um papel central na degradação de barreiras físicas celulares, nomeadamente de membranas extracelulares e da membrana basal, permitindo que as CEs estimuladas a proliferar por acção do VEGF, migrem para locais distantes⁵⁰. Desta forma, as CEs migram através da matriz extracelular formando cordões sólidos que subsequentemente adquirem lumen, sendo o processo angiogénico fisiológico posteriormente terminado com a produção de factores anti-angiogénicos, como a trombospondina-1, a re-estruturação da matriz extracelular e deposição de células peri-vasculares⁶⁵.

Quando não ocorre de forma coordenada e temporal um equilíbrio entre a produção de moléculas pró e anti-angiogénicas, o processo de neovascularização vai processar-se de forma desregulada. Estudos revelaram uma associação entre a presença de factores de risco cardiovascular e alterações na expressão de proteínas angiogénicas, facto que poderá condicionar a reparação e reversão de danos endoteliais presentes nessas condições⁶⁶.

Vasculogénesis adulta. A queda de um dogma

O processo de vasculogénesis adulta prevaleceu durante muitos anos como um dogma, dado que se pressupunha que no adulto novas estruturas vasculares seriam apenas originadas pela proliferação e migração de CEs pré-existentes, por angiogénesis, e que o processo de vasculogénesis se encontraria confinado à vida embrionária. Contudo, este dogma caiu quando estudos demonstraram a existência de uma escassa população de células progenitoras endoteliais (EPCs) na medula óssea adulta, que poderia ser recrutada para a circulação periférica, extravasando em locais de desenvolvimento vascular onde se diferenciariam em CEs funcionais e integrando estruturas vasculares. De facto, inúmeras linhas de investigação demonstraram que o processo de vasculogénesis presente no embrião, foi adaptado na vida adulta, contribuindo para processos vasculares em várias condições patofisiológicas que dependem de um suporte vascular eficiente^{39,46-49}. Estas descobertas alteraram o conceito de neovascularização pós-natal, de angiogénesis para angio/vasculogénesis⁴⁶. Contudo, esta população celular foi somente identificada no final da década de 90 a partir de células mononucleares de sangue periférico de indivíduos adultos, sendo a sua descoberta tardia devida fundamentalmente à ausência de marcadores celulares específicos exclusivos das EPCs^{46,67}. De facto, tanto CEs diferenciadas como um sub-grupo de células hematopoiéticas, partilham com as EPCs um padrão de expressão de receptores de superfície, tornando a sua identificação, isolamento e caracterização fenotípica complicada e controversa. Actualmente estabeleceu-se algum consenso nesta matéria e encontra-se definido que são consideradas EPCs, a população de células que expressa concomitantemente VEGFR-2, CD34 e CD133 (um antigénio de superfície de expressão restrita a EPCs e células estaminais hematopoiéticas)^{46,67,68}. Contudo, à medida que estas células são mobilizadas, proliferam e se diferenciam em CEs os seus marcadores de superfície vão variando⁶⁹. Apesar de fenotípicamente idênticas, funcionalmente EPCs e CEs são bastante distintas, sendo que as primeiras possuem um potencial proliferativo

extremamente elevado, característica ausente em CEs diferenciadas⁷⁰. As EPCs, de forma a participarem em processos de neovascularização ou de reparação vascular, respondem a estímulos específicos que induzem a sua saída da medula e recrutamento para locais neovasculares. Embora não se encontre totalmente esclarecido o mecanismo exacto pelo qual ocorre mobilização de EPCs, o Factor de Estimulação de Colónias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF), o Factor Derivado do Estroma-1 (SDF-1) e o VEGF foram já sugeridos como moléculas implicadas, sendo este último considerado como o mediador mais importante⁷¹⁻⁷³. O VEGF funciona como potente quimoatractor actuando no seu receptor, VEGFR-2, presente nas EPCs activando vias de transdução de sinal que induzem uma resposta migratória. Vários estudos demonstraram que a administração exógena de VEGF promove uma rápida mobilização de EPCs para a circulação periférica, sendo que a cinética de recrutamento celular se encontra directamente associada com os níveis de VEGF presentes na corrente sanguínea^{71,74}. Tais factos foram observados em doentes queimados, em que o número de EPCs aumentou aproximadamente 50 vezes, num período de 12 horas após a ocorrência do trauma vascular. Este acréscimo de EPCs foi acompanhado pelo aumento sérico de VEGF⁷⁴. A importância funcional destas células na formação de novas estruturas vasculares tem sido extensivamente avaliada, sendo que a sua contribuição tenha sido considerada essencial para o crescimento vascular em condições patofisiológicas e para reparação endotelial endógena^{39,46-49}. Contudo, para além do seu potencial regenerador, existem evidências de que o número de EPCs circulantes poderão também ser usadas como factor de diagnóstico. Estudos demonstraram que uma diminuição nos níveis de EPCs em circulação poderão ser reveladores de disfunção endotelial, e foram observados em doentes que acumulam vários factores de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular⁷⁵. De facto, a redução no número de EPCs vai condicionar a sua ação vasculo-protectora, impedindo-as de eficientemente repararem e regenerarem áreas vasculares que apresentem danos endoteliais.

ALTERAÇÕES LOCAIS E SISTÉMICAS DOS MECANISMOS DE REPARAÇÃO VASCULAR NA DISFUNÇÃO ERÉTIL

Os mecanismos de reparação endotelial, locais e sistémicos, são de vital importância para a manutenção da homeostasia vascular, reparando a vasculatura afectada devido à ocorrência de danos endógenos que levam à disfunção endotelial. Após a deterioração da in-

tegridade da monocamada endotelial, esta pode então ser regenerada através da proliferação e migração de CEs adjacentes, por angiogéneses, ou através do recrutamento de EPCs para locais de vascularização onde se diferenciam em CEs funcionais. Contudo, se os danos endoteliais causados não forem reparados eficientemente, podem tornar-se demasiado extensos e mesmo irreversíveis, ficando a capacidade de restauração e a integridade do endotélio comprometida. Estudos recentes revelaram que em condições de DE, disrupções no endotélio cavernoso causadas por disfunção endotelial, não são devidamente regeneradas devido a alterações funcionais nos processos de angiogéneses e vasculogéneses adulta⁷⁶. Desta forma não é possível reparar a vasculatura de modo a que a homeostase endotelial peniana seja reconstituída e as condições de DE revertidas. Vários estudos demonstraram que proteínas angiogénicas e seus receptores, nomeadamente o sistema VEGF/VEGFRs, se encontram alterados na vasculatura cavernosa o que poderá condicionar a sua função de regeneração angiogénica⁷⁷⁻⁷⁹. Analogamente foi também sugerido que o sistema de reparação sistémico se encontra desregulado, dado que o número de EPCs circulantes se encontra significativamente reduzido em indivíduos com DE, inibindo a eficiente reparação vasculoprotectora⁸⁰.

Angiogénes. Alteração do sistema VEGF/VEGFR no tecido cavernoso

Dada a importância deste mecanismo na manutenção da integridade endotelial, vários estudos centraram-se na avaliação local das funções de factores angiogénicos na manutenção da homeostase da vasculatura peniana. Várias experiências efectuadas em modelos animais com factores de risco cardiovascular, investigaram as vias angiogénicas moleculares envolvidas na regulação da vascularização cavernosa. Foi demonstrada uma diminuição na expressão de proteínas angiogénicas como o VEGF, Ang-1 e -2, com a consequente inibição da activação de importantes vias de transdução de sinal intracelular^{76,77,79}. A redução da sinalização mediada pelo VEGF, levou a uma inibição da produção endotelial de ON e a um aumento de apoptose no tecido erétil, reforçando o importante papel desempenhado pelo VEGF no corpo cavernoso⁷⁷. Similarmente, foi também observado que a expressão dos receptores do VEGF se encontra diminuída no tecido erétil, restringindo os locais de ligação do VEGF e condicionando as suas funções angiogénicas⁷⁸. Tornou-se evidente que alterações no sistema de sinalização VEGF/VEGFR poderiam estar envolvidas na patofisiologia da DE, e pressupondo-se que terapias moleculares com VEGF poderiam reverter

esta disfuncionalidade, reabilitar esta via de sinalização endotelial e melhorar a função erétil. De facto, foi demonstrado que várias terapias moleculares envolvendo a expressão transiente de VEGF restauraram a função erétil, induziram a produção de ON e aumentaram a viabilidade celular cavernosa através da indução da expressão de genes anti-apoptóticos⁸¹⁻⁸³. Terapias combinadas utilizando dois importantes factores angiogénicos, o VEGF e a Ang-1, aumentaram sinergisticamente a angiogéneses cavernosa, reforçando a funcionalidade e estrutura do endotélio⁸⁴. Contudo, permanece por clarificar qual o método de terapia molecular para expressão de mediadores angiogénicos mais eficiente, quais as combinações de moléculas angiogénicas que conferiram melhores resultados e quais os efeitos a longo prazo destas terapias na manutenção da funcionalidade e integridade endotelial.

Vasculogénes. EPCs e disfunção erétil

Após a descoberta das funções mediadas pelas EPCs na regeneração vascular, vários estudos investigaram a potencialidade destas células na reparação de danos endógenos e na manutenção da homeostase vascular. Dada a importância desta população celular, várias publicações sugeriram que alterações na sua mobilização da medula óssea para a circulação periférica, inibiram o seu potencial regenerador, contribuindo para a disfunção endotelial. Foi demonstrado que o número de EPCs em circulação é afectado por factores de risco cardiovascular, que potencialmente actuam aumentando a apoptose ou interferindo com várias vias de transdução de sinal que regulam o potencial migratório das EPCs⁸⁵. De facto, foram observadas diminuições significativas no número de EPCs circulantes em indivíduos com DE^{75,80,86}. Esta diminuição de EPCs em circulação foi associada com uma ineficiente capacidade de reparação endotelial que pode afectar a integridade vascular peniana, permitindo a progressão da condição de DE, e consequentemente de DCV^{80,87}. Interessantemente, estudos revelaram que tratamentos com inibidores da fosfodiesterase tipo 5 (PDE5), como o vardenafil (administrado “on demand”) e o tadalafil (administrado cronicamente), induzem o recrutamento de EPCs aumentando o seu número em circulação e revelando uma melhoria na função erétil, indicativa de um aumento da função endotelial^{88,89}. Embora o mecanismo específico de actuação destes fármacos na mobilização e/ou produção de EPCs permaneça por definir, descobertas recentes demonstraram que existe expressão de PDE5 na medula óssea, podendo inibidores desta enzima actuar ao nível da medula, activando mecanismos que

promovam a mobilização das EPCs para a circulação⁸⁹. Outra potencial explicação para estas acções mobilizadoras, reside no facto de inibidores da PDE5 poderem aumentar a expressão do VEGF e do seu receptor VEGFR-2, levando através da activação deste mecanismo molecular ao recrutamento de EPCs⁹⁰. Contudo, é necessário verificar se uma inibição na mobilização das EPCs em indivíduos com DE se deve ao facto da expressão do VEGF ou do VEGFR-2 se encontrarem reduzidas, e se de facto inibidores da PDE5 aumentam o número de EPCs em circulação através da regulação deste sistema de sinalização, promovendo e restaurando desta forma o potencial vasculoprotector das EPCs.

CONCLUSÕES

A perda generalizada das funções vasculares, designada por disfunção endotelial é a etiologia predominante para a ocorrência de DE. Danos endógenos causados no endotélio são normalmente reparados através de mecanismos locais e sistémicos, de angiogénese e vasculogénesis adulta, respectivamente. Contudo, disrupções nas funções do endotélio cavernoso não são devidamente reparadas devido a alterações nos processos de angiogénese e vasculogénesis. Algumas das alterações angiogénicas envolvidas nesta desregulação foram já identificadas, e potencialmente revertidas recorrendo-se a terapias moleculares específicas. Na vasculogénesis adulta, a redução no número de EPCs circulantes presentes em indivíduos com DE condiciona a sua função vasculoprotectora, sendo que esta alteração pode ser revertida através de tratamentos com inibidores da fosfodiesterase tipo 5. Embora permaneçam ainda muitas questões por responder, torna-se cada vez mais evidente a importância de uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares angiogénicos e vasculogénicos que governam a função endotelial cavernosa, de forma a se perspectivarem terapias direcionadas mais específicas.

REFERÊNCIAS

1. Lerman A, Burnett JC Jr. Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation*. 1992;86:III12-9.
2. Simionescu M, Antohe F. Functional ultrastructure of the vascular endothelium: changes in various pathologies. *Handb Exp Pharmacol*. 2006;41:69.
3. Esper RJ, Nordaby RA, Vilarino JO, et al. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol*. 2006;5:4.
4. Gulati R, Lerman A, Simari RD. Therapeutic uses of autologous endothelial cells for vascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109:27-37.
5. Villar IC, Francis S, Webb A, Hobbs AJ, Ahluwalia A. Novel aspects of endothelium-dependent regulation of vascular tone. *Kidney Int*. 2006;70:840-853.
6. Furchtgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288:373-376.
7. Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1993;22 Suppl 4:S1-14.
8. Vanhoutte PM. How to assess endothelial function in human blood vessels. *J Hypertens*. 1999;17:1047-1058.
9. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:1983-1992.
10. Bivalacqua TJ, Usta MF, Champion HC, Kadowitz PJ, Hellstrom WJ. Endothelial dysfunction in erectile dysfunction: role of the endothelium in erectile physiology and disease. *J Androl*. 2003;24:S17-S37.
11. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:168-175.
12. Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol*. 1999;31:61-74.
13. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res*. 2000;87:840-844.
14. Maxwell AJ. Mechanisms of dysfunction of the nitric oxide pathway in vascular diseases. *Nitric Oxide*. 2002;6:101-124.
15. Hartge MM, Kintscher U, Unger T. Endothelial dysfunction and its role in diabetic vascular disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2006;35:551-51x.
16. Diamant M, Tushuizen ME. The metabolic syndrome and endothelial dysfunction: common highway to type 2 diabetes and CVD. *Curr Diab Rep*. 2006;6:279-86.
17. Wassink AM, Olijhoek JK, Visseren FL. The metabolic syndrome: metabolic changes with vascular consequences. *Eur J Clin Invest*. 2007;37:8-17.
18. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. 1993;362:801-9.
19. Kirby M, Jackson G, Simonsen U. Endothelial dysfunction links erectile dysfunction to heart disease. *Int J Clin Pract*. 2005;59:225-9.
20. Kloner RA, Mullin SH, Shook T, et al. Erectile dysfunction in the cardiac patient: how common and should we treat? *J Urol*. 2003;170:S46-50.
21. Yavuzgil O, Altay B, Zoghi M, et al. Endothelial function in patients with vasculogenic erectile dysfunction. *Int J Cardiol*. 2005;103:19-26.
22. Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-97.
23. Thomas DD, Ridnour LA, Espey MG, et al. Superoxide fluxes limit nitric oxide-induced signaling. *J Biol Chem*. 2006;281:25984-93.
24. Shoji T, Koyama H, Morioka T, et al. Receptor for advanced glycation end products is involved in impaired angiogenic response in diabetes. *Diabetes*. 2006;55:2245-55.
25. Vyzantiadis T, Karagiannis A, Douma S, et al. Vascular endothelial growth factor and nitric oxide serum levels in arterial hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 2006;28:603-9.
26. Tanigama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension*. 2003;42:1075-81.
27. Zurova-Nedelcevova J, Navarova J, Drabikova K, et al. Participation of reactive oxygen species in diabetes-induced endothelial dysfunction. *Neuro Endocrinol Lett*. 2006;27 Suppl 2:168-71.
28. Griendling KK, Fitzgerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation*. 2003;108:1912-6.
29. Chitaley K, Wessels H. Vasculogenic mechanisms of erectile dysfunction. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. 2004;1:105-10.
30. Chris GJ. The penis as a vascular organ. The importance of corporal smooth muscle tone in the control of erection. *Urol Clin North Am*. 1995;22:27-45.
31. Feldman HA, Johannes CB, Derby CA, et al. Erectile dysfunction and coronary risk factors: prospective results from the Massachusetts male aging study. *Prev Med*. 2000;30:328-38.
32. Fung MM, Bettencourt R, Barrett-Connor E. Heart disease risk factors predict erectile dysfunction 25 years later: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1405-11.

33. Montorsi F, Brigand A, Salonia A, et al. Erectile dysfunction prevalence, time of onset and association with risk factors in 300 consecutive patients with acute chest pain and angiographically documented coronary artery disease. *Eur Urol*. 2003;44:360-4.
34. Montorsi P, Ravagnani PM, Galli S, et al. Association between erectile dysfunction and coronary artery disease: Matching the right target with the right test in the right patient. *Eur Urol*. 2006;50:721-31.
35. Montorsi P, Montorsi F, Schulman CC. Is erectile dysfunction the "tip of the iceberg" of a systemic vascular disorder? *Eur Urol*. 2003;44:352-4.
36. Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*. 2005;438:932-6.
37. Costa C, Soares R, Schmitt F. Angiogenesis: now and then. *APMIS*. 2004;112:402-12.
38. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*. 1995;1:27-31.
39. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*. 1999;85:221-8.
40. Asahara T, Kawamoto A. Endothelial progenitor cells for postnatal vasculogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004;287:C572-9.
41. Asahara T, Isner JM. Endothelial progenitor cells for vascular regeneration. *J Hematother Stem Cell Res*. 2002;11:171-8.
42. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*. 1996;86:353-64.
43. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. 1997;386:671-4.
44. Klagsbrun M, D'Amore PA. Regulators of angiogenesis. *Annu Rev Physiol*. 1991;53:217-39.
45. Lyden D, Hattori K, Dias S, et al. Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. *Nat Med*. 2001;7:1194-201.
46. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, Van der ZR, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997;275:964-7.
47. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2001;103:2776-9.
48. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*. 1999;5:434-8.
49. Sznitko PE, Fedak PW, Weisel RD, et al. Endothelial progenitor cells: new hope for a broken heart. *Circulation*. 2003;107:3093-100.
50. Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res*. 2001;49:507-21.
51. Carmeliet P, Conway EM. Growing better blood vessels. *Nat Biotechnol*. 2001;19:1019-20.
52. Robinson CJ, Stringer SE. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J Cell Sci*. 2001;114:853-65.
53. Folkman J, Merler E, Abernathy C, Williams G. Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *J Exp Med*. 1971;133:275-88.
54. Tischer E, Mitchell R, Hartman T, et al. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem*. 1991;266:11947-54.
55. Lee YC. The involvement of VEGF in endothelial permeability: a target for anti-inflammatory therapy. *Curr Opin Investig Drugs*. 2005;6:1124-30.
56. Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost*. 2000;26:561-9.
57. Huang K, Andersson C, Roomans GM, Ito N, Claesson-Welsh L. Signaling properties of VEGF receptor-1 and -2 homo- and heterodimers. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001;33:315-24.
58. Takahashi T, Yamaguchi S, Chida K, Shibuya M. A single autophosphorylation site on KDR/Flk-1 is essential for VEGF-A-dependent activation of PLC-gamma and DNA synthesis in vascular endothelial cells. *EMBO J*. 2001;20:2768-78.
59. Takahashi T, Ueno H, Shibuya M. VEGF activates protein kinase C-dependent, but Ras-independent Raf-MEK-MAP kinase pathway for DNA synthesis in primary endothelial cells. *Oncogene*. 1999;18:2221-30.
60. Davis-Smyth T, Chen H, Park J, Presta LG, Ferrara N. The second immunoglobulin-like domain of the VEGF tyrosine kinase receptor Flt-1 determines ligand binding and may initiate a signal transduction cascade. *EMBO J*. 1996;15:4919-27.
61. Fuh G, Li B, Crowley C, Cunningham B, Wells JA. Requirements for binding and signaling of the kinase domain receptor for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem*. 1998;273:11197-204.
62. Gelinas DS, Bernatchez PN, Rollin S, Bazan NG, Sirois MG. Immediate and delayed VEGF-mediated NO synthesis in endothelial cells: role of PI3K, PKC and PLC pathways. *Br J Pharmacol*. 2002;137:1021-30.
63. Wang H, Keiser JA. Vascular endothelial growth factor upregulates the expression of matrix metalloproteinases in vascular smooth muscle cells: role of flt-1. *Circ Res*. 1998;83:832-40.
64. Zucker S, Mirza H, Conner CE, et al. Vascular endothelial growth factor induces tissue factor and matrix metalloproteinase production in endothelial cells: conversion of prothrombin to thrombin results in progelatinase A activation and cell proliferation. *Int J Cancer*. 1998;75:780-6.
65. Berger G, Song S. The role of pericytes in blood-vessel formation and maintenance. *Neuro-oncol*. 2005;7:452-64.
66. Lim HS, Lip GY, Blann AD. Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in diabetes mellitus: relationship to VEGF, glycaemic control, endothelial damage/dysfunction and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2005;180:113-8.
67. Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: isolation and characterization. *Trends Cardiovasc Med*. 2003;13:201-6.
68. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*. 2000;95:952-8.
69. Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med*. 2003;9:702-12.
70. Lin Y, Weisdorf DJ, Solovey A, Hebbel RP. Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J Clin Invest*. 2000;105:71-7.
71. Asahara T, Takahashi T, Masuda H, et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J*. 1999;18:3964-72.
72. Natori T, Sata M, Washida M, et al. 2002. G-CSF stimulates angiogenesis and promotes tumor growth: potential contribution of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;297:1058-61.
73. Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, et al. 2003. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation*. 2003;107:1322-8.
74. Gill M, Dias S, Hattori K, et al. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+)AC133(+) endothelial precursor cells. *Circ Res*. 2001;88:167-74.
75. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*. 2001;89:E1-7.
76. Ryu JK, Shin HY, Song SU, et al. Downregulation of angiogenic factors and their downstream target molecules affects the deterioration of erectile function in a rat model of hypercholesterolemia. *Urology*. 2006;67:1329-34.
77. Jesmin S, Sakuma I, Salah-Eldin A, et al. Diminished penile expression of vascular endothelial growth factor and its receptors at the insulin-resistant stage of a type II diabetic rat model: a possible cause for erectile dysfunction in diabetes. *J Mol Endocrinol*. 2003;31:401-18.
78. Neves D, Santos J, Tomada N, Almeida H, Vendeira P. Aging and orchidectomy modulate expression of VEGF receptors (Flt-1 and Flk-1) on corpus cavernosum of the rat. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1067:164-72.
79. Rajasekaran M, Kasyan A, Allilain W, Monga M. Ex vivo expression of angiogenic growth factors and their receptors in human penile cavernosal cells. *J Androl*. 2003;24:85-90.
80. Foresta C, Caretta N, Lana A, et al. Circulating endothelial progenitor cells in subjects with erectile dysfunction. *Int J Impot Res*. 2005;17:288-90.

81. Yamanaka M, Shirai M, Shiina H, et al. Vascular endothelial growth factor restores erectile function through inhibition of apoptosis in diabetic rat penile crura. *J Urol.* 2005;173:318-23.
82. Park K, Ahn KY, Kim MK, et al. Intracavernosal injection of vascular endothelial growth factor improves erectile function in aged rats. *Eur Urol.* 2004;46:403-7.
83. Rogers RS, Graziottin TM, Lin CS, Kan YW, Lue TF. Intracavernosal vascular endothelial growth factor (VEGF) injection and adeno-associated virus-mediated VEGF gene therapy prevent and reverse venogenic erectile dysfunction in rats. *Int J Impot Res.* 2003;15:26-37.
84. Ryu JK, Cho CH, Shin HY, et al. Combined angiopoietin-1 and vascular endothelial growth factor gene transfer restores cavernous angiogenesis and erectile function in a rat model of hypercholesterolemia. *Mol Ther.* 2006;13:705-15.
85. Zhu J, Wang X, Chen J, Sun J, Zhang F. Reduced number and activity of circulating endothelial progenitor cells from patients with hyperhomocysteinemia. *Arch Med Res.* 2006;37:484-9.
86. Baumhakel M, Werner N, Bohm M, Nickenig G. Circulating endothelial progenitor cells correlate with erectile function in patients with coronary heart disease. *Eur Heart J.* 2006;27:2184-8.
87. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med.* 2003;348:593-600.
88. Foresta C, Ferlin A, De Toni L, et al. Circulating endothelial progenitor cells and endothelial function after chronic Tadalafil treatment in subjects with erectile dysfunction. *Int J Impot Res.* 2006;18:484-8.
89. Foresta C, Caretta N, Lana A, et al. Relationship between vascular damage degrees and endothelial progenitor cells in patients with erectile dysfunction: effect of vardenafil administration and PDE5 expression in the bone marrow. *Eur Urol.* 2006 [Epub ahead of print].
90. Vidavalur R, Penumathsa SV, Zhan L, Thirunavukkarasu M, Maulik N. Sildenafil induces angiogenic response in human coronary arteriolar endothelial cells through the expression of thioredoxin, hemeoxygenase and vascular endothelial growth factor. *Vascul Pharmacol.* 2006;45:91-5.