

# Análise dos Vasos do Trato Urinário Inferior de Ratas Durante e Após a Prenhez

Analysis of Urinary Tract Vessels during and after Pregnancy in Rats

José Vicente Kosmiskas, Manoel João Batista Castello Girão, Marair Gracio Ferreira Sartori, Edmund Chada Baracat, Geraldo Rodrigues de Lima

## RESUMO

**Objetivos:** estudar as variações da anatomia vascular de ratas, avaliando o número de vasos da uretra proximal e distal, da junção vésico-uretral e da bexiga, durante e após a prenhez.

**Métodos:** trinta ratas, com teste positivo de acasalamento, foram divididas aleatoriamente em três grupos contendo 10 animais cada, a saber: GI - ratas no 10º dia de prenhez; GII - ratas no 20º dia de prenhez; GIII - ratas no 5º dia de puerpério; um grupo controle (GIV) era composto de 10 ratas na fase de estro. Foram contados os vasos sanguíneos em quatro lâminas, por animal, coradas pelo método do tricrômico de Masson, com ocular de integração de 25 pontos, acoplada a microscopia de luz, com objetiva de 40 X. As regiões estudadas foram uretra proximal e distal, junção vésico-uretral e bexiga.

**Resultados:** não houve variação significativa no número de vasos da bexiga, da junção vésico-uretral e da uretra proximal nas ratas durante a gestação ou em relação ao grupo controle. Na uretra distal, o número de vasos no grupo controle foi 13,7, sendo significativamente menor do que nos grupos com prenhez (20,5 a 24,4 vasos).

**Conclusões:** as ratas prenhes apresentaram maior número de vasos na uretra distal do que aquelas em estro. Nos demais locais estudados não houve diferenças entre os grupos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Incontinência urinária. Uretra. Gravidez. Estudo experimental.

## Introdução

A anatomia dos órgãos da micção têm sido alvo de estudos nos últimos 150 anos. Como resultado dos avanços nas técnicas de investigação clínica e experimental nas últimas décadas, intensificaram-se os estudos dirigidos às implicações e significados funcionais desta anatomia, traduzindo-se na revisão de conceitos tradicionais sobre a micção e no desenvolvimento de novas modalidades de estudo para suas afecções<sup>1</sup>.

A perda involuntária de urina pela uretra, quando a pressão vesical excede a uretral máxima na ausência de atividade do músculo detrusor, define a forma mais prevalente de incontinência, ou seja, a incontinência urinária de esforço, en-

fermidade benigna porém responsável por graves repercussões sociais e higiênicas<sup>2</sup>.

Desta maneira, para que exista continência urinária, a pressão uretral deve ser maior que a vesical, no repouso e no esforço, sendo seu decréscimo um dos principais fatores envolvidos na gênese da incontinência urinária de esforço<sup>1</sup>. É afecção com elevada prevalência, acometendo entre 30% e 40% das mulheres idosas nos Estados Unidos da América. Contudo, as estimativas variam de acordo com as definições utilizadas; a prevalência média, quando utilizada a definição padronizada pela Sociedade Internacional de Continência, é de 23,5%<sup>2</sup>.

O trato urinário inferior tem duas funções principais, armazenamento e eliminação periódica de urina. Estas funções são reguladas por complexo controle neural e envolvem múltiplos mecanismos para sua eficácia<sup>3</sup>.

O sistema esfinteriano uretral é capaz de formar eficiente barreira que evita a perda de urina durante a fase de enchimento vesical, ao pas-

Universidade Federal de São Paulo – EPM – Departamento de Ginecologia  
Correspondência:  
Marair G.F. Sartori  
Av. Onze de Junho, 1006 apto 51  
04041-003 – São Paulo – SP

so que, mudando sua função, permite o esvaziamento vesical durante a micção<sup>4</sup>. Atualmente, abandonou-se o antigo conceito de dois simples esfínteres musculares, como responsáveis pela continência urinária<sup>4</sup>.

A uretra é um tubo muscular complexo; sua estrutura compreende uma série de camadas; a mais externa é o esfíncter estriado, que recobre fina camada circular de músculo liso que, por sua vez, recobre uma de músculo liso de orientação longitudinal. Localizada entre esta última camada e a mucosa uretral existe uma submucosa ricamente vascularizada<sup>5</sup>.

A proeminência dos vasos periuretrais é digna de nota. Berkow<sup>6</sup> demonstrou que a uretra feminina tem grandes lagos venosos, desproporcionais à necessidade de suprimento sanguíneo. Huisman<sup>7</sup> mostrou que o plexo artério-venoso periuretral é altamente organizado, capaz de se insuflar e desinsuflar em momentos específicos, sugerindo existir função de clameamento uretral.

Raz et al.<sup>8</sup> demonstraram a presença de grandes formações venosas de finas paredes e pequeno número de arteríolas, que se anastomosam entre si, entre as camadas muscular e mucosa da uretra, formando um coxim vascular, responsável pelo seu fechamento hermético, variando de acordo com o aporte sanguíneo. Detectaram, em cadelas, pulsações periuretrais correspondentes ao pulso periférico e ao batimento cardíaco ao longo da uretra, iniciando-se a 0,5 centímetro do colo vesical. Ao clampearem a origem comum das ilíacas internas notaram abolição das pulsações, que retornaram após a sua desobstrução. Durante o clameamento identificaram queda de um terço da pressão intra-uretral basal e redução do perfil uretral.

A uretra está sob a influência hormonal, assim como a vagina, sendo ampla a documentação deste fato. A fundamentação desta afirmação vem de dados embriológicos. A genitália feminina e o trato urinário desenvolvem-se a partir de um precursor comum, o seio urogenital<sup>5</sup>.

Outra evidência da suscetibilidade uretral aos hormônios foi fornecida em nosso meio por Suguita et al.<sup>9</sup>, que observaram durante a reposição estrogênica, associada ou não a medroxiprogesterona, metaplasia, hiperplasia e aumento da frequência de epitélio pseudo-estratificado em uretras de ratas castradas. O hipoestrogenismo esteve associado à maior frequência de epitélio pseudo-estratificado na uretra proximal e de epitélio de transição e pseudo-estratificado na junção uretro-vesical.

Sua vasculatura também é estrogênio-dependente e a pulsação vascular na região periuretral varia de acordo com as diferentes fa-

ses do ciclo menstrual, sendo maior durante o predomínio estrínico<sup>10</sup>. Endo et al.<sup>11</sup>, estudando quantitativamente os vasos periuretrais em ratas castradas ou sob reposição hormonal, demonstraram aumento da vascularização com reposição estrogênica.

Em nosso meio, Jarmy-diBella et al.<sup>12</sup>, estudando a vascularização periuretral em mulheres no menacme e na pós-menopausa pela doppler-velocimetria, com e sem incontinência urinária, demonstraram maior vascularização uretral em mulheres no menacme e um menor pico sistólico nas pacientes na pós-menopausa, especialmente nas incontinentes, em que os valores foram menores, sugerindo componente vascular na gênese da incontinência.

A gravidez, o trabalho de parto, o parto propriamente dito e o puerpério provocam muitas mudanças no trato genital e urinário<sup>5</sup>. Sabe-se que fatores mecânicos e hormonais propiciam aumento dos sintomas urinários durante a gravidez, em particular elevando a frequência miccional e agravando a urge-incontinência e a incontinência aos esforços pré-existent<sup>13</sup>. Vários autores demonstraram índices de incontinência urinária em mulheres gestantes previamente continentas de até 67%<sup>14,15</sup>.

De modo geral, existe a concordância da alta incidência de incontinência urinária de esforço durante a gravidez, sendo, porém, a grande maioria dos casos transitória, desaparecendo com o tempo no pós-parto. Apenas a minoria das pacientes com queixas de incontinência urinária mantém o quadro após o puerpério<sup>16,17</sup>.

São raros os estudos anatômicos disponíveis até o momento realizados durante a gestação que demonstrem as alterações sofridas pelo plexo uretral submucoso. Tendo em vista a escassa literatura disponível sobre vascularização periuretral e a dificuldade de seu estudo em humanos, nos dispusemos ao estudo deste plexo vascular em ratas durante seu ciclo gravídico-puerperal, analisando quantitativamente sua variação.

## Material e Método

Foram utilizadas 40 ratas (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia) adultas (aproximadamente três meses), virgens, pesando de 200 a 340 gramas, da colônia EPM-1 Wistar, oriundos do Centro de Desenvolvimento de Animais de Experimentação CEDEME da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina.

Os animais foram transportados para o

Biotério da Disciplina de Histologia e Biologia Estrutural, onde foram confinados em gaiolas plásticas com tampa gradeada de metal e mantidos com alimentação padrão e água *ad libitum*, em temperatura ambiente e com iluminação artificial, produzida por lâmpadas fluorescentes (Phillips, modelo Luz do Dia, de 40 W), sendo o fotoperíodo claro de 12 horas, das 7:00 às 19:00 horas.

Após período de adaptação de aproximadamente uma semana, 30 animais foram acasalados na proporção de duas fêmeas para cada macho durante uma noite (18:00 às 8:00 horas). Na manhã do dia seguinte foi feito o teste de acasalamento, que consiste em verificar a presença de espermatozoides na luz vaginal e, quando presente, considerar este como dia zero de prenhez.

Em seguida, 30 ratas, com teste positivo de acasalamento, foram divididas aleatoriamente em três grupos contendo 10 animais cada, a saber: GI - ratas no 10º dia de prenhez; GII - ratas no 20º dia de prenhez; GIII - ratas no 5º dia de puerpério;

Além disso, 10 ratas não acasaladas foram submetidas diariamente a exame colpocitológico corado pelo método de Harris-Shorr e constituíram um grupo controle da prenhez, ou seja, o grupo IV (10 ratas na fase de estro).

Após esses procedimentos, todos os animais foram anestesiados com vapores de éter etílico e, por incisão longitudinal no abdome, retirados em bloco a bexiga, parte do colo uterino e da vagina, juntamente com a uretra adjacente, que foram imediatamente mergulhados, para fixação, em líquido de Bouin. Após um período de quatro horas, o material foi dissecado, identificado e separado em quatro regiões distintas e macroscopicamente delimitadas: uretra distal, uretra proximal, junção uretro-vesical e bexiga. Estas regiões foram isoladas e novamente mergulhadas no líquido de Bouin, onde permaneceram por aproximadamente 24 horas.

Após esse período, os fragmentos foram desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico, até o absoluto, diafanizados pelo xilol e impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59°C, segundo a metodologia preconizada por Masson<sup>18</sup>. Em seqüência, os fragmentos foram incluídos e orientados de tal maneira que pudéssemos observar nos cortes histológicos secções transversais das várias regiões da uretra, da junção uretro-vesical e da bexiga urinária. Os blocos foram cortados com micrótomo do tipo *Minot* (marca Leica, modelo RM 2035). Os cortes assim obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e, em seguida, mantidos em estufa regulada à temperatura de 37°C durante 24 horas, para secagem e colagem. Os cortes foram então corados pela hematoxilina e eosina e pelo tricrômico

de Masson<sup>18</sup>, para posterior análise morfológica e morfométrica.

Para a leitura das lâminas utilizamos microscópio de luz com ocular de 10X e objetiva de 40X, resultando no aumento final de 400X.

Contamos os vasos sanguíneos em quatro lâminas por animal, coradas pelo método do tricrômico de Masson, pela técnica do *test point-counting volumetry*, com ocular de integração (*Integration plate 1 KPL 10 X*, Carl Zeiss) de 25 pontos, acoplada a microscopia de luz, com objetiva de 40X.

Os campos para leitura foram selecionados ao acaso, dez por animal. Os vasos da lâmina própria foram incluídos no estudo somente se estivessem localizados nos pontos de interseção, entre as linhas, da ocular de integração de Weibel. Portanto, foram desprezados aqueles que estivessem fora desses pontos. Desta maneira evitamos a contagem do mesmo vaso mais de uma vez, pois, a lâmina foi sempre avaliada seguindo-se uma orientação de contagem da direita para a esquerda, e os resultados expressos como sendo uma relação entre vasos e tecido conjuntivo.

Inicialmente, o número de vasos foi analisado descritivamente, pela observação dos valores mínimos e máximos, e pelo cálculo de médias e desvios-padrão, medianas, percentil 25 e percentil 75.

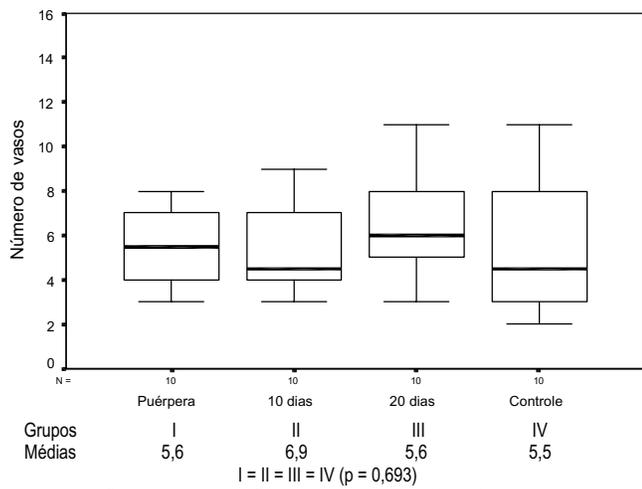
A comparação dos vários grupos foi realizada utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis. Quando identificada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, as comparações múltiplas foram realizadas pela soma dos pontos baseados no teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

## Resultados

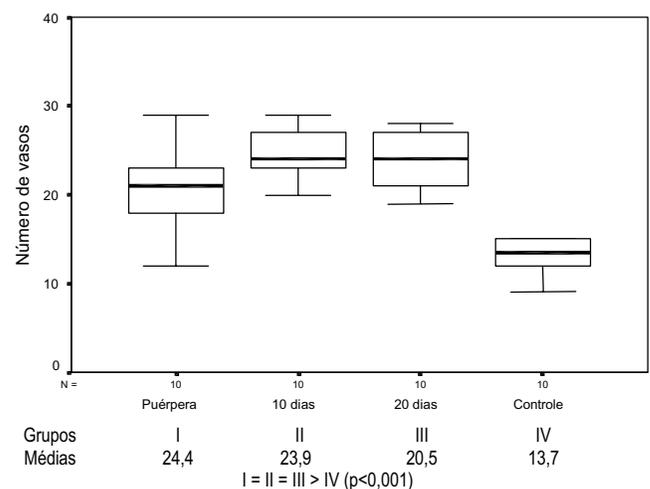
O número de vasos na bexiga foi de 5,6 no grupo de prenhez inicial e de 5,5 no grupo controle. Na junção vésico-uretral o número de vasos foi maior, porém não houve diferença significativa entre os grupos, variando de 13,5 no grupo controle a 19,6 no grupo de prenhez de 10 dias, valores estes semelhantes aos observados na uretra proximal.

Portanto, não identificamos variação no número de vasos nos diversos grupos estudados, na bexiga, na junção e na uretra proximal, não havendo variação significativa quando comparados os diferentes momentos da gravidez entre si ou quando comparados com o grupo em estro (Figuras 1 a 3).

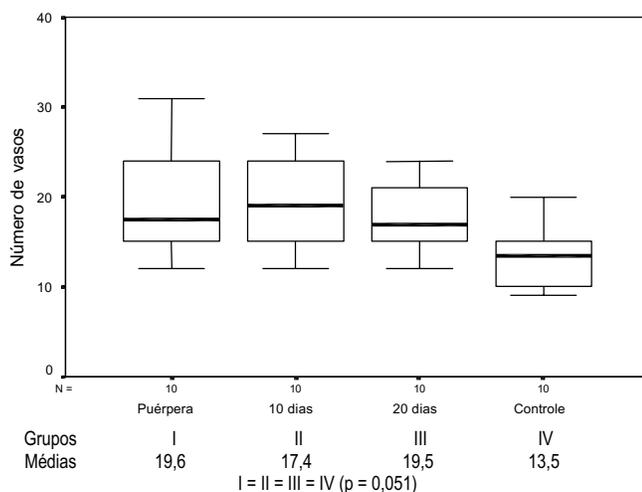
Quando comparados os números de vasos na uretra distal, o grupo controle apresentou 13,7 vasos, número significativamente menor do que os demais grupos, que mostraram de 20,5 a 24,4 vasos (Figura 4).



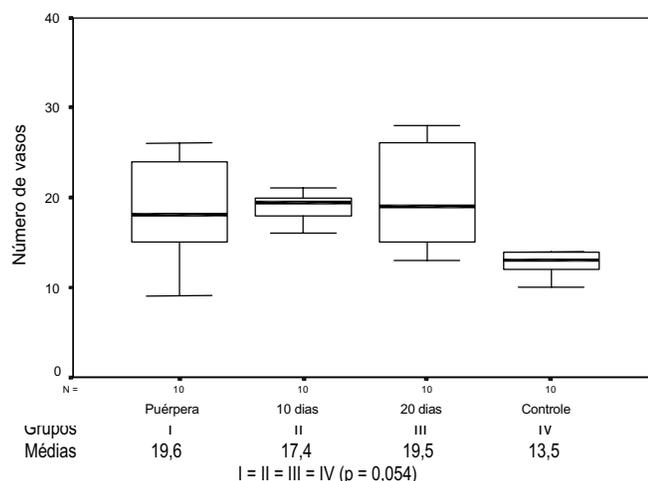
I = prenhez 10 dias, II = prenhez 20 dias, III = puérpera, IV = estro  
**Figura 1** - Boxplot do número de vasos na bexiga nos grupos estudados e médias do número de vasos em cada grupo.



I = prenhez 10 dias, II = prenhez 20 dias, III = puérpera, IV = estro  
**Figura 4** - Boxplot do número de vasos na uretra distal nos grupos estudados e médias do número de vasos em cada grupo.



I = prenhez 10 dias, II = prenhez 20 dias, III = puérpera, IV = estro  
**Figura 2** - Boxplot do número de vasos na junção vésico-uretral nos grupos estudados e médias do número de vasos em cada grupo.



I = prenhez 10 dias, II = prenhez 20 dias, III = puérpera, IV = estro  
**Figura 3** - Boxplot do número de vasos na uretra proximal nos grupos estudados e médias do número de vasos em cada grupo.

## Discussão

A incontinência urinária feminina tem, ainda, fisiopatologia apenas parcialmente compreendida. Acredita-se que a abertura e o fechamento da uretra proximal sejam regulados pela série de estruturas que a rodeiam, sendo as principais o ligamento pubo-vésico-uretral, os músculos pubococcígeos, a parede vaginal suburetral e o tecido conectivo que as mantém unidas<sup>3</sup>. Também de reconhecida importância são as estruturas uretrais internas, com especial destaque ao plexo vascular submucoso. O desequilíbrio ou função inadequada de uma destas estruturas pode ser responsável pelo desencadeamento da incontinência<sup>7</sup>.

Por suas próprias características embriológicas, as estruturas envolvidas no controle da micção estão sob influência hormonal<sup>5</sup>. A gravidez tem grande influência sob o trato urinário, promovendo alterações funcionais e anatômicas, como aumento do tamanho dos rins, dilatação dos cálices renais e ureteres, aumento do fluxo plasmático renal, aumento da taxa de filtração glomerular e aumento do comprimento uretral. Promove também aparecimento de variada sintomatologia na mulher, como elevação da frequência urinária, das infecções e desenvolvimento de incontinência urinária, ainda que na maior parte das vezes transitória<sup>5</sup>.

Este experimento buscou avaliar o efeito da gravidez sobre uma porção específica do trato urinário com relevante função dentro do mecanismo de continência feminino, a vascularização periuretral. Sendo a vasculatura periuretral relevante na manutenção da continência e sabidamente suscetível a ação hormonal e por ser a gestação evento envolvido no desencadeamento da incontinência urinária, decidimos estudar em modelo animal as eventuais conseqüências do

ciclo gravídico-puerperal no plexo submucoso uretral. A opção pelas ratas foi baseada na curta duração da sua gestação, em média 21 dias, aliada à possibilidade de completo estudo histológico dos vasos durante as diversas fases deste ciclo.

Contrariamente às nossas expectativas, nossos resultados não mostraram variação significativa no número de vasos do plexo submucoso na maioria das regiões estudadas, independente do momento do ciclo gravidez/puerpério, à exceção da região da uretra distal em comparação com o grupo em estro.

Em estudos semelhantes, vários autores demonstraram o efeito proliferativo dos esteróides sexuais sobre os vasos uretrais, como Batra e Iosif<sup>9</sup> que observaram aumento da vascularização uretral em coelhos após terapia estrogênica, e Endo et al.<sup>11</sup>, registrando aumento da vascularização uretral em ratas castradas após reposição estrogênica.

Por outro lado, as variações vasculares podem ter sido inibidas pelo predominante efeito progesteracional encontrado durante a gestação, como sugerem Brown<sup>20</sup> e Tong et al.<sup>21</sup>. Concluímos que os grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa para o número de vasos da bexiga, da junção vésico-uretral e da uretra proximal. Contudo, observamos diferença para o número de vasos da uretra distal, sendo maior durante a prenhez e puerpério do que nas ratas em estro.

## ABSTRACT

*Purpose: to evaluate the variations in vascular anatomy by assessing the number of vessels of the proximal and distal urethra, of the vesicourethral canal and of the bladder, during and after pregnancy in rats.*

*Method: thirty female rats, with a positive test for pregnancy, were divided into three groups of 10 animals each: GI - rats on the 10th day of pregnancy; GII - rats on the 20th day of pregnancy; GIII - rats on the 5th day of puerperium; a control group (GIV) composed of 10 rats in the estrous phase. The vessels were stained by the method of Masson and counted with a 25-dot integration ocular, coupled to a light microscope, with an objective of 40X. The studied regions were proximal and distal urethra, vesicourethral canal and bladder.*

*Results: there was no significant variation in the vessel number in the bladder, in the vesicourethral canal and in the proximal urethra during gestation. In the distal urethra of the group IV there were 13.7 vessels, less than that observed in the pregnant groups (20.5 to 24.4 vessels).*

*Conclusion: the pregnant rats had a larger number of vessels in the distal urethra than those in the estrous phase. There were no differences regarding the other sites.*

**KEY WORDS:** Urinary incontinence. Urethra. Pregnancy. Experimental study.

## Referências

1. Elbadawi A. Functional anatomy of the organs of micturition. *Urol Clin North Am* 1996; 23:177-210.
2. International Continence Society. Committee on Standardisation of Terminology. The standardisation of terminology of lower urinary tract function. In: Ostergard DR, Bent AE, editors. *Urogynecology and Urodynamics: theory and practice*. 4<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p.643-60.
3. De Groat WC. Anatomy and physiology of the lower urinary tract. *Urol Clin North Am* 1993; 20:383-401.
4. Gray M, Rayome R, Moore K. The urethral sphincter: an update. *Urol Nurs* 1995; 15:40-53.
5. Ostergard DR. The urinary tract in pregnancy. In: Ostergard DR, Bent AE, editors. *Urogynecology and Urodynamics: theory and practice*. 4<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1991. p.323-37.
6. Berkow SG. The corpus spongiosum of the urethra: its possible role in urinary control and stress incontinence in women. *Am J Obstet Gynecol* 1953; 65:346-51.
7. Huisman AB. Aspects on the anatomy of the female urethra with special relation to urinary continence. *Contrib Gynecol Obstet* 1983; 10:1-31.
8. Raz S, Ziegler M, Caine M. The effect of progesterone on the adrenergic receptors of urethra. *Br J Urol* 1973; 45:131-5.
9. Suguita M, Girão MJBC, Simões MJ, Sartori MGF, Baracat EC, Rodrigues de Lima G. A morphologic and morphometric study of the vesical mucosa and urethra of castrated female rats following estrogen and/or progesterone replacement. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2000; 27:176-8.
10. Enhörning G. Simultaneous recording of intravesical and intra-urethral pressure. A study on urethral closure in normal and stress incontinent women. *Acta Chir Scand Suppl* 1961; 276:1-68.
11. Endo RM, Girão MJBC, Sartori MGF, Simões MJ, Baracat EC, Rodrigues de Lima G. Effect of estrogen-progesterone hormonal replacement therapy on periurethral and bladder vessels. *Int Urogynecol J* 2000; 11:120-3.
12. Jármy-diBella ZIK, Girão MJBC, Sartori MGF, et al. Power color dopplervelocimetric parameters of the periurethral vessels in continent or urinary incontinent fertile and post menopausal women. *Int Urogynecol J* 2000; 11:148-54.
13. Iosif CS, Ingemarsson I, Ulmsten U. Urodynamic studies in normal pregnancy and in puerperium. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137:696-700.
14. Francis WIA. Disturbances of bladder function in relation to pregnancy. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1960; 67:353-66.
15. Chiarelli P, Campbell E. Incontinence during pregnancy. Prevalence and opportunities for continence promotion. *Aust N Z Obstet Gynaecol* 1997; 37:66-73.
16. Beck RP, Hsu N. Pregnancy, childbirth and the menopause related with development of stress incontinence. *Am J Obstet Gynecol* 1965; 91:820-3.
17. Iosif CS, Batra S, Ek A, Astedt B. Estrogen receptors in the human female lower urinary tract. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 141:817-20.
18. Masson P. *Tumeurs humaines. Histologie diagnostics et techniques*. 2<sup>nd</sup> ed. Paris: Librairie Maloine; 1956. p.1061-148.
19. Batra SC, Iosif CS. Progesterone receptors in the female lower urinary tract. *J Urol* 1987; 138:1301-4.
20. Brown AD. The effects of pregnancy on the lower urinary tract. *Clin Obstet Gynaecol* 1978; 5:151-68.
21. Tong YC, Wein AJ, Levin RM. Effects of pregnancy on adrenergic function in the rabbit urinary bladder. *Neurourol Urodyn* 1992; 11:525-33.

Recebido em: 02/04/02  
Aceito com modificações em: 07/05/02