



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FACULDADE DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTU SENSU* EM CIRURGIA

SAMUEL LUZ MORENO

**ANÁLISE DO EFEITO DE INIBIDORES DE FOSFODIESTERASE DO TIPO 5
EM PARÂMETROS URODINÂMICOS DE CAMUNDONGOS UTILIZANDO
MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERATIVIDADE DETRUSORA.**

FORTALEZA

2014

SAMUEL LUZ MORENO

ANÁLISE DO EFEITO DE INIBIDORES DE FOSFODIESTERASE DO TIPO 5 EM
PARÂMETROS URODINÂMICOS DE CAMUNDONGOS UTILIZANDO MODELO
EXPERIMENTAL DE HIPERATIVIDADE DETRUSORA.

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.

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Flavio Gonzaga-Silva

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

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Biblioteca de Ciências da Saúde

M842a Moreno, Samuel Luz.

Análise do efeito de inibidores de fosfodiesterase do tipo 5 em parâmetros urodinâmicos de camundongos utilizando modelo experimental de hiperatividade detrusora. / Samuel Luz Moreno. – 2014.

39 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, 2014.

Área de Concentração: Cirurgia.

Orientação: Prof. Dr. Lúcio Flavio Gonzaga-Silva.

Co-Orientação: Dr. Ricardo Reges Maia Oliveira.

1. Disfunção Erétil. 2. Hiperplasia Prostática. 3. Inibidores de Fosfodiesterase. I. Título.

SAMUEL LUZ MORENO

ANÁLISE DO EFEITO DE INIBIDORES DE FOSFODIESTERASE DO TIPO 5 EM
PARÂMETROS URODINÂMICOS DE CAMUNDONGOS UTILIZANDO MODELO
EXPERIMENTAL DE HIPERATIVIDADE DETRUSORA.

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 23/04/2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rommel Prata Regadas

Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento

Prof. Dr. Lucio Flavio Gonzaga-Silva (Orientador)

A Deus, por tornar esse sonho possível.

*Ao meu pai, que em sua breve passagem pela Terra
foi sempre exemplo de retidão e perseverança.*

*A Jucyara, meu grande amor, minha luz do sol, meu
porto seguro.*

A minha mãe, eterna lutadora.

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 incansável dedicação à Pós-Graduação dessa instituição.

Ao Prof. Dr. LÚCIO FLAVIO GONZAGA-SILVA, professor do Departamento de Cirurgia e meu orientador, por acreditar em meu potencial.

Ao Prof. Dr. RICARDO REGES MAIA OLIVEIRA, professor do Departamento de Cirurgia e meu co-orientador, por todos os ensinamentos e pela força nos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO, exemplo de competência acadêmica, por todo o apoio logístico.

Ao Prof. Dr. JOÃO BATISTA GADELHA DE CERQUEIRA, professor do Departamento de Cirurgia, por toda a dedicação no período de minha Residência Médica em Urologia.

Ao Dr. FRANCISCO VAGNALDO FECHINE JAMACARU, por suas preciosas contribuições práticas para a realização dos experimentos.

Ao Dr. ROMMEL PRATA REGADAS, por todo o apoio nos momentos de discussão sobre os rumos dos experimentos.

Aos urologistas PAULO HENRIQUE DE MOURA REIS e LEOCÁCIO VENICIUS DE SOUSA BARROSO, pelos ensinamentos, pela paciência e pela amizade gerada nas salas de cirurgia do HUWC.

A MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA e MAGDA MARIA GOMES FONTENELE, secretárias da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, por sua atenção e disponibilidade.

A DANIEL SUCUPIRA e PATRICIA LOPES, por sua persistência e competência no trato com os animais.

*“Tyrion: -Possuo um entendimento realista das
minha forças e fraquezas. A mente é minha arma.
(...) e uma mente necessita de livros da mesma
forma que uma espada necessita de uma pedra de
amolar se quisermos que se mantenha afiada.”*

George R. R. Martin, A Guerra dos Tronos.

RESUMO

A disfunção erétil e os sintomas miccionais por hiperplasia prostática benigna (HPB) são duas condições com elevada prevalência no homem, principalmente nas faixas etárias mais elevadas. A partir da demonstração de mecanismos fisiopatológicos semelhantes, diversos ensaios clínicos randomizados demonstraram a melhora dos sintomas miccionais com a utilização dos inibidores da fosfodiesterase do tipo 5 (IPDE5). Nesse estudo, avaliamos parâmetros cistométricos de camundongos em modelo experimental de hiperatividade detrusora secundária a depleção crônica de NO pela administração de N^o-nitro-L-arginina metil ester hidrocrolido (L-NAME) em animais tratados com Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil. Foram utilizados 35 camundongos, divididos em 5 grupos de 6 animais e um grupo com 5 (dilúente do Tadalafil- DTAD). Todos os animais foram submetidos a tratamento pelo período de 4 semanas. Os grupos receberam água e ração padrão, sendo que um grupo não recebeu tratamento adicional (Controle). Os outros grupos receberam tratamento com L-NAME isolado, L-NAME + Sildenafil, L-NAME + Vardenafil, L-NAME + Tadalafil e L-NAME + DTAD. Após o tratamento, os animais foram anestesiados e submetidos a cistometria. Para a avaliação dos resultados, utilizamos a análise da variância. O grupo tratado com Sildenafil teve menor número de *Non-Voiding Contractions* (NVCs) ($2,16 \pm 1,60$) e menores Pressão Basal (PB) ($21,64 \pm 4,63$), Pressão de Limiar (PL) ($22,56 \pm 5,37$) e Frequência de Micção (FM) ($1,23 \pm 0,26$) comparado ao L-NAME. O grupo tratado com Vardenafil também apresentou menor número de NVCs ($2,66 \pm 2,06$) e menores PB ($21,87 \pm 5,86$) e FM ($1,24 \pm 0,30$) comparado ao L-NAME. O grupo tratado com Tadalafil apresentou menos NVCs ($3,16 \pm 1,47$) e menores PB ($20,61 \pm 5,50$), PL ($25,45 \pm 8,84$) e FM ($1,14 \pm 0,31$) em relação ao L-NAME. A solução DTAD (goma xantana e manitol), utilizada para otimizar a diluição do Tadalafil, teve como único parâmetro com diferença significativa em relação ao L-NAME a FM ($1,28 \pm 0,16$). Não houve diferença significativa entre os grupos Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil em nenhum parâmetro avaliado. Os IPDE5 foram eficazes em proteger os animais da ação deletéria vesical decorrente da depleção crônica de NO pela administração de L-NAME. Não houve superioridade de uma droga testada em relação a outra.

Palavras-Chave: HPB, Disfunção Erétil, IPDE5.

ABSTRACT

Erectile dysfunction and Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS) secondary to Benign Prostate Hyperplasia (BPH) are two conditions with high prevalence in men, especially in older age groups. After demonstration of similar pathophysiological mechanisms, several randomized controlled trials showed improvement in urinary symptoms with the use of Phosphodiesterase 5 Inhibitors (PDE5-I). We studied Cystometric parameters of mice in an experimental model of detrusor overactivity secondary to chronic depletion of NO by administration of N^o-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME) in animals treated with Sildenafil, Tadalafil and Vardenafil. Thirty-five mice were divided into 5 groups of 6 animals and one group of 5 (DTAD - Tadalafil diluent). All animals were treated for a period of 4 weeks. The groups received standard food and water, and one group received no further treatment (control). The other groups were treated with L-NAME alone, L-NAME + Sildenafil, L-NAME + Vardenafil, L-NAME + Tadalafil and L-NAME + DTAD. After treatment, the animals were anesthetized and cystometry was performed. The analysis of variance was used for evaluation of results. The group treated with sildenafil had fewer NVCs (2.16 ± 1.60) and lower BP (21.64 ± 4.63), TP (22.56 ± 5.37) and MF (1.23 ± 0.26) compared to L-NAME. The group treated with Vardenafil also showed fewer NVCs (2.66 ± 2.06) and lower BP (21.87 ± 5.86) and MF (1.24 ± 0.30) compared to L-NAME. The group treated with Tadalafil had less NVCs (3.16 ± 1.47) and lower BP (20.61 ± 5.50), TP (25.45 ± 8.84) and MF (1.14 ± 0.31) relative to the L-NAME. The DTAD solution (xanthan gum and mannitol), used to optimize the dilution of Tadalafil, had only one parameter with significant difference compared to L-NAME, the MF (1.28 ± 0.16). There was no significant difference between Sildenafil, Tadalafil and Vardenafil groups in any parameter evaluated. The PDE5-Is were effective in protecting animal bladder from deleterious effects caused by chronic depletion of NO by administration of L-NAME. There was no superiority of any drug tested against another.

Keywords : BPH , Erectile Dysfunction , PDE5-I .

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. FIGURA 1: Dois camundongos sendo submetidos a cistometria.....21
2. FIGURA 2: Cistometria do grupo Sildenafil27
3. FIGURA 3: Cistometria do grupo L-NAME.....28

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

1. Gráfico 1: Frequência de Micção.....	22
2. Gráfico 2: Pressão de Limiar.....	23
3. Gráfico 3: Pressão Basal.....	24
4. Gráfico 4: <i>Non-Voiding Contractions</i>	25
5. Gráfico 5: Limiar de Volume.....	26
6. Tabela 1: Média±DP dos parâmetros avaliados.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise da variância (do inglês <i>ANalysis Of VAriance</i>)
DE	Disfunção erétil
Dr.	Doutor
DTAD	Diluyente do tadalafil nesse estudo (goma xantana e manitol)
EUA	Estados Unidos da América
FM	Frequência de micção
GMP	Guanosina de monofosfato
GMPc	Guanosina de monofosfato cíclico
LV	Limiar de volume
LUTS	<i>Lower Urinary Tract Symptoms</i>
HPB	Hiperplasia prostática benigna
H ₂ S	Sulfeto de hidrogênio
IPSS	<i>International Prostate Score Symptoms</i>
Kg	Kilograma
KS	Kolgomorov-Smirnov
L-NAME	N ^o -nitro-L-arginina metil ester hidrocrolido
ml	Mililitro
mmHg	Milímetros de mercúrio
MTOPS	<i>Medical Therapy of Prostatic Symptoms</i>
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NO	Óxido nítrico
NVC	<i>Non Voiding Contractions</i>
PDE5	Fosfodiesterase do tipo 5
PB	Pressão basal
PL	Pressão de limiar
Prof.	Professor
Qmax	Fluxo máximo
SHR	<i>Spontaneous Hypertensive Rats</i>

SUMÁRIO

1. Introdução.....	13
2. Objetivos.....	18
3. Material e Métodos.....	19
3.1: Aspectos éticos.....	19
3.2: Animais.....	19
3.3: Metodologia experimental.....	19
3.4: Análise estatística.....	20
4. Resultados.....	22
4.1 Normalidade.....	22
4.2 Frequência de Micção.....	22
4.3 Pressão de Limiar	23
4.4 Pressão Basal	24
4.5 <i>Non Voiding Contractions</i>	25
4.6 Limiar de Volume	26
5. Discussão.....	30
6. Conclusões.....	34
Referências bibliográficas.....	35
Anexo.....	40

1. Introdução

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é o processo de hiperplasia dos tecidos estromais e glandulares que ocorrem no tecido prostático, levando ao aumento mensurável do órgão com diversas conformações anatômicas. É um processo frequente e que tem prevalência estimada acima de 80% na população masculina com mais de 80 anos de idade. HPB é um processo histológico, que pode ou não se associar ao aumento prostático, a obstrução infravesical e aos sintomas do trato urinário inferior (LUTS – do inglês *Lower Urinary Tract Symptoms*) (ROEHRBORN, 2008).

A prevalência de LUTS secundários a HPB é elevada em homens com idade de média a avançada e pode resultar em importante prejuízo a qualidade de vida (GACCI, 2012). Embora o aumento benigno de próstata possa ser responsável pelo início dos sintomas em boa parte dos homens com mais de 40 anos, outras condições podem ter igual sintomatologia, como poliúria noturna, síndrome da bexiga hiperativa e estenose de uretra. Por isso, ao tratar essa condição, o urologista deve levar em consideração todo o trato urinário inferior e não se focar apenas na próstata (OELKE *et al*, 2013).

O Escore Internacional de Sintomas Prostáticos (IPSS, do inglês *International Prostate Symptom Score*) é a ferramenta mais aceita na literatura para avaliar a severidade dos sintomas nesses pacientes. O questionário avalia a frequência de três sintomas de armazenamento (noctúria, frequência e urgência) e quatro de esvaziamento (jato fraco, hesitação, sensação de esvaziamento incompleto e intermitência), além de uma pergunta sobre qualidade de vida. Em cada item, é solicitado ao paciente que atribua uma pontuação de 0 a 5. Quando ele é utilizado, os sintomas do paciente podem ser classificados como leves (0 a 7), moderados (8-19) ou graves (20 a 35) (ABRAMS *et al*, 2009). A depender da severidade da doença, pode-se utilizar o tratamento expectante, o medicamentoso e o cirúrgico. Para o tratamento medicamentoso, diversas drogas podem ser utilizadas, como os alfa-bloqueadores, os inibidores de 5-alfa-redutase e os anticolinérgicos (OELKE *et al*, 2013).

Os alfa-bloqueadores são considerados a terapia de primeira linha para LUTS/HPB e atuam na promoção do relaxamento da musculatura lisa e próstata. Cinco drogas dessa classe são utilizadas: alfuzosin, doxazosin, silodosin, tamsulosin e terazosin. Em doses apropriadas, os alfa-bloqueadores têm eficácia semelhante, e resultam em melhora do IPSS em 30-40% e o fluxo máximo (Qmax) em 20-25%, apesar de não

interferir na história natural da doença. Seus principais efeitos adversos são hipotensão postural, tontura, astenia e ejaculação retrógrada (OELKE *et al*, 2013).

Os inibidores de 5-alfa-redutase atuam bloqueando a conversão de testosterona em dihidrotestosterona no estroma prostático ao bloquear a enzima 5- α -redutase e induzem apoptose das células epiteliais prostáticas. As drogas disponíveis são dutasterida e finasterida. Os benefícios clínicos são observados após um período mínimo de 6-12 meses de tratamento. Em pacientes com LUTS/HPB, eles resultam em melhora do IPSS em 15-30%, redução do volume prostático em 18-28% e melhora do Qmax em 1,5-2ml/s. Além disso, eles alteram a história natural da doença (OELKE *et al*, 2013). No estudo MTOPS (*Medical Therapy of Prostatic Symptoms*), observou-se que a finasterida associou-se a redução no risco de retenção urinária e necessidade de cirurgia em 68 e 64%, respectivamente (MCCONNELL *et al*, 2003). Os efeitos adversos mais importantes são relacionados a função sexual e incluem redução da libido e disfunção erétil (OELKE *et al*, 2013).

A ereção peniana é um evento neurovascular. A partir do estímulo sexual, ocorre liberação de neurotransmissores dos terminais neuronais cavernosos e substâncias vasoativas a partir de células endoteliais penianas, resultando em relaxamento das células musculares lisas das artérias e arteríolas que suprem os corpos cavernosos e possibilitando o aumento do fluxo sanguíneo para este tecido que resultará em ereção (WOOD, 2000).

O Óxido Nítrico (NO) é, provavelmente, o principal neurotransmissor envolvido no processo de ereção. A partir da liberação dos terminais nervosos não-adrenérgicos, não-colinérgicos e das células endoteliais, ele ativa a Guanilato Ciclase solúvel, o que resulta no aumento da concentração intracelular de Guanosina de Monofosfato Cíclico (GMPc). Como consequência, há queda no cálcio intracelular e relaxamento muscular. No retorno ao estado flácido, o GMPc é hidrolisado pela Fosfodiesterase do Tipo 5 (PDE5) e retorna a forma GMP (LUE, 2000).

A disfunção erétil (DE) é definida como a incapacidade de alcançar e manter ereção peniana suficiente para o intercuro sexual (*NIH Consensus Development Panel on Impotence*, 1993). Ela pode resultar de uma alteração psicológica, hormonal, neurológica, arterial, de uma disfunção no corpo cavernoso ou uma combinação destas. Estima-se que a prevalência de DE seja de aproximadamente 20% na população masculina com mais de 20 anos de idade. (DEROGATIS e BURNETT, 2008). Os principais fatores de risco para o desenvolvimento dessa condição são o aumento da

idade, diabetes mellitus tipo 2, obesidade, doenças cardiovasculares, hipertensão, dislipidemia, depressão e HPB (SELVIN *et al*, 2007).

O tratamento de primeira linha para a DE é a farmacoterapia oral com os Inibidores da Fosfodiesterase do Tipo 5 (IPDE5). O tratamento de segunda linha é com a utilização de medicação injetável intracavernosa e o de terceira linha é o tratamento cirúrgico e consiste na implantação de prótese peniana (HATZIMOURATIDIS, 2014).

Os IPDE5 são drogas que bloqueiam a degradação do GMPc pela PDE5, resultando em aumento de sua concentração intracelular e promovendo relaxamento das células musculares lisas (HATZIMOURATIDIS K, HATZICHRISTOU D, 2007). Inibidores da PDE5 sob demanda tem sido o tratamento de primeira linha para a disfunção erétil no última década. Atualmente, três IPDE5 são aprovados para o tratamento de DE nos EUA: Sildenafil (Viagra[®]), Tadalafil (Cialis[®]) e Vardenafil (Levitra[®]) (WANG, 2010).

No indivíduo com LUTS por HPB, a disfunção erétil tem alta prevalência (GACCI *et al*, 2011). Há estudo demonstrando haver maior prevalência de LUTS em pacientes com DE (LUKACS *et al*, 1996), bem como outro que demonstra que o risco de desenvolver DE é maior no paciente com distúrbio miccional (BRAUN *et al*, 2000). Ambas condições aparentam se originar de fenômenos comuns decorrentes do processo de envelhecimento e terem suas manifestações exacerbadas a partir de outras condições mórbidas que atingem os indivíduos nessa faixa etária, como síndrome metabólica e diabetes mellitus (MAZUR *et al*, 2012). Os principais mecanismos fisiopatológicos que estão envolvidos tanto em DE como em LUTS estão descritos a seguir:

- 1. Redução da atividade da via óxido nítrico-guanosina de monofosfato cíclico (NO-GMPc):** O NO tem um efeito inibitório no tono das células musculares lisas no trato urinário inferior e a sua deleção pode estar relacionada a LUTS (ANDERSSON *et al*, 2011). Na musculatura detrusora, sua função ainda não está estabelecida, mas estudos experimentais com inibição da síntese de NO resultaram em aumento da atividade vesical *in vivo* (PERSSON *et al*, 1992).
- 2. Aumento da atividade Rho-Kinase:** O relaxamento prejudicado da musculatura lisa em bexiga, colo vesical, próstata, uretra e pênis, com consequente obstrução infra-vesical e ereção prejudicada, tem sido atribuídos, em parte, ao aumento da atividade do complexo Rho-Kinase,

que promove a contração muscular ao modular a atividade da enzima miosina fosfatase (MORELLI *et al*, 2009).

3. **Hiperatividade do sistema nervoso autônomo:** A hiperatividade simpática pode elevar o tono da musculatura lisa em próstata e colo vesical e, dessa maneira, ser mais um fator a contribuir com a obstrução infra-vesical em pacientes com HPB. Estudos experimentais demonstraram que o aumento das catecolaminas circulantes diminui a taxa de apoptose em células prostáticas de ratos (MARINESE *et al*, 2003). Além disso, estudos epidemiológicos demonstram uma associação entre HPB e fatores relacionados a hiperatividade do sistema nervoso autônomo, como hipertensão, hiperinsulinemia e obesidade (MEIGS *et al*, 2001; HAMMARSTEN; HOGSTEDT. 1999).
4. **Aterosclerose e isquemia do trato urinário inferior:** Existe uma forte associação entre HPB, STUI e fatores de risco para aterosclerose, como hipertensão, diabetes e doença cardíaca (MEIGS *et al*, 2001). A aterosclerose é fortemente associada a DE (MONTORSI *et al*, 2006), e já foi demonstrado associação entre hipoperfusão de próstata e bexiga com LUTS em homens (BERGER *et al*, 2005).

SAIRAM *et al*, (2002) sugeriram pela primeira vez que os IPDE5 poderiam melhorar os sintomas miccionais em homens que procuravam atendimento ambulatorial para disfunção erétil. Em 2006, outro estudo confirmou esta evidência em uma população de homens com DE e LUTS de moderado a grave (MULHALL *et al*, 2006). Em um estudo em homens com HPB duplo-cego, randomizado, placebo-controlado, MCVARY *et al* (2007), em suas conclusões, estabeleceram o papel emergente dos IPDE5 como uma terapêutica efetiva e bem tolerada para os pacientes com LUTS. Mais recentemente, REGADAS *et al* (2013) avaliaram o benefício do IPDE5 Tadalafil associado ao α -bloqueador Tamsulosin e mostrou que a associação era melhor do que o α -bloqueador isolado no tratamento de pacientes com HPB. Além desses, diversos estudos clínicos, incluindo revisões sistemáticas e metanálises, foram realizados com intenção de avaliar o papel dos IPDE5 em HPB/LUTS.

A via de sinalização Óxido Nítrico (NO) – GMPc tem importante papel no trato urinário inferior. Sua ativação resulta em efeitos inibitórios na musculatura detrusora e

uretra (BENNETT *et al*, 1995). Há evidência científica de que um prejuízo nessa via de sinalização resulta em hiperatividade detrusora (ANDERSSON, K; ARNER, A, 2004). A administração crônica de N^ω-nitro-L-arginina metil ester hidrocrolido (L-NAME) resulta em depleção de NO, que em nível vesical causa hiperatividade detrusora e em nível de uretra resulta em aumento da resistência ao fluxo urinário (MONICA *et al*, 2008). Por conta disso, esse é um modelo experimental de obstrução infra-vesical.

Sabe-se que não existe diferença, em termos de eficácia terapêutica, entre os IPDE5 Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil no tratamento de DE (SMITH *et al*, 2013). Não há estudo comparando a eficácia dessas três drogas em LUTS/HPB. Baseado nisso, foi testada a ação de Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil em parâmetros cistométricos de camundongos machos com deficiência crônica de NO induzida pelo L-NAME e foi realizada a comparação de seus efeitos.

2. Objetivos

Avaliar se a administração crônica dos IPDE5 Sildenafil, Tadalafil e Vardenafil melhora os parâmetros cistométricos de camundongos com depleção crônica de NO.

Promover a comparação entre os IPDE5 e avaliar se há diferença entre parâmetros analisados.

3. Materiais e Métodos

3.1. **Aspectos Éticos:** O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará (protocolo 17/2013).

3.2. **Animais:** Foram utilizados 35 camundongos machos da raça *Mus Musculus*, com peso entre 40-50g, distribuídos da seguinte maneira:

- Grupo Controle: 6 camundongos alimentados com ração padrão e água potável por 30 dias.
- Grupo L-NAME: 6 camundongos alimentados com ração padrão e L-NAME diluído na água de beber (60mg/kg) por 30 dias.
- Grupo Sildenafil: 6 camundongos alimentados com ração padrão e L-NAME diluído na água de beber (60mg/kg) por 30 dias com administração diária de Sildenafil (40mg/Kg/dia) por dieta orogástrica.
- Grupo Vardenafil: 6 camundongos alimentados com ração padrão e L-NAME diluído na água de beber (60mg/kg) por 30 dias com administração de Vardenafil (10mg/Kg) por dieta orogástrica.
- Grupo Tadalafil: : 6 camundongos alimentados com ração padrão e L-NAME diluído na água de beber (60mg/kg) por 30 dias com administração de Tadalafil (4mg/Kg) por dieta orogástrica.
- Grupo DTAD (goma Xantana e Manitol): 6 camundongos alimentados com ração padrão e L-NAME diluído na água de beber (60mg/kg) por 30 dias com administração diária de 0,4mL da solução por dieta orogástrica. Esse grupo foi criado pelo fato de não conseguirmos solução homogênea com a diluição do Tadalafil em salina. Com a diluição do Tadalafil nessa solução, foi criado um novo grupo para avaliar possíveis interferências dela no resultado final.

A dosagem de Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil seguiu a de estudos bem desenhados descritos na literatura (MORELLI *et al*, 2009; BALARINI *et al*, 2013; GULATI *et al*, 2013).

3.3 **Método Experimental:** Todos os animais foram submetidos a cistometria ao final do experimento. Para a cistometria, os animais foram anestesiados com Uretana (1,2mg/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, a bexiga era esvaziada, e após um período de 30 minutos para equilíbrio da musculatura detrusora, iniciava-se a infusão de salina (4ml/h) e o registro da pressão vesical (Power Lab v.5.0 System - ADInstruments, Australia) por 40 minutos (Figura 2). Após esse período, os animais eram sacrificados.

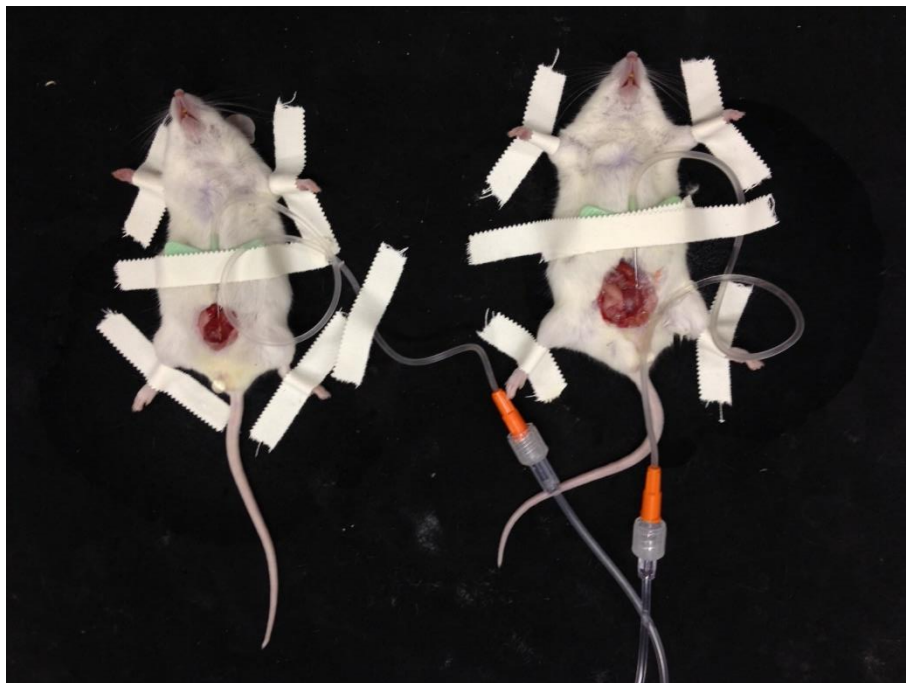
Para avaliação da cistometria, utilizamos os seguintes parâmetros:

- *Non-voiding contraction* (NVC): número de contrações detrusoras que não resultaram em micção antes da primeira eliminação de urina.
- Pressão de Limiar (PL): pressão detrusora imediatamente antes do primeiro ciclo de micção.
- Pressão Basal (PB): Durante a cistometria, a linha de base da pressão detrusora antes das contrações relacionadas aos ciclos de micção.
- Frequência de micção (FM): O número de ciclos de micção observados no estudo dividido pelo tempo.
- Limiar de Volume (LV): Volume infundido antes da primeira micção.

A metodologia e os parâmetros utilizados na avaliação seguiram modelos já descritos na literatura (ANDERSSON *et al*, 2011).

3.4. Análise Estatística: Para a análise estatística, foi utilizado o teste de Kolgomorov-Smirnov (KS) para avaliar a normalidade da distribuição dos dados de cada grupo. Entre os grupos, foi utilizada a análise da variância (ANOVA) com o teste de Tukey. O nível de significância estatística foi de 5% ($p < 0,05$) e o software GraphPad Prism[®] versão 5.00 para Windows[®] (GraphPad Software, San Diego, California, EUA, 2007) foi utilizado para análise dos dados.

Figura 1: Ilustração de dois camundongos anestesiados sendo submetidos a cistometria.



Fonte: Autoria própria

4. Resultados

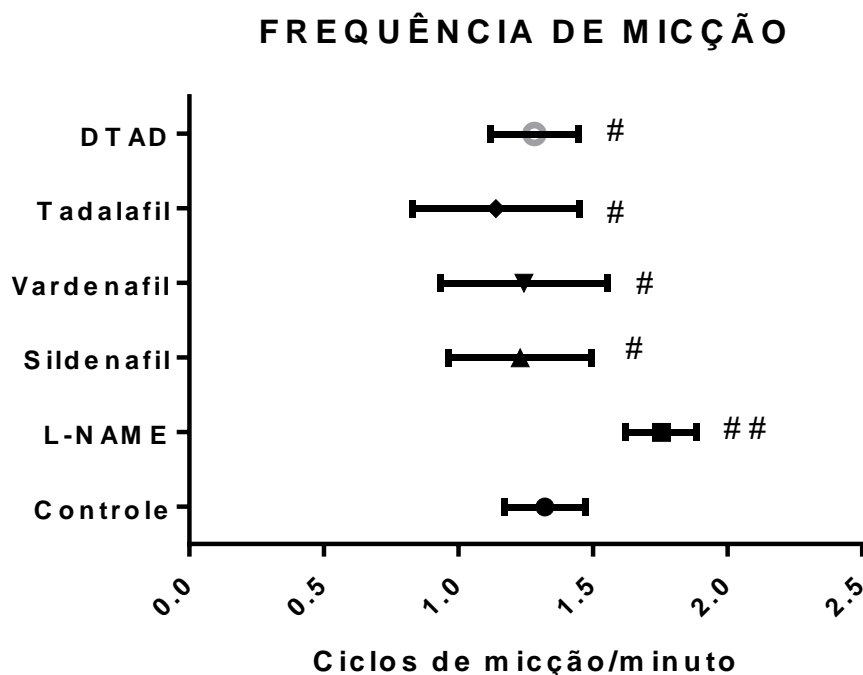
4.1 Normalidade

Todos os grupos utilizados na análise passaram no teste KS.

4.2 Frequência de Micção

O grupo L-NAME ($1,75 \pm 0,13$) apresentou diferença significativa em relação aos grupos Sildenafil ($1,23 \pm 0,26$), Vardenafil ($1,24 \pm 0,30$), Tadalafil ($1,14 \pm 0,31$), Controle ($1,32 \pm 0,15$) e DTAD ($1,28 \pm 0,16$). Não houve diferença entre Sildanafil, Vardenafil e Tadalafil.

Gráfico 1. Frequência de Micção (Média \pm DP).
#: diferença significativa em relação ao L-NAME.
##: diferença significativa em relação ao Controle.

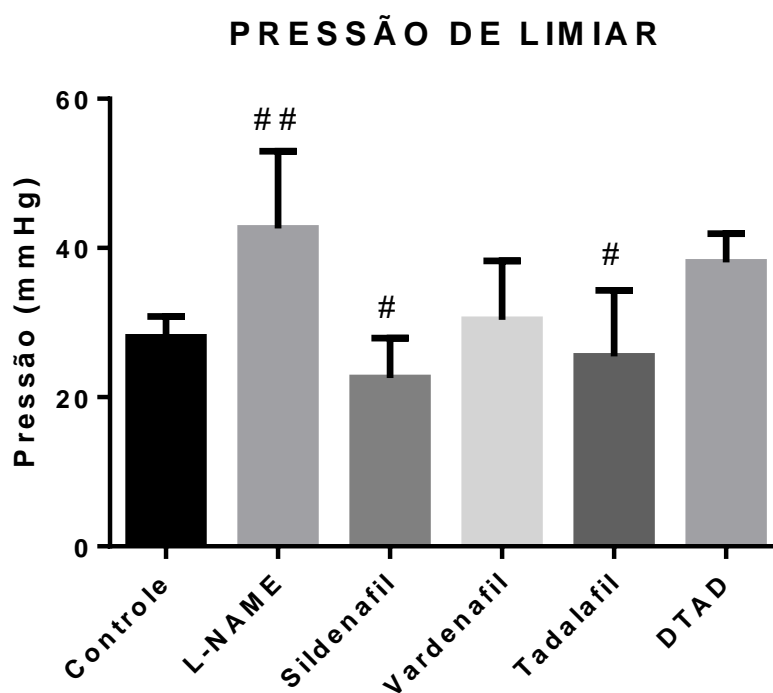


O grupo L-NAME apresentou maior frequência de micção do que todos os outros grupos. Os IPDE5 Sildenafil, Tadalafil e Vardenafil tiveram menor FM em relação ao L-NAME, sem apresentar diferença entre si.

4.2 Pressão de Limiar

O grupo L-NAME ($42,63 \pm 10,35$) apresentou diferença significativa em relação aos grupos Sildenafil ($22,56 \pm 5,37$), Tadalafil ($25,45 \pm 8,84$) e Controle ($28,04 \pm 2,77$). Não houve diferença significativa em relação ao L-NAME nos grupos Vardenafil ($30,39 \pm 7,89$) e DTAD ($38,08 \pm 3,84$). Não houve diferença entre Sildanafil, Vardenafil e Tadalafil.

Gráfico 2: Pressão de Limiar (Média \pm DP).
 #: diferença significativa em relação ao L-NAME.
 ##: diferença significativa em relação ao Controle.

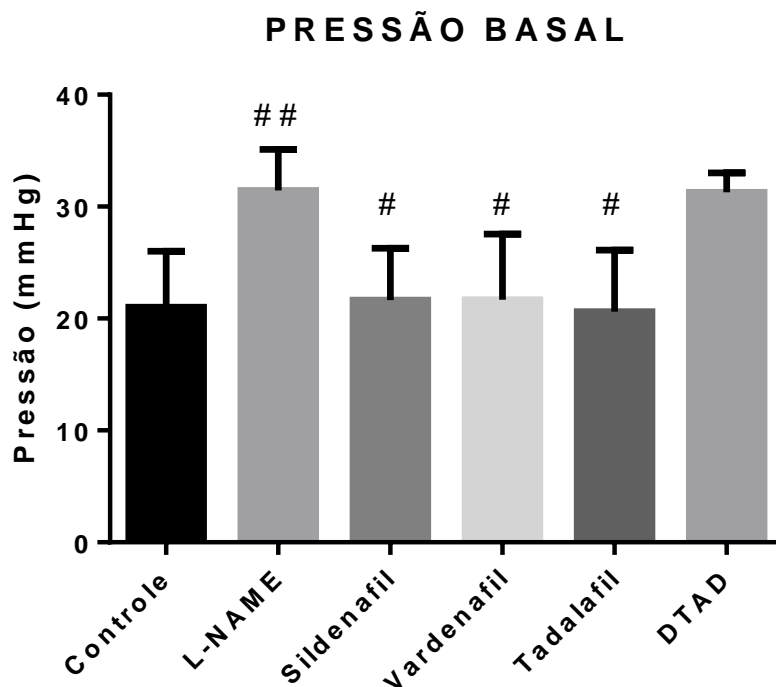


Observa-se que Tadalafil e Sildenafil tiveram menor PL em relação ao L-NAME. Apesar de o Vardenafil não apresentar diferença significativa em relação ao L-NAME, não foi observada diferença estatística em relação a Sildenafil e Tadalafil.

4.3 Pressão Basal

O grupo L-NAME ($31,45 \pm 3,68$) apresentou diferença significativa em relação aos grupos Controle ($21,01 \pm 5,01$), Sildenafil ($21,64 \pm 4,63$), Vardenafil ($21,70 \pm 5,86$) e Tadalafil ($20,61 \pm 5,50$). Não houve diferença em relação ao grupo DTAD ($31,27 \pm 1,75$). Não houve diferença entre Sildanafil, Vardenafil e Tadalafil.

Gráfico 3: Pressão Basal (Média \pm DP).
#: diferença significativa em relação ao L-NAME.
##: diferença significativa em relação ao Controle.

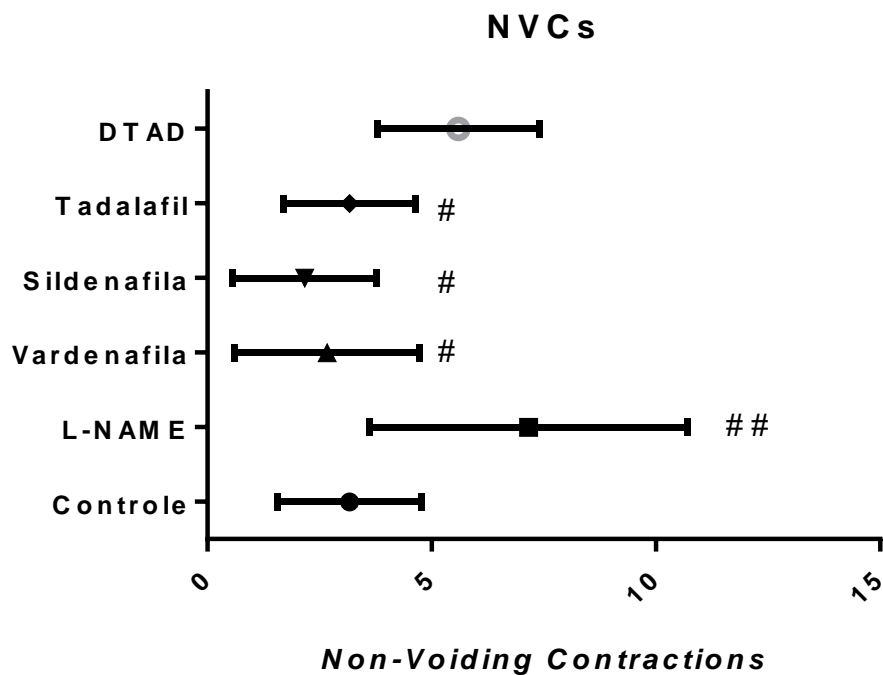


Observa-se que Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil reduziram a Pressão Basal de maneira significativa em relação ao L-NAME, sem apresentar diferença entre si.

4.4 Non Voiding Contractions

O grupo L-NAME apresentou o maior número de NVCs ($7,16 \pm 3,54$), apresentando diferença significativa em relação a todos os outros grupos, com exceção do DTAD ($5,60 \pm 1,81$). Os grupos Sildenafil ($2,16 \pm 1,60$), Vardenafil ($2,66 \pm 2,06$) e Tadalafil ($3,16 \pm 1,47$) não apresentaram diferença entre si. O resultado do grupo controle foi $3,16 \pm 1,6$.

Gráfico 4: Non-Voiding Contractions (Média±DP).
#: diferença significativa em relação ao L-NAME.
##: diferença significativa em relação ao Controle.

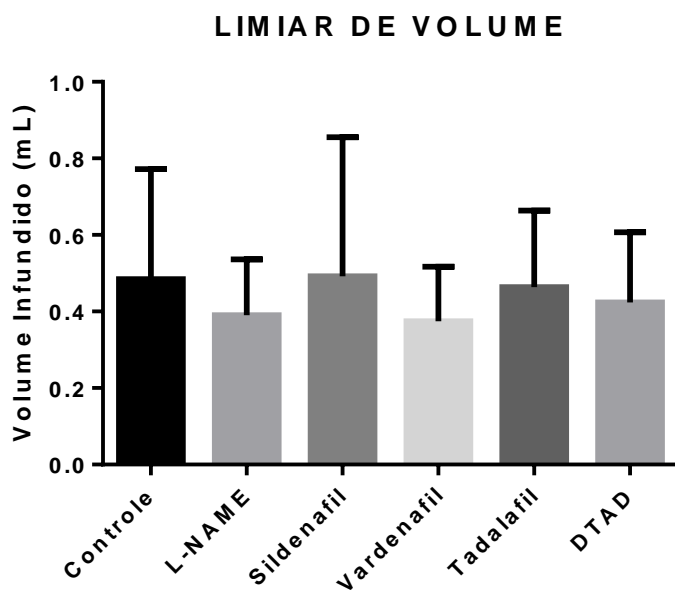


Nesse gráfico, observa-se que o L-NAME aumentou o número de NVCs em relação a todos os grupos, com exceção do DTAD. Sildenafil, Tadalafil e Vardenafil tiveram menos NVC em relação ao L-NAME, mas sem diferença entre si.

4.5 Limiar de Volume

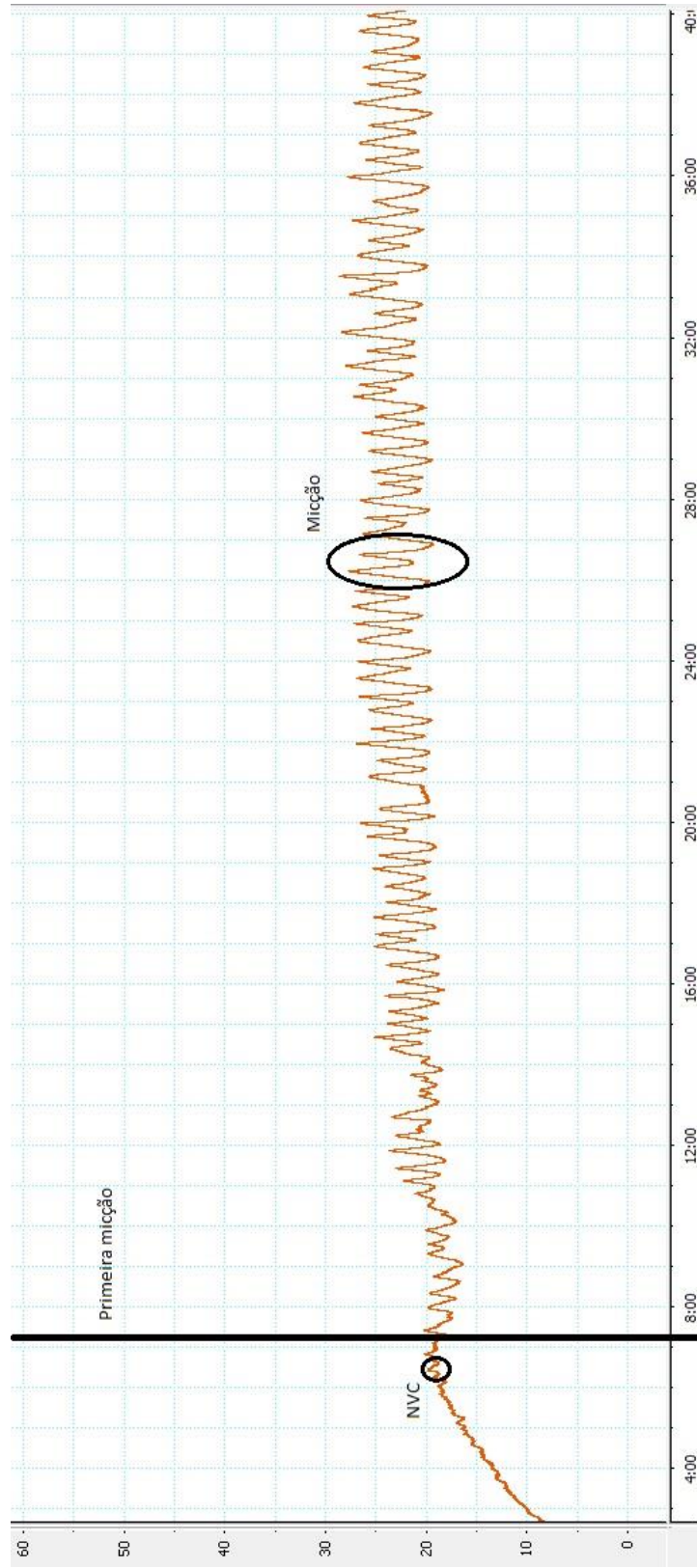
Os grupos Controle ($0,48 \pm 0,28$), L-NAME ($0,39 \pm 0,14$), Sildenafil ($0,49 \pm 0,36$), Vardenafil ($0,37 \pm 0,14$), Tadalafil ($0,46 \pm 0,20$) e DTAD ($0,42 \pm 0,18$) não apresentaram diferença significativa entre si.

Gráfico 5: Limiar de Volume (Média±DP).



Nesse gráfico, observa-se que apesar de menores médias nos grupos L-NAME e Vardenafil, não foi observada diferença estatística.

Figura 2: Traçado de uma cistometria de animal do grupo Sildenafil. Encontram-se destacados o momento da primeira micção, uma NVC e um ciclo de micção.



Fonte: Autoria própria

Figura 3: Traçado de uma cistometria de animal do grupo L-NAME. Encontram-se destacados o momento da primeira micção, uma NVC e um ciclo de micção.

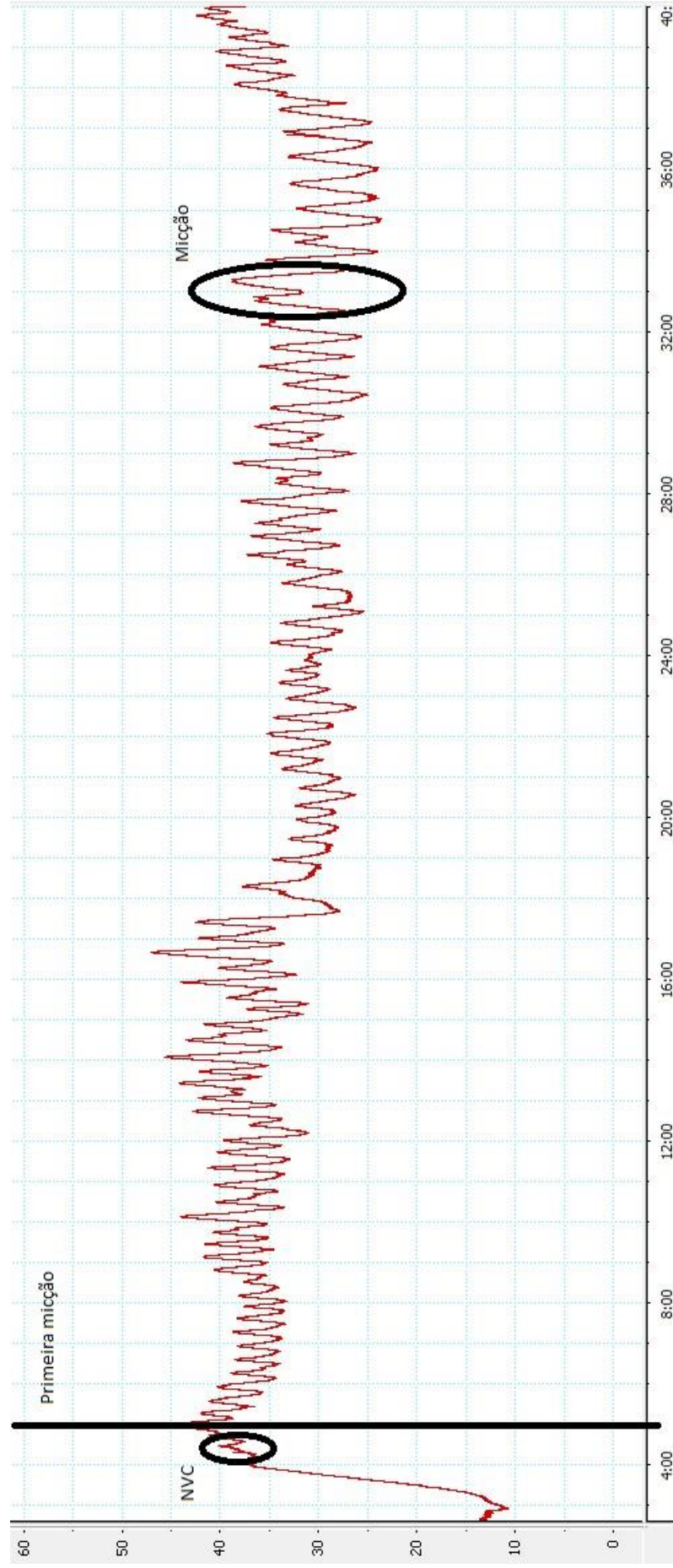


Tabela 1: Média±DP dos quatro grupos experimentais avaliados nos parâmetros NVC, PL, PB, FM e LV. O valor de p foi obtido pela análise de variância (ANOVA).

‡: diferença significativa em relação ao L-NAME.

†: valores estatisticamente significantes.

	CONTROLE	L-NAME	SILDENAFIL	VARDENAFIL	TADALAFIL	DTAD	P
NVC	3,16±1,60	7,16±3,64	2,16±1,60 [‡]	2,66±2,06 [‡]	3,16±1,47 [†]	5,60±1,81	P<0,05 [†]
PL	28,04±2,77	42,63±10,35	22,56±5,37 [‡]	30,39±7,89	25,45±8,84 [‡]	38,08±3,84	P<0,001 [†]
PB	21,01±5,01	31,45±3,68	21,64±4,63 [‡]	21,70±5,86 [‡]	20,61±5,50 [‡]	31,27±1,75	P<0,001 [†]
FM	1,32±0,15	1,75±0,13	1,23±0,26 [‡]	1,24±0,30 [‡]	1,14±0,31 [‡]	1,28±0,16 [†]	P<0,05 [†]
LV	0,48±0,28	0,39±0,14	0,49±0,36	0,37±0,14	0,46±0,20	0,42±0,18	P=0,93

5. Discussão

Nesse estudo, foi realizado um tratamento de 4 semanas com L-NAME (60mg/Kg/dia) em três grupos de 6 camundongos. No grupo em que foi administrado o L-NAME isolado, foi observado aumento de NVC, PB, PL e FM, o que indica que os animais desenvolveram hiperatividade detrusora pela depleção de NO no trato urinário inferior.

Em estudo anterior, foi demonstrado que o tratamento de animais durante 4 semanas com L-NAME resulta em aumento da sensibilidade da musculatura detrusora a agonistas muscarínicos via aumento de [³H]- fosfato de inositol e diminuição do relaxamento detrusor mediado por b₃-adrenoceptor, levando a hiperatividade detrusora (MONICA *et al*, 2008).

A administração de Sildenafil durante 4 semanas na dose de 40mg/Kg/dia, administrado por dieta orogástrica, em camundongos recebendo em concomitância L-NAME, resultou em melhora significativa dos parâmetros de NVC, PB, PL e FM em relação ao grupo que recebeu o L-NAME isolado.

Em estudo anterior, o tratamento de camundongos com obstrução parcial de uretra (modelo experimental de obstrução infra-vesical) com sildenafil por 6 semanas preveniu o aumento de hiperatividade detrusora e o aumento da deposição de colágeno e hipertrofia detrusora (BEAMON *et al*, 2008). REGES *et al* (2013) demonstraram que a administração aguda de Sildenafil resultou em diminuição do número de ciclos miccionais em ratos com deficiência crônica de NO.

FÜLLHASE *et al* (2013) demonstraram a presença de PDE5 em várias regiões da medula lombossacra, inclusive nas regiões sacrais do controle miccional. Foi realizada administração intravenosa e intratecal de Sildenafil e, nos camundongos com obstrução uretral parcial/hiperatividade detrusora, houve diminuição dos ciclos de micção e da pressão vesical. Os autores concluíram que, ao menos em parte, a atuação do Sildenafil se deu por meio da medula sacral.

O Sulfeto de Hidrogênio (H₂S) é um transmissor descoberto recentemente que tem propriedades miorelaxantes e atua na fisiologia da ereção (DI VILLA BIANCA *et al*, 2009; GUO *et al*, 2012). Foi demonstrado que ele é um inibidor endógeno da PDE e que sua ação resulta em aumento de GMPc e AMPc (BUCCI *et al*, 2004). Em estudo *in vitro* utilizando tiras de bexiga de pacientes com HPB submetidos a prostatectomia aberta foi

demonstrado que o Sildenafil exerceu efeito relaxante utilizando a via de sinalização do H₂S (FUSCO *et al*, 2012).

Nesse estudo, ficou demonstrado que o Sildenafil utilizado cronicamente foi capaz de prevenir os efeitos deletérios da depleção de NO causada pela administração concomitante de L-NAME em nível vesical. A presença de PDE5 na bexiga, uretra, vasos sanguíneos e nervos sacrais sugere que a droga exerce sua ação em todos esses órgãos, embora não se saiba exatamente qual a contribuição proporcional real de cada um.

Além disso, o Sildenafil também mostrou efeito inibidor na PDE5, em nível vesical, através de uma diferente via, a do H₂S. A verdadeira contribuição fisiopatológica dessa via ainda deve ser definida, mas o fato de o Sildenafil exercer efeito através dela pode significar opções terapêuticas adicionais no futuro.

O Vardenafil, administrado por dieta orogástrica durante 4 semanas na dose de 10mg/Kg/dia em camundongos recebendo em concomitância L-NAME, resultou em melhora significativa dos parâmetros de NVC e FM em relação ao grupo que recebeu o L-NAME isolado.

Em estudo anterior, o Vardenafil se mostrou capaz de relaxar tiras de próstata, bexiga e uretra (banho de órgão), de reduzir atividade proliferativa de células estromais intraprostáticas e reduzir o número de NVC em modelo de obstrução infra-vesical (administração aguda) (TINEL *et al*, 2006).

Em outro estudo, a administração de Vardenafil resultou na melhora de parâmetros urodinâmicos em ratos SHR (*Spontaneous Hypertensive Rats* – ratos modificados geneticamente que tendem a ter hiperatividade detrusora) e, *in vitro*, a droga se mostrou capaz de inibir a sinalização da via RhoA/Rho-kinase (MORELLI *et al*, 2009).

A administração crônica de Vardenafil também demonstrou proteger a bexiga de ratos de disfunção contrátil em modelo de Obstrução infra-vesical e estimulação das tiras dos órgão utilizando carbacol (MATSUMOTO *et al*, 2008).

Os resultados apresentados em nosso estudo coincidem com o que já foi apresentado na literatura. O Vardenafil tem ação na via NO/GMPc no trato urinário inferior (bexiga, uretra, próstata), bem como no vasos e provavelmente nos nervos pélvicos, já que foi demonstrada a presença de PDE5 em todas essas estruturas. O fato de ter ação demonstrada na via RhoA/Rho-kinase é outro fator importante, já que essa é uma via envolvida tanto na gênese de LUTS como de disfunção erétil.

No homem, a gênese dos sintomas miccionais frequentemente tem associação com a hiperplasia prostática benigna e o fato de o Vardenafil ter comprovada atividade

antiproliferativa na próstata é mais um argumento forte para a utilização dessa medicação nessa população de pacientes, mesmo nos que não apresentam disfunção erétil.

O Tadalafil, administrado por dieta orogástrica durante 4 semanas na dose de 4mg/Kg/dia em camundongos recebendo em concomitância L-NAME, resultou em melhora significativa dos parâmetros de NVC, PL e FM em relação ao grupo que recebeu o L-NAME isolado.

MORELLI *et al* (2011) demonstraram que a administração de Tadalafil melhorou a oxigenação tecidual prostática em ratos espontaneamente hipertensivos, sugerindo um possível mecanismo para o benefício dessa droga em LUTS.

MINAGAWA *et al* (2012) demonstraram que a administração sistêmica de Tadalafil em ratos reduziu as atividades aferentes mecanossensitivas das fibras A δ e C a partir da distensão vesical, bem como demonstrou efeito inibitório do tadalafil em ambas as fibras na ativação induzida por instilação intravesical de Acroleína.

NOMYIA *et al* (2013) realizaram um estudo com modelo experimental de lesão crônica isquêmica vesical a partir da lesão induzida nas artérias ilíacas de ratos. A administração de Tadalafil resultou em aumento do intervalo de micção, capacidade vesical e volume urinado em relação ao grupo que teve lesão arterial e não fez uso da droga. Demonstrando que o Tadalafil protege a bexiga de modificações deletérias por isquemia crônica.

Morelli *et al*, utilizando modelo experimental de síndrome metabólica em coelhos, demonstrou que a administração de tadalafil resultou em diminuição da expressão prostática de vários genes relacionados a alterações prostáticas na Síndrome Metabólica, como os relacionados a inflamação, infiltração leucocitária e ativação de fibrose/miofibroblastos (MORELLI *et al*, 2013).

Maciejewski *et al* realizaram estudo com modelo de obstrução infra-vesical parcial induzida cirurgicamente em ratos e realizou análise morfológica e funcional após 16 semanas. No estudo, foi demonstrado que tanto Tadalafil como Oxibutinina, apesar de mecanismos de ação diferentes, protegeram a bexiga de ações deletérias pela obstrução. O Tadalafil, além disso, aparentemente demonstrou um efeito antifibrótico (MACIEJEWSKI *et al*, 2013).

Em estudo experimental utilizando Tadalafil associado a Tansulosina, foi observado que a associação melhorou os parâmetros cistométricos de ratos em modelo utilizando L-NAME (REGADAS, 2012).

No presente estudo, demonstra-se que a administração de Tadalafil protege a bexiga de camundongos da ação deletéria secundária a depleção crônica de NO. Somado aos outros estudos citados, temos ainda mais evidências para o uso do medicamento em pacientes com LUTS, já que sua ação está comprovada em nível prostático (pela melhora dos parâmetros inflamatórios) e em nível vesical, onde se tem bons resultados com modelos de isquemia, de obstrução infra-vesical e de depleção de NO tanto em estudos funcionais como morfológicos. O fato de a solução de diluição do Tadalafil também reduzir a frequência de micção dos camundongos não nos permite concluir, com esses resultados, que o Tadalafil melhore esse parâmetro. Mas a droga melhorou os outros parâmetros cistométricos, e ao se avaliar estudos anteriores, onde foi observado que o tadalafil diminuiu a frequência de micção (REGADAS *et al*, 2012), podemos concluir seguramente que ela é benéfica em situações de instabilidade vesical (obstrução infra-vesical, isquemia, depleção de NO, etc.).

No presente estudo, Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil foram capazes de proteger os camundongos da ação deletéria vesical decorrente da depleção de Óxido Nítrico. As drogas promoveram relaxamento da musculatura detrusora (melhora nos parâmetros NVC e FM) e relaxamento uretral (melhora nos parâmetros PL e PB). Em nenhum parâmetro houve uma diferença significativa entre as três drogas. Apesar de estudo anterior (TINEL *et al*, 2006) demonstrar a atividade *in vitro* do Vardenafil superior ao Sildenafil e Tadalafil, isso não foi observado em nosso estudo *in vivo*.

A principal limitação do trabalho é o número de animais, que acaba sendo um problema comum a todos os estudos *in vivo*, onde, por motivos éticos, deve-se limitar a amostragem ao mínimo necessário para uma estatística confiável, já que os experimentos quase sempre terminam com o sacrifício do animal.

Esse estudo oferece ainda mais subsídios para a utilização dos IPDE5 em disfunções miccionais e contribui ainda mais com fundamentação teórica para o teste dos diferentes IPDE5 tanto em HPB (até o momento, apenas o Tadalafil tem essa indicação em bula) como em disfunções miccionais diversas, como bexiga neurogênica e síndrome da bexiga hiperativa.

6. Conclusões

Sildanafil, Vardenafil e Tadalafil protegeram os animais das ações deletérias resultantes da depleção de NO no trato urinário Inferior.

Não houve superioridade de uma droga em relação a outra.

Referências Bibliográficas

ABRAMS, P; CHAPPLE, C; KHOURY, S; et al. Evaluation and treatment of lower urinary tract symptoms in older men. **J Urol**, 2009; 181(4): 1779-1787.

ANDERSSON KE, ARNER A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. **Physiol Ver**, 2004 (84), p. 935–986.

ANDERSSON KE, DE GROAT WC, MCVARY KT, *et al.* Tadalafil for the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: pathophysiology and mechanism(s) of action. **Neurourol Urodyn**, 2011 (30), p.292–301.

ANDERSSON, K; SOLER, R; FÜLLHASE, C, *et al.* . Rodent Models for Urodynamic Investigation. **Neur Urodyn**, 2011 (30), p. 636–646.

BALARINI CM, LEAL MA, GOMES IBS, *et al.* Sildenafil restores endothelial function in the apolipoprotein E knockout mouse. **Journal of Translational Medicine**, 2013 (11), p. 1-8.

BEAMON, CR; MAZAR, C; SALKINI, MW; PHULL, HS; COMITER, CV. The effect of sildenafil citrate on bladder outlet obstruction: a mouse model. **BJU Int**, 2008 (104), p. 252-256.

BENNETT BC, KRUSE MN, ROPPOLO JR, *et al.* Neural control of urethral outlet activity *in vivo*: role of nitric oxide. **J Urol**, 1995 (153), p. 2004–2009.

BERGER AP, DEIBL M, LEONHARTSBERGER N, *et al.* Vascular damage as a risk factor for benign prostatic hyperplasia and erectile dysfunction. **BJU Int** 2005;96:1073–8.

BRAUN M, WASSMER G, KLOTZ T, REIFENRATH B, MATHERS M, ENGELMANN U. Epidemiology of erectile dysfunction: results of the ‘Cologne Male Survey’. **Int J Impot Res**, 2000 (12), p. 305–311.

BUCCI M, PAPAPETROPOULOS A, VELLECCO V, *et al.* Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 2010;30:1998–2004.

DEROGATIS LR, BURNETT AL. The epidemiology of sexual dysfunctions. **J Sex Med**. 2008 Feb;5(2):289-300.

DI VILLA BIANCA RE, SORRENTINO R, MAFFIA P, *et al.* Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smoothmuscle relaxation. **Proc Natl Acad Sci U S A** 2009;106:4513–8.

FÜLLHASE, C; HENNENBERG, M; GIESE, A; *et al.* Presence of Phosphodiesterase Type 5 in the Spinal Cord and its Involvement in Bladder Outflow Obstruction Related Bladder Overactivity. **J Urol**, 2013 (190), p. 1430-1435.

FUSCO, F; DI VILLA BIANCA, RE; MITIDIERI, E; CIRINO, G; SORRENTINO, R; MIRONE, V. Sildenafil Effect on the Human Bladder Involves the L-cysteine/Hydrogen Sulfide Pathway: A Novel Mechanism of Action of Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors. **Eur Urol**, 2012 (62), p. 1174-1180.

GACCI, M; EARDLEY, I; GIULIANO, F. *et al.* Critical analysis of the relationship between sexual dysfunctions and lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia. **Eur Urol**, 2011 (60), p.809–825.

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 α -Blockers for Lower Urinary Tract Symptoms Due to Benign Prostatic Hyperplasia. **Eur Urol**, 2012 (61), p. 994-1003.

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 Sur Res**, 2013 (in press).

GUO H, GAI JW, WANG Y, JIN HF, DU JB, JIN J. Characterization of hydrogen sulfide and its synthases, cystathionine b-synthase and cystathionine g-lyase, in human prostatic tissue and cells. **Urology** 2012;79:483.e1–5.

HAMMARSTEN J, HOGSTEDT B. Clinical, anthropometric, metabolic and insulin profile of men with fast annual growth rates of benign prostatic hyperplasia. **Blood Press** 1999;8:29–36.

HATZIMOURATIDIS K, HATZICHRISTOU D. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: the day after. **Eur Urol**, 2007 (51), p. 75–88.

HATZIMOURATIDIS, K (CHAIR), EARDLEY, I, GIULIANO, F, *et al.* Guidelines on Male Sexual Dysfunction: Erectile dysfunction and premature ejaculation. **European Association of Urology**. 2014.

LUE, TF. Erectile dysfunction. **N Engl J Med**, 2000 (342), p. 1802-1813.

LUKACS, B; LEPLÈGE, A; THIBAUT, P. *et al.* Prospective study of men with clinical benign prostatic hyperplasia treated with alfuzosin by general practitioners: 1-year results. **Urology**, 1996 (48), p. 731–740.

MACIEJEWSKI CC, TREDGET EE, METCALFE PD. Urodynamic improvements following oral medical therapy for partial bladder outlet

obstruction in an animal model. **Neurourol Urodyn**. 2013 Nov 26. [Epub ahead of print]

MARINESE D, PATEL R, WALDEN PD. Mechanistic investigation of the adrenergic induction of ventral prostate hyperplasia in mice. **Prostate** 2003;54:230–7.

MATSUMOTO, S; HANAI, T; UEMURA, H; LEVIN, R. Effects of chronic treatment with vardenafil, a phosphodiesterase 5 inhibitor, on female rat bladder in a partial bladder outlet obstruction model. **BJU Int**, 2008 (103), p. 987–990.

MAZUR, DJ; HELFAND, BT; MCVARY, KT. Influences of neuroregulatory factors on the development of lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia and erectile dysfunction in aging men. **Urol Clin N Am**, 2012 (39), p. 77–88

MCCONNELL JD, ROEHRBORN CG, BAUTISTA OM, et al. The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia. **N Engl J Med** 2003;349:2387–98.

MCVARY KT, ROEHRBORN CG, KAMINETSKY JC, et al. Tadalafil relieves lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia. **J Urol** 2007;177:1401–7.

MEIGS JB, MOHR B, BARRY MJ, et al. Risk factors for clinical benign prostatic hyperplasia in a community-based population of healthy aging men. **J Clin Epidemiol** 2001;54:935–44.

MINAGAWA T, AIZAWA N, IGAWA Y, WYNDAELE JJ. Inhibitory effects of phosphodiesterase 5 inhibitor, tadalafil, on mechanosensitive bladder afferent nerve activities of the rat, and on acrolein-induced hyperactivity of these nerves. **BJU Int**. 2012 Sep;110(6 Pt B):E259-66.

MONICA FZ, BRICOLA AA, BAU FR, et al. Long-term nitric oxide deficiency causes muscarinic supersensitivity and reduces beta(3)-adrenoceptor-mediated relaxation, causing rat detrusor overactivity. **Br J Pharmacol** 2008, (153), p. 1659–1668.

MONTORSI P, RAVAGNANI PM, GALLI S, et al. Association between erectile dysfunction and coronary artery disease: Matching the right target with the right test in the right patient. **Eur Urol** 2006;50:721–31.

MORELLI A, FILIPPI S, SANDNER P, et al. Vardenafil modulates bladder contractility through cGMP-mediated inhibition of RhoA/Rho kinase signaling pathway in spontaneously hypertensive rats. **J Sex Med**, 2009 (6), p. 1594–1608.

MORELLI A, SARCHIELLI E, COMEGLIO P, et al. Phosphodiesterase type 5 expression in human and rat lower urinary tract tissues and the effect of tadalafil

on prostate gland oxygenation in spontaneously hypertensive rats. **J Sex Med.** 2011 Oct;8(10):2746-60

MORELLI A, COMEGLIO P, FILIPPI S, et al. Mechanism of action of phosphodiesterase type 5 inhibition in metabolic syndrome-associated prostate alterations: an experimental study in the rabbit. **Prostate.** 2013 Mar;73(4):428-419.

MULHALL JP, GUHRING P, PARKER M, HOPPS C. Assessment of the impact of sildenafil citrate on lower urinary tract symptoms in men with erectile dysfunction. **J Sex Med** 2006;3:662–7.

NIH Consensus Development Panel on Impotence. NIH Consensus Conference: impotence. **JAMA** 1993;270:83-90.

NOMIYA M, BURMEISTER DM, SAWADA N, et al. Prophylactic effect of tadalafil on bladder function in a rat model of chronic bladder ischemia. **J Urol.** 2013 Feb;189(2):754-61.

OELKE, M; BACHMANN, A; DESCAZEAUD, A; et al. EAU Guidelines on the Treatment and Follow-up of Non-neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms Including Benign Prostatic Obstruction. **Eur Urol**, 2013 (64), p. 118-140.

PERSSON K, IGAWA Y, MATTIASSON A, et al. Inhibition of the arginine/nitric oxide pathway causes bladder hyperactivity in the rat. **Acta Physiol Scand** 1992; 144:107–8.

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

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.** 2013 Feb;45(1):39-43.

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

ROEHRBORN, CG. Pathology of benign prostatic hyperplasia. **Int J Imp Res** (2008) 20, S11–S18

SAIRAM K, KULINSKAYA E, MCNICHOLAS TA, BOUSTEAD GB, HANBURY DC. Sildenafil influences lower urinary tract symptoms. **BJU Int** 2002; 90:836–9.

SELVIN E, BURNETT AL, PLATZ EA. Prevalence and risk factors for erectile dysfunction in the US. **Am J Med**. 2007 Feb;120(2):151-7.

TINEL H, STELTE-LUDWIG B, HUTTER J, SANDNER P. Pre-clinical evidence for the use of phosphodiesterase-5 inhibitors for treating benign prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptoms. **BJU Int**, 2006 (98), p. 1259–1263.
WANG, C. Phosphodiesterase-5 inhibitors and benign prostatic hyperplasia. **Current Opinion in Urology**, 2010(20), p. 49–54.

ANEXO

Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes do 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 17/2013, sobre o projeto intitulado: **“ANÁLISE DO EFEITO DE INIBIDORES DE FOSFODIESTERASE DO TIPO 5 EM PARÂMETROS URODINÂMICOS DE CAMUNDONGOS UTILIZANDO MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERATIVIDADE DETRUSORA”**, de responsabilidade de Samuel Luz Moreno 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 do CEPNDH-FAMEC/UFCE
MAT. SIAPE 2152369