

KARINA TUMA BALASTEGHIN

Alterações histopatológicas e
imunohistoquímicas induzidas pela
obstrução parcial da bexiga de coelhos

Orientador: Prof. Dr. João Luiz Amaro

Dissertação apresentada ao curso
de Pós-Graduação em Bases
Gerais da Cirurgia e Cirurgia
Experimental da Faculdade de
Medicina de Botucatu da
Universidade Estadual Paulista –
UNESP, para obtenção do Título de
Mestre em Cirurgia

Botucatu – SP
2002

Dedico a meus pais Luiz e Vera, pelo exemplo de vida, perseverança, caráter e amor incondicional durante todos os momentos de minha vida e aos meus irmãos Gustavo e Rodrigo pela amizade e incentivo.

A Deus...

“... que incomparavelmente e inconfundível na sua infinita bondade, compreendeu os meus anseios e me deu necessária coragem para atingir o meu objetivo, ofereço o meu porvir e peço forças para sempre agir com eficiência em meu trabalho e acerto em minhas decisões.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho. Em especial:

Ao Dr. João Luiz Amaro pela orientação, amizade, compreensão e incentivo.

“Os professores ideais são os que se fazem de pontes que convidam os alunos a atravessar, e depois , tendo facilitado a travessia, desmoronam-se com prazer, encorajando-os a criarem suas próprias pontes”.

À Dra. Eliana Milanesi Rubio que incentivou-me a lutar pelos meus ideais e acreditar em mim mesma.

À FAPESP pelo auxílio financeiro que foi concedido a esse projeto, processo nº 1998/14742-7.

À CAPES pelo apoio financeiro que me foi concedido para realização deste estudo.

À Apsen Farmacêutica S.A. pelo suporte financeiro para realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos R. Padovani, pela orientação estatística e análise dos resultados.

Aos funcionários do Laboratório Clínico do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, pela realização das leituras dos exames laboratoriais.

Ao Departamento de Patologia, pela confecção das lâminas do estudo histopatológico e imunohistoquímico.

Ao Departamento de Urologia, funcionários, docentes e aos colegas Hamílto, Paulo e Dendê.

Ao laboratório de Urologia Experimental em especial ao Lucas, Lorival e Lindalva.

Às amigas Daniela, Andréa e Jerusa pelo apoio, incentivo e amizade e por estarem presentes em momentos importantes.

Aos meus pais Luiz e Vera que sempre estiveram ao meu lado mostrando-me o melhor caminho a seguir através de seu exemplo de vida e que me proporcionaram todos esses anos de estudo. Aos meus irmãos Gustavo e Rodrigo pela cumplicidade, lealdade e amizade.

Ao meu querido Alessandro pelo amor, compreensão, apoio e muita paciência. Tenho certeza de que nada disso teria se tornado realidade se não fosse por você. “Que bem maior possui a alma humana do que sentir que tem uma companhia para a vida inteira...”.

A Deus que sempre esteve presente em minha vida, que sempre olhou por mim e nunca deixou que o cansaço me abatesse, além de colocar em meu caminho essas pessoas maravilhosas. Muito obrigada!

ÍNDICE ANÁLITICO

AGRADECIMENTOS	iii
ÍNDICE ANÁLITICO	v
ÍNDICE DE TABELAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS	15
MATERIAL E MÉTODOS	16
Casuística e Cuidados Gerais	16
Grupos Experimentais	16
Técnica de Obstrução Parcial da Bexiga	Erro! Indicador não definido.
Seqüência Experimental	20
Parâmetros Estudados	21
Exames Laboratoriais	26
Anatomia Patológica.....	27
Método Estatístico.....	29
RESULTADOS	30
Peso corporal do animal (Kg).....	30
Peso da Bexiga (g).....	31
Uréia Plasmática.....	32
Creatinina.....	33
Cultura de Urina	34
Estudo Urodinâmico	36
Estudos Histopatológicos.....	39
Estudo Imunohistoquímico.....	45
DISCUSSÃO	48
Peso Corporal do Animal	48
Peso da Bexiga.....	48
Uréia Plasmática.....	49
Creatinina.....	49
Cultura de Urina	49
Estudo Urodinâmico	50
Histopatológico.....	52
Imunohistoquímico	54

CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	56
APÊNDICE	62
Resumo	80
Abstract.....	82

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Peso corporal dos coelhos em Kg nos 2 grupos experimentais.....	31
Tabela 2: Peso da bexiga dos coelhos em g nos 2 grupos experimentais.	32
Tabela 3: Uréia Plasmática (Ur.) no coelho em mg % nos 2 grupos experimentais.....	33
Tabela 4: Creatinina Plasmática (Cr.) em mg % no coelho nos 2 grupos experimentais.....	34
Tabela 5 Cultura inicial positiva e negativa (%) nos 2 grupos experimentais segundo o grupo de estudo.	35
Tabela 6. Cultura final positiva e negativa (%) nos 2 grupos experimentais segundo grupo de estudo.	35
Tabela 7: Volume Vesical Máximo ($V_{máx.}$) em ml nos 2 grupos experimentais.	36
Tabela 8: Pressão do Detrusor (Pdet) em cm H ₂ O nos 2 grupos experimentais.....	37
Tabela 9: Complacência Vesical (Compl.) em ml/cm de H ₂ O no coelho em 2 grupos experimentais.....	38
Tabela 10: Epitélio.	40
Tabela 11: Fibrose da submucosa	42
Tabela 12: Fibrose da adventícia.....	42
Tabela 13: Reação Inflamatória	44
Tabela 14: Fibrose do interstício muscular.	44
Tabela 15: Hipertrofia Muscular.	45
Tabela 16: Hiperplasia do Epitélio.....	46
Tabela 17: Hiperplasia Muscular.	46
Tabela 18: Peso do coelho em Kg no grupo G1 (Controle Clínico).....	62
Tabela 19: Peso do coelho em Kg no grupo G2 (Obstrução Infravesical).....	63

Tabela 20: Peso da bexiga em g no grupo G1 (controle clínico).....	64
Tabela 21: Peso da Bexiga em g no grupo G2 (obstrução infravesical).....	65
Tabela 22: Uréia Plasmática (Ur.) em mg% no grupo G1 (controle clínico). 66	
Tabela 23: Uréia Plasmática (Ur.) em mg% no grupo G2 (obstrução infravesical).....	67
Tabela 24: Creatinina Plasmática (Cr.) em mg% no grupo G1 (controle clínico).	68
Tabela 25: Creatinina Plasmática (Cr.) em mg% no grupo G2 (obstrução infravesical).....	69
Tabela 26: Cultura de urina no grupo G1 (controle clínico).	70
Tabela 27: Cultura de urina no grupo G2 (obstruído).....	71
Tabela 28: Volume Vesical Máximo ($V_{\text{máx}}$) em ml no grupo G1 (controle clínico).	72
Tabela 29: Volume Vesical Máximo ($V_{\text{máx}}$) em ml no grupo G2 (obstrução infravesical).....	73
Tabela 30: Pressão do detrusor em cm de H_2O no grupo G1 (controle clínico).	74
Tabela 31: Pressão do detrusor em cm de H_2O no grupo G2 (obstrução infravesical).....	75
Tabela 32: Complacência Vesical (Compl.) em ml / cm H_2O no grupo G1 (controle clínico).	76
Tabela 33: Complacência Vesical (Compl.) em ml / cm H_2O no grupo G2 (obstrução infravesical).	77
Tabela 34: Contrações involuntárias do detrusor (CID) em cm H_2O no grupo G1 (controle clínico).....	78
Tabela 35: Contrações involuntárias do detrusor (CID) em cm H_2O no grupo G2 (Obstrução Infravesical).....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Exame cistométrico demonstrando a presença de contrações involuntárias do detrusor nos animais com obstrução parcial.	17
Figura 2: Incisão abdominal de pele e subcutâneo e dissecação da bexiga. .Erro! Indicador não definido.	
Figura 3: Foto demonstrando a implantação dos ureteres....Erro! Indicador não definido.	
Figura 4A e B: Foto ilustrando a região do colo vesical onde foi colocado o bracelete ajustável de polietileno, vista anterior (A) e vista posterior (B).Erro! Indicador não definido.	
Figura 5: Sistema de cistometria computadorizada Urobyte 5000.	21
Figura 6: Sonda tipo balão retal. No quadrante superior esquerdo, detalhe da ponta da sonda.....	22
Figura 7: Ilustração do coelho sendo submetido ao estudo cistométrico;	23
Figura 8: Traçado de um exame cistométrico normal realizado em um animal do grupo controle clínico.	25
Figura 9: Corte histológico da bexiga de coelho do grupo controle (G1). Nota-se epitélio normal (seta), submucosa (**) e adventícia (seta larga) com pouco tecido conjuntivo e camada muscular (*) normal.....	40
Figura 10: Corte Histológico da bexiga de coelho com obstrução (G2). Nota-se área de fibrose de submucosa leve (seta), fibrose adventicial intensa (seta larga) e hipertrofia de músculo intensa (asterisco).	41
Figura 11: Corte histológico de bexiga de coelho com obstrução (G2). Nota-se presença de reação inflamatória intensa (seta), fibrose de submucosa (*) e adventícia (**). Nota-se também hipertrofia muscular (estrela) e presença de fibrose de interstício muscular (cruz).	43
Figura 12: Corte histológico da bexiga de coelho com obstrução (G2) usando técnica imunohistoquímica. Nota-se presença de hiperplasia intensa do epitélio (seta).....	47
Figura 13: Corte histológico da bexiga de coelho com obstrução. Nota-se hiperplasia leve da camada muscular (seta).....	47

INTRODUÇÃO

A bexiga, a uretra e a musculatura do assoalho pélvico formam a unidade funcional responsável pela continência urinária. O desempenho desta função é complexo e necessita de adequada coordenação do sistema nervoso central. A bexiga deve armazenar urina a baixa pressão, sem desconforto ou perdas, para depois esvaziar-se sem esforço ou resíduo pós-miccional. Esse processo implica em contrações e relaxamentos de músculos lisos e estriados que fazem parte da estrutura vésico-uretral (OLIVEIRA, 1995).

A atividade normal do músculo detrusor pode ser avaliada utilizando-se o estudo urodinâmico. Nos casos de bexiga estável, não são observadas contrações involuntárias do detrusor mesmo com manobras provocativas, tais como mudança de decúbito, enchimento vesical rápido, estímulo como tosse e mesmo estímulo sensorial como, por exemplo, barulho de água corrente (SAND & OSTERGARD, 1997).

Na hiperatividade vesical, a função do detrusor pode estar alterada, tendo como principais sintomas polaciúria, urgência miccional e incontinência, que podem ocorrer isoladamente ou em associação. Estas alterações constituem um problema comum na prática urológica podendo ocorrer tanto em homens como em mulheres. Nos homens a causa mais freqüente é a obstrução infravesical devido à hiperplasia prostática benigna (ANDERSSON, 1988). Nas mulheres com incontinência urinária, a hiperatividade pode estar presente em 30 a 50% dos casos (WISE & CARDOZO, 1992) tendo na maioria das vezes, impacto considerável na qualidade de vida podendo causar problemas psicossociais ou mesmo sexuais (ABRAMS & WEIN, 2000).

A Sociedade Internacional de Continência, utilizando critérios urodinâmicos, conceitua instabilidade vesical a ocorrência de contrações

involuntárias do detrusor com mais de 15cm H₂O, espontâneas ou desencadeadas durante o enchimento vesical (ELBADAWI et al., 1993). Quando a causa dessas contrações for uma lesão neurológica, trata-se de hiperreflexia do detrusor (HAMPEL et al., 1997; SAND & OSTERGARD, 1997).

A instabilidade vesical pode ser motora ou sensorial. Na motora observam-se contrações involuntárias do detrusor, na sensorial estas contrações não são observadas, mesmo com manobras provocativas, apresentando, as pacientes, entretanto, clínica compatível com instabilidade do detrusor. A monitorização contínua da pressão vesical, com urodinâmica ambulatorial, demonstra que as pacientes classificadas como tipo sensorial são, na verdade, falha da detecção de contração involuntária do detrusor quando se utiliza a urodinâmica convencional (D'ANCONA, 2001).

A utilização de seres humanos na investigação das causas da instabilidade do detrusor é pouco comum por problemas éticos e pela dificuldade de ter-se um grupo controle. Além disso, a investigação das diferentes fases envolvidas na resposta à obstrução infravesical no homem é problemática. Entretanto, o uso de modelos animais, pode permitir um melhor entendimento destas fases (SIBLEY, 1997; LLUEL et al., 1998).

Diferentes modelos experimentais têm sido propostos utilizando vários animais, tais como cobaia (MOSTWIN et al., 1991; WILLIAMS et al., 1993), coelho (BRENT & STEPHENS, 1975; MAYO & HINMAN, 1976; KUMITO et al., 1988), gato (LEVIN et al., 1992), cão (BRODERICK et al., 1994), porco (SIBLEY, 1987) e rato (LLUEL et al., 1998). Além disso, tem-se utilizado diferentes formas de obstrução parcial da bexiga, por meio de fios de sutura ou faixa de silicone, entre outros (DAS et al., 1998; CANNING et al., 1995; GHONIEM et al., 1986; KUO, 1996; KATO et al., 1988, 1990; LEVIN et al., 1984; MONSON et al., 1994; OHNISHI et al., 2000; LIEB et al., 2000; SCHRODER et al., 2001).

DAS et al. (1998) utilizando coelhos promoveram a obstrução parcial da bexiga com um retalho da fáscia do músculo reto abdominal de 3 a 4 centímetros de comprimento por 1 centímetro de largura. CANNING et al., (1995) descreveram um modelo experimental em coelho com obstrução parcial da bexiga, injetando no colo vesical, gordura autóloga obtida no espaço perivesical. Estes modelos são adequados para obtenção de obstrução menos severa.

O tubo de polietileno (GHONIEM et al., 1986; KUO, 1996) e a faixa de silicone (KATO et al., 1988, 1990) são bastante utilizados para obtenção de obstrução parcial da bexiga, colocados ao redor do colo vesical podendo ou não ser fixados com pontos de sutura.

O modelo de obstrução parcial da bexiga mais utilizado é o de fios de sutura amarrados ao redor do colo vesical, de forma a não obstruir totalmente a uretra (LEVIN & WEIB, 1984; MONSON et al., 1994; OHNISHI et al., 2000; LIEB et al., 2000; SCHRODER et al., 2001).

Apesar do grande progresso no entendimento da etiopatogenia da instabilidade do detrusor, observado na última década, restam ainda dúvidas a serem esclarecidas.

Em 1786, HUNTER apud SIBLEY (1997) foi o primeiro a associar instabilidade do detrusor com obstrução vesical. MALMGREN et al. (1987) obtiveram contrações involuntárias mais pronunciadas em ratos obstruídos utilizando o modelo com fio de sutura comparado ao grupo controle, no estudo cistométrico. GRAY (1997) observou o desenvolvimento de contrações involuntárias do detrusor em 89% dos animais obstruídos contra 12% dos animais do grupo controle. KWAK & LEE (1998) e LLUEL et al. (1998) também verificaram a ocorrência de contrações involuntárias em ratos obstruídos.

Posteriormente, diferentes teorias foram propostas para explicar a etiopatogenia das contrações involuntárias do detrusor, tais como, envelhecimento dos miócitos (BRADING, 1997) e hipersensibilidade das células musculares consequente ao aumento da atividade dos

neurotransmissores (BRADING & TURNER, 1994; ABRAMS & WEIN, 1997).

Estudos experimentais em porco e coelho sugerem ser a denervação parcial da bexiga responsável pelo desenvolvimento de instabilidade detrusora (SIBLEY, 1987; HARRISON et al., 1990 e KATO & WEIN, 1988).

Outros estudos utilizando obstrução parcial de bexiga em coelho, demonstraram mudanças estruturais e funcionais do detrusor que podem provocar patologias e sintomatologia semelhantes às dos humanos (BUTTYAN et al., 1997; NIGRO, 1999). A bexiga do coelho responde à obstrução parcial em três estágios característicos: hipertrofia, compensação e descompensação. Esses estágios são essencialmente ligados ao fluxo sanguíneo vesical. A obstrução provoca isquemia, que estimula uma resposta compensadora, capacitando a bexiga a funcionar com alta pressão de micção (OHNISHI et al., 2000). Nos estágios iniciais de obstrução (fase de compensação), a parede muscular vesical torna-se hipertrofiada e espessada, a fim vencer a resistência uretral. O crescimento da bexiga é devido também ao aumento da divisão celular (hiperplasia). Sua espessura pode duplicar ou triplicar (hipertrofia), permitindo assim o esvaziamento vesical completo. Este crescimento parece ser uma maneira de permitir que o tecido se ajuste à obstrução. No exame histopatológico do músculo hipertrofiado pode-se observar edema da submucosa com infiltrado de plasmócitos, linfócitos e células polimorfonucleares. Com a descompensação a musculatura tem sua contratilidade diminuída. Um importante conceito da fase de compensação da hipertrofia da bexiga é a sua reversibilidade (TANAGHO, 1994).

A capacidade de compensação da musculatura da bexiga é variável quando ocorre obstrução uretral progressiva, resultando na presença de urina residual após a micção. Esta fase não é reversível

após a remoção da obstrução (KANG et al., 1992; TANAGHO, 1994; LEVIN et al., 1995, 1997; BUTTYAN et al., 1997).

Os diferentes trabalhos, entretanto, (LEVIN et al, 1984; KUO, 1995; OHNISHI et al, 2000) visavam estudar as alterações estruturais e funcionais decorrentes da obstrução parcial, não levando em consideração a presença de contrações involuntárias do detrusor. A obstrução crônica resulta em um espessamento deste músculo devido à associação de hipertrofia e hiperplasia celular, sendo esta proporcional à duração da obstrução. Entretanto, a hipertrofia pode ser um fator predominante decorrente do aumento do depósito de colágeno e elastina (LEVIN et al, 1984; KUO, 1995; OHNISHI et al, 2000).

Diversos trabalhos utilizando o estudo imunohistoquímico após obstrução vesical, mostraram alterações na inervação vesical (MILLS et al, 2000; MATHEWS et al, 1999; VAIDYANATHAN et al, 1996), além de um aumento do tecido conjuntivo nos feixes musculares (HONGO et al, 1991). Mais recentemente, CAREY et al. (2000) utilizou o estudo imunohistoquímico para analisar mudanças nas junções celulares. Com o auxílio da técnica de imunohistoquímica pode-se detectar a proliferação celular utilizando-se anticorpos específicos para a atividade nuclear e assim demonstrar a presença de hiperplasia (BACCHI, & GOWN, 1993)

Poucos são os trabalhos que levaram em consideração o aparecimento de instabilidade do detrusor decorrente da obstrução parcial da bexiga (SIBLEY, 1985; MALMGREN et al, 1987; GRAY, 1997; KWAK & LEE, 1998; LLUEL et al, 1998). Até o momento não estão bem elucidadas as repercussões histopatológicas e imunohistoquímicas em um modelo de obstrução parcial da bexiga de coelhos com instabilidade do detrusor.

OBJETIVOS

Nosso objetivo foi verificar as alterações histopatológicas e imunohistoquímicas nos animais com contrações involuntárias do detrusor utilizando um modelo experimental descrito por AMARO & NARDO (1999).

MATERIAL E MÉTODOS

CASUÍSTICA E CUIDADOS GERAIS

Foram utilizados 30 coelhos machos, North Folk fornecidos pelo Biotério Central do Campus de Botucatu – UNESP, com peso entre 1,700g e 2,820g (média $2,14 \pm 0,20$). Os coelhos foram mantidos em gaiolas de 55 x 55 cm com 2 animais em cada uma, com temperatura controlada em torno de 20°C. Neste período, os animais foram alimentados com ração nutricaoelhos¹ e água “ad libitum”.

Previamente ao início do experimento, os coelhos foram mantidos por 1 semana no Biotério do Laboratório Experimental do Departamento de Urologia para ambientação e detecção de possíveis problemas clínicos.

GRUPOS EXPERIMENTAIS

Após o período de observação os animais foram distribuídos, por sorteio, em 2 grupos experimentais, sendo cada grupo composto por 15 coelhos, assim discriminados:

Grupo 1 – Controle Clínico – Neste grupo não houve intervenção cirúrgica. Os animais foram utilizados como parâmetros clínicos, cistométricos e histopatológicos de normalidade.

¹ Fabricado pela Purina Nutrimentos Ltda.

Grupo 2 – Obstrução infravesical - Neste grupo foi realizada obstrução parcial utilizando-se a técnica de AMARO & NARDO (1999) e foram considerados somente aqueles que desenvolveram contrações involuntárias do detrusor (Fig.1).

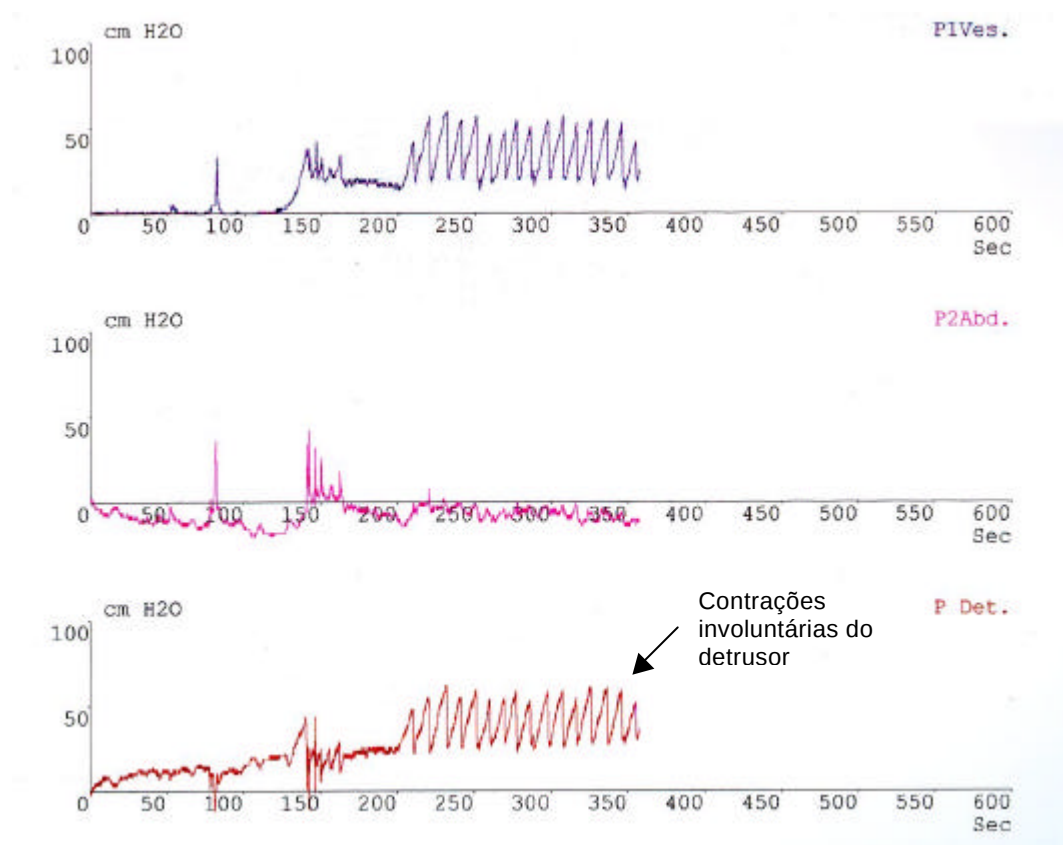


Figura 1: Exame cistométrico demonstrando a presença de contrações involuntárias do detrusor nos animais com obstrução parcial.

TÉCNICA DE OBSTRUÇÃO PARCIAL DA BEXIGA

ANESTESIA

Os animais após jejum de 12 horas receberam como medicação pré-anestésica solução de Diazepam² 0,1% por via intravenosa (Diazepam 10 mg + 8 ml de NaCl 0,9%), na dose de 1mg/Kg/peso. A seguir, foram anestesiados com a associação Rompum³ e Ketalar⁴, em partes iguais, 0,25 ml/kg/peso, por via intramuscular. Quando necessária, a anestesia foi reforçada com doses adicionais de 0,25 ml/kg/peso I.M. a cada 20 ou 30 minutos.

PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

1. Após anestesia do animal, realizou-se tricotomia da região abdominal e antissepsia da parede abdominal com povidine.

2. Abertura da cavidade abdominal por laparotomia mediana distal, a partir de aproximadamente 2,0 cm do púbis e identificação da bexiga (Fig.2).

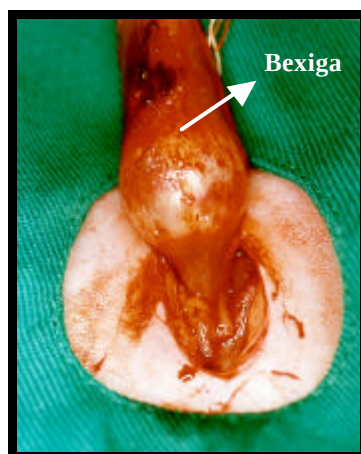


Figura 2: Incisão abdominal de pele e subcutâneo e dissecação da bexiga.

² Fabricado pelo Laboratório Cristália.

³ Cloridrato de Xilidina – dihidro – tiazina, fabricado pela Bayer.

⁴ Cloridrato de Ketamina, fabricado pela Parke-Davis.

3. Identificação e dissecação dos ureteres (Fig.3).

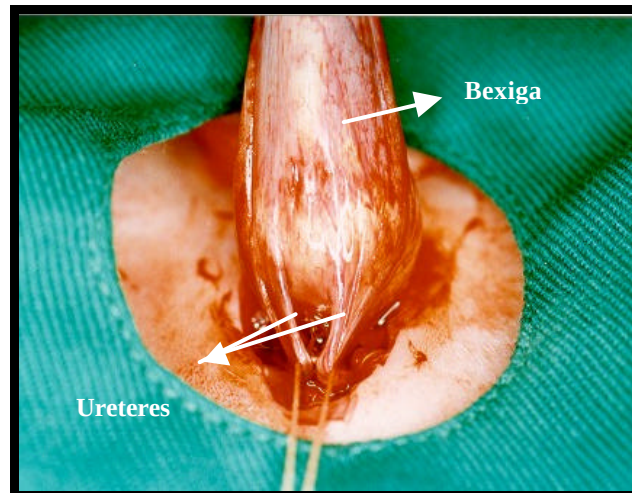


Figura 3: Foto demonstrando a implantação dos ureteres.

4. Canulação da uretra com catéter Foley 10F e a seguir passagem ao redor do colo vesical de um bracelete ajustável de polietileno (Fig. 4 a e b) de tal forma a não comprimir a uretra, previamente cateterizada com a sonda de Foley.

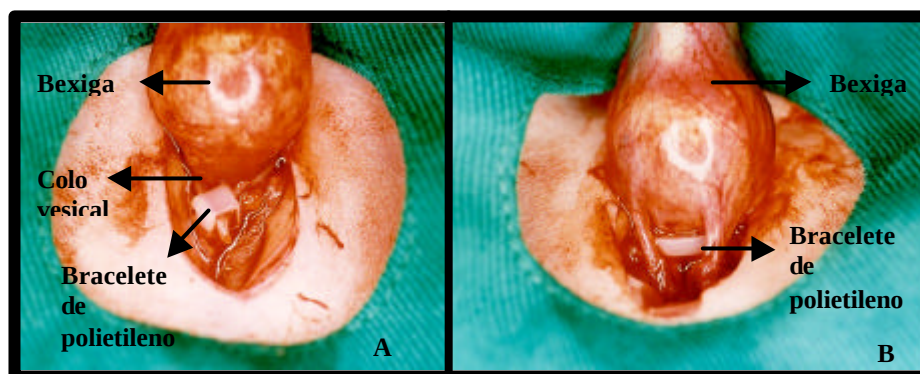


Figura 4A e B: Foto ilustrando a região do colo vesical onde foi colocado o bracelete ajustável de polietileno, vista anterior (A) e vista posterior (B).

5. Síntese da parede abdominal em 2 planos.

No pós-operatório foram avaliados diariamente aceitação alimentar, vômitos, evacuação e hemorragias.

SEQÜÊNCIA EXPERIMENTAL

Após período de ambientação, os seguintes exames foram efetuados em todos os animais, em diferentes momentos, inicial (M1) e após 4 semanas (M2): cultura de urina, uréia e creatinina plasmática e estudo cistométrico.

O estudo cistométrico foi realizado em dois diferentes momentos: momento inicial (M₁) nos animais do grupo G1 e G2 e no momento final M2, após 4 semanas nos diferentes grupos. Após 1 semana do procedimento cirúrgico (M1) foi realizado novamente um exame cistométrico para selecionar os animais com contração involuntária do detrusor que seriam incluídos no grupo G2 (Fig. 1). A seguir os animais foram sacrificados com éter sulfúrico intravenosamente. Imediatamente após, foi realizada necropsia com inspeção dos órgãos intra-abdominais, e remoção da bexiga para estudos anatomopatológicos. Na presença de anomalias da bexiga ou órgãos adjacentes, foram efetuadas fotografias da peça cirúrgica.

PARÂMETROS ESTUDADOS

ESTUDO CISTOMÉTRICO

Equipamentos

No estudo cistométrico foi utilizado um sistema de cistometria computadorizada UROBYTE 5000 com interface, transdutor de membrana para pressão "SPECTROMED", que possibilita determinações de (-) 300 a + 300 mmHg (sensibilidade = 1 V para 100 mmHg, volume de deslocamento = 0,03 mm³/100 mmHg), um módulo de infusão com sistema de bombeamento peristáltico e um processador pentium, super VGA com impressora jato de tinta (Fig.5).



Figura 5: Sistema de cistometria computadorizada Urobyte 5000.

Foi empregada sonda Foley⁵ nº 10 Fr (4.0 mm de diâmetro, com orifício lateral de 2mm), que permitiu a medida da pressão intravesical.

Para transmissão da pressão intra-abdominal, foi utilizada sonda com balão retal descrita por AMARO et al (1997). Esta foi construída a partir de uma sonda gástrica de Levine 12 Fr (4 mm), Sondaplast MS-01580024, e um tubo de polivinil 3 Fr (1,00 mm), introduzido na luz da sonda de Levine até atingir sua extremidade e individualizando um orifício lateral. Na outra extremidade foi criado um sistema em Y que permitiu a circulação de líquido no interior do balão evitando a formação de bolhas de ar que poderiam interferir na medida da pressão abdominal (Fig. 6).

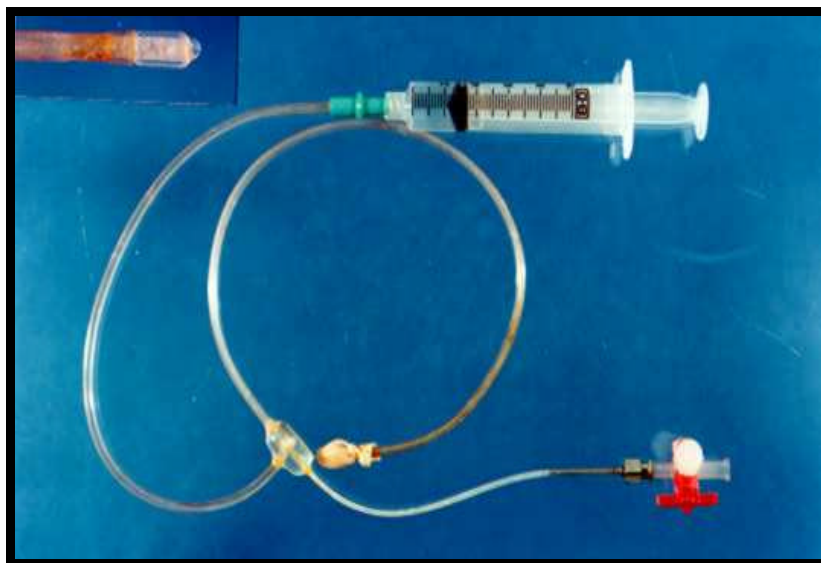


Figura 6: Sonda tipo balão retal. No quadrante superior esquerdo, detalhe da ponta da sonda.

⁵ Látex (siliconizado), fabricado pela Krammer, Ind. E Comércio Ltda.

Técnica de Estudo Cistométrico

Durante os exames, os animais em vigília foram colocados em goteiras de madeira, com os membros posteriores contidos com fio de algodão cordonê. Após anti-sepsia da região do pênis com Povidine⁶ tópico e lubrificação com xilocaína gel 2%, uma sonda Foley nº 10 - 2 vias foi introduzida na bexiga e foi realizado o esvaziamento vesical.

O balão retal após lubrificação com xilocaína gel 2%, foi introduzido 2 cm além da margem anal e conectado a uma torneira de 2 vias, injetando-se em uma das vias 0,4 ml de água destilada para que houvesse contato entre a parede do balão e a mucosa do reto. A outra via foi conectada ao transmissor de pressão.

A sonda vesical foi conectada a uma torneira de 2 vias, uma delas ligada ao transmissor de pressão, e a outra conectada a uma bomba de infusão contínua (2ml/min) (Fig. 7).



Figura 7: Ilustração do coelho sendo submetido ao estudo cistométrico;

⁶ Povidone Iodine (PVPI), 10% iodo ativo, fabricado pela Made Care – produtos hospitalares Ltda.

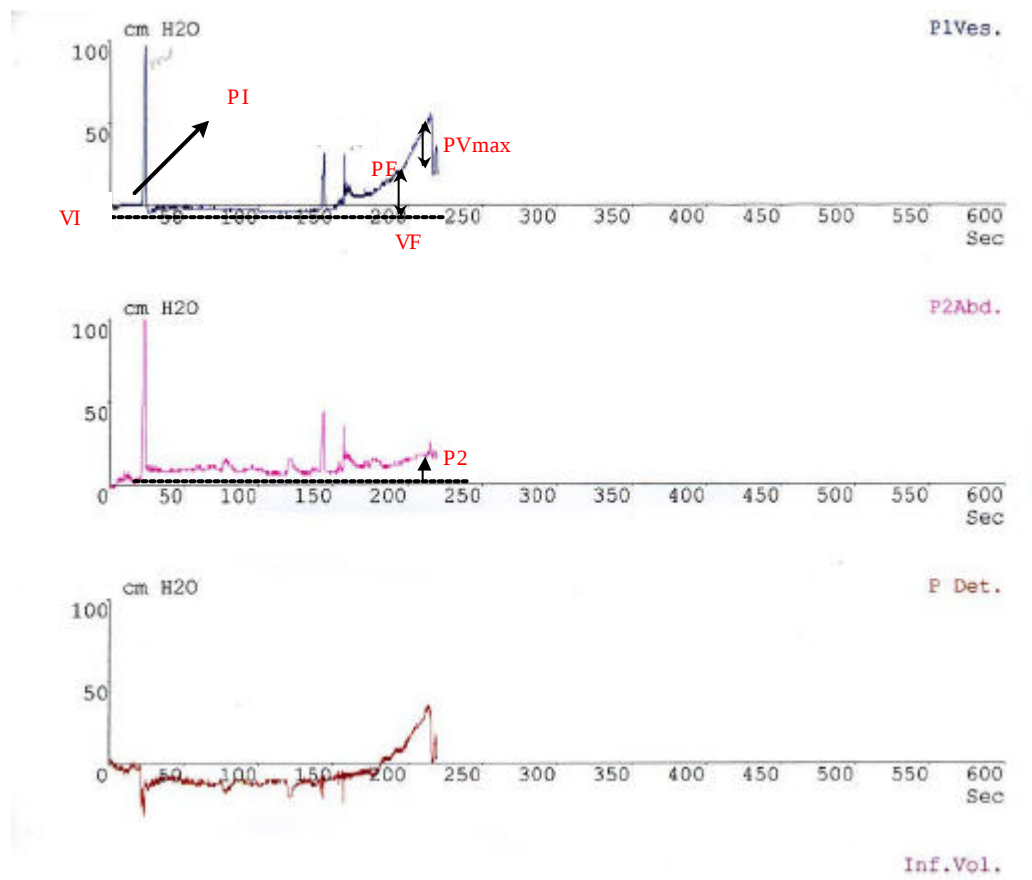
Para testar o bom posicionamento das sondas, foi feita leve compressão do abdome de maneira a obter-se uma curva de pressão abdominal, que foi transmitida para a bexiga e consequentemente obteve-se também a curva de pressão vesical.

A cistometria foi iniciada com infusão vesical contínua, 2ml/min, procedendo-se as medidas simultâneas das pressões vesical e abdominal. Ao observarmos perda urinária ao redor da sonda vesical, o exame foi interrompido. Neste instante foram verificados a pressão vesical (PV) e o volume infundido. A pressão vesical diferencial obtida pela diferença entre a pressão vesical e a pressão abdominal, medida também no instante do início da perda urinária ($P_V - P_{abd}$), expressa a pressão máxima do detrusor (P_{det}). A capacidade vesical máxima foi considerada aquela em que se atingiu o volume de enchimento suficiente para que ocorresse contração da bexiga.

A complacência vesical foi obtida pela equação: $V_f - V_i / P_f - P_i$

Onde: V_f = volume final, V_i = volume inicial, P_f = pressão final, P_i = pressão inicial (Fig.8).

Foram consideradas contrações não inibidas, as contrações involuntárias do detrusor (CID) com baixo volume vesical, causando ou não perda urinária concomitante (Fig.1).



P1: Pressão Vesical
 P2: Pressão Intra-abdominal
 $P_{v\max} = P_2 - P_1$
 Pdet: Pressão do Detrusor
 PI: Pressão Inicial
 PF: Pressão Final
 VF: Volume Final
 VI: Volume Inicial

Figura 8: Traçado de um exame cistométrico normal realizado em um animal do grupo controle clínico.

EXAMES LABORATORIAIS

COLETA DE MATERIAL

Urina

Após antissepsia do pênis do coelho com Povidine tópico, foi colocado campo oftálmico estéril e realizado o cateterismo vesical com sonda Foley nº 10 Fr. A urina foi coletada em tubo estéril e enviada, a seguir, para cultura no laboratório de microbiologia.

Sangue

Após tricotomia da orelha do animal, foi instilado álcool 90° sobre a mesma para permitir melhor visualização da artéria marginal. A seguir, foi realizada a punção da artéria com agulha 30 x 10, e foram obtidos 4 ml de sangue por gotejamento em tubo de vidro seco, que permaneceu em repouso por 15 minutos para coagulação e retração do coágulo. Em seguida realizou-se a separação do soro, utilizando-se centrífuga IEKE, 2500 R.P.M por 10 minutos. O soro foi identificado e congelado à -18°C em freezer. O aparelho de automação RAXT (Technicon) foi utilizado na dosagem de uréia e creatinina plasmática.

ANATOMIA PATOLÓGICA

TÉCNICA DE COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA E EOSINA

Para estudo das alterações histopatológicas após o momento M2 foi utilizada coloração de hematoxilina e eosina, tendo sido realizado estudo de alterações do epitélio, da fibrose da submucosa e da adventícia, da reação inflamatória, da fibrose do interstício muscular e da hipertrofia muscular.

Primeiramente foi feita a fixação dos tecidos em formol tamponado por um período de 24 horas. O tecido foi processado utilizando o processador Leica TP-1020. O mecanismo realizado pelo equipamento consistiu em 6 mergulhos consecutivos dos tecidos com 1 hora de duração em álcool a 100%. A seguir foram feitos também, 3 mergulhos em xilol histológico e finalmente 2 mergulhos em parafina histológica por um período de 1 hora cada. Após o processo de fixação foi utilizado o aparelho Auto Inclusor EG: 1160 Leica, cuja finalidade foi incluir os tecidos em blocos de parafina quente conforme molde metálico. Posteriormente, foi utilizado o micrótomo RM 2135 – Leica para realização dos cortes com espessura de 4 micras, que foram colocados em lâminas de vidro e levados à estufa permanecendo por 20 minutos à uma temperatura de aproximadamente 80°C para derretimento da parafina. Após este processo as lâminas foram transferidas para o corador automático Auto Stainer XL Leica, tendo como seqüência: 3 banhos de 2 minutos em xilol histológico, 3 banhos de 1 minuto em álcool absoluto, lavagem de 1 minuto em água corrente, 1 banho de hematoxilina de Harris por 5 minutos, lavagem em água corrente por 5 minutos, 1 banho com diferenciador por 5 segundos, lavagem em água corrente por 5 minutos, 1 banho em álcool absoluto por 10 segundos, 1 banho em eosina por 30 segundos, 4 banhos de 1 minuto em álcool

absoluto e 3 banhos de 1 minuto em xilol histológico. Depois desta etapa, foi feita a montagem das lâminas usando-se resina sintética e por fim realizada a etiquetagem das mesmas.

TÉCNICA DE IMUNOHISTOQUÍMICA

Utilizamos o método imunohistoquímico com os anticorpos K167 (anticorpo primário), BA2000 e Pk6100 (anticorpos secundários que contém a fluorescência para a visualização da reação) para diferenciar hipertrofia de hiperplasia do músculo e do epitélio.

A técnica de imunohistoquímica seguiu os passos descritos abaixo:

Passo-se cola nas lâminas de vidro e deixou-se secar em estufa. Posteriormente os blocos de parafina que continham as peças foram cortados e colocados nas lâminas, que foram riscadas com diamante para delimitar os cortes e então cada seção foi numerada para posterior identificação. A lâmina foi desparafinizada com método de coloração com HE e incluída em cuba com PBS (Solução Salina Tamponada). A inclusão foi feita através de mergulho em solução de xilol 3 vezes por 5 minutos, passou por 4 cubas de álcool absoluto e ficou em PBS por mais 5 minutos. As lâminas foram transferidas dos berços para as bandejas e tratadas com água oxigenada à 3% por 5 minutos. Após esses passos as lâminas foram tratadas com PBS e deixadas em temperatura ambiente. O excesso foi retirado (processo à vácuo) e os reagentes primários (K167) foram adicionados. As bandejas foram vedadas e armazenadas a 4°C por 12hs.

Depois desse período as lâminas foram novamente lavadas com PBS e tratadas com os reagentes secundários (BA2000 e Pk6100) deixando-as repousar por 60 minutos em temperatura ambiente.

A seguir as lâminas foram lavadas com PBS e tratadas com solução ABC (5mL de PBS; 1 gota de Avidina e 1 gota de Biotina – repouso por 30 min) e deixadas por 45 minutos em temperatura ambiente. Depois desse processo, as lâminas foram lavadas com PBS e tratadas

com solução DAB (10mL de Trizma para DAB – diaminobenzidine –; 10mg de DAB; 0,2mL de H_2O_2 – 0,1mL de H_2O_2 30vol adicionado de 0,9mL de PBS –) por 5 minutos.

Posteriormente as lâminas foram lavadas em água corrente, secas e sobre os cortes foram pingados hematoxilina de Harris (imunocoloração citoplasmática) por 20 segundos e então foram lavadas em água corrente. Após esse processo as lâminas receberam um banho de água amoniacal e foram desidratadas com mergulhos em 5 cubas com álcool absoluto e 3 cubas de xilol. Os cortes foram montados com resina sintética.

MÉTODO ESTATÍSTICO

O estudo da associação da cultura de urina e das contrações não inibidas, no início e no final da avaliação, nos diferentes grupos, foi realizado através do teste Mac Nemar (STREINER & NORMAN,1994).

A comparação entre os grupos e o estudo imunohistoquímico segundo as taxas de ocorrência foi realizada através do teste (GOODMAN, 1964 e 1965) para contrastes entre e dentro de proporções multinomiais.

A comparação dos perfis médios dos grupos ao longo dos 2 momentos de avaliação foi realizada através da análise de medidas repetidas considerando-se os 4 grupos como independentes (WICHERN & JOHNSON, 1992).

O estudo do peso da bexiga nos 4 grupos experimentais foi realizado através da análise de variância para o modelo com uma fonte de variação, complementado com o teste de comparações múltiplas (STREINER & NORMAN,1994).

Todas as comparações foram realizadas no nível de 5% de significância.

RESULTADOS

PESO CORPORAL DO ANIMAL (KG)

DADOS INDIVIDUAIS NOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTAIS.

Tabela 18 e 19 (Apêndice).

ANÁLISE DO PESO.

Houve em média uma variação do peso do animal de 2,02Kg e 2,29Kg nos diferentes grupos no momento inicial (M1) e de 2,5Kg e 2,7Kg no momento final (M2) (Tab.1). Houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo G1 em comparação com o grupo G2 ($p < 0,01$) no momento inicial (Tab.1). Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nos diferentes momentos (Tab.1).

Tabela 1: Peso corporal dos coelhos em Kg nos 2 grupos experimentais.

Média (x) e desvio-padrão (s) e resultado do teste estatístico do peso corporal (kg) dos coelhos, segundo grupos e momentos de avaliação.

Grupo	Momento da Avaliação	
	M1 (Inicial)	M2 (Final)
G1	2,02 $\pm$ 0,2 Aa	2,75 $\pm$ 0,2 Ba
G2	2,29 $\pm$ 0,2 Ab	2,53 $\pm$ 0,3 Ba

PESO DA BEXIGA (g)

DADOS INDIVIDUAIS NOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTAIS.

Tabela 20 e 21 (Apêndice).

ANÁLISE DO PESO DA BEXIGA (g).

O peso da bexiga variou em média de 2,35 a 6,00g nos diferentes grupos no momento final (Tab.2). Houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo G1 em relação ao grupo G2. Após 4 semanas o peso da bexiga dos animais do grupo G2 (Obstrução Infravesical) foi em média 2,5 vezes maiores em relação ao grupo Controle Clínico (G1).

Tabela 2: Peso da bexiga dos coelhos em g nos 2 grupos experimentais.

Média ($\bar{x}$) e desvio padrão (s) e resultado do teste estatístico do peso da bexiga, obtidos no momento final (M2) (4 semanas de pós-operatório), nos Grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical)

Grupo	Momento da Avaliação
	M2 (Final)
G1	2,35 ± 0,55 a
G2	6,00 ± 2,18 b

URÉIA PLASMÁTICA.

DADOS INDIVIDUAIS NOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTAIS.

Tabela 22 e 23 (Apêndice).

ANÁLISE DA URÉIA PLASMÁTICA.

A uréia plasmática variou em média de 44,67 a 50,40mg% no momento inicial e de 48,13 a 50,60 mg% no momento final (Tab.3). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ou nos diferentes momentos estudados .

Tabela 3: Uréia Plasmática (Ur.) no coelho em mg % nos 2 grupos experimentais.

Média (x) e desvio padrão (s), obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical).

Grupo	Momento de avaliação	
	M1 (Inicial)	M2 (Final)
G1	44,67 ± 8,43 Aa	48,13 ± 10,08 Aa
G2	50,40 ± 7,87 Aa	50,60 ± 9,89 Aa

CREATININA

DADOS INDIVIDUAIS NOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTAIS.

Tabela 24 e 25 (Apêndice).

ANÁLISE DA CREATININA PLASMÁTICA.

A Creatinina Plasmática variou em média de 0,75 a 1,11 mg% no momento inicial e de 0,96 a 1,15 mg% no momento final (Tab.4). No momento inicial a creatinina plasmática média do grupo G1 foi inferior à do grupo G2, porém não houve diferença estatisticamente significativa. Ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos G1 e G2 no momento final (Tab. 4). Quanto à comparação entre momentos, houve diferença estatisticamente significativa no grupo G1, onde o valor médio no momento M2 foi superior ao do M1.

Tabela 4: Creatinina Plasmática (Cr.) em mg % no coelho nos 2 grupos experimentais.

Média (x) e desvio padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) no Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical)

Grupo	Momento de Avaliação	
	M1 (Inicial)	M2 (Final)
G1	0,75 ± 0,18 Aa	0,96 ± 0,18 Ba
G2	1,11 ± 0,17 Aa	1,15 ± 0,25 Ab

CULTURA DE URINA

DADOS INDIVIDUAIS NOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTAIS.

Tabela 26 e 27 (Apêndice).

ANÁLISE DA CULTURA DE URINA.

Na análise da cultura de urina nos animais estudados, no momento M1, detectamos cultura positiva em 40% dos casos. Houve predominância maior de *Pseudomonas aeruginosa*, seguido de *Escherichia coli*. No momento M2 encontramos cultura positiva em 50% dos casos com predominância de *Escherichia coli*, seguido de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*. Notamos que 80% dos coelhos do grupo G2 apresentaram cultura positiva contra nenhum animal do grupo G1 no momento inicial. Após 4 semanas (M2) 93% foram positivos no grupo G2 contra 13% do grupo G1.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos G1 e G2 nos diferentes momentos. Não houve correlação positiva entre os grupos G1 e G2 nos diferentes momentos (Tab. 5 e 6).

Tabela 5 Cultura inicial positiva e negativa (%) nos 2 grupos experimentais segundo o grupo de estudo.

Cultura Inicial			
Grupo	Negativa(%)	Positiva(%)	Total
G1	100Aa	0Ba	15
G2	20Ab	80Bb	15

Tabela 6. Cultura final positiva e negativa (%) nos 2 grupos experimentais segundo grupo de estudo.

Cultura Final			
Grupo	Negativa(%)	Positiva(%)	Total
G1	87Aa	13Ba	15
G2	7Ab	93Bb	15

ESTUDO URODINÂMICO

VOLUME VESICAL MÁXIMO ($V_{MÁX.}$)

Dados individuais nos diferentes grupos experimentais.

Tabela 28 e 29 (Apêndice).

Análise do Volume Vesical Máximo ($V_{máx.}$).

O Volume Vesical Máximo ($V_{máx.}$) variou em média de 35,13ml e 36,13ml no momento inicial e 42,33ml e 54,53ml no momento final nos grupos G1 e G2. Os volumes vesicais máximos nos momentos inicial e final no grupo G1 (Tab.7) não diferiram estatisticamente. No grupo G2 o $V_{máx.}$ foi significativamente maior no momento final em comparação ao momento inicial (Tab.7).

Tabela 7: Volume Vesical Máximo ($V_{máx.}$) em ml nos 2 grupos experimentais.

Média ($\bar{x}$) e desvio padrão (s) obtidos no momento inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília, nos Grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical)

Grupo	Momento de Avaliação	
	M1 (Inicial)	M2 (Final)
G1	36,13 ± 24,78 Aa	42,33 ± 21,01 Aa
G2	35,13 ± 13,60 Aa	54,53 ± 22,77 Ba

PRESSÃO MÁXIMA DO DETRUSOR (PDET).

Dados individuais nos diferentes grupos experimentais.

Tabela 30 e 31 (Apêndice).

Análise da Pressão Máxima do Detrusor.

A análise da pressão máxima do detrusor variou em média de 32,60 a 36,47 cm H₂O no momento inicial (M1) e de 27,27 a 31,40 cm H₂O no momento final (M2) nos diferentes grupos. Não houve diferença significativa entre os grupos e nos diferentes momentos (M1 e M2) (Tab.8).

Tabela 8: Pressão do Detrusor (Pdet) em cm H₂O nos 2 grupos experimentais.

Média ($\bar{x}$) e desvio padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília, nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical)

Grupo	Momento de Avaliação	
	M1 (Inicial)	M2 (Final)
G1	36,47 ± 15,03 Aa	27,27 ± 13,47Aa
G2	32,60 ± 14,47 Aa	31,40 ± 15,42 Aa

COMPLACÊNCIA VESICAL (COMPL.).

Dados individuais nos diferentes grupos experimentais.

Tabela 32 e 33 (Apêndice).

Análise da Complacência Vesical.

Notamos uma variação na média da complacência de 2,79 a 2,81ml/cm H₂O no momento inicial (M1) e 2,83 a 3,40ml/cm H₂O no momento final (M2) nos diferentes grupos. Não houve diferença estatisticamente significativa na complacência vesical entre os grupos e nos diferentes momentos (M1 e M2) (Tab.9).

Tabela 9: Complacência Vesical (Compl.) em ml/cm de H₂O no coelho em 2 grupos experimentais.

Média ($\bar{x}$) e desvio Padrão (s) obtidos no momento inicial (M1) e momento final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília, nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical)

Grupo	Momento de Avaliação	
	Inicial	Final
G1	2,79 ± 1,47 Aa	3,40 ± 1,71 Aa
G2	2,81 ± 2,10 Aa	2,83 ± 1,67 Aa

CONTRAÇÕES INVOLUNTÁRIAS DO DETRUSOR (CID).

Dados individuais nos diferentes grupos experimentais.

Tabela 34 e 35 (Apêndice).

Análise das contrações involuntárias do detrusor.

Não observamos nenhuma contração involuntária do detrusor (CID) nos diferentes momentos nos animais do grupo G1 (Controle Clínico). Nos animais do grupo G2 (Obstrução Infravesical) ocorreu persistência de CID (Fig.1) em todos os animais. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

ESTUDOS HISTOPATOLÓGICOS

ALTERAÇÕES DO EPITÉLIO.

Notamos epitélio normal em todos animais do grupo G1 (Controle) (Fig. 9), porém, 13% dos animais do grupo G2 (Obstrução Infravesical) encontravam-se ulcerados (Tab. 10). Não houve relação estatisticamente significativa em comparação entre os grupos (Tab. 10)

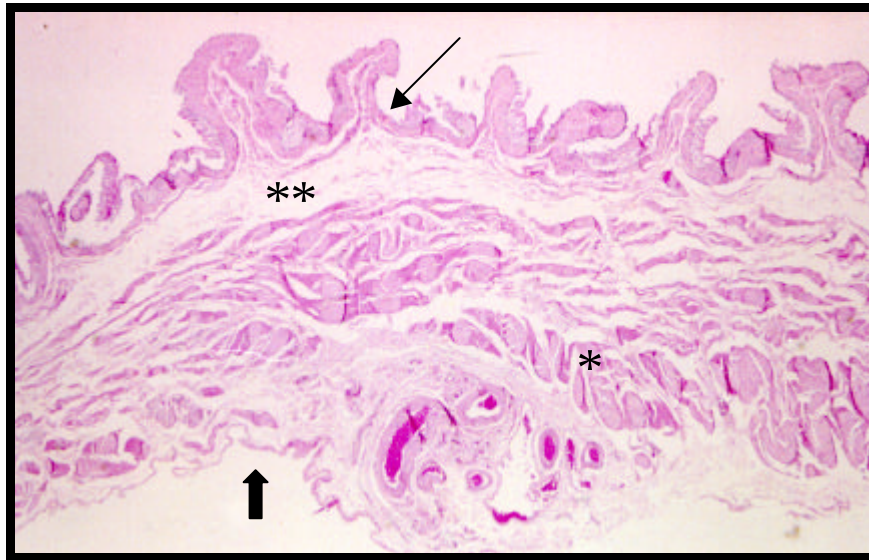


Figura 9: Corte histológico da bexiga de coelho do grupo controle (G1). Nota-se epitélio normal (seta), submucosa (**) e adventícia (seta larga) com pouco tecido conjuntivo e camada muscular (*) normal.

Tabela 10: Epitélio.

Incidência (%) de alterações do epitélio com 4 semanas de pós-operatório nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical).

Epitélio			
Grupo	Normal	Ulcerado	Total
G1	100 Aa	0 Ba	15
G2	87 Aa	13 Ba	15

FIBROSE DA SUBMUCOSA.

Notamos que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos G1 e G2, sendo que em nenhum dos animais do grupo G1 encontrou-se fibrose de submucosa contra 43% do grupo G2. Observamos ainda fibrose leve em 27% dos casos, fibrose moderada em 13% e intensa em 13% nos animais do grupo G2 (Obstrução Infravesical) (Tab. 11) (Fig. 10).

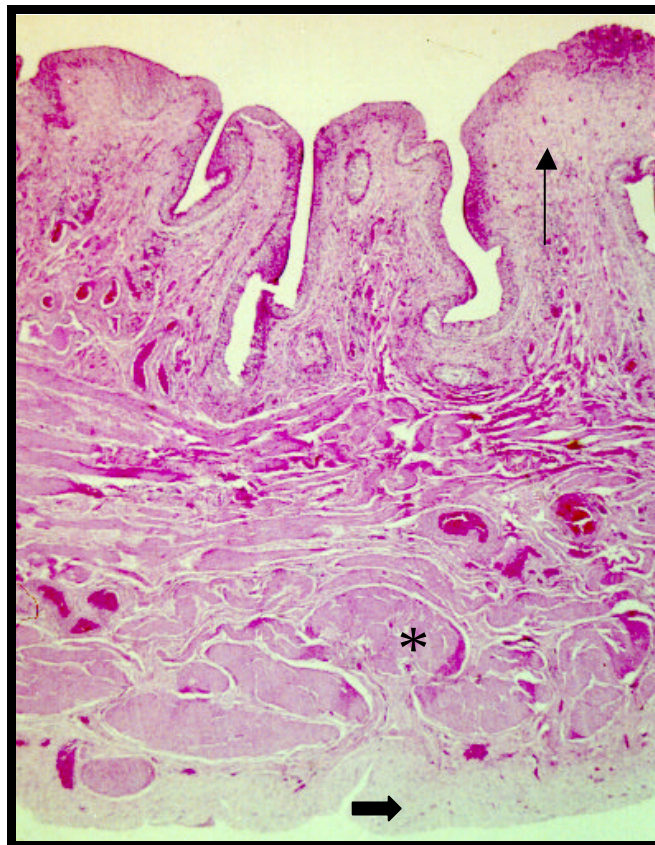


Figura 10: Corte Histológico da bexiga de coelho com obstrução (G2). Nota-se área de fibrose de submucosa leve (seta), fibrose adventicial intensa (seta larga) e hipertrofia de músculo intensa (asterisco).

Tabela 11: Fibrose da submucosa

Incidência (%) de alterações da submucosa com 4 semanas de pós-operatório nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical).

Fibrose da Submucosa					
Grupo	Ausente	Leve	Moderada	Intensa	Total
G1	100 Aa	0 Ba	0 Ba	0 Ba	15
G2	47 Ab	27 Aa	13 Aa	13 Aa	15

FIBROSE DA ADVENTÍCIA

A fibrose da adventícia foi significativamente maior no grupo G2 em relação ao grupo G1, sendo que 60% dos animais do grupo G2 (Obstrução Infravesical) apresentaram fibrose moderada e 20% fibrose leve e intensa (Tab. 12) (Fig.9, 10 e 11).

Tabela 12: Fibrose da adventícia.

Incidência (%) de alterações da adventícia com 4 semanas de pós-operatório nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução).

Fibrose da Adventícia					
Grupo	Ausente	Leve	Moderada	Intensa	Total
G1	100 Aa	0 Ba	0 Ba	0 Ba	15
G2	0 Ab	20 Aab	60 Bb	20 Aab	15

REAÇÃO INFLAMATÓRIA

Na análise do processo inflamatório notamos diferença estatisticamente significativa entre o grupo G1 (Controle Clínico), comparados ao grupo G2, em que a reação inflamatória foi leve em 33% e moderada e intensa em 27% dos casos (Tab.13) (Fig. 11).

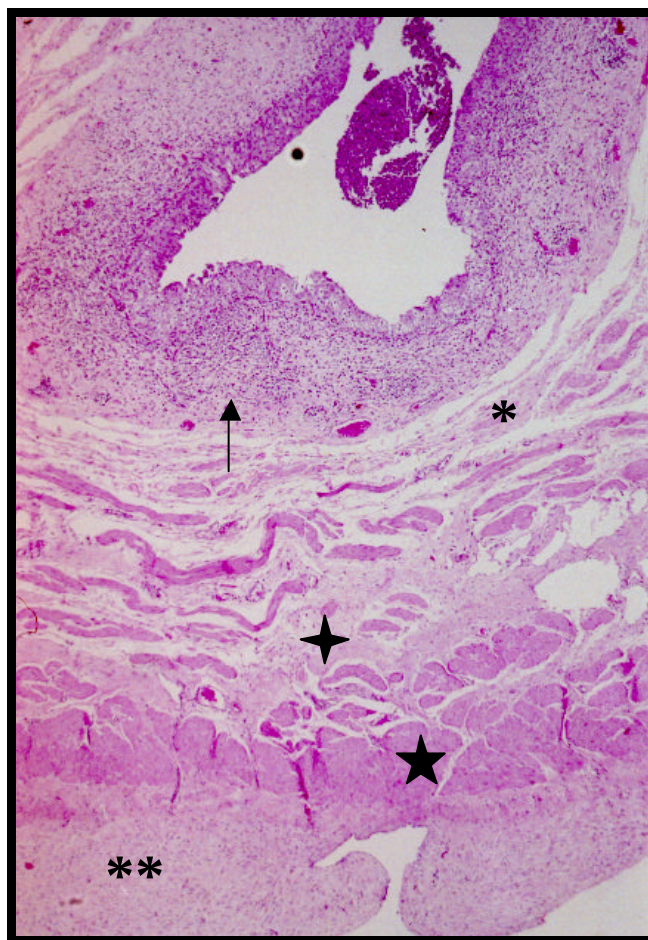


Figura 11: Corte histológico de bexiga de coelho com obstrução (G2). Nota-se presença de reação inflamatória intensa (seta), fibrose de submucosa (*) e adventícia (**). Nota-se também hipertrofia muscular (estrela) e presença de fibrose de interstício muscular (cruz).

Tabela 13: Reação Inflamatória

Incidência (%) de reação inflamatória com 4 semanas de pós-operatório nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical).

Reação Inflamatória					
Grupo	Ausente	Leve	Moderada	Intensa	Total
G1	100 Aa	0 Ba	0 Ba	0 Ba	15
G2	13 Ab	33 Ab	27 Aa	27 Aa	15

FIBROSE DO INTERSTÍCIO MUSCULAR.

Observamos ausência de fibrose do interstício da camada muscular em todos animais do grupo G1 (Controle Clínico). Encontrou-se fibrose em 20% dos animais do grupo G2 (Obstrução Infravesical), não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos e nos diferentes momentos estudados (Tab 14) (Fig.11).

Tabela 14: Fibrose do interstício muscular.

Incidência (%) de alterações do interstício muscular com 4 semanas de pós-operatório nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical)

Fibrose do Interstício Muscular				
Grupo	Ausente	Leve	Intensa	Total
G1	100 Aa	0 Aa	0 Aa	15
G2	80 Aa	13 Aa	7 Aa	15

HIPERTROFIA MUSCULAR

Notamos diferença estatisticamente significativa da hipertrofia muscular no grupo G1 em relação ao grupo G2. Observou-se hipertrofia leve/moderada em 67% dos casos e intensa em 27% no grupo G2 (Tab. 15) (Fig. 10 e 11).

Tabela 15: Hipertrofia Muscular.

Incidência (%) de alterações musculares com 4 semanas de pós-operatório nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical).

Hipertrofia Muscular					
Grupo	Ausente	Leve	Moderada	Intensa	Total
G1	100 Aa	0 Ba	0 Ba	0 Ba	15
G2	6 Ab	40 Ab	27 Aa	27 Aa	15

ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO

Na análise imunohistoquímica notamos hiperplasia de epitélio e da camada muscular da bexiga nos diferentes grupos. Notou-se hiperplasia estatisticamente significativa maior no grupo G2 em comparação com o grupo G1 (Fig.12 e 13) (Tab.16 e 17).

Tabela 16: Hiperplasia do Epitélio.

Incidência (%) de alterações do epitélio com 4 semanas de pós-operatório nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical).

Hiperplasia do Epitélio					
Grupo	Ausente	Leve	Moderada	Intensa	Total
G1	0Aa	100Ba	0Aa	0Aa	15
G2	0Aa	0Ab	73Bb	27Aa	15

Tabela 17: Hiperplasia Muscular.

Incidência (%) de alterações musculares com 4 semanas de pós-operatório nos grupos G1 (Controle Clínico) e G2 (Obstrução Infravesical).

Hiperplasia do Músculo					
Grupo	Ausente	Leve	Moderada	Intensa	Total
G1	0Aa	100Ba	0Aa	0Aa	15
G2	0Aa	27Aa	73Bb	0Aa	15

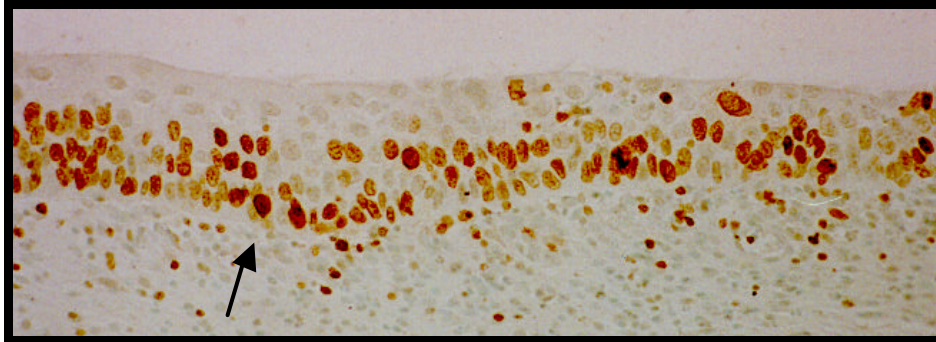


Figura 12: Corte histológico da bexiga de coelho com obstrução (G2) usando técnica imunohistoquímica. Nota-se presença de hiperplasia intensa do epitélio (seta).

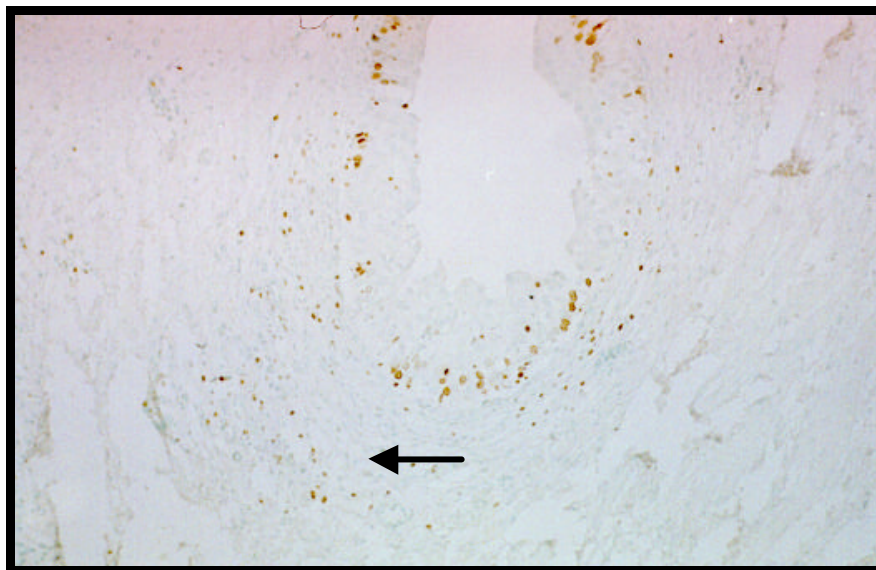


Figura 13: Corte histológico da bexiga de coelho com obstrução. Nota-se hiperplasia leve da camada muscular (seta).

DISCUSSÃO

PESO CORPORAL DO ANIMAL

Observamos que o peso corporal do animal aumentou significativamente no momento final do experimento (Tab. 1). Isso pode ser explicado devido ao crescimento normal do animal dentro do período estipulado para o estudo.

PESO DA BEXIGA

O aumento do peso da bexiga é uma alteração predominante em todos os modelos de obstrução vesical (NIGRO, 1999). Observamos que após 4 semanas de obstrução parcial, o peso da bexiga nos animais do grupo G2 (obstruídos) foi 2,5 vezes maior do que no grupo G1 (controle). Estes resultados estão de acordo com KATO et al., (1988) que em coelhos, verificaram um aumento 2 vezes maior no peso da bexiga após obstrução parcial. SCHROODER et al. (2001) observaram um aumento significativo do peso da bexiga de coelhos após 4 semanas de obstrução. KUO (1995) obteve resultado semelhante após um dia de obstrução da bexiga de coelhos. KWAK & LEE (1998) também verificaram um aumento significativo no peso da bexiga de ratos. Assim, PAMPINELLA et al. (1997) observaram que na obstrução vesical parcial ocorrem hipertrofia e hiperplasia explicando o aumento de peso da bexiga

URÉIA PLASMÁTICA

Não encontramos diferença estatística entre os grupos e nos diferentes momentos o que mostra que a obstrução parcial da bexiga não influenciou o metabolismo da uréia nos animais estudados.

CREATININA

Não houve diferença entre os grupos controle (grupo G1) e o obstruído (grupo G2) no momento inicial. Porém no momento final encontramos diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Isso pode ser explicado em função da instabilidade vesical e hipertrofia da musculatura no grupo G2. Entretanto, apesar de ter-se verificado esta diferença estatisticamente significativa, não houve correlação positiva no momento inicial ou nos diferentes momentos no grupo G2, podendo este fato tratar-se de uma variação biológica ou de metodologia.

CULTURA DE URINA

Notamos uma maior incidência de culturas positivas nos animais do grupo G2, devido, provavelmente, ao fator obstrutivo. Em virtude da ausência de trabalhos semelhantes na literatura não foi possível a comparação com nossos resultados.

ESTUDO URODINÂMICO

VOLUME VESICAL MÁXIMO

Não observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos ou nos diferentes momentos. Porém houve um aumento maior da capacidade vesical máxima no grupo obstruído no momento final em relação ao momento inicial. Esse aumento pode estar relacionado ao fator obstrutivo, uma vez que não encontramos essas diferenças no grupo controle (grupo G1).

Outros autores, com modelo de obstrução parcial da bexiga com fio de sutura, demonstraram um aumento significativo da capacidade vesical (MALMGREN et al., 1987; STEERS et al., 1988). KATO et al. (1988) obtiveram resultados similares na capacidade vesical além de perda da complacência vesical após duas semanas de obstrução. Por outro lado, KATO et al. (1990) observaram uma diminuição da capacidade vesical significativa após uma semana da obstrução com faixa de silicone.

PRESSÃO MÁXIMA DO DETRUSOR

Na obstrução infravesical a pressão do detrusor pode estar aumentada com conseqüente aumento do volume residual (KUO, 1995). GRAY (1997), observou um aumento na pressão de micção e do volume residual após 7 dias de obstrução. LLUEL et al. (1998) demonstraram que a pressão de micção, em ratos obstruídos, era 2 vezes mais elevada do que nos animais do grupo controle.

Nesse estudo não observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos ou nos diferentes momentos, demonstrando que a Pdet. não deve ser utilizada como parâmetro para detectar a presença de obstrução infravesical em coelhos. Embora tenha sido

observado que o peso da bexiga foi 2,5 vezes maior nos animais com obstrução parcial da bexiga (grupo G2), demonstrando assim ação efetiva dessa obstrução, não se observaram alterações estatisticamente significativa da amplitude de contração do detrusor.

COMPLACÊNCIA VESICAL

Não observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos e nos diferentes momentos na complacência vesical.

CONTRAÇÕES INVOLUNTÁRIAS DO DETRUSOR

Verificamos a persistência de contrações involuntárias do detrusor no momento final no grupo G2 (obstruído) assim como a ausência de aparecimento de CID no grupo G1 (controle clínico). Este fato demonstra que o modelo experimental utilizado é adequado para o estudo da instabilidade vesical. Devido à escassez de trabalhos semelhantes na literatura não é possível a comparação com os resultados obtidos neste trabalho. Existem na literatura poucas técnicas descritas de obstrução parcial da bexiga de coelhos para obtenção de contrações involuntárias do detrusor (CID). Encontrou-se grande dificuldade na reprodução do modelo descrito por GHONIEM (1986). Notamos que a simples colocação de um catéter de polietileno de 7Fr ao redor do colo vesical, como preconizado, acarretava em diversas oportunidades, o deslocamento do catéter ocasionando falha na obstrução parcial da bexiga. A seguir era realizada a sutura das extremidades deste catéter com categut 40, de

modo a evitar sua mobilização (KATO et al., 1988, 1990). Com esta modificação verificamos uma obstrução insuficiente para ocasionar CID ou uma obstrução excessiva que resultou na formação de litíase vesical.

A desvantagem do modelo que utiliza fio de sutura é a padronização da obstrução provocada. Desta forma, devido às dificuldades de reprodução dos diferentes modelos experimentais para a obtenção das contrações involuntárias do detrusor, utilizamos em nosso estudo a padronização descrita por AMARO & NARDO (1999), que permitiu o aparecimento de CID em 93% dos animais com obstrução parcial da bexiga.

HISTOPATOLÓGICO

A obstrução parcial da bexiga pode induzir a uma grande variedade de mudanças estruturais no músculo detrusor.

EPITÉLIO

Notamos ulceração do epitélio em 13% dos animais do grupo G2 (obstruído). BUTTYNAN et al. (1997) demonstraram que o fenômeno de hiperdistensão da parede vesical, decorrente da obstrução, provoca um estiramento da bexiga levando a alterações da barreira urotelial. Podendo Estas alterações podem estar relacionadas à obstrução vesical.

FIBROSE DE SUBMUCOSA

KUO (1995) realizou estudos em coelhos e verificou o aparecimento de tecido fibroso denso na submucosa. Em nosso estudo

observamos fibrose leve em 27% dos casos e fibrose moderada/intensa em 13% dos casos do grupo G2.

FIBROSE DA ADVENTÍCIA

No presente estudo verificamos que 60% dos animais do grupo G2 apresentaram fibrose moderada, 20% fibrose leve e 20% fibrose intensa. GHONIEM et al. (1986) observaram um espessamento da serosa em coelhos com obstrução grave. Desta forma o aparecimento de fibrose da adventícia pode estar relacionado com o fator obstrutivo.

REAÇÃO INFLAMATÓRIA

KUO (1995) mostrou que a reação inflamatória e edema nos animais com obstrução vesical, podem contribuir para o aumento de peso da bexiga. Observamos reação inflamatória em 87% dos animais obstruídos.

FIBROSE DO INTERSTÍCIO MUSCULAR

Estudo realizado com obstrução em coelhos mostrou deposição de fibras colágenas no espaço intermuscular (KUO, 1995). GERMAN et al. (1995) encontraram um aumento do tecido conjuntivo infiltrado no músculo liso, entre e dentro dos feixes musculares. Em nossa série não constatamos diferença estatisticamente significativa com relação à fibrose do interstício muscular nos diferentes grupos e momentos estudados.

HIPERTROFIA MUSCULAR

LEVIN et al. (1984) usando fio de sutura para causar obstrução parcial, verificaram, após uma semana, hipertrofia significativa do músculo detrusor. KUO (1995) também notou a presença de hipertrofia muscular em coelhos com obstrução parcial da bexiga. Em nosso estudo observou-se 54% de hipertrofia moderada/intensa nos coelhos do grupo G2. O espessamento do músculo liso deve-se à combinação de hipertrofia e hiperplasia da célula muscular (OHNISHI et al., 2000). GHONIEM et al. (1986) relacionaram a predominância da hipertrofia com obstrução moderada e hiperplasia com obstrução grave em coelhos obstruídos.

IMUNOHISTOQUÍMICO

LEVIN et al. (1994) usando o método de autoradiografia, verificaram aumento da síntese de DNA, decorrente de distensão vesical, que ocorre inicialmente no urotélio, seguido por um aumento na lâmina própria e no tecido conjuntivo extramural. KUO (1995) observou a presença de hiperplasia da camada muscular. Em nossa série observamos um aumento significativo de hiperplasia de epitélio e de músculo nos animais do grupo obstruído em relação ao grupo controle.

CONCLUSÕES

Comparando o grupo obstruído (G2) com o grupo controle (G1) concluímos:

1. O peso da bexiga foi em média 2,5 vezes maior no grupo obstruído.
 2. Não houve uma elevação significativa da pressão do detrusor (Pdet) no grupo G2 (obstruído).
 3. Ocorreu uma fibrose de submucosa e de adventícia significativamente maior no grupo G2 (obstruído).
 4. Houve uma hipertrofia muscular significativamente maior no grupo G2 (obstruído).
 5. No estudo imunohistoquímico houve uma hiperplasia significativamente maior tanto de epitélio como de muscular no grupo G2 (obstruído).
-

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA*

ABRAMS, P., WEIN, A.J. Introduction to the overactive bladder from basic science to clinical management. **Urology**, v.50, p.1-3, 1997.

ABRAMS, P., WEIN, A.J. Introduction: Overactive bladder and its treatments. **Urology**, v.55, p.1-2, 2000.

AMARO, J.L., CURY, P.R., FABRIS, V.H., TRINDADE, J.C.S. Ampliação vesical utilizando dura-máter e pericárdio bovino. Estudo comparativo em coelhos. **J. Bras. Urol.**, v.23, p.88-92, 1997.

AMARO, J.L., NARDO, A.M. Modelo experimental de instabilidade vesical em coelhos com obstrução parcial da bexiga. **J. Bras. Urol.**, n. esp. 25, p.124, 1999.

ANDERSSON, K.E. Current concepts in the treatment of disorders of micturition. **Drugs**, v.35, p.477, 1988.

BACCHI, C.E., GOWN, A.M. Detection of cell proliferation in tissue sections. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.26, p.677-87, 1993.

BRADING, A.F. A myogenic basis for the overactive bladder. **Urology**, v.50, p.57-67, 1997.

BRANDING, A.F., TURNER, W.H. The unstable bladder: towards a common mechanism. **Br. J. Urol.**, v.73, p.3-8, 1994.

BRENT, L., STEPHENS, F.D. The response of smooth muscle cells in the rabbit urinary bladder to outflow obstruction. **Invest. Urol.**, v.12, p.494-502, 1975.

BRODERICK, G.A., LONGHURST, P.A., JUNIEWICZ, P.E., WEIN, A.J., LEVIN, R.L. A novel canine model of partial outlet obstruction secondary to prostatic hypertrophy. **World J. Urol.**, v.12, p.245, 1994.

BUTTYNAN, R., CHEN, M.W., LEVIN, R.M. Animal models of bladder outlet obstruction and molecular insight into the basis for the development of bladder dysfunction. **Eur. Urol.**, v.32, p.32-9, 1997.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. **Normas para publicações da UNESP**. São Paulo. Editora UNESP, 1994. v.2: Referências Bibliográficas. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **List of journals indexed in Index Medicus**. Washington, 1997. 240p.

-
- CANNING, D.A., SEIBOLD, J., SAITO, M., ZDERIC, S.A., SNYDER, H.M., DUCKETT, J.W., LEVIN, R.M. Use of injectable fat to obstruct the urethra in rabbits. **Neurourol. Urodyn.**, v.14, p.259-67, 1995.
- CAREY, M.P., DE JONG, S., FRIEDHUBER, A., MORAN, P.A., DWYER, P.L., SCURRY, J. A prospective evaluation of the pathogenesis of detrusor instability in women, using electron microscopy and immunohistochemistry. **Br. J. Urol. Int.**, v.86, p.970-6, 2000.
- D'ANCONA, C.A.L. Diagnóstico da Incontinência Urinaria na Mulher. In: D'ANCONA, C.A.L.; NETTO JR., N.R. (Eds). **Aplicações Clínicas da Urodinâmica**. São Paulo: Atheneu, 2001, p.139-43.
- DAS, A.K.; HORAN, P., LEGGETT, R.E., LEVIN, R.M. Use of abdominal fascia to create partial outlet obstruction in rabbits. **Neurourol. Urodyn.**, v.17, p.231-9, 1998.
- ELBADAWI, A., YALLA, S.V., RESMICK, N.M. Structural basis of geriatric voiding dysfunction. IV. Bladder outlet obstruction. **J. Urol.**, v.150, p.1681-95, 1993.
- GERMAN, K., BEDWANI, J., DAVIS, J., BRADING, A.F., STEPHERSON, T.P. Physiological and morphometric studies into the pathophysiology of detrusor hyperreflexia in neuropathic patients. **J. Urol.**, v.153, p.1678-83, 1995.
- GHONIEM, G.M., REGNIER, C.H., BIANCANI, P., JOHNSON, L., SUSSET, J.G. Effect of vesical outlet obstruction on detrusor contractility and passive properties in rabbits. **J. Urol.**, v.135, p.1284-9, 1986.
- GOODMAN, L.A. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. **Technometrics**, v.7, p.247-54, 1965.
- GOODMAN, L.A. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. **Ann. Math. Stat.**, v.35, p.176-85, 1964.
- GRAY, M. Progressive changes in detrusor function with bladder outlet obstruction. **J.Urol.**, v.158, p.1-3, 1997.
- HAMPEL, C., WIENHOLD, D., BENKEN, N., EGGERSMANN, C., THUROFF, J.W. Definition of overactive bladder and epidemiology of urinary incontinence. **Urology**, v.50, p.4-14, 1997.
-

-
- HARRISON, S.C.W., FERGUSON, D.R., DOYLE, P.T. Effect of bladder outflow obstruction on the innervation of the rabbit urinary bladder. **Br. J. Urol.**, v.66, p.372-9, 1990.
- HONGO, Y., SAKANAKA, M., KITAGAWA, Y., MAGARI, S., MIYAZAKI, S. Morphologic changes in detrusor muscles of patients with chronic obstruction of lower urinary tract. Electronmicroscopic and immunohistochemical findings. **Urology**, v.37, p.584-9, 1991.
- KATO, K., WEIN, A., KITADA, S., HAUGAARD, N., LEVIN, R.M. The functional effect of mild outlet obstruction on the rabbit urinary bladder. **J. Urol.**, v.140, p. 880-4, 1988.
- 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. **J. Urol.**, v.143, p.600-6, 1990.
- KUMITO, K., WEIN, A.J., KITADA, S., HAUGAARD, N., LEVIN, R.L. The functional effect of mild obstruction on the rabbit urinary bladder. **J. Urol.**, v.140, p.880, 1988.
- KUO, H-C. Effects of mild bladder outlet obstruction on rabbit bladder structure and function. **J. Formos. Med. Assoc.**, v.94, p.555-61, 1995.
- KUO, H-C. Recovery of bladder function after relief of mild outlet obstruction of different durations in rabbits. **J. Formos. Med. Assoc.**, v. 95, p. 469-73, 1996.
- KWAK T.I., LEE, J.G. Inhibitory effects of propiverine, atropine and oxybutinin on bladder instability in rats with infravesical outlet obstruction. **Br. J. Urol.**, v.82, p.272-7, 1998.
- LEVIN, R.L., LONGHURST, P.A., BARASHA, B., MCGUIRE, E.J., ELBADAWI, A., WEIN, A.J. Studies on experimental bladder outlet obstruction in the cat. Long term functional effects. **J. Urol.**, v.148, p.939, 1992.
- LEVIN, R.M., WEIN, A.J. Effects of chronic partial obstruction of the rabbit urinary bladder. **J. Urol.**, v.131, p.220, 1984.
- LEVIN, R.M., MONSON, F.C., HAUGAARD, N., BUTTYAN, R., HUDSON, A., ROELOFS, M., SARTORE, S., WEIN, A.J. Genetic and cellular characteristics of bladder outlet obstruction. **Adv. Ben. Prost. Hyperpla.**, v.22, p.263, 1995.
-

-
- LEVIN, R.M., WEIN, A.J., BUTTYAN, R., MONSON, F.C., LONGHURST, P.A. Update on bladder smooth-muscle physiology. **World J. Urol.**, v.12, p.226-32, 1994.
- LEVIN, R.M., YU, H.J., KIM, K-B., LONGHURST, P.A., DAMASER, M.S. Etiology of bladder dysfunction secondary to parcial outlet obstruction. **Scand. J. Urol. Nephrol.**, v.184, p.43, 1997.
- LIEB, J.I., CHICHESTER, P., KOGAN, B., DAS, A.K., LEGGETT, R.E., SCHRODER, A., LEVIN, R.M. Rabbit urinary bladder blood flow changes during the initial stage of partial obstruction. **J. Urol.**, v.164, p.1390-7, 2000.
- LLUEL, P., DUQUENNE, C., MARTIN, D. Experimental bladder instability following bladder outlet obstruction in the female rat. **J. Urol.**, v.160, p.2253-57, 1998.
- MALMGREEN, A., SJOGREEN, C., UVELIUS, B., MATTIASSON, A., ANDERSSON, K-E., AND ANDERSSON, P.O. Cystometrical evaluation of bladder instability in rats whit infravesical outflow obstruction. **J. Urol.**, v.137, p.1291, 1987.
- MATHEWS, R., WILLS, M., PERLMAN, E., GEARHART, J.P. Neural innervation of the newborn exstrophic bladder: an immunohistochemical study. **J. Urol.**, v.162, p.506-8, 1999.
- MAYO, M.E., HINMAN, F. Structure and function of the rabbit bladder altered by chronic obstruction or cystitis. **Invest. Urol.**, v.14, p.6-9, 1976.
- MILLS, I.W., GREELAND, J.E., MCMURRAY, G., MCCOY, R., HO, K.M., NOBLE, J.G., BRADING, A.F. Studies of the pathophysiology of idiopathic detrusor instability: the physiological properties of the detrusor smooth muscle and its pattern of innervation. **J. Urol.**, v.163, p.646-51, 2000.
- MONSON, F.C., WEIN, A.J., EIKA, B., MURPHY, M., LEVIN, R.M. Stimulation of DNA synthesis in rabbit bladder wall after parcial outlet obstruction and acute overdistension. **Neurourol. Urodynam.**, v.13, p.51-61, 1994.
- MOSTWIN, J.L., KARIM, O.M.A., VAN KOEVERINGE, G., BROOKS, E.L. The guinea pig as a model of gradual urethral obstruction. **J. Urol.**, v.145, p.854, 1991.
-

-
- NIGRO, D.A., HAUGAARD, N., WEIN, A.J., LEVIN, R.M. Metabolic basis for contractile dysfunction following chronic partial bladder outlet obstruction in rabbits. **Mol. Biol. Biochem.**, v.200, p.1-6, 1999.
- OHNISHI, N., HORAN, P., LEVIN, S.S., LEVIN, R.M. Intermittent catheterization limits rabbit bladder dysfunction in response to partial outlet obstruction. **J. Urol.**, v.163, p.292-5, 2000.
- OLIVEIRA, R.P. Neurofarmacologia In: D ANCONA, C.A.L.; NETTO JR., N.R. **Aplicações Clínicas da urodinâmica**. Campinas: Cartgraf, 1995, p.15-46 .
- PAMPINELA, F., ROELOFS, M., CASTELUCCI, E., PASSERINE-GLAZEL, G., PAGANO, F., SARTORE, S. Time-dependent remodeling of the bladder wall in growing rabbits after partial outlet obstruction. **J. Urol.**, v.157, p.677-82, 1997.
- SAND, P.K., OSTERGARD, D.R. Detrusor Instability. In: SAND, P.K.; OSTERGARD, D.R (Eds.). **Urodynamics and the evaluation of female incontinence**. London: Springer, 1997. p.74-7.
- SCHRODER, A., CHICHESTER, P., BARRY, A., PENELOPE, K., LONGHURST, A., LIEB, J., ANURAG, K., LEVIN, R.M. Effect of chronic bladder outlet obstruction on blood flow of the rabbit bladder. **J. Urol.**, v.165, p. 640-6, 2001.
- SIBLEY, G.N.A. An experimental model of detrusor instability in the obstructed pig. **Br. J. Urol.**, v.57, p.292-8, 1985.
- SIBLEY, G.N.A. The Psychological response of the detrusor muscle to experimental bladder out flow obstruction in the pig. **Br. J. Urol.**, v.60, p.332, 1987.
- SIBLEY, G.N.A. Developments in our understanding of detrusor instability. **Br. J. Urol.**, v.80, p.54-61, 1997.
- STEERS, W.D.; GROAT, W.C. Effect of bladder outlet obstruction on micturition reflex pathways in the rat. **J. Urol.**, v.140, p.864, 1988.
- STREINER, D.L., NORMAN, G.R. **Biostatistics: the bare essentials**. St Louis: Mosby-year Book, 1994. 260p.
- TANAGHO, E.A. Obstrução e estase urinária. In: TANAGHO, E.A., MCANINCH, J.A. (Eds). **Urologia Geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.133-43.
-

VAIDYANATHAN, S., VAN VELZEN, D., KRISHNAN, K.R., PARSONS, K.F., SONI, B.M., WOOLFENDEN, A., FRASER, M.H., HOWARD, C.V. Nerve fibres in urothelium and submucosa of neuropathic urinary bladder: an immunohistochemical study with S-100 and neurofilament. **Paraplegia**, v.34, p.137-51, 1996.

WICHERN, D.W., JOHNSON, R.A. **Applied multivariate statistical analysis**. 3rd ed. New Jersey: Prentice Hall, 1992. 642p.

WILLIAMS, J.H., TURNER, W.H., SAINSBURY, G.M., BRADING, A.F. Experimental model of bladder outflow tract obstruction in the guinea pig. **Br. J. Urol.**, v.71, p.543, 1993.

WISE, B.G., CARDOZO, L.D. The urge syndrome. **Curr. Obstet. Gynecol.**, v.2, p.105-10, 1992.

APÊNDICE

Tabela 18: Peso do coelho em Kg no grupo G1 (Controle Clínico).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) nos diferentes animais do grupo G1 (Controle Clínico).

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
1 (2451)	2,150	2,180
2 (3447)	2,650	3,250
3 (01)	1,850	2,530
4 (04)	2,150	3,030
5 (05)	2,550	2,800
6 (06)	1,750	2,630
7 (07)	2,000	2,650
8 (08)	2,100	2,570
9 (09)	2,200	3,050
10 (12)	1,700	2,400
11 (13)	1,950	2,840
12 (15)	2,050	3,070
13 (16)	1,900	2,670
14 (17)	1,700	2,910
15 (19)	1,700	2,670
$\bar{x}$	2026,67	2750,00
s	290,24	283,14

Tabela 19: Peso do coelho em Kg no grupo G2 (Obstrução Infravesical).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e final (M2) (4 semanas de pós-operatório) nos diferentes animais do grupo G2 (Obstrução Infravesical).

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
16 (27)	2,100	2,300
17 (20)	2,170	2,650
18 (22)	2,275	2,660
19 (23)	2,800	2,900
20 (24)	1,950	2,400
21 (25)	2,420	3,200
22 (26)	2,100	2,210
23 (28)	2,340	2,460
24 (29)	2,150	2,570
25 (30)	1,920	1,750
26 (31)	2,800	3,000
27 (32)	2,820	2,310
28 (34)	2,210	2,380
29 (36)	2,130	2,660
30 (37)	2,310	2,500
$\bar{x}$	2299,67	2530,00
s	294,04	349,88

Tabela 20: Peso da bexiga em g no grupo G1 (controle clínico).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) Desvio Padrão (s), Mediana (Md) obtidos no Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) nos diferentes animais do grupo G1.

COELHO Nº	MOMENTO
	M2
1	2,830
2	3,348
3	2,600
4	2,413
5	2,140
6	2,900
7	2,012
8	3,300
9	2,334
10	1,585
11	2,266
12	2,131
13	2,000
14	1,766
15	1,588
$\bar{x}$	2,35
s	0,55

Tabela 21: Peso da Bexiga em g no grupo G2 (obstrução infravesical).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Final (M2)_ (4 semanas de pós-operatório) nos diferentes animais do grupo G2.

COELHO Nº	MOMENTO
	M2
1	3,413
2	4,830
3	6,757
4	6,561
5	4,140
6	7,700
7	9,360
8	5,769
9	5,360
10	3,483
11	4,510
12	10,522
13	5,452
14	3,020
15	7,708
$\bar{x}$	6,00
s	2,18

Tabela 22: Uréia Plasmática (Ur.) em mg% no grupo G1 (controle clínico).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
1	51	54
2	43	45
3	42	40
4	61	43
5	62	67
6	40	45
7	46	66
8	38	29
9	38	44
10	35	45
11	38	40
12	44	52
13	47	45
14	35	59
15	50	48
$\bar{x}$	44,67	48,13
s	8,43	10,08

Tabela 23: Uréia Plasmática (Ur.) em mg% no grupo G2 (obstrução infravesical).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
16	42	50
17	56	58
18	42	40
19	50	64
20	38	35
21	55	67
22	46	38
23	52	56
24	39	49
25	57	48
26	58	45
27	58	45
28	45	45
29	63	54
30	55	65
$\bar{x}$	50,40	48,13
s	7,87	9,89

Tabela 24: Creatinina Plasmática (Cr.) em mg% no grupo G1 (controle clínico).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
1	1,1	1,2
2	1,1	1,0
3	0,9	0,8
4	0,8	1,0
5	0,8	0,9
6	0,5	0,7
7	0,7	0,7
8	0,6	0,8
9	0,6	0,9
10	0,5	1,0
11	0,6	1,2
12	0,7	1,2
13	0,8	1,2
14	0,7	0,9
15	0,8	0,9
$\bar{x}$	0,75	0,96
s	0,18	0,18

Tabela 25: Creatinina Plasmática (Cr.) em mg% no grupo G2 (obstrução infravesical).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
16	0,9	1,1
17	1,1	1,7
18	0,8	0,9
19	1,4	1,2
20	1,2	1,4
21	1,2	1,3
22	1,0	0,9
23	1,3	1,1
24	1,1	1,3
25	1,2	0,9
26	1,3	1,1
27	1,2	0,7
28	0,9	1,1
29	1,0	1,4
30	1,1	1,2
$\bar{x}$	1,11	1,15
s	0,17	0,25

Tabela 26: Cultura de urina no grupo G1 (controle clínico).

Valores individuais da cultura de urina no momento inicial (M1) e momento final (M2) (4 semanas de pós-operatório) no grupo G1 (controle clínico).

Nº	CULTURA DE URINA	
	M1	M2
1	Negativa	<u>E. faecalis</u>
2	Negativa	<u>P. aeruginosa</u>
3	Negativa	Negativa
4	Negativa	Negativa
5	Negativa	Negativa
6	Negativa	Negativa
7	Negativa	Negativa
8	Negativa	B G N não fermentador
9	Negativa	Negativa
10	Negativa	Negativa
11	Negativa	Negativa
12	Negativa	Negativa
13	Negativa	Negativa
14	Negativa	Negativa
15	Negativa	Negativa

Tabela 27: Cultura de urina no grupo G2 (obstruído).

Valores individuais da cultura de urina no momento inicial (M1) e momento final (M2) (4 semanas de pós operatório) no grupo G2 (obstrução infravesical).

Nº	CULTURA DE URINA	
	M1	M2
16	Negativa	<u>P. aeruginosa</u> , <u>K. pneumoniae</u>
17	<u>P. aeruginosa</u> , <u>E. coli</u>	<u>E. coli</u> , <u>K. pneumoniae</u>
18	<u>P. aeruginosa</u>	<i>Enterobacter</i> sp, BGN não fermentador
19	Negativa	Negativa
20	<u>P. aeruginosa</u> , <u>E. coli</u>	<u>K. pneumoniae</u>
21	<u>P. aeruginosa</u>	Negativa
22	<u>P. aeruginosa</u>	<u>P. aeruginosa</u>
23	<u>K. oxytoca</u> , <u>E. coli</u>	<u>E. coli</u>
24	<u>P. aeruginosa</u>	<u>E. coli</u>
25	<u>P. aeruginosa</u>	<u>E. coli</u>
26	<u>P. aeruginosa</u> , <u>E. coli</u>	Negativa
27	Negativa	Negativa
28	<u>E. faecalis</u>	<i>Enterobacter</i> sp, BGN não fermentador
29	<u>P. aeruginosa</u>	<u>E. coli</u> , <i>Enterobacter</i> sp
30	<u>P. aeruginosa</u>	<u>P. aeruginosa</u>

Tabela 28: Volume Vesical Máximo ($V_{\text{máx}}$) em ml no grupo G1 (controle clínico).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
1	60	46
2	93	84
3	13	25
4	20	35
5	70	95
6	30	45
7	15	30
8	20	30
9	60	47
10	18	24
11	22	45
12	55	34
13	26	40
14	16	20
15	24	35
$\bar{x}$	36,13	42,33
s	24,78	21,01

Tabela 29: Volume Vesical Máximo ($V_{\text{máx}}$) em ml no grupo G2 (obstrução infravesical).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$), Desvio Padrão (s) e Mediana (Md), obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO N°	MOMENTO	
	M1	M2
16	24	52
17	32	92
18	23	72
19	68	32
20	35	72
21	48	65
22	10	19
23	44	52
24	40	25
25	33	52
26	30	56
27	25	55
28	28	42
29	45	34
30	42	98
$\bar{x}$	35,13	54,33
s	13,60	22,77

Tabela 30: Pressão do detrusor em cm de H₂O no grupo G1 (controle clínico).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
1	43	10
2	50	15
3	11	37
4	35	34
5	30	20
6	16	58
7	52	16
8	48	15
9	20	43
10	62	34
11	40	38
12	26	14
13	51	18
14	40	30
15	23	27
$\bar{x}$	36,47	27,27
s	15,03	13,47

Tabela 31: Pressão do detrusor em cm de H₂O no grupo G2 (obstrução infravesical).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
16	19	35
17	22	20
18	38	43
19	17	26
20	42	28
21	60	30
22	25	36
23	45	73
24	52	15
25	26	18
26	19	27
27	19	41
28	47	46
29	17	21
30	41	12
$\bar{x}$	32,60	31,40
s	14,47	15,42

Tabela 32: Complacência Vesical (Compl.) em ml / cm H₂O no grupo G1 (controle clínico).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$) e Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
1	6	2,2
2	5	2,0
3	1,2	1,5
4	1,4	4,0
5	2,3	6,8
6	1,6	4,5
7	1,8	4,2
8	2,2	1,0
9	5,0	5,2
10	2,2	1,7
11	2,7	5,2
12	3,9	2,0
13	2,1	5,0
14	1,8	2,8
15	2,6	2,9
$\bar{x}$	2,79	3,40
s	1,47	1,71

Tabela 33: Complacência Vesical (Compl.) em ml / cm H₂O no grupo G2 (obstrução infravesical).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$), Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
16	2,0	4,3
17	0,9	3,0
18	3,2	3,2
19	6,8	0,5
20	1,8	4,0
21	1,3	2,4
22	1,5	1,8
23	1,2	6,0
24	2,8	0,6
25	2,8	4,7
26	1,5	1,8
27	3,5	1,4
28	4,0	5,0
29	8,0	2,3
30	0,9	1,4
$\bar{x}$	2,81	2,83
s	2,10	1,67

Tabela 34: Contrações involuntárias do detrusor (CID) em cm H₂O no grupo G1 (controle clínico).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$), Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
0	0	0
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0
14	0	0
15	0	0
$\bar{x}$	0	0
s	0	0

Tabela 35: Contrações involuntárias do detrusor (CID) em cm H₂O no grupo G2 (Obstrução Infravesical).

Valores individuais, Média ($\bar{x}$), Desvio Padrão (s) obtidos no Momento Inicial (M1) e Momento Final (M2) (4 semanas de pós-operatório) com os animais em vigília.

COELHO Nº	MOMENTO	
	M1	M2
16	1	1
17	1	1
18	1	1
19	1	1
20	1	1
21	1	1
22	1	1
23	1	1
24	1	1
25	1	1
26	1	0
27	1	1
28	1	1
29	1	1
30	1	1
$\bar{x}$		
s		

Resumo

A instabilidade vesical é uma patologia bastante comum na prática urológica, porém sua etiopatogenia é pouco conhecida. A utilização de seres humanos na investigação de suas causas é restrita, principalmente devido aos problemas éticos. Nosso objetivo foi estudar as alterações histopatológicas e imunohistoquímicas decorrentes da obstrução parcial da bexiga. Foram utilizados 30 coelhos machos, divididos em grupo G1 (controle clínico, n=15) e grupo G2 (obstruído, n=15). No grupo G2 foi realizada obstrução parcial da bexiga usando um bracelete ajustável de polietileno e foram considerados os animais que desenvolveram contrações involuntárias do detrusor (CID). Foram submetidos a dosagem de uréia e creatinina plasmática, cultura de urina e estudo cistométrico em 2 momentos, inicial (M1) e final (M2) após 4 semanas da obstrução. Após este período, os coelhos foram sacrificados e a bexiga retirada para realização de estudo histopatológico e imunohistoquímico. Observou-se um aumento significativo do peso corporal dos coelhos nos diferentes momentos. O peso da bexiga foi 2,5 vezes maior no grupo G2 comparado com o grupo G1 (controle clínico). Não houve diferença estatisticamente significativa na análise da uréia plasmática. A creatinina plasmática foi significativamente maior no grupo G2 (obstruído) em comparação com o grupo G1 no momento final. Detectou-se cultura positiva em 40% dos casos no momento M1 (inicial) e 50% no M2 (final). A análise do estudo urodinâmico demonstrou aumento significativo da capacidade vesical no momento M2 no grupo G2. Não houve diferença estatisticamente significativa na pressão máxima do detrusor e na complacência vesical nos diferentes momentos. Verificou-se persistência das contrações involuntárias do detrusor em todos os animais do grupo G2 no momento final. O estudo histopatológico mostrou 13% de ulceração do epitélio no grupo G2 e fibrose de submucosa significativamente maior no grupo G2

comparada com o grupo G1, sendo 40% de fibrose leve/moderada no grupo G2. A fibrose de adventícia foi significativamente maior no grupo obstruído (G2) em relação ao grupo G1. A reação inflamatória foi significativamente maior no grupo G2. Não observamos diferença estatisticamente significativa na análise da fibrose do interstício muscular. Os resultados mostraram 54% de hipertrofia muscular nos animais do grupo G2 (obstruído). Na análise imunohistoquímica encontramos hiperplasia de epitélio e de camada muscular significativamente maior no grupo G2. Comparando o grupo obstruído (G2) e o grupo controle (G1) concluímos que: a) o peso da bexiga foi em média 2,5 vezes maior no grupo G2 (obstruído); b) não houve uma elevação significativa da pressão do detrusor (Pdet) no grupo G2 (obstruído); c) ocorreu uma fibrose de submucosa e de adventícia significativamente maior no grupo G2 (obstruído); d) houve uma hipertrofia muscular significativamente maior no grupo G2; e) no estudo imunohistoquímico houve uma hiperplasia de epitélio e de músculo significativamente maior no grupo G2 (obstruído).

Palavras-chave: obstrução parcial, bexiga, coelho, instabilidade do detrusor.

Abstract

The bladder instability is a very common problem in urology, however its etiology is rather unknown. The use of human beings is limited in the study of detrusor instability, specially because of ethical problems. For this reason we have proposed an experimental study of the bladder instability in rabbits due to partial bladder outlet obstruction. Thirty male rabbits were divided in G1 (control group) and G2. The animals in G2 had their bladder obstructed by using an adjustable polyethylene ring. Both groups were submitted to cystometrical evaluations in two moments: initial (before surgery) and final (after 4 weeks of obstruction). After this period, the rabbits were sacrificed, their bladder was removed and the alterations evaluated in the histologic and immunohistochemical study. The results showed an increase in the body weight of the rabbits and the bladder was 2.5 times heavier than the control group. There was no significative statistical difference in the plasmatic urea analysis. The results showed significative statistical difference between the groups in the final moment (the final moment was superior than the initial moment in G1). There was positive culture in 40% of the cases in M1 and 50% in M2. The analysis of the urodynamics study presented an increase in the bladder capacity in M2, G2. There was no significative statistical difference in the detrusor maximum pressure and in the bladder compliance. We could detect the persistence of the detrusor spontaneous contractions in all the animals in G2 in M2. The histological study showed 13% of epithelium ulceration and 40% of submucosal fibrosis in the obstructed animals. All the rabbits in G2 presented adventitious fibrosis. The inflammatory reaction was significantly bigger in G2. There was no statistical difference in the analysis of the intermuscular fibrosis. The results showed 54% of muscular hypertrophy in G2. The hyperplasia of the epithelium and of the muscular layer was bigger in G2 in the immunohistochemical analysis.

Comparing the obstructed group (G2) with control group (G1) we can conclude that: the bladder weight in obstructed animals was 2.5 times bigger; b) there was no significant detrusor pressure increase in obstructed animals; c) there was significantly bigger submucosal fibrosis in G2; d) there was an increase in adventitious fibrosis in G2; e) there was an increase in muscular hypertrophy in obstructed animals; f) there was a significant increase in immunohistochemical study in G2.

Key words: partial outlet obstruction, bladder, experimental study.

Autorizo a reprodução deste trabalho

Botucatu, 21 de fevereiro de 2002

Karina Tuma Balasteghin
