



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTU SENSU EM CIRURGIA

RAPHAEL FARIAS DE CARVALHO

EFEITOS CISTOMÉTRICOS DA CASTRAÇÃO HORMONAL E ADMINISTRAÇÃO  
DIÁRIA DE TADALAFILA EM CAMUNDONGOS COM HIPERATIVIDADE  
DETRUSORA INDUZIDA PELA DEFICIÊNCIA CRÔNICA DE ÓXIDO NÍTRICO

FORTALEZA

2015

RAPHAEL FARIAS DE CARVALHO

EFEITOS CISTOMÉTRICOS DA CASTRAÇÃO HORMONAL E ADMINISTRAÇÃO  
DIÁRIA DE TADALAFILA EM CAMUNDONGOS COM HIPERATIVIDADE  
DETRUSORA INDUZIDA PELA DEFICIÊNCIA CRÔNICA DE ÓXIDO NÍTRICO

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação Strictu Sensu em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Médico-Cirúrgicas. Área de concentração: Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse.

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Flávio Gonzaga-Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Reges Maia Oliveira

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

- 
- C327e Carvalho, Raphael Farias de.  
Efeitos cistométricos da castração hormonal e administração diária de tadalafila em camundongos com hiperatividade detrusora induzida pela deficiência crônica de óxido nítrico./ Raphael Farias de Carvalho. – 2015.  
48 f.: il. color., enc.; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia, Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Mestrado em Cirurgia, Fortaleza, 2015.  
Área de Concentração: Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse.  
Orientação: Prof. Dr. Lúcio Flavio Gonzaga-Silva.  
Co-Orientação: Dr. Ricardo Reges Maia Oliveira.
1. Hiperplasia Prostática. 2. Andrógenos. 3. Inibidores de Fosfodiesterase. I. Título.

RAPHAEL FARIAS DE CARVALHO

EFEITOS CISTOMÉTRICOS DA CASTRAÇÃO HORMONAL E ADMINISTRAÇÃO  
DIÁRIA DE TADALAFILA EM CAMUNDONGOS COM HIPERATIVIDADE  
DETRUSORA INDUZIDA PELA DEFICIÊNCIA CRÔNICA DE ÓXIDO NÍTRICO

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação Strictu Sensu em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Lúcio Flávio Gonzaga-Silva (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Dr. Ricardo Reges Maia de Oliveira  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão  
Universidade Estadual do Ceará

A Deus, por ser meu alicerce em todos os momentos.

Aos meus pais, Bonifácio e Francisca, pelo amor e educação.

À minha noiva, Ana Lorena, pela compreensão e total apoio.

À minha irmã, Keyvila, por compreender a minha ausência temporária na recuperação de meu pai.

Ao Prof. Dr. Lúcio Flávio Gonzaga-Silva pela oportunidade e confiança.

Ao Prof. Dr. Ricardo Reges Maia Oliveira pelos ensinamentos e amizade.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS, professor titular do Departamento de Cirurgia e coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pela contínua contribuição à Pós-Graduação desta universidade.

Ao Prof. Dr. LÚCIO FLÁVIO GONZAGA-SILVA, professor do Departamento de Cirurgia e orientador desta tese, por me conceder esta oportunidade e por ser fonte de inspiração em ética profissional.

Ao Prof. Dr. RICARDO REGES MAIA DE OLIVEIRA, professor do Departamento de Cirurgia e co-orientador desta tese, por ter contribuído sobremaneira para minha formação técnica e científica, além de ser um grande amigo.

Ao Prof. Dr. MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO, brilhante pesquisador desta instituição, por proporcionar a logística necessária a este estudo.

Ao Prof. Dr. JOÃO BATISTA GADELHA DE CERQUEIRA, professor do Departamento de Cirurgia, por ser o pilar mestre na minha formação urológica.

Ao Dr. FRANCISCO VAGNALDO FECHINE JAMACARU, pelas suas contribuições na realização dos experimentos deste estudo.

Ao Prof. Ms. SAID GONÇALVES DA CRUZ FONSECA, professor do curso de Farmácia da UFC, por contribuir com a manipulação dos fármacos deste estudo.

Ao Dr. ROMMEL PRATA REGADAS, por compartilhar as experiências da sua trajetória acadêmica e pelo incansável apoio ao serviço de urologia desta instituição.

Aos preceptores do Serviço de Urologia do HUWC, PAULO HENRIQUE DE MOURA REIS E LEOCÁCIO VENÍCIOS DE SOUSA BARROSO, pela enorme contribuição na minha formação técnica e pelos ensinamentos de vida compartilhados nas inúmeras conversas no centro cirúrgico.

A minha futura esposa, ANA LORENA ESMERALDO, por fazer questão de dividir os fins de semana ao meu lado seja realizando os experimentos na Unidade de Farmacologia, seja estudando para confecção desta dissertação.

A PATRÍCIA LOPES e LUCAS BERNARDO, graduandos do curso de Medicina da UFC, pela enorme contribuição durante os experimentos.

A MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA e MAGDA MARIA GOMES FONTENELE, secretária da Pós-graduação em Cirurgia, pela atenção e apoio.

“ Só pode vencer aquele que soube lutar!”

Padre Fábio de Melo

## RESUMO

Sintomas do trato urinário inferior (STUI) representam uma das queixas mais comuns em homens. Diferentes distúrbios da micção podem resultar em STUI. Hipogonadismo é uma doença comum e subdiagnosticada no idoso, podendo estar associado a STUI. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da administração crônica da Tadalafila em camundongos hipogonádicos com deficiência crônica de óxido nítrico através de estudo cistométrico in vivo. Para tanto, foi comparado a resposta da Tadalafila em animais castrados (hipogonádicos) e após reposição de testosterona (normogonádicos). Um total de quarenta e dois camundongos foram randomizados em seis grupos. Grupo 1(L-NAME): L-NAME (60mg/kg), que é um inibidor da síntese da óxido-nítrico sintase, foi administrado em água de beber. Grupo 2 (DTAD): L-NAME (60mg/kg) + diluente da Tadalafila (goma xantana e manitol). Grupo 3 (TAD): L-NAME (60mg/kg) + Tadalafila diário (4mg/kg). Grupo 4 (ORQ): L-NAME (60mg/kg) + orquiectomia. Grupo 5 (ORQ + TAD): L-NAME (60mg/kg) + orquiectomia + Tadalafila (4mg/kg). Grupo 6 (TEST): L-NAME (60mg/kg) + orquiectomia + Tadalafila (4mg/kg) + Undecilato de Testosterona SC (100mg/kg) em dose única. Após trinta dias, todos os animais foram submetidos a cistometria. Foram avaliados o número de contrações não-miccionais antes da primeira micção (NVC) e a frequência de micção (FM). Limiar de pressão (LP) e pressão basal (PB) foram medidos em mmHg, limiar de volume (LV) em ml. A avaliação estatística foi realizada com o software GraphPad Prism®, utilizando análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey. A distribuição de normalidade foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Nível de significância utilizado foi de 5% ( $p < 0,05$ ). A média e o desvio-padrão (DP) foram mensurados. Os Grupos TAD ( $1.28 \pm 1.89$ ), ORQ ( $0.16 \pm 0.40$ ) e TEST ( $1.14 \pm 1.21$ ) tiveram menor número de NVC comparados ao Grupo L-NAME ( $5.42 \pm 4.11$ ); o Grupo ORQ + TAD ( $1.5 \pm 1.64$ ) e ORQ ( $0.16 \pm 0.40$ ) foram semelhantes neste parâmetro ( $F=4.24$ ,  $p=0,0042$ ). Com relação à frequência miccional, os Grupos TAD ( $1.12 \pm 0.38$ ) e ORQ ( $0.60 \pm 0.23$ ) tiveram menores médias que o Grupo L-NAME ( $2.27 \pm 0.68$ ); os Grupos ORQ + TAD ( $0.75 \pm 0.28$ ) e ORQ ( $0.60 \pm 0.23$ ) tiveram FM semelhantes; o Grupo TEST ( $2.74 \pm 0.56$ ) teve FM superior aos Grupos ORQ, TAD e ORQ + TAD ( $F=28.82$ ,  $p < 0.0001$ ). Ao avaliar limiar de pressão, os Grupos TAD ( $27.57 \pm 7.41$ ) e ORQ ( $27 \pm 5.51$ ) tiveram médias inferiores ao Grupo L-NAME ( $41.43 \pm 10.86$ ); ORQ + TAD ( $32.17 \pm 7.27$ ) e ORQ ( $27 \pm 5.51$ ) foram semelhantes entre si; o Grupo TEST ( $42.14 \pm 6.09$ ) teve LP superior a ORQ ( $27 \pm 5.51$ ) e TAD ( $F=5.78$ ,  $p=0.0006$ ). No que se refere à pressão basal, os Grupos TAD ( $18.71 \pm 3.94$ ) e ORQ ( $13 \pm 10.94$ ) tiveram médias inferiores ao L-NAME



(31.14±4.56); ORQ(13±10.94) e ORQ+TAD (19.83±3.25) foram similares entre si; o Grupo TEST(28±5.83) teve média da PB superior ao ORQ (F=5,72, p=0,0006). Não houve diferença estatística entre os grupos com relação ao limiar de volume. Os Grupos DTAD e L-NAME foram semelhantes em todos os parâmetros. Em conclusão, a Tadalafila e a castração foram igualmente efetivos em reduzir a hiperatividade detrusora e relaxar a uretra em camundongos com deficiência crônica de óxido nítrico. A administração de testosterona e Tadalafila de forma combinada para camundongos castrados com deficiência crônica de óxido nítrico aumenta a frequência de micção, pressão basal e limiar de pressão em relação à castração isolada, sugerindo uma via alternativa andrógeno-dependente relacionada com contração e relaxamento do músculo liso.

Palavras-Chave: HPB, Inibidor da fosfodiesterase tipo 5, Andrógeno.

## ABSTRACT

Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS) represents one of the most commonly complaints in male. Several voiding disorders can be involved in the pathogenesis of LUTS. Hypogonadism is a common and underdiagnosed disease in the aging male, usually presenting simultaneously with LUTS. The objective of this study was to evaluate the cystometric effects of chronic tadalafil administration in castrated mice with nitric oxide cronic deficiency. The results of tadalafil administration were compared in castrated mice (hypogonadics) and after testosterone replacement (eugonadics). A total of 42 mice were randomized to six groups. Group 1 (L-NAME): L-name (60mg/kg), which is an oxide-nitric sintethase inhibitor, was administrated in drinking water. Group 2 (DTAD): L-name (60mg/kg) + diluent of tadalafil (mannitol and xantane gum). Group 3 (TAD): L-name + daily tadalafil (4mg/kg). Group 4 (ORQ): L-name + orchietomy. Group 5(ORQ+TAD): L-name + orchietomy + tadalafil. Group 6 (TEST): L-name + ORQ + TAD + testosterone undecanoate SC single dose (100mg/kg). During cystometry after thirty days, five parameters were measured: number of non-voiding contractions before first micturition (NVC) and micturition frequency (FM). Threshold pressure (TP) and basal pressure (BP) were expressed as mmHg, volume threshold (VT) was expressed as mL. Statistical analysis were held with GraphPad Prism®, using analysis of variance (ANOVA) and Tukey's tests. Normality distribution was held with Kolmogorov-smirnov test. Level of significance was 5% ( $P < 0.05$ ). Mean and standard desviation (SD) were analysed. TAD ( $1.28 \pm 1.89$ ), ORQ ( $0.16 \pm 0.40$ ), and TEST ( $1.14 \pm 1.21$ ) Groups had lower number of NVC compared to L-name ( $5.42 \pm 4.11$ ) Group; ORQ + TAD ( $1.5 \pm 1.64$ ) and ORQ had similar NVC ( $F = 4.24$ ,  $p = 0.0042$ ). Frequency of micturition: TAD ( $1.12 \pm 0.38$ ) and ORQ ( $0.60 \pm 0.23$ ) Groups had lower FM compared to L-name Group ( $2.27 \pm 0.68$ ); ORQ + TAD ( $0.75 \pm 0.28$ ) and ORQ ( $0.60 \pm 0.23$ ) had similar FM; TEST Group ( $2.74 \pm 0.56$ ) had higher FM compared to ORQ, TAD e ORQ + TAD Groups ( $F = 28.82$ ,  $p < 0.0001$ ). Threshold pressure: TAD ( $27.57 \pm 7.41$ ) and ORQ ( $27 \pm 5.51$ ) Groups had lower TP compared to L-name ( $41.43 \pm 10.86$ ); ORQ + TAD ( $32.17 \pm 7.27$ ) and ORQ ( $27 \pm 5.51$ ) had similar TP; TEST ( $42.14 \pm 6.09$ ) had higher TP compared to ORQ ( $27 \pm 5.51$ ) and TAD ( $27.57 \pm 7.41$ ) Groups ( $F = 5.78$ ,  $p = 0.0006$ ). Basal pressure: TAD ( $18.71 \pm 3.94$ ) and ORQ ( $13 \pm 10.94$ ) Groups had lower BP compared to L-name ( $31.14 \pm 4.56$ ); ORQ ( $13 \pm 10.94$ ) and ORQ+TAD ( $19.83 \pm 3.25$ ) had similar BP; TEST ( $28 \pm 5.83$ ) had higher BP compared to ORQ ( $F = 5.72$ ,  $p = 0.0006$ ). There were no statistical diferences in volume threshold between groups. There were no diferences between DTAD and L-name in any parameter. In conclusion,

Tadalafil and castration were equally effective reducing detrusor overactivity and relaxing urethra in mice with nitric oxide chronic deficiency. Co-treatment of testosterone with tadalafil to castrated rats improves frequency of micturition, basal pressure and threshold pressure when compared to castration alone, suggesting an androgen-dependent alternative pathway in smooth muscle contraction e relaxation.

Keywords: BPH, Phosphodiesterase type 5 inhibitors, Androgen.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

Figura 1- Camundongos anestesiados sendo submetidos a cistometria .....	23
Figura 2- Ilustração de traçado cistométrico em cada grupo avaliado .....	25
Figura 3- Contrações não-miccionais .....	27
Figura 4- Limiar de Pressão .....	28
Figura 5- Pressão Basal .....	29
Figura 6- Frequência Miccional .....	30
Figura 7- Limiar de Volume .....	31
Tabela 1-Média $\pm$ DP dos parâmetros cistométricos avaliados .....	32

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ANOVA	Análise de variância
DAEM	Distúrbio androgênico do envelhecimento masculino
DTAD	Diluyente da Tadalafila
FM	Frequência miccional
GMP	Guanosina monofosfato
GMPc	Guanosina de monofosfato cíclico
GTP	Guanosina trifosfato
HPB	Hiperplasia prostática benigna
IPDE-5	Inibidores da fosfodiesterase do tipo 5
IPSS	Escore internacional de sintomas prostáticos
L-NAME	N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster hidróclorido
LP	Limiar de pressão
LV	Limiar de volume
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NVC	Contrações não-miccionais/Non-voiding contractions
OIV	Obstrução infra-vesical
ORQ	Orquiectomia
PB	Pressão Basal
PDE	Fosfodiesterase
PVR	Volume residual pós-miccional
Qmax	Pico de fluxo máximo
STUI	Sintomas do trato urinário inferior
TAD	Tadalafila

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1 Sintomas do Trato Urinário Inferior .....	13
1.2 Óxido Nítrico / Inibidores da Fosfodiesterase tipo 5 .....	15
1.3 Hipogonadismo/ STUI/IPDE-5 .....	17
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	20
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	21
3.1 Aspectos éticos .....	21
3.2 Animais .....	21
3.3 Fármacos .....	22
3.4 Método experimental .....	23
3.5 Análise estatística .....	25
<b>4 RESULTADOS</b> .....	26
4.1 Contrações não-miccionais.....	28
4.2 Limiar de Pressão .....	29
4.3 Pressão Basal .....	30
4.4 Frequência de micção .....	31
4.5 Limiar de Volume .....	32
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	39
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	40
<b>ANEXO</b> .....	46

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Sintomas do Trato Urinário Inferior

Os sintomas do trato urinário inferior (STUI) representam umas das queixas clínicas mais comuns em homens adultos (MARTIN et al., 2011; KUPELIAN et al., 2006). As estimativas variam amplamente a depender da definição e da população avaliada, porém a maioria dos homens idosos referem ao menos um destes sintomas.

STUI podem ser divididos em sintomas de armazenamento, esvaziamento e pós-miccionais, estando tradicionalmente relacionados com a obstrução infra-vesical (OIV) decorrente da obstrução prostática benigna. Esta, por sua vez, está frequentemente associada com o aumento benigno da próstata resultante da condição histológica hiperplasia benigna da próstata (HPB), (ABRAMS et al., 2002; CHAPPLE et al., 2008).

A hiperplasia prostática benigna é extremamente prevalente na população de homens idosos, aumentando de 42% em homens de 50-59 anos para 88% em homens com mais de 80 anos (BERRY et al., 1984). Aproximadamente 50% dos homens com HPB histológica desenvolve aumento benigno da próstata, mas somente 25-50% daqueles com HPB histológico tem STUI (CHAPPLE et al., 2006; ROEHRBORN, 2005). O inverso também é verdadeiro. A presença de STUI não significa obstrução prostática benigna ou obstrução infra-vesical. Em séries de pacientes masculinos apresentando-se com STUI, somente 50% tinham obstrução urodinamicamente comprovada (RODRIGUES et al., 2009).

Recentes estudos têm demonstrado que os STUI não estão necessariamente relacionados com patologias prostáticas. Inúmeros tipos de disfunções vesicais podem estar envolvidas na patogênese destes sintomas, que algumas vezes manifestam-se urodinamicamente como hiperatividade detrusora, complacência vesical reduzida na cistometria e hipoatividade detrusora no estudo fluxo-pressão. Além disso, muitas outras condições, tanto urológicas como não urológicas, podem contribuir para STUI.

A existência de mais de um fator ocasionando STUI em um único paciente é comum. Esta visão multifatorial da etiologia dos STUI tem feito com que muitos estudiosos passem a ver o trato urinário por completo como uma unidade funcional única (GRAVAS et al., 2014).

O trato urinário inferior consiste na bexiga e uretra, incluindo também a próstata em homens. A bexiga é um órgão muscular oco com a função de armazenar urina sob baixas pressões e expelir a mesma pela uretra de forma voluntária e no momento apropriado. A parte inferior da bexiga, onde suas superfícies ínfero-laterais encontram a sua base, denomina-se

colo vesical. Em homens, o colo vesical está posicionado imediatamente sobre a próstata. A bexiga é composta por uma serosa, uma camada muscular intermediária denominada de detrusor e uma camada epitelial interna denominada urotélio. A inervação simpática da bexiga se origina a nível espinhal de T10-L2, via nervo hipogástrico. Age principalmente durante o armazenamento de urina, promovendo o relaxamento do músculo detrusor e contração da musculatura lisa involuntária do colo vesical e próstata. Esta ação acontece por meio da liberação de noradrenalina na fenda sináptica que se ligará a receptores beta e alfa predominantes no corpo e colo vesical, respectivamente. Por outro lado, a inervação parassimpática origina-se ao nível de S2-S4 via nervo pélvico. Sua ação predomina durante o esvaziamento vesical, ao promover contração da musculatura detrusora. Esta por sua vez resulta da liberação de acetilcolina na fenda sináptica e sua ligação aos receptores muscarínicos da bexiga (PATEL et al., 2008).

A uretra masculina tem aproximadamente vinte centímetros e divide-se em uretra prostática, membranosa, bulbar e peniana. A uretra membranosa compreende a região uretral que atravessa o diafragma urogenital, estando envolvida pelo esfíncter uretral estriado. Este esfíncter recebe inervação oriunda do nervo pudendo e por se constituir de musculatura estriada, tem atividade voluntária (PATEL et al., 2008).

Sintomas do trato urinário inferior (STUI) estão associados com piora da qualidade de vida dos pacientes e geram custos substanciais para a sociedade (ENGSTROM et al., 2005; HU et al., 2003). Os STUI constituídos por urgência, frequência, incontinência urinária de urgência e noctúria são denominados clinicamente de bexiga hiperativa. Estes sintomas estão relacionados com hiperatividade do detrusor e são referidos como o principal responsável pelo impacto negativo na qualidade de vida destes pacientes (WEINA, 1995; STEWART et al., 2003).

O arsenal terapêutico dos sintomas do trato urinário inferior do ponto de vista medicamentoso inclui as drogas alfa-bloqueadoras, os inibidores da 5-alfa-redutase e os anti-colinérgicos, sendo estes últimos reservados para os pacientes com predomínio de sintomas de armazenamento. Mais recentemente, os inibidores da fosfodiesterase tipo 5 (IPDE-5) e os beta-3 agonistas passaram a fazer parte deste arsenal.

Drogas anticolinérgicas são atualmente a terapia de escolha para tratar a urgência e urgeincontinência (ANDERSSON et al., 2001). No entanto, ainda não existem drogas anticolinérgicas com ação exclusiva no músculo detrusor. Por outro lado, a atividade detrusora parece ser regulada em parte por mecanismos não colinérgicos. Esses fatores podem explicar



os efeitos colaterais comuns e a eficácia limitada dos anticolinérgicos (SELLERS et al., 2001).

## 1.2 Óxido Nítrico / Inibidores da Fosfodiesterase tipo 5

O óxido nítrico (NO) tem sido implicado como neurotransmissor em vários sítios do sistema nervoso de mamíferos, incluindo as sinapses periféricas do trato urogenital em homens (O'CONNOR et al., 1997; MONCADA et al., 1991). Estudos têm demonstrado a presença da enzima óxido nítrico sintase (NOS) no urotélio e musculatura detrusora em diferentes espécies animais (GILLESPIE et al., 2004).

O NO age como um fator inibitório não adrenérgico e não colinérgico da contração muscular lisa autonômica, sendo responsável pelo relaxamento uretral durante o esvaziamento vesical e, possivelmente, pelo relaxamento vesical na fase de enchimento (ANDERSSON et al., 2004 e 2011).

Sabe-se que o NO, o qual atua no detrusor, deriva principalmente da enzima óxido nítrico sintase (NOS). Existem três isoformas de NOS. NOS neuronal (nNOS) está presente no tecido neuronal e é dependente de cálcio e difosfato reduzido de adenina nicotinamida (NADPH), (BREDT; SNYDER, 1990). NOS endotelial (eNOS), também é dependente de cálcio e NADPH (SESSA, 1994). De forma similar a NOS neuronal, a eNOS produz pequenas quantidades de óxido nítrico durante períodos prolongados de tempo. Uma isoforma indutível da NOS, iNOS, é dependente de NADPH e independente de cálcio, tendo sido identificada no músculo liso ureteral (SMITH et al., 1993). NOS indutível produz largas quantidades de NO por pequenos períodos de tempo. Ambas as enzimas, NOS constitutiva (NOS neuronal e NOS endotelial) e NOS induzível, podem ser demonstrada no trato urinário inferior de animais e humanos (DOKITA et al., 1994; EHREN et al., 1994). A ativação da enzima NOS converte o aminoácido L-arginina em L-citrulina, liberando uma molécula de NO. Esta, por sua vez, atuando como primeiro mensageiro, ativa a enzima guanilato-ciclase, fazendo a conversão da guanosina trifosfato (GTP) em guanosina de monofosfato cíclico (GMPc), resultando em relaxamento da musculatura lisa.

O GMPc é degradado pela enzima fosfodiesterase para sua forma inativa de guanosina monofosfato (GMP). A concentração de GMPc no músculo liso resulta do balanço entre a intensidade do estímulo do NO e da degradação do GMPc feito pelas enzimas do grupo fosfodiesterases. Onze diferentes tipos de fosfodiesterase (PDE) foram identificados até aqui, com as PDE tipo 4 e 5 predominando na zona de transição da próstata, bexiga e uretra

(UCKERT et al., 2001 e 2006). Óxido nítrico e fosfodiesterase podem estar envolvidos no ciclo da micção inibindo vias reflexas na medula espinhal e neurotransmissora na uretra, próstata e bexiga (ANDERSSON et al., 1995). Tem sido proposto que os inibidores da fosfodiesterase aumentam a perfusão sanguínea e oxigenação do trato urinário inferior, mas os seus mecanismos exatos de ação ainda deverão ser determinados (GRAVAS et al., 2014). Os IPDE-5 parecem agir em inúmeras vias, incluindo supra-regulação da via do NO/GMPc, redução na atividade da Rho-Kinase, modulação da hiperatividade do sistema nervoso autônomo e inervações aferentes prostáticas e vesicais, além de redução da inflamação (ANDERSSON et al., 2011). Portanto, especula-se que, se o NO tem ação de relaxamento do detrusor, seria esperado que drogas as quais atuem aumentando a concentração intracelular de GMPc também promovam relaxamento de detrusor, como por exemplo, os inibidores da fosfodiesterase.

A modulação seletiva das vias de segundo mensageiro intracelular oferece uma possibilidade promissora de manipular a função tecidual, especialmente a contração e o relaxamento do músculo detrusor humano. Em virtude disto, a possibilidade do uso dos inibidores da fosfodiesterase (IPDE) na hiperatividade detrusora foi aventado. Usando métodos cromatográficos, Trhus et al., 1996, foram os primeiros a demonstrar a presença das isoenzimas fosfodiesterase tipo 1 a 5 no músculo detrusor humano. Os autores mostraram o efeito relaxador dos IPDE papaverina e vinpocetina em faixas de músculo detrusor humano isolados e pré-contraídos com o agonista muscarínico carbacol. O efeito relaxante das drogas foi acompanhado de uma elevação tecidual dos níveis de AMPc e GMPc. Eles concluíram que a via do AMPc e Ca/Calmodulina dependente de PDE1 pode ter importância funcional na regulação do músculo detrusor humano (THRUS et al., 1996).

Apesar de três IPDE-5 de administração oral (Sildenafil, Tadalafila e Vardenafila) terem sido licenciados na Europa para o tratamento da disfunção erétil e de que ensaios clínicos de todos três já terem sido conduzidos em pacientes masculinos com STUI, somente a tadalafila foi aprovada para o tratamento de STUI em homens (GRAVAS et al., 2014).

Estudos randomizados, placebo-controlados, avaliando a eficácia dos três IPDE-5 disponíveis têm sido publicados nos últimos anos, investigando mudanças no escore internacional de sintomas prostáticos (IPSS), parâmetros de urofluxometria como pico de fluxo (Qmax) e volume residual pós-miccional (PVR), ( McVARY et al., 2007; KAPLAN et al., 2007). Redução significativa dos STUI tem sido documentada com Tadalafila até mesmo após uma semana de tratamento (OELKE et al., 2012). Estes estudos demonstram que todos os IPDE-5 reduzem significativa e consistentemente o IPSS em aproximadamente 17-37%

dos pacientes. Tanto sintomas de armazenamento como de esvaziamento diminuíram durante tratamento com essas medicações. Houve também melhora nos escores de qualidade de vida nos pacientes em uso de IPDE-5. O pico de fluxo (Q<sub>max</sub>) na urofluxometria livre aumentou de modo dose dependente, mas não foi significativamente diferente comparado ao placebo na maioria dos estudos (GACCI et al., 2012; ROEHRBORN et al., 2010).

Em um estudo prospectivo, randomizado, placebo-controlado, Regadas et al. demonstraram uma melhora significativa no IPSS e no escore de qualidade de vida em pacientes com STUI tratados com a associação Tansulosina e Tadalafila, quando comparados com o uso isolado da Tansulosina. Não foi observado diferença no fluxo máximo e na pressão detrusora no pico de fluxo entre os grupos durante avaliação urodinâmica, porém houve redução na pressão detrusora no fluxo máximo em relação ao início do tratamento nos pacientes que usaram a associação (REGADAS et al., 2013).

### 1.3 Hipogonadismo/ STUI/IPDE-5

A porcentagem da população pertencente ao grupo de pessoas idosas está aumentando. Com o envelhecimento, uma parcela significativa dos homens tem uma diminuição gradual e moderada da função testicular conhecido como hipogonadismo de início tardio ou deficiência androgênica do envelhecimento masculino (DAEM), que é uma síndrome clínica e laboratorial .

Hipogonadismo é uma desordem comum no homem idoso, porém é subdiagnosticada e frequentemente não tratada. Estima-se que somente 5-35% dos homens com hipogonadismo recebam tratamento para esta condição. A prevalência desta condição é de 3,1-7% em homens de 30-69 anos, e 18,4% em homens com mais de 70 anos (ARAUJO et al., 2007). Os sinais e sintomas mais comuns de DAEM são redução da força e massa muscular, redução da massa óssea e osteoporose, aumento centrípeto de gordura. Além disso, sintomas como redução da libido, esquecimento, dificuldade de concentração e insônia podem estar presentes.

O diagnóstico de DAEM requer a presença de sinais e sintomas sugestivos de hipogonadismo associado a redução nos níveis laboratoriais de testosterona. A medida da testosterona total é o parâmetro mais amplamente aceito para o diagnóstico de DAEM, embora na faixa de 230-350 ng/dl (8-12 nmol/L), a medida da testosterona livre seja útil (WANG et al., 2009).

O principal objetivo do tratamento do DAEM é restaurar os níveis séricos de testosterona para a faixa da normalidade a fim de aliviar os sintomas decorrentes da

deficiência hormonal. Os métodos mais comuns para administração de testosterona são as formulações injetáveis, comprimidos, dispositivos transdérmicos e preparações bucais. A opção a ser escolhida deve ser estabelecida entre médico e paciente após esclarecer vantagens e desvantagens de cada formulação (BASSIL, 2011).

Estudos recentes sugerem que o hipogonadismo pode ser considerado um aspecto clínico adicional da síndrome metabólica. Esta, por sua vez, parece ser um dos fatores envolvidos na patogênese e progressão da hiperplasia prostática benigna (ROBERTSON et al., 2007).

A deficiência androgênica do envelhecimento masculino afeta aproximadamente um quinto dos pacientes idosos com STUI, mas não parece impactar a intensidade dos sintomas (SCHATZL et al., 2003). Muitos estudos tem estabelecido uma relação clara entre os níveis dos hormônios sexuais e HPB, mas poucos analisaram a relação entre a testosterona circulante e STUI (FRANCOMANO et al., 2014).

Estudos têm avaliado a relação entre os níveis de andrógenos e a resposta ao uso de inibidores da fosfodiesterase tipo 5 no tratamento da disfunção erétil e STUI. A possibilidade dos andrógenos participarem na regulação da expressão e atividade da fosfodiesterase a nível do músculo detrusor foi questionada após a descoberta desta “andrógeno-dependência” ser comprovada em experimentos com corpos cavernosos e vasos deferentes (MORELLI et al., 2004 e 2006; ZHANG et al., 2005; MANCINA et al., 2005). Fillipi et al. (2007) foram os primeiros a demonstrar *in vitro* que faixas de bexiga extraídas de ratos castrados eram mais sensíveis ao relaxamento induzido por nitroprussiato de sódio e menos responsivas ao inibidor da fosfodiesterase tipo 5 (PDE5) Vardenafila, sugerindo que estados de hipogonadismo poderiam reduzir a atividade da PDE5. Nesse mesmo estudo, observou uma significativa redução na expressão gênica da PDE5 após castração cirúrgica que foi, posteriormente, recuperada com a reposição de testosterona. A autora comparou o uso contínuo de Vardenafila com a Tansulosina em modelos experimentais de ratos com obstrução infra-vesical induzido por ligadura parcial da uretra. Neste modelo de obstrução, a Vardenafila diminuiu o número de contrações involuntárias observadas em uma extensão semelhante à Tansulosina. Os resultados sugerem que a PDE5 estimula positivamente a atividade do detrusor *in vitro* e *in vivo* e que sua inibição pode melhorar a hiperatividade, amplificando a sinalização do óxido nítrico.

Os efeitos positivos da terapia de privação androgênica, sejam através de agonistas do LHRH ou inibidores da 5-alfaredutase, são geralmente atribuídos a redução do volume prostático e consequente redução da resistência uretral. No entanto, tendo em vista os

argumentos previamente citados, é possível que o efeito benéfico da privação androgênica no STUI sejam mediados por uma redução na expressão da fosfodiesterase e por uma potencialização do relaxamento induzido pelo óxido nítrico durante a fase de armazenamento (FILIPPI et al., 2007). Por outro lado, os estudos existentes na literatura são conflitantes com relação aos reais efeitos da terapia de reposição androgênica nos STUI. Portanto, novos estudos experimentais *in vivo* são necessários para avaliar o papel dos andrógenos nos sintomas do trato urinário inferior e sua interação com os inibidores da fosfodiesterase.

## **2 OBJETIVOS**

Objetivo primário: Avaliar os efeitos da administração crônica de inibidores da fosfodiesterase no trato urinário inferior de camundongos castrados através de estudo experimental funcional com avaliação urodinâmica.

Objetivo secundário: Avaliar os efeitos da administração crônica de inibidores da fosfodiesterase no trato urinário inferior de camundongos castrados submetidos a reposição hormonal com Undecilato de Testosterona através de estudo funcional com avaliação urodinâmica.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Aspectos Éticos: O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará sob protocolo 48/12 (Anexo).

3.2 Animais: O estudo experimental foi realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Ceará. Foram utilizados 42 camundongos machos da raça Mus Musculus, com peso entre 30-40 g (aproximadamente 8 semanas), randomizados da seguinte forma:

- Grupo 1 (L-NAME): Sete camundongos alimentados com ração padrão e L-NAME diluído na água de beber (60mg/kg) por 30 dias.
- Grupo 2 (L-NAME + DTAD): Sete camundongos alimentados com ração e L-NAME diluído em água de beber (60 mg/kg) por 30 dias, além da administração diária de 0,4 ml da solução diluente da Tadalafila por via orogástrica, que consistia em uma mistura de goma xantana e manitol.
- Grupo 3 (L-NAME + Tadalafila): Sete camundongos alimentados com ração padrão e L-NAME diluído em água de beber (60mg/kg) por 30 dias, além da administração diária de Tadalafila (4mg/kg) por via orogástrica.
- Grupo 4 (L-NAME + Castração): Sete camundongos castrados alimentados com ração padrão e L-NAME diluído em água de beber (60mg/kg) por 30 dias.
- Grupo 5 (L-NAME + Castração + Tadalafila): Sete camundongos castrados alimentados com ração padrão e L-NAME diluído em água de beber (60mg/kg) por 30 dias, além da administração diária de Tadalafila (4mg/kg) por via orogástrica.
- Grupo 6 (L-NAME + Castração + Tadalafila + Undecilato de Testosterona): Sete camundongos castrados alimentados com ração padrão e L-NAME diluído em água de beber (60mg/kg) por 30 dias, além da administração de 100 mg/kg de Undecilato de Testosterona (Nebido® – Schering) por via subcutânea em dose única 24h após a castração e administração diária de Tadalafila (4mg/kg) por via orogástrica.

### 3.3 Fármacos:

#### L-NAME

O L-NAME por ser um potente inibidor da enzima NOS, a qual é responsável pela síntese de óxido nítrico, pela conversão de L-arginina em L-citrulina, é uma ferramenta farmacológica utilizada para avaliar a função do NO em diferentes sistemas do organismo. A dose administrada de L-NAME em estudos experimentais na literatura, nos quais os animais ingeriam L-NAME dissolvido em água, variam de altas doses (60-250mg/kg/dia) a moderada (40-50 mg/kg/dia), por um período de tempo variando de uma a oito semanas. A partir desses estudos, verificou-se que a dose de 60 mg/kg/dia de L-NAME diminuiu acentuadamente os níveis de nitrito/nitrato no plasma dos animais e inibiu significativamente a enzima NOS no cérebro, íleo e bexiga (MONICA et al., 2008).

Na bexiga foi demonstrada inibição superior a 80% da NOS, significando, portanto, que a inibição da atividade da NOS e conseqüentemente da síntese de NO é quase completa (MONICA et al., 2008). A função do L-NAME neste caso é promover hiperatividade do detrusor em camundongos.

Como o L-NAME inibe quase completamente a síntese de óxido nítrico, a ação dos inibidores da fosfodiesterase poderá refletir a inibição da degradação da guanosina monofosfato cíclico (GMPc), permitindo avaliar o seu efeito no trato urinário inferior de ratos com deficiência crônica de NO (hiperatividade do detrusor).

#### Undecilato de Testosterona

O Undecilato de Testosterona (Nebido®) foi administrado em dose única de 100mg/kg por via subcutânea na região da nuca 24h após a castração dos camundongos (CALLIES et al., 2003).

#### Tadalafila

É um inibidor seletivo da fosfodiesterase tipo 5. Age provocando relaxamento do músculo liso detrusor ao inibir a degradação do GMPc e potencializar a ação do óxido nítrico. A dose de Tadalafila (4mg/kg) administrada aos animais foi baseada em estudo prévio (GULATTI P et al., 2013).



### 3.4 Método Experimental:

#### Castração

A castração dos camundongos foi realizada por meio de incisão escrotal mediana após anestesia intraperitoneal com Xilasina (10mg/kg) + Quetamina (100mg/kg). Analgesia pós-operatória foi realizada com administração de acetaminofeno (300mg/kg) diluído em água de beber nas primeiras 24h (FLECKNELL, 1994; HALL et al., 1991).

#### Cistometria

Todos os animais, no final do período de trinta dias do estudo, foram submetidos a avaliação cistométrica in vivo. Para a cistometria, os animais foram anestesiados com Uretana (1,2 g/kg) e submetidos a laparotomia para exposição da bexiga e punção com butterfly 19G, que era conectado a uma bomba de infusão com salina e a um transdutor de pressão (Figura 1).

Após punção da bexiga com butterfly, a mesma era esvaziada e aguardava-se 30 minutos para o equilíbrio do músculo detrusor. Após esse período, o enchimento vesical com solução salina era iniciado em uma velocidade de 4ml/h e as pressões vesicais eram registradas de forma simultânea por meio de um software (Power Lab v.5.0 System – ADInstruments, Australia) durante 40 minutos (Figura 2).

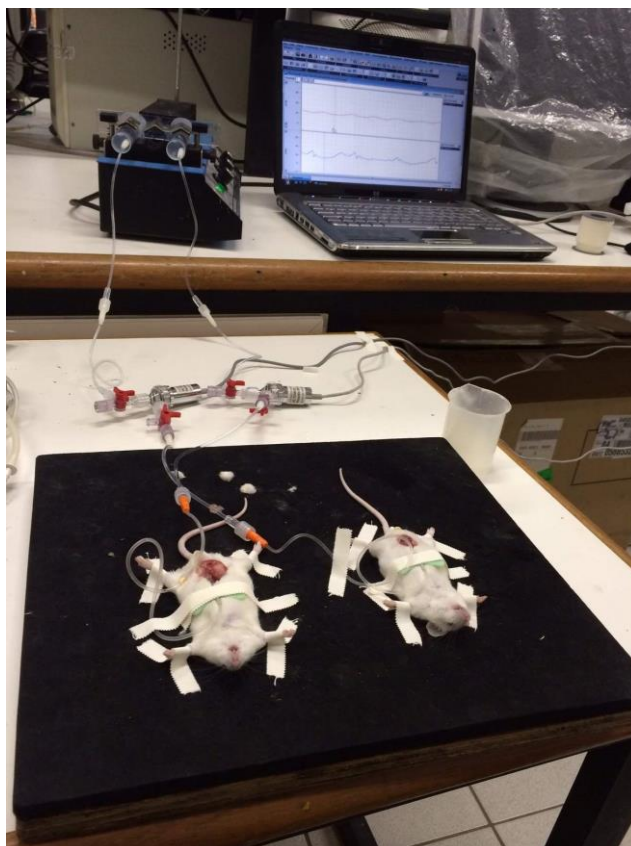
Durante a avaliação cistométrica, os seguintes parâmetros foram avaliados:

- Contrações não-miccionais (NVC): número de contrações detrusoras que não resultaram em micção antes da primeira eliminação de urina.
- Limiar de Pressão (LP): pressão detrusora imediatamente antes do primeiro ciclo de micção.
- Pressão Basal (PB): pressão detrusora antes das contrações relacionadas ao ciclo de micção na cistometria.
- Frequência de micção (FM): número de ciclos de micção observados divididos pelo tempo da cistometria.
- Limiar de volume (LV): volume infundido na bexiga antes da primeira micção, calculado como o produto da velocidade de infusão pelo tempo decorrido até a primeira micção.

Foi considerado hiperatividade do detrusor aumento no número de NVC e FM.

A utilização das variáveis urodinâmicas acima segue recomendações da literatura para realização de cistometria em modelos experimentais (ANDERSSON et al., 2011).

Figura 1 - Camundongos anestesiados sendo submetidos a cistometria.



Fonte: Autoria própria

### 3.5 Análise estatística:

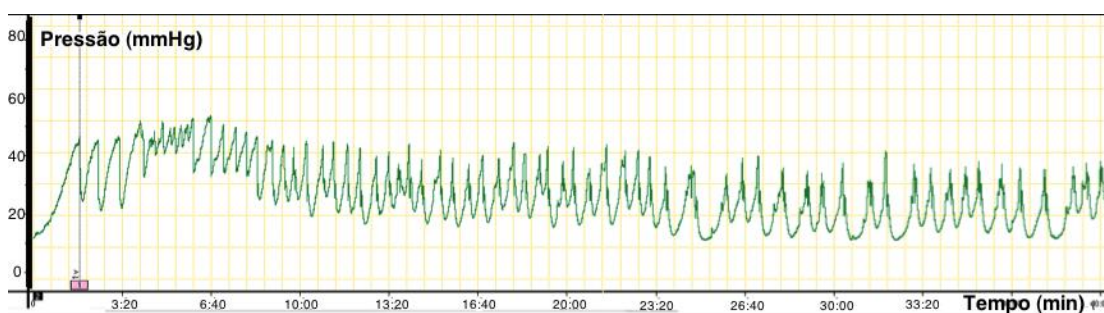
As variáveis quantitativas, contínuas e discretas foram inicialmente analisadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade da distribuição. Como tal requisito foi observado em todos os casos, então, para a estatística descritiva, a média e o desvio padrão (DP) foram calculados, assim como foram empregados testes paramétricos para a análise dos dados. Comparações entre os seis grupos de tratamento foram feitas mediante o uso da análise de variância (ANOVA) associada ao teste de comparações múltiplas de Tukey, para verificar diferenças entre os grupos aos pares (ARMITAGE; BERRY, 1994). Em todos os casos, estabeleceu-se o nível de significância em 0,05 (5%), de maneira que foi considerado como estatisticamente significativo um valor P menor que 0,05. O software GraphPad Prism<sup>®</sup> versão 6.05 para Windows<sup>®</sup> (GraphPad Software, San Diego, California, USA, 2007) foi utilizado tanto para a realização dos procedimentos estatísticos como para a elaboração dos gráficos.

## 4 RESULTADOS

Durante a realização dos exames cistométricos, houve perda de dois animais. O primeiro pertencente ao Grupo da Orquiectomia faleceu durante a cistometria. O segundo pertencente ao grupo da Orquiectomia + Tadalafila teve sua bexiga perfurada inadvertidamente mais de uma vez, resultando em extravasamento do líquido infundido e inviabilizando o estudo. A Figura 2 demonstra um traçado cistométrico em cada Grupo avaliado.

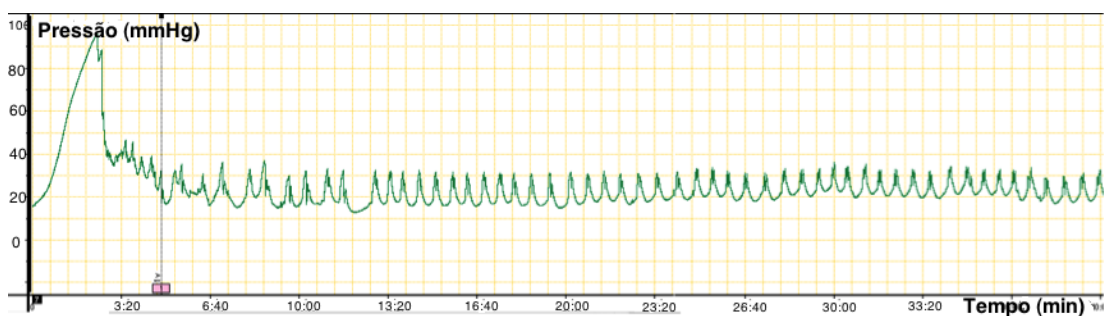
Figura 2 - Ilustração de traçado cistométrico em cada grupo avaliado:

Figura 2A - Grupo: L-NAME



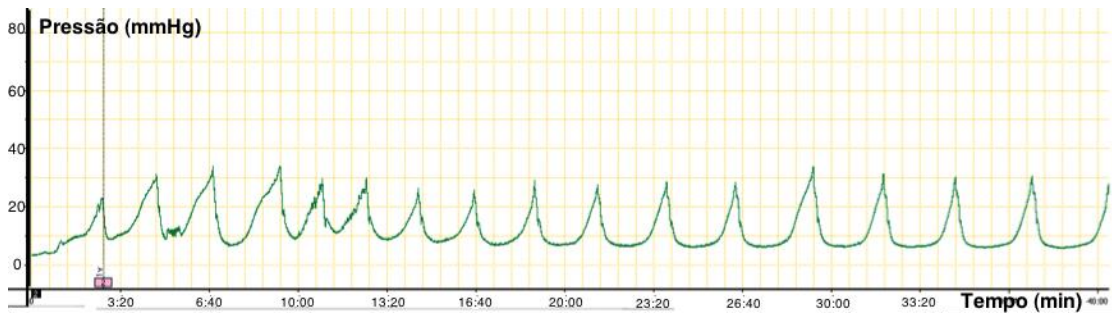
Fonte: Autoria própria.

Figura 2B - Grupo: Tadalafila



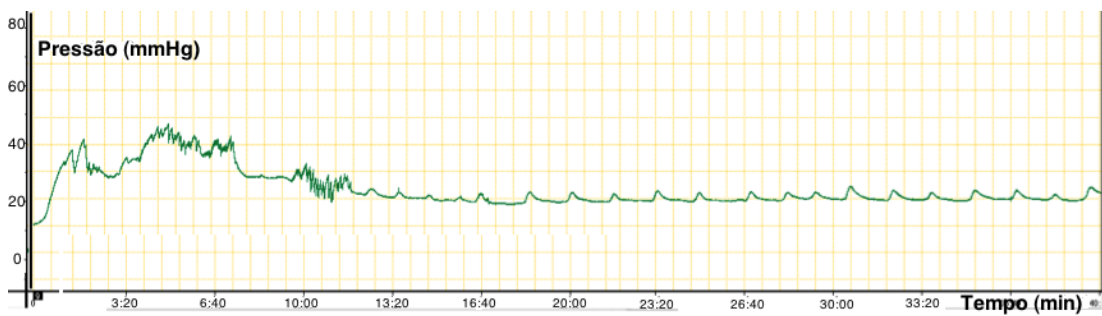
Fonte: Autoria própria.

Figura 2C - Grupo: Orquiectomia



Fonte: Autoria própria.

Figura 2D - Grupo: Orquiectomia + Tadalafila



Fonte: Autoria própria.

Figura 2E - Grupo: Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona



Fonte: Autoria própria.

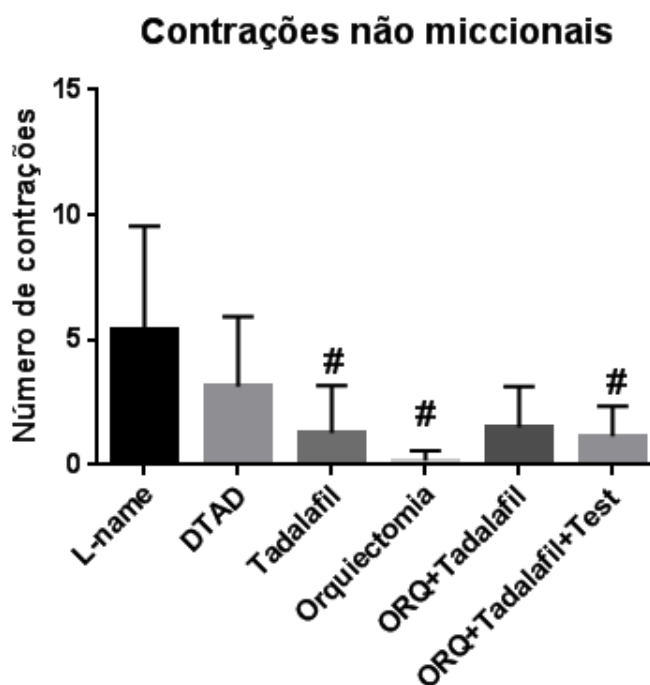
#### 4.1. Contrações não-miccionais (*Non-voiding contractions*)

De acordo com a Figura 3, é possível observar que o Grupo Tadalafila ( $1,28 \pm 1,89$ ), o Grupo Orquiectomia ( $0,16 \pm 0,40$ ) e o Grupo Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona ( $1,14 \pm 1,21$ ) obtiveram médias no número de contrações não-miccionais significativamente inferiores ao Grupo L-NAME ( $5,42 \pm 4,11$ ).

Os Grupos Tadalafila ( $1,28 \pm 1,89$ ), Orquiectomia ( $0,16 \pm 0,40$ ), Orquiectomia + Tadalafila ( $1,5 \pm 1,64$ ) e Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona ( $1,14 \pm 1,21$ ) foram semelhantes entre si.

O Grupo DTAD ( $3,14 \pm 2,79$ ) foi semelhante ao Grupo L-NAME ( $5,42 \pm 4,11$ ). ( $F=4.24$ ,  $p=0,0042$ ).

Figura 3. Contrações não miccionais (Média +/- DP)



# : diferença significativa em relação ao L-NAME

#### 4.2. Limiar de Pressão

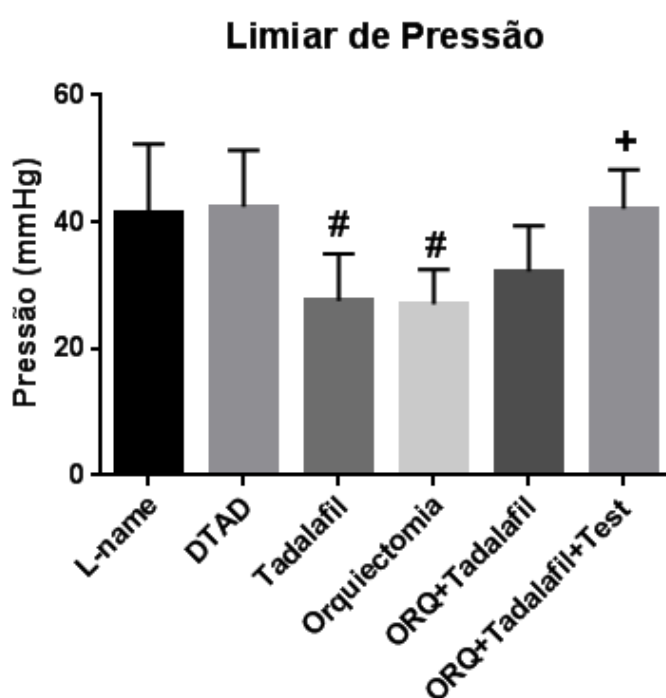
De acordo com a Figura 4, podemos observar que o Grupo Tadalafila ( $27,57 \pm 7,41$ ) e o Grupo Orquiectomia ( $27 \pm 5,51$ ) obtiveram médias no parâmetro limiar de pressão significativamente inferiores ao grupo L-NAME ( $41,43 \pm 10,86$ ).

O Grupo Tadalafila ( $27,57 \pm 7,41$ ), o Grupo Orquiectomia ( $27 \pm 5,51$ ) e o Grupo Orquiectomia + Tadalafila ( $32,17 \pm 7,27$ ) foram semelhantes entre si.

O Grupo Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona ( $42,14 \pm 6,09$ ) foi semelhante ao Grupo L-NAME ( $41,43 \pm 10,86$ ), porém teve média superior ao Grupo Tadalafila ( $27,57 \pm 7,41$ ) e Grupo Orquiectomia ( $27 \pm 5,51$ ).

O Grupo DTAD ( $42,43 \pm 8,86$ ) foi semelhante ao Grupo L-NAME ( $41,43 \pm 10,86$ ). ( $F=5.78$ ,  $p=0.0006$ ).

Figura 4. Limiar de Pressão (Média +/- DP)



# : diferença significativa em relação ao L- NAME

+ : diferença significativa em relação a Tadalafil e Orquiectomia

### 4.3 Pressão Basal

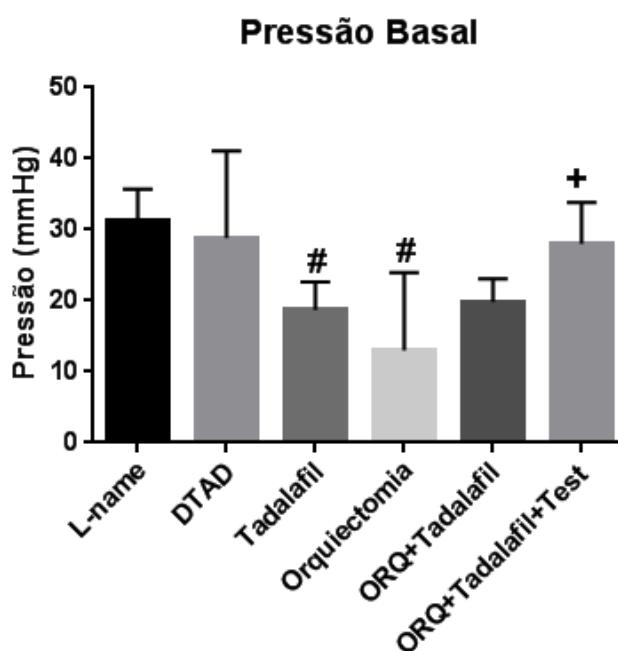
De acordo com a Figura 5, podemos observar que o Grupo Tadalafila ( $18,71 \pm 3,94$ ) e o Grupo Orquiectomia ( $13 \pm 10,94$ ) obtiveram médias de pressão basal significativamente inferiores ao Grupo L-NAME ( $31,14 \pm 4,56$ ).

O Grupo Tadalafila ( $18,71 \pm 3,94$ ), o Grupo Orquiectomia ( $13 \pm 10,94$ ) e o Grupo Orquiectomia + Tadalafila ( $19,83 \pm 3,25$ ) foram semelhantes entre si.

O Grupo Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona ( $28 \pm 5,83$ ) teve média significativamente superior ao Grupo Orquiectomia ( $13 \pm 10,94$ ) e semelhante ao Grupo Tadalafila ( $18,71 \pm 3,94$ ).

O Grupo DTAD ( $28,86 \pm 12,20$ ) foi semelhante ao Grupo L-NAME ( $31,14 \pm 4,56$ ).  
( $F=5,72$ ,  $p=0,0006$ ).

Figura 5. Pressão Basal (Média +/- DP)



# : diferença significativa em relação ao L-NAME

+ : diferença significativa em relação a Orquiectomia



#### 4.4 Frequência de Micção

De acordo com a Figura 6 abaixo, é possível observar que o Grupo Tadalafila ( $1,12 \pm 0,38$ ) e o Grupo Orquiectomia ( $0,60 \pm 0,23$ ) obtiveram médias de frequência miccional inferiores ao grupo L-NAME ( $2,27 \pm 0,68$ ).

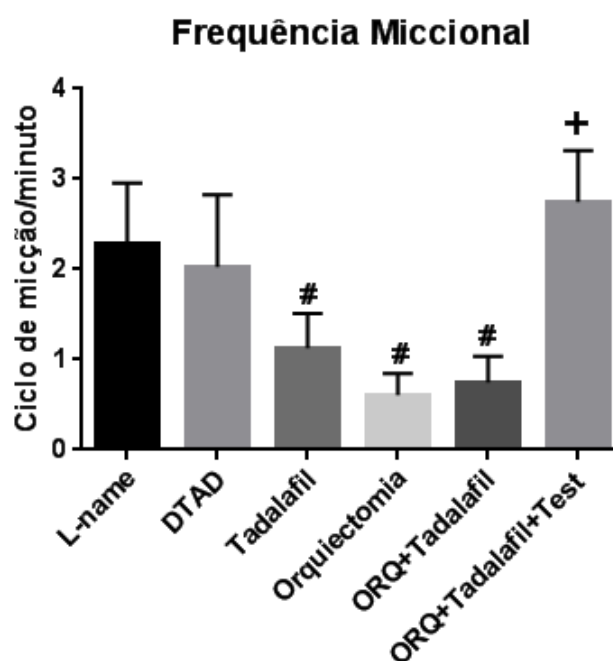
Não houve diferença significativa entre as médias dos Grupos Tadalafila ( $1,12 \pm 0,38$ ), Orquiectomia ( $0,60 \pm 0,23$ ) e Orquiectomia + Tadalafila ( $0,75 \pm 0,28$ ).

O Grupo Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona ( $2,74 \pm 0,56$ ) teve média significativamente maior do que os Grupos Tadalafila ( $1,12 \pm 0,38$ ), Orquiectomia ( $0,60 \pm 0,23$ ) e ORQ + Tadalafil ( $0,75 \pm 0,28$ ), porém foi semelhante ao Grupo L-NAME ( $2,27 \pm 0,68$ ).

O grupo DTAD ( $2,02 \pm 0,80$ ) foi semelhante ao grupo L-NAME ( $2,27 \pm 0,68$ ).

( $F=28.82$ ,  $p<0.0001$ )

Figura 6. Frequência Miccional (Média+/-DP)



# : diferença significativa em relação ao L-NAME  
 + : diferença significativa em relação a Tadalafil, Orquiectomia e ORQ + Tadalafil.

#### 4.5 Limiar de Volume

Ao avaliar a Figura 7 abaixo, podemos observar que os Grupos L-NAME ( $0,20\pm 0,06$ ), DTAD ( $0,24\pm 0,07$ ), Tadalafila ( $0,31\pm 0,08$ ), Orquiectomia ( $0,22\pm 0,13$ ), Orquiectomia + Tadalafila ( $0,24\pm 0,07$ ), Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona ( $0,24\pm 0,09$ ) não apresentaram diferença significativa entre si quando o parâmetro limiar de volume foi avaliado.

Houve uma tendência à elevação do limiar de volume no Grupo Tadalafila ( $0,31\pm 0,08$ ) em relação ao Grupo L-NAME ( $0,20\pm 0,06$ ).

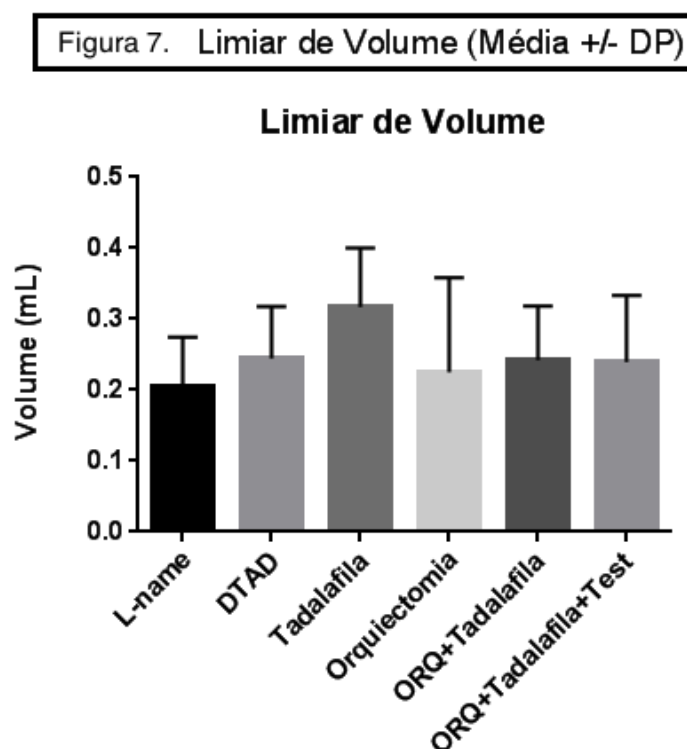


Tabela 1 - Média  $\pm$  DP dos parâmetros NVC, FM, LP, PB e LV em cada grupo experimental. O valor de p foi calculado através da análise de variância (ANOVA).

	L-NAME	TAD	ORQ	ORQ+TAD	TEST	DTAD	p
<b>NVC</b>	5.42 $\pm$ 4.11	1.28 $\pm$ 1.89*	0.16 $\pm$ 0.40*	1.5 $\pm$ 1.64	1.14 $\pm$ 1.21*	3.14 $\pm$ 2.79	P<0,05
<b>FM</b>	2.27 $\pm$ 0.68	1.12 $\pm$ 0,38*	0.60 $\pm$ 0.23*	0.75 $\pm$ 0.28	2.74 $\pm$ 0.56#	2.02 $\pm$ 0.80	P<0,001
<b>LP</b>	41.43 $\pm$ 10.86	27.57 $\pm$ 7.41*	27 $\pm$ 5.51*	32.17 $\pm$ 7.27	42.14 $\pm$ 6.09#	42.43 $\pm$ 8.86	P<0,001
<b>PB</b>	31.14 $\pm$ 4.56	18.71 $\pm$ 3.94*	13 $\pm$ 10.94*	19.83 $\pm$ 3.25	28 $\pm$ 5.83#	28.86 $\pm$ 12.20	P<0,001
<b>LV</b>	0.20 $\pm$ 0,06	0.31 $\pm$ 0.08	0.22 $\pm$ 0.13	0.24 $\pm$ 0.07	0.24 $\pm$ 0.09	0.24 $\pm$ 0,07	P=0,31

Fonte: Autoria própria

\* estatisticamente significativo comparado ao Grupo L-NAME

# estatisticamente significativo comparado ao grupo ORQ

## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos da administração da Tadalafila, assim como os efeitos do hipogonadismo induzido pela castração e da reposição de testosterona, nos parâmetros cistométricos de camundongos submetidos a administração crônica de L-NAME, modelo farmacológico indutor de hiperatividade detrusora.

Na randomização dos animais, o Grupo diluente da Tadalafila (DTAD) foi criado pelo fato de não ser possível a obtenção de uma solução homogênea ao diluir a Tadalafila em solução salina. Assim, foi necessário avaliar os possíveis efeitos deste diluente, constituído por goma xantana e manitol, no trato urinário inferior dos camundongos.

Monica et al. (2008) demonstraram que a administração crônica de L-NAME, ao provocar redução de óxido nítrico, potencializou a resposta contrátil detrusora (hiperatividade) à administração de um agonista colinérgico, promovendo elevação tecidual de fosfato de inositol e redução do relaxamento mediado por receptores  $\beta_3$ -adrenérgicos.

No presente estudo, a administração crônica da Tadalafila e o hipogonadismo, induzido através da orquiectomia em camundongos alimentados com L-NAME, foram igualmente capazes de reduzir frequência miccional (FM), limiar de pressão (LP), pressão basal (PB) e contrações não miccionais (NVC) durante avaliação cistométrica, quando comparado com administração isolada de L-NAME. Moreno et al. (2014) demonstraram resultados semelhantes ao comparar os efeitos da administração de Tadalafila, Vardenafila e Sildenafil em camundongos com deficiência crônica de óxido nítrico induzida por L-NAME. Neste trabalho, a administração de Tadalafila em animais alimentados com L-NAME foi capaz de reduzir os parâmetros FM, NVC, LP e PB em relação a administração isolada do L-NAME. Houve uma equivalência entre os três IPDE-5 com relação a seus efeitos urodinâmicos no trato urinário inferior de camundongos com depleção de óxido nítrico.

Tem sido demonstrado em estudos clínicos e experimentais o benefício dos IPDE-5 no tratamento dos sintomas do trato urinário inferior, assim como o papel dos andrógenos na modulação desta resposta. Fillipi et al. (2007) demonstraram que a administração do IPDE-5 Vardenafila em ratos foi capaz de potencializar o relaxamento induzido por um doador de óxido nítrico (nitroprussiato de sódio) em faixas de bexiga. Em outro grupo de animais, a castração cirúrgica também ampliou o relaxamento induzido pelo nitroprussiato em relação ao grupo controle. Neste mesmo estudo, a administração de Vardenafila em ratos com obstrução infra-vesical por ligadura parcial da uretra foi capaz de reduzir em até 47% as contrações não miccionais durante estudo cistométrico. A via do NO/GMPc parece estar relacionada não

somente com a contratilidade vesical, mas também com o relaxamento uretral. Estudos demonstram que o NO age como um fator inibitório, não adrenérgico e não colinérgico, responsável pelo relaxamento uretral durante o esvaziamento e possivelmente pelo relaxamento vesical durante a fase de enchimento (ANDERSSON et al., 2004).

Foi observado no presente estudo que em animais hipogonádicos (Grupo Orquiectomia) existe melhora na hiperatividade do detrusor, comprovada por redução no número de NVC e FM, além de redução no LP e PB, quando comparado ao Grupo L-NAME. A principal hipótese é que o efeito do hipogonadismo esteja relacionado com a modulação da via do NO/GMPc por redução na expressão da fosfodiesterase, resultando em acúmulo de GMPc e, conseqüente relaxamento do músculo liso detrusor, redução da hiperatividade e relaxamento do colo vesical, aqui demonstrado pela redução do LP e PB. Estes resultados diferem de estudo prévio o qual sugeriu que esta ação dar-se-ia a nível de síntese do NO (LUGG et al., 1995). Por outro lado, estes resultados fortalecem e estão alinhados com a hipótese de uma modulação androgênica por meio de uma via alternativa, independente do óxido nítrico. Fillipi et al. (2007) demonstraram uma redução na expressão gênica da fosfodiesterase no trato urogenital de ratos castrados. Esta mesma autora demonstrou ainda que a administração de testosterona normalizou a expressão da fosfodiesterase no músculo liso detrusor. Portanto, de forma análoga ao inibidor da fosfodiesterase Tadalafila, a orquiectomia potencializa a via do óxido nítrico/GMPc por uma redução na atividade da fosfodiesterase.

A administração de Tadalafila para os animais castrados não alterou significativamente os parâmetros urodinâmicos comparado com os animais do Grupo Orquiectomia. A principal hipótese é que, ao bloquear a expressão da fosfodiesterase, o hipogonadismo induzido pela orquiectomia limita os possíveis efeitos dos IPDE-5.

Classicamente, o impacto nos STUI provocados pela redução da testosterona tem sido atribuído à redução no volume prostático e diminuição na resistência uretral (efeito mecânico). No entanto, Keast Júnior (1999) sugeriu que o hipogonadismo pode melhorar de alguma forma os circuitos neurais envolvidos no controle do armazenamento da urina. Sendo assim, fica demonstrado que além da melhora no efeito mecânico da micção, a redução da testosterona também atua de forma dinâmica por seu efeito no relaxamento do músculo liso uretral e detrusor.

Outras publicações recentes têm avaliado o impacto da administração dos inibidores da fosfodiesterase tipo 5 no trato urinário inferior animal do ponto de vista cistométrico. Reges et al. (2013) avaliaram o efeito da administração aguda de Sildenafil em ratos com

hiperatividade detrusora induzida pela deficiência crônica de óxido nítrico, observando uma redução significativa da frequência miccional comparado a animais com níveis normais de NO. Em outro estudo experimental utilizando Tadalafila associado a Tansulosina, foi observado que a associação melhorou os parâmetros cistométricos de ratos em modelo utilizando L-NAME (REGADAS, 2012).

A isquemia parece ter um papel importante na hipertrofia detrusora. Modelos de obstrução infra-vesical estão associados a uma redução do fluxo sanguíneo vesical, estando a prevenção da isquemia associada à diminuição da hipertrofia vesical e melhora da contratilidade detrusora (NOMIYA et al., 2013). A elevação dos níveis de GMPc decorrentes de uma menor atividade da fosfodiesterase, desencadeada neste estudo tanto pela administração de Tadalafila como pela orquiectomia, ocasiona vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo vesical. A recuperação de um hipofluxo vesical induzido pelo L-NAME ao causar depleção de NO nos Grupos Tadalafila e Orquiectomia pode justificar em parte a redução dos parâmetros cistométricos observados nestes grupos.

Existe certa controvérsia com relação ao impacto da reposição de testosterona nos STUI. Haja vista que a presença do andrógeno é necessária para o desenvolvimento da HPB, a reposição hormonal poderia estar relacionada com a piora destes sintomas. Por outro lado, estudos documentaram melhora dos parâmetros urodinâmicos e STUI em pacientes submetidos a reposição de testosterona, conforme pode ser visto na discussão abaixo.

Kazuyoshi et al. (2010) avaliaram o impacto da reposição de testosterona em vinte e três pacientes comparados com grupo controle após 12 meses. O grupo tratado apresentou uma redução significativa no IPSS, além de uma elevação no fluxo urinário máximo e volume urinado. Gooren (1994), em um estudo clínico prolongado de 10 anos com utilização de undecanoato de testosterona em 33 homens, demonstrou uma pequena redução no fluxo urinário, porém sem aumento no volume prostático ou ocorrência de neoplasia.

Karazindiyanoglu et al. (2008), em um estudo prospectivo não controlado com reposição de testosterona transdérmica por um ano em 25 homens hipogonádicos, observou um aumento na capacidade máxima e complacência vesical, além de uma redução na pressão detrusora no pico de fluxo em estudos fluxo-pressão.

Em estudo experimental com coelhos machos submetidos a orquiectomia, Celayir et al. (2003) demonstraram que a administração de testosterona aumentou significativamente a capacidade e complacência vesical.

Estudos experimentais têm procurado demonstrar de que forma a testosterona é capaz de modular a via do óxido nítrico/GMPc e, conseqüentemente, o relaxamento da musculatura

lisa. É sabido que esta ação acontece tanto por um controle na expressão da enzima óxido nítrico sintase (NOS) e, conseqüentemente, na disponibilidade do óxido nítrico, como por uma regulação na expressão da fosfodiesterase (REILLY et al., 1997; CHAMNESS et al., 1995; FILLIPI et al., 2007). Para avaliar se o efeito da testosterona no trato urinário inferior de camundongos estava relacionada exclusivamente com a síntese do óxido nítrico e com a atividade da fosfodiesterase, propôs-se a reposição da testosterona de forma combinada com a Tadalafila em animais castrados com deficiência de NO. Os resultados demonstraram que no Grupo Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona houve aumento no número dos ciclos de micção, PB e LP em relação ao Grupo Orquiectomia isolada. Não houve alteração estatisticamente significativa com relação ao parâmetro NVC. Estes dados sugerem que a Testosterona modulou positivamente a contração da musculatura lisa de forma independente da síntese do óxido nítrico e da atividade da fosfodiesterase, haja vista que no grupo em que ocorreu a reposição da testosterona, estas duas enzimas encontravam-se inibidas pelo L-NAME e Tadalafila, respectivamente. Esperava-se que a reposição da testosterona e Tadalafila de forma combinada em animais castrados não alterasse os parâmetros costumétricos em relação à castração isolada. Baseado nisto, argumenta-se a existência de uma via alternativa dependente de andrógeno envolvida no relaxamento e contração muscular.

Em um trabalho avaliando resposta erétil, Reilly et al (1997) sugeriram a existência de outras vias andrógeno-dependentes além do óxido nítrico. O tratamento de ratos castrados com L-NAME aumentou pouco ou não alterou a pressão intra-cavernosa em resposta a estimulação dos gânglios pélvicos, mas o tratamento com L-NAME e testosterona sim. Estes dados sugerem a existência de outras vias andrógeno-dependentes levando a ereção peniana que não são mediadas pelo NO. A resposta recuperada no grupo de ratos castrados tratados com L-NAME e testosterona foi amplificada pela administração de zaprinast, um potente inibidor da PDE-5, e inibida pelo azul de metileno, um inibidor da guanilato-ciclase. Os autores sugerem que esta via alternativa dependente de andrógeno envolve a síntese de GMPc.

Os efeitos da reposição de testosterona observados neste estudo podem ser parcialmente explicados pela modulação de outras vias não relacionadas com NO/GMPc. Madeiro et al. (2002) relataram que a bexiga de ratos castrados recebendo terapia androgênica por 28 dias apresentou um maior número de vasos, maior densidade epitelial e quantidade de fibras musculares do que os controles. Estes achados sugerem que a reposição de testosterona pode elevar a contratilidade muscular vesical e sua complacência. Por outro lado, o

hipogonadismo pode inibir a via de diferenciação do músculo liso a partir de células estromais precursoras (TRAISH et al., 2007).

Como em outros estudo envolvendo sacrifício de animais, o número de camundongos acaba por ser uma limitação neste estudo. Por motivos éticos, limitou-se a amostragem a um número mínimo necessário para uma avaliação estatística confiável. Ainda assim, esta limitação no número de animais pode ter comprometido a significância estatística na comparação entre os grupos. Por exemplo, quando comparamos o Grupo Orquiectomia + Tadalafila + Testosterona com o Grupo Orquiectomia + Tadalafila, observamos que houve diferença estatística apenas no parâmetro frequência de micção, embora tenhamos observado uma tendência à elevação nos parâmetros pressão basal e limiar de pressão.

Os resultados encontrados no presente trabalho respaldam estudos prévios que demonstram o benefício da administração dos inibidores da fosfodiesterase-5 no tratamento de disfunções miccionais, além de demonstrar um efeito semelhante obtido através do hipogonadismo por meio da orquiectomia em animais com deficiência de óxido nítrico. O estudo sugere uma limitação do efeito da Tadalafila no baixo trato urinário em casos de hipogonadismo associado.

Os inibidores da fosfodiesterase-5 foram recentemente aprovados como opção terapêutica no tratamento dos sintomas do trato urinário inferior em humanos. Diante dos resultados aqui apresentados, sugere-se a realização de estudo clínico avaliando o impacto destas drogas em pacientes com STUI e distúrbio androgênico do envelhecimento masculino associados.



## 6 CONCLUSÃO

Tadalafila e castração foram igualmente efetivos em reduzir hiperatividade detrusora e relaxar a uretra em camundongos com deficiência crônica de óxido nítrico. A administração concomitante de testosterona e Tadalafila em camundongos castrados com deficiência de óxido nítrico aumentou a frequência de micção, pressão basal e limiar de pressão durante avaliação cistométrica em relação à castração isolada, sugerindo a existência de uma via alternativa dependente de andrógeno relacionada com a contração e relaxamento da musculatura lisa.

## REFERÊNCIAS

- ABRAMS, P.; CARDOZO L, FALL M, et al. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn*, v. 21, n. 2, p. 167-78, 2002.
- ABRAMS, P. Benign prostatic hyperplasia has precise meaning. *BMJ*, v. 322, p. 106, 2001.
- ANDERSSON, K. et al. Rodent models for Urodynamic Investigation. *Neur Urodyn*, v. 30, p. 636-646, 2011.
- ANDERSSON, KE.; ARNER, A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*, v. 84, p. 935–986, 2004.
- ANDERSSON, K.; CHAPPLE, C.; WEIN, A. The basis for drug treatment of the overactive bladder. *World J Urol*, v.19, p. 294–8, 2001.
- ANDERSSON, K., et al. Tadalafil for the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: pathophysiology and mechanism(s) of action. *Neurourol Urodyn*, v. 30, p. 292–301, 2011.
- ANDERSSON, K.; PERSSON, K. Nitric oxide synthase and the lower urinary tract: possible implications for physiology and pathophysiology. *Scand J Urol Nephrol Suppl*, v. 175, p. 43-53, 1995.
- ARAÚJO, AB. et al. Prevalence of symptomatic androgen deficiency in men. *J Clin Endocrinol Metab*, v.92, p. 4241–4247, 2007.
- ARMITAGE, P.; BERRY, G. *Statistical methods in medical research*. 3rd ed. Oxford: Blackwell, 1994.
- BERRY, SJ. et al. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol*, v. 132, p. 474–479, 1984.
- BRETT, DS.; SNYDER, SH. Isolation of nitric oxide synthase, a calmodulin requiring enzyme. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.87, p. 682, 1990.
- CALLIES, F. et al. Testosterone undecanoate: a useful tool for testosterone administration in rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, v. 111, p. 203–8, 2003.
- CELAYIR, S. Effects of the different sex hormones on male rabbit urodynamics: an experimental study. *Horm Res*, v. 60, p. 215-220, 2003.
- CHAMNESS, SL.; et al. The effect of androgen on nitric oxide synthase in the male reproductive tract of the rat. **Fertil Steril**, v. 63, p. 1101-7, 1995.
- CHAPPLE, CR.; ROEHRBORN, CR. A shifted paradigm for the further understanding, evaluation, and treatment of lower urinary tract symptoms in men: focus on the bladder. *Eur*

Urol, v. 49, p. 651–659, 2006.

CHAPPLE, CR.; WEIN, AJ.; ABRAMS, P.; et al. Lower Urinary Tract Symptoms Revisited: A Broader Clinical Perspective. *Eur Urol*, v. 54, n.3, p. 563-9, 2008.

DOKITA, S. Involvement of nitric oxide and cyclic GMP in rabbit urethral relaxation. *Eur J Pharmacol*, v. 266, p. 269–275, 1994.

EHREN, I.; ADOLFSSON, J.; WIKLUND, NP. Nitric oxide synthase activity in the human urogenital tract. *Urol Res*, v. 22, p. 287–290, 1994.

ENGSTRON, G.; HENNINGSOHN, L.; STEINECK, G.; LEPPERT, J. Self assessed health, sadness and happiness in relation to the total burden of symptoms from lower urinary tract. *BJU Int*, v. 95, p. 810-5, 2005.

FILIPPI, S.; MORELLI, A.; SANDNER, P. et al. Characterization and Functional Role of Androgen-Dependent PDE5 Activity in the Bladder. *Endocrinology*, v. 148, n. 3, p. 1019-1029, 2007.

FLECKNELL, PA. Refinement of animal use – assessment and alleviation of pain and distress. *Laboratory Animals*, v.28, p.222-231, 1994.

FRANCOMANO, D.; ILACQUA, A. ; BRUZZICHES, R; et al. Effects of 5-Year Treatment With Testosterone Undecanoate on Lower Urinary Tract Symptoms in Obese Men With Hypogonadism and Metabolic Syndrome. *Urology*, v. 83, n. 1, pp.167-173, 2014.

GACCI, M.; CORONA, G.; SALVI, M.; et al. A systematic review and meta-analysis on the use of phosphodiesterase 5 inhibitors alone or in combination with  $\alpha$ -blockers for lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol*, v. 61, n. 5, p. 994-1003, 2012.

GILLESPIE, J.; MARKERINK, M.; VENTE, J. cGMP-generating cells in the bladder wall: identification of distinct networks of interstitial cells. *BJU int*, v. 94, p. 1114-1124, 2004.

GOOREN, LJ. A ten-year safety study of the oral androgen testosterone undecanoate. *J Androl*, v.15, p. 212-215, 1994.

GRAVAS, S.; BACHMANN, A.; DESCAZEAUD, A. et al. European Association of Urology Guidelines. MANAGEMENT OF NON-NEUROGENIC MALE LOWER URINARY TRACT SYMPTOMS (LUTS) - UPDATE APRIL 2014  
Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH 80-23).

GULATI, P.; SINGH, N. Neuroprotective effect of tadalafil, a PDE-5 inhibitor, and its modulation by L-NAME in mouse model of ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res*, 2013 (in press).

HALL, LW.; CLARKE, KW. *Veterinary anaesthesia*. 9ed. London: Ballière Tindall, 1991.410p.

HU, TW. et al. Estimated economic cost of overactive bladder in the United States. *Urology*, v. 61, p. 1123-8, 2003.

KAPLAN, SA.; GONZALEZ, RR.; TE, AE. Combination of alfuzosin and sildenafil is superior to monotherapy in treating lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction. *Eur Urol*, v. 51, n. 6, p. 1717-23, 2007.

KARAZINDIYANOGLU, S.; CAYAN, S. The effect of testosterone therapy on lower urinary tract symptoms bladder and sexual functions in men with symptomatic late-onset hypogonadism. *Aging Male*, v. 11, p. 146-149, 2008.

KUPELIAN, V.; WEI, JT.; O'LEARY, MP. et al. Prevalence of lower urinary tract symptoms and effect on quality of life in a racially and ethnically diverse random sample: the Boston Area Community Health (BACH) Survey. *Arch Intern Med*, v. 166, n. 21, p. 2381-7, 2006.

LUGG, JA.; RAJFER, J.; GONZALEZ-CADAVID, NF. Dihydrotestosterone is the active androgen in the maintenance of nitric oxide-mediated penile erection in the rat. *Endocrinology*, v. 136, p. 1495-501, 1995.

MADEIRO, A.; GIRÃO, M.; SARTORI, M. et al. Effects of the association of androgen/estrogen on the bladder and urethra of castrated rats. *Clin Exp Obstet Gynecol*, v. 29, p. 117-120, 2002.

MANCINA, R.; FILIPPI, S.; MARINI, M. et al. Expression and functional activity of phosphodiesterase type 5 in human and rabbit vas deferens. *Mol Hum Reprod*, v. 11, p. 107-115, 2005.

MARTIN, SA.; HAREN, MT.; MARSHALL, VR. et al. Prevalence and factors associated with uncomplicated storage and voiding lower urinary tract symptoms in community-dwelling Australian men. *World J Urol*, v. 29, n. 2, p. 179-84, 2011.

MCVARY, KT.; MONNIG, W.; CAMPS, JR. et al. Sildenafil citrate improves erectile function and urinary symptoms in men with erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia: a randomized, double-blind trial. *J Urol*, v. 177, n. 3, p. 1071-7, 2007.

MONCADA, S.; PALMER, RMJ.; HIGGS, EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, v. 43, p. 109-42, 1991.

MÔNICA, F. et al. Long-term nitric oxide deficiency causes muscarinic supersensitivity and reduces  $\beta_3$ -adrenoceptor-mediated relaxation, causing rat detrusor overactivity. *B J Pharmacol*, v. 153, p. 1659-1668, 2008.

MONICA, FZ.; BRICOLA, AA.; BAU, FR. et al. Long-term nitric oxide deficiency causes muscarinic supersensitivity and reduces beta3-adrenoceptor-mediated relaxation, causing rat detrusor overactivity. *Br. J Pharmacol*, v. 153, p. 1659-1668, 2008.

MORELLI, A.; FILIPPI, S.; MANCINA, R. et al. Androgens regulate phosphodiesterase type 5 expression and functional activity in corpora cavernosa. *Endocrinology*, v. 145, p. 2253-2263, 2004.

MORELLI, A.; FILIPPI, S.; VIGNOZZI, L. et al. Physiology of erectile function: an update on intracellular molecular processes. *EAU-EBU Update Series*, v. 4, p. 96–108, 2006.

MORENO, SL. Tese de Mestrado em Ciências Médico-Cirúrgicas. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2014.

NAZEM, BASSIL. Late-Onset Hypogonadism. *Medical Clinics of North America*, v. 95, p. 507-523, 2011.

NOMIYA, M.; BURMEISTER, DM.; SAWADA, N. et al. Prophylatic effect of tadalafil on bladder function in a rat model of chronic bladder ischemia. *J Urol*, v. 189, p. 754-7561, 2013.

O'CONNOR, LT JR.; VAUGHAN, ED JR.; FELSEN, D. In vivo cystometric evaluation of progressive bladder outlet obstruction in rats. *J Urol*, v.158, p. 631-5, 1997.

PATEL, AK.; CHAPPLE, CR. **ANATOMY OF THE LOWER URINARY TRACT. SURGERY**, v. 26, n. 4, 2008.

REGADAS, RP.; REGES, R.; CERQUEIRA, JB. et al. Urodynamic effects of the combination of tamsulosin and daily tadalafil in men with lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Int Urol Nephrol*, v. 45, n. 1, p. 39-43, 2013.

REGADAS, RP. Efeito da associação da tadalafila com a tansulosina no trato urinário inferior de ratos e de humanos. Tese de doutorado em Ciências Médico-Cirúrgicas. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2012.

REGES, R.; D'ANCONA, C.; MÔNICA, F.; ANTUNES, E. Effects of acute administration of sildenafil to rats with detrusor overactivity induced by chronic deficiency of nitric oxide. *Int Braz J Urol*, v. 39, p 268-275, 2013.

REILLY, C.; LEWIS, R.; STOPPER, V.; MILLS, T. Androgenic Maintenance of the rat erectile response via a Non-Nitric-Oxide-Dependent Pathway. *Journal of Andrology*, v. 18, n. 6, p. 588-594, 1997.

REILLY, CM.; ZAMORANO, P. ; STOPPER, VS. ; MILLS, TM. Androgenic Regulation of NO availability in rat penile erection. **J Androl**, v. 18, p. 110-5, 1997.

ROBERTSON, C.; LINK, CL.; ONEL, E. et al. The impact of lower urinary tract symptoms and comorbidities on quality of life: the BACH and UREPIK studies. *BJU Int*, v. 99, p. 347–354, 2007.

RODRIGUES, P.; HERING, F.; MELLER, A.; D'IMPERIO, M. Outline of 3,830 male patients referred to urodynamic evaluation for lower urinary tract symptoms: how common is infravesical outlet obstruction? *Urol Int*, v. 83, p. 404–409, 2009.

ROEHRBORN, CG.; KAMINETSKY, JC.; AUERBACH, SM. et al. Changes in peak urinary flow and voiding efficiency in men with signs and symptoms of benign prostatic hyperplasia during once daily tadalafil treatment. *BJU Int*, v.105, n. 4, p. 502-7, 2010.

ROEHRBORN, CR. Benign prostatic hyperplasia: an overview. *Rev Urol*, v.7 (Suppl9), p. S3–S14, 2005.

SCHATZL, G.; MADERSBACHER, S.; TEMML, C. et al. Serum androgen levels in men: impact of health status and age. *Urology*, v. 61, p. 629–633, 2003.

SELLERS, DJ.; CHAPPLE, CR.; CHESS-WILLIAMS, R. Potential therapeutic targets for the treatment of the overactive bladder. *World J Urol*, v. 19, p. 307–11, 2001.

SESSA, W. The nitric oxide family of proteins. *J Vasc Res*, v.31, p. 131, 1994.

SHIGEHARA, K.; SUGIMOTO, K.; KONAKA, H. et al. Androgen replacement therapy contributes to improving lower urinary tract symptoms in patients with hypogonadism and benign prostate hypertrophy: a randomised controlled study. *The Aging Male*, v. 14, p. 53-58, 2011.

SMITH, SD.; WHEELER, MA.; NISHIMOTO, T.; WEISS, RM. The differential expression of nitric oxide synthase in guinea-pig urinary tract. *J Urol*, v.149, p. 248A, 1993.

STEWART, WF.; VAN ROOYEN, JB.; CUNDIFF, GW. et al. Prevalence and burden of overactive bladder in the United States. *World J Urol*, v. 20, p. 327-36, 2003.

TRAISH, AM.; GOLDSTEIN, I.; KIM, NN. et al. Testosterone and erectile function: from basic research to a new clinical paradigm for managing men with androgen insufficiency and erectile dysfunction. *Eur Urol*, v. 52, p. 54-70, 2007.

TRUSS, MC.; ÜCKERT, S.; STIEF, CG.; KUCZYK, MA.; JONAS, U. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isoenzymes in the human detrusor smooth muscle: I. Identification and characterization. *Urol Res* v. 24, p. 123–8, 1996.

ÜCKERT, S.; KÜTHE, A.; JONAS, U. et al. Characterization and functional relevance of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes of the human prostate. *J Urol*, v. 166, n. 6, p. 2484-90, 2001.

ÜCKERT, S.; OELKE, M.; STIEF, CG. et al. Immunohistochemical distribution of cAMP- and cGMPphosphodiesterase (PDE) isoenzymes in the human prostate. *Eur Urol*, v. 49, n. 4, p. 740-5, 2006.

WANG, C.; NIESCHLAG, E.; SWERDLOFF, R. et al. Investigation, treatment, and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA, ISSAM, EAU, EAA, and ASA recommendations. *J Androl*, v. 30, p. 1–9, 2009.

WEIN, AJ. Bladder outlet obstruction an overview. *Adv Exp Med Biol*, v. 385, p. 3-5, 1995.

ZHANG, XH.; FILIPPI, S.; MORELLI, A. et al. Testosterone regulates PDE5 expression and in vivo responsiveness to tadalafil in rat corpus cavernosum. *Eur Urol*, v. 47, p. 409 – 416, 2005.

## ANEXO



Universidade Federal do Ceará  
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA  
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo  
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE  
Tel: (85) 3366.8331 Fax: (85) 3366.8333

### DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação nº 48/2012, sobre o projeto intitulado: **“EFEITO DOS FARMACOS NO TRATO URINÁRIO INFERIOR DE CAMUNDONGOS CASTRADOS”**, de responsabilidade de Raphael Farias de Carvalho e está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA – em reunião realizada em 24 de julho de 2013.

Fortaleza, 24 de julho de 2013

  
Profa. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar  
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA

Profa. Dra. Nylane M. Nunes de Alencar  
Coordenadora da CEPA/DFP/FAMED/UFG  
MAT. SIAPE 2166369



