



# Actas Urológicas Españolas

[www.elsevier.es/acuro](http://www.elsevier.es/acuro)



## Original – Andrología-Infertilidad

# Impacto en la administración de un donante de óxido nítrico en gel en el flujo sanguíneo clitoridiano, medido por eco-Doppler<sup>☆</sup>

S. Souto, P. Palma\*, C. Riccetto, A.B. Seabra, M. Oliveira, T. Palma y R. Capmartin

Sección Urología Femenina, División Urología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Sao Paulo, Brasil

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 1 de abril de 2010

Aceptado el 13 de abril de 2010

On-line el 14 de julio de 2010

#### Palabras clave:

Pico máximo de velocidad de flujo

sistólica y diastólica

Índice de resistencia

Eco-Doppler

Clitoris

Flujo sanguíneo

### R E S U M E N

**Objetivo:** Evaluar el impacto de las moléculas del donante de óxido nítrico (NO) en el gel F-127 plurónico, aplicado tópicamente en el clitoris, sobre el flujo sanguíneo clitoridiano de mujeres jóvenes voluntarias, usando eco-Doppler.

**Método:** Veinte mujeres sanas mayores de edad, sexualmente activas y sin alteraciones sexuales en su historia clínica fueron enroladas para la medición mediante eco-Doppler de la velocidad del pico sistólico, velocidad diastólica y tasa de resistencia en las arterias clitoridianas previo a la aplicación del donante del NO en gel, a fin de observar los valores basales del flujo en ellas y comparar los valores pre y post.

**Resultados:** Las velocidades sistólica, diastólica y resistencia de base, y 15 min posterior a la aplicación del gel, fueron significativamente diferentes ( $p=0,002$ ,  $p=0,043$ ,  $p=0,005$ , respectivamente). Los resultados muestran el aumento de las velocidades sistólicas y diastólicas a nivel de las arterias clitoridianas en casi 2,5 veces después de 15 min de la administración del gel, lo que traduce un aumento en el flujo sanguíneo clitoridiano.

**Conclusión:** El uso del donante de NO en gel S-nitrosoglutation aumenta, significativamente, el flujo sanguíneo del clitoris. Esto podría ser usado terapéuticamente en algunos casos de disfunción sexual.

© 2010 AEU. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Impact of topic administration of nitric oxide donor gel in the clitoridian blood flow, assessed by Doppler ultra-sound

### A B S T R A C T

**Objective:** This study aims to evaluate of the impact of NO molecules in Pluronic F-127 gel, applied topically in the clitoris, on the clitoridian blood flow of healthy volunteer women, using the Doppler ultra-sound.

**Method:** A total of 20 healthy women over 18 years old and sexually active with no sexual hormones alteration were enrolled. The Doppler ultra-sound procedure was performed on

#### Keywords:

Systolic and diastolic peak flow

Resistivity index

Doppler-ultrasound

<sup>☆</sup>Trabajo ganador del premio de la Sociedad Internacional de Medicina Sexual 2008

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [capmartins@latinmail.com](mailto:capmartins@latinmail.com) (P. Palma).

Clitoris  
Blood stream

the artery of the clitoris in patients without the NO donor gel, and then after fifteen minutes of its application the same procedure was done again, to compare the values.

**Results:** The hemodynamic results showed, that this formulation was responsible for the increase of the systolic and diastolic speeds in about 2,5 times after 15 min of the administration of the gel. The initial resistance index was increased in 1.2 due to the local venous congestion in only 15 min after the administration of gel. Indicating that this product can be used to promote the dilatation of the artery of the clitoris to treat women with sexual dysfunction.

**Conclusion:** The use of topic hidrogel as a donor drug in the clitoris of women resulting in a local vasodilatation, without systemic effects. These findings suggest that this preparation may be useful in the management of selected cases of female sexual dysfunction.

© 2010 AEU. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

El óxido nítrico, cuya estructura química es NO, es un gas soluble, altamente lipofílico, el cual es sintetizado por las células endoteliales, macrófagos y algunas neuronas. Es un muy importante mediador intracelular y extracelular. Igualmente, induce la enzima guanilato ciclasa (GC), la cual produce guanosín monofosfato cíclico (GMPC), que es responsable de la relajación del músculo liso, lo que provoca acciones biológicas como la vasodilatación y la broncodilatación<sup>1</sup>.

El NO es una de las moléculas más pequeñas y simples que han sido sintetizadas<sup>2</sup>. Es un gas inorgánico, sin color ni radicales libres, con siete electrones derivados del nitrógeno y ocho electrones derivados del oxígeno, más un electrón impar. Al igual que algunos péptidos intestinales, el NO forma parte del proceso de tumefacción de los tejidos clitoridianos durante la estimulación sexual<sup>3</sup>.

Actualmente está comprobado que el NO es sintetizado por la óxido nítrico sintetasa (NOS), enzima que es de suma importancia cuando se trata de proteger los vasos sanguíneos<sup>4</sup>.

Desde su primera descripción como factor relajante derivado del endotelio, en 1987, el NO ha sido considerado uno de los mensajeros bioquímicos más importantes, con muchas funciones diferentes, y se encuentra en todas las partes del cuerpo humano.

A pesar de su aparente simplicidad química, el NO es considerado un agente terapéutico promisorio. Muchos problemas terapéuticos son evitados cuando hay una administración tópica de los geles derivados del NO<sup>5</sup>.

Es sabido que el NO es muy importante para la vasodilatación de los cuerpos cavernosos en el hombre y del clitoris en la mujer, y que problemas en la relajación de los cuerpos cavernosos pueden llevar a disfunciones sexuales.

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, la disfunción sexual es un gran problema de salud, debido a la disminución en la calidad de vida, afectando del 30-50% de las mujeres en los Estados Unidos de América.

Más de nueve millones de mujeres refieren molestias en las relaciones sexuales y dificultades para conseguir el orgasmo, de acuerdo con el censo americano.

La importancia potencial de los mecanismos vasculares en la fisiopatología de la estimulación sexual y el orgasmo lleva al estudio de los efectos farmacológicos, para facilitar las fases iniciales de la excitación. Dentro de estas drogas podemos citar la oxitocina, que puede aumentar la receptividad sexual, pero no fue utilizada para la disfunción sexual porque no hay excipiente para su liberación. También es

conocido que el clitoris tiene un papel importante en esta fase<sup>6</sup>.

Este estudio intenta evaluar el impacto de las moléculas del NO en el gel F-127 plurónico, aplicado tópicamente en el clitoris, sobre el flujo sanguíneo clitoridiano de mujeres jóvenes voluntarias, usando eco-Doppler.

## Pacientes y métodos

Este es un estudio prospectivo aprobado por el comité de ética local, en el cual 20 mujeres sanas y sexualmente activas fueron enroladas. Fue desarrollado en la división de Urología Femenina Ambulatoria de la Universidade Estadual de Campinas (Brasil).

## Criterios de inclusión

Consideramos elegibles para el estudio a las pacientes:

- Mayores de 18 años de edad.
- Sin alteraciones de las hormonas sexuales, a través de la realización de exámenes séricos (estrógenos, testosterona libre y testosterona total).
- Sin alteraciones de carácter sexual en la historia clínica.

## Criterios de exclusión

No incluimos para el estudio a las pacientes:

- Embarazadas.
- Con historia clínica o disfunción sexual presente.
- Con infecciones urinarias o vaginales presentes.
- Posmenopáusicas.
- Con importantes prolapsos vaginales identificados en el examen físico.
- Con diabetes o alguna otra enfermedad con posibles alteraciones del sistema nervioso periférico.
- Que utilizaban medicamentos que pudieran interferir con el sistema nervioso periférico.

## Evaluación clínica

Para la selección de las pacientes, la primera cita incluyó historia clínica, examen físico, evaluación hormonal y eco-Doppler de las arterias clitoridianas.

### Síntesis del donante del óxido nítrico

Para este papel escogimos el derivado S-nitroso glutatión (GSNO). El GSNO fue sintetizado por la reacción de cantidades equimolares de glutatión con nitrato de sodio en una solución acuosa de ácido clorhídrico (HCl de 0,5 M), mezclado en un recipiente de hielo por 40 min<sup>7</sup>. La solución fue precipitada con acetona, filtrada y luego lavada con agua y acetona nuevamente. La precipitación fue liofilizada por 24 h. El GSNO se mantuvo en el congelador (-20 °C) y fue protegido de la luz.

### Obtención del gel con el donante de óxido nítrico

El F-127 plurónico (el 25% del peso) en agua contiene GSNO (100 μM) y fue preparado como fue descrito previamente<sup>7</sup>. El F-127 plurónico sólido fue añadido en agua fría (5 °C). Esta solución se mantuvo a 5 °C por doce horas para alcanzar una disolución balanceada del polímero. La solución acuosa de GSNO (0,35 mM) fue adicionada al F-127 plurónico, bajo agitación en un recipiente de hielo hasta que estuvo completamente homogénea.

### Eco-Doppler de las arterias del clítoris

Esta fase comienza con un estudio piloto que quería determinar el tiempo necesario para que el derivado del NO alcanzara su pico de acción. La evaluación fue realizada mediante la administración tópica del gel en las pacientes, seguida de la realización de eco-Doppler y observación de las variables hemodinámicas, desde el comienzo de la administración del gel hasta su pico máximo, el cual ocurrió sobre los quince minutos posteriores. La dosis del donante del NO en el gel utilizado para este estudio fue de 100 μM y fue sintetizado por el Instituto de Química de nuestra institución.

Inicialmente, la eco-Doppler fue realizada en las arterias clitoridianas de las pacientes sin aplicación del donante del NO en gel, a fin de observar los valores basales del flujo en ellas. En el análisis hemodinámico se consideraron la velocidad del pico sistólico, la velocidad diastólica y la tasa de resistencia. Posteriormente, 1 ml de gel fue aplicado, conteniendo una dosis de 100 μM sobre el clítoris, y luego de quince minutos se realizó el mismo procedimiento, para comparar los valores. El procedimiento fue realizado usando un transductor Toshiba de 7,5 MHz por vía tras labial. Todas las mediciones por eco-Doppler fueron realizadas por el mismo investigador, utilizando la misma técnica.

### Variables y conceptos

Velocidad máxima (V<sub>máx</sub>) es la velocidad sistólica del pico arterial.

Velocidad mínima (V<sub>mín</sub>) es la velocidad diastólica.

Índice de resistencia (IR) es la resistencia al flujo de sangre en el vaso. Es calculada por la fórmula:

$$IR = \frac{V_{máx} - V_{mín}}{V_{máx}}$$

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico fue utilizado el examen Wilcoxon. Fue determinado el nivel significativo del 5% (p < 0,05).

### Resultados

Después de la eco-Doppler analizamos la velocidad sistólica de base y 15 min posterior a la aplicación del gel, y estas fueron significativamente diferentes (p=0,002) (fig. 1).

Al evaluar la velocidad de flujo diastólica en ambas mediciones, estas son considerablemente diferentes (p=0,043) (fig. 2).

La resistencia inicial comparada con la resistencia posterior a la administración del gel, también tuvo una diferencia significativa (p=0,005) (fig. 3).

En las siguientes imágenes es posible observar el flujo sanguíneo del clítoris antes del uso del gel (fig. 4). En la figura 5, la disminución de la resistencia del vaso representa la vasodilatación local causada por el gel 10 min después de su administración y en 15 min la dilatación de las arterias del clítoris, representada por la resistencia (fig. 6).

### Discusión

La literatura médica muestra que la molécula donante de NO, GSNO, incorporada en el gel F-127 plurónico fue la responsable por la vasodilatación local cuando fue administrada en las arterias del clítoris de las pacientes.

El F-127 plurónico fue escogido como excipiente para ser incorporado a la GSNO porque es un polímero biológicamente estudiado y usado en fórmulas médicas, como en los tratamientos de quemaduras, en las administraciones rectales, etc<sup>5</sup>.

En bajas temperaturas (por debajo de 10 °C) es una solución isotrópica, en todas las concentraciones. Sobre los 20 °C, las micelas se reacomodan en una estructura cúbica y la solución se torna en un hidrogel.

El uso tópico del hidrogel como medicamento derivado permite la liberación extensa de GSNO en la microcirculación, lo que resulta en una vasodilatación local, sin efectos sistémicos<sup>5</sup>.

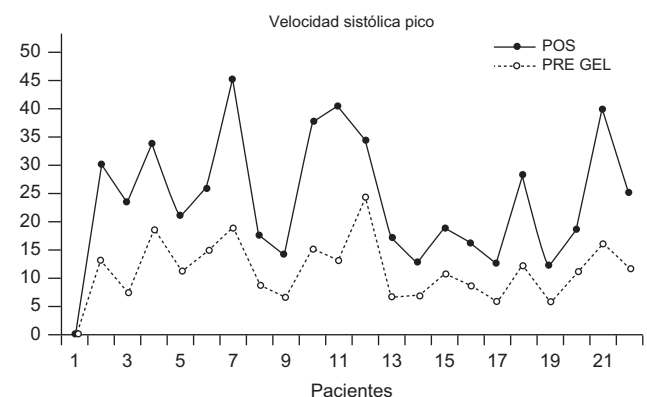


Figura 1 - Evaluación del flujo sistólico pico.

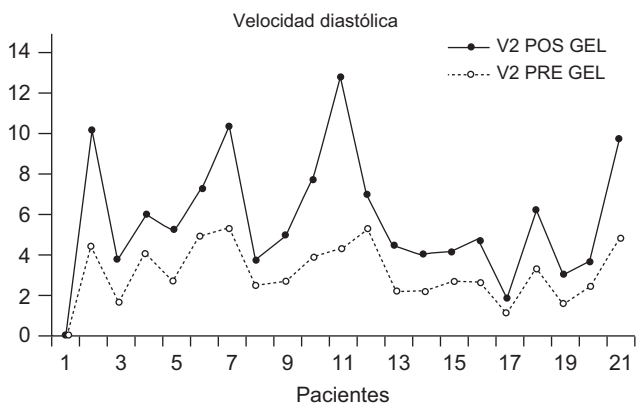


Figura 2 - Evaluación del flujo diastólico pico.

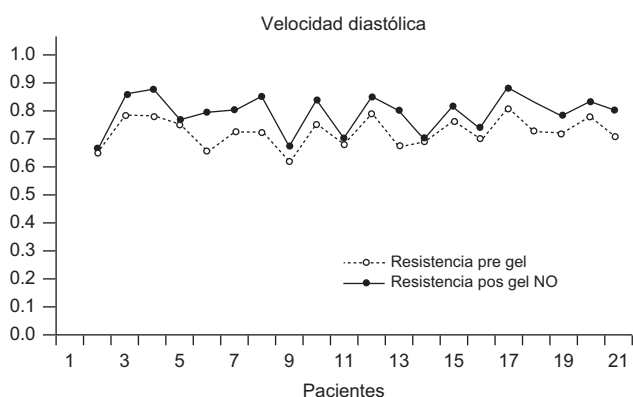


Figura 3 - Índice de resistencia.

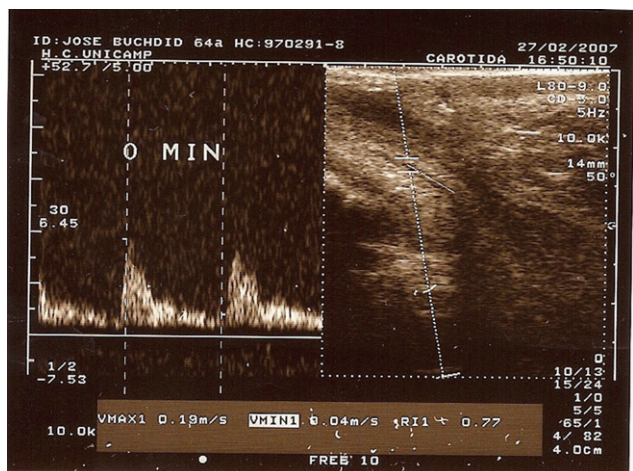


Figura 4 - Eco-Doppler antes de la administración del gel donante de NO, con el índice de resistencia del vaso = 0,77.

El efecto hemodinámico tiene su pico de acción después de 15 min de la administración. Como molécula hidrófila, el GSNO puede difundirse fácilmente a través del plasma y la matriz intracelular para hacer liberar directamente la GC.

El NO producido por las células endoteliales es esencial en el proceso de relajación de los vasos sanguíneos. En condiciones fisiológicas, la relajación ocurre cuando los receptores de membrana de las células son activados por

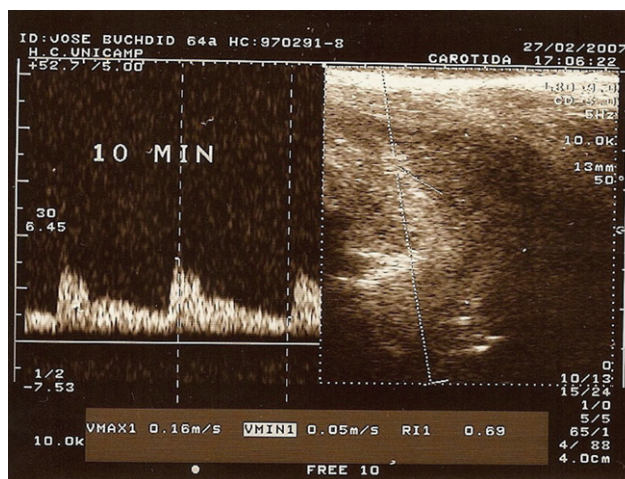


Figura 5 - Eco-Doppler 10 min después de la administración del gel, con disminución de la resistencia: 0,69.

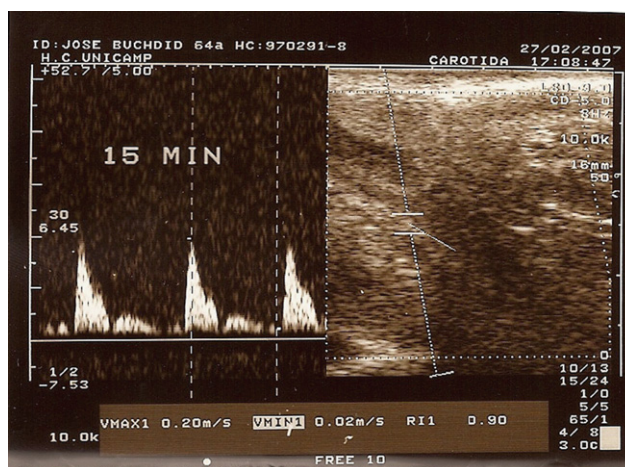


Figura 6 - Eco-Doppler 15 min después de la administración del gel, con resistencia aumentada a 0,90 por la congestión venosa local.

estímulos de moléculas solubles, incluyendo acetilcolina, bradiquinina, adenosin difosfato, sustancia P, serotonina, etc., o cuando el desgaste de las células circulantes sobre las capas endoteliales aumenta, activando la enzima NOS (e-NOS), la cual produce NO<sup>8</sup>.

La e-NOS está estratégicamente sujeta a la membrana de la célula endotelial, favoreciendo la presencia de grandes cantidades de NO cerca de la capa muscular de los vasos y células sanguíneas. En respuesta a los agonistas, como la bradiquinina, hay una fosforilación de la e-NOS, determinando su translocación hacia el citosol<sup>9</sup>.

El NO producido en las células endoteliales es movido a las células musculares y al lumen vascular. La rápida difusión y la facilidad con la que esta molécula entra en otras células, debido a su pequeño tamaño y lipofilia, son importantes para el entendimiento de sus actividades biológicas<sup>10</sup>. Dentro de la célula muscular, el NO interactúa con el hierro de la enzima GC, llevando a la alteración de su conformación, activándola (GCa). La GCa cataliza la salida de dos grupos fosfatos de la molécula guanosín trifosfato, lo que resulta en

GMPc. El aumento de los niveles de GMPc en las células del músculo genera su relajación<sup>11</sup>.

Hay muchas aplicaciones potenciales para la utilización del NO, pero aún existen dudas sobre sus indicaciones terapéuticas. Los datos más recientes en vivo indican que su uso puede ser benéfico en la curación de heridas ocasionadas por la diabetes, las infecciones cutáneas, la vasodilatación local de la diabetes y la psoriasis<sup>12</sup>.

Recientemente, el citrato de sildenafil probó ser eficiente para tratar la disfunción eréctil masculina. La acción de esta sustancia es mediante la inhibición de la enzima 5 fosfodiesterasa, que impide la degradación del GMPc. Así, promueve la formación de altos niveles de GMPc, relajando los músculos lisos del cuerpo cavernoso del pene, facilitando la erección y manteniéndola por un mayor tiempo<sup>13</sup>.

El uso de sildenafil en mujeres con disfunción sexual no ha tenido buenos resultados, en parte por los criterios de inclusión<sup>14</sup>.

En este estudio se observa que la resistencia después del uso del gel disminuye cuando es comparada con la línea de base, debido a la vasodilatación local causada por esta sustancia. Igualmente, el aumento en el flujo sanguíneo de las arterias clitoridianas explica el posterior aumento en la resistencia de la misma arteria debido a la tumefacción del clítoris.

La falta de estrato córneo en la mucosa de la vagina permite la difusión del GSNO a un área específica. Los resultados hemodinámicos muestran, por primera vez, que esta formulación fue la responsable del aumento de las velocidades sistólicas y diastólicas en casi 2,5 veces después de 15 min de la administración del gel. El IR inicial aumentó en 1,2 veces después de su administración, debido a la congestión venosa local. Estos resultados mostraron que únicamente 15 min después de la administración es posible obtener un aumento en el flujo sanguíneo clitoridiano, indicando que este producto puede ser utilizado para promover la dilatación de las arterias del clítoris y de los cuerpos cavernosos clitoridianos.

Estos hallazgos sugieren que esta preparación puede ser útil en el manejo de casos selectivos de disfunción sexual femenina.

## Conclusión

El uso del donante del NO en GSNO aumenta, significativamente, el flujo sanguíneo del clítoris. Esto podría ser usado terapéuticamente en algunos casos de disfunción sexual.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## BIBLIOGRAFÍA

1. The Free Encyclopedia Wikipedia, November 2007. Disponible en: [http://en.wikipedia.org/wiki/Nitric\\_oxide](http://en.wikipedia.org/wiki/Nitric_oxide).
2. Morris SM, Billiar TR. New insights into regulation of inducible nitric oxide synthase. *Am J Physiol*. 1994;266:E829-39.
3. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: The good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol*. 1996;271:C1424-37.
4. Knowles RG, Palacios M, Palmer RM, Moncada S. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: A transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86:5159-62.
5. Seabra AB, Fitzpatrick A, Paul J, De Oliveira MG, Weller R. Topically applied S-nitrosothiol-containing hydrogels as experimental and pharmacological nitric oxide donors in human skin. *Br J Dermatol*. 2004;151:977-83.
6. Levin RJ. The physiology of sexual function in women. *Clin Obstet Gynaecol*. 1980;7:213-52.
7. Amadeu TP, Seabra AB, De Oliveira MG, Costa AMA. S-nitrosoglutathione-containing hydrogel accelerates rat cutaneous wound repair. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2007;21:629-637.
8. Busconi L, Michel T. Endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem*. 1993;268:8410-3.
9. Michel T, Li GK, Busconi L. Phosphorylation and subcellular translocation of endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:6252-6.
10. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991;43:109-42.
11. Gewaltig MT, Kojda G. Vasoprotection by nitric oxide: Mechanisms and therapeutic potential. *Cardiovasc Res*. 2002;55:250-260.
12. Seabra AB, Pankotai E, Fehér M, Somlai A, Kiss L, Bíró L, et al. S-nitrosoglutathione-containing hydrogel increases dermal blood flow in streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Dermatol*. 2007;156:814-8.
13. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem*. 1993;268:12231-4.
14. Lopes GP, Torres DO, Nascimento LG, Marques CM, Maia MB, Montgomery M. Patología e terapia sexual. Rio de Janeiro: Medsi Editora; 1995. p. 29-33.