



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

**THIAGO LUÍS DA PAZ SANTOS**

**ALTERAÇÕES URODINÂMICAS EM CAMUNDONGOS CASTRADOS E SUA  
REPERCUSSÃO APÓS REPOSIÇÃO HORMONAL COM TESTOSTERONA**

**FORTALEZA**

**2018**

THIAGO LUÍS DA PAZ SANTOS

ALTERAÇÕES URODINÂMICAS EM CAMUNDONGOS CASTRADOS E SUA  
REPERCUSSÃO APÓS REPOSIÇÃO HORMONAL COM TESTOSTERONA

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

Orientador: Prof. Dr Ricardo Reges Maia de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr Rommel Prata Regadas

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S239a Santos, Thiago Luís da Paz.  
Alterações urodinâmicas em camundongos castrados e sua repercussão após reposição hormonal com testosterona / Thiago Luís da Paz Santos. – 2019.  
49 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Fortaleza, 2019.  
Orientação: Prof. Dr. Ricardo Reges Maia de Oliveira.  
Coorientação: Prof. Dr. Rommel Prata Regadas.
1. Testosterona. 2. Orquiectomia. 3. LUTS. 4. Hipogonadismo. I. Título.

CDD 617

---

THIAGO LUÍS DA PAZ SANTOS

ALTERAÇÕES URODINÂMICAS EM CAMUNDONGOS CASTRADOS E SUA  
REPERCUSSÃO APÓS REPOSIÇÃO HORMONAL COM TESTOSTERONA

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

Aprovada em: \_\_\_ / \_\_\_ / 2018

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Ricardo Reges Maia de Oliveira (orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Eduardo de Paula Miranda

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento

Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A Deus.

Aos meus pais Alcides e Evanilde.

A minha esposa Rosiane.

Aos meus filhos Gustavo e Enzo.

## AGRADECIMENTOS

A presente tese não poderia ter sido concluída sem apoio precioso de muitas pessoas. Não poderia deixar de agradecer, em primeiro lugar, ao Prof. Dr RICARDO REGES MAIA DE OLIVEIRA pelo incessante desejo em implementar o ensino e a pesquisa dentro da Universidade Federal do Ceará, por impulsionar e apoiar incondicionalmente todas as fases da construção dessa dissertação com dedicação e paciência, sempre com construções positivas no engrandecimento do projeto.

Ao Prof. Dr LÚCIO FLÁVIO GONZAGA-SILVA por ter implementado a linha de estudos na Divisão da Urologia dentro do Programa de Pós-graduação na área de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, proporcionando a construção da presente dissertação.

Agradecer ao Prof. Dr JOÃO BATISTA GADELHA DE CERQUEIRA pelo apoio e pelos ensinamentos, além de exemplo de vida e companheirismo dentro da instituição Hospital Universitário Walter Cantídio.

Ao Prof. Dr ROMMEL PRATA REGADAS por colaborar com a dissertação na condição de co-orientador ajudando na execução dos experimentos e elaboração da tese.

Ao Prof. Dr. FRANCISCO VAGNALDO FECHINE JAMARACU por proporcionar a execução dos experimentos sob sua supervisão, além de elaborar com excelência a análise estatística do trabalho.

Ao Prof. Dr. NILBERTO ROBSON FALCÃO DO NASCIMENTO e sua esposa Prof. Dra CLÁUDIA FERREIRA SANTOS pela contribuição teórica para desfecho do estudo.

Agradecer ao Mestre SAID GONÇALVES DA CRUZ FONSECA, professor do curso de Farmácia da UFC, por contribuir com a diluição da testosterona aplicada nos experimentos.

À acadêmica do curso de medicina da UFC NATHÁLIA FARIAS VASCONCELOS por contribuir ativamente na execução dos procedimentos.

Agradecimento especial a minha esposa e enfermeira ROSIANE ARAÚJO PEREIRA que contribuiu sobremaneira na execução dos procedimentos com seu olhar sempre preciso e atencioso, além do companheirismo de sempre, em todos momentos.

Aos meus filhos GUSTAVO LUÍS e ENZO LUÍS por me trazerem alegria e motivação, pela simplicidade nos atos e a nobre pureza das crianças.

Aos meus pais, ALCIDES PEDRO DOS SANTOS e EVANILDE MARIA DA PAZ SANTOS, pelo incentivo em todos momentos, por terem me proporcionado todos os caminhos para que pudesse trilhar uma caminhada tranquila na educação, mesmo com as dificuldades, e

por terem sido, além de professores do saber, professores do viver, professores da educação e dedicação familiar, exemplos de amor, companheirismo, sabedoria e vida a serem seguidos.

Ao funcionário seu BENTO, por contribuir com a manutenção dos animais no biotério.

Às funcionárias MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA e MAGDA MARIA GOMES FONTENELE pelo intenso comprometimento com o programa e pela ajuda sempre constante aos alunos da pós-graduação.

“É graça divina começar bem. Graça maior é persistir na caminhada certa. Mas a graça das graças é não desistir nunca” (Dom Hélder Câmara).



## RESUMO

Com o envelhecimento masculino há aumento do aparecimento concomitante de duas afecções que podem acometer o normal funcionamento do trato urinário inferior (TUI) causando LUTS: aumento benigno da próstata (ABP) e distúrbio androgênico do envelhecimento masculino (DAEM). Há dúvidas quanto ao papel da testosterona no TUI. O objetivo desse estudo foi avaliar os achados urodinâmicos em camundongos hipogonádicos após castração e seu desfecho após a administração de testosterona em camundongos castrados. Um total de 24 camundongos Black C57BL6 foram randomizados em 3 grupos. Grupo Sham submetido a incisão da bolsa escrotal e exposição testicular, grupo Orquiectomia submetido a castração cirúrgica e grupo Orquiectomia + Testosterona submetido a castração + administração exógena de testosterona no mesmo tempo. Foram avaliados o número de contrações não-miccionais (NVC), Pressão Basal (PB), Limiar de Pressão (LM), Capacidade vesical (CV), Frequência Miccional (FM), Complacência (C) e o peso dos animais. A avaliação estatística foi realizada pelo *software* GraphPad Prism versão 7.0, usando análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey. Distribuição da normalidade foi realizada pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Foi considerado resultado estatisticamente significativo o  $P \leq 0,05$ . O grupo Orquiectomia + Testosterona mostrou maior NVC ( $15,33 \pm 5,32$ ) em relação aos grupos Sham ( $4,29 \pm 1,5$ ) ( $P < 0,01$ ) e Orquiectomia ( $2,17 \pm 0,41$ ) ( $P < 0,01$ ). Em relação a PB, o grupo Orquiectomia apresentou menor PB ( $13,5\text{mmHg} \pm 4,53$ ) se comparado ao grupo Sham ( $19,99\text{mmHg} \pm 1,88$ ) ( $P = 0,05$ ) e Orquiectomia + Testosterona ( $17,58\text{ mmHg} \pm 6,36$ ). Em relação ao LP, o mesmo foi verificado para o grupo Orquiectomia, com menor LP ( $18,91\text{mmHg} \pm 3,49$ ) em relação aos grupos Sham ( $24,71\text{mmHg} \pm 2,93$ ) e Orquiectomia + Testosterona ( $23,34\text{mmHg} \pm 6,15$ ) ( $P = 0,05$ ). A CV também foi menor no grupo Orquiectomia ( $0,13\text{ml} \pm 0,04$ ) comparado ao grupo Sham ( $0,28\text{ml} \pm 0,06$ ) ( $P = 0,03$ ) e Orquiectomia + Testosterona ( $0,32\text{ml} \pm 0,16$ ) ( $P = 0,01$ ). No parâmetro FM, o grupo Orquiectomia + Testosterona apresentou maior FM ( $7,59/\text{min} \pm 3,26$ ) em relação ao grupo Sham ( $3,65/\text{min} \pm 0,51$ ) ( $P < 0,01$ ) e ao grupo Orquiectomia ( $2,63/\text{min} \pm 0,50$ ) ( $P < 0,01$ ). Avaliando a complacência vesical não houve diferença significativa. A castração reduz todos parâmetros miccionais cistométricos (NVC, PB, LP, Volume, FM), exceto a complacência vesical. Em camundongos castrados, a administração exógena de testosterona impediu desenvolvimento dessas alterações.

**Palavras –chave:** Testosterona. Orquiectomia. LUTS. Hipogonadismo.

## ABSTRACT

The aging process faced by men enables the concomitant emergence of two conditions capable of affecting the normal functioning of the lower urinary tract (LUT), as well as of causing lower urinary tract symptoms (LUTS), namely: benign prostatic hyperplasia (BPH) and androgen deficiency in aging male (DAEM). The role played by testosterone in the LUT remains uncertain. The aim of the current study is to evaluate urodynamic findings in hypogonadal mice subjected to castration, and its outcome after testosterone administration in castrated mice. In total, 24 Black C57BL6 mice were randomized into 3 groups. The Sham group was subjected to incision in the scrotal sac and to testicular exposure; the Orchiectomy group was subjected to surgical castration; and the Orchiectomy + Testosterone group was simultaneously subjected to castration and to exogenous testosterone administration. Parameters such as the number of non-voiding contractions (NVC), Basal Pressure (BP), Pressure Threshold (PT), Bladder Capacity (BC), Urinary Frequency (UF), Bladder Complacency (C) and animal weight were evaluated. Statistical evaluation was performed in the GraphPad Prism software version 7.0, based on analysis of variance (ANOVA) and on Tukey's test. Data normality distribution was analyzed through the Kolmogorov-Smirnov test.  $P \leq 0.05$  was statistically significant. The Orchiectomy + Testosterone group showed higher NVC ( $15.33 \pm 5.32$ ) than the Sham ( $4.29 \pm 1.5$ ) ( $P < 0.01$ ) and Orchiectomy ( $2.17 \pm 0.41$ ) ( $P < 0.01$ ) groups. The Orchiectomy group presented lower BP ( $13.5 \text{ mmHg} \pm 4.53$ ) than the Sham ( $19.99 \text{ mmHg} \pm 1.88$ ) ( $P = 0.05$ ) and Orchiectomy + Testosterone ( $17.58 \text{ mmHg} \pm 6.36$ ) groups. The Orchiectomy group presented lower PT ( $18.91 \text{ mmHg} \pm 3.49$ ) than the Sham ( $24.71 \text{ mmHg} \pm 2.93$ ) and Orchiectomy + Testosterone ( $23.34 \text{ mmHg} \pm 6.15$ ) ( $P = 0.05$ ) groups. BC was also lower in the Orchiectomy group ( $0.13 \text{ ml} \pm 0.04$ ) than in the Sham ( $0.28 \text{ ml} \pm 0.06$ ) ( $P = 0.03$ ) and Orchiectomy + Testosterone ( $0.32 \text{ ml} \pm 0.16$ ) ( $P = 0.01$ ) groups. The Orchiectomy + Testosterone group presented higher UF ( $7.59/\text{min} \pm 3.26$ ) than the Sham ( $3.65/\text{min} \pm 0.51$ ) ( $P < 0.01$ ) and Orchiectomy ( $2.63/\text{min} \pm 0.50$ ) ( $P < 0.01$ ) groups. Bladder complacency did not show significant differences between groups. Castration reduced all cystometric voiding parameters (NVC, BP, PT, Volume, UF), except for bladder complacency. Exogenous testosterone administration prevented the development of these changes in castrated mice.

**Keywords:** Testosterone. Orchiectomy. LUTS. Hypogonadism.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1.	Figura 1a: Camundongos anestesiados – primeiro experimento -----	26
2.	Figura 1b: Camundongos anestesiados – cistometria -----	26
3.	Tabela 1: Dados demográficos -----	28
4.	Figura 2: Traçado cistométrico -----	29
5.	Tabela 2: Resultados com dados agrupados -----	30
6.	Tabela 3: Resultados -----	31
7.	Figura 3: Número de contrações não-miccionais -----	32
8.	Figura 4: Pressão Basal -----	33
9.	Figura 5: Limiar de Pressão -----	34
10.	Figura 6: Capacidade Vesical -----	35
11.	Figura 7: Frequência de Micção -----	36
12.	Figura 8: Complacência -----	37
13.	Figura 9: Massa corporal -----	38

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>ABP</b>	Aumento Benigno da Próstata
<b>AC</b>	Adenilato Ciclase
<b>Ach</b>	Acetilcolina
<b>AMPc</b>	Adenosina Monofosfato cíclico
<b>ATP</b>	Adenosina Trifosfato
<b>CV</b>	Capacidade vesical
<b>DAEM</b>	Distúrbio Androgênico do Envelhecimento Masculino
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>FM</b>	Frequencia de Micção
<b>IPDE- 5</b>	Inibidores da fosfodiesterase tipo 5
<b>IP3</b>	Trifosfato de inositol
<b>LP</b>	Limiar de Pressão
<b>LUTS</b>	Sintomas do Trato Urinário Inferior (Lower Urinary Tract Symptoms)
<b>MLCK</b>	Quinase de Cadeia Leve de Miosina (Myosin Ligth-Chain Kinase)
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>NOS</b>	Óxido Nítrico Sintetase
<b>NVC</b>	Contrações não-miccionais (Non Voiding Contractions)
<b>GTP</b>	Guanosina trifosfato
<b>PB</b>	Pressão Basal
<b>PDE</b>	Fosfodiesterase
<b>PKA</b>	Proteína quinase A
<b>PIP2</b>	Bifosfato de fosfatidilinositol
<b>SHBG</b>	Globulina carreadora de hormônios sexuais (sexual hormone bind globuline)
<b>TTh</b>	Terapia de Testosterona
<b>TUI</b>	Trato Urinário Inferior

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1.1</b>	<b>Trato Urinário Inferior</b> .....	15
<b>1.1.1</b>	<b>Anatomia</b> .....	15
<b>1.1.2</b>	<b>Inervação</b> .....	16
<b>1.1.3</b>	<b>Fisiologia</b> .....	16
<b>1.1.4</b>	<b>Papel do Óxido Nítrico (NO)</b> .....	18
<b>1.1.5</b>	<b>Hipogonadismo e LUTS</b> .....	19
<b>1.1.5</b>	<b>Androgênios e sua Ação</b> .....	20
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	22
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E METODOS</b> .....	23
<b>3.1</b>	<b>Aspectos éticos</b> .....	23
<b>3.2</b>	<b>Animais</b> .....	23
<b>3.3</b>	<b>Droga</b> .....	22
<b>3.4</b>	<b>Método Experimental</b> .....	23
<b>3.4.1</b>	<b>Castração</b> .....	23
<b>3.4.2</b>	<b>Cistometria</b> .....	24
<b>3.4.3</b>	<b>Parâmetros avaliados</b> .....	25
<b>3.5</b>	<b>Análise Estatística</b> .....	27
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	28
<b>4.1</b>	<b>Contrações Não-miccionais (NVC)</b> .....	32
<b>4.2</b>	<b>Pressão Basal</b> .....	33
<b>4.3</b>	<b>Limiar de Pressão</b> .....	34
<b>4.4</b>	<b>Capacidade Vesical</b> .....	35
<b>4.5</b>	<b>Frequência de Micção</b> .....	36
<b>4.6</b>	<b>Complacência</b> .....	37
<b>4.7</b>	<b>Massa Corporal</b> .....	38
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	44
	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	45
	<b>ANEXO A: CERTIFICADODA COMISSÃO DE ÉTICA AO USO DE ANIMAIS</b> .....	50

## 1. INTRODUÇÃO

Sintomas do trato urinário inferior (LUTS) são sintomas que resultam de condições e doenças que afetam a bexiga e a uretra. Podem ser divididos em: sintomas de armazenamento (urgência, urge-incontinência, frequência e noctúria), esvaziamento (fluxo baixo, fluxo intermitente, jato prolongado e hesitação) e pós miccionais (sensação de esvaziamento incompleto e gotejamento pós miccional) (ABRAMS P, CARDOZO L, FALL M et al, 2002).

O Aumento Benigno da Próstata (ABP) responde pela principal causa de LUTS em pacientes acima de 50 anos. Por comprimir a uretra, diminui o fluxo urinário de saída da bexiga, levando a obstrução infravesical. Em estágios iniciais, a obstrução uretral é compensada por hipertrofia da parede vesical associada a um aumento da atividade contrátil. Posteriormente, a hipertrofia vesical se torna disfuncional com ocorrência de contrações não miccionais e, finalmente, descompensadas com um número ainda mais frequente de contrações não miccionais durante a fase de enchimento, além da inabilidade em gerar pressões adequadas para esvaziamento. O componente estático é mais responsável por sintomas obstrutivos tais como jato fraco, intermitente e hesitação. Já o componente dinâmico é responsável pela ocorrência de sintomas irritativos tais como aumento da frequência urinária, urgência e noctúria (ANDERSON et al, 2004).

Por outro lado, alterações no sistema nervoso central e periférico também podem causar disfunções e LUTS. Portanto, LUTS nem sempre estão associados a ABP. Inúmeros tipos de disfunções vesicais podem estar envolvidas na patogênese dos sintomas e, achados urodinâmicos como hiperatividade detrusora, complacência vesical reduzida e hipoatividade detrusora concorrem com a obstrução infravesical e podem estar associadas a inúmeras outras doenças mais prevalentes nessa faixa etária, tais como desordens neurológicas (doença de Alzheimer, doença de Parkinson, AVE, demência senil, etc.), desordens metabólicas (diabetes mellitus, diabetes insípido, ICC).

Em conjunto com o surgimento do ABP, testosterona biologicamente ativa declina 2% a 3% anualmente, podendo resultar em sintomas que resultam em uma síndrome conhecida como Distúrbio Androgênico do Envelhecimento Masculino (DAEM) (HARMAN et al, 2001). Um estudo realizado pela universidade de Massachusetts demonstrou que a prevalência de hipogonadismo em homens situa-se na faixa de 6% a 12,3% em homens de 40 a 69 anos,

aumentando progressivamente com a idade (ARAÚJO AB, O'DONNELL AB et al, 2004). Os sintomas relacionados a DAEM são diminuição da libido e desejo sexual, diminuição da força e da massa muscular, diminuição da densidade óssea mineral, aumento da gordura visceral, perda de memória, anemia e deterioração da resistência insulínica (BASSIL N, ALKAADE S et al, 2009). Por também estar associada a doença cardiovascular, diabetes mellitus tipo 2, depressão e obesidade. Portanto, DAEM deve ser considerada como uma condição que afeta múltiplos órgãos e sistemas podendo cursar com aumento da mortalidade (KIM et al, 2014).

Se por um lado, com o envelhecimento há um aumento progressivo do volume prostático que refletem a evolução do ABP e conseqüentemente dos LUTS, por outro, há diminuição da produção hormonal de testosterona (SHIGEHARA et al, 2011). O crescimento prostático depende da presença de androgênios, que desempenham papel fundamental para desenvolvimento do ABP. Inversamente, administração de antiandrogênios ou orquiectomia podem diminuir o volume prostático na ABP (ROEHRBORN CG, BARKIN J et al, 2010). Essas observações sugerem que a reposição androgênica deveria piorar os LUTS por aumento do volume prostático e, portanto, potenciais preocupações a respeito dos efeitos da testosterona em ABP e LUTS necessitam serem bem reconhecidos. Pouco se sabe a respeito da correlação dos níveis androgênicos e sua correlação com LUTS (PRADIDARCHEEP W, 2008). Até o presente, não há dados sugerindo que a terapia de reposição androgênica contribua para exacerbação dos LUTS ou promova retenção urinária (BASSIL N, ALKAADE S et al, 2009).

## **1.1 TRATO URINÁRIO INFERIOR**

### **1.1.1 Anatomia**

O trato urinário inferior é composto basicamente pela bexiga, próstata e uretra. A bexiga é dividida em duas regiões distintas: uma ampla região localizada acima dos orifícios dos ureteres, denominada “corpo da bexiga”, formado pela parede da bexiga e uma região menor, abaixo dos orifícios ureterais, formada da convergência das paredes laterais, situado imediatamente acima da próstata denominada “base da bexiga”, que é formada pelo músculo trígono, pela junção uretrovesical e pela parede anterior da bexiga (PRADIDARCHEEP W, 2008). A parede da bexiga é formada por uma camada mucosa interna denominada de urotélio e musculatura lisa denominada de detrusor recoberta externamente por fâscia. O urotélio é uma camada epitelial composta por uma camada de células basais, uma camada celular intermediária e uma camada celular superficial formada por células hexagonais denominadas de “células guarda-chuva” (umbrella cells) (de GROAT, 2004). A uretra possui importante papel no

funcionamento do trato urinário inferior. Dividida em uretra prostática, membranosa, peniana e bulbar, em sua região membranosa, apresenta musculatura estriada e controle voluntário por inervação oriunda do nervo pudenda. A uretra é formada por três camadas musculares, sendo uma camada longitudinal espessa e mais interna de musculatura lisa, uma camada circular delgada e central de musculatura lisa e uma camada mais externa de músculo estriado, também chamada de rabdoesfínter. Estas três camadas são ativas na manutenção do tônus muscular durante a fase de enchimento bem como no relaxamento durante a fase de esvaziamento da bexiga (CANDA et al, 2008).

### **1.1.2 Inervação**

A inervação do trato urinário inferior (bexiga e uretra) é composta basicamente por fibras simpáticas, parassimpáticas e somáticas. As fibras simpáticas originam-se da porção superior lombar da medula espinhal e do gânglio mesentérico inferior. Estas fibras liberam noradrenalina, promovendo o relaxamento do músculo liso detrusor, via receptores  $\beta$ -adrenérgicos, e contração da musculatura lisa uretral por meio da interação com receptores  $\alpha$ 1-adrenérgicos. As fibras parassimpáticas, por sua vez, surgem da porção sacral da medula espinhal e inervam a bexiga e uretra via nervo pélvico. Os neurônios pós-sinápticos liberam acetilcolina (ACh) induzindo a contração da musculatura lisa via receptores muscarínicos. O nervo pudendo, componente do sistema nervoso somático, contém principalmente fibras nervosas motoras originadas do núcleo Onuf e inerva o esfínter uretral externo (ou rabdoesfínter uretral), principalmente constituído de musculatura esquelética (PATEL et al, 2008). O nervo pudendo libera ACh que ativa receptores nicotínicos presentes nessa musculatura resultando em contração muscular. Além da ACh e noradrenalina, outros neurotransmissores participam da regulação do tônus da musculatura lisa do trato urinário inferior. O trifosfato de adenosina (ATP), liberado de fibras colinérgicas, juntamente com a ACh, age como um co-transmissor excitatório, atuando em receptores purinérgicos P2X1, evocando resposta contrátil em bexiga (BURNSTOCK, 2014). Existe pouca informação sobre a presença e função de receptores purinérgicos na uretra.

### **1.1.3 Fisiologia**

A bexiga possui duas funções principais, o armazenamento e a eliminação de urina. Estes processos envolvem uma sincronia de ações do músculo liso detrusor e uretra, cuja função principal é manter a continência urinária através da contração na fase de enchimento e de relaxamento na fase de eliminação. As fibras musculares do detrusor são capazes de relaxar



simultaneamente à contração da uretra, permitindo um aumento do volume da bexiga, sem aumento concomitante da pressão intra-vesical, e de contrair de modo coordenado com o relaxamento da uretra, gerando a pressão necessária para liberar a urina. O controle da função miccional é feito principalmente pelo sistema nervoso autônomo. Durante o processo de enchimento ocorre ativação de fibras simpáticas no detrusor e uretra, bem como inibição pré-sináptica das fibras parassimpáticas. Por outro lado, durante a fase de eliminação, ocorre a estimulação de fibras parassimpáticas no detrusor concomitantemente com ativação de terminais nitrérgicos na uretra, contribuindo para eliminação da urina (de GROAT, 2004). No músculo detrusor, a noradrenalina interage com receptores  $\beta$ -adrenérgicos, promovendo o relaxamento muscular e redução da pressão intravesical, ao passo que na uretra a noradrenalina interage com receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, levando à contração dessa estrutura. Os receptores  $\beta$ -adrenérgicos, quando ativados, levam à ativação da adenilato ciclase (AC) induzindo acúmulo de AMPc, que, por sua vez, ativa a proteína quinase A (PKA). Esta proteína promove a fosforilação da quinase de cadeia leve de miosina (MLCK; myosin light-chain kinase), levando a inativação da mesma, que resulta em aumento da recaptção de cálcio para o retículo sarcoplasmático por meio da fosforilação da fosfolambana, diminuindo o cálcio citosólico (TANAKA et al, 2005). Sabe-se também que a ativação de receptores  $\beta$ -adrenérgicos pode promover o relaxamento do detrusor por mecanismos independentes de AMPc, como por ativação de canais de potássio e por aumento na produção e liberação de NO (BIRDER et al, 2002). O subtipo de  $\beta$ -adrenérgico responsável pelo relaxamento do detrusor depende da espécie animal. Os três subtipos ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ ) são expressos em detrusor de ratos. Em humanos, a proporção de  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ , é de 1,5%, 1,4%, 97%, respectivamente, sendo o relaxamento mediado principalmente pelos receptores  $\beta_3$  (SEGUCHI et al, 1998). Existem poucas informações sobre os receptores  $\beta$ -adrenérgicos em uretra, mas sabe-se que o relaxamento uretral pode se dar também pela ação da noradrenalina em receptores  $\beta_2/\beta_3$ -adrenérgico durante a fase de eliminação de urina (MICHEL et al, 2006). Estudos iniciais em coelhos mostraram que os receptores  $\beta$ -adrenérgicos na uretra pertencem principalmente ao subtipo  $\beta_2$ . Posteriormente, estudos mostraram que ambos,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ , medeiam os relaxamentos uretrais, dependendo da espécie animal.

A contração da uretra se dá pela ativação de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, principalmente  $\alpha_1$ , que está acoplado à proteína G, cuja sinalização envolve ativação da fosfolipase C, hidrólise do fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP<sub>2</sub>) para inositol 1,4,5-trisfosfato (IP<sub>3</sub>) e diacilglicerol (DAG). O DAG ativa a PKC que catalisa a fosforilação de várias proteínas intracelulares fazendo com que ocorra também a entrada de cálcio extracelular através de canais de Cálcio do tipo L. O

IP3 atua em receptores específicos no retículo sarcoplasmático, estimulando a liberação de cálcio. O cálcio se liga à calmodulina, e este complexo, por sua vez, ativa a MLCK. Esta enzima ativada leva à fosforilação da cadeia leve da miosina, promovendo consequentemente a contração deste tecido (MICHEL et al, 2006).

No processo de eliminação da urina, a contração do músculo liso da bexiga é mediada predominantemente pela ativação de receptores muscarínicos que se faz de forma coordenada com o relaxamento da uretra. A resposta contrátil decorrente da estimulação muscarínica é evocada principalmente pela ativação de receptores muscarínicos M3 (SIGALA et al, 2002). Os mecanismos intracelulares observados na resposta contrátil pela ACh incluem a ativação da fosfolipase C, com formação de IP3 e DAG, levando ao aumento dos níveis intracelulares de cálcio. Subseqüentemente, o cálcio se liga à calmodulina, que ativa a MLCK, levando ao aumento expressivo de fosforilação da cadeia leve da miosina (MLC20). Durante este processo, a MLC20 fosforilada interage com a  $\alpha$ -actina, resultando na contração do músculo liso. O aumento dos níveis de cálcio citosólico resultam de sua mobilização a partir do retículo sarcoplasmático e/ou de seu influxo através de canais de cálcio presentes na membrana celular. O influxo extracelular de cálcio se reveste de grande importância nas respostas contráteis, visto que as mesmas deixam de ser observadas com o uso de bloqueadores de canais de cálcio dependentes de voltagem. O papel da PKC na contratilidade do músculo liso da bexiga e uretra permanece incerto, pois grande parte dos estudos indica que esta proteína não tem influência direta na potência ou eficácia em respostas contráteis mediadas por estimulação de receptores muscarínicos (BRAVERMAN et al, 2006).

Para evitar progressiva deterioração do complexo vésico-prostático, muitos compostos tem sido desenvolvidos e o uso de drogas alfa-bloqueadores, anticolinérgicos, inibidores da alfa-5-redutase, e mais recentemente, drogas inibidores da fosfodiesterase tipo 5 (IPDE-5) e os beta-3 agonistas são opções de tratamento (ANDERSSON et al, 2004).

#### **1.1.4 Papel do Óxido Nítrico (NO)**

O óxido nítrico tem sido implicado como neurotransmissor em vários sítios do sistema nervoso de mamíferos, incluindo sinapses periféricas do trato urogenital (O'CONNOR et al, 1997; MONCADA et al, 1991). O NO age como um fator inibitório não adrenérgico não colinérgico (NANC) da contração lisa autonômica, responsável pelo relaxamento uretral durante o esvaziamento vesical e, possivelmente, pelo relaxamento vesical na fase de enchimento

(ANDERSSON et al, 1995 e 2004). Estudos têm demonstrado a presença da enzima óxido nítrico sintetase (NOS) no urotélio, células em guarda chuva, musculatura detrusora e em células intersticiais de porcos da Índia (GILLESPIE et al, 2004).

O NO que atua no detrusor tem origem principal da enzima óxido nítrico sintetase. Ambas enzimas, NOS constitutiva (NOS neuronal e NOS endotelial) e NOS induzível, podem ser demonstradas no TUI de animais (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 que, por sua vez, atua como primeiro mensageiro, ativa a enzima guanilato ciclase, fazendo a conversão de guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfato cíclico (GMPc) resultando no relaxamento da musculatura lisa. O GMPc é degradado pela enzima fosfodiesterase (PDE) novamente em sua forma inativa guanosino monofosfato (GMP), sendo que a concentração de GMPc no músculo liso detrusor depende do balanço entre a intensidade do estímulo do NO e da degradação do GMPc feita pelas enzimas do grupo PDE. Atualmente 11 diferentes tipos de PDE foram identificadas, com os tipos 4 e 5 predominando na próstata, bexiga e uretra (UCKERT et al 2001).

### 1.1.5 Hipogonadismo e LUTS

DAEM afeta cerca de um quinto dos pacientes idosos com LUTS, mas não parece impactar na intensidade dos sintomas (SCHATZL et al, 2003). A exata relação entre testosterona circulante e LUTS ainda é motivo de discussão. Alguns estudos tem avaliado a relação entre os níveis de androgênios e a resposta ao uso de inibidores da fosfodiesterase tipo 5 no tratamento da disfunção erétil e LUTS. A possibilidade dos andrógenos participarem na regulação da expressão e atividade da fosfodiesterase a nível do músculo detrusor foi questionada após a descoberta dessa "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 (vardenafila), sugerindo que estados de hipogonadismo poderiam reduzir a atividade da PDE5. Nesse mesmo estudo, observou-se significativa redução na expressão gênica da PDE5 após castração cirúrgica, que foi posteriormente recuperada com a administração exógena de testosterona.

Testosterona circula no sangue primariamente ligada a globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG) ou não-especificamente ligada a albumina, com somente 2-3% da testosterona

total livre. Como a conjugação da testosterona com albumina é extremamente instável, a testosterona livre e a ligada a albumina juntas são consideradas testosteronas biodisponíveis (ZIMMERMAN et al, 2008).

O diagnóstico laboratorial por dosagem sérica de T é subjetivo e desafiador, visto que esse hormônio sofre grande variação diária, sazonal e de idade (COHEN et al, 2008). O diagnóstico de DAEM se baseia na presença dos sintomas associados ao baixo nível sérico de testosterona no plasma, sendo a medida de testosterona total o parâmetro mais amplamente utilizado. O cálculo de testosterona livre também pode ser útil quando a testosterona total se encontra na faixa de 230 - 350 ng/dl (WANG et al, 2009). A terapia de reposição androgênica (TRA) é uma estratégia amplamente aceita como forma de prevenção e melhora de muitos dos sintomas associados a DAEM. Tem como principal objetivo a restauração dos níveis séricos de testosterona, utilizando-se de várias formulações tais como injetáveis, comprimidos, dispositivos transdérmicos e preparações bucais, sendo a melhor opção a ser escolhida após esclarecimento das vantagens e desvantagens de cada método (BASSIL, 2011).

### **1.1.6 Androgênios e sua ação genômica**

Estereoidogênese corresponde ao processo bioquímico que envolve a conversão de colesterol em hormônios esteróides biologicamente ativos (MILLER et al, 2011). Ela se dá largamente em vários tecidos, incluindo o sistema nervoso central, porém as gônadas são o sítio principal de sua biossíntese (LABRIE, 2015). A testosterona é convertida na sua forma biologicamente ativa, a dehidrotestosterona (DHT) através da ação da enzima 5-alfa reductase, podendo também ser convertida em estradiol (E2) através da ação da enzima P450 aromatase que é codificada pelo gene CYP19A1 (VERMAULEN et al, 2002).

A sinalização androgênica é mediada através de receptores androgênicos (RA) localizados no interior das células, facilmente acessada pela permeabilidade da membrana aos hormônios sexuais. O complexo T-RA transloca para o núcleo onde se ligam a sítios específicos do DNA e regulam a expressão de um largo número de genes (VALENTINA et al, 2015).

Há dois tipos de ligantes de proteínas que agem como receptores intracelulares: o dos hormônios tireoidianos que se ligam diretamente ao DNA e dos hormônios esteróides que se ligam ao DNA através de ligantes. Receptores androgênicos e estrogênicos pertencem a uma superfamília de receptores que incluem receptores para progesterona, glicocorticoide, mineralocorticoide, tireoidianos, vitamina D e ácido retinóico que se difundem livremente pela membrana plasmática e se ligam a receptores para ativar bandas específicas de DNA. Fatores

transcricionais podem se formar no citoplasma (SSRS) e na membrana celular (SSRE) para regular a expressão gênica. A dimerização do receptor ocorre em resposta ao ligante ligado, causando alteração conformacional específica SRC-1, SRC-2 e SRC-3 para ligação ao estrógeno / progesterona e ARA 70 / TBLR -1 para andrógenos, aos quais se ligam ao DNA, transcrevem o sítio específico que resulta na RNA polimerase, codifica o RNA mensageiro que age no ribossomo mediando síntese protéica que alteram a função celular (crescimento / diferenciação). Na ausência de hormônios esteróides, os receptores se transformam em ilhas isoladas de proteínas inativas (VALENTINA et al, 2015).

Receptores androgênicos são largamente expressos através do corpo, inclusive nos tecidos do trato urinário inferior em animais (CHAVALMANE et al, 2010).

Há evidência que a testosterona exerce um significativo papel na função vesical e esfíncter urinário. Entretanto, a fisiopatologia por trás desse papel ainda não tem sido bem estudada. Estudos em animais têm mostrado que a castração diminui alfa 1-adrenoceptor e receptor muscarínico. Em coelhos, RA são encontrados no sistema nervoso autonômico pélvico, mucosa vesical, musculatura lisa detrusora, músculo esfíncter estriado e mucosa uretral. Em ratos, RA são encontrados no sistema nervoso autônomo pélvico (YASSIN et al, 2008).

Baseado em estudos clínicos, há evidência do papel dos androgênios na função do TUI. Em uma revisão sistemática comparando efetividade e efeitos adversos de tratamentos para câncer de próstata clinicamente localizados, WILT et al (2008) reportaram a frequência dos eventos adversos após tratamento. Incontinência urinária com frequência acima de 1-2 vezes por dia foi queixa presente em aproximadamente 11% dos pacientes submetidos a terapia de deprivação androgênica isolada. O alto percentual de pacientes com perda urinária após terapia de deprivação androgênica isolada pode estar associado ao esfíncter urinário estriado, a bexiga ou a ambos. Sabe-se que degeneração do esfíncter uretral estriado se dá com aumento da idade. Uma associação entre níveis de testosterona e massa muscular tem sido mostrada previamente, podendo essa degeneração do rabdoesfíncter estar associada a indução de apoptose celular desencadeada pela falta de androgênio (BHASIN et al, 1997).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Primário**

Avaliar os achados urodinâmicos em camundogos hipogonádicos após castração comparando com castração e administração exógena imediata de testosterona.

### **2.2 Objetivo Secundário**

Avaliar o peso do animal e os mecanismos de recuperação obtidos com a administração exógena de testosterona.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Aspectos éticos**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal do Ceará com o número 8558280318 na reunião de 08/08/2018, conforme declaração com parecer favorável no anexo 1.

#### **3.2 Animais**

Foram utilizados um total de 24 camundongos Black C57BL6, com peso uniforme aproximado entre 20-25g (aproximadamente 8 semanas), randomizados da seguinte forma:

- Grupo Sham - 8 camundongos alimentados com ração padrão que foram submetidos a incisão escrotal e exploração dos testículos, porém sem ressecção dos mesmos.
- Grupo Orquiectomia (castração): 8 camundongos alimentados com ração padrão que foram submetidos a exploração escrotal e castração cirúrgica. Após o procedimento, foi realizada aplicação de 0,1 ml solução salina subcutânea (s.c) na região posterior da nuca.
- Grupo Orquiectomia + Testosterona: 8 camundongos alimentados com ração padrão submetidos a castração cirúrgica. Após o procedimento, os mesmos receberam undecanoato de testosterona (Nebido, Bayer Schering Pharma, Berlin, Germany) na dose de 100mg/kg subcutânea na região posterior da nuca, que corresponde a 0,1ml da solução após diluição da mesma.

#### **3.3 Droga**

Para administração exógena com testosterona utilizamos para este estudo undecanoato de testosterona (Nebido, Bayer Schering Pharma, Berlin, Germany) na dose de 100mg/kg s.c em dose única após castração. A dose e a opção do undecanoato de testosterona foi baseada nos estudos de CALLIES et al (2003), no qual investigaram as propriedades farmacocinéticas de diferentes formulações de testosterona em ratos machos e concluíram que a simples injeção de undecanoato de testosterona na dose de 100 mg/Kg s.c é efetiva em induzir níveis fisiológicos de testosterona em ratos orquiectomizados por um mínimo de 4 semanas. O undecanoato de testosterona é um éster do androgênio testosterona que ocorre naturalmente. A forma ativa, testosterona, é formada pela quebra da cadeia lateral. O undecanoato de testosterona é uma

solução de depósito, administrada por via subcutânea e, desta forma, evita o metabolismo de primeira passagem. Após a administração subcutânea do undecanoato de testosterona, na forma de solução oleosa, a substância ativa é gradualmente liberada a partir do depósito e é quase que completamente metabolizada por esterases séricas, formando testosterona e ácido undecanoico. No dia subsequente à administração, já se pode verificar o aumento dos níveis séricos de testosterona acima dos valores basais anteriores ao tratamento, a média das concentrações máximas são obtidas entre 7 e 14 dias após administração subcutânea. Os níveis pós-pico de testosterona diminuem com meia-vida estimada de cerca de 53 dias (CALLIES F et al, 2003).

A aquisição da droga foi feita na forma de ampola constituída de 1000 mg em 4 ml. Foi realizada diluição da mesma em solução a base de óleo de girassol para manutenção das propriedades farmacocinéticas da diluição. Após a reconstituição a solução apresentava uma dosagem de 3 mg em 0,12 ml, sendo aplicados, após realização dos cálculos, 0,08ml (8 unidades) a 0,1 ml (10 unidades) s.c da solução em cada camundongo do grupo Orquiectomia + Testosterona imediatamente após a realização da castração cirúrgica. Para tal aplicação, utilizou-se seringa de 1 ml subdividida em marcações de unidades, onde cada unidade corresponde a 0,01ml acoplada a agulha 13 x 7.5 g. A aplicação se deu na face posterior da nuca do animal, na prega subcutânea.

### **3.4 Método experimental**

#### **3.4.1 Castração**

A castração e a incisão da bolsa escrotal no grupo sham dos camundongos (Figura 1a) foi realizada por meio de incisão mediana após anestesia intraperitoneal com xilasina (10mg/kg) + quetamina(100mg/kg). Após a incisão com lâmina de bisturi nº 11, no grupo Sham os testículos eram expostos e recolocados na bolsa escrotal, enquanto nos grupos Orquiectomia e Orquiectomia + Testosterona eles eram ressecados, após ligadura do cordão espermático com fio de algodão 4.0. Analgesia pós-operatória foi realizada com bupivacaína na dose de 2,0 mg/ Kg em dose única após o procedimento na ferida operatória (FLECKNELL PA, 1994; HALL LW et al, 1991). Após a analgesia, a bolsa escrotal foi fechada com fio de nylon 5.0.

#### **3.4.2 Cistometria**

A realização da cistometria se deu em todos animais ao final do período do estudo, após 28 dias dos procedimentos iniciais. Foram anestesiados com uretana (1,2g/ Kg de peso),



mantidos em mesa cirúrgica com uso de lâmpadas quentes próximas aos animais anestesiados para evitar hipotermia. Após certificação do completo efeito anestésico (abolição dos reflexos e ausência de dor), eram submetidos a laparotomia para exposição da bexiga e punção com *butterfly 27G*, que foi conectado a uma bomba de infusão salina e a um transdutor de pressão (Figura 1b). Após a punção da bexiga, a mesma era esvaziada e aguardava-se em torno de 30 minutos para estabilização da musculatura detrusora. Após a estabilização, iniciava-se então o enchimento vesical com água destilada a uma velocidade de 4 ml/h e as pressões vesicais eram registradas de forma simultânea por meio do software (Power Lab v.5.0 System – ADInstruments, Australia) ao longo de 40 minutos (Figura 2).

### 3.4.3 Parâmetros avaliados

Durante a avaliação cistométrica foram avaliados os seguintes parâmetros:

- **Número de Contrações não miccionais (NVC- No Voiding Contraction):** número de contrações com amplitude acima de 4 mmHg antes da primeira micção.
- **Pressão basal (PB):** pressão detrusora antes das contrações relacionadas ao ciclo de micção na cistometria, sendo aplicada a média das pressões obtidas durante toda cistometria, medida em mmHg.
- **Limiar de pressão (LP):** pressão detrusora imediatamente antes do ciclo de micção, sendo aplicada a média das pressões obtidas durante toda cistometria, medida em mmHg.
- **Capacidade Vesical (CV):** volume infundido na bexiga antes da primeira micção, calculado como o produto da velocidade de infusão pelo tempo decorrido até a primeira micção, medido em mililitros (ml).
- **Frequência de Micção (FM):** número de micções observadas divididas pelo tempo da cistometria, medida em nº de micções/minutos.
- **Complacência (C):** Calculada através da relação entre o limiar de volume (Capacidade vesical) obtido e a variação de pressão até o limiar de pressão, medido em ml/mmHg.
- **Peso:** medido em gramas após pesagem simples em balança.

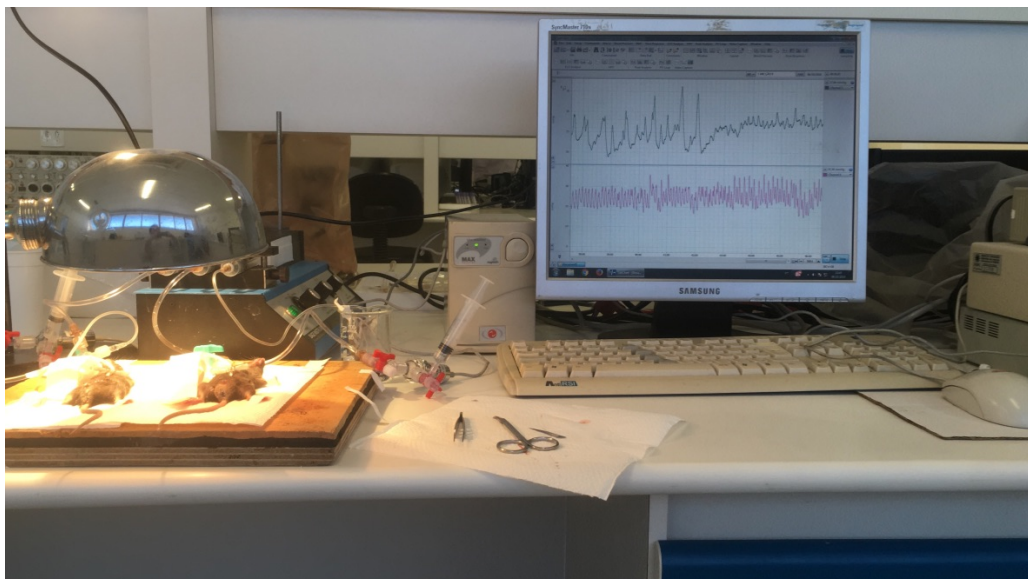
A utilização das variáveis urodinâmicas acima citadas foram baseadas nas recomendações da literatura para realização de cistometria em modelos experimentais (ANDERSON et al, 2011).

**Figura 1a. Experimentos de castração e incisão da bolsa com exposição testicular**



Fonte: autoria própria

**Figura 1b. Experimentos de cistometria**



Fonte: autoria própria

### 3.5 Análise estatística

Em se tratando de variáveis quantitativas, os parâmetros cistométricos e a massa corporal foram inicialmente analisados 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, calcularam-se a média e o desvio padrão, assim como foram empregados testes paramétricos para a análise dos dados. Comparações entre os três grupos de tratamento (Simulado, Orquiectomia e Orquiectomia+Testosterona) em relação aos parâmetros cistométricos foram feitas mediante o uso da análise de variância (ANOVA) para um fator de classificação, associada ao teste de comparações múltiplas de Tukey, para verificar diferenças entre os grupos aos pares.

Em todas as análises, empregaram-se testes bicaudais, estabelecendo-se o nível de significância em 0,05 (5%), considerando-se, por conseguinte, como estatisticamente significativo um valor  $P$  menor ou igual a 0,05. O *software* GraphPad Prism versão 7.0 (GraphPad Software, La Jolla, California, USA, 2016) foi utilizado tanto para a realização dos procedimentos estatísticos como para a elaboração dos gráficos.

#### 4. RESULTADOS

Na primeira fase de experimentos, houve perda de um animal no grupo orquiectomia, durante o procedimento. Já na segunda fase, durante a realização das cistometrias, no grupo Sham também houve uma perda por falecimento do animal, no grupo Orquiectomia houve mais uma perda por transfixação da bexiga, o que impossibilitou a aquisição das pressões na cistometria, e no grupo Orquiectomia + Testosterona houveram perda de dois animais. Ao final da fase de experimentos restaram 07 animais no grupo Sham, 06 animais no grupo Orquiectomia e 06 animais no grupo Orquiectomia + Testosterona, conforme podemos verificar na tabela demográfica do estudo (tabela 1).

GRUPOS		
SHAM	ORQUIECTOMIA	ORQUIECTOMIA + TESTOSTERONA
C01	C01	C01 - ÓBITO **
C02- ÓBITO **	C02	C02
C03	C03- PERDA +	C03
C04	C04	C04
C05	C05	C05
C06	C06	C06 - ÓBITO **
C07	C07	C07
C08	C08- ÓBITO *	C08

**Tabela 1. Dados demográficos**

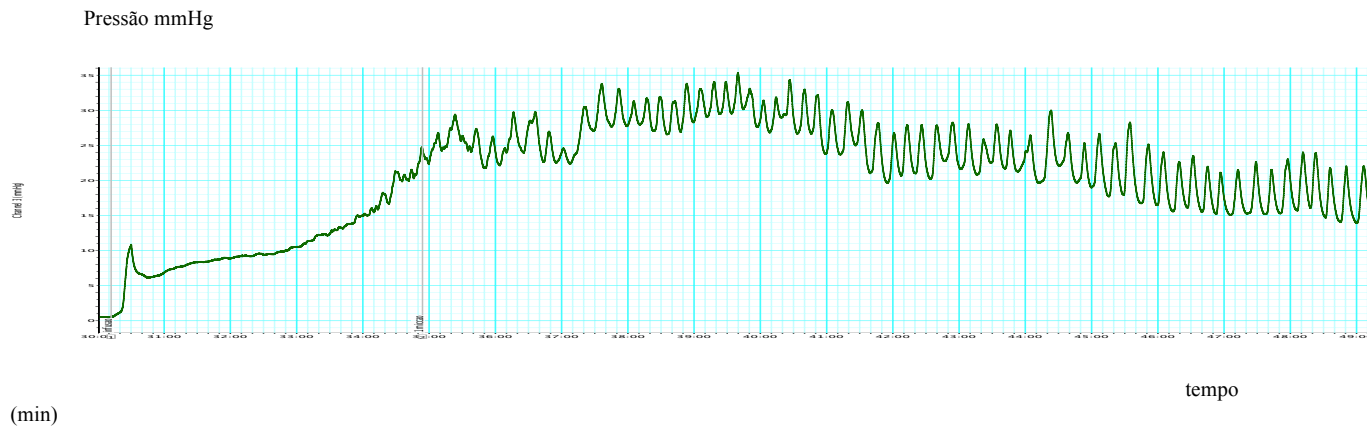
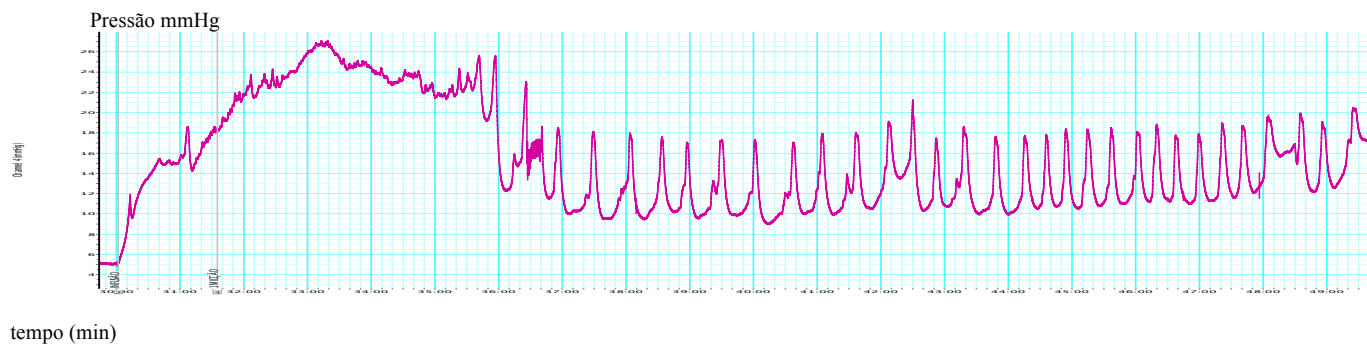
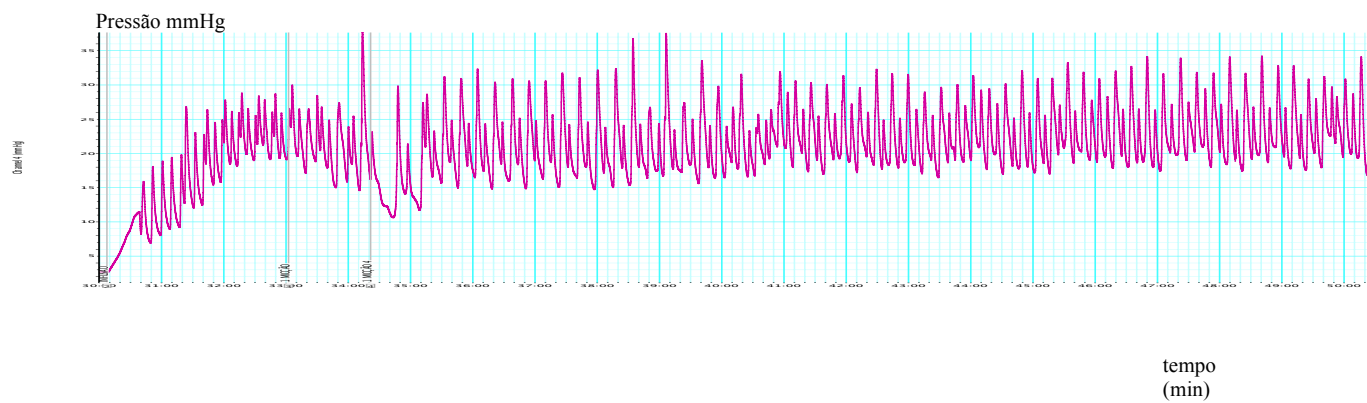
C: refere-se ao número do camundongo do respectivo grupo

\*Óbito na primeira fase de experimentos

\*\*Óbito na segunda fase de experimentos

+ Perda por transfixação da bexiga

As aquisições dos traçados cistométricos em cada grupo analisado estão representadas na figura 2. Ao analisar cada traçado, verifica-se que a frequência miccional (FM) é maior no grupo Orquiectomia + Testosterona ( $7,59 \pm 3,26$ ) comparado ao grupo Sham ( $3,65 \pm 0,51$ ) ( $P < 0,01$ ) e ao grupo Orquiectomia ( $2,63 \pm 0,50$ ) ( $P < 0,01$ ). Observa-se ainda que o número de contrações não miccionais (NVC) foi maior no grupo Orquiectomia + Testosterona ( $15,33 \pm 5,32$ ) quando comparado ao grupo Sham ( $4,29 \pm 1,5$ ) ( $P < 0,01$ ) e ao grupo Orquiectomia ( $2,17 \pm 0,41$ ) ( $P < 0,01$ ).

**Figura 2a - Grupo Sham****Figura 2b – Grupo Orquiectomia****Figura 2c – Grupo Orquiectomia + Testosterona**

**Figura 2. Traçado cistométrico.** Observa-se nos traçados que, tanto o número de contrações não-inibidas (NVC) quanto a frequência miccional (FM) no grupo Orquiectomia foi menor em relação ao grupo Sham, enquanto que no grupo Orquiectomia + Testosterona foi maior em relação ao Sham.

A tabela 2 resume os resultados encontrados com os dados agrupados.

Parâmetros cistométricos	Simulado Média ± DP	Orquiectomia Média ± DP	Orquiectomia+ Testosterona Média ± DP	Significância (ANOVA)
Número de contrações não miccionais (NVC)	4,29 ± 1,50	2,17 ± 0,41	15,33 ± 5,32 <sup>a,f</sup>	<b>P &lt; 0,01</b>
Pressão basal (mmHg)	19,99 ± 1,88	13,50 ± 4,53 <sup>b</sup>	17,58 ± 6,36	<b>P = 0,05</b>
Limiar de pressão (mmHg)	24,71 ± 2,93	18,91 ± 3,49 <sup>c</sup>	23,34 ± 6,15	<b>P = 0,05</b>
Capacidade vesical (ml)	0,28 ± 0,06	0,13 ± 0,04 <sup>d</sup>	0,32 ± 0,16 <sup>g</sup>	<b>P = 0,01</b>
Frequência miccional (micções/min)	3,65 ± 0,51	2,63 ± 0,50	7,59 ± 3,26 <sup>e,h</sup>	<b>P &lt; 0,01</b>
Complacência vesical (ml/mmHg)	0,012 ± 0,005	0,007 ± 0,002	0,012 ± 0,008	<b>P = 0,1524</b>

**Tabela 2.** Resultados com dados agrupados

DP: desvio padrão. ANOVA: Análise de variância. As letras <sup>a</sup>(P < 0,01), <sup>b</sup>(P=0,05), <sup>c</sup>(P=0,05), <sup>d</sup>(P=0,03) e <sup>e</sup>(P < 0,01) denotam diferenças estatisticamente significantes em relação ao grupo Simulado enquanto as letras <sup>f</sup>(P < 0,01), <sup>g</sup>(P=0,01) e <sup>h</sup>(P<0,01) indicam diferenças significantes em relação ao grupo Orquiectomia (teste de Tukey).

Os resultados em cada animal foram agrupados e estão representados na tabela 3.

GRUPOS	PESO (GRAMAS)	NVC	PB	LP	CV (ml)	FM	C
<b>SHAM</b>							
C01	28	2	19,58	22,13	0,28	3,4	0,013
C02							
C03	24	6	20,94	26,89	0,16	3,94	0,006
C04	28	4	16,37	23,73	0,33	3,35	0,013
C05	28	4	18,95	21	0,33	3,82	0,021
C06	24	3	21,84	28,52	0,26	2,77	0,007
C07	26	6	21,12	27,6	0,33	4	0,009
C08	30	5	21,12	23,11	0,3	4,29	0,012
<b>ORQUIECTOMIA</b>							
C01	22	2	12,34	16,07	0,1	2,83	0,006
C02	20	2	14,37	20,95	0,105	2,51	0,004
C03							
C04	24	3	12,04	18,34	0,105	2,25	0,007
C05	24	2	9,83	16,55	0,16	1,96	0,006
C06	24	2	10,31	16,55	0,188	2,81	0,01
C07	26	2	22,13	25,02	0,127	3,39	0,006
C08							
<b>ORQUIECTOMIA + TESTOSTERONA</b>							
C01							
C02	30	21	22,7	28,01	0,638	12,6	0,022
C03	28	18	17,41	23,89	0,2	8,6	0,006
C04	30	11	19,17	21,26	0,272	4	0,008
C05	26	19	5,1	11,99	0,311	6,5	0,022
C06							
C07	26	16	20,46	27,92	0,2	9,4	0,006
C08	26	7	20,64	26,95	0,277	4,46	0,01
<b>RESULTADO FINAL POR GRUPO</b>							
SHAM	26,86	4,28	19,98	24,71	0,285	3,65	0,012
ORQUIECTOMIA	23,33	2,16	13,5	18,91	0,13	2,62	0,006
ORQUIECTOMIA + TESTOSTERONA	27,67	18,5	17,58	23,33	0,316	7,59	0,012

### Tabela 3. Resultados

NVC: No Voiding Contraction – número de contrações não miccionais

PB: Pressão Basal - média das pressões basais observadas durante toda cistometria

LP: Limiar de Pressão – médias dos limiares de pressão obtidos durante toda cistometria

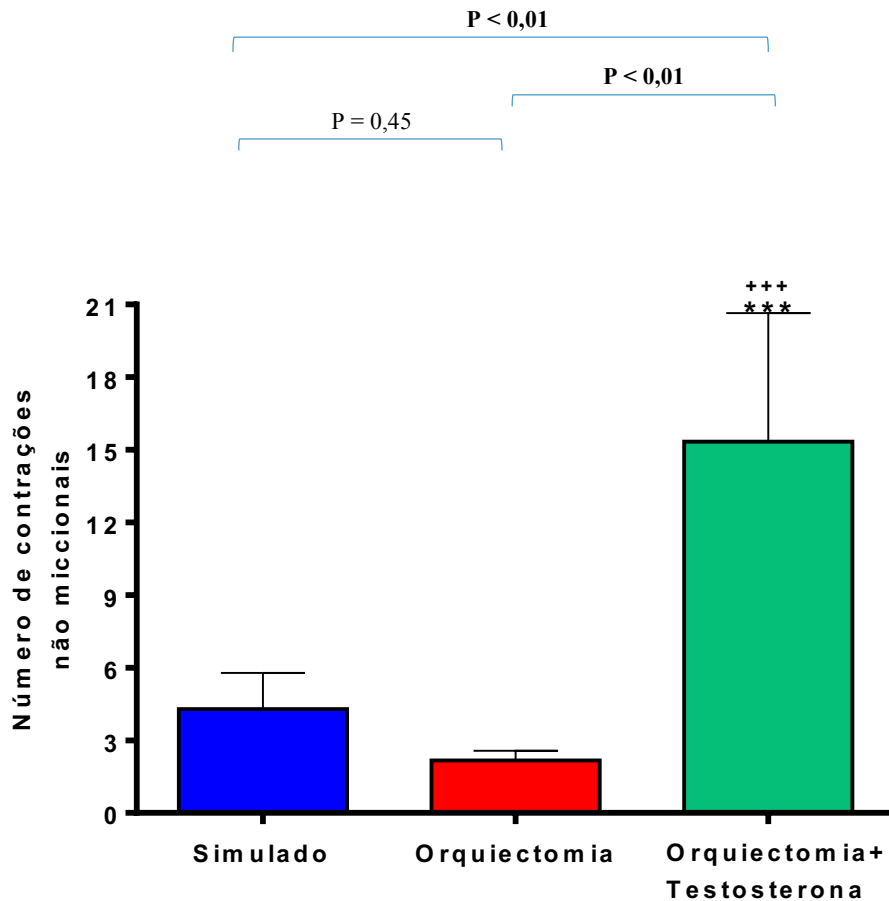
CV: Capacidade Vesical – capacidade da bexiga medida em ml

FM: Frequência Miccional - número de micções observadas durante toda cistometria pelo tempo decorrido

C: Complacência.

#### 4.1 Contrações não-miccionais (NVC)

De acordo com a figura 3, verifica-se que o NVC no grupo Orquiectomia + Testosterona foi significativamente maior que os observados nos grupos Sham ( $***P < 0,01$ ) e Orquiectomia ( $+++P < 0,01$ ).

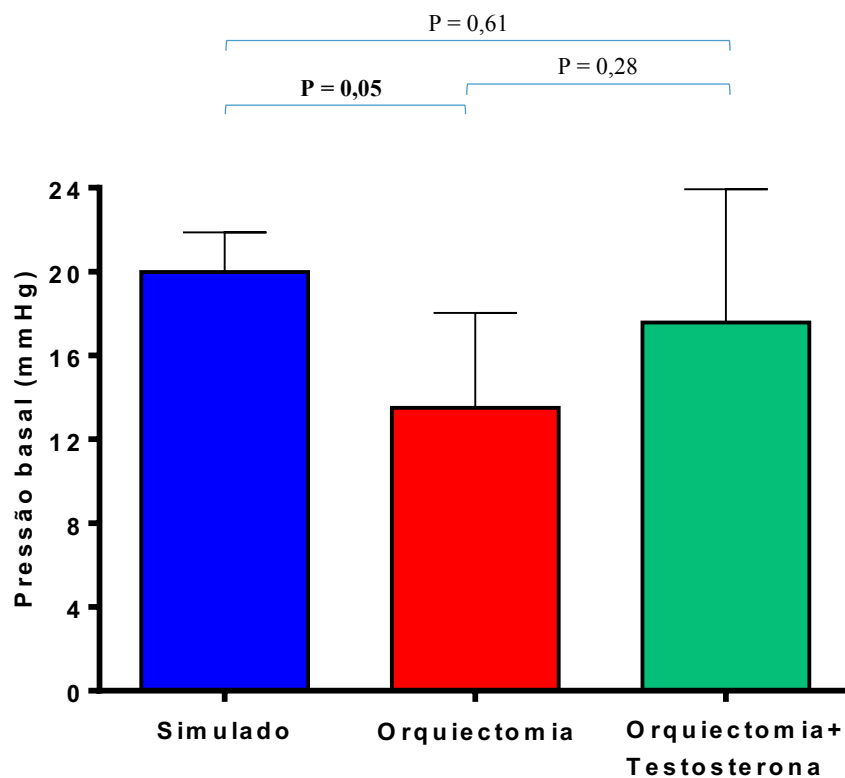


**Figura 3** – Número de contrações não miccionais. Constatou-se que o número de contrações não miccionais verificado no grupo Orquiectomia+Testosterona foi significativamente maior que o observado nos grupos Simulado ( $***P < 0,01$ ) e Orquiectomia ( $+++P < 0,01$ ). +++ refere-se ao maior NVC no grupo Orquiectomia + Testosterona em relação grupo Orquiectomia. \*\*\* refere-se ao maior NVC no grupo Orquiectomia + Testosterona em relação ao grupo Sham



## 4.2 Pressão Basal

Observando a figura 4, constata-se que o grupo da Orquiectomia ( $13,50 \pm 4,53$ ) obteve média de Pressão Basal (PB) inferior ( $P = 0,05$ ) ao grupo Sham ( $19,99 \pm 1,88$ ), ao passo que o grupo Orquiectomia + Testosterona ( $17,58 \pm 6,36$ ) manteve a PB semelhante ao grupo controle ( $P = 0,61$ ). Houve diferença significativa entre os três grupos no limite da margem considerada de  $P(\text{ANOVA}: F = 3,3713; P = 0,05)$ .

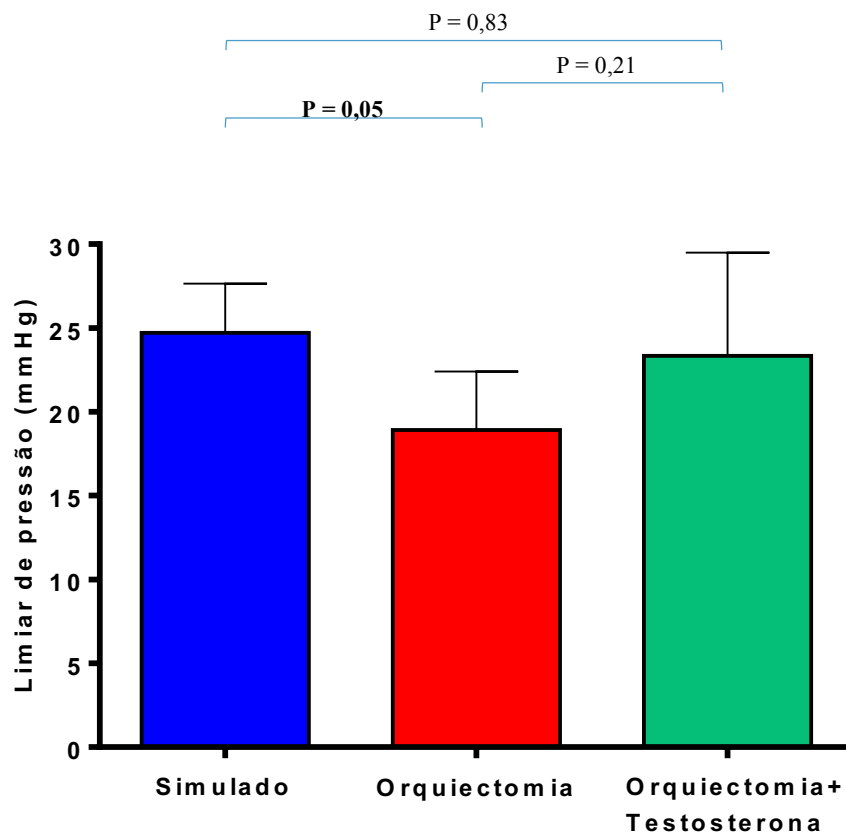


**Figura 4** – Pressão basal, em mmHg, verificada nos grupos Simulado, Orquiectomia e Orquiectomia+Testosterona. Verifica-se uma menor PB no grupo Orquiectomia em relação aos grupos Sham e Orquiectomia + Testosterona, diferença significativa (\* $P = 0,05$ ).

\*refere-se a menor pressão basal no grupo Orquiectomia comparado ao grupo Sham e Orquiectomia + Testosterona

### 4.3 Limiar de Pressão

De acordo com a figura 5, verifica-se que o grupo Orquiectomia ( $18,91 \pm 3,49$ ) obteve média de Limiar de Pressão (LP) inferiores ( $P = 0,05$ ) ao grupo Sham ( $24,71 \pm 2,93$ ), enquanto grupo Orquiectomia + Testosterona ( $23,34 \pm 6,15$ ) manteve o LP quando comparado ao grupo controle ( $P = 0,83$ ). Houve diferença significativa entre os três grupos no limite da margem considerada de  $P$  (ANOVA:  $F = 3,0628$ ;  $P = 0,05$ ).

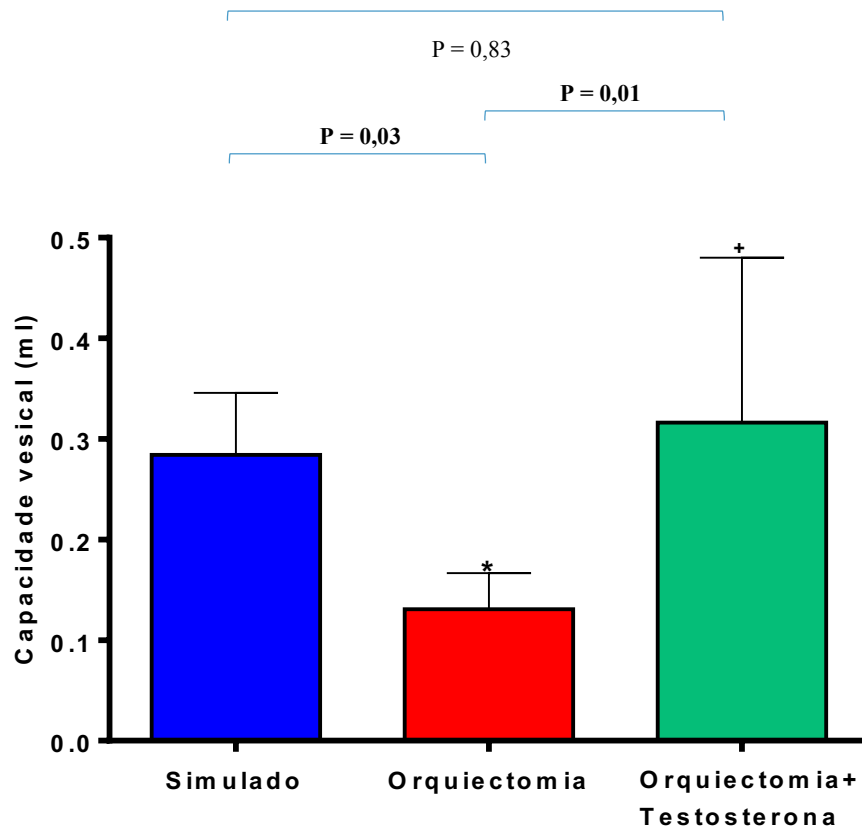


**Figura 5** – Limiar de pressão, em mmHg, verificado nos grupos Simulado, Orquiectomia e Orquiectomia+Testosterona. Verifica-se menor limiar de pressão no grupo Orquiectomia comparado ao grupo Sham e Orquiectomia + Testosterona, significativa (\* $P = 0,05$ ).

\*refere-se a um menor limiar de pressão verificado no grupo Orquiectomia comparado aos grupos Sham e Orquiectomia + Testosterona.

#### 4.4 Capacidade Vesical

Conforme apresentado na figura 6, verifica-se que a Capacidade Vesical (CV) verificada no grupo Orquiectomia ( $0,13 \pm 0,04$ ) foi significativamente menor ( $P = 0,03$ ) que a observado no grupo Simulado ( $0,28 \pm 0,06$ ). Ademais, a CV mensurada no grupo Orquiectomia+Testosterona ( $0,32 \pm 0,16$ ) foi significativamente maior ( $P=0,01$ ) que a observada no grupo Orquiectomia.



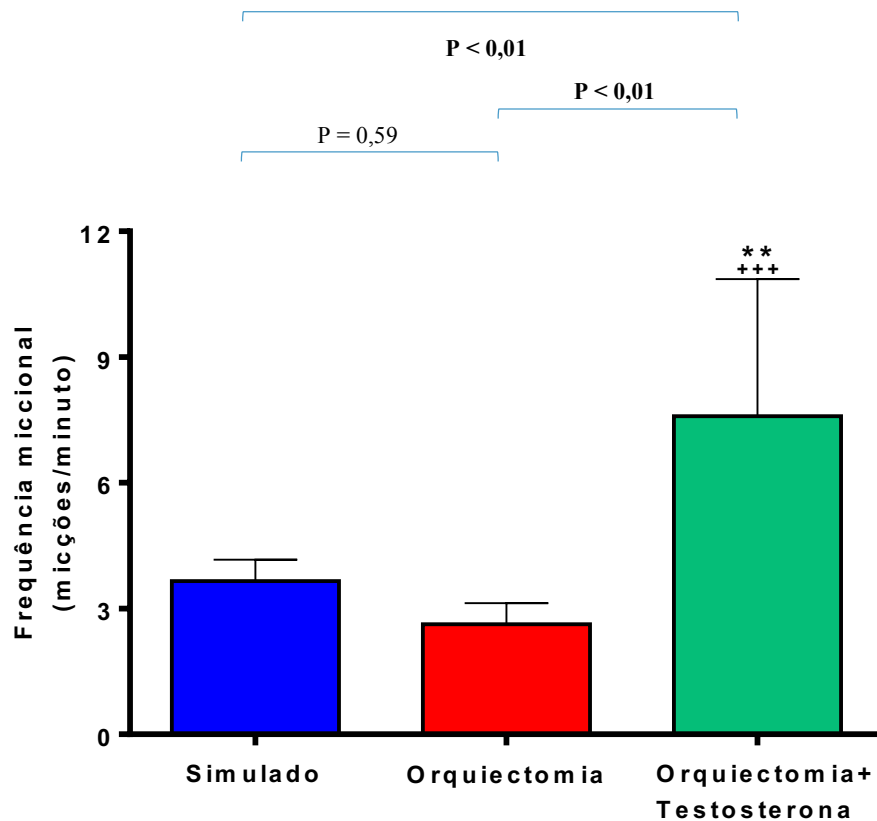
**Figura 6**– Capacidade vesical verificada nos grupos Simulado, Orquiectomia e Orquiectomia+Testosterona. A capacidade vesical verificada no grupo Orquiectomia foi significativamente menor (\* $P=0,03$ ) que a observada no grupo Simulado. A capacidade vesical mensurada no grupo Orquiectomia+Testosterona foi significativamente maior (+ $P=0,01$ ) que a verificada no grupo Orquiectomia.

\*refere-se a menor CV do grupo Orquiectomia em relação ao grupo Sham

+refere-se a uma maior CV do grupo Orquiectomia + Testosterona em relação ao grupo Orquiectomia

#### 4.5 Frequência de Micção

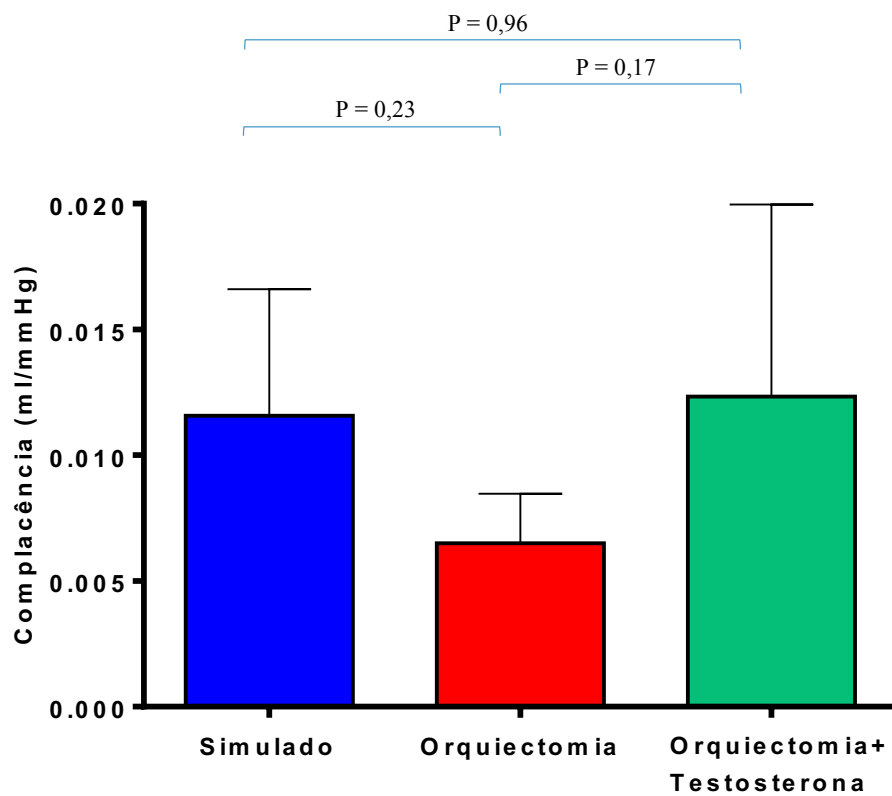
De acordo com a figura 7, observa-se que a Frequência de Micção observada no grupo Orquiectomia + Testosterona ( $7,59 \pm 3,26$ ) foi significativamente maior que a observada nos grupos Sham ( $3,65 \pm 0,51$ ) (\*\* $P < 0,01$ ) e Orquiectomia ( $2,63 \pm 0,50$ ) ( $P < 0,01$ ). O Grupo Orquiectomia apresentou resultado de FM inferior ao grupo controle, porém sem significância estatística ( $P = 0,59$ ).



**Figura 7** – Frequência miccional verificada nos grupos Simulado, Orquiectomia e Orquiectomia+Testosterona. A frequência miccional verificada no grupo Orquiectomia+Testosterona foi significativamente maior que a observada nos grupos Simulado (\*\* $P < 0,01$ ) e Orquiectomia (\*\*\* $P < 0,01$ ).

#### 4.6 Complacência

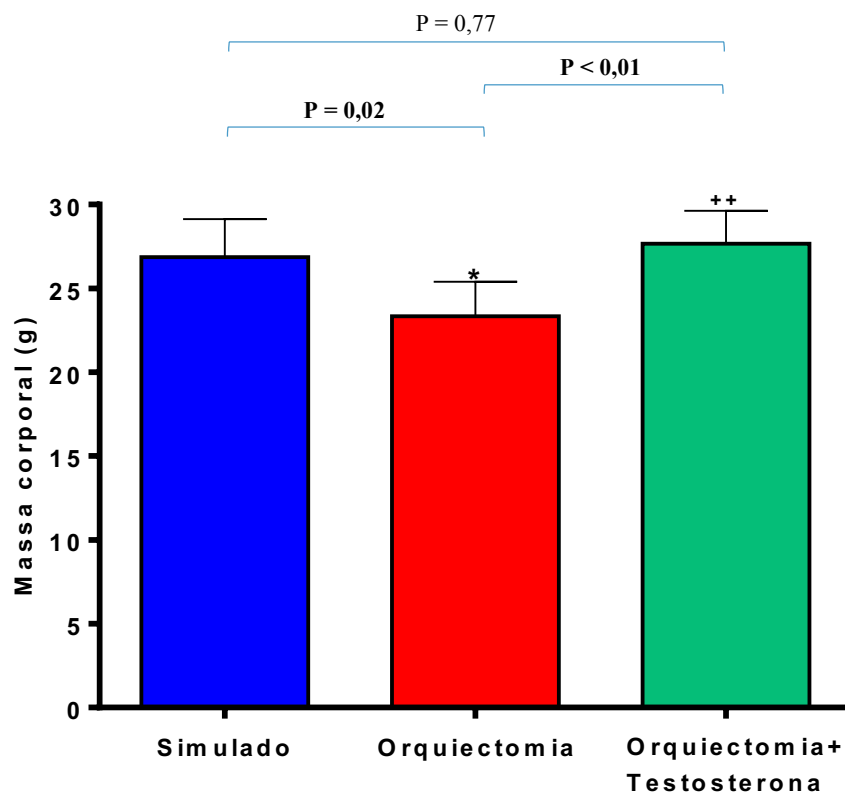
De acordo com a figura 8, a complacência vesical verificada no grupo Orquictomia ( $0,007 \pm 0,002$ ) foi menor em relação aos grupos Sham ( $0,012 \pm 0,005$ ) e Orquictomia + Testosterona ( $0,012 \pm 0,008$ ), porém o resultado não foi significativo ( $P = 0,15$ ).



**Figura 8** – Complacência vesical. Não foram constatadas diferenças significantes entre os três grupos de tratamento (ANOVA:  $F = 2,1206$ ;  $P = 0,1524$ ).

#### 4.7 Massa Corporal

Observando a figura 7, pode-se constatar que a massa corporal referente aos animais do grupo Orquiectomia ( $23,33 \pm 2,07$  g) foi significativamente menor ( $*P=0,02$ ) que a relativa ao grupo Simulado ( $26,86 \pm 2,27$  g). Ademais, a massa corporal mensurada nos animais do grupo Orquiectomia+Testosterona ( $27,67 \pm 1,97$  g) foi significativamente maior ( $++P < 0,01$ ) que a verificada no grupo Orquiectomia ( $23,33 \pm 2,07$  g).



**Figura 9** – Massa corporal, em gramas, mensurada nos grupos Simulado, Orquiectomia e Orquiectomia+Testosterona no final do estudo. A massa corporal referente aos animais do grupo Orquiectomia foi significativamente menor ( $*P=0,02$ ) que a relativa ao grupo Simulado. A massa corporal mensurada nos animais do grupo Orquiectomia+Testosterona foi significativamente maior ( $++P < 0,01$ ) que a verificada no grupo Orquiectomia.

## 5. DISCUSSÃO

Ratos orquiectomizados têm sido utilizados como modelo de hipogonadismo ajudando a entender a deficiência de testosterona e seus efeitos em humanos (ERBEN et al, 2000; GUNNES et al, 1995). Entretanto, DAEM é uma condição caracterizada pela combinação de hipogonadismo central e periférico, enquanto a castração cirúrgica é um modelo puro de hipogonadismo primário (hipergonadotrófico) e pode não representar um modelo apropriado de DAEM em humanos. No presente estudo, foi realizada orquiectomia bilateral e em seguida foi avaliado o efeito da administração exógena de testosterona na função vesical, bem como os efeitos da castração na dinâmica detrusora em camundongos Black C57BL06.

O maior obstáculo para o tratamento com testosterona em animais experimentais é a dificuldade de manutenção de níveis fisiológicos/anabólicos estáveis por longo prazo após a administração exógena de testosterona. CALLIES et al (2003) em dois estudos complementares, investigaram as propriedades farmacocinéticas de diferentes formulações de testosterona em ratos machos. No primeiro estudo, ratos Wistar machos (>380g, n = 4-7/grupo) foram divididos em 4 grupos: (1) Sham não orquiectomizados e placebo; (2) orquiectomizados e testosterona s.c (15, 25 e 75 mg/ 60 dias) ou placebo; (3) orquiectomia e injeção simples de undecanoato de testosterona s.c (31, 62.5, 125 mg ou veículo); (4) orquiectomia e proprionato de testosterona (10, 20, 40 mg/mês) s.c ou veículos s.c. Testosterona foi medida semanalmente durante 4 semanas. No segundo estudo, ratos machos Wistar (180 -200g) foram randomizados para 5 grupos experimentais (n = 5-6/ grupo): (1) grupo não tratado – controle; (2) orquiectomizados não tratados; (3) orquiectomizados recebendo 250 mg/ Kg de undecanoato de testosterona intramuscular (I.M); (4) orquiectomizados recebendo uma dose de 500 mg/Kg IM; (5) orquiectomizados recebendo uma dose de 100 mg/Kg s.c de undecanoato de testosterona. Nível sérico de testosterona foi medido semanalmente durante 6 semanas. Os autores concluíram, nesse estudo, que o undecanoato de testosterona apresentou níveis séricos mais estáveis e duradouros ao final das 6 semanas, ao passo que, o proprionato de testosterona apresentava picos séricos precoces e curto período níveis séricos fisiológicos detectáveis, com baixos níveis séricos após 14 dias. A dose ideal que mantém níveis séricos estáveis e normais ao final de 4 semanas é de 100 mg/Kg, segundo os autores.

Muitos estudos clínicos e experimentais focam em abordar função erétil e deficiência de testosterona. Porém, no presente estudo, esta não foi mensurada, tendo em vista que o ponto principal do estudo foi investigar o efeito da terapia de reposição com testosterona na função vesical. A deprivação androgênica pode inibir a diferenciação de células precursoras em músculo liso detrusor. No presente estudo, foi verificado que a capacidade vesical (volume) diminuiu após orquiectomia, sendo reestabelecido após a administração exógena de testosterona, o que pode ser constatado quando se compara a capacidade do grupo Sham (0,285ml) e do grupo em que foi

resposto testosterona (0,316ml) com a capacidade do grupo orquiectomizado (0,130ml). LIN et al (2007) concluíram que tanto a testosterona quanto estrógeno tem importância na resposta a contração vesical. MADEIRO et al (2002) estudaram a associação de andrógeno / estrógeno na bexiga e uretra de ratas fêmeas castradas e após 28 dias de medicação os animais foram mortos e avaliados em relação a histologia vesical. Verificou-se, nesse estudo, que a bexiga de ratas recebendo andrógeno / estrógeno apresentavam alto número de vasos sanguíneos, maior espessura epitelial e maior quantidade de fibras musculares que as ratas que receberam estrogênio conjugado isolado. Através da ativação de receptores androgênicos (RA), os androgênios podem estimular células precursoras estromais a se diferenciar em células de músculo liso, além de regular o crescimento e diferenciação de células vasculares para musculatura (TRAISH et al, 2007). TEK et al (2010) reportaram aumento tanto na capacidade vesical de ratos castrados tratados com testosterona em relação ao grupo controle, como também aumento na complacência vesical, não havendo diferença estatística na última comparação. Outro estudo realizado em coelhos orquiectomizados mostrou que após injeção de testosterona, tanto a capacidade como a complacência vesical aumentaram com a elevação do nível sérico do hormônio (CELAYIR, 2003). Esses estudos animais descritos sugerem que pode ocorrer disfunção miccional secundária a deficiência androgênica e que a reposição melhora a função vesical em virtude do aumento tecidual da musculatura detrusora (células e vasos) e aumento do colágeno vesical.

Opiniões contrárias entre os estudos são observadas quando se avalia se a testosterona é causa de obstrução com ou sem instabilidade detrusora (hiperatividade). MAGGI et al (1989) trataram ratos adultos com testosterona diária injetável e estudaram medidas cistométricas. Verificaram que o tratamento com testosterona aumenta o peso da próstata, causando obstrução ao fluxo com aumento do volume residual e instabilidade detrusora. Pouca mudança foi vista na capacidade vesical. Em outro estudo, foi reportado que o tratamento com testosterona por 2 semana aumentou o peso prostático, pressão de micção, capacidade vesical, volume residual e volume de micção (PANDITA et al, 1998), porém, após isolamento da uretra, detrusor e próstata in vitro, não houveram mudanças na responsividade das respectivas musculaturas lisas. No presente estudo, não foi medido peso da próstata e bexiga dos animais, o que poderia precisar melhor o ganho em capacidade observado nos grupos Sham e que receberam administração exógena de testosterona. No entanto, quando se observa o peso dos animais verifica-se que o grupo castrado apresenta menor peso em relação ao grupo Sham e ao grupo da administração exógena da testosterona.

No presente estudo, observou-se que no grupo de animais castrados houve uma redução na frequência miccional em relação ao grupo Sham e um aumento no grupo da administração exógena de testosterona quando se comparou aos grupos Sham e orquiectomizados. A via NO/GMPc pode estar relacionada à contratilidade detrusora e também ao relaxamento uretral. Estudos demonstram que o óxido nítrico (NO) age como neurotransmissor com atividade inibitória



Não adrenérgica / Não colinérgica (NANC), sendo responsável pelo relaxamento vesical na fase de enchimento e pelo relaxamento uretral na fase de esvaziamento (ANDERSON et al, 2004). A hipótese principal é o efeito do hipogonadismo esteja relacionado com a modulação na via NO/GMPc por redução na expressão da fosfodiesterase, resultando em acúmulo de GMPc e consequente relaxamento do músculo liso detrusor, redução na atividade detrusora e relaxamento do colo vesical, demonstrado pela redução da pressão basal e do limiar de pressão. LUGG et al (1995), em estudo prévio sugeriram que esta ação se daria a nível de síntese de NO. FILLIPI et al (2007) demonstraram haver uma redução na expressão gênica de fosfodiesterase no trato urogenital de ratos castrados e que a reposição normalizou a expressão da mesma, corroborando a hipótese de que orquiectomia potencializa a via NO/GMPc por redução na atividade de enzima.

O impacto no LUTS provocado pela supressão de testosterona tem sido classicamente atribuído à redução no volume prostático e consequente diminuição da resistência uretral. Porém, KEAST JR (2000) sugeriu que o hipogonadismo poderia melhorar os circuitos neurais envolvidos no controle do armazenamento de urina. Outros estudos avaliam o impacto da administração de inibidores da fosfodiesterase tipo 5 (IPDE-5) no trato urinário inferior. REGES et al (2013) avaliaram o efeito da administração aguda de sildenafil em ratos com hiperatividade detrusora induzida pela deficiência crônica de NO, e observou significativa diminuição da frequência miccional comparado aos animais com níveis normais de NO. REGADAS et al (2012) associaram o uso de tansulosina à tadalafila observando melhora dos parâmetros cistométricos de ratos em modelo utilizando L-NAME, uma droga que promove hiperatividade detrusora por redução do NO. CARVALHO et al (2015), também utilizando modelos com L-NAME em camundongos castrados, mostraram que a administração de tadalafila (IPDE-5) não alterou significativamente os parâmetros urodinâmicos comparados ao grupo apenas orquiectomizados, sugerindo que a redução da expressão da PDE em animais castrados limita os possíveis efeitos dos seus inibidores.

A isquemia parece ter um importante papel na hipertrofia detrusora. Modelos de obstrução infra-vesical associam-se a redução do fluxo sanguíneo vesical, estando a prevenção da isquemia associada a diminuição da hipertrofia e melhora da contratilidade detrusora (NOMIYA et al, 2013). A elevação dos níveis de GMPc decorrentes de uma menor expressão da fosfodiesterase provocada, nesse estudo, pela orquiectomia ocasiona vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo vesical, melhorando, por consequência, o relaxamento medido através de uma menor pressão basal e menor limiar de pressão. Existe um aumento da atividade p-Kinase, com componente da atividade de cálcio no maquinário contrátil do músculo liso detrusor após tratamento com testosterona. Isso pode ser explicado porque a testosterona alivia isquemia pélvica por aumentar a expressão e atividade da enzima óxido nítrico sintetase (MCVARY et al, 2006). MUTO et al (2008) mostraram que em camundongos nocaute para nNOS há aumento da frequência urinária, e que os androgênios aumentava a expressão endotelial da NOS nesses

animais, sugerindo que a testosterona tem potenciais efeitos terapêuticos efetivos na hiperatividade detrusora.

Há controvérsias quando se correlaciona testosterona e LUTS. A presença do andrógeno é necessária para que haja desenvolvimento de HPB, o que teria como consequência piora do LUTS na vigência da reposição da testosterona. No entanto, alguns estudos demonstram haver melhora dos parâmetros urodinâmicos e LUTS em animais submetidos a reposição de testosterona. CELAYIR et al (2013) demonstraram que coelhos em machos submetidos à orquiectomia, a administração exógena de testosterona aumentou significativamente a frequência miccional, pressão basal e limiar de pressão. CARVALHO et al (2015) mostraram que a administração exógena de testosterona, em camundongos castrados em uso de tadalafila, aumentou a frequência miccional, pressão basal e limiar de pressão, sugerindo poder haver uma via alternativa dependente de androgênio envolvida na contração e relaxamento muscular. A FM elevada no grupo da administração exógena de testosterona, quando se compara ao grupo Sham (níveis normais de testosterona), sugere que a expressão de PDE esteja diretamente relacionada ao nível de androgênio circulante. Possivelmente a dose da administração exógena pode ter alcançado níveis suprafisiológicos, ativando uma maior quantidade de PDE e uma maior concentração de GMPc comparada ao grupo Sham.

SAAD et al (2018) em estudo prospectivo randomizado avaliando 805 pacientes hipogonádicos estratificados em LUTS leve e moderado-grave e em grupo controle (não receberam TTh) e grupo TTh que receberam undecanoato de testosterona. Foram avaliados quanto a função urinária, parâmetros antropométricos e metabólicos duas vezes ao ano. Dados de 615 homens com LUTS leve (253 tratados; 362 não-tratados) e 190 com LUTS moderado-grave (159 tratados; 31 não-tratados) foram avaliados. Durante seguimento de 8 anos houve significante melhora do LUTS em todos pacientes TTh, enquanto os pacientes controle mostraram piora LUTS ou flutuação ao redor dos valores iniciais. Mesmo em homens com idade avançada, TTh preveniu piora dos sintomas. Houve melhora no grupo TTh dos parâmetros antropométricos, lipídios, controle glicêmico, pressão arterial, proteína C reativa e qualidade de vida. LUTS moderado-grave foram associados com parâmetros cardiometabólicos piores bem como piores resultados cardiovasculares ao longo de seguimento, comparados ao LUTS leve. Os efeitos da TTh foram maiores em LUTS moderado-grave em detrimento dos pacientes com LUTS leve. O presente estudo também mostrou melhora nos parâmetros cistométricos relativos a motricidade vesical corroborando a hipótese de que a testosterona age positivamente na função vesical melhorando a pressão basal e limiar de pressão, além de melhorar a capacidade vesical nos camundongos castrados que receberam testosterona após castração.

Uma limitação a estudos que envolvem sacrifício, por motivos éticos, é o numero limitado de animais a serem utilizados, devendo ser utilizada uma quantidade mínima para se chegar a uma avaliação estatística confiável, o que pode ter dificultado que algumas análises se

tornassem significantes. Outra limitação se faz relativa ao peso do animal, considerando ser de pequeno porte, há conseqüentemente uma bexiga pequena com baixa capacidade o que dificultou a punção vesical sem transfixação e a manutenção do scalp intravesical durante toda cistometria.

Como ponto positivo, deve-se observar que camundongos Black C57BL6 apresentam curvas de cistometria estáveis à análise durante toda observação, o que facilitou toda cistometria, manteve estável os parâmetros analisados e possibilitou as diferenças estatísticas esperadas entre os grupos.

## **6. CONCLUSÃO**

A castração cirúrgica em camundongos Black C57BL6 foi capaz de reduzir os parâmetros cistométricos de NVC, Pressão Basal, Limiar de Pressão, volume e frequência de micção comparados a camundongos eugonádicos. A administração exógena de testosterona é capaz de impedir o desenvolvimento de alterações urodinâmicas em camundongos orquiectomizados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS P, CARDOSO L, FALL M, et al. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of international society. **Neurourol Urodyn**, 2002; 21(2):167-78
- ANDERSSON KE, ARNER A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. **Physio Rev**, 84 (2004), pp 935-986.
- ANDERSSON KE, PERSSON K. Nitric oxid synthase and the lower urinary tract: possible implications physiology and pathophysiology. **Scan J Urol Nephrol Suppl**. 1995; 175: 53-53.
- ANDERSSON KE, SOLER R, FULLHASE C. Rodent models for Urodynamic Investigation. **Neurourol Urodyn** 2011;30:636-646.
- ARAUJO AB, ESCHE GR, KUPELIAN V et al. Prevalence of symptomatic androgen deficiency in men. **J Clin Endocrinol Metab**, 92 (2007), pp. 4241-4247.
- BASSIL N, et al. The benefits na risk of testosterone replacement therapy: a review. **Clin Geriatr Med**. 2010; 26: 197-222.
- BHASIN S, TENOVER JS. Age-associated sarcopenia tissue in use of testosterone as na anabolic agent in old men. **J Clin Endo Metab** 1997;82:1659-60.
- BIRDER LA, NEALEN ML, KISS S, de GROAT WC, CATERINA MJ, WANG E, et al. Beta-adrenoceptor agonists stimulate endothelial nitric oxide synthase in rat urinary bladder urothelial cells. **J Neurosci Off J Soc Neurosci**. 2002 Sep 15;22(18):8063–70.
- BRAVERMAN AS, DOUMANIAN LR, RUGGIERI MR. M2 and M3 muscarinic receptor activation of urinary bladder contractile signal transduction. II. Denervated rat bladder. **J Pharmacol Exp Ther**. 2006 Feb;316(2):875–80.
- BURNSTOCK G. Purinergic signalling in the urinary tract in health and disease. **Purinergic Signal**. 2014 Mar;10(1):103–55.
- CANDA AE, CINAR MG, TURNA B, SAHIN MO. Pharmacologic targets on the female urethra. **Urol Int**. 2008;80(4):341–54.
- CALLIES F, KOLLENKIRCHEN U, VON ZUR MUHLEN C, et al. Testosterone undecanoato: a useful tool for testosterone administration in rats. **Exp Clin Endocrinol Diabetes** 2003;111:203-208.
- CARVALHO, RF. **Efeitos cistométricos da castração hormonal e administração diária de tadalafila em camundongos com hiperatividade detrusora induzida pela deficiência crônica de óxido nítrico**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Médico- Cirúrgicas). Departamento de Cirurgia – Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2015.
- CELAYIR S. Effects of different sex hormones on male rabbit urodynamics: an experimental study. **Horm Res**. 2003;60:215-220.

CHAVALMANE AK, COMEGLIO P, MORELLI A, et al. Sex steroid receptors in male human bladder: expression and biological function. **J Sex Med** 2010;7:2698-713.

COHEN PG. Obesity in men: The hypogonadal – strogen receptor relationship and its effect on glucose homeostasis. **Med Hypotheses**. 2008; 70: 358-60.

de GROAT WC. The urothelium in overactive bladder: passive bystander or active participant? **Urology**. 2004 Dec;64(6 Suppl 1):7–11.

DOKITA S, SMITH SD, NISHIMOTO T, WHEELER MA AND WEISS RM. Involvement of nitric oxide and cyclic GMP in rabbit urethral relaxation. **Eur J Pharmacol**. 1994; 266: 269-275.

EHREN I, ADOLFSSON J, AND WIKLUND NP. Nitric oxid synthase activity in human urogenital tract. **Urol Res**. 1994; 22: 287-290.

ERBEN RG, ERBERLE J, STAHR K, et al. Androgen deficiency induces high turnover osteopenia in aged male rats: a sequential histomorphometric study. **J Bone Miner Res**. 2000;6:1085-1098.

FILIPPI S, MORELLI A, SANDNER P, et al. Characterization na functional role of andogen-dependente PDE5 activity in bladder. **Endocrinology**. 2007; 148: 1019-1029

FLECKNELL PA. Refinement of animal use – assesment and alleviation of pain and distress. **Laboratory Animals**. 1994;28:222-231

GILLESPIE J, MARKERINK M, VENDE J. cGMP-generating cells in the bladder Wall: identification of distinct networks of interstitial cells. **BJU Int**. 2004; 94: 1114-1124.

GUNNES M, ORWOLL E. Early induction of alterations in cancellous and cortical bone histology after orchietomy in mature rats. **J Bone Miner Res**. 1995;11:1735-1744.

HALL LW, CLARKE KW. **Veterinary anaesthesia**. 9ed. London: Balliere Tindall, 1991. P-410.

HARMAN SM, METTER EJ, TOBIN JD, PEARSON J, BLACKMAN MR. Longitudinal effects of serum total testosterone levels in Healthy men. **The Journal of Endocrinology and Metabolism**. 2001, 86, 724-731.

KEAST JR. Effects of testosterone on pelvic autonomic pathways: progresso and pitfalls. **J Auton Nerv Syst**. 2000;79:67-73

KIM JW, OH MM, YOON CY et al. Nocturnal polyuria and decreased serum testosterone: Is there na association with lower urinary tract symptoms? **Int J Urol**. 2014; 21: 518-23.

LABRIE F. All sex steroids are made intracellularly in peripheral tissues by the mecanisms of intracrinology after menopause. **J Steroid Biochem Mol Biol**. 2015;154:133-8.

LIN WY, REHFUSST A, WHITBECK C, et al. Effect of letrozole on urinary bladder fuction in female rabbit. **BJU Int**. 2017;100:1391-1395.

- LUGG JA, RAJFER J, GONZALES-CADAVID NF. Dihydrotestosterone is the active androgen in the maintenance of nitric oxide mediated penile erection in the rat. **Endocrinology**. 1995;136:1495-501.
- MADEIRO A, GIRAO M, SARTORI M, et al. Effects of the association of androgen/estrogen on the bladder and urethra of castrated rats. **Clin Exp Obstet Gynecol**. 2002;29:117-120.
- MAGGI CA, MANZINI S, GIULIANI S, et al. Infravesical outflow obstruction in rats: a comparison of two models. **Gen Pharmacol**. 1989;20:345-349.
- MCVARY K. Lower urinary tract symptoms and sexual dysfunction: epidemiology and pathophysiology. **BJU Int**. 2006;97:23-28.
- MICHEL MC, VRYDAG W.  $\alpha$ 1-,  $\alpha$ 2- and  $\beta$ -adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate. **Br J Pharmacol**. 2006 Feb;147(Suppl 2):S88-119.
- MILLER WI, AUCHUS RJ. The molecular biology, biochemistry and physiology of human steroidogenesis and its disorders. **Endocr Rev**. 2011; 32: 81-151.
- MONCADA S, PALMER RMJ AND HIGGS EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol Rev**. 1991; 43: 109-42.
- MORELLI A, FILIPPI S, MANCINA R, et al. Androgen regulate phosphodiesterase type 5 expression and functional activity in corpora cavernosa. **Endocrinology**. 2004; 145: 2253-2263.
- MUTO S, YASUDA M, KAMIYAMA Y, et al. Testosterone decreased urinary frequency in nNOS deficient mice. **Int J Androl**. 2008;1:67-70.
- NOMIYA M, BURMEISTER DM, SAWADA N, et al. Prophylactic effects of tadalafil on bladder function in rat model of chronic bladder ischemia. **J Urol** 2013;189:754-756.
- REGADAS RP. **Efeitos da associação da tadalafila no trato urinário inferior de ratos e humanos**. 2012. Tese (Doutorado em Ciências Médico- Cirúrgicas). Departamento de cirurgia – Faculdade de Medicina. 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** 2013;39:268-75.
- ROEHRBORN CG, KAMINETSKY JC, AUERBACH SM, et al. Changes in peak urinary flow and voiding efficiency in men with symptoms of benign prostatic hyperplasia during once daily tadalafil treatment. **BJU int**. 2010; 105: 502-7.
- O'CONNOR LT JR, VAUGHAN ED JR, FELSEN D. In vivo cystometric evaluation of progressive bladder outlet obstruction in rats. **J Urol**. 1997; 158: 631-5.
- PATEL AK, CHAPPLE CR. Anatomy of the lower urinary tract. **Surgery**, 2008;26:4.

PANDITA RK, PERSSON K, HEDLUND P, et al. Testosterone induced prostatic growth in the rat cause bladder overactivity unrelated to detrusor hypertrophy. **Prostate**. 1998;35:102-108

PRADIDARCHEEP W, et al. Lower urinary tract symptoms and its potential relation with late-onset hypogonadism. **Aging Male**. 2008; 11: 51-55.

SAAD F, DOROS G, HAIDER KS and HAIDER A. Hypogonadal men with moderate-to-severe lower urinary tract symptoms have a more severe cardiometabolic risk profile and benefit more from testosterone therapy than man with mild lower urinary tract symptoms. **Investig Clin Urol** 2018;59:399-409.

SEGUCHI H, NISHIMURA J, ZHOU Y, NIRO N, KUMAZAWA J, KANAIDE H. Expression of beta3-adrenoceptors in rat detrusor smooth muscle. **J Urol**. 1998 Jun;159(6):2197–201.

SCHALTZL G, MADESBACHER S, TEMML C, et al. Serum androgen levels in men: impact of health status and age. **Urology**, 61 (2003), pp 629-633.

SHIGEHARA K, NAMIKI M. Late-onset hypogonadism syndrome and lower urinary tract symptoms. **Korean J Urol** 2011;52:657- 63.

SIGALA S, MIRABELLA G, PERONI A, PEZZOTTI G, SIMEONE C, SPANO P, et al. Differential gene expression of cholinergic muscarinic receptor subtypes in male and female normal human urinary bladder. **Urology**. 2002 Oct;60(4):719–25.

TANAKA Y, HORINOUCHE T, KOYKE K. New insights into beta-adrenoceptors in smooth muscle: distribution of receptor subtypes and molecular mechanisms triggering muscle relaxation. **Clin Exp Pharmacol Physiol**. 2005 Jul;32(7):503–14.

TEK M, BALLI E, ÇIMEN B, EFESOY O, OGUZ I, ÇAYAN S. The effect of testosterone replacement therapy on bladder functions and histology in orchietomized mature male rats. **Urology**. 2010;75:886-890.

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

UCKERT S, KUTHE A, JONAS U, et al. Characterization and functional relevance of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes of the human prostate. **J Urol** 2001; 166: 2484-90.

VALENTINA CONTRÒ, BASILE JR, PROIA P. Sex steroid hormone receptors, their ligands and nuclear and nonnuclear pathways. **AIMS Mol Sci** 2015; 2:294-314.

VERMEULEN A, KAUFMAN JM, GOEMAERE S, et al. Estradiol in elderly men. **Aging Male** 2002;5: 98-102.

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



WILT TJ, MACDONALD R, RUTKS I, et al. Systematic review: Comparative effectiveness and harms of treatment for clinically localized prostate cancer. **Ann Intern Med** 2008;148:435-48.

YASSIN AA, SAAD F. Treatment of sexual dysfunction of hypogonadal patients with long acting testosterone undecanoate (Nebido). **World J Urol**. 2006;24:639:644.

ZHAG XH, FILIPPI S, MORELLI A, et al. Testosterone regulates PDE5 expression and in vivo responsiveness to tadalafil in rat corpus cavernosum. **Eur Urol**, 2005; 47: 409-16

ZIMMERMAN Y, EIJKEMANS MJ, COELINGH BENNINK HJ, et al. The effect of oral combine contraceptive on testosterone levels in healthy woman: a systematic review and meta-analysis. **Hum Reprod Update**. 2014; 20: 76-105.

## ANEXO A: CERTIFICADO DA COMISSÃO DE USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Alterações urodinâmicas e ortomoleculares não genômicas na via RAS/MEK/ERK em camundongos castrados e suas repercussões após reposição hormonal com testosterona", protocolada sob o CEUA nº 8558280318 (0000302), sob a responsabilidade de **Ricardo Reges Maia de Oliveira e equipe; Thiago Luís da Paz Santos** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 08/08/2018.

We certify that the proposal "Urodynamic and non genomic ortomolecular change on RAS/MEK/ERK way in castrated mice and your repercussion after testosterone replacement.", utilizing 24 Isogenics mice (24 males), protocol number CEUA 8558280318 (0000302), under the responsibility of **Ricardo Reges Maia de Oliveira and team; Thiago Luís da Paz Santos** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 08/08/2018.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [08/2018](#) a [11/2018](#)

Área: [Departamento de Cirurgia](#)

Origem: [Biotérios externos](#)

Espécie: [Camundongos isogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [6 a 8 semanas](#)

N: [24](#)

Linhagem: [Black C57BL6](#)

Peso: [25 a 30 g](#)

Local do experimento: Departamento de cirurgia experimental UFC Biotério da Universidade Federal do Ceará- campus Porangabuçu. Rua Alexandre Baraúna, 994 - Rodolfo Teófilo CEP 60430-160 Fortaleza-CE

Fortaleza, 20 de novembro de 2018

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dra. Virginia Cláudia Carneiro Girão  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará