

Bases fisiopatológicas de la administración prolongada y continua de los inhibidores de PDE5 para contrarrestar las alteraciones de los cuerpos cavernosos en la disfunción eréctil subsiguiente a la prostatectomía radical

Néstor Gonzalez Cadavid, PhD. Departamento de Urología, Escuela de Medicina, Universidad de California en Los Angeles (UCLA), Laboratorio de Investigación Urológica, LABioMed/Centro Medico de Harbor-UCLA

Conceptos generales

Por conveniencia las abreviaturas a lo largo del texto respetan el estilo internacional, es decir las correspondientes en el idioma inglés.

Los inhibidores de PDE5 ("PDE5i") se utilizan en la práctica estándar para facilitar la erección en pacientes con disfunción eréctil ("erectile dysfunction", "ED") desde su introducción en la clínica a mediados de la década pasada, en regímenes de administración oral "a requerimiento" ("on demand")^{1,2}.

Ello implica un tratamiento esporádico ligado a la intención de inducir la erección durante la actividad sexual, o sea un enfoque paliativo pero no orientado hacia el tratamiento o prevención de la patología subyacente. La frecuencia de administración está por lo tanto ligada a la farmacodinamia de cada inhibidor, o sea vida media de horas para sildenafil (Viagra) o vardenafil (Levitra), o de días para tadalafil (Cialis)³, y en dosis pre-establecidas para inducir un efecto vasodilatador en los cuerpos cavernosos del pene que produzca una erección rígida.

El mecanismo de acción operativo en este paradigma estándar es el que sirvió en primer término para la introducción en la clínica de estos compuestos: el bloqueo de la degradación del cGMP en los cuerpos cavernosos del pene para mantener su concentración tisular en los altos niveles producidos durante la estimulación sexual. Ello se logra por la inhibición selectiva de la fosfodiesterasa 5 localizada en los cuerpos cavernosos (PDE5) que rompe la estructura cíclica del cGMP y lo inactiva⁴.

Esta alta concentración transitoria de cGMP relaja suficientemente la musculatura lisa inhibiendo su tono mediante la reducción del calcio intracelular, o sea el bien conocido efecto vasodilatador, que promueve la tumescencia y eventualmente la erección mientras el cGMP continúe elevado.

En el caso específico de la actividad sexual, el cGMP es producido por la estimulación de la guanilil ciclasa soluble ("sGC") de la musculatura lisa, por el óxido nítrico ("NO") producido por la sintasa del óxido nítrico neuronal (nNOS), al nivel central en el hipotálamo y otros centros de estimulación sexual y al nivel periférico en los terminales nerviosos de los cuerpos cavernosos.

Si no hay liberación de óxido nítrico por falla de la libido o carencia del estímulo sexual, no hay elevación del cGMP y en consecuencia, no hay erección, lo que evita en teoría y práctica que los PDE5i produzcan una tumescencia o erección espontánea o un priapismo esporádico o sostenido en ausencia de dicho estímulo. Por quince o más años esta administración oral de los PDE5i "a requerimiento", ha constituido el único objetivo del tratamiento con estos agentes: un enfoque paliativo para curar el síntoma, la imposibilidad de mantener la erección.

Esta modalidad terapéutica no intenta aliviar o curar la patofisiología de que afecta la musculatura lisa de los cuerpos cavernosos, subyacente a la impotencia vasculogénica (la por lejos más prevalente en el hombre), o sea fibrosis y pérdida de células musculares lisas⁵. Recientemente, los urólogos y sexólogos han comenzado a considerar que algo debería hacerse para al menos prevenir este proceso, en un tipo de ED donde el momento del potencial daño histológico en los cuerpos cavernosos es conocido ya que afecta la musculatura lisa, y ocurre subsiguientemente a la prostatectomía radical^{6,7}.

El iniciador de este daño es la neuropraxia de los terminales de los nervios cavernosos que los afecta durante la cirugía debido a tracción/percusión, isquemia por daño vascular, injuria térmica, o inflamación por trauma quirúrgico⁸. Esta condición se presta entonces para planear una intervención farmacológica con PDE5i, conceptualmente diferente de la mera inducción de la erección, que está orientada a prevenir o contrarrestar en una etapa inicial la ED per se, dentro de la nueva modalidad llamada "rehabilitación penil" ("penile rehabilitation")⁹.

El raciocinio más simple que se ha utilizado para usar un nuevo régimen farmacológico para la administración de los PDE5i⁸⁻¹⁴ se basa en que si la impotencia orgánica, es por definición una condición crónica progresiva, el clínico debería tratarla crónicamente, o sea administrar estos fármacos no esporádicamente, para inducir una erección, sino a largo plazo y en forma continua, para prevenir o revertir el daño a los cuerpos cavernosos.

En el caso de la prostatectomía radical^{8-10,14}, la neuropraxia derivada del potencial daño a los nervios cavernosos, particularmente cuando no se aplica la técnica de "prostatectomía radical de salvataje neural bilateral" ("bilateral nerve sparing radical prostatectomy" o "BNSRP"), impacta gradualmente y en forma severa a la musculatura lisa corporal. Ello causa disfunción veno-oclusiva corporal ("corporal veno-occlusive dysfunction", o "CVOD"), o sea que no solamente existe el riesgo de una ED neurogénica por la neuropraxia per se, sino la resultante ED vasculogénica^{8-10,14}.

Esta última puede ser de tal magnitud, que ni los PDE5i administrados oralmente "a requerimiento", ni la administración local similar de trimix, prostaciclina u otros vasodilatadores, son eficaces para inducir la erección. La rehabilitación penil farmacológica, que actualmente se considera en la clínica, se basa en el tratamiento en forma crónica y continua, desde el momento más temprano posible, luego de la intervención quirúrgica, para ya sea:

a) tratar la disfunción vasculogénica o CVOD con PDE5i, pero no para inducir una erección a voluntad, sino para combatir el proceso patológico que afecta la respuesta de relajación de los cuerpos cavernosos al NO/cGMP^{8-10,14}; y/o,

b) tratar la disfunción neurogénica con agentes neuromoduladores (neurofilinas) que promuevan la regeneración de los axones neuronales dañados por la operación^{15,16}.

La presente contribución se centra en la opción "a", ya que es la que tiene las mayores perspectivas de éxito basada en la disponibilidad clínica y relativa tolerancia farmacológica de los PDE5i y el hecho de la reciente autorización de la FDA para administración diaria y continua del tadalafil¹³.

Sin embargo, existen una cantidad de requisitos a cumplir para asegurarse que esta estrategia es segura y eficiente, en términos clínicos, y fundamentalmente entender el potencial mecanismo de acción para evitar fracasos. Este nuevo mecanismo derivado de los estudios experimentales de laboratorio, que actuaron de pioneros para proponer la nueva modalidad terapéutica de protección del musculo liso, en los cuerpos cavernosos^{14,17-20} difiere radicalmente de la implícita en la extrapolación, un tanto simplista, de una "terapia crónica para una condición crónica". Esta última, en general, acepta el mismo mecanismo de vasodilatación transitoria, que es fundamental para inducir la erección, y no cuestiona su relevancia para modificar la patología, fuera de una vaga referencia a una mayor y más sostenida afluencia de sangre en los cuerpos cavernosos.

Evidencia experimental de la pérdida de la musculatura lisa y el desarrollo de fibrosis en los cuerpos cavernosos como histopatología subyacente a la ED vasculogénica.

El nuevo mecanismo propuesto experimentalmente, parte de la base que la ED, como todo desorden funcional, surge de un daño subyacente en los tejidos responsables de la función respectiva, y que para realmente tratar la ED en forma curativa y no meramente paliativa es necesario contrarrestar y/o reparar ese daño, no simplemente inducir una erección^{8-10,14}.

En el caso de la ED vasculogénica, los tejidos afectados son el endotelio y la musculatura lisa, tanto en la región trabecular de los cuerpos cavernosos, como en la media de las arterias que los irrigan^{21,22}, y en el caso de la neuropraxia experimental, preceden temporalmente al daño funcional²³. Aunque la disfunción endotelial juega algún papel en ED, este dista de tener el significado que tradicionalmente se le asigna, en el sistema vascular extrapeneano. Ello se debe a que, primero no existe una demostración fehaciente de un papel importante de la disfunción endotelial (aunque obviamente existe) en ED y los cuerpos cavernosos, y segundo porque en estas estructuras este papel fundamental, lo desempeña la musculatura lisa trabecular, cuya dilatación por el NO/cGMP, lleva a la erección.

Si la musculatura lisa corporal no se dilata adecuadamente durante el estímulo sexual o farmacológico, que lleva a la producción requerida de NO/cGMP, las venas no se comprimen pasivamente contra la túnica albugínea reteniendo la sangre en los cuerpos cavernosos y se produce la "pérdida venosa" ("venous leakage"), otra designación de la CVOD. Ello se demuestra experimentalmente en la rata, por cavernosometría y cavernosografía²⁴. Si un defecto similar ocurre en la capa media de la pared de las arterias peneanas, hay una insuficiencia de irrigación, o ED arteriogénica, y si ambos procesos coexisten la ED vasculogénica es mixta.

Es importante enfatizar que la CVOD es la forma primordial, seguida por la mixta, mientras que la contribución de la insuficiencia arterial a la ED vasculogénica es debatible.

Pero en todos estos casos, es la "rigidez" de la musculatura lisa la que causa la incapacidad de los cuerpos cavernosos y las arterias peneanas para dilatarse, y que impide paradójicamente alcanzar la rigidez de la erección y a menudo la resistencia a los PDE5i orales "a requerimiento", e incluso a la inyección intracavernosa de sustancias vasoactivas.

Una serie de estudios experimentales en modelos animales (ratas, ratones, conejos), particularmente en el último quinquenio, ha permitido concluir que la rigidez progresiva de la musculatura lisa producida por los factores de riesgo para ED, tales como envejecimiento, diabetes, hipertensión, y otras enfermedades vasculares, tiene un común denominador.

Este es la pérdida gradual de células musculares lisas y su reemplazo por fibras colágenas y otros componentes de la matriz extracelular, o sea una fibrosis difusa de los cuerpos cavernosos⁵, cuya histopatología molecular y celular tiene ciertas características muy similares a los de la fibrosis del pene, focalizada en la túnica albugínea en la placa de la enfermedad de La Peyronie²⁵, o la subsiguiente a inyecciones en el pene o el priapismo.

Es incluso muy similar a las fibrosis localizadas o difusas en órganos tan diversos como el hígado, pulmón, corazón, etc., producidas por los mismos factores de riesgo u otros en diversos desórdenes. Simplificando, el insulto tisular asociado con esos factores de riesgo es una combinación de liberación de citoquinas, particularmente factor de transformación y crecimiento beta ("transforming growth factor beta" o "TGFbeta") y el inhibidor del activador del plasminogeno-1 ("plasminogen activator inhibitor 1" o "PAI-1"), producción de "radicales de oxígeno libre" ("reactive oxygen species", o ROS) con stress oxidativo y de mediadores de hipoxia, que inducen "muerte celular programada" o apoptosis de las células musculares lisas, disminución de la replicación celular que normalmente contrarrestaría la pérdida de estas células por apoptosis, transformación fenotípica de fibroblastos en miofibroblastos (células clave en fibrosis) y/o de células musculares lisas pasando de la forma contráctil a la sintética, con depósito exagerado de colágeno^{5,26}.

Procesos tales como la creación de uniones cruzadas en el colágeno por los "productos de glicosilación avanzada terminal" ("advanced glycation end- products", or "AGEs"), inducidos por la hiperglicemia en la diabetes no controlada, y la inactivación o disminución de la síntesis de las metaloproteinasas ("MMPs"), enzimas que degradan el colágeno, permiten la acumulación de esta proteína.

El resultado es un tejido que ya no se relaja adecuadamente. Una extensión natural de estos estudios en animales experimentales fue demostrar que la "atrofia" progresiva de la musculatura lisa, o más concretamente "distrofia" ya que va asociado con fibrosis y en ciertos casos aparición de adipocitos con depósitos grasos en los cuerpos cavernosos, y la CVOD resultante²⁷, ocurre con características muy similares en una condición tradicionalmente considerada como ED neurogénica.

Esta es precisamente la ED que se manifiesta en un considerable número de pacientes a consecuencia de la prostatectomía radical por cáncer de próstata. Ello se ha observado en muestras de cuerpos cavernosos humanos^{6,7}, pero esencialmente en ratas donde se efectúa la resección de un pequeño trozo de los dos nervios cavernosos ("bilateral cavernosal nerve resection" o "BCNR") o uno solo ("unilateral CNR", o "UCNR") (17-19,23), o donde el daño a los nervios es menor por trituración ("crush") controlada⁸⁻¹⁰.

Es bien claro que, tal como ocurre en la musculatura esquelética, el daño neural o neuropraxia funcional induce distrofia en la musculatura lisa con fibrosis y stress oxidativo progresivos y la aparición de CVOD, similarmente a los modelos de envejecimiento, diabetes o isquemia. Ello explica porque muchos pacientes después de la prostatectomía radical desarrollan CVOD y esta es refractaria no ya solamente a PDE5i orales (en parte debido a la combinación con ED neurogénica) sino a la inyección directa de vasodilatadores en los cuerpos cavernosos (CVOD, o incluso ED vasculogénica mixta).

Evidencia experimental del efecto beneficioso de la administración prolongada y continua de los PDE5i sobre la patofisiología corporal y la CVOD. El resultado de esta fibrosis gradual de los cuerpos cavernosos es la pérdida de relajamiento tisular y la resultante CVOD que se detecta por cavernosometría de infusión dinámica en los modelos animales de factores de riesgo para ED, tales como daño a los nervios cavernosos, diabetes o envejecimiento^{7-19,23,24,27-29}.

Una llamativa característica de los procesos de fibrosis es la inducción espontánea del isoformo inducible de la sintasa del óxido nítrico ("inducible nitric oxide synthase", o "iNOS), que normalmente no se expresa^{5,26,30}. Se ha demostrado que en estas condiciones la expresión de iNOS lejos de ser nociva y producir apoptosis es en realidad un mecanismo de defensa antifibrótica que lleva a una producción de concentraciones reducidas de NO y cGMP pero en forma continua y de larga duración. Estos agentes inhiben la síntesis de colágeno, la formación de miofibroblastos y AGEs, el stress oxidativo por la reducción de ROS, y estimulan la actividad de MMPs, actuando de esta forma como antifibróticos.

El bloqueo farmacológico o genético de iNOS va aparejado con fibrosis corporal o vascular, y con intensificación de la placa de Peyronie, lo cual confirma su acción antifibrótica demostrada también por inserción de secuencias de DNA que codifican a iNOS²⁵. Inspirado en este mecanismo endógeno de defensa, buscamos elevar en forma continua y sostenida los niveles de NO y cGMP, mediante una administración oral semejante de generadores de óxido nítrico y PDE5i.

Demostramos inicialmente que usando oralmente sildenafil, vardenafil, o L-arginina (el sustrato de NOS), o induciendo iNOS ello reduce la fibrosis ya sea en la túnica albugínea en modelos en ratas de la "placa de Peyronie"^{25,31}, o en los cuerpos cavernosos en modelos de ED asociados con envejecimiento²⁸, y que este tratamiento previene o contrarresta la CVOD.

El periodo de administración en estos estudios fue equivalente a 3 % del lapso de vida de la rata, lo que trasladado al hombre, directa y simplísticamente sin considerar las diferencias de especies, podría ser 2-3 años. Basados en estos resultados repetimos paradigmas similares en modelos de BCNR y UCNR, usando en tres estudios separados sildenafil, vardenafil y tadalafil en forma oral^{14,17-19}.

Conclusiones

En todos los casos llegamos a las mismas conclusiones: preservación en los cuerpos cavernosos del número de células musculares lisas, disminución de la muerte celular y la fibrosis, y prevención de la CVOD. Las dosis diarias administradas en el agua de beber y en un caso en dos dosis diarias sublinguales, corregidas por las diferencias de especies para tener una idea aproximada en el hombre fueron para:

- a) sildenafil aproximadamente 150 mg (75 mg en un nuevo estudio),
- b) vardenafil, aproximadamente 40 mg,
- c) tadalafil, aproximadamente 30 mg, pero esta extrapolación requiere confirmación.

Vale la pena mencionar que en un estudio reciente observamos que una administración parecida de sildenafil a ratas con infarto de miocardio redujo el área fibrótica de la zona infartada y estimuló el funcionamiento cardíaco³², reproduciendo estudios similares de otros grupos en ratones y que han estimulado o racionalizado los resultados clínicos en insuficiencia cardíaca³³.

Proyecciones futuras:

Los estudios experimentales citados son alicientes y lo mismo ocurre con estudios clínicos preliminares recientes que sugieren que el tratamiento prolongado y continuo favorece la rehabilitación peneana⁸⁻¹⁴.

Tadalafil podría ser el más adecuado por su larga vida media y la posibilidad de administrarlo 2 veces por semana, pero no por ello puede concluirse que sería superior a sildenafil o vardenafil.

Sin embargo, es necesario en las futuras pruebas clínicas de rehabilitación del pene, luego de la prostatectomía radical se consideren las diferentes variables que pueden afectar los resultados y que los estudios animales no pueden resolver:

- a) lapso de administración luego de la prostatectomía radical
- b) agente seleccionado, dosis y frecuencia
- c) duración del tratamiento
- d) posibles efectos colaterales
- e) prueba de discontinuación prolongada ("wash-out")
- f) posibilidad de continuar por un tiempo con una administración adicional esporádica y "a requerimiento" para facilitar el acto sexual.

Quizás uno de los aspectos más difíciles de incluir en estudios clínicos es la prolongación del tratamiento continuo (diario o 2-3 veces/semana) por más de 6 meses o un año, que los estudios animales y consideraciones básicas de fisiopatología exigen para una reversión de la fibrosis y la reconstitución de la relación musculatura lisa/colágeno.

Por supuesto los estudios convincentes deben ser doble ciego, "randomized", controlados por placebo, multicentro, con un número adecuado de pacientes, y preferentemente no basados solamente en cuestionarios tipo IIEF sino en mediciones de la capacidad eréctil.

La mayoría, sino todos, los estudios clínicos en curso con PDE5i luego de la prostatectomía radical usan solo la administración "a requerimiento" para posibilitar el acto sexual, por lo que no deben confundirse con los de administración continua y sostenida por largo tiempo con enfoque "curativo" o "preventivo".

Sin embargo, la ED vasculogénica es una patología compleja y multifactorial que hace difícil que una sola intervención farmacológica pueda resolver el problema cuando se aborda un enfoque "curativo" y no paliativo como el estándar hasta el momento³⁴.

Lo que si puede preverse es que nuevas investigaciones de laboratorio se enfocaran en diseccionar las distintas etapas de una distrofia progresiva de los cuerpos cavernosos, abordando en combinación distintos agentes farmacológicos, que restauren el equilibrio celular/extracelular.

Por supuesto en el caso de la ED producida por la prostatectomía radical, la reparación de los neurofilamentos dañados con neurofilinas^{15,16}, puede ser un elemento básico en esa combinación, que a través de acciones neurotróficas restauren, no solo la conducción nerviosa dañada, sino estimulen la reparación de la musculatura lisa en una reversión de la atrofia inicial.

Por último, es importante tener presente el creciente interés en la posibilidad de que la administración crónica de PDE5i pueda ser útil para el tratamiento de la sintomatología del tracto inferior urinario ("lower urinary tract symptoms", o "LUTS")^{35,36}, la enfermedad de La Peyronie^{31,37}, o incluso condiciones no urológicas³⁸, basado en los mismos conceptos.

BIBLIOGRAFIA

1. Carson CC 3rd. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: state of the therapeutic class. *Urol Clin North Am.* 2007 Nov;34(4):507-15, vi. Review. PubMed PMID: 17983891.
2. Frajese GV, Pozzi F, Frajese G. Tadalafil in the treatment of erectile dysfunction; an overview of the clinical evidence. *Clin Interv Aging.* 2006;1(4):439-49. Review. PubMed PMID: 18046921; PubMed Central PMCID: PMC2699638.
3. Kouvelas D, Goulas A, Papazisis G, Sardeli C, Pourzitaki C. PDE5 inhibitors: in vitro and in vivo pharmacological profile. *Curr Pharm Des.* 2009;15(30):3464-75. Review. PubMed PMID: 19860692.
4. Corbin JD. Mechanisms of action of PDE5 inhibition in erectile dysfunction. *Int J Impot Res.* 2004 Jun;16 Suppl 1:S4-7. Review. PubMed PMID: 15224127.
5. Gonzalez-Cadavid NF. Mechanisms of penile fibrosis. *J Sex Med.* 2009 Mar;6 Suppl 3:353-62. Review. PubMed PMID: 19267860.
6. Schwartz EJ, Wong P, Graydon RJ. Sildenafil preserves intracorporeal smooth muscle after radical retropubic prostatectomy. *J Urol.* 2004 Feb;171(2 Pt 1):771-4. PubMed PMID: 14713808.
7. Iacono F, Giannella R, Somma P, Manno G, Fusco F, Mirone V. Histological alterations in cavernous tissue after radical prostatectomy. *J Urol.* 2005 May;173(5):1673-6. PubMed PMID: 15821546.
8. Magheli A, Burnett AL. Erectile dysfunction following prostatectomy: prevention and treatment. *Nat Rev Urol.* 2009 Aug;6(8):415-27.
9. Mulhall JP. Penile rehabilitation following radical prostatectomy. *Curr Opin Urol.* 2008 Nov;18(6):613-20. Review. PubMed PMID: 18832948.
10. Hatzimouratidis K, Burnett AL, Hatzichristou D, McCullough AR, Montorsi F, Mulhall JP. Phosphodiesterase type 5 inhibitors in postprostatectomy erectile dysfunction: a critical analysis of the basic science rationale and clinical application. *Eur Urol.* 2009 Feb;55(2):334-47. Epub 2008 Oct 21. Review. PubMed PMID: 18986755.
11. Fusco F, Razzoli E, Imbimbo C, Rossi A, Verze P, Mirone V. A new era in the treatment of erectile dysfunction: chronic phosphodiesterase type 5 inhibition. *BJU Int.* 2010 Jun;105(12):1634-9. Review. PubMed PMID: 20553468.
12. Dorsey P, Keel C, Klavens M, Hellstrom WJ. Phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitors for the treatment of erectile dysfunction. *Expert Opin Pharmacother.* 2010 May;11(7):1109-22. Review. PubMed PMID: 20402554.

13. Costa P, Grivel T, Gehchan N. Tadalafil once daily in the management of erectile dysfunction: patient and partner perspectives. *Patient Prefer Adherence*. 2009 Nov 3;3:105-11. PubMed PMID: 19936152; PubMed Central PMCID: PMC2778425.
14. Rambhatla A, Kovanecz I, Ferrini M, Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Rationale for phosphodiesterase 5 inhibitor use post-radical prostatectomy: experimental and clinical review. *Int J Impot Res*. 2008 Jan-Feb;20(1):30-4. Epub 2007 Aug 2. Review. PubMed PMID:17673932.
15. Sezen SF, Lagoda G, Burnett AL. Role of immunophilins in recovery of erectile function after cavernous nerve injury. *J Sex Med*. 2009 Mar;6 Suppl 3:340-6.
16. Facio F Jr, Burnett AL. Penile rehabilitation and neuromodulation. *Scientific World Journal*. 2009 Jul 27;9:652-64.
17. Ferrini MG, Davila HH, Kovanecz I, Sanchez SP, Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Vardenafil prevents fibrosis and loss of corporal smooth muscle that occurs after bilateral cavernosal nerve resection in the rat. *Urology*. 2006 Aug;68(2):429-35. PubMed PMID: 16904479.
18. Kovanecz I, Rambhatla A, Ferrini MG, Vernet D, Sanchez S, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid N. Chronic daily tadalafil prevents the corporal fibrosis and veno-occlusive dysfunction that occurs after cavernosal nerve resection. *BJU Int*. 2008 Jan;101(2):203-10. Epub 2007 Sep 20. PubMed PMID: 17888043.
19. Kovanecz I, Rambhatla A, Ferrini M, Vernet D, Sanchez S, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid N. Long-term continuous sildenafil treatment ameliorates corporal veno-occlusive dysfunction (CVOD) induced by cavernosal nerve resection in rats. *Int J Impot Res*. 2008 Mar Apr; 20(2):202-12. Epub 2007 Sep 20. PubMed PMID: 17882231.
20. Francis SH, Morris GZ, Corbin JD. Molecular mechanisms that could contribute to prolonged effectiveness of PDE5 inhibitors to improve erectile function. *Int J Impot Res*. 2008 Jul-Aug;20(4):333-42. Epub 2008 Apr 17. Review. PubMed PMID: 18418391.
21. Ferrini MG, Davila HH, Valente EG, Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Aging-related induction of inducible nitric oxide synthase is vasculo-protective to the arterial media. *Cardiovasc Res*. 2004 Mar 1;61(4):796-805. PubMed PMID: 14985077.
22. Kovanecz I, Nolzco G, Ferrini MG, Toblli JE, Heydarkhan S, Vernet D, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Early onset of fibrosis within the arterial media in a rat model of type 2 diabetes mellitus with erectile dysfunction. *BJU Int*. 2009

- May;103(10):1396-404. Epub 2009 Jan 19. PubMed PMID: 19154511.
23. Ferrini MG, Kovanecz I, Sanchez S, Umeh C, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Fibrosis and loss of smooth muscle in the corpora cavernosa precede corporal veno-occlusive dysfunction (CVOD) induced by experimental cavernosal nerve damage in the rat. *J Sex Med.* 2009 Feb;6(2):415-28. Epub 2008 Dec 2. PubMed PMID: 19138364; PubMed Central PMCID: PMC2756287.
 24. Davila HH, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Corporal veno-occlusive dysfunction in aging rats: evaluation by cavernosometry and cavernosography. *Urology.* 2004Dec;64(6):1261-6. PubMed PMID: 15596219.
 25. Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Mechanisms of Disease: new insights into the cellular and molecular pathology of Peyronie's disease. *Nat Clin Pract Urol.* 2005 Jun;2(6):291-7. Review. PubMed PMID: 16474811.
 26. Ferrini MG, Rivera S, Moon J, Vernet D, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. The Genetic Inactivation of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) Intensifies Fibrosis and Oxidative Stress in the Penile Corpora Cavernosa in Type 1 Diabetes. *J Sex Med.* 2010 Jul 6. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20626593.
 27. Kovanecz I, Ferrini MG, Vernet D, Nolzco G, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Pioglitazone prevents corporal veno-occlusive dysfunction in a rat model of type 2 diabetes mellitus. *BJU Int.* 2006 Jul;98(1):116-24. PubMed PMID: 16831155.
 28. Ferrini MG, Kovanecz I, Sanchez S, Vernet D, Davila HH, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Long-term continuous treatment with sildenafil ameliorates aging-related erectile dysfunction and the underlying corporal fibrosis in the rat. *Biol Reprod.* 2007 May;76(5):915-23. Epub 2007 Feb 7. PubMed PMID: 17287493.
 29. Kovanecz I, Ferrini MG, Vernet D, Nolzco G, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Ageing-related corpora veno-occlusive dysfunction in the rat is ameliorated by pioglitazone. *BJU Int.* 2007 Oct;100(4):867-74. Epub 2007 Jul 23. PubMed PMID: 17662078.
 30. Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. The pleiotropic effects of inducible nitric oxide synthase (iNOS) on the physiology and pathology of penile erection. *Curr Pharm Des.* 2005;11(31):4041-6. Review. PubMed PMID: 16378509.
 31. Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Treatment of Peyronie's disease with PDE5 inhibitors: an antifibrotic strategy. *Nat Rev Urol.* 2010 Apr;7(4):215-21. Epub 2010 Mar 9. PubMed PMID: 20212516.
 32. Wang JS-C, Kovanecz I, Vernet D, Nolzco G, Kopchok GE, Chow SL, White RA, Gonzalez-Cadavid NF (2010). Effects of

- long-term continuous sildenafil alone or combined with muscle derived stem cells (MDSC) on myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, submitted
33. Kumar P, Francis GS, Tang WH. Phosphodiesterase 5 inhibition in heart failure: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Cardiol*. 2009 May;6(5):349-55. Review. PubMed PMID: 19377497.
 34. Hatzimouratidis K, Amar E, Eardley I, Giuliano F, Hatzichristou D, Montorsi F, Vardi Y, Wespes E. Guidelines on Male Sexual Dysfunction: Erectile Dysfunction and Premature Ejaculation. *Eur Urol*. 2010 Feb 20. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20189712.
 35. Roumeguère T, Zouaoui Boudjeltia K, Hauzeur C, Schulman C, Vanhaeverbeek M, Wespes E. Is there a rationale for the chronic use of phosphodiesterase-5 inhibitors for lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia? *BJU Int*. 2009 Aug;104(4):511-7. Epub 2009 Feb 23. Review. PubMed PMID: 19239452.
 36. Pimentel H, Wald M, Niederberger C. Daily use of phosphodiesterase 5 inhibitors for erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms. *Int J Impot Res*. 2008 Mar-Apr;20(2):145-9. Epub 2007 Dec 13. Review. PubMed PMID: 18075506.
 37. Ralph D, Gonzalez-Cadavid N, Mirone V, Perovic S, Sohn M, Usta M, Levine L. The management of Peyronie's disease: evidence-based 2010 guidelines. *J Sex Med*. 2010 Jul;7(7):2359-74. Epub 2010 May 19. PubMed PMID: 20497306.
 38. Vlachopoulos C, Terentes-Printzios D, Ioakeimidis N, Rokkas K, Stefanadis C. PDE5 inhibitors in non-urological conditions. *Curr Pharm Des*. 2009;15(30):3521-39. Review. PubMed PMID: 19860698.