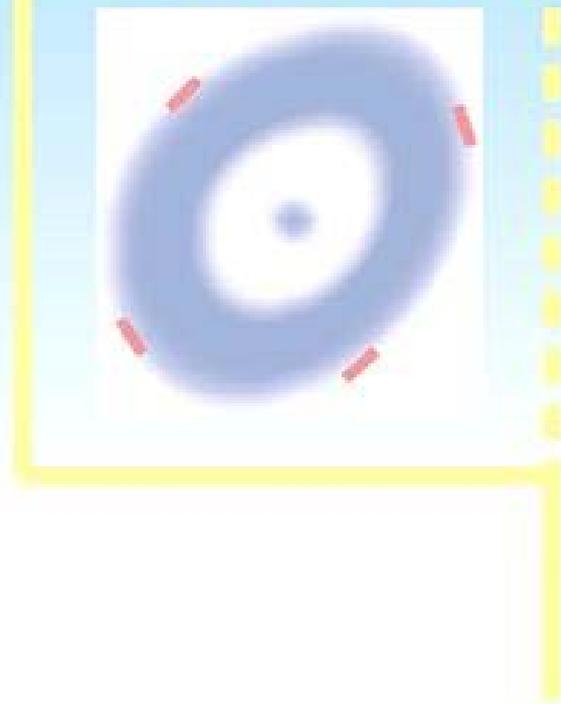


Tais Harumi de Castro Sasahara



Efeitos da obstrução da uretra na musculatura da bexiga urinária de coelhos: estudo morfométrico e estereológico

São Paulo

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

TAIS HARUMI DE CASTRO SASAHARA

**Efeitos da obstrução parcial da uretra na musculatura da bexiga urinária
de coelhos: estudo morfométrico e estereológico**



Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Augusto Coppi Maciel
Ribeiro

São Paulo

2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1668
FMVZ

Sasahara, Tais Harumi de Castro

Efeitos da obstrução parcial da uretra na musculatura da bexiga urinária de coelhos: estudo morfométrico e estereológico / Tais Harumi de Castro Sasahara. – São Paulo: T. H. C. Sasahara, 2006.
57 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2006.

Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Coppi Maciel.

1. Bexiga. 2. Células musculares lisas. 3. Obstrução uretral.
4. Estereologia. 5. Coelho I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "A obstrução parcial da uretra como modelo para estudo da inervação extrínseca e intrínseca da bexiga urinária de coelhos", protocolo nº515/2004, utilizando 30 coelhos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Antonio Augusto Coppi Maciel Ribeiro, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "The partial urethral obstruction as a model to study the extrinsic and intrinsic innervation of the rabbit's urinary bladder", protocol number 515/2004, utilizing 30 rabbit's, under the responsibility of Prof. Dr. Antonio Augusto Coppi Maciel Ribeiro, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 28 de abril de 2005


Prof.ª Dr.ª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SASAHARA, Tais Harumi de Castro

Título: Efeitos da obstrução parcial da uretra na musculatura da bexiga urinária de coelhos: estudo morfométrico e estereológico

Dissertação apresentada junto ao programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

*“Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim como em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.”*

Ricardo Reis (heterônimo de Fernando Pessoa)

*“Ainda que eu falasse línguas,
as dos homens e dos anjos,
se eu não tivesse o amor,
seria como sino ruidoso
ou como címbalo estridente*

*Ainda que eu tivesse o dom
da profecia,
o conhecimento de todos os mistérios
e de toda a ciência;
ainda que eu tivesse toda a fé,
a ponto de transportar montanhas,
se não tivesse o amor,
eu não seria nada...”*

(Primeira carta aos Coríntios - 13)

**A Deus por tudo de grandioso que recebi e
estou recebendo**

**Aos Meus Pais, Rubens e Maria Zélia, que sempre
me apoiaram e me incentivaram em todos os
momentos da minha vida. Minha eterna gratidão.**

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**

À **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP**, processo nº 04/04044-3, pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr Antonio Augusto Coppi Maciel Ribeiro**, pela valiosa orientação na condução deste trabalho. Pela seriedade, qualidade e dedicação no desenvolver da pesquisa, pelas oportunidades de aprendizado, pela amizade e ensinamentos.

Ao **Prof. Terry Mayhew**, Centre for Integrated Systems Biology and Medicine, Queen's Medical Centre, University of Nottingham, Nottingham, UK, pela preciosa contribuição para a análise, sugestões e correções para a finalização deste trabalho.

Ao **Prof. Giorgio Gabella**, Department of Anatomy and Developmental Biology, University College London, UK, pelas sugestões e comentários oferecidos durante a execução desta dissertação.

Ao **Prof. Bengt Uvelius**, Department of Urology, Lund University Hospital, Lund, Sweden, pelas sugestões fornecidas.

À **Profa. Dra. Sheila Canevese Rahal**, Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ-UNESP-Botucatu, pela dedicação na realização dos procedimentos cirúrgicos e por toda a ajuda fornecida para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Prof. Julio César de Carvalho Balieiro**, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - FZEA – USP, pelas análises estatísticas.

Ao **Emerson Ticona Fioretto** pela grande ajuda nos procedimentos anestésicos.

Ao **Biotério Central** da FMVZ-UNESP-Botucatu pelo fornecimento dos coelhos.

Ao **Sr. Luis**, funcionário-FMVZ-UNESP-Botucatu, pelo auxílio dado para a manutenção do viveiro e cuidados com os coelhos, principalmente durante o período pós-operatório.

Aos **Professores** do Departamento de Cirurgia - área de concentração Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Aos **Funcionários** do Departamento de Cirurgia - área de concentração Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Aos **amigos do Laboratório de Estereologia e Anatomia Química (L.S.C.A)**: Ana Rita de Lima, André Fernando Gonçalves, Cauê Toscano, Fernando Ladd, Procássia Lacerda, Renato Cavalcanti, Samanta Rios Melo, Silvio Pires Gomes, Victor Hugo Rodrigues, Wanderley Lima Guidi, pelo companherismo.

A todos os **colegas da pós-graduação**, em especial àqueles que estiveram mais próximos durante estes dois anos de mestrado.

Aos **funcionários da biblioteca** da FMVZ-USP, pelas correções para a formatação desta dissertação.

Aos **funcionários da comissão de pós-graduação** da FMVZ-USP.

RESUMO

SASAHARA, T. H. C. **Efeitos da obstrução parcial da uretra na musculatura da bexiga urinária de coelhos:** estudo morfométrico e estereológico. [Effects of the partial urethral obstruction on the rabbit's urinary bladder's musculature: a stereological and morphometric study]. 2006. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Os efeitos da obstrução uretral parcial na musculatura da bexiga urinária de coelhos foram investigadas usando as ferramentas estereológicas. Foram utilizadas 12 fêmeas de coelhos da raça Norfolk, com três meses de idade e peso corporal variando de 2,5-3,0 kg. O procedimento cirúrgico consistiu de celiotomia mediana retro-umbilical para exposição da bexiga urinária. A parede dorsal da uretra foi divulsionada de sua íntima associação com o útero e vagina, o suficiente para a passagem de fio nylon 2-0. Um pino de Steinmann (3 mm de diâmetro) foi interposto temporariamente entre a uretra e o fio para determinar indiretamente o grau de obstrução uretral. Após três, sete e doze semanas os animais foram ortotanasiados e comparados com o grupo de animais controle (não obstruídos). Os fragmentos da bexiga foram preparados para microscopia de luz. Cortes seriados foram realizados para o estudo morfométrico e estereológico. Os três eixos: crânio-caudal (CC), dorso-ventral (DV) e latero-lateral (LL) aumentaram em todos os grupos analisados: controle, 3, 7 e 12 semanas. Os valores para CC foram estatisticamente similares para 3, 7 e 12 semanas. O mesmo foi observado no eixo DV. Os valores para o eixo LL foram similares para os grupos de 7 e 12 semanas. O estudo morfométrico baseou-se em determinar o tamanho da fibra (área seccional) e comprimento da fibra muscular. Nos animais do grupo de 3, 7 e 12 semanas foi observado um aumento de 4,63x, 4,32x e 7,10x no tamanho celular e um decréscimo de 2,55x, 1,94x e 4,04x no comprimento da fibra muscular quando comparados ao grupo controle. O estudo estereológico baseou-se em estimar o volume referência (V_{ref}), a

densidade numérica (Nv), o número total de fibras musculares (N), a densidade de volume (Vv) e o volume da fibra muscular (Vn). O Vref apresentou um aumento de 11,07x, 7,98x e 31,7x quando comparado com o grupo controle. A densidade numérica (Nv) aumentou 0,06x e 0,05x para os grupos de 3 e 7 semanas, respectivamente, em relação ao grupo controle. O grupo de 12 semanas, no entanto, apresentou um decréscimo de 0,01x em comparação com o grupo controle. Os grupos de 3, 7 e 12 semanas apresentaram, respectivamente, um aumento de 0,81x, 12,56x e 38,43x em número total de células. A densidade de volume (Vv) para os grupos de 3, 7 e 12 semanas apresentou um aumento de 0,97x, 0,56x e 0,86x em relação ao grupo controle. E finalmente, o volume médio da fibra muscular apresentou um aumento de 0,62x, 0,81x e 0,82x, respectivamente para os animais de 3, 7 e 12 semanas. Os dois mecanismos: hipertrofia e hiperplasia ocorrem na bexiga urinária de coelhos, porém não sabemos a seqüência exata em que aparecem.

Palavras-chave: Bexiga. Células musculares lisas. Obstrução uretral. Estereologia. Coelho.

ABSTRACT

SASAHARA, T. H. C. **Effects of the partial urethral obstruction on the rabbit's urinary bladder's musculature:** a stereological and morphometric study. [Efeitos da obstrução parcial da uretra na musculatura da bexiga urinária de coelhos: estudo morfométrico e estereológico]. 2006. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

The effects of partial urethral obstruction on rabbit's urinary bladder musculature were investigated using stereological designed methods. A total of 12 female Norfolk rabbits weighing from 2.5 to 3 kg were used. A retro-umbilical celiotomy was made to expose the urinary bladder. The urethra's dorsal wall was isolated from its association with the uterus. A 3mm-Steinmann-pin was positioned on the urethra to produce a standard degree of obstruction and a ligature was tied up around it, using a 2-0 nylon silk. Three, seven and twelve weeks after the surgery procedures the rabbits were euthanised. Bladder fragments were prepared for light microscopy. Serial sections were performed to morphometric and stereological study. In relation to the bladder axis: cranio-caudal (CC), dorso-ventral (DV) and latero-lateral (LL) increased in all groups analysed: control, 3, 7 and 12 week-obstructed animals. Values for CC were statistically similar for 3, 7 and 12-week-obstructed groups. The same was observed for DV axis. The LL axis showed values statistically similar for 7 and 12-week-obstructed groups. The morphometric study was based on the muscle fibre size (sectional area) and the muscle fibre length. In 3, 7 and 12-week-obstructed animals, it was observed a 4.63, 4.32 and 7.10-fold cell size increase and a 2.55, 1.94 and 4.04-fold decrease in length, respectively, when compared to control group. As for the stereological study. V_{ref} presented a 11.07, 7.98 and 31.7-fold increase when compared to control subjects. Numerical density (N_v) increased by 0.06 and 0.05 in 3 and 7-week-obstructed groups, respectively, in relation to control group. Twelve week-obstructed group. Presented however a 0.01x-decrease

compared to control animals. Three, seven and twelve-week-obstructed groups presented, respectively, 0.81, 12.56 and 38.43-fold increase in total number of cells (N). Volume density presented a 0.97, 0.56 and 0.86-fold increase in 3, 7 and 12-week-obstructed groups, respectively. And finally, mean muscle cell volume (Vn) presented a 0.62, 0.81 and 0.82-fold in 3, 7 and 12-week obstructed groups, respectively. Both mechanisms: hypertrophy and hyperplasia happened to occur on rabbit's urinary bladder, though we do not know the exact sequence in which they appear altogether.

Key words: Bladder. Smooth muscle cells. Urethral Obstruction. Stereology. Rabbit.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 BEXIGA E EPITÉLIO URINÁRIO.....	16
2.2 CONSEQÜÊNCIAS DA OBSTRUÇÃO PARCIAL URETRAL NA BEXIGA URINÁRIA.....	16
2.3 HIPERTROFIA E HIPERPLASIA DA MUSCULATURA DA BEXIGA URINÁRIA ..	18
2.4 PROLIFERAÇÃO CELULAR.....	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 ANIMAIS	22
3.2 MÉTODOS.....	23
3.2.1 Procedimento operatório	23
3.2.2 Procedimento histológico	24
3.2.3 Estudo morfométrico	25
3.2.3.2 Tamanho celular (área seccional).....	25
3.2.3.3 Comprimento da fibra muscular	26
3.2.4 Estudo estereológico	27
3.2.4.1 Volume das fibras musculares na bexiga urinária (V_{ref}).....	27
3.2.4.2 Densidade numérica (N_v).....	28
3.2.4.3 Número total de fibras musculares (N).....	30
3.2.4.4 Densidade de volume da fibra muscular (V_v).....	29
3.2.4.5 Volume médio das fibras musculares (V_n)	30
3.2.5 Análise estatística	30
4 RESULTADOS	32
4.1 ASPECTOS QUANTITATIVOS: MORFOMETRIA	32
4.1.1 Tamanho (área seccional) das fibras musculares	35
4.1.2 Comprimento médio da fibra muscular (L)	35
4.2 ESTUDO ESTEREOLÓGICO.....	37
4.2.1 Volume das fibras musculares na bexiga urinária (V_{ref})	37
4.2.2 Densidade numérica de fibras musculares (N_v)	37
4.2.3 Número total de fibras musculares (N)	39
4.2.4 Densidade de volume das fibras musculares (V_v)	41
4.2.5 Volume médio da fibra muscular (V_n)	41

5 DISCUSSÃO	43
5.1 ASPECTOS QUANTITATIVOS: MORFOMÉTRICOS	43
5.1.1 Tamanho da fibra muscular	46
5.1.1.1 Área seccional.....	46
5.1.1.2 Comprimento da fibra muscular	46
5.2 ASPECTOS QUANTITATIVOS: ESTEREOLÓGICO	47
5.2.1 Volume das fibras musculares na bexiga urinária	47
5.2.2 Densidade numérica (Nv)	48
5.2.3 Número total de fibras musculares (N)	48
5.2.4 Densidade de volume (Vv)	49
5.2.5 Volume médio da fibra muscular (Vn)	50
6 CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

Distúrbios morfo-funcionais da bexiga urinária têm despertado o interesse de urologistas que procuram correlacioná-los com as doenças que acometem o aparelho urogenital de mamíferos. Portanto, muitos estudos têm avaliado o rápido remodelamento da parede da bexiga, incluindo a sua hipertrofia, neovascularização, reorganização da sua musculatura lisa e do tecido conjuntivo, bem como a plasticidade da inervação vesical extrínseca e intrínseca após a obstrução parcial da uretra (CHICHESTER et al., 2001; GABELLA; UVELIUS, 1993; GABELLA; UVELIUS, 1994, UVELIUS; MATTIASSON, 1984; SCHRÖDER et al., 2001).

Essa obstrução pode ser resultante, por exemplo, da hipertrofia e da hiperplasia benigna da próstata, muito comum no homem e nos cães senis, e que conseqüentemente promove retenção urinária, distensão da bexiga e hipertrofia da sua musculatura (COFFEY; WALSH, 1990, KRAWIEC, 1989, OURAD et al., 2003; SPIGT et al., 2004). O tumor de próstata, em animais e em humanos e a doença do trato urinário inferior dos felinos também são exemplos de doenças associadas à redução do lúmen uretral (COLOMBEL et al., 1997; HOUSTON et al., 2003, O'LEARY, 2003, REZNICEK, 2000, SWINNEY, 1998).

Diante do número expressivo de causas da obstrução uretral, muitos pesquisadores vêm promovendo a sua obstrução experimental para avaliar as alterações decorrentes na musculatura da bexiga urinária.

Neste contexto, Gabella e Uvelius (1993) demonstraram que a hipertrofia da musculatura da bexiga de ratos é acompanhada pelo aumento do tamanho (volume) dos neurônios do gânglio pélvico, que é responsável pela inervação extrínseca da bexiga urinária.

Coelhos têm sido muito utilizados como modelo experimental para avaliar as disfunções obstrutivas da bexiga, devido às semelhanças deste órgão com a bexiga urinária humana (KATO et al.,1990; LEVIN et al., 1994; LIEB et al., 2000). Como no homem, o esvaziamento da bexiga urinária de coelhos ocorre durante a fase sustentada da resposta do órgão à contração bifásica. A curva cistométrica também é similiar à humana na forma (SCHRÖDER et al., 2001). A importância da utilização de modelos experimentais baseia-se na possibilidade de produzir a obstrução parcial da uretra, entender os mecanismos envolvidos na resposta da bexiga urinária e aplicar estes conhecimentos no tratamento clínico e cirúrgico de animais e de humanos acometidos por processos obstrutivos uretrais similares.

O estudo do comportamento da sua musculatura vesical, sob o aspecto quantitativo (morfométrico e estereológico) será útil para estabelecer comparações entre as diferentes espécies com a possibilidade de se obter resultados que poderão oferecer suporte para estudos urodinâmicos e de alteração da motilidade vesical decorrentes de processos obstrutivos com a expectativa de gerar conhecimento básico para seu tratamento clínico e/ou clínico-cirúrgico. Assim, foram estudados os efeitos da obstrução parcial da uretra (após períodos distintos) na musculatura da bexiga urinária de coelhos. Desta forma, os seguintes aspectos foram investigados para avaliar a hipertrofia e a hiperplasia da musculatura lisa: tamanho celular (área seccional), comprimento médio da fibra muscular, volume total da musculatura na bexiga urinária, densidade numérica de fibras musculares, número total de fibras musculares, densidade de volume das fibras musculares e volume médio da fibra muscular.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A presente revisão da literatura será dividida em: bexiga e epitélio urinário, conseqüências da obstrução parcial uretral na bexiga urinária, hipertrofia e hiperplasia da musculatura da bexiga urinária e proliferação celular.

2.1 BEXIGA URINÁRIA E UROTÉLIO

A bexiga é um órgão oco constituído por músculo liso, por uma mucosa e revestido externamente por serosa peritoneal e por uma fascia. A parede muscular é constituída por células musculares lisas, formando o músculo detrusor. A parede da bexiga consiste de três camadas frouxamente dispostas de músculo liso: longitudinal interna, circular externa e longitudinal mais externa.

O epitélio urinário ou urotélio é encontrado apenas dentro das vias de condução do sistema urinário. O epitélio é estratificado. As células da lâmina basal são compactas e cúbicas ou cilíndricas, as da camada intermediária são poligonais e as células superficiais são cilíndricas altas com grandes núcleos redondos (BURKITT, 1993; ANDERSSON, 2003)

2.2 CONSEQÜÊNCIAS DA OBSTRUÇÃO PARCIAL URETRAL NA BEXIGA URINÁRIA

Estudos experimentais foram conduzidos em diferentes espécies para avaliar os efeitos da obstrução parcial da uretra na bexiga urinária. Um aumento significativo no peso da bexiga de coelhos foi observado após a obstrução parcial da uretra. O peso médio da bexiga de um animal do grupo controle foi de $2.39 \pm 0,15$ g. Após duas semanas de obstrução, o peso médio da bexiga foi de $7.96 \pm 0,90$ g. Em ratos, o peso aumentou cerca de sete a dez vezes em um período de seis a oito semanas pós-obstrução parcial.

A obstrução parcial também resultou na elevação dos níveis de prostaglandina tanto na musculatura lisa quanto na mucosa da bexiga urinária de coelhos. Nas bexigas de ratos, notou-se uma decrescente habilidade em produzir pressão para pequenos volumes, indicando um dramático remodelamento da musculatura lisa vesical. Durante este processo, os neurônios do gânglio pélvico também sofreram hipertrofia. Os neurônios menores tornaram-se menos numerosos, enquanto os maiores, tornaram-se mais numerosos quando comparado com o mesmo gânglio de animais controle (GABELLA et al., 1992, MATTIASSON; UVELIUS, 1982, MASICK et al., 2001).

O fluxo sanguíneo diminuiu significativamente em bexigas de coelhos e suínos após um período de duas a quatro semanas de obstrução uretral parcial, causando uma redução na contratilidade e no metabolismo do músculo detrusor. Esta redução, porém, não foi observada na mucosa. A mucosa requer uma maior vascularização do que o músculo. Estudos *in vitro* mostraram que a mucosa possuía uma sensibilidade maior à isquemia do que o músculo liso. Microvasos foram vistos na região de transição entre o músculo liso detrusor e a serosa. Após duas semanas toda a serosa estava vascularizada. Neste período, verificou-se também que a concentração de fosfato de alta energia do músculo detrusor estava normal bem como as funções mitocondriais e do retículo sarcoplasmático (CHICHESTER et al., 2001,

GREENLAND et al., 1997, LIN et al., 1995; SCHRÖDER et al., 2001; TONG-LONG LIN et al., 1998).

O aumento da síntese de prostaglandina foi verificado no cão (GILMORE; VANE, 1971), no rato (JEREMY et al., 1984), no homem (JEREMY et al., 1987) e no coelho (MASICK et al., 2001). A prostaglandina está relacionada ao funcionamento normal e às alterações de vários órgãos, incluindo a bexiga urinária. Está também envolvida na homeostase hemodinâmica visceral.

Mauroy (1997) verificou em humanos com hiperplasia benigna de próstata, que o músculo detrusor teve a sua capacidade de complacência reduzida após a compressão da uretra, indicando um inadequado balanço entre a contratilidade vesical e a resistência uretral. Esta compressão ocorreu devido à hiperplasia da próstata. O aumento do lobo mediano da próstata também pode causar irritação do trígono vesical, dificultando a eliminação da urina.

A hiperplasia benigna de próstata (HBP) também foi estudada por Yokota et al. (2004). A HBP produz mudanças nos padrões urodinâmicos e está freqüentemente associada ao aumento da pressão do músculo detrusor durante a eliminação da urina e à baixa taxa de sua eliminação. Para estudar este fenômeno, a hipertrofia da próstata foi induzida em cães da raça Beagle pelo uso dos hormônios 5-alfa-dihidrotestosterona (DHT) e 17-beta-estradiol (E). O estudo mostrou que houve obstrução, caracterizada pelo aumento da pressão do músculo detrusor de 33.3 ± 10.5 para 50.8 ± 10.7 cm H₂O e pela diminuição do fluxo de urina de 8.6 ± 2.1 para 6.9 ± 0.9 mL/seg.

2.3 HIPERTROFIA E HIPERPLASIA DA MUSCULATURA DA BEXIGA URINÁRIA

O efeito da idade na função e estrutura da bexiga de coelhos após obstrução uretral parcial foi verificado por Agartan et al. (2005). Dois grupos foram avaliados: oito jovens (7 semanas de idade) e oito idosos (2 anos de idade). Quatro animais de cada grupo foram submetidos à cirurgia. A resposta à contratilidade foi similar entre jovens e idosos do grupo controle. No grupo operado, a resposta à contratilidade também foi similar entre jovens e idosos, porém foi menor quando comparada ao grupo controle. Tanto os coelhos jovens quanto os idosos operados apresentaram hipertrofia da musculatura lisa, os idosos, no entanto, apresentaram um aumento na espessura da serosa. Nos jovens notou-se uma significativa inflamação, hemorragia e expansão da lâmina própria.

O coelho ainda foi utilizado para avaliar o remodelamento da musculatura lisa após obstrução uretral parcial. Foi demonstrado um aumento na musculatura da bexiga de cerca de três a cinco vezes em comparação às bexigas controle. A área seccional total da bexiga vazia foi de 77mm² na bexiga normal e de 141 mm² na bexiga descompensada. A área seccional das células musculares também foi mensurada. Nas bexigas descompensadas, a área média foi de 145.7 μm² ± 13.4 e nas bexigas controles, a área média foi de 55.1 μm² ± 6.4. O remodelamento da musculatura não é homogêneo por toda a extensão da bexiga, indicando que este órgão possui diferenças regionais para propriedades mecânicas e farmacológicas (SCHRÖDER et al., 2002; ZHANG et al., 2004).

O aumento no peso da bexiga urinária de ratos está associado à hiperplasia e à hipertrofia da musculatura lisa, porém estes dois processos ocorrem em momentos diferentes durante o período obstrutivo da uretra. A hiperplasia celular é mais evidente na fase inicial e é induzida pela liberação de fatores de crescimento, tais como o TGF-β. Na fase mais tardia da obstrução, cerca de 20 semanas, a hipertrofia passa a ser responsável pelo aumento no peso da bexiga (HANAI et al., 2002).

2.4 PROLIFERAÇÃO CELULAR

A proliferação celular tem sido investigada em diversos trabalhos com enfoque no ciclo de divisão celular. A proliferação celular e a atividade apoptótica podem ser investigadas pelo uso dos marcadores de proliferação celular, que identificam as diferentes fases do ciclo celular. A fase M pode ser identificada em preparações convencionais de secções histológicas e revelam o índice mitótico (a proporção do total de células ou núcleos que apresentam figuras mitóticas). Outra fase que pode ser identificada é a fase S, na qual a síntese de DNA ou outra atividade associada a proteínas é marcada pela trimetidina tritiada ou pelo bromodeoxiuridina (BrdU). Estes marcadores revelam o índice da fase S (a proporção do total de células ou núcleos que estão na fase S). Outros marcadores estão disponíveis, incluindo a família do anticorpo Ki67 e antígenos nucleares associados à proliferação, PCNA. Estes anticorpos identificam todo o ciclo celular e são utilizados como marcadores que revelam o índice relacionado ao fator de crescimento (a proporção de todas as células ou núcleos que estão em ciclo celular). As fases mitóticas e o índice de apoptose podem ser marcados morfológica e imunocitoquimicamente (MAYHEW et al., 2003).

Foi demonstrado, em células musculares lisas da aorta de ratos machos, que existe associação entre a progressão do ciclo celular e a expressão de genes envolvidos na ativação celular. Numerosas doenças envolvendo proliferação celular estão também associadas com mudanças fenotípicas, porém existem poucas evidências de que o fenótipo celular e a resposta celular a estímulos externos são modificados durante a passagem pelas diferentes fases do ciclo celular. Uma combinação de imunocitoquímica e citometria de fluxo foi utilizada para documentar que o TNF α foi inibido durante a fase G1 e S, mas não durante a fase G0 ou G2/M (BRAUN-DULLAEUS et al., 2004).

Em cobaias machos submetidas à obstrução parcial da uretra, observou-se que a síntese de DNA e mitose ocorreram nos animais obstruídos, indicando hiperplasia muscular. Após remover o anel, o peso do músculo detrusor e o conteúdo de DNA voltaram aos níveis basais dos animais controle (KARIM et al., 1992).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo foram descritos os materiais e os métodos para a obtenção dos resultados.

3.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 12 fêmeas de coelhos da raça Norfolk, com três meses de idade e peso corporal variando de 2,5-3 Kg, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista - UNESP (Campus de Botucatu – SP). Os animais foram distribuídos em quatro grupos: controle, 3 semanas de obstrução, 7 semanas de obstrução e 12 semanas de obstrução, sendo 3 animais por grupo.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Centro de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ-UNESP (Campus de Botucatu). O procedimento pré-anestésico (sedação) foi feito com a utilização de acepromazina 0.2% (0,25mg/kg/IV) (Univet) e butorfanol (0,25mg/kg/IV) (Fort Dodge). A anestesia foi conduzida com a associação tiletamina e zolazepam (5mg/kg/IV) (Fort Dodge). Para manutenção da anestesia foram utilizados os mesmos anestésicos, porém a dose foi a metade da dose inicial (2,5mg/kg/IV).

3.2 MÉTODOS

Os métodos foram divididos em: procedimento operatório, procedimento histológico, estudo morfométrico, estudo estereológico e análise estatística.

3.2.1 Procedimento operatório

Uma celiotomia mediana retro-umbilical foi realizada para exposição da bexiga urinária. A parede dorsal da uretra foi divulsionada de sua íntima associação com o útero, apenas o suficiente para a passagem de fio nylon 2-0. Um pino de Steinmann de 3 mm de diâmetro foi interposto temporariamente entre a uretra e o fio para determinar indiretamente o grau de obstrução uretral parcial. A bexiga foi reposicionada na cavidade pélvica e uma celiorrafia de rotina foi feita utilizando-se sutura simples contínua e fio nylon 2-0.

Para a antibioticoterapia pós-operatória utilizou-se a enrofloxacina 2,5 % (5mg/kg/SC) (Schering-Plough) por quatorze dias. Além disso, foi utilizada, durante 3 dias, flunixinameglumina 10mg (1mg/kg/SC) (Schering-Plough) que é um anti-inflamatório não hormonal de ação analgésica, anti-pirética e anti-endotoxêmica, também foi realizada. O cloridrato de buprenorfina (0,02 mg/kg/SC) (Schering-Plough) foi usado como analgésico, a cada 12 horas, por sete dias. Os animais foram ortotanasiados com o uso de uma dose elevada de pentobarbital (150 a 200mg/kg/IV), três, sete e doze semanas após a cirurgia. Os animais do grupo controle (animais não obstruídos e utilizados para o estudo comparativo) foram eutanasiados com três meses de idade.

3.2.2 Procedimento histológico

A bexiga urinária foi localizada após celiotomia mediana retro-umbilical. A urina foi removida por meio de uma cistocentese, realizada na face ventral do colo da bexiga. Após o seu esvaziamento, o órgão foi preenchido “*in situ*” com uma solução de tampão fosfato salino PBS (0,4M) (pH 7,4) (Sigma). O conteúdo foi aspirado e descartado. A bexiga foi então preenchida com nova solução de PBS. Esta operação foi repetida até que o conteúdo retirado estivesse límpido. Posteriormente, a bexiga foi preenchida com solução fixadora de Karnovsky modificada (glutaraldeído 5% e formoldeído 1%) em tampão cacodilato de sódio (pH 7,4) (0,125 M) (EMS). O volume total injetado na bexiga indicou a sua capacidade volumétrica. A bexiga foi, então, removida e pesada repleta e vazia, obtendo-se o peso úmido e o peso seco, respectivamente. Este último foi utilizado posteriormente para avaliar o grau de hipertrofia da bexiga e como estimativa do volume da bexiga urinária.

A bexiga foi, então, aberta por meio de uma incisão na sua linha mediana ventral e distendida. Um sistema teste foi posicionado sobre a bexiga e fragmentos de 4mm² foram coletados, sob uma fração 1/8, seguindo o padrão S.U.R.S de amostragem (Systematic Uniform Random Sampling).

Desta forma, os fragmentos da bexiga urinária foram transferidos e imersos em uma solução de glutaraldeído 5% e formoldeído 1% em tampão cacodilato de sódio (0,125M) (pH 7,4) (EMS), permanecendo cerca de 72 horas. Em seguida, foram pós-fixados em tetróxido de ósmio (2%) (EMS), contrastados em bloco com solução de acetato de uranila e desidratados em série crescente de etanóis e de óxido de propileno (EMS) e embebidos em Araldite (502 Polyscience). O material embebido permaneceu por três dias a temperatura de 60 - 70° C.

A partir de cada bloco, cortes seriados de 0,5 μm de espessura foram coletados em lâmina de vidro, corados com Azul de Toluidina, montados com Araldite e examinados à microscopia de luz de secções semi-finas.

3.2.3 Estudo morfométrico

O estudo morfométrico consistiu em determinar: o tamanho da bexiga, o tamanho celular e o comprimento da fibra muscular.

3.2.3.1 Tamanho da bexiga urinária

Para obter o tamanho da bexiga urinária dos coelhos do grupo controle e do grupo operado, três eixos foram mensurados: eixo crânio-caudal, eixo dorso-ventral e latero-lateral da bexiga urinária. Estes valores foram obtidos utilizando um paquímetro digital Digimess®.

3.2.3.2 Tamanho celular (área seccional)

Para obter a área das células musculares foram selecionadas secções referências. As imagens de cada secção selecionada foram capturadas a partir de uma câmera digital DFC 300

FX® (Leica) acoplada ao microscópio Leica DMR®. Foi estabelecido um intervalo, conhecido como “k”, este intervalo representa a distância entre as secções referências investigadas. Para determinar o “k” mediu-se o comprimento do material incluído na resina. Para obter 10 secções referências por bloco, dividiu-se o comprimento por 10, obtendo o valor de “k”. Os valores de “k” variaram de 100 a 500, ou seja, entre uma secção referência e outra 100 a 500 secções de 0,5µm de espessura foram descartadas. Em cada secção referência foi utilizado um sistema teste com seis “frames”, cuja área total foi de 906 µm² para objetiva de 100x e de 5585,7µm², para objetiva de 40x. Todas as células, que estavam contidas na região de aceitação da “frame” e que possuíam secções transversais, foram identificadas e estimadas suas áreas, a partir do programa de imagens Leica Q-Win®. As células pertenciam a “counting frame” se estavam parcial ou completamente dentro da “frame” e não tocavam a linha de exclusão (GUNDERSEN, 1977). A área seccional média foi obtida a partir da razão entre a somatória das áreas de todas as células da região e o número total de células musculares da região considerada.

3.2.3.3 Comprimento da fibra muscular

O comprimento da fibra muscular foi estimado dividindo o volume médio da célula pela área seccional, de acordo com a fórmula: $L = V_n/a$ e os resultados foram dados em µm.

3.2.4 Estudo estereológico

O estudo estereológico consistiu em determinar: o volume das fibras musculares na bexiga, a densidade numérica, o número total de fibras musculares, a densidade de volume da fibra muscular e o volume médio das fibras musculares.

3.2.4.1 Volume das fibras musculares na bexiga urinária (V_{ref})

O volume total das fibras musculares nas bexigas urinárias foi estimado multiplicando-se o volume da bexiga, obtido a partir do seu peso seco, em gramas, pelo V_v correspondente, assumindo uma densidade de 1g/cm^3 , de acordo com Ercan et al. (2002) e Scherle (1970).

$V_{fm} = V \times V_v$, sendo V_{fm} = volume das fibras musculares na bexiga urinária, V = volume da bexiga obtido a partir do peso seco e V_v = densidade de volume das fibras musculares na bexiga urinária.

3.2.4.2 Densidade numérica (N_v)

O método do disector físico foi usado para estimar o número total de fibras musculares. Este método consiste em contar o número de partículas, neste caso núcleos, que estão presentes na secção referência e não estão na secção *look-up* (secção espaçada a uma determinada altura da secção referência), o mesmo procedimento foi realizado no sentido

oposto, ou seja, o que era a secção referência passa a ser a secção *look-up*. Tal procedimento foi adotado para aumentar o número de disectors. Os disectors foram sistemática e aleatoriamente aplicados para cobrir todo o fragmento da bexiga. Devido ao fato de que a célula muscular lisa tem apenas um núcleo, o número total de núcleos equivale ao número total de células, assim o núcleo foi eleito a unidade de contagem. Dessa maneira, os núcleos que estavam presentes na secção referência e não estavam na secção *look-up* foram contados (Q). A densidade numérica é obtida dividindo-se a somatória de Q de todos os disectors pelo volume total dos disectors, que é obtido a partir do produto entre a área do sistema teste e a altura do disector ($V_{dis} = a \times h$). $N_v = \sum Q / \sum V_{dis}$. No nosso caso, a área do sistema teste foi de $247,94 \mu\text{m}^2$ e a altura do disector assumiu dois valores: $1 \mu\text{m}$ ou $2 \mu\text{m}$, dependendo da bexiga que estava sendo investigada.

Dessa forma, um sistema teste composto por oito “frames” foi sobreposto em cada secção. Os campos histológicos na secção referência foram selecionados usando uma fração e uma tabela de números aleatórios. Para o grupo controle, caso 1, 1040 disectors foram usados: 65 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 300 secções (k) e a altura foi de $1 \mu\text{m}$. No caso 2, 336 disectors foram usados: 21(campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 200 secções (k) e a altura de $2 \mu\text{m}$. No caso 3, 240 disectors foram usados: 15 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 500 secções(k) e a altura de $2 \mu\text{m}$. Para os animais do grupo de 3 semanas, caso 1, 384 disectors foram usados: 24 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 200 secções (k) e a altura de $2 \mu\text{m}$. No caso 2, 1040 disectors foram usados: 65 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 300 secções (k) e a altura de $1 \mu\text{m}$. No caso 3, 1984 disectors foram usados: 124 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 100 secções (k) e a altura de $2 \mu\text{m}$. Para o grupo de 7 semanas, caso 1, 608 disectors foram usados: 38 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de

500 secções (k) e a altura de 2 μm . No caso 2, 800 disectors foram usados: 50 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 200 secções (k) e a altura de 1 μm . No caso 3, 896 disectors foram usados: 56 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 287 secções (k) e a altura de 1 μm . Para os animais de 12 semanas, caso 1, 496 disectors foram usados: 31 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 100 secções (k) e a altura de 2 μm . No caso 2, 1040 disectors foram utilizados: 65 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 267 secções (k) e a altura de 1 μm . No caso 3, 192 disectors foram usados: 12 (campos) x 2 x 8 (“frames”), o intervalo entre cada disector foi de 200 secções (k) e a altura de 2 μm .

O volume dos disectors foi, portanto, obtido multiplicando-se a área de cada frame (247,94 μm^2), pelo número de “frames” (8), pela altura do disector (1 μm ou 2 μm , dependendo da bexiga que estava sendo investigada) e finalmente pelo total de disectors obtidos, que foi variável para cada animal.

3.2.4.3 Número total de fibras musculares (N)

O número total de fibras musculares foi obtido multiplicando-se o volume total das fibras musculares (V_{ref}) pela densidade numérica (N_v) de acordo com a fórmula: $N = V_{\text{ref}} \times N_v$. O número total de fibras musculares foi obtido pela combinação entre o método do disector físico e a estimativa de volume pelo método de Scherle (1970).

3.2.4.4 Densidade de volume da fibra muscular (V_v)

No nosso caso, a densidade de volume (V_v) corresponde à fração do volume total da bexiga ocupada por fibras musculares, sendo assim os valores variam entre zero e um, mas geralmente são expressos em porcentagem. Este método também foi utilizado por Ercan et al. (2002) para estimar a V_v da túnica muscular da bexiga urinária de ratos adultos. Para cada secção referência selecionada, que também foi escolhida a partir da tabela de números aleatórios, um sistema teste de pontos foi sobreposto à imagem escolhida e capturada pela câmera digital DFC 300 F® (Leica) acoplada ao microscópio óptico Leica DMR. Os pontos que tocavam as fibras musculares foram contados. A densidade de volume foi obtida a partir da razão entre a somatória dos pontos que tocaram as fibras musculares (fm) e o total de pontos que tocavam o espaço referência (er): $V_v (fm, er) = \Sigma P (fm) / \Sigma P (er)$.

3.2.4.5 Volume médio das fibras musculares (V_n)

O volume médio da célula muscular foi obtido dividindo-se a densidade de volume (V_v) pela densidade numérica (N_v). A seguinte fórmula foi utilizada para o cálculo do V_n : $V_n = V_v / N_v$, sendo V_v a densidade de volume e N_v a densidade numérica.

3.2.5 Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados pelo programa Statistical Analysis System (SAS, 1995). A análise de variância (one-way ANOVA) dos resultados foi realizada em cada

grupo nos parâmetros estereológicos e morfométricos. Na detecção de efeitos significativos ($p < 0,05$), foi utilizado o teste de Tukey para a comparação múltipla entre as médias dos diferentes grupos analisados.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos foram divididos em: aspectos quantitativos: morfométricos e estudo estereológico.

4.1 ASPECTOS QUANTITATIVOS: MORFOMETRIA

As bexigas urinárias dos coelhos, que foram submetidos à cirurgia, apresentaram-se aumentadas de tamanho quando comparadas às bexigas controle. O aumento de tamanho foi comprovado a partir dos valores obtidos pelas medidas (em cm) dos três eixos: eixo crânio-caudal, eixo dorso-ventral e latero-lateral. O grupo controle apresentou para o eixo crânio-caudal, para o eixo dorso-ventral e para o eixo latero-lateral, valores que variaram, respectivamente, de 2,02 a 5,20 cm (média= 4,1 cm, DP = 1,8), de 1,0 a 2,5 cm (média = 1,7 cm, DP = 0,7) e de 2,16 a 2,50 cm (média = 2,3, DP = 0,2). Para o grupo obstruído de 3 semanas os valores para os eixos crânio-caudal, dorso-ventral e latero-lateral variaram respectivamente de 6,0 a 8,0 cm (média = 6,7 cm, DP = 1,1), de 3,0 a 6,0 cm (média = 4,2 cm, DP = 1,6) e de 3,0 a 5,5 cm (média = 4,2, DP = 1,2). O grupo de 7 semanas apresentou valores que variaram de 6,25 a 8,10 (média = 7,2, DP = 1,0) cm, 3,61 a 6,10 cm (média = 4,8 cm, DP= 1,5) e 6,98 a 9,15 cm (média = 8,3 cm, DP = 1,5) para os eixos crânio-caudal, dorso-ventral e latero-lateral, respectivamente. O grupo de 12 semanas apresentou para os eixos citados acima valores que variaram de 7,75 a 8,03 cm (média = 7,8 cm, DP= 0,13), 4 a 6,5 cm (media = 4,8 cm, DP = 1,24) e 7,7 a 9,7 cm (média = 8,6, DP = 1,0) (Figura 1)

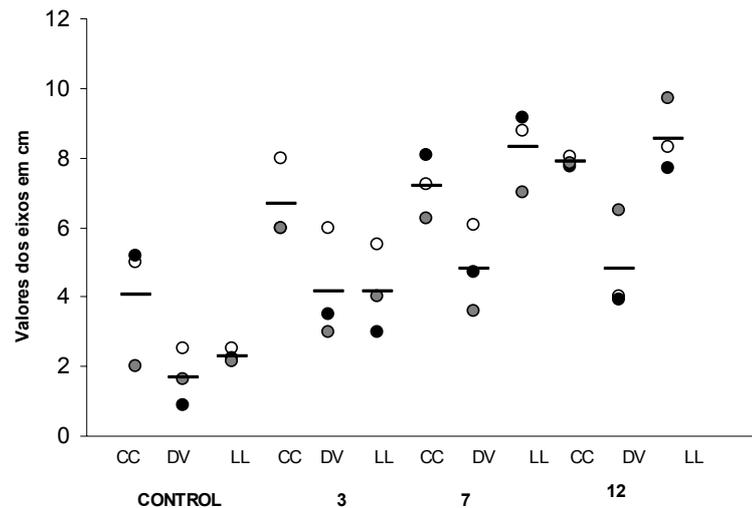


Figura 1 - Gráfico representando os eixos da bexiga em cm: crânio-caudal (CC), dorso-ventral (DV) e latero-lateral (LL) e a sua distribuição no grupo controle e nos diferentes grupos de obstrução: 3, 7 e 12 semanas. O grupo controle difere dos grupos de 3, 7 e 12 para o eixo CC ($p=0,0178$). O grupo controle difere dos grupos de 3, 7 e 12 semanas para o eixo DV ($p=0,0565$). Para o eixo LL, o grupo controle difere dos grupos de 3, 7 e 12 semanas ($p=0,0001$). Barras horizontais e círculos representam valores individuais dentro de cada grupo

Ao se avaliar as bexigas sob o aspecto microestrutural, a partir de cortes semi-finos, observou-se alteração na morfologia celular. Nas bexigas hipertrofiadas, as células musculares, em cortes transversais, apresentaram-se aumentadas de tamanho (vide estudo quantitativo), heterogêneas e irregulares, com formato ovóide. Esta alteração foi mais evidente nos animais de 7 e 12 semanas de obstrução (Figuras. 2 C e 2 D). As células das bexigas de animais controle e de 3 semanas de obstrução, apresentaram-se menores (vide estudo quantitativo), homogêneas e de aspecto regular. As células musculares apresentaram tamanho semelhante dentro de um dado feixe (Figuras. 2 A e 2 B).

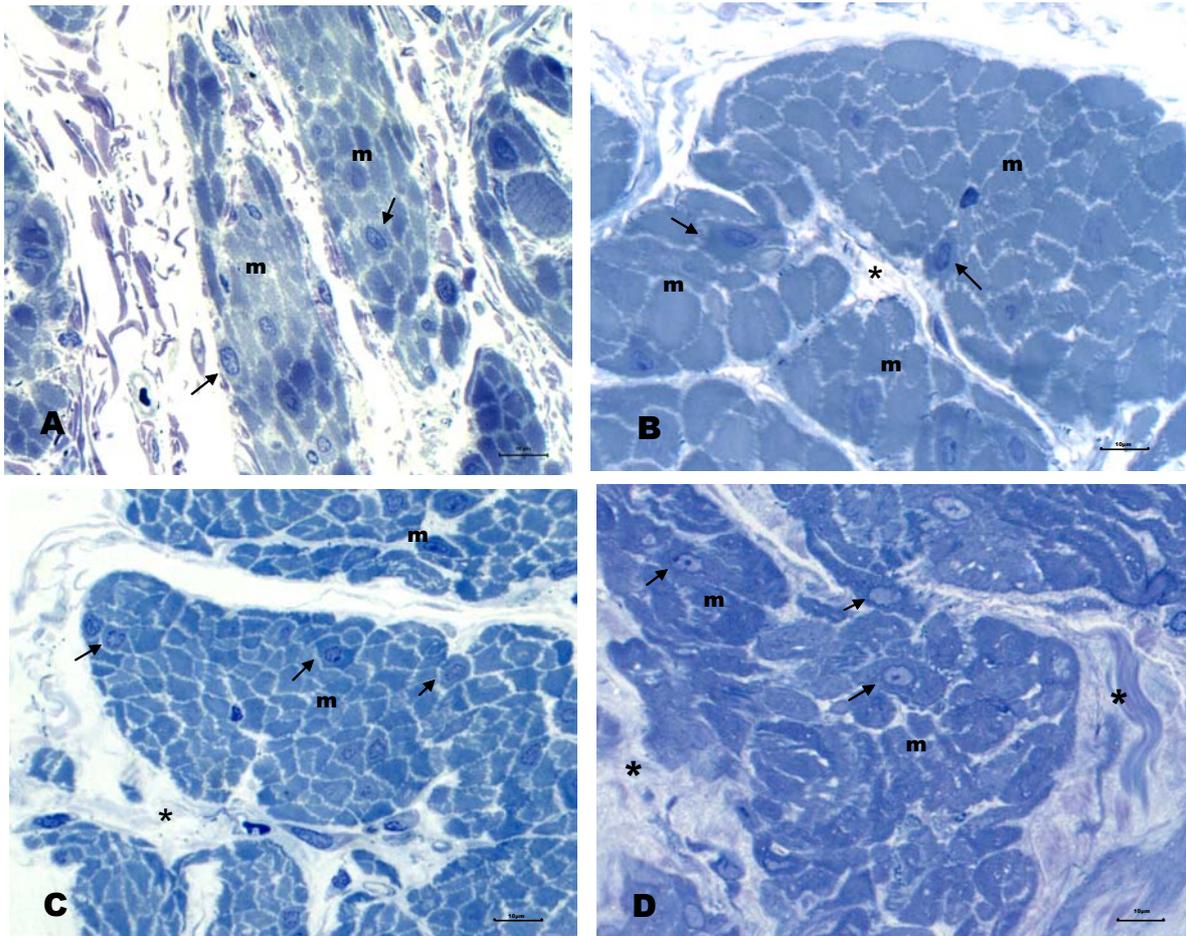


Figura 2 (A-D) - .Fotomicrografia da túnica muscular da bexiga urinária de coelhos. (A) animal controle. (B) animal com 3 semanas de obstrução. (C) animal com 7 semanas de obstrução e (D) animal com 12 semanas de obstrução. Letras (m) indicam feixes musculares, setas apontam células musculares e (*) indica o tecido conjuntivo intersticial. Técnica de coloração: Azul de Toluidina. Escala de barra: 10 µm

4.1.1 Tamanho (área seccional) das fibras musculares

O grupo controle apresentou área seccional que variou de 6,73 a 12,7 μm^2 (média = 8,8 μm^2 ; CV= 0,393). Para o grupo de 3 semanas, a área seccional variou de 45,54 a 52,73 μm^2 (média = 49,5 μm^2 ; CV =0,073). A área seccional para o grupo de 7 semanas variou de 34,83 a 52,9 μm^2 (média = 46,7 μm^2 ; CV =0,22). Para o grupo de 12 semanas, a área seccional variou de 51,72 a 84,83 μm^2 (média = 71; CV =0,243) (Figura 3A).

4.1.2 Comprimento médio da fibra muscular (L)

O comprimento média da fibra muscular variou de 104,38 a 174,29 μm (média = 133,82 μm ; CV =0,27) para o grupo controle. Para o grupo de 3 semanas, a fibra muscular variou de 33,24 a 42,19 μm (média= 37,64 μm ; CV =0,119). Para o grupo de 7 semanas, o comprimento da fibra variou de 17,6 a 68,72 μm (média = 45,43 μm ; CV =0,569) e finalmente, para o grupo de 12 semanas, o comprimento da fibra muscular variou de 17,2 a 38,58 μm (média = 26,53 μm ; CV=0,412) (Figura 3B)

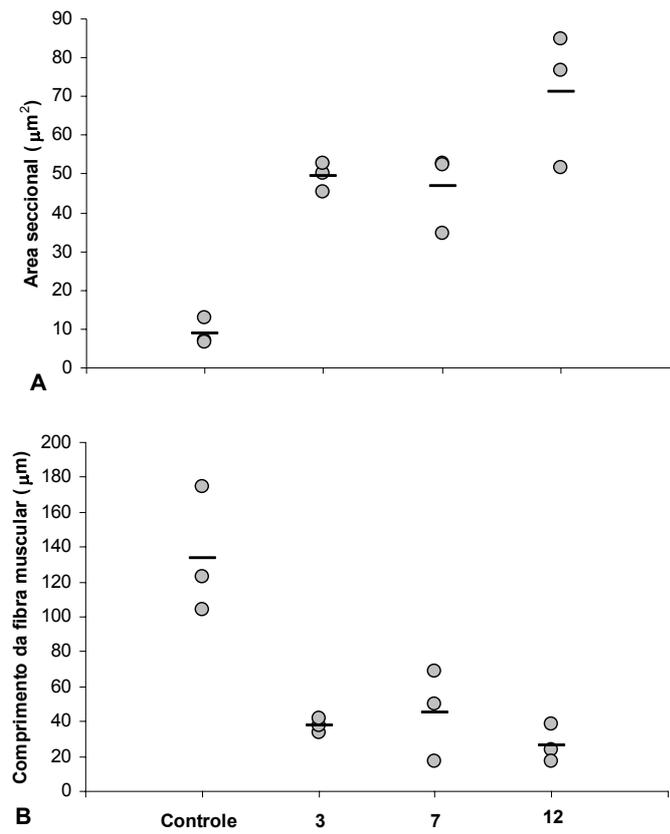


Figura 3 (A-B) - (A) Área seccional da fibra muscular lisa de nove animais hipertrofiados em diferentes períodos de obstrução: 3, 7 e 12 semanas e de 3 animais controle. O grupo controle diferiu dos grupos de 3, 7 e 12 semanas ($p=0,0006$). Barras horizontais indicam a média. (B) Comprimento da fibra muscular de nove animais hipertrofiados em diferentes períodos de obstrução (3, 7 e 12 semanas) e de três animais o grupo controle. O grupo controle difere do grupo de 3, 7 e 12 semanas ($p=0,0016$). Barras horizontais representam as médias

4.2 ESTUDO ESTEREOLÓGICO

Neste estudo os resultados foram distribuídos em: volume das fibras musculares, densidade numérica de fibras musculares, número total de fibras musculares, densidade de volume das fibras musculares e volume médio da fibra muscular.

4.2.1 Volume das fibras musculares na bexiga urinária (Vref)

O volume total da túnica muscular foi estimado sendo que o grupo controle apresentou volume que variou de 0,43 a 0,70 cm³ (média = 0,60 cm³; CV=0,24). O volume para o grupo de 3 semanas variou de 5,25 a 9,0 cm³ (média =7,0 cm³; CV=0,28). O grupo de 7 semanas apresentou volume que variou de 4,7 a 5,71 cm³ (media = 5,13 cm³; CV= 0,10). Para o grupo de 12 semanas, a variação do volume foi de 6,72 a 29,23 cm³ (média=18,71 cm³; CV=0,61) (Figura 5A)

4.2.2 Densidade numérica de fibras musculares (Nv)

A densidade numérica de fibras musculares para o grupo controle variou de 151.246 a 420.128 mm⁻³ (média = 262.480,3 mm⁻³; CV = 0,534). Para o grupo de 3 semanas, a densidade numérica variou de 236.564 a 320.348 mm⁻³ (média = 280.166 mm⁻³; CV = 0,15). Para o grupo de 7 semanas, a densidade numérica variou de 112.771 a 513.157 mm⁻³ (média =

275.863,3 mm⁻³; CV = 0,76). Para o grupo de 12 semanas, a densidade numérica variou de 170.762 a 325.600 mm⁻³ (valor médio = 259.822 mm⁻³; CV = 0,31) (Figuras 4 e 5B)

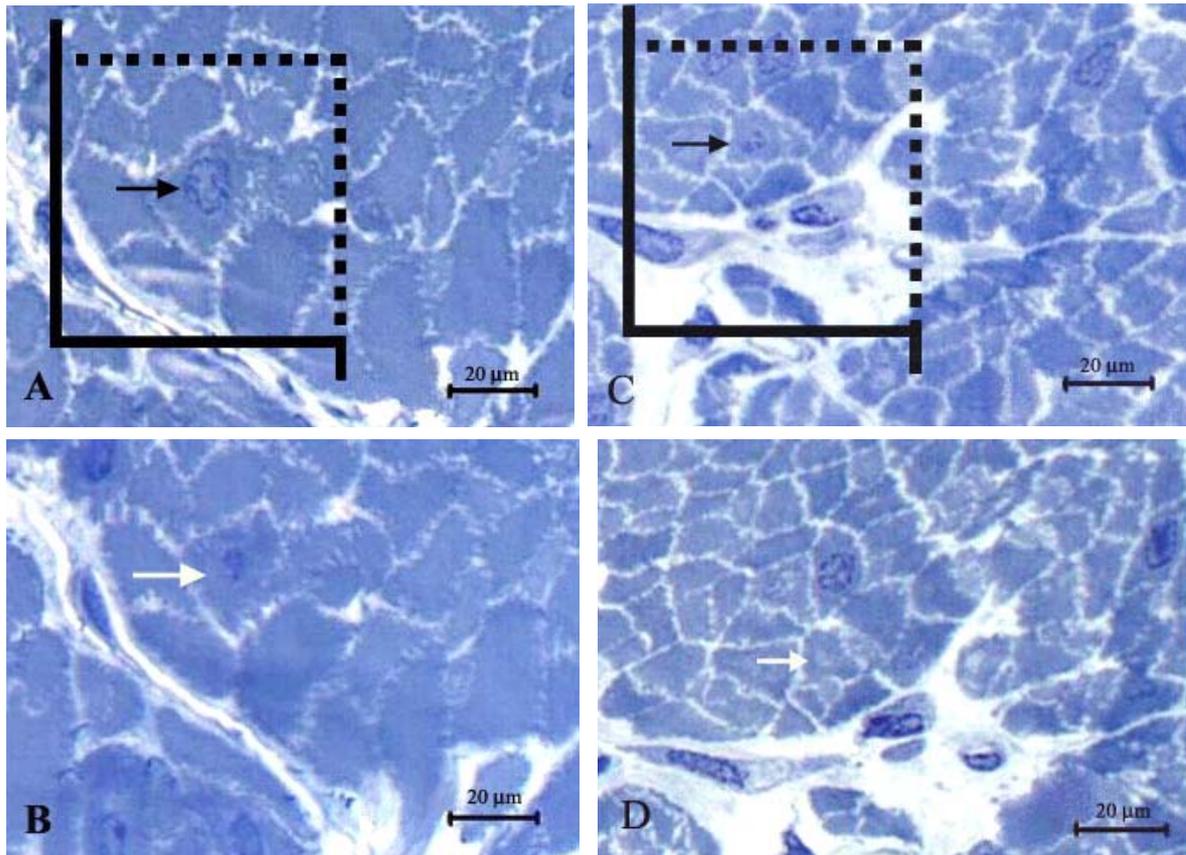


Figura 4 (A-D) - Micrografia de um par de secções (0,5 µm de espessura e corado com azul de toluidina) utilizado para contar os núcleos das fibras musculares nos grupos de 7 e 12 semanas de obstrução, respectivamente. Secção referência (A) e secção “look-up” (B), espaçadas em 1 µm. Secção referência (C) e secção “look-up” (D), espaçadas em 1 µm. As setas em preto indicam dois núcleos visualizados na secção referência e as setas em branco, indicam a ausência destes núcleos nas secções “look-up”

4.2.3 Número total de fibras musculares (N)

O número total de fibras musculares foi estimado multiplicando-se o volume referência pela densidade numérica. Para o grupo controle, variou de $15,051 \cdot 10^7$ a $24,787 \cdot 10^7$ fibras musculares (média= $15,43 \cdot 10^7$; CV=; 0,6), para os animais 1,2 e 3, o CE foi respectivamente: 0,16, 0,17 e 0,14. Para o grupo de 3 semanas, o N variou de $124,220 \cdot 10^7$ a $288,050 \cdot 10^7$ fibras musculares (média = $198,380 \cdot 10^7$; CV = 0,41), para os animais 1,2 e 3, o CE foi respectivamente: 0,13, 0,13 e 0,6). Para o grupo de 7 semanas, N variou de $56,731 \cdot 10^7$ a $292,980 \cdot 10^7$ fibras musculares (média = $147,903 \cdot 10^7$, CV = 0,80), para os animais 1, 2 e 3, o CE foi respectivamente: 0,17, 0,16 e 0,09. Para o grupo de 12 semanas, o valor de N variou de $219,000 \cdot 10^7$ a $571,400 \cdot 10^7$ fibras musculares (média = $429,876 \cdot 10^7$; CV= 0,43) para os animais 1, 2 e 3, o CE foi respectivamente: 0,15, 0,12, 0,18). (Figura 5C)

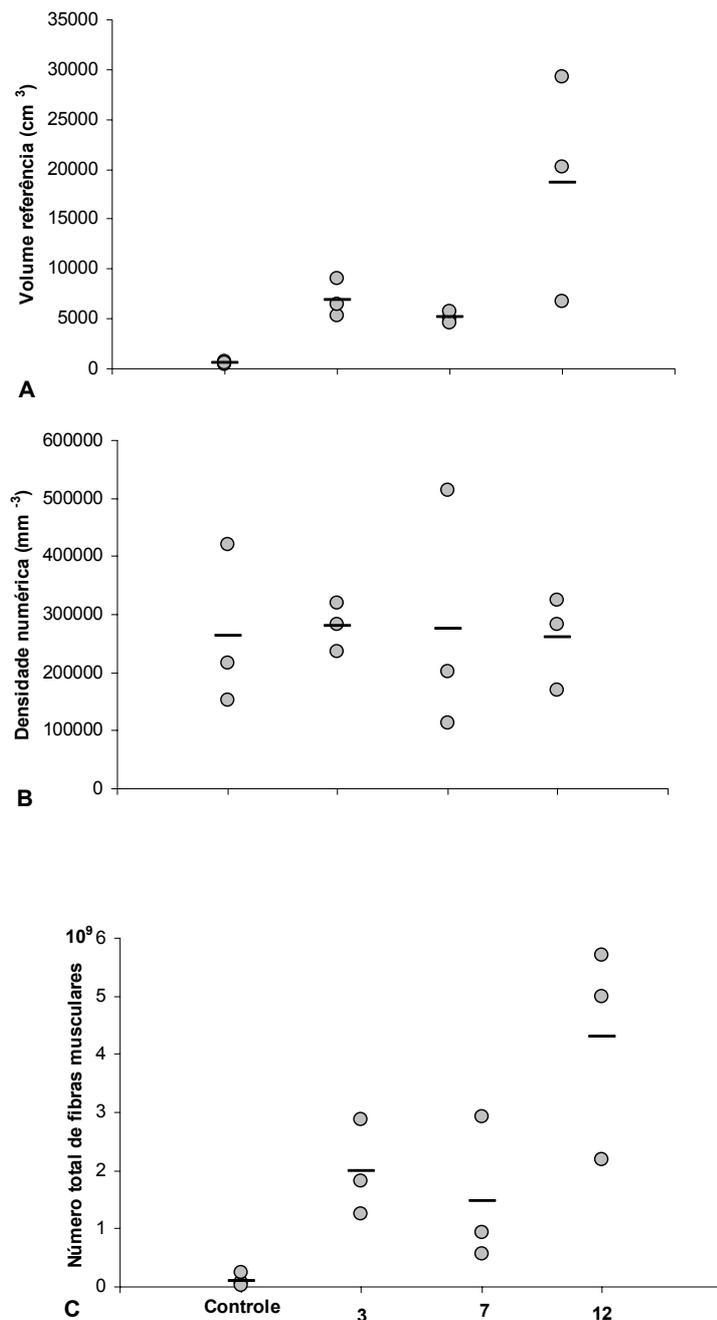


Figura 5 (A-C) - **(A)** Volume da camada muscular na bexiga urinária (Vref) em nove animais obstruídos em diferentes períodos de obstrução (3, 7 e 12 semanas) e de 3 animais do grupo controle. O grupo controle diferiu dos grupos de 3, 7 e 12 semanas ($p=0,0249$). As barras horizontais indicam as médias. **(B)** Densidade numérica (Nv) de fibras musculares de nove animais hipertrofiados em diferentes períodos de obstrução (3, 7 e 12 semanas) e de 3 animais do grupo controle. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ($p=0,9969$). As barras horizontais indicam as médias. **(C)** Número total de fibras musculares (N) de nove animais hipertrofiados em diferentes períodos de obstrução (3, 7 e 12 semanas) e de três animais do grupo controle. O grupo controle diferiu do grupo controle, 3, 7 e 12 semanas ($p=0,0167$). As barras horizontais indicam as médias

4.2.4 Densidade de volume das fibras musculares (Vv)

Quanto à densidade de volume (Vv) das fibras musculares no volume total das bexigas urinárias (Vv), o grupo controle apresentou Vv que variou de 0,24 a 0,26 (média= 0,26; CV= 0,11). A Vv para o grupo de 3 semanas variou de 0,44 a 0,63 (média = 0,52 ; CV = 0,19). Para o grupo de 7 semanas, a variação de Vv foi de 0,35 a 0,47 (média = 0,41 ; CV = 0,15). A Vv para o grupo de 12 semanas variou de 0,40 a 0,56 (média = 0,49; CV = 0,17) (Figura 6A)

4.2.5 Volume médio da fibra muscular (Vn)

Para o grupo controle, o Vn variou de 702,16 a 1566,98 μm^3 (média = 1154,40 μm^3 ; CV = 0,375). Para o grupo de 3 semanas, o Vn variou de 1.513,97 a 2.225,06 μm^3 (média = 1.873,37 μm^3 ; CV= 0,189). Para o grupo de 7 semanas, o Vn variou de 925,64 a 3635,67 μm^3 (média = 2100,61 μm^3 ; CV = 0,661). Para o grupo de 12 semanas, o Vn variou de 1.222,36 a 3.273,56 (média = 2107,37 μm^3 ; CV= 0,5) (Figura.6B)

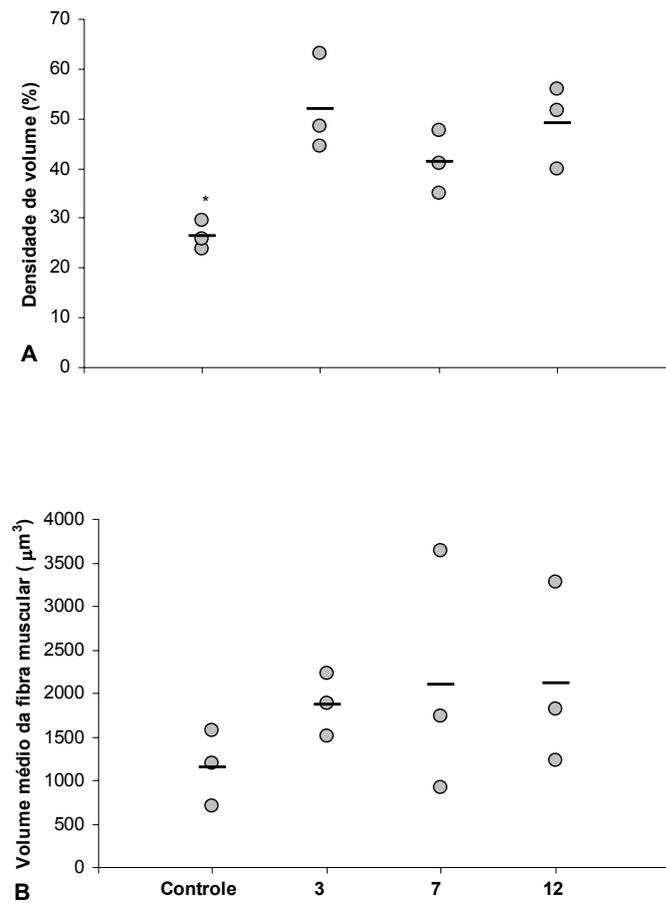


Figura 6 (A-B) - **(A)** Densidade de volume das fibras musculares (V_v) na bexiga urinária de nove animais hipertrofiados em diferentes períodos de obstrução (3, 7 e 12 semanas) e de três animais do grupo controle. O grupo controle diferiu do grupo de 3, 7 e 12 semanas ($p=0,0104$). **(B)** Volume médio das fibras musculares (V_n) de nove animais hipertrofiados e três animais controles. Não foram observadas diferenças entre os grupos ($p=0,5663$). Barras horizontais indicam as médias

5 DISCUSSÃO

Este capítulo foi dividido em aspectos quantitativos: morfométricos e aspectos quantitativos: estereológicos

5.1 ASPECTOS QUANTITATIVOS: MORFOMÉTRICOS

Neste estudo foram avaliadas as conseqüências da obstrução parcial da uretra na bexiga urinária de coelhos: crânio-caudal (CC), dorso-ventral (DV) e latero-lateral (LL). Para os três eixos, o controle diferiu dos demais grupos (3, 7 e 12 semanas) e estas diferenças foram significativas sendo $p=0,0178$, para o eixo CC, $p=0,0465$, para o eixo DV e $p=0,0001$ para o eixo LL. Para o eixo crânio-caudal o aumento foi de 63 x, 76x e 93x maior do que o grupo controle, respectivamente para os grupos de 3, 7 e 12 semanas. Para o eixo dorso-ventral, os grupos de 3, 7 e 12 semanas apresentaram respectivamente um aumento de 149x, 187x e 187x em comparação com o grupo controle. Para o eixo latero-lateral, os grupos de 3, 7 e 12 semanas apresentaram um aumento de 82x, 260x, 273x respectivamente, em relação ao grupo controle. Assim, comparando os aumentos dos eixos nos grupos de 3, 7 e 12 semanas de obstrução em relação ao grupo controle, verificou-se que o aumento foi mais expressivo para o eixo latero-lateral, indicando dessa forma que a hipertrofia foi mais significativa na região lateral da bexiga. Esta informação sugere que, para períodos mais longos de obstrução, a hipertrofia muscular na região lateral da bexiga (corpo) estaria relacionada ao aumento da

força contrátil da mesma. Mattiasson e Uvelius (1982) estudaram as propriedades contráteis do músculo detrusor em bexigas hipertrofiadas e normais e observaram que bexigas hipertrofiadas apresentaram valores superiores às bexigas controle. A força máxima foi atingida em bexigas hipertrofiadas que possuíam um raio maior, dessa forma quanto maior era o raio da bexiga, maior era a força exercida pela parede da bexiga. O raio foi maior para as bexigas hipertrofiadas. Para um raio de 0,6 cm a força contrátil foi de 1N e para um raio de 1cm, a força contrátil foi de 2N.

Avaliando-se o peso médio das bexigas, observamos que houve um aumento de 4x, 3,6x e 12,4 x para os períodos de 3, 7 e 12 semanas de obstrução em relação aos animais do grupo controle. O peso médio da bexiga para o grupo de 7 semanas foi menor do que o peso médio para o grupo de 3 semanas. Esta observação está relacionada ao peso atípico da bexiga de uma espécime do grupo de 3 semanas o que aumentou o peso médio deste grupo. Gabella e Uvelius (1990), observaram que em um período de seis a oito semanas, o peso da bexiga de rato aumentou 15 vezes. Em fetos de ovelhas, com 55 a 60 dias de gestação, Peters et al. (1992), observaram que o peso da bexiga obstruída, ainda dentro do útero, aumentou em cerca de 4,5 vezes em comparação com a bexiga controle. Segundo estes mesmos autores, o aumento no peso da bexiga foi consequência do crescimento mais pronunciado da massa muscular lisa, como resultado da hipertrofia de suas células. Zhang et al. (2004) observaram um aumento de 3 a 5 vezes na massa muscular em bexigas de coelhos submetidos à obstrução uretral parcial. Segundo Gabella (1990), a célula muscular hipertrofiada não é uma cópia aumentada da célula muscular controle. Na verdade, é um crescimento alométrico, ou seja, embora tenha observado um crescimento em todos os componentes celulares, este não foi de mesma proporção entre os mesmos. Assim, o citoplasma cresceu mais do que o núcleo, o retículo sarcoplasmático cresceu mais do que a mitocôndria etc.

Gabella e Uvelius (1990), concluíram que a hipertrofia da bexiga urinária é um processo complexo acompanhado por um remodelamento do estroma e das células musculares, resultando em um aumento no diâmetro e na área de superfície da bexiga. As células musculares lisas hipertrofiadas geralmente apresentaram-se poligonais, aumentadas de tamanho ou de aspecto achatado ou ainda cuneiformes. As células controle (não hipertrofiadas), no entanto, apresentaram um formato ovóide ou poligonal. Esta alteração no formato celular está provavelmente relacionada ao nível de estresse a que as células foram expostas, incluindo principalmente o grau de compressão gerado pelo aumento da pressão intra-luminal exercida pela urina (GABELLA, 1990). As células musculares das bexigas tratadas apresentaram-se aumentadas, porém o seu formato diferiu daquele reportado por Gabella (1990), apresentando, porém, um aspecto globoso. Sugere-se que estas células apresentam este formato em função da área ser maior do que o comprimento. Assim, para o grupo controle, a área da célula muscular foi menor do que o comprimento e para o grupo de animais hipertrofiados, observou-se que a área celular era maior do que o comprimento.

A questão crucial envolvida no processo de obstrução da uretra remete-se em determinar os mecanismos que regulam o aumento da bexiga urinária. Sabe-se que a hipertrofia da musculatura lisa ocorre em consequência dos processos obstrutivos da uretra, porém é questionável a ocorrência da hiperplasia das células musculares e se ambos os processos podem ocorrer conjuntamente. Segundo Gabella (1990) a questão da hiperplasia da célula muscular tem sido considerada por diversos autores, porém existem poucas evidências consistentes e o número de trabalhos quantitativos é quase nulo. Diante desse aspecto, priorizamos o estudo morfoquantitativo o que nos permitiu investigar objetivamente os mecanismos que regem a sobrecarga funcional da bexiga urinária.

5.1.1 Tamanho da fibra muscular

O tamanho da fibra muscular foi estimado a partir da área seccional e do comprimento da fibra.

5.1.1.1 Área seccional

Aqui, o tamanho da fibra muscular foi expresso a partir da sua área seccional que aumentou 4,63x, 4,32x e 7,10x respectivamente para os grupos de 3, 7 e 12 semanas em comparação com o grupo controle. O aumento da área seccional diferiu para o grupo controle em relação aos grupos de 3, 7 e 12 semanas e a diferença foi significativa ($p=0,0006$). A análise das secções semi-finas do músculo detrusor mostraram um aumento de duas a três vezes no diâmetro dos miócitos de coelhos machos submetidos a obstrução uretral por duas semanas. As áreas seccionais médias de células musculares de coelhos foi de $55,1 \mu\text{m}^2 \pm 6,4$ e $145,7 \mu\text{m}^2 \pm 13,4$ para bexigas controle e hipertrofiada, respectivamente (ZHANG et al., 2004).

5.1.1.2 Comprimento da fibra muscular

O tamanho médio diminuiu em relação ao grupo controle. O comprimento médio do grupo controle foi 2,55x, 1,94 x e 4,04x maior do que os grupos de 3, 7 e 12 semanas,

respectivamente. O grupo controle diferiu dos demais grupos (3, 7 e 12 semanas) e a diferença foi significativa ($p=0,0016$). Esta diminuição pode estar relacionada ao mecanismo de hipertrofia da musculatura lisa. Uvelius e Gabella (1980), realizando um estudo morfo-fisiológico em coelhos, concluíram que o comprimento da célula muscular lisa foi crescente para raios maiores de bexiga, indicando que, para volumes maiores, o comprimento da fibra muscular é maior, assim, para um raio de 1,1 cm o comprimento celular foi de $200\mu\text{m}$ e para um raio de 2,8 cm, o comprimento celular foi de $700\mu\text{m}$. Estes valores revelam um resultado oposto ao nosso, em que o comprimento das fibras foi maior para o grupo controle e menor para os grupos de animais obstruídos.

5.2 ASPECTOS QUANTITATIVOS: ESTEREOLÓGICO

A seguir, segue-se a discussão dos parâmetros estereológicos.

5.2.1 Volume das fibras musculares na bexiga urinária

O volume da musculatura vesical (V_{ref}) apresentou-se, para os grupos de 3, 7 e 12 semanas, $11,07x$, $7,98x$ e $31,7x$ maior do que o V_{ref} do grupo controle. O grupo controle diferiu dos demais grupos (3, 7 e 12 semanas) e esta diferença foi significativa ($p= 0,0249$). O mesmo método foi usado para estimar o volume total das fibras nervosas na bexiga de ratos adultos (ERCAN et al., 2002). O volume total de cada ventrículo foi estimado como $V(\text{LV})$: $1,06 m(\text{LV})$ em que $V(\text{LV})$ é o volume do ventrículo esquerdo (cm^3), $m(\text{LV})$ é o peso úmido

do ventrículo esquerdo em gramas e assumiu-se que a densidade média do tecido muscular seria $1,06 \text{ g/cm}^3$ (WULFSOHN et al., 2004).

5.2.2 Densidade numérica (Nv)

A densidade numérica manteve-se relativamente constante entre todos os grupos de estudo. Estatisticamente, não houve diferença entre os grupos ($p = 0,9969$). A densidade numérica dos grupos de 3 e 7 semanas, apresentou-se, respectivamente, 0,06 x e 0,05x maior em relação à densidade numérica do grupo controle. O grupo de 12 semanas apresentou uma densidade numérica que foi 0,01x menor do que o grupo controle.

A Nv foi estimada em diferentes estudos tais como naquele conduzido na musculatura lisa dos vasos obtidos a partir de biópsia da pele e do tecido subcutâneo de 16 pacientes com hipertensão e 16 pacientes controles. Usando o método do disector físico foi determinada a densidade numérica (número/em relação a volume analisado) das células musculares lisas e estimado o volume médio dessas células (KORSGAARD et al., 1993).

5.2.3 Número total de fibras musculares (N)

O número total de fibras foi crescente para os períodos de obstrução. O número de fibras musculares para os grupos de 3, 7 e 12 semanas foi, respectivamente, 0,81x, 12,56x e 38,43x maior do que o número de fibras musculares do grupo controle. O grupo controle

diferiu dos demais grupos (3, 7 e 12 semanas) e a diferença foi significativa ($p=0,0167$). Com base nos dados estereológicos, o presente estudo sugere que a hiperplasia celular ocorreu nas bexigas obstruídas como um mecanismo compensatório ao aumento da sobrecarga funcional. Para complementar este estudo, marcadores específicos de proliferação celular, como por exemplo, o Brdu e o Ki67 poderão ser utilizados no futuro em associação com métodos estereológicos para uma quantificação mais seletiva das células em proliferação. A proliferação celular foi avaliada na parede da bexiga urinária de coelhos utilizando-se o Brdu e a imunofluorescência para proteínas do citoesqueleto e para proteínas das células musculares lisas (ROELOFS et al., 1998).

A proliferação celular tem sido investigada sob o ponto de vista da sobrecarga funcional e suas conseqüências sobre o número de células musculares. Segundo Galvin et al. (2004) a hipóxia inibe a proliferação celular e esta inibição está associada à elevação do nível de um inibidor mitótico, conhecido como $p27^{kip1}$. Desta forma, a proliferação de células musculares lisas foi reduzida. Para Hanai et al. (2002), a proliferação celular em bexiga de ratos é um fenômeno que ocorre nas fases iniciais de obstrução e que é induzido por fatores de crescimento. A proliferação é reduzida a partir da 20^a semana de obstrução.

5.2.4 Densidade de volume (Vv)

Em nosso trabalho observamos que houve um aumento significativo na densidade de volume. O controle diferiu dos demais grupos estudados e a diferença foi significativa ($p=0,0103$). A Vv foi, respectivamente para os grupos de 3, 7 e 12 semanas: 0,97x, 0,56x e 0,86x maior que a Vv para o grupo controle.

A densidade de volume, “volume density ou volume fraction” tem sido muito aplicada em estudos sob variados enfoques. A análise dos componentes histológicos da zona de transição entre tecido prostático normal e acometido por hiperplasia benigna (BPH), em humanos, foi realizada a partir da densidade de volume para o tecido conjuntivo, células musculares e ácino. Os resultados permitiram concluir que a V_v para as fibras musculares e tecido conjuntivo aumentaram na BPH (CHAGAS et al., 2002). A presença de cálcio livre nas células musculares lisas da aorta também foi quantificada a partir da V_v . Esta quantificação foi realizada ultraestruturalmente e os resultados indicaram que a presença elevada de cálcio intracelular ocasionava hipertensão e hipertrofia das células musculares lisas vasculares (NICKERSON; YANG., 1988). O volume das fibras nervosas, em bexigas de ratos adultos, foi estimada por Ercan et al. (2002) multiplicando-se o volume referência, volume da camada muscular na bexiga, pela densidade de volume das fibras nervosas.

5.2.5 Volume médio da fibra muscular (V_n)

O volume médio aumentou 0,62x, 0,81x e 0,82x em relação ao grupo controle, embora estatisticamente este aumento foi não significativo ($p=0,5663$). Gabella (2001) utilizou métodos morfométricos para obter o volume celular. Este volume foi calculado a partir do comprimento celular médio e da área seccional média da célula muscular intestinal. A área seccional, no entanto, não é um bom indicativo de tamanho ou volume celular, pois constatamos que o aumento da área seccional não foi correlacionado diretamente ao aumento do volume celular. O aumento médio da área seccional entre os grupos foi de 4,60x e o aumento médio do volume, entre os grupos, foi de 0,53x. Assim, o aumento da área seccional

foi 8,7x maior do que o aumento do volume celular. Dessa forma, não é correto assumir que houve hipertrofia celular baseando-se somente na área seccional.

Ao invés de assumir formas geométricas para expressar o tamanho celular, optamos por utilizar os métodos estereológicos para estimar o volume indiretamente, dividindo-se a densidade de volume pela densidade numérica. Os métodos estereológicos são utilizados para descrever parâmetros quantitativos sem assumir forma, tamanho, orientação ou distribuição das células (GUNDERSEN et al., 1988). Ainda podemos acrescentar que a estereologia baseia-se em probabilidades geométricas e estocáticas, revelando-se um método de quantificação simples, confiável e eficiente (TANDRUP, 2004).

6 CONCLUSÕES

No presente estudo e de acordo com os métodos quantitativos empregados, foi possível concluir que:

- ✓ Os três eixos vesicais: crânio-caudal, dorso-ventral e latero-lateral aumentaram após a obstrução parcial da uretra. Este aumento foi mais expressivo no eixo latero-lateral, sugerindo que a hipertrofia do órgão foi mais significativa na região lateral da bexiga urinária.
- ✓ A área seccional da fibra muscular aumentou 4,63x, 4,32x e 7,10x para os grupos de 3, 7 e 12 semanas, respectivamente e o comprimento da fibra muscular do grupo controle foi 2,55x, 1,94x e 4,04x maior do que o grupo de 3, 7 e 12 semanas, respectivamente.
- ✓ O volume da musculatura da bexiga urinária foi 11,07x, 7,98x e 31,7x maior nos grupos de 3, 7 e 12 semanas, respectivamente.
- ✓ Embora a densidade numérica de fibras musculares permaneceu constante para os grupos, o número total de fibras musculares aumentou de 0,81x a 38,43x de 3-12 semanas de obstrução sugerindo fortemente proliferação celular.
- ✓ A hipertrofia da bexiga é predominantemente feita por hiperplasia muscular do que por hipertrofia muscular.

REFERÊNCIAS

- AGARTAN, C. A.; WHITBECK C; CHICHESTER, P; KOGAN, B.A.; LEVIN, R.M. Effect of age on rabbit bladder function and structure following partial outlet obstruction. **Journal of Urology**, v. 173, n. 4, p. 1400-1405, 2005.
- ANDERSSON, K. E.; ARNER, A. Urinary bladder contraction and relaxation: Physiology and Pathophysiology, **Physiological Reviews**, v. 84, n. 3, p. 935-986, 2004.
- BRAUN-DULLAEUS, R.C.; MANN, M. J.; SEDDING, D.G.; SHERWOOD, S. W.; VON DER LEYEN, H. E.; DZAU, V. J. Cell Cycle-Dependent Regulation of Smooth Muscle Cell Activation. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 24, p. 845-850, 2004.
- BRENT, L.; STEPHENS, F. D. The response of smooth muscle cells in the rabbit urinary bladder to outflow obstruction. *Investigative Urology*, v. 12, n. 6, p. 494-502, 1975.
- BURKITT, H. G.; YOUNG, B.; HEATH, J. W.; **Wheater Histologia Funcional** 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1993. 409 p.
- CHAGAS, M.A.; BABINSKI, M.A.; COSTA, W.S.; SAMPAIO, F.J. Stromal and acinar components of the transition zone in normal and hyperplastic human prostate. **BJU International**. v.89, n.7, p.699-702, 2002.
- CHICHESTER, P.; SCHRÖDER A.; HORAN P. AND LEVIN R. Vascular response of the rabbit bladder to chronic partial outlet obstruction. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 226, n.1-2, p. 1-8, 2001.
- COFFEY, D. S.; WALSH, P. C. Clinical and experimental studies of benign prostatic hyperplasia. **The Urologic Clinics of North America**, v. 17, n. 3, p. 461-475, 1990.
- COLOMBEL, M.; MALLAME, W.; ABBOU, C. C. Influence of urological complications on the prognosis of prostate cancer. **European Urology**, v. 31, supplement 3, p. 21-24, 1997.
- ERCAN, F.; CETINEL, S.; ERIN, N.; AYDIN, H.; HÜRDAG, C.; PARKER, T.; PARKER, K; MAYHEW, T. Volume of nerve fibers in the stress-induced bladder of adult rats following capsaicin treatment. **Urologia Internationalis**, v.71, n.4, p. 393-398, 2002.
- GABELLA, G. Development and ageing of intestinal musculature and nerves: the guinea-pig taenia coli. **Journal of Neurocytology**, v. 30, n. 9-10, p. 733-766, 2001.
- GABELLA, G. Hypertrophy of visceral smooth muscle. **Anatomy and Embryology**, v. 182, n. 5, p. 409- 424, 1990.
- GABELLA, G.; BERGGREN, T.; UVELIUS, B. Hypertrophy and reversal of hypertrophy in rat pelvic ganglion neurons. **Journal of Neurocytology**, v. 21, n. 9, p. 649-662, 1992.

- GABELLA, G.; UVELIUS, B. Effect of decentralization or contralateral ganglionectomy on obstruction-induced hypertrophy of rat urinary bladder muscle and pelvic ganglion. **Journal of Neurocytology**, v.22, n.9, p.827-834, 1993.
- GABELLA, G.; UVELIUS, B. Reversal of muscle hypertrophy in the rat urinary bladder after removal of urethral obstruction. **Cell Tissue Research**, v.277, n. 2, p.333-339, 1994.
- GABELLA, G.; UVELIUS, B. Urinary bladder of rat: fine structure of normal and hypertrophic musculature. **Cell and Tissue Research**, v. 262, n. 1, p.67-79, 1990.
- GALVIN, D. J.; WATSON, R. W. G.; NEILL, A. O.; COFFEY, R. N. T.; TAYLOR, C., GILLESPIE, J. I.; FITZPATRICK, J. M ; Hypoxia inhibits human bladder smooth muscle cell proliferation: A Potential Mechanism of Bladder Dysfunction. **Neurourology and Urodynamics**, v. 23, n. 4, p.342-348, 2004.
- GILMORE, N. J.; VANE, J. R. Hormones released into the circulation when the urinary bladder of the anesthetized dog is distended. **Clinical Science**, v. 41, n 1, p. 69, 1971.
- GREENLAND, J. E.; HVISTENDAHL, J. J.; ANDERSSON, H. Detrusor and kidney blood flow is reduced in response to early bladder outlet obstruction in pigs. **Journal of Urology**, supplement, v. 157, p.172, 1997.
- GUNDERSEN, H. J.; BAGGER, P.; BENDTSEN, T.; EVANS, S. M.; KORBO, L., MARCUSSEN, N.; MOLER, A.; NIELSEN, K.; NYENGAARD, J. R.; PAKKENBERG, B.; SORENSEN, F. B.; VESTERBY, A ;WEST, M. J. The new stereological tools: dissector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. **APMIS**, v. 96, n. 10, p.857-881, 1988.
- GUNDERSEN, H. J. G. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: the edge effect. **Journal of Microscopy**, v.111, p.219–223, 1977.
- HANAI, T, Ma; F. H.; MATSUMOTO, S.; PARK, Y. C.; KURITA, T. Partial outlet obstruction of the rat bladder induces a stimulatory response on proliferation of the bladder smooth muscle cells. **International Urology and Nephrology**, v.34, n. 1, p.37-42, 2002.
- HOUSTON, D. M.; MOORE, A. E.; FAVRIN, M. G.; HOFF, B. Feline urethral plugs and bladder uroliths: a review of 5484 submissions 1998-2003. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 44, n. 12, p. 947-977, 2003.
- JEREMY, J. Y.; MIKHAILIDIS, D. P.; DANDONA, P. The rat urinary bladder produces prostacyclin as well as other prostaglandins. **Prostaglandins, leukotrienes, and medicine**, v. 16, n. 2, p.235, 1984.
- JEREMY, J.Y.; TSANG, V.; MIKHAILIDIS, D.P.; ROGERS, H.; MORGAN, R.J.; DANDONNA, P. Eicosanoid synthesis by human urinary bladder mucosa: Pathological implications. **British Journal of Urology**, v. 132, n. 1, p.376, 1987.
- KARIM, O. M.; SEKI, N.; MOSTWIN, J. L. Detrusor hyperplasia and expression of “immediate early” genes with onset of abnormal urodynamic parameters. **The American**

Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v. 263, n. (6 pt 2), 1992.

KATO, K.; MONSON, F. C.; LONGHURST, P. A.; WEIN, A. J.; HAUGAARD, N.; LEVIN, R. M.; The functional effects of long term outlet obstruction on the rabbit urinary bladder. **Journal of Urology**, v. 143, n 3, p. 600, 1990.

KRAWIEC, D. R. Urologic disorders of the geriatric dog. **The Veterinary Clinics of North American small Animal Practice**, v. 19, n. 1, p.75-85, 1989.

KORSGAARD N.; AALKJAER C.; HEAGERTY A. M.; IZZARD A. S.; MULVANY M. J. Histology of subcutaneous small arteries from patients with essential hypertension. **Hypertension**, v. 22, n. 4, p. 523-526, 1993.

LIEB, J.; CHICHESTER, P.; KOGAN, B. A. Rabbit urinary bladder blood flow changes during the initial stage of partial outlet obstruction. **Journal of Urology**, v. 164, n. 4, p.1390, 2000.

LIN, A. T.; CHEN, M. T.; YANG, C. H. Blood flow of the urinary bladder: effects of outlet obstruction and correlation with bioenergetic metabolism. **Neurourology Urodynamics**, v. 14, n. 5, p. 285, 1995.

LEVIN, R. M.; MONSON, F. C.; LONGHURST, P. A.; WEIN, A. J. Rabbit as a model of urinary bladder function. **Neurourology Urodynamics**, v.13, n. p.119, 1994.

MASICK, J. M.; LEVIN, R. M.; HASS, M. A. The effect of partial outlet obstruction on prostaglandin generation in the rabbit urinary bladder. **Prostaglandins and other Lipid Mediators**, v. 66, n. 3, p.211-219, 2001.

MATTIASSON, A.; UVELIUS, B. Changes in contractile properties in hypertrophic rat urinary bladder. **Journal of Urology**, v. 128, n. 6, p.1340-1342, 1982.

MAUROY, B. Bladder consequences of prostatic obstruction. **European Urology**, v. 32, supplement 1, p. 3-8, 1997.

MAYHEW, T. M.; HUPPERTZ, B.; KAUFMANN, P.; KINGDOM, J. C. P. The 'Reference Trap' Revisited: Examples of the dangers in using ratios to describe fetoplacental angiogenesis and trophoblast turnover, v. 24, n. 1, p. 1-7, 2003.

NICKERSON, P. A; YANG, F. Calcium distribution in aortic smooth muscle cells of deoxycorticosterone-hypertensive rats. A quantitative cytochemical study. **Journal of submicroscopic cytology and pathology**, v. 20, n. 2, p. 317-24,1988.

O' LEARY. Lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia: maintaining symptom control and reducing complications. **Urology**, v. 62, supplement 1, p. 15-23, 2003.

OURAD, W.; CHAIBI, P.; THOMAS, C.; LAHLOU, A.; HACHED, D; BUSSY, A. C.; PIETTE, F.; ROBAIN, G. Anatomico-physiological aspects of the lower urinary tract in men and modifications related ageing. **Presse Medicale**, v. 32, n. 23, p. 1081-1084, 2003.

PETERS, C. A.; VASADA, S.; DATOR, D.; CARR, M.; SHAPIRO, E.; LEPOR, H.; McCONNELL, J.; RETIK, A. B; MANDELL, J. The effects of obstruction on developing bladder. *Journal of Urology*, v. 148, n. 2, p. 491-496, 1992

REZNICEK, S. B. Common urologic problems in the elderly prostate cancer, outlet obstruction and incontinence require special management. *Postgraduate Medicine*, v. 107, n. 1, p. 163-164, 2000.

ROELOFS, M; FAGGIAN, L; PAMPINELLA, F; PAULON, T; FRANCH, R; CHIAVEGATO, A; SARTORE, S. Transforming growth factor beta1 involvement in the conversion of fibroblasts to smooth muscle cells in the rabbit bladder serosa. *The Histochemical Journal*, v. 30, n. 6, p. 393-404, 1998.

Statistical Analyses System. **User's guide:** Basic and Statistic. Cary: SAS, 2005. p. 1686.

SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie*, v. 26, n. 1, p.57-63, 1970.

SCHRÖDER, A.; CHICHESTER, P.; KOGAN, B. A.; LONGHURST, P. A.; LIEB, J.; DAS, A. K.; LEVIN, R. M. Effect of chronic bladder outlet obstruction on blood flow of the rabbit bladder. *Journal of Urology*, v.165, n. 2, p.640-646, 2001.

SCHRÖDER, A., UVELIUS, B., CAPELLO, S.H., LONGHURST, P.A. Regional differences in bladder enlargement and in vitro contractility after outlet obstruction in the rabbit. *Journal of Urology*, v. 168, n.3, p. 1240-1246, 2002.

SPIGT, M. G.; VAN SCHAYCK, C. P.; VAN KERREBROECK, P. E.; VAN MASTRIGT, R.; KNOTTNERUS, J. A. Pathophysiological aspects of bladder dysfunction: a new hypothesis for the prevention of prostatic symptoms. *Medicine Hypotheses*, v. 62, n. 3, p. 448-452, 2004.

SWINNEY, G. R. Prostatic neoplasia in five dogs. *Australian Veterinary Journal*, v. 76, n. 10, p. 669-674, 1998.

TANDRUP, T. Unbiased estimates of number and size of rat dorsal root ganglion cells in studies of structure and cell survival. *Journal of Neurocytology*, v. 33, n. 5, p.173-192, 2004.

TONG-LONG LIN, A.; CHEN, K.K.; YANG, C.H. Recovery of microvascular blood perfusion and energy metabolism of the obstructed rabbit urinary bladder after relieving outlet obstruction. *European Urology*, v.34, n. 5, p.448, 1998.

UVELIUS, B.; GABELLA, G. Relation between cell length and force production in urinary bladder smooth muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 110, n. 4, p. 357-365, 1980.

UVELIUS, B.; MATTIASSON, A. Collagen content in the rat urinary bladder subjected to infravesical outflow obstruction. *Journal of Urology*, v. 132, n. 3, p. 587-590, 1984.

ZHANG, E. Y.; STEIN, R.; CHANG, S.; ZHENG, Y.; ZDERIC, S. A.; WEIN, A. J.; CHACKO, S. Smooth muscle hypertrophy following partial bladder outlet obstruction is

associated with overexpression of non-muscle caldesmon. **American Journal of Pathology**, v.164, n.2, p. 601-612, 2004.

YOKOTA, T.; HONDA, K.; TSURUYA, Y.; NOMIYA, M.; YAMAGUCHI, O.; GOTANDA, K.; CONSTATINOU, C. E. Functional and anatomical effects of hormonally induced experimental prostate growth: a urodynamic model of benign prostatic hyperplasia (BHP) in the beagle. **Prostate**, v. 58, n. 2, p. 156-163, 2004.

WULFSOHN, D; NYENGAARD, J. R; TANG, Y. Postnatal growth of cardiomyocytes in the left ventricle of the rat. **The anatomical record. Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology**, v. 277, n. 1, p. 236-247, 2004.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)