

Importância do modelo animal para testar hipóteses sobre a fisiopatologia do binômio diabetes e incontinência urinária feminina

Importance of animal model to test hypotheses about the pathophysiology of the binomial diabetes and female urinary incontinence

Gabriela Marini¹, Fernanda Piculo¹, Angélica Mércia Pascon Barbosa¹, Débora Cristina Damasceno¹, Selma Maria Michelin Matheus², Marilza Vieira Cunha Rudge^{1,3}

¹ Laboratório de Pesquisa Experimental de Ginecologia e Obstetria, Departamento de Ginecologia e Obstetria, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

² Departamento de Anatomia, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

³ Professora Titular.

Estudo com suporte financeiro da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo).

RESUMO

Objetivos: discutir a importância do estudo de modelos animais para testar hipóteses sobre os mecanismos de continência urinária e fisiopatologia do binômio diabetes incontinência urinária.

Fonte de Dados: foi realizada revisão de literatura no PubMed e SciELO. Os descritores utilizados foram *diabetes, urinary incontinence, urethra, human e rats*.

Síntese dos Dados: existe forte correlação entre a gênese da incontinência urinária e o diabetes mellitus. Devido à similaridade entre a distribuição normal da musculatura estriada e da neuroanatomia da uretra em mulheres e em ratas, estes modelos animais vêm sendo cada vez mais utilizados nas pesquisas sobre esses distúrbios.

Conclusões: o uso de ratas como modelo animal é apropriado para estudos experimentais que testam hipóteses sobre os mecanismos de continência e a fisiopatologia do binômio diabetes mellitus e incontinência urinária, possibilitando assim, soluções de grande valia na prática clínica.

DESCRIPTORIOS: DIABETES MELLITUS/fisiopatologia; INCONTINÊNCIA URINÁRIA/fisiopatologia; URETRA/anatomia & histologia; MÚSCULO ESTRIADO/ anatomia & histologia; MODELOS ANIMAIS; FEMININO; RATOS.

ABSTRACT

Aims: To discuss the importance of studying animal models to test hypotheses about the mechanisms of urinary continence and pathophysiology of diabetes and urinary incontinence.

Source of Data: A literature review was conducted in PubMed and SciELO. The key words used were diabetes, urinary incontinence, urethra, human and rats.

Summary of Findings: There is a strong relation between the genesis of urinary incontinence and *diabetes mellitus*. Due to the similarity of normal distribution of skeletal muscle and urethra anatomy between humans and rats, these animal models have been used in current research about these disorders.

Conclusions: The use of rats as an animal model is suitable for experimental studies that test hypotheses about the mechanisms of continence and pathophysiology of the binomial diabetes mellitus and urinary incontinence, thus enabling solutions of great value in clinical practice.

KEY WORDS: DIABETES MELLITUS/physiopathology; URINARY INCONTINENCE/physiopathology; URETHRA/anatomy & histology; MUSCLE, STRIATED/anatomy & histology; MODELS, ANIMAL; FEMALE; RATS.

Recebido: julho de 2011; aceito: outubro de 2011.

Endereço para correspondência/Corresponding Author:

MARILZA VIEIRA CUNHA RUDGE
Laboratório Experimental de Ginecologia e Obstetria
Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP)
Distrito de Rubião Jr s/n
18.618-000, Botucatu, SP, Brasil
Telefone/Fax: (55-14)3811-6181
E-mail: marilzarudge@ig.com.br

INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus (DM) caracteriza-se por uma disfunção no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, causada por uma completa ou relativa insuficiência na secreção e/ou ação da insulina. Pode ser classificado em DM tipo 1, DM tipo 2 e DM gestacional, sendo um dos distúrbios endócrinos mais comuns no ser humano.^{1,2} Projeta-se que o número total de pessoas com DM aumente de 171 milhões no ano 2000 para 366 milhões em 2030. Esse aumento acompanha o crescimento e o envelhecimento populacional, a urbanização e o aumento da prevalência de obesidade e de sedentarismo.³

O DM afeta múltiplos sistemas, entre eles o sistema urinário (aproximadamente 52% dos pacientes hiperglicêmicos apresentam distúrbios nesse sistema).⁴ Vários estudos epidemiológicos observaram um aumento de 50 a 200% no risco de incontinência urinária (IU) entre mulheres com DM quando comparadas às mulheres com níveis normais de glicemia.^{5,6}

A IU feminina é definida como toda perda involuntária de urina.⁷ É uma condição frequente, de alto custo econômico para o governo e que implica em danos físicos, psicológicos e sociais, determinando pior qualidade de vida para as mulheres.⁸ Sua prevalência pode chegar a 49,5%, dependendo da população estudada e do critério empregado como diagnóstico.⁹ Nos Estados Unidos estimou-se, em 2004, um gasto de mais de 19,5 bilhões de dólares relacionado a esse distúrbio.¹⁰ A associação entre DM e prevalência de IU e disfunção muscular do assoalho pélvico foi claramente demonstrada por Barbosa,¹¹ que concluiu que a prevalência de IU gestacional dois anos pós-parto foi significativamente mais elevada entre mulheres com DMG do que entre gestantes normoglicêmicas.

Há muitos outros aspectos que merecem ser investigados na interação DM e IU que, como salientam DeLancey et al.,¹² estão interligados em uma trama ou em peças com forte ligação entre si. Segundo essa hipótese, denominada *Hammock Hypothesis*, o músculo estriado uretral deve ter um suporte adequado para fechar a uretra e manter a continência urinária.¹² Dada a forte correlação entre as ocorrências de DM e de IU, pesquisas sobre esses distúrbios podem trazer importantes benefícios para o tratamento das pacientes. Faz-se, assim, de extrema importância o conhecimento anatômico das estruturas uretrais de modelos animais a serem utilizados nessas pesquisas.

São encontrados muitos trabalhos publicados sobre DM e IU, mas a maioria trata de forma isolada os assuntos. O presente artigo tem como objetivo revisar e discutir a importância do estudo de modelos animais

para testar hipóteses sobre os mecanismos de continência e sobre a fisiopatologia do binômio DM e IU.

MÉTODOS

Foi realizada revisão de artigos na íntegra, dos últimos cinco anos, encontrados nas bases de dados PubMed e SciELO. Utilizando os termos *diabetes, human, rats, urethra* e *urinary incontinence*, foram encontrados 394 trabalhos. Destes, 84 (21,3%) estavam relacionados ao objetivo da pesquisa. Dos 84, 22,7% referiam-se a estudos com ratos e 77,3% a estudos em humanos; 32% abordaram o assunto mais especificamente e 68% de forma mais geral; 3,6% foram específicos e realizados no Brasil; 16,6% fizeram referência somente ao DM; 52,3% somente à IU; 32,1% à uretra; e 9,5% integraram os assuntos.

ANATOMIA URETRAL HUMANA

O mecanismo de continência urinária normal exige uma coordenação complexa entre bexiga, uretra, músculos pélvicos e tecido conjuntivo.¹³ O mecanismo intrínseco da continência é formado pelo esfíncter uretral externo e pelo esfíncter uretral interno, enquanto o mecanismo externo é formado pelos músculos pélvicos, órgãos e estruturas de suporte ao redor da uretra.¹⁴

A uretra é um tecido dinâmico composto de fibras longitudinais e transversais de músculo estriado e liso e matriz de tecido conjuntivo, que possui a função de manter a continência durante o enchimento da bexiga (pressão uretral excedendo a pressão vesical) e de ajudar a liberação da urina durante a micção.¹³ A continência ocorre pelo fato da pressão de fechamento uretral exceder a pressão intravesical.¹⁵

A musculatura estriada da uretra e do assoalho pélvico são responsáveis por um terço da pressão uretral. Outro terço é exercido pelo componente vascular e o terço restante é atribuído à musculatura lisa e ao tecido conjuntivo uretral e para-uretral.¹⁵ Assim, não há dúvidas que a integridade uretral é de extrema importância para os mecanismos de continência.^{16,17}

O lúmen uretral é cercado por um proeminente plexo vascular, que também contribui para a continência. Ao redor do plexo, aparece uma camada interna de músculo liso com fibras longitudinais e ao redor desta uma segunda camada de músculo liso com fibras circulares. Circundando a segunda camada de músculo liso, está a camada de músculo estriado. A configuração circular das camadas musculares sugere um papel importante na constrição do lúmen quando as fibras se contraem.¹⁸

Os estudos clínicos evidenciam que mulheres com IU têm redução do tamanho das fibras do músculo estriado uretral. Foi realizada uma análise da relação entre a anatomia e função do esfíncter uretral com a função do assoalho pélvico em 103 mulheres com IU e em 108 mulheres continentais usando imagens de ressonância magnética. Esse estudo evidenciou que, nas mulheres incontinentes, o esfíncter uretral foi 12,5% menor do que no grupo controle. Os autores concluíram que um esfíncter menor está associado com pior função do assoalho pélvico e com IU.¹⁹

Estudo histológico do esfíncter uretral, obtido por punção com agulha, demonstrou que pacientes com IU grave têm alterações importantes tanto no músculo estriado como no músculo liso do assoalho pélvico. Amostras da uretra apresentaram as fibras do músculo estriado separadas por tecido conjuntivo e algumas dessas fibras apresentaram-se completamente isoladas. Esse aumento de tecido conjuntivo também foi confirmado por análise morfométrica.²⁰

Várias publicações descrevem diferenças na composição e na quantidade do colágeno em mulheres com e sem IU seguindo diferentes linhas de pesquisa. Alguns autores relacionaram IU com diminuição na quantidade de colágeno, como Bergman et al.²¹ e Rechberger et al.²² Esses autores verificaram redução significativa no colágeno tipo III nos tecidos pélvicos em mulheres com IU.^{21,22}

Por outro lado, muitos autores relacionam a IU com aumento na quantidade de colágeno periuretral.²³⁻²⁹ Em 1998, Falconer et al.²⁹ verificaram que a concentração de colágeno e o diâmetro das fibras colágenas eram 30% maiores no grupo de mulheres incontinentes na pós-menopausa. Concluíram que a IU está associada com mudanças no metabolismo do colágeno, resultando em aumento da sua concentração e no tamanho de suas fibras.²⁹

ANATOMIA URETRAL DOS ROEDORES E ESTUDOS EXPERIMENTAIS

Em ratas, do lúmen uretral para a parede vaginal encontram-se diferentes camadas: epitelial, tecido conjuntivo, duas camadas de músculo liso, outra camada de tecido conjuntivo e uma camada de musculatura estriada.³⁰ A distribuição do esfíncter uretral externo parece estar mais evidente na uretra medial.^{31,32} Já os fascículos nervosos apresentam um primeiro pico no terço proximal e um segundo no fim da uretra distal.³³ As camadas de fibras estriadas orientam-se circularmente ao redor de camadas de músculo liso e do lúmen uretral. A camada externa de músculo liso é mais fina, circular, e se encaixa na

camada mais interna, que está orientada em bandas longitudinais, separada por tecido conjuntivo.³⁰

Estudos demonstram que a distribuição normal da musculatura estriada e da neuroanatomia na uretra de ratas é similar a de humanos.^{33,34} Modelos animais estão sendo desenvolvidos e utilizados para testar hipóteses sobre os mecanismos de continência e a fisiopatologia da IU e do DM. Outros assuntos, como alterações hormonais, trauma de parto simulado, prenhez, lesões no nervo pudendo, tratamento medicamentoso e, principalmente, cirúrgico, também vêm sendo amplamente estudados em ratas.³⁴

Ratas com glicemia maior do que 300 mg/dL (seis a oito semanas) tiveram aumento significativo na capacidade vesical e no intervalo intercontrátil, danos extensos no esfíncter uretral externo, atrofia do septo uretrovaginal e aumento na deposição de colágeno entre o músculo estriado.³³ Liu et al.³⁵ também verificaram efeitos deletérios na uretra e na bexiga de ratas diabéticas, como diminuição da sensibilidade vesical, aumento da capacidade vesical e do volume residual, prejuízo na contratilidade do detrusor e atrofia no músculo uretral externo. Este último pode estar relacionado com a polineuropatia encontrada no DM.³⁵ Krause et al.,³⁶ em 2009, também encontraram essa atrofia muscular, classificando-a como miopatia diabética.

Marini,³⁷ em 2010, avaliou as alterações morfológicas das fibras musculares estriadas tipos I e II da uretra de ratas prenhes diabéticas submetidas à cesárea e verificou que o grupo de ratas prenhes diabéticas apresentou adelgaçamento, atrofia, desorganização e rompimento associados à perda de localização anatômica normal das fibras rápidas e lentas, assim como diminuição na proporção de fibras rápidas. O pesquisador concluiu que o binômio DM e prenhez danificou o músculo estriado uretral e alterou a composição e a distribuição das fibras tipo I e II.³⁷ É evidente que uma das maiores causas de IU de esforço é o mau funcionamento do músculo estriado uretral e que o DM leva a graves alterações nesse músculo.

CONCLUSÕES

Existe forte relação entre a gênese da IU e o DM. É de extrema importância o conhecimento anatômico das estruturas uretrais das mulheres, bem como dos modelos animais a serem utilizados para estudos. Devido à distribuição normal da musculatura estriada e à neuroanatomia da uretra de ratas serem similares às humanas, o uso desse modelo animal é apropriado para estudos experimentais relevantes sobre os mecanismos do DM e da IU, possibilitando assim, soluções de grande valia na prática clínica.

AGRADECIMENTOS

Este estudo teve suporte financeiro da FAPESP (2008/00989-4).

REFERÊNCIAS

1. Bael A, Verhulst J, Lax H, et al. Investigator bias in urodynamic studies for functional urinary incontinence. *J Urol.* 2009;182:1949-52.
2. Takaku M, Takeno MA, Rudge MVC, ET AL. Tipos de diabetes. *Femina.* 2006;34:763-6.
3. Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 2004;27:1047-53.
4. Lifford KL, Curhan GC, Hu FB, et al. Type 2 diabetes mellitus and risk of developing urinary incontinence. *J Am Geriatr Soc.* 2005;53:1851-7.
5. Lewis CM, Schrader R, Many A, et al. Diabetes and urinary incontinence in 50- to 90-year-old women: a cross-sectional population-based study. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193:2154-8.
6. Brown JS, Vittinghoff E, Lin F, et al. Prevalence and risk factors for urinary incontinence in women with type 2 diabetes and impaired fasting glucose: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2002. *Diabetes Care.* 2006;29:1307-12.
7. Abrams P, Cardozo L, Fall M, et al. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society. *Urology.* 2003;61:37-49.
8. Martinez Corcoles B, Salinas Sanchez AS, Gimenez Bachs JM, et al. Impacto de la cirugía de la incontinencia urinaria de esfuerzo en la calidad de vida de las pacientes. *Arch Esp Urol.* 2009;62:22-33.
9. Tozun M, Ayranci U, Unsal A. Prevalence of urinary incontinence among women and its impact on quality of life in a semirural area of Western Turkey. *Gynecol Obstet Invest.* 2009;67:241-9.
10. Hu TW, Wagner TH, Bentkover JD, et al. Costs of urinary incontinence and overactive bladder in the United States: a comparative study. *Urology.* 2004;63:461-5.
11. Barbosa AMP. Prevalência e fator de risco para incontinência urinária e disfunção muscular do assoalho pélvico dois anos após Diabete Melito gestacional [tese]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista UNESP; 2006.
12. DeLancey JO. Structural support of the urethra as it relates to stress urinary incontinence: the hammock hypothesis. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;170:1713-23.
13. Norton P, Brubaker L. Urinary incontinence in women. *Lancet.* 2006;367:57-67.
14. Wallner C, Dabhoiwala NF, DeRuiter MC, et al. The anatomical components of urinary continence. *Eur Urol.* 2009;55:932-43.
15. Jankowski RJ, Prantil RL, Chancellor MB, et al. Biomechanical characterization of the urethral musculature. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;290:F1127-34.
16. Fleischmann N, Flisser AJ, Blaivas JG, et al. Sphincteric urinary incontinence: relationship of vesical leak point pressure, urethral mobility and severity of incontinence. *J Urol.* 2003;169:999-1002.
17. Castro R, Arruda R, Oliveira E, et al. Fisioterapia e incontinência urinária de esforço: revisão e análise crítica. *Femina.* 2008;36:737-42.
18. Ashton-Miller JA, Howard D, DeLancey JO. The functional anatomy of the female pelvic floor and stress continence control system. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2001(207):1-7;discussion 106-25.
19. Morgan DM, Umek W, Guire K, et al. Urethral sphincter morphology and function with and without stress incontinence. *J Urol.* 2009;182:203-9.
20. Hale DS, Benson T, Brubaker L, et al. Histologic analysis of needle biopsy of urethral sphincter from women with normal and stress incontinence with comparison of electromyographic findings. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180:342-8.
21. Bergman A, Elia G, Cheung D, et al. Biochemical composition of collagen in continent and stress urinary incontinent women. *Gynecol Obstet Invest.* 1994;37:48-51.
22. Rechberger T, Postawski K, Jakowicki JA, et al. Role of fascial collagen in stress urinary incontinence. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:1511-4.
23. Morley R, Cumming J, Weller R. Morphology and neuropathology of the pelvic floor in patients with stress incontinence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct.* 1996;7:3-12.
24. Fitzgerald MP, Mollenhauer J, Hale DS, et al. Urethral collagen morphologic characteristics among women with genuine stress incontinence. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182:1565-74.
25. Feldner Jr PC, Sartori MG, Nader HB, et al. Sulfated glycosaminoglycans of periurethral tissue in pre- and postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;139:252-5.
26. Rocha MA, Sartori MG, De Jesus Simoes M, et al. The impact of pregnancy and childbirth in the urethra of female rats. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct.* 2007;18:645-51.
27. Mitrano P, Nogueira MD, Feldner PC, Jr., Castro RA, Sartori MG, Nader HB, et al. Metabolic profile of glycosaminoglycans in bladder and urethra of female rats during and after pregnancy. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct.* 2010;21(2):241-6.
28. Takano CC, Bezerra LR, Zucchi EV, Nader HB, Sartori MG, Girao MJ. Long-term and short-term effects of simulated birth trauma, cesarean and vaginal delivery on sulfated glycosaminoglycans in the urethra of female rats. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct.* 2010;21:705-10.
29. Falconer C, Ekman-Ordeberg G, Blomgren B, et al. Para-urethral connective tissue in stress-incontinent women after menopause. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1998;77:95-100.
30. Praud C, Sebe P, Mondet F, et al. The striated urethral sphincter in female rats. *Anat Embryol (Berl).* 2003;207:169-75.
31. Jankowski RJ, Prantil RL, Fraser MO, et al. Development of an experimental system for the study of urethral biomechanical function. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286:F225-32.
32. Morin M, Gravel D, Bourbonnais D, Dumoulin C, Ouellet S. Reliability of dynamometric passive properties of the pelvic floor muscles in postmenopausal women with stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn.* 2008;27:819-25.

33. Kim JH, Huang X, Liu G, et al. Diabetes slows the recovery from urinary incontinence due to simulated childbirth in female rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;293:R950-5.
34. Hijaz A, Daneshgari F, Sievert KD, et al. Animal models of female stress urinary incontinence. *J Urol.* 2008;179:2103-10.
35. Liu G, Lin YH, Yamada Y, et al. External urethral sphincter activity in diabetic rats. *Neurourol Urodyn.* 2008;27:429-34.
36. Krause MP, Riddell MC, Gordon CS, et al. Diabetic myopathy differs between Ins2Akita and streptozotocin-induced Type 1 diabetic models. *J Appl Physiol* 2009;106:1650-9.
37. Marini G. Alterações morfológicas das fibras tipos I e II do músculo estriado uretral de ratas prenhes diabéticas [dissertação]. Botucatu (SP): UNESP; 2010.