



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia

Jhone Robson da Silva Costa

Influência da inflamação sistêmica na reatividade músculo liso detrusor da bexiga urinária
de camundongos machos e fêmeas

Florianópolis – SC
2026

Influência da inflamação sistêmica na reatividade músculo liso detrusor da bexiga urinária
de camundongos machos e fêmeas

Jhone Robson da Silva Costa

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo da Silva Santos

Florianópolis - SC
2026

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.
Dados inseridos pelo próprio autor.

Costa, Jhone Robson da Silva

Influência da inflamação sistêmica na reatividade
músculo liso detrusor da bexiga urinária de camundongos
machos e fêmeas / Jhone Robson da Silva Costa, ;
orientador, José Eduardo da Silva Santos, 2026.

99 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-
Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. Farmacologia. 3. Bexiga urinária.
4. Inflamação. I. , . II. Santos, José Eduardo da Silva.
III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Farmacologia. IV. Título.

Jhone Robson da Silva Costa

**Influência da inflamação sistêmica na reatividade músculo liso detrusor da bexiga
urinária de camundongos machos e fêmeas**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 29 de outubro de 2025, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dra. Áurea Elizabeth Linder
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Daniela Dal Secco
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Giles Alexander Rae
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Regina de Sordi
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. José Eduardo da Silva Santos
Orientador

Florianópolis – SC
2026

Dedico

À minha mãe Maria Silva, ao meu pai Will Robson, aos meus irmãos Jhennifer e William, ao meu namorado Thiago Cito e aos meus caríssimos amigos.

Que este trabalho também seja uma homenagem a todos aqueles que sonham com um futuro fraterno, solidário e justo.

AGRADECIMENTOS

A Deus e às Forças do Universo, por me permitirem e conduzirem nesta jornada.

Agradeço à minha família, meus pais e irmãos: Maria Silva, Will Costa, Jhennifer Silva e William Silva, pelo apoio incondicional, carinho e por todo o suporte essencial à realização deste mestrado. Ao meu namorado, Thiago Primo, agradeço profundamente pelo carinho, paciência, apoio constante e por caminhar comigo durante todo esse processo.

Às minhas grandes amigas e companheiras Fabiana Santos e Tássia Lopes, por estarem ao meu lado com amizade, afeto e incentivo.

Sou especialmente grato ao meu orientador, Professor José Eduardo, pelo acolhimento, orientação, conselhos e por todo o suporte que extrapolou os limites deste trabalho.

Ao professor Giles Rae e às professoras Beth Linder, Regina Sordi e Daniela Dal que gentilmente aceitaram contribuir com este trabalho. Meu muito obrigado!

Aos meus queridos amigos Merita Pereira, Stherfanni Moura, Leonardo Gomes, Livia Arruda e Maria Luiza da Silveira, com quem compartilhei momentos únicos de aprendizado, companheirismo e alegria, meu muito obrigado. À Deia, minha eterna gratidão pelo carinho e pela amizade. Amo vocês!

Aos amigos que essa caminhada me presenteou, Jaciel Marinho, Jessica Cavalcante, Andrisson Ferreira, Andreilson Ferreira, Joana Lidia e Yá minha gratidão por cada vivência. Em especial, agradeço a Joana, Jaciel e Andrisson, cuja amizade e companheirismo foram das coisas mais bonitas que me aconteceram. Obrigado pelas aventuras, pelo afeto e por tudo de lindo que vivemos juntos. Vocês são incríveis!

Aos colegas do mestrado Cássio, Guilherme, Luíza, Daniele, Priscila e Gabi agradeço pelas trocas, pelo apoio mútuo e por compartilharmos os desafios e conquistas ao longo dessa jornada.

Expresso ainda minha gratidão ao presidente Luiz Inácio Lula da Silva, aos partidos de esquerda e aos movimentos sociais que seguem lutando por um Brasil mais justo e que acreditam na educação como ferramenta para superação das desigualdades sociais.

Às agências de fomento CAPES, CNPq, FAPESC e FINEP, pelo apoio à pesquisa e ao desenvolvimento acadêmico; à Universidade Federal de Santa Catarina e ao Biotério, por acolher e possibilitar esta formação.

E, por fim, a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, deixo meu sincero e profundo agradecimento.

A educação não transforma o mundo. A educação muda
as pessoas. As pessoas transformam o mundo.

Paulo Freire

RESUMO

Introdução: Processos inflamatórios, sejam sistêmicos ou localizados na bexiga, podem desregular a produção de mediadores, influenciando diretamente o tônus vesical e a dinâmica miccional. Estudos recentes têm destacado o papel crucial desses mediadores na modulação da função do detrusor, além de apontarem para possíveis diferenças sexuais nessas respostas. Assim, este estudo foi desenhado para explorar a hipótese de que a inflamação sistêmica pode aumentar a reatividade à acetilcolina endógena na bexiga. **Métodos:** Camundongos *Swiss* machos e fêmeas (3-4 meses) foram randomizados em grupos que não receberam nenhum tratamento (grupo controle) ou lipopolissacarídeo (LPS, 10 mg/kg por via intraperitoneal). Após a injeção de LPS, os animais foram eutanasiados em tempos de 6 (grupo LPS 6 h) ou 18 horas (grupo LPS 18 h) e tiras da bexiga foram montadas em banhos de órgãos para avaliação da resposta funcional. **Resultados:** Tiras de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas atingiram efeito máximo semelhantes quando estimuladas com carbacol (CCh), sem diferenças na EC₅₀ entre os grupos. A neostigmina (NEO) aumentou as respostas à acetilcolina (ACh), atingindo níveis comparáveis ao CCh, além de induzir o aumento do tônus e da amplitude das contrações em ambos os sexos, efeito bloqueado pela atropina em todos os grupos experimentais. Além disso, a inflamação sistêmica, não interferiu no tônus induzido pela NEO, mas aumentou significativamente a amplitude dos movimentos das tiras de bexiga nos grupos LPS de ambos os sexos. A guanetidina demonstrou efeitos significativos sobre a amplitude dos movimentos das tiras de bexiga, aumentando-a nos grupos controle e LPS 6 h de ambos os sexos. Além disso, reduziu significativamente a contração induzida por NEO em todos os grupos experimentais. Em contraste, o L-NAME não alterou a amplitude dos movimentos observados nas tiras de bexiga urinária, mas exibiu efeitos distintos sobre a frequência quando administrado isoladamente, diminuiu-a em machos LPS 6 h e aumentou-a em machos LPS 18 h. Além disso, o L-NAME potencializou a contração induzida por NEO em preparações bexiga oriundas de camundongos machos LPS 6 h e 18 h, enquanto nas fêmeas esse efeito foi observado apenas no grupo LPS 18 h. A apocinina isoladamente apresentou um padrão distinto, por um lado, aumentou a amplitude dos movimentos de tiras de bexiga em machos LPS 6 h após estimulação com NEO; por outro, reduziu a amplitude das tiras em machos LPS 6 h e fêmeas LPS 18 h. No que diz respeito ao tônus vesical, a apocinina potencializou as contrações induzidas por NEO em preparações de bexiga dos grupos LPS 6 h e 18 h de ambos os sexos, mas atenuou essa resposta nos grupos controle. O tempol reduziu a frequência dos movimentos em preparações de bexiga oriundas de fêmeas LPS 18 h, enquanto potencializou o tônus induzido pela NEO em tiras bexiga de machos LPS 6 h e fêmeas LPS 18 h. Por fim, a indometacina exibiu um perfil dimórfico, aumentando a amplitude dos movimentos das tiras de bexiga urinária em machos LPS 6 h, e diminuindo em preparações isoladas de fêmeas LPS 18 h. Além disso, elevou a frequência dos movimentos espontâneos em tiras de bexiga machos e fêmeas LPS 18 h. No contexto do tônus vesical, a indometacina potencializou a resposta à NEO em tiras obtidas de machos controle, LPS 6 e 18 h, bem como de fêmeas LPS 6 h e 18 h. **Conclusão:** Esses resultados indicam uma complexa modulação da contratilidade da bexiga, influenciada pelo sexo e pelo estado inflamatório, revelando que, durante a inflamação sistêmica, o óxido nítrico, os prostanóides e as espécies reativas ao oxigênio modulam a função da bexiga, contrapondo-se ao aumento da reatividade.

Palavras-chave: Trato urinário. Sistema parassimpático. Inflamação sistêmica. Reatividade.

ABSTRACT

Introduction: Inflammatory processes, whether systemic or localized in the bladder, can dysregulate the production of mediators, directly influencing bladder tone and micturition dynamics. Recent studies have highlighted the crucial role of these mediators in modulating detrusor function, as well as potential sex-related differences in these responses. Thus, this study was designed to test the hypothesis that systemic inflammation may enhance reactivity to endogenous acetylcholine in the bladder. **Methods:** Male and female Swiss mice (3–4 months old) were randomized into groups receiving no treatment (control group) or lipopolysaccharide (LPS, 10 mg/kg, intraperitoneally). Following LPS injection, animals were euthanized at 6 (LPS 6 h group) or 18 hours (LPS 18 h group), and bladder strips were mounted in organ baths for functional response assessment. **Results:** Bladder strips from male and female mice reached similar maximal effects when stimulated with carbachol (CCh), with no differences in EC₅₀ between groups. Neostigmine (NEO) enhanced responses to acetylcholine (ACh), reaching levels comparable to CCh, and also increased tone and contraction amplitude in both sexes effects blocked by atropine in all experimental groups. Systemic inflammation did not affect NEO-induced tone but significantly increased movement amplitude in LPS groups of both sexes. Guanethidine significantly increased movement amplitude in control and LPS 6 h groups of both sexes, while markedly reducing NEO-induced contractions in all experimental groups. In contrast, L-NAME did not alter movement amplitude but exerted distinct effects on frequency when administered alone: decreasing it in male LPS 6 h and increasing it in male LPS 18 h. Moreover, L-NAME potentiated NEO-induced contractions in bladder preparations from male LPS 6 h and 18 h mice, whereas in females this effect was observed only in the LPS 18 h group. Apocynin alone displayed a distinct pattern: it increased movement amplitude in male LPS 6 h strips after NEO stimulation but reduced amplitude in male LPS 6 h and female LPS 18 h strips. Regarding bladder tone, apocynin potentiated NEO-induced contractions in bladder strips from LPS 6 h and 18 h groups of both sexes but attenuated this response in controls. Tempol reduced movement frequency in female LPS 18 h strips, while potentiating NEO-induced tone in male LPS 6 h and female LPS 18 h strips. Finally, indomethacin exhibited a dimorphic profile, increasing movement amplitude in male LPS 6 h bladder strips and decreasing it in female LPS 18 h strips. Additionally, it increased spontaneous movement frequency in bladder strips from male and female LPS 18 h groups. In terms of bladder tone, indomethacin potentiated NEO responses in strips from control, LPS 6 h, and LPS 18 h males, as well as from LPS 6 h and 18 h females. **Conclusion:** These findings indicate a complex modulation of bladder contractility influenced by both sex and inflammatory status, revealing that during systemic inflammation, nitric oxide, prostanoids, and reactive oxygen species modulate bladder function, counteracting the enhanced reactivity.

Keywords: Urinary tract. Parasympathetic system. Systemic inflammation. Reactivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Divisão anatômica do sistema urinário, com destaque para a bexiga urinária .	18
Figura 2. Camadas celulares da parede da bexiga urinária	20
Figura 3. Mecanismos celulares associados ao reflexo da micção	21
Figura 4. Esquema simplificado das vias envolvidas na contração do músculo liso	24
Figura 5. Vias envolvidas no relaxamento do músculo liso da bexiga urinária	36
Figura 6. Alterações desencadeadas pela inflamação	30
Figura 7. Esquema representativo da metodologia utilizada para quantificação das contrações espontâneas	37
Figura 8. Esquema experimental para o estudo da reatividade da bexiga urinária de camundongos controle e tratados com LPS	38
Figura 9. Peso de camundongos, peso da bexiga e peso das tiras de bexiga obtidas de camundongos machos e fêmeas	39
Figura 10. Respostas contráteis induzidas por KCl ou CCh em tiras de bexiga urinária obtidas de camundongos machos e mantidas sob diferentes tensões basais	41
Figura 11. Curva tensão-resposta induzida por KCl ou CCh em tiras de bexiga urinária obtidas de camundongos fêmeas	42
Figura 12. Curvas concentração resposta induzidas por CCh em preparações de bexiga isolada	43
Figura 13. Perfil de contração evocada por 120 mM de KCl e 10 μ M de CCh nas tiras de camundongos saudáveis	45
Figura 14. Curvas concentração resposta induzidas por CCh e ACh em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	46
Figura 15. Efeito da neostigmina sobre o tônus da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	49
Figura 16. Efeito da guanetidina sobre a reatividade da bexiga urinária à neostigmina .	50

Figura 17. Efeito do L-NAME sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	51
Figura 18. Efeito da apocinina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	52
Figura 19. Efeito do tempol sobre a reatividade na bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	53
Figura 20. Efeito da indometacina sobre a reatividade bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	55
Figura 21. Curvas concentração resposta induzidas por CCh e ACh em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	59
Figura 22. Efeito da inflamação sistêmica sobre os movimentos espontâneos de tiras de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	60
Figura 23. Efeito da neostigmina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	61
Figura 24. Efeito da guanetidina sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	62
Figura 25. Efeito do guanetidina sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	63
Figura 26. Efeito do L-NAME sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	64
Figura 27. Efeito do L-NAME sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	65
Figura 28. Efeito do apocinina sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	68
Figura 29. Efeito do tempol sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	69

Figura 30. Efeito do apocinina sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	70
Figura 31. Efeito do tempol sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	71
Figura 32. Efeito da indometacina sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	72
Figura 33. Efeito da indometacina sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS	73

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Principais doenças ou condições que pode acometer a bexiga urinária	27
Quadro 2. Esquema resumindo os principais resultados	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT – serotonina

AC – adenilato ciclase

ACh – acetilcolina

AChE – acetilcolinesterase

AMPC – monofosfato de adenosina cíclica

ANOVA – análise de variância

ATP – trifosfato de adenosina

ASC – área sob a curva

CCh – carbacol

CE50 – concentração efetiva mediana

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

CK⁺ – canais para potássio

CPM – cadeia pesada de miosina

DAG – diacilglicerol

EDTA – ácido etilenodiaminotetracético

Emáx – efeito máximo

EPM – erro padrão da média

EROs – espécies reativas de oxigênio

GCs – guanilato ciclase solúvel

GMPC – monofosfato de guanosina cíclica

GRKs – quinases do receptor da proteína G

GTP – trifosfato de guanosina

IP3 – trifosfato de inositol

IP3R – receptor de trifosfato de Inositol

L-NAME – N- ω -nitro-L-arginina metil éster

M2 – receptores muscarínicos do tipo 2

M3 – receptores muscarínicos do tipo 3

MAPK1 – proteína quinase 1 ativada por mitógeno

MCP – miosina de cadeia pesada

MLC – miosina de cadeia leve

MLCK – quinase de cadeia leve da miosina

MLCP – fosfatase de cadeia leve da miosina

NEO – neostigmina

NANC – não-colinérgica não-adrenérgica

NO – óxido nítrico

PIP2 – bifosfato de fosfatidilinositol

PKA – proteína quinase A

PKC – proteína quinase C

PKG – proteína quinase G

PLC – fosfolipase C

LN – solução nutritiva fisiológica

Rho-GEF – fator de troca de nucleotídeos de guanina

RhoK – quinase da Rho

RS – retículo sarcoplasmático

TRPV4 – canal catiônico receptor de potencial transitório do tipo 4

UFSC- Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Anatomia e Histologia da Bexiga Urinária	18
1.2 Fisiologia e controle neuronal da micção	20
1.3 Aspectos moleculares da contração do músculo detrusor da bexiga urinária	22
1.4 Aspectos moleculares do relaxamento do músculo detrusor da bexiga urinária	24
1.5 Distúrbios relacionados ao processo de micção	26
1.6 Mecanismos celulares desencadeados durante a inflamação	28
1.7 Influência do dimorfismo sexual sua fisiologia bexiga urinária	30
2 OBJETIVOS	32
2.1 Objetivo geral	32
2.2 Objetivos específicos	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1 Materiais	33
3.1.1 Animais	33
3.1.2 Soluções nutritivas para avaliações <i>in vitro</i>	33
3.1.3 Drogas e reagentes	33
3.1.4 Aparelhos	34
3.2 Métodos	34
3.2.1 Modelo experimental de inflamação sistêmica induzida por LPS	34
3.2.2 Obtenção de tiras de músculo detrusor de camundongos e montagem em banho de órgãos	34
3.2.3 Avaliação da contratilidade da bexiga urinária mantida sob diferentes tensões basais	35
3.2.4 Avaliação da reatividade da bexiga urinária para CCh e KCl	35
3.2.5 Avaliação da reprodutibilidade das contrações induzidas por CCh em preparações de bexiga urinária	36
3.2.6 Avaliação da reatividade para CCh e ACh	36
3.2.7 Avaliação resposta contrátil mediada pela acetilcolina endógena	36
3.3 Análise estatística	37
4 RESULTADOS	39

4.1 Relação peso da bexiga, peso das preparações e peso do camundongo	39
Avaliação da resposta contrátil das preparações de bexiga isolada submetidas a diferentes tensões basais	40
4.2 Estabilidade das preparações de bexiga urinária a exposições repetidas ao CCh.....	40
Contrações induzidas por CCh e KCl em bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	44
4.3 Reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas saudáveis.....	46
Contrações induzidas por neostigmina em bexiga de camundongos machos e fêmeas ...	46
Influência de fatores relaxantes sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	47
4.4 Efeito de espécies reativas de oxigênio sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	48
4.5 Efeito da indometacina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas	54
4.6 Contrações induzidas por CCh em bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS	56
4.7 Contrações induzidas por neostigmina em bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS.....	56
4.8 Influência de guanetidina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS	57
4.9 Efeito do L-NAME sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos ou fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS.....	57
4.10 Efeito de espécies reativas ao oxigênio sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS ..	66
4.11 Efeito da indometacina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS	67
5 DISCUSSÃO	74
6 CONCLUSÃO	88
7 REFERÊNCIAS	89
ANEXOS	99

INTRODUÇÃO

1.1 Anatomia e Histologia da Bexiga Urinária

O sistema urinário é formado por um conjunto de órgãos envolvidos na formação, armazenamento e eliminação da urina, sendo composto pelos rins, ureteres, bexiga e uretra (Figura 1) (Marieb; Hoehn, 2006). Nesse sistema, a bexiga está situada na sínfise púbica sobre o assoalho pélvico (porção inferior do abdômen); nos homens em frente da ampola fecal e sobre a próstata e, nas mulheres, logo abaixo do útero.

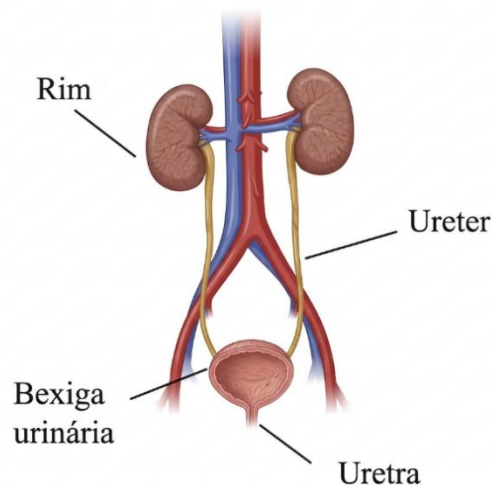


Figura 1. Divisão anatômica do sistema urinário, com destaque para a bexiga urinária. Rim, ureter, bexiga urinária e uretra. Fonte: Elaborado pelo autor a partir de imagens disponíveis em [https://app.biorender.com/\(2024\)](https://app.biorender.com/(2024)).

A bexiga urinária é dividida anatomicamente em quatro superfícies: inferior, superior, inferolateral esquerda e inferolateral direita. Além disso, a bexiga urinária pode ser segmentada em outras quatro partes, denominadas corpo, ápice, fundo e o trígono da bexiga, esta última formada pelos orifícios uretrais e pelo orifício da uretra (Mangera; Osman; Chapple, 2013). Histologicamente, a bexiga urinária é um órgão muscular oco, revestido por epitélio transicional, lâmina própria e organizada em camadas: mucosa muscular, serosa e adventícia (Gomes; Hisano, 2010) (ver Figura 2). As camadas da bexiga urinária são descritas abaixo:

- a. Camada mucosa:** é formada por um epitélio estratificado que reveste o lúmen e membrana basal de células uroteliais, composta por três camadas de células diferentes:

Células superficiais: é uma camada por grandes células hexagonais mono ou multinucleadas em formato de guarda-chuva, também conhecidas como células *umbrella*. Formam uma barreira impermeável entre o lúmen da bexiga e as camadas subjacentes. Além disso, possuem junções extremamente apertadas que dificultam o fluxo entre as células. Uma espessa camada de mucopolissacarídeo glicocálice de uroplaquina recobre as células de *umbrella* formando uma placa superficial que aumenta a impermeabilidade dessa camada (Jost; Gosling; Dixon, 1989) (Figura 2).

Células intermediárias: A camada intermediária é formada por um conjunto de células uroteliais imaturas e constituem duas a três camadas de células poligonais. As células poligonais são maiores em relação às basais, enquanto células superficiais são grandes, mono ou multinucleadas, encontram-se na camada próxima ao lúmen da bexiga urinária (Figura 2).

Células basais: A camada basal é constituída por células arredondadas e ligeiramente cubóides pequenas com pouco conteúdo citoplasmático e dividida em duas a três camadas de pequenas células. A lâmina própria da camada mucosa é formada por uma matriz extracelular, contendo fibras elásticas, capilares, vasos linfáticos, células imunes, terminações nervosas aferentes e eferentes, fibroblastos, miofibroblastos, adipócitos, células intersticiais de *Cajal* ou telócitos, e um tecido de músculo liso (Romih *et al.*, 2005) (Figura 2).

- b. Camada muscular:** porção da bexiga urinária formada por três subcamadas: longitudinal interna, circular média e longitudinal externa, também conhecida como músculo detrusor. Os feixes de músculo liso, encontram-se dispostos ao longo de todo o colo da bexiga urinária em direções não definidas e se concentram no corpo da bexiga (Figura 2).
- c. Camada serosa:** é uma fina camada de tecido conjuntivo que cobre a cúpula da bexiga e é contínua como a camada peritoneal da parede abdominal. Ela também contém vasos sanguíneos de vários calibres (Figura 2).

d. Camada adventícia: camada mais externa da bexiga e constituída por tecido conjuntivo frouxo (Lewis, 2000) (Figura 2).

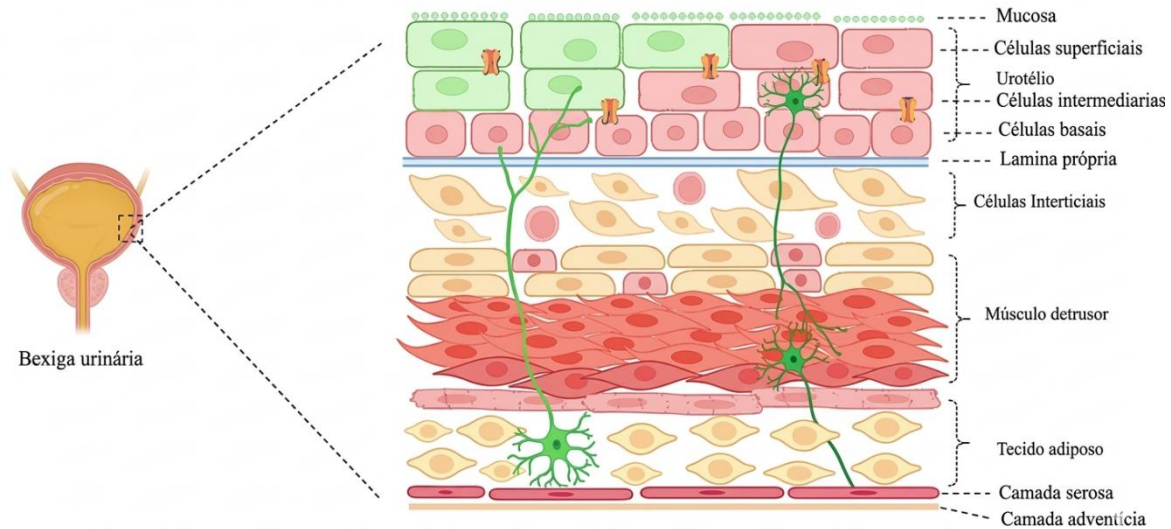


Figura 2. Camadas celulares da parede da bexiga urinária. A bexiga urinária é composta por quatro camadas principais: a mucosa, que contém um epitélio transicional e lâmina própria; a muscular, formada pelo músculo detrusor; a serosa, que cobre a cúpula da bexiga e se conecta ao peritônio; e a adventícia, uma camada externa de tecido conjuntivo frouxo. Fonte: Elaborado pelo autor a partir de imagens disponíveis em <https://app.biorender.com/>(2025).

1.2 Fisiologia e controle neuronal da micção

Durante o processo de armazenamento e eliminação da urina, a camada muscular lisa da bexiga, chamada de músculo detrusor, desempenha uma função fundamental ao contrair-se, permitindo a eliminação, e relaxar-se, possibilitando o armazenamento da urina. Para que as células musculares lisas contraiam ou relaxem uma série de reações químicas envolvendo várias vias de sinalização ocorrem na bexiga. As interações bioquímicas da bexiga são coordenadas em diferentes níveis do sistema nervoso autônomo, localizados na medula e na ponte, por meio de estímulos excitatórios e inibitórios que se dirigem através das fibras nervosas até a bexiga e aos outros órgãos do trato urinário (Chancellor *et al.*, 2006).

A bexiga urinária é innervada por fibras parassimpáticas e simpáticas. As parassimpáticas, cuja ativação resulta na liberação de acetilcolina, têm sua origem nos segmentos S2 a S4 da medula, sendo conduzidas pelo nervo pélvico até os gânglios do plexo

pélvico, de onde partem às fibras parassimpáticas pós-ganglionares em direção à parede da bexiga (Andersson; Arner, 2004). A inervação simpática, por sua vez, tem origem nos núcleos da coluna intermediolateral, entre as vértebras T10 a L2 (segmento tóraco-lombar), de onde partem em direção ao plexo hipogástrico superior, cuja subdivisão caudal forma o nervo hipogástrico com ramificações que inervam a bexiga e uretra, onde liberam noradrenalina.

A complexa rede de neurônios que inervam a bexiga urinária, conta também com neurônios aferentes, os quais levam informações da bexiga urinária para o sistema nervoso central (SNC) e fibras nervosas eferentes, que levam informações do sistema nervoso para a bexiga urinária. Os neurônios eferentes expressam diversos receptores, entre eles os receptores de acetilcolina do subtipo M3, receptores nicotínicos e TRP associados à percepção de alterações mecânicas da bexiga urinária e ativação de células uroteliais, promovendo a liberação de acetilcolina ou noradrenalina por exemplo (Birder *et al.*, 2004). (Figura 3).

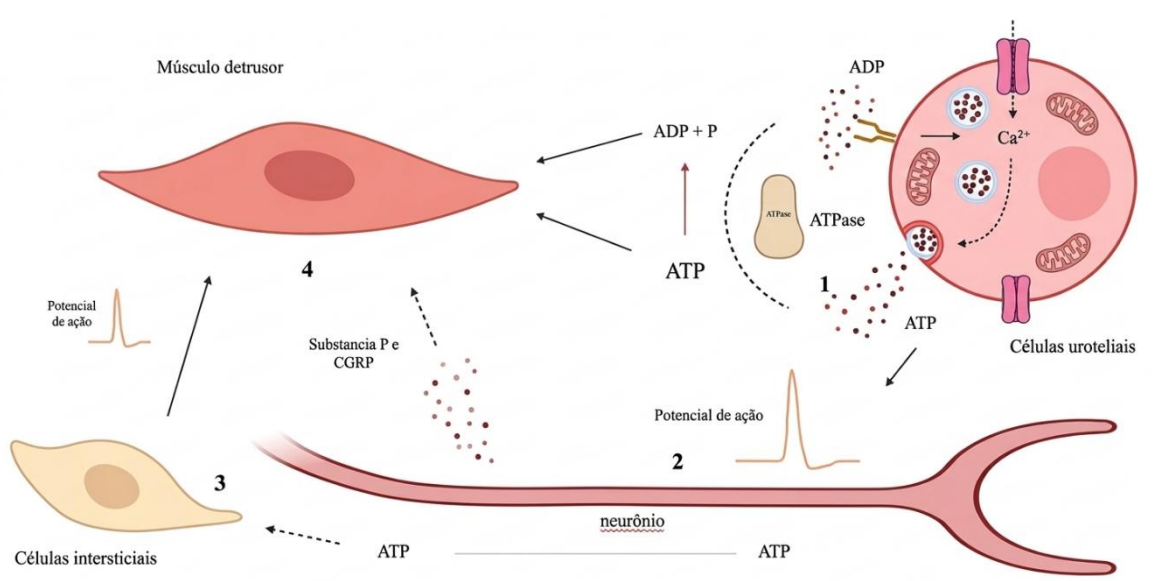


Figura 3. Mecanismos celulares associados ao reflexo da micção. As células *umbrella*, ao serem estimuladas, liberam ATP (1), que estimula os neurônios sensoriais (2). O ATP também ativa as células intersticiais, gerando micropotências de ação que estimulam as células intersticiais (3). Além disso, também ativa diretamente o músculo detrusor (4). Fonte: Elaborado pelo autor a partir de imagens disponíveis em <https://app.biorender.com/> (2025).

Diversos neurônios no sistema nervoso central (SNC) estão envolvidos na percepção da plenitude da bexiga e no controle da uretra e do esfíncter. Neurônios noradrenérgicos e colinérgicos do tronco cerebral, incluindo o núcleo ceruleus, desempenham um papel fundamental nesse processo, assim como os neurônios serotoninérgicos dos núcleos da rafe (Holstege, 2005). Além disso, outras regiões cerebrais contribuem de maneira mais específica para o controle da bexiga urinária, como os neurônios localizados no centro pontino da micção, na substância cinzenta periaquedutal (PAG), no hipotálamo e em várias áreas do córtex cerebral, com destaque para o córtex frontal medial (Sugaya *et al.*, 1997).

A literatura científica revela que o controle da micção envolve a interação de diversas regiões cerebrais. Estudos indicam que neurônios da medula espinhal se projetam para a substância cinzenta periaquedutal, que, por sua vez, envia sinais ao complexo parahipocampal, tálamo e ao centro pontino da micção (Groat, Griffiths & Yoshimura, 2015). No tálamo, os estímulos são direcionados a várias áreas, incluindo o cíngulo anterior dorsal, a área motora suplementar, a ínsula, e os córtices pré-frontal lateral e medial. A partir dessas áreas, os sinais podem retornar à substância cinzenta periaquedutal ou ao tálamo (Fowler, Griffiths & de Groat, 2008). Nessas regiões, os estímulos direcionados para a substância cinzenta periaquedutal ativam o centro pontino da micção, que atua inibindo ou excitando a bexiga urinária (Kavia; Dasgupta & Fowler,). Os neurônios do hipotálamo e ponte se projetam para os neurônios motores pré-granglionares autônomos, parassimpáticos e motores na medula espinhal, auxiliando também o controle do esfíncter e da bexiga urinária (Blok; Weer & Holstege, 2005).

Nas junções neuromusculares da bexiga, a acetilcolina é liberada dos terminais parassimpáticos em resposta aos potenciais de ação dos neurônios pré-sinápticos e atua sobre os receptores muscarínicos dos subtipos M2 e M3, para promover a contração da bexiga (Abrams; Andersson, 2007). Por outro lado, a noradrenalina liberada dos terminais simpáticos provoca o relaxamento do músculo liso da bexiga em função da ativação dos receptores adrenérgicos β_2 e β_3 (Michel; Vrydag, 2006). Outros componentes, conhecidos como não-adrenérgicos e não-colinérgicos (NANC) também contribuem para regulação da contração do músculo detrusor, a partir da produção de mediadores como o óxido nítrico que causa relaxamento, e ATP, ADP, adenosina e a serotonina, que provocam a contração do músculo detrusor (James; Birmingham; Hill, 2013).

1.3 Aspectos moleculares da contração do músculo detrusor da bexiga urinária

No músculo detrusor, quando agonistas como acetilcolina, serotonina ou ATP se ligam aos receptores muscarínicos (M2 e M3), serotoninérgicos (5-HT₂ e 5-HT₃) ou purinérgicos (P2X) respectivamente, ativam as proteínas Gq/11. Isso resulta na troca de GDP por GTP na subunidade α da proteína G, que, por sua vez, ativa a fosfolipase C β 1 (PLC β 1), promovendo a hidrólise do inositol difosfato (PIP₂), em de inositol trisfosfato (IP₃) e diacilglicerol (DAG) (Berridge, 2008; Billington; Penn, 2003). O IP₃ alcança o retículo sarcoplasmático (RS), onde interage com os receptores de IP₃ e libera cálcio do RS. O Ca²⁺ proveniente da abertura dos receptores de IP₃ ativa os receptores de rianodina (RyR), aumentando a concentração de cálcio no citoplasma [Ca²⁺]_c.

O aumento do cálcio intracelular promove a translocação da proteína cinase C (PKC) para a membrana plasmática, onde é ativada pelo DAG. A ativação da PKC fosforila canais de cálcio dependentes de voltagem (Cav), permitindo o influxo de Ca²⁺ do meio extracelular (Berridge, 2009). A elevação do [Ca²⁺]_c aumenta a interação desse íon com a calmodulina (CaM), formando complexos 4Ca²⁺-CaM, que ativam a cinase da cadeia leve da miosina (MLCK). A MLCK fosforila a cadeia leve de miosina (MLC), permitindo sua interação com os filamentos de actina e resultando na contração do músculo liso. Além disso, a contração pode ocorrer devido à despolarização da membrana, causada pelo aumento extracelular de potássio e/ou abertura de canais de cálcio ativados por voltagem (Cav), elevando o cálcio intracelular e promovendo a contração muscular (Rembold, 1996).

Além desses mecanismos a via Rho cinase também é ativada, o que contribui para a manutenção da contração do músculo liso, sendo designada como via de sensibilização ao cálcio. Em diversas células de músculo liso, esta via modula a fosfatase da cadeia leve da miosina (MLCP), principalmente pela pequena proteína G RhoA e a sua cinase associada (Rho cinase), uma proteína serina/treonina cinase (Karakaki *et al.*, 1997; Hori; Karaki, 1998). Na bexiga, agonistas contráteis como a acetilcolina aumentam a concentração de Ca²⁺ intracelular via receptores acoplados à proteína G (GPCRs), ativando diretamente o fator trocador de nucleotídeo de guanina da RhoA (RhoGEF) pelas proteínas G12/13 α -GTP. Isso ativa a RhoA, que troca GDP por GTP e ativa a Rho cinase. A Rho cinase fosforila a subunidade MYPT1 da fosfatase da miosina (MLCP), tornando-a inativa e mantendo a cadeia leve de miosina (MLC) fosforilada, resultando na contração do músculo liso (Kimura *et al.*,

1996; Somlyo; Somlyo, 2003). A Figura 4 resume os mecanismos intracelulares envolvidos na transdução de sinal associada a respostas contráteis mediada pela ativação de receptores como os muscarínicos no músculo detrusor da bexiga urinária.

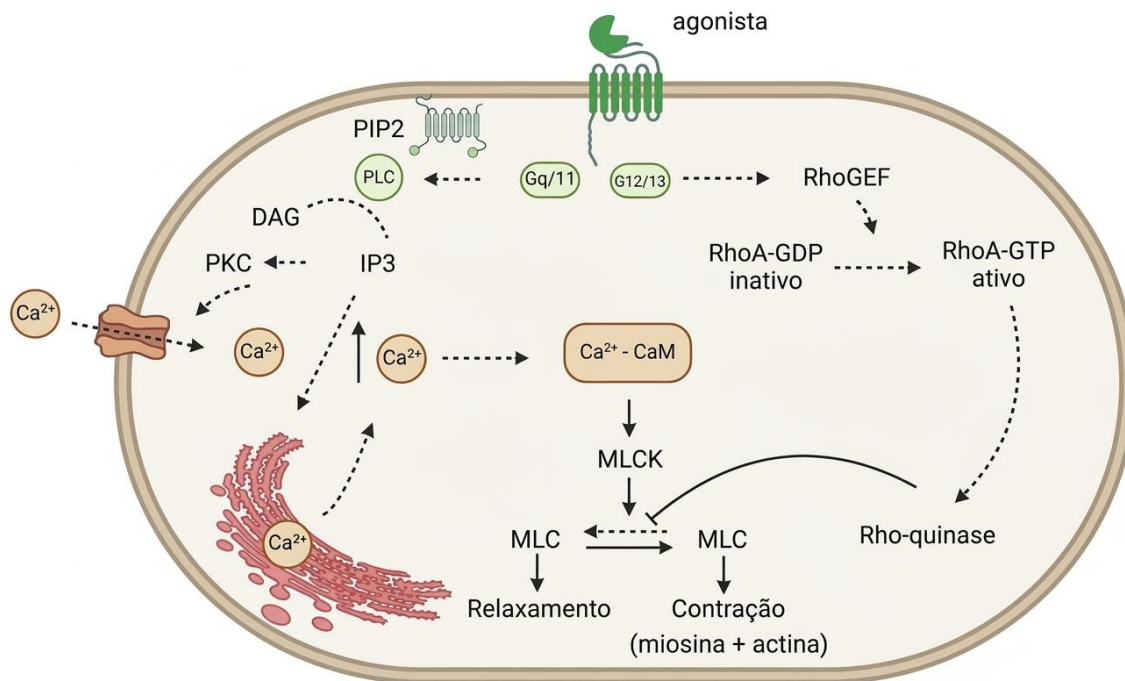


Figura 4. Esquema simplificado das vias envolvidas na contração do músculo liso. Quando ocorre o estímulo de contração pelo agonista, o receptor sofre uma mudança conformacional, estimulando a troca do GDP por GTP na subunidade α das proteínas Gq/11. Após a interação com o receptor, a subunidade alfa se dissocia e ativa a fosfolipase C. Esta enzima cliva PIP2 em IP3 e DAG. IP3 então ativa os receptores IP3 do retículo sarcoplasmático, liberando Ca^{2+} no citosol. O cálcio liberado ativa os receptores de rianodina, aumentando ainda mais as concentrações de cálcio no citoplasma. O aumento da concentração de Ca^{2+} no meio intracelular aumenta a afinidade do Ca^{2+} pela calmodulina (CaM), formando o complexo cálcio-calmodulina (Ca^{2+} -CaM) e ativando a cinase de miosina de cadeia leve (MLCK). Em seguida, a MLCK ativada fosforila a cadeia leve de miosina (MLC), o que promove a interação dos filamentos de actina com a miosina, desencadeando a contração do músculo liso. A ativação de GPCRs, principalmente via proteínas G12/G13, promove o aumento da atividade dos fatores de troca do nucleotídeo guanina (GEFs), GTPGTP em pequenas proteínas G do tipo Rho-A. Assim, a RhoA-GTP fosforila a Rho quinase (ROCK). Uma vez ativada, a ROCK fosforila a subunidade regulatória da fosfatase da cadeia leve de miosina (MLCP), mantendo o estado da contração das células musculares lisas. Fonte: Elaborado pelo autor a partir de imagens disponíveis em <https://app.biorender.com> (2025).

1.4 Aspectos do relaxamento do músculo detrusor da bexiga urinária

O relaxamento do músculo detrusor ocorre como resultado da remoção do estímulo contrátil ou pela ação direta de uma substância que inibe o mecanismo da contração (Morgan, 1990). Por exemplo, a ativação de receptores com ação inibitória, como os receptores adrenérgicos dos subtipos β_2 , geram mediadores que levam à diminuição do cálcio intracelular e consequentemente à contração muscular (Rembold, 1996).

Uma vez ativados, os receptores adrenérgicos dos subtipos β_2 e β_3 , que são acoplados a proteínas Gs, trocam GDP por GTP na sua subunidade α e, em seguida, a subunidade α associada ao GTP ativa a adenilato ciclase (AC) que hidrolisa ATP em monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), que ativa sua proteína cinase A (PKA). A PKA, então fosforila o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX), facilitando efluxo de Ca^{2+} e o influxo Na^+ , e ativa a Ca^{2+} -ATPase da membrana plasmática (PMCA) e do retículo sarcoplasmático (SERCA), promovendo a eliminação de Ca^{2+} do meio intracelular e o armazenamento no retículo sarcoplasmático. Esse mecanismo induz a ativação dos canais de potássio (K^+), que, por sua vez, bloqueiam indiretamente os canais de cálcio (Ca_v). Como resultado, ocorre a inibição da quinase da cadeia leve da miosina (MLCK), reduzindo sua afinidade pelo complexo 4Ca^{2+} -CaM. Esse efeito culmina no bloqueio da cadeia leve da miosina (MLC), resultando no relaxamento muscular da bexiga (Murthy, 2006; Taylor *et al.*, 2013).

Além da ativação dos receptores adrenérgicos pela noradrenalina, o relaxamento do músculo detrusor também é mediado por estimulação das fibras nervosas do sistema miovesical conhecidas como não-adrenérgicas/não-colinérgicas (NANC), que promovem o relaxamento do músculo detrusor a partir da liberação, dentre outros, de óxido nítrico (NO). O NO é um importante mediador associado ao relaxamento e regulação da contração em diferentes preparações de músculo liso (Birder *et al.*, 1998). O NO dos neurônios pré-sinápticos é sintetizado pela sintase do NO do tipo neuronal (nNOS ou NOS I) e liberado pela ativação da acetilcolina ou por alterações do potencial de membrana, que provocam aumento do fluxo de cálcio para o interior da célula. O cálcio e a calmodulina (cofator para ativar a NOS) ligam-se à NOS iniciando a síntese de NO (Mastrangelo *et al.*, 2003). Por ser lipossolúvel, o NO atravessa a membrana celular e se liga à guanilato ciclase solúvel (sGC), que converte GTP em GMPc. O aumento de cGMP ativa a proteína cinase dependente de cGMP (PKG), que, por sua vez, ativa canais de K^+ , inibe os canais de cálcio do tipo ativados

por voltagem (Ca_v), aumenta a atividade da ATPase do Retículo Sarcoplasmático (SERCA) e ATPase de Cálcio da Membrana Plasmática (PMCA), ativa o trocador Ca^{2+} por Na^+ (NCX) e inibe os receptores IP3R no retículo sarcoplasmático. Esses efeitos diminuem o cálcio citosólico e inibem a Quinase da Cadeia Leve da Miosina (MLCK), reduzindo sua afinidade pelo complexo 4Ca^{2+} -CaM, impedindo a fosforilação da Cadeia Leve da Miosina (MLC), levando ao relaxamento do músculo detrusor. (Tran; Ohashi; Watanabe, 2000; Chang *et al.*, 2010; Jin *et al.*, 2011) (Figura 5).

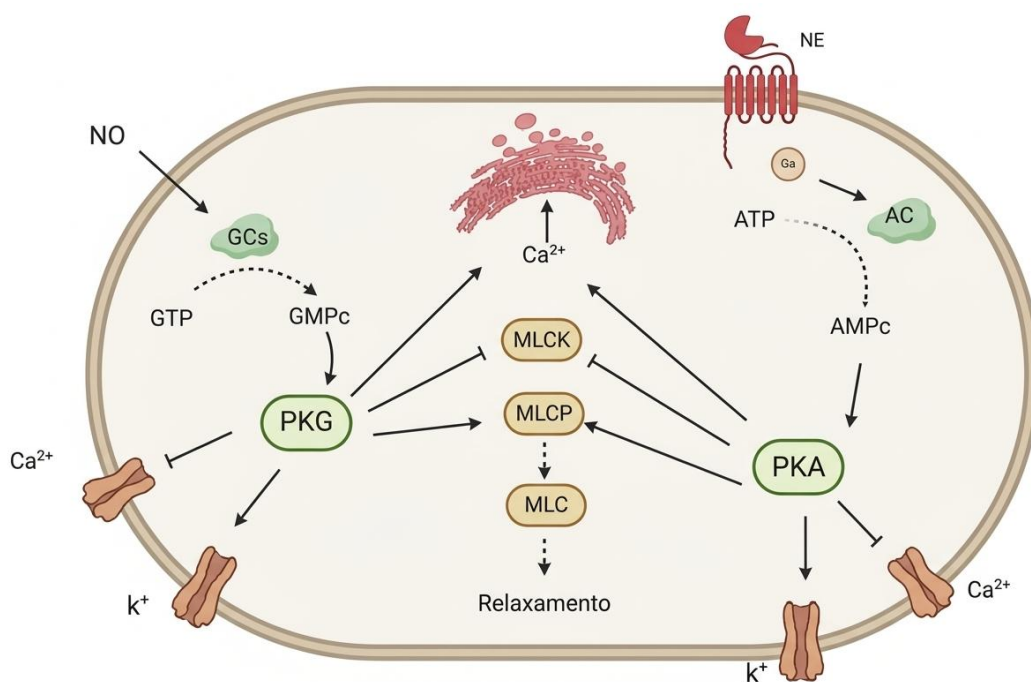


Figura 5. Vias envolvidas no relaxamento do músculo liso da bexiga urinária. Quando a noradrenalina ativa os receptores β -adrenérgicos, isso resulta na ativação da adenilato ciclase (AC), que converte ATP em AMP cíclico (AMPc), levando à ativação da proteína quinase A (PKA). Em contraste, o óxido nítrico (NO) ativa a guanilato ciclase, que transforma GTP em GMP cíclico (GMPc) e ativa a proteína quinase G (PKG). Ambas, PKA e PKG, afetam elementos-chave que regulam o estado de contração celular, diminuindo a concentração de Ca^{2+} no citosol. Isso é alcançado através da inibição dos canais de cálcio e da ativação dos canais de potássio, redução da atividade da miosina quinase (MLCK) e aumento da atividade da fosfatase da miosina leve (MLCP). Como resultado, ocorre a desfosforilação da miosina leve (MLC), levando ao relaxamento muscular. Siglas: K^+ - canais de potássio; Ca^{2+} - canais de cálcio; ATP – trifosfato de adenosina; GTP – trifosfato de guanosina. Elaborado pelo autor a partir de imagens disponíveis em [https://app.biorender.com\(2025\)](https://app.biorender.com(2025)).

1.5 Distúrbios relacionados ao processo de micção

O processo adequado de micção depende da coordenação precisa da ação de mediadores na bexiga urinária para que a intensidade e a duração do estímulo da micção sejam suficientes para a eliminação completa da urina ou para o seu armazenamento. Caso esses mecanismos de controle e armazenamento urinário sofram alguma descompensação, podem surgir diversos problemas relacionados à micção (Blandy, 2009). Entre as condições mais prevalentes na bexiga urinária, destacam-se as infecções urinárias, que se caracterizam por uma inflamação intensa da parede da bexiga. Essa inflamação contribui para sintomas intensos, como dor pélvica, dificuldade para urinar, sensação de urgência miccional e, em casos mais graves, sangramento na urina. Tais manifestações exigem atenção tanto por parte dos indivíduos acometidos quanto do sistema de saúde, devido ao impacto significativo na qualidade de vida e ao risco de complicações mais sérias (Quadro 1). A seguir destacamos outras doenças ou condições que podem acometer a bexiga urinária.

Quadro 1. Principais doenças ou condições que pode acometer a bexiga urinária.

DOENÇA	DESCRIÇÃO	AUTOR
Cistite	Inflamação da bexiga, geralmente causada por infecção	Patnaik <i>et al.</i> , 2017
Cistite Intersticial	Condição crônica caracterizada por dor na bexiga e pelve	Patnaik <i>et al.</i> , 2017
Infecções do Trato Urinário	Infecções que podem afetar a bexiga (cistite)	Czajkowski <i>et al.</i> , 2021
Cálculos vesicais	Pedras que se formam na bexiga devido à cristalização de minerais na urina	Hughes <i>et al.</i> , 2020
Carcinoma de Células Transicionais	Tipo mais comum de câncer de bexiga	Saginala <i>et al.</i> , 2020
Carcinoma de Células Escamosas	Tipo mais raro, geralmente associado à irritação crônica da bexiga	Saginala <i>et al.</i> , 2020
Adenocarcinoma	Tipo raro de câncer que se desenvolve nas células glandulares da bexiga	Saginala <i>et al.</i> , 2020
Incontinência Urinária	Perda do controle da bexiga, resultando em vazamento involuntário de urina	Pizzol <i>et al.</i> , 2021
Bexiga Neurogênica	resultado de condições como esclerose múltipla, lesões na medula espinhal ou acidente vascular cerebral	Panicker <i>et al.</i> , 2020
Bexiga Hiperativa	Condição caracterizada por uma necessidade súbita e frequente de urinar	Scarneciu <i>et al.</i> , 2021
Divertículos da Bexiga	Pequenas bolsas que se formam na parede da bexiga	Jiang <i>et al.</i> , 2020
Trauma na Bexiga	Lesões físicas causadas por acidentes ou procedimentos médicos	Zhang <i>et al.</i> , 2021
Endometriose da Bexiga	Crescimento de tecido endometrial na bexiga	Fleischer <i>et al.</i> , 2024

Portanto, a compreensão das complicações associadas ao processo inflamatório na bexiga urinária e das vias de sinalização relacionadas são cruciais para desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas, representando um avanço significativo na medicina urológica.

1.6 Mecanismos celulares desencadeados durante a inflamação

O processo inflamatório na bexiga urinária é desencadeado quando agentes exógenos ou substâncias estranhas interagem com suas estruturas, promovendo uma cascata de respostas fisiopatológicas intrincadas e interdependentes, que envolvem uma série de mecanismos moleculares e celulares (Janeway *et al.*, 1989). A ativação desses receptores teciduais e células da imunidade inata, induz a produção de citocinas pró-inflamatórias, que ativam o sistema imunológico em diferentes intensidades para promover a reparação tecidual e combater o agente estranho. Essa resposta imune é altamente regulada e multifatorial, o que a torna extremamente complexa (Grassin-Delyle *et al.*, 2020).

A resposta inflamatória tem início com o reconhecimento dos agentes estranhos por macrófagos e células dendríticas teciduais, que constituem a primeira linha de defesa celular da bexiga. Essas células desempenham um papel crucial na imunidade inata, atuando como sentinelas do sistema imunológico (Iijima; Thompson; Iwasaki, 2008). Ao detectarem a presença de elementos estranhos, macrófagos e células dendríticas iniciam a fagocitose dos invasores, liberando mediadores inflamatórios como as interleucinas IL-1 e IL-6, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), histamina, integrinas e selectinas. Essas moléculas são essenciais para a quimiotaxia e diapedese de neutrófilos da corrente sanguínea, que migram para o local da infecção a fim de conter a invasão (Kolaczowska; Kubes, 2013) (Figura 7).

Ainda durante essa fase aguda, os eosinófilos são recrutados juntamente com os monócitos. No entanto, seu papel no controle inicial da infecção não é tão proeminente quanto o desempenhado por neutrófilos, macrófagos ou células dendríticas. Embora os eosinófilos possuam capacidade fagocítica, sua principal contribuição para a resposta imune está relacionada à liberação de proteínas catiônicas tóxicas, como a proteína catiônica eosinofílica (ECP/RNase3), a proteína básica principal (MBP) e a peroxidase eosinofílica (EPO), que afetam diversos organismos celulares e células do corpo humano. Sua peroxidase

eosinofílica gera radicais e óxidos, enquanto a neurotoxina EDN/RNase2 pode danificar tanto patógenos quanto estruturas do corpo humano (revisado por Rosenberg, 2015). Os linfócitos, incluindo linfócitos T e linfócitos B, são a próxima linha de defesa e desempenham um papel crucial na mediação da inflamação por vários mecanismos complexos, incluindo secreção de citocinas, co-estimulação de linfócitos e produção de anticorpos e complexos imunes (Koupenova *et al.*, 2018). Nessas condições, o microambiente da bexiga urinária torna-se hostil, afetando tanto o patógeno quanto o tecido inflamado, resultando em morte celular, neuronal e processos fibróticos. O estresse oxidativo e nitrosativo provoca danos a lipídios, proteínas e DNA, além de falhas na produção de energia celular, danos que podem desregular a contratilidade e comprometer a função da bexiga. (Ischiropoulos; Al-mehdi, 1995) (Figura 6).

No entanto, quando a inflamação persiste ou há falha no processo de resolução, ocorre um desequilíbrio entre os mediadores inflamatórios e anti-inflamatórios. Esse desbalanço leva ao acúmulo excessivo de neutrófilos no local da infecção e à subsequente falha na remoção eficiente de resíduos e restos celulares pelos macrófagos. Como consequência, outros componentes do sistema imune, como os linfócitos, são recrutados para o local, ampliando e prolongando a resposta inflamatória. Esse cenário resulta em um processo inflamatório crônico, caracterizado pela perda progressiva da função tecidual. Além disso, a inflamação persistente atua como um estímulo prejudicial, perpetuando um ciclo de dano tecidual e reparo desregulado (Ahmed, 2011). Esse mecanismo está intimamente associado ao desenvolvimento e à progressão de diversas doenças inflamatórias crônicas, como cistite intersticial ou síndrome da bexiga dolorosa (Patnaik *et al.*, 2017). Experimentalmente, embora diversas substâncias possam desencadear uma resposta inflamatória sistêmica, o lipopolissacarídeo (LPS) se destaca como uma das substâncias mais amplamente empregadas, tanto em estudos *in vitro* quanto *in vivo*. Sua capacidade de desencadear diferentes níveis de endotoxemia, variando de acordo com a dose administrada, uma ferramenta valiosa para pesquisas pré-clínicas (Zielen *et al.*, 2015). O LPS é um componente essencial e exclusivo da membrana externa de bactérias Gram-negativas (Qiao *et al.*, 2014). Uma das principais vantagens do uso do LPS em modelos de inflamação reside em sua capacidade de simular uma resposta imune desregulada sem a necessidade da presença de patógenos vivos. Isso permite estudar as alterações fisiopatológicas decorrentes

exclusivamente da ativação do sistema imunológico, eliminando variáveis, como a proliferação bacteriana ou a liberação de sinais diretamente mediados por microrganismos (Zielen *et al.*, 2015). Nesse contexto, visamos a realização de experimentos através da indução de uma inflamação sistêmica por LPS para avaliar a homeostasia da bexiga urinária e o desenvolvimento de disfunções nesse tecido.

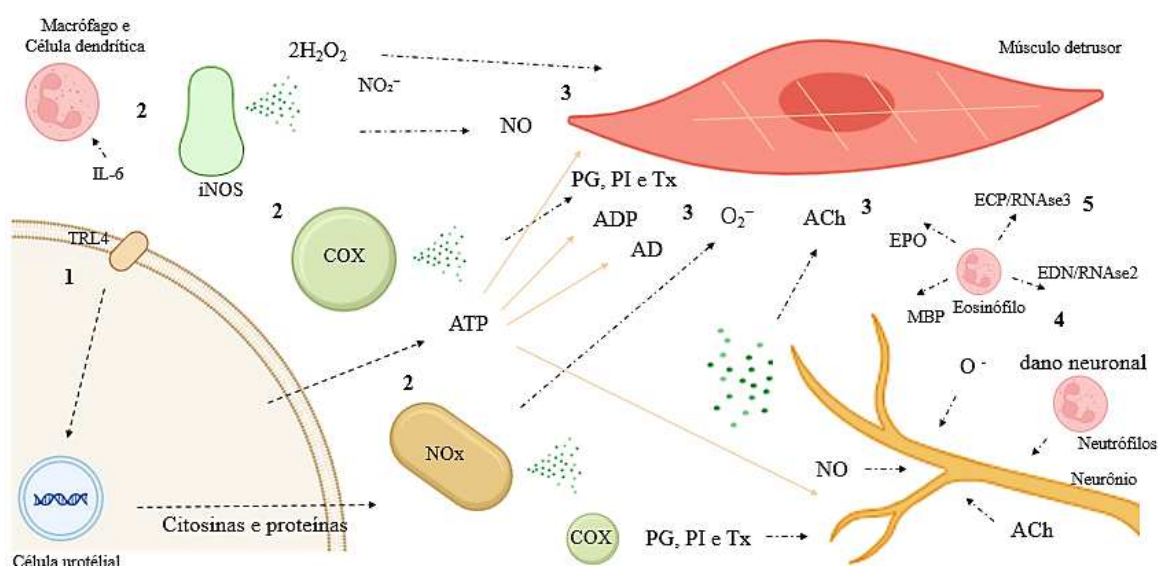


Figura 6. Alterações desencadeadas pela inflamação. A sinalização mediada pelos receptores tipo Toll (TLR) ativa a síntese de proteínas como Nox (NADPH oxidase), COX (ciclooxigenase) e iNOS (óxido nítrico sintase induzível) (1), que liberam mediadores inflamatórios que afetam diretamente o músculo liso (2). Essa ativação resulta em um aumento do estresse oxidativo, levando a danos nas células do músculo liso, o que pode comprometer a função vesical (3). Os neutrófilos, ao atacarem os neurônios, causam uma liberação excessiva de neurotransmissores, como a acetilcolina e o glutamato, desregulando o microambiente vesical (4). Além disso, os eosinófilos liberam proteínas tóxicas, como a proteína catiônica eosinofílica (ECP/RNase3), peroxidase eosinofílica (EPO), a proteína básica principal (MBP), neurotoxina EDN/RNase2, as quais podem danificar tanto patógenos quanto estruturas da bexiga urinária (5). Elaborado pelo autor a partir de imagens disponíveis em [https://app.biorender.com\(2025\)](https://app.biorender.com(2025)).

1.7 Influência do dimorfismo sexual na fisiologia da bexiga urinária

Embora as respostas imunológicas sejam eficientes no controle de invasores na bexiga urinária, elas podem variar de acordo com o sexo. As diferenças biológicas entre homens e mulheres, incluindo a composição hormonal, influenciam tanto a intensidade quanto a duração das reações do sistema imunológico. Nas mulheres, os estrogênios exercem

um efeito modulador importante sobre o sistema imunológico, geralmente amplificando a resposta inflamatória. Isso torna mulheres mais suscetíveis a doenças autoimunes, como lúpus e artrite reumatoide. Em homens, os níveis mais elevados de testosterona tendem a ter um efeito imunossupressor, tornando-os menos propensos a essas condições (revisado por Oertelt-Prigione, 2012).

Nesse sentido, a ideia equivocada de que machos e fêmeas diferem apenas em termos morfológicos têm sido amplamente discutidas nos últimos anos. Ao longo da história da pesquisa com animais, pouco se considerou estudar as fêmeas, assumindo-se que as observações feitas em machos seriam igualmente aplicáveis a elas. Embora, em alguns casos, essa generalização seja válida, temos observado que, em muitas situações, essa proposição não é precisa. Existem diversos exemplos que ilustram essas diferenças. Um estudo realizado em nosso laboratório por Moura et al., (2020) investigou a reatividade de diferentes porções do sistema digestório, incluindo estômago, duodeno, jejuno, íleo e cólon. Nesse mesmo estudo, a autora demonstrou que a atividade contrátil induzida por acetilcolina e cloreto de potássio foi maior em tiras do cólon intestinal obtidas de fêmeas, em comparação com as de machos. Além disso, a ação relaxante da isoprenalina no estômago foi mais pronunciada em tecidos obtidos de fêmeas do que de machos. Dessa forma, destacamos a importância de explorar o dimorfismo sexual na bexiga urinária e o seu papel na modulação das respostas inflamatórias nesse órgão. Por isso, este estudo explorou a hipótese de que a inflamação sistêmica induzida por LPS aumenta resposta contrátil da bexiga urinária de camundongos através do aumento da estimulação parassimpática na bexiga urinária, e de que as fêmeas seriam mais susceptíveis a essa disfunção.

2. OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

Explorar a importância do dimorfismo sexual e da inflamação sistêmica sobre a função contrátil do músculo detrusor de camundongos.

2.2 *Objetivos específicos*

- Padronizar o modelo experimental;
- Caracterizar a reatividade da bexiga urinária de camundongos naive e submetidos ao modelo de inflamação sistêmica induzida por LPS;
- Avaliar a influência do sexo sobre a reatividade do músculo detrusor de camundongos naive;
- Avaliar o perfil da contratilidade do músculo detrusor em resposta à acetilcolina endógena;
- Investigar o papel do óxido nítrico e prostanóides endógenos como moduladores da reatividade vesical mediada pela acetilcolina endógena;
- Explorar a influência de espécies reativas de oxigênio (EROs) sobre a ação contrátil mediada pela acetilcolina endógena.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Animais

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Cardiovascular e do Músculo Liso do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Foram utilizados camundongos machos e fêmeas da espécie *Mus musculus*, linhagem *Swiss*, adultos, com aproximadamente 90 dias de idade, fornecidos pelo Biotério da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais foram mantidos em estantes ventiladas com micro isoladores (Alesco, Monte Mor, São Paulo, Brasil), forrados com maravalha, recebendo 2 tubos de PVC para enriquecimento ambiental, ração e água *ad libitum* e sob ciclo claro/escuro de 12/12 horas, em temperatura de 22 °C. Os procedimentos experimentais foram previamente autorizados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), UFSC, certificado pelo nº 1321200723 (ANEXO 1).

3.1.2 Solução nutritiva para avaliação *in vitro*

De acordo com os experimentos propostos, foram utilizadas soluções nutritivas (ajustadas ao pH 7,4), mantidas a 37 °C e continuamente aeradas com 95% O₂/5% CO₂, com as seguintes composições:

Líquido Nutritivo - solução de Krebs-Henseleit (LN; mM): NaCl (131,25), KCl (4,82), MgSO₄.7H₂O (1,17), Na₄EDTA (0,027), CaCl₂.2H₂O (1,59), KH₂PO₄ (1,18), NaHCO₃ (14,89), C₆H₁₂O₆ (5,5).

3.1.3 Drogas e reagentes

Ferramentas farmacológicas: acetilcolina (ACh), carbacol (CCh), apocinina, tempol, indometacina, atropina, guanetidina e neostigmina (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA); Anestésicos, sedativos e analgésicos: cetamina e a xilazina (Syntec do Brasil Ltda., Santana de Parnaíba, SP, Brasil). Os agentes contráteis e relaxantes utilizados foram diluídos em solução nutritiva ou de acordo com as especificações do fabricante, em concentrações seriadas que variaram entre 1 nM a 300 µM a partir de uma solução estoque de 0,01 a 1 M. Todas as diluições foram preparadas no dia do experimento. Os sais e demais reagentes

utilizados na solução salina fisiológica (PBS) e soluções nutritivas também foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

3.1.4 Aparelhos

Para o registro das contrações isométricas, os segmentos de bexiga isolada foram mantidos em cubas de órgão isolado contendo solução nutritiva sob temperatura de 37 °C. Para o monitoramento das contrações isométricas foram utilizados transdutores de força para medida de tensão (modelo MLT0201), acoplados a um amplificador (modelo ML228) e sistema de captação de dados (PowerLab 8/30, AD Instruments), monitorados através do software LabChart v. 7.1 (Castle Hill, Sidney, Austrália).

Para aferição do pH das soluções nutritivas foi utilizado um pHmetro digital modelo K39-1420A (KAVAS, Paraná, PR, Brasil). As substâncias foram pesadas em balança analítica e os camundongos em balança semi-analítica.

3.2 Métodos

3.2.1 Modelo experimental de inflamação sistêmica induzida por LPS

Os camundongos foram tratados com LPS de *Escherichia coli* (sorotipo 1 O111:B4), dissolvido em solução salina tamponada (PBS), na dose de 10 mg/kg, administrado pela via intraperitoneal. Esses animais foram separados de forma randômica e utilizados nos tempos de 6 (LPS 6 h) ou 18 h (LPS 18 h) após a injeção de LPS para avaliação da reatividade muscular e demais procedimentos propostos. Animais do grupo controle (controle) não receberam nenhum tratamento prévio (Figura 8).

3.2.2 Obtenção de tiras de músculo detrusor de camundongos e montagem em banho de órgãos

Para obtenção da bexiga urinária os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina (90/10 mg/Kg; i.p.), e, após confirmação do estado de anestesia geral, foram eutanasiados por toracotomia. A cavidade abdominal foi aberta, a bexiga localizada e cuidadosamente removida do animal, sendo imediatamente colocada em uma placa de Petri contendo solução nutritiva de Krebs-Henseleit a 37 °C sob aeração com carbogênio (95%

O₂/5% CO₂). Em seguida, a bexiga foi aberta por meio de incisão vertical e segmentada em duas tiras com aproximadamente 3 mm de largura e 5 mm de comprimento.

As tiras foram acopladas verticalmente em banho de órgão isolado contendo 3 ml de solução nutritiva, sob tensão basal de 1 g. As preparações foram mantidas em repouso durante 45 minutos, sendo a solução trocada a cada 15 minutos. Após o período de estabilização, era induzida uma contração com solução modificada contendo 120 mM de KCl, para verificar a integridade e reatividade do órgão (Figura 8).

3.2.3 Avaliação da contratilidade da bexiga urinária mantida sob diferentes tensões basais

As tiras de bexiga urinária foram mantidas em diferentes tensões basais (0,5; 0,75; 1; 1,25 e 1,5 g) ao longo de 45 min, sendo a solução nutritiva trocada a cada 15 min. Decorrido este período de estabilização as preparações foram estimuladas com 120 mM de cloreto de potássio para verificar a reatividade do tecido e após um novo período de estabilização de 30 min, a solução nutritiva era trocada a cada 15 min, as tiras foram estimuladas com 10 µM de carbacol. A partir desses experimentos extraímos os valores do efeito máximo (Emáx) deflagrados por cada agente contrátil para as diferentes tensões. Camundongos machos e fêmeas foram usados para este experimento. As respostas contráteis (em gramas) foram corrigidas de acordo com o peso de cada tira (também em gramas). Para isso, as tiras foram pesadas em balança analítica ao final de cada protocolo experimental, sendo o excesso de PSS retirado com papel filtro antes da pesagem individual de cada preparação (Figura 8).

3.2.4 Avaliação da reatividade da bexiga urinária para CCh e KCl

Em todos os protocolos experimentais, após a montagem das preparações no banho de órgãos, a tensão basal foi ajustada para 1 g e após 45 min de estabilização as tiras de bexiga urinária foram estimuladas com 120 mM de KCl e avaliadas ao longo de 15 min. Após a avaliação da reatividade das preparações para o KCl, elas passaram por um novo período de estabilização de 30 min, seguida de uma nova contração induzida por 10 µM de carbacol, as quais foram analisadas ao longo de 30 min. Nestes experimentos foram usados camundongos machos e fêmeas (Figura 8).

3.2.5 Avaliação da reprodutibilidade das contrações induzidas por CCh em preparações de bexiga urinária

Para determinar a estabilidade das preparações de bexiga urinária ao longo do tempo as tiras de bexiga foram submetidas a testes de reprodutibilidade através da realização de três curvas de resposta a concentrações cumulativas de CCh (1 nM - 300 μ M), realizadas a intervalos de 1 h entre elas, a solução nutritiva era trocada a cada 15 min, Todas as preparações foram estabilizadas por 45 min e estimuladas com solução nutritiva contendo 120 mM de KCl por 5 min para verificar a funcionalidade do tecido. Nestes experimentos foram usados camundongos machos e fêmeas (Figura 8).

3.2.6 Avaliação da reatividade para CCh e ACh

Após a avaliação da reatividade ao KCl, as preparações foram expostas a concentrações crescentes cumulativas ou não-cumulativas de CCh ou ACh (1 nM até 300 μ M). Curvas de resposta a concentrações cumulativas de acetilcolina também foram construídas na presença de 1 μ M de neostigmina (Figura 8).

3.2.7 Avaliação da resposta contrátil mediada pela acetilcolina endógena

Nesses experimentos, após a verificação da funcionalidade das tiras de bexiga urinária com LN contendo 120 mM de KCL, as tiras de bexiga urinária foram incubadas com 1 μ M de neostigmina, um inibidor da acetilcolinesterase. Adicionalmente, foram quantificadas o número de contrações em um período de 10 minutos e a amplitude contrátil (g/g de tecido), antes e após a estimulação com neostigmina (NEO) (Figura 7). Esses procedimentos também foram realizados antes e após a incubação de 3 μ M de atropina, 30 μ M de guanetidina, 100 μ M de L-NAME, 300 μ M de tempol, 100 μ M de apocinina ou 10 μ M de indometacina, com a finalidade de avaliar os efeitos mediados por essas drogas (Figura 7 e 8).

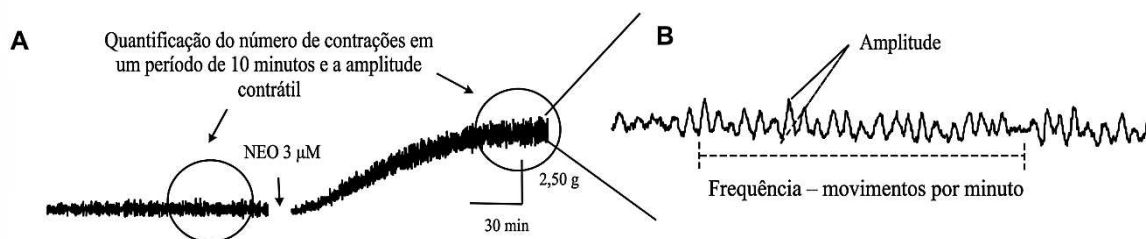


Figura 7. Esquema representativo da metodologia utilizada para a quantificação das contrações espontâneas. Em (A), são indicados os segmentos selecionados para a análise da frequência das contrações ao longo do tempo experimental. Em (B), é demonstrado o procedimento empregado para a mensuração da amplitude das contrações espontâneas.

3.3 Análise estatística

Os resultados foram tabulados e apresentados como *dot-plot* e/ou *média ± erro padrão* da média de dados obtidos de pelo menos 6 animais por grupo experimental. As análises estatísticas foram realizadas com o programa GraphPad Prism versão 8.0.1 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Para a análise estatística e a comparação entre os grupos foi usada a análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, seguida pelo pós-teste de Tukey ou Dunnett, e teste t de Student não-pareado, quando apropriados. O nível de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$).

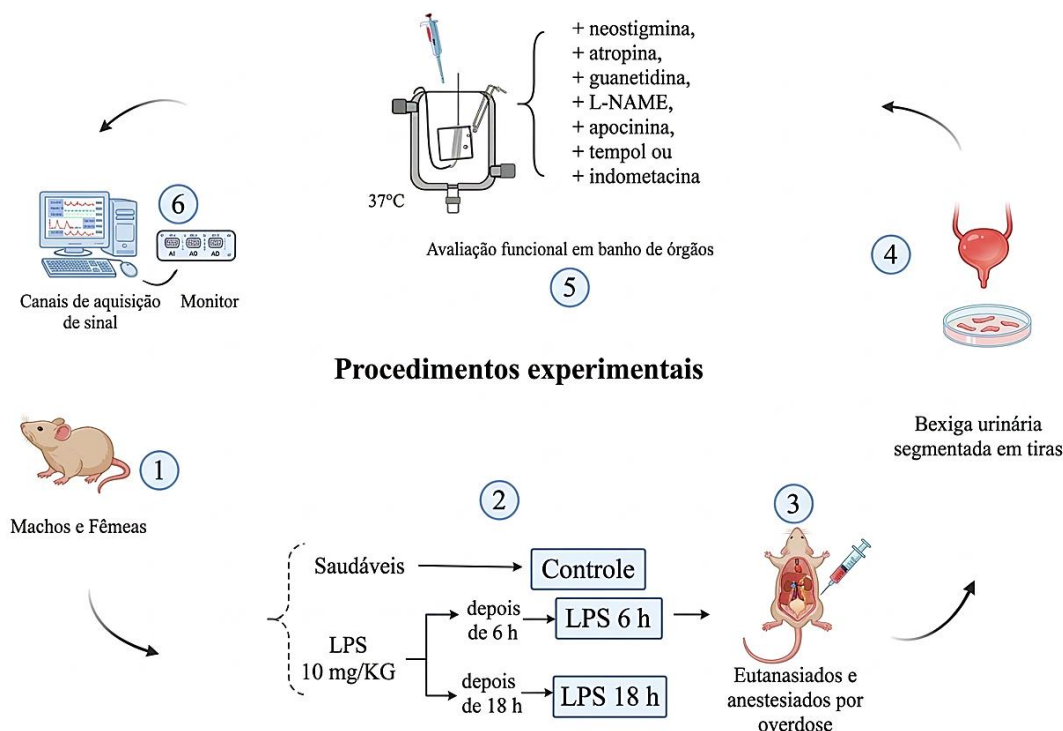


Figura 8. Esquema experimental para o estudo da reatividade da bexiga urinária de camundongos controle e tratados com LPS. Camundongos machos e fêmeas (1) foram randomizados em 6 grupos experimentais (2). Os animais de diferentes grupos foram sacrificados por overdose de anestesia, e a bexiga urinária foi cuidadosamente removida (3). As tiras de bexiga urinária foram cortadas em segmentos de 3-4 mm (4) e montadas em câmaras de banho de órgãos, mantidas a temperatura controlada, aplicando-se uma força de tensão contínua (1 g), com aeração constante de uma mistura de 95% O₂ / 5% CO₂. Nessas condições as preparações de bexiga urinária eram deixadas em repouso por um período de estabilização antes da avaliação das respostas funcionais (5). Após esse período, as amostras receberam tratamentos com diferentes agentes farmacológicos, sendo submetidas a diversos protocolos experimentais, incluindo. Os resultados experimentais foram analisados por meio do software *LabChart* e o *GraphPad Prism 9.0*, para processamento dos dados e realização de análises estatísticas (6). Elaborado pelo autor a partir de imagens disponíveis em <https://app.biorender.com> (2025).

4. RESULTADOS

Parte I – Padronização do modelo experimental em banho de órgãos

4.1 Relação peso da bexiga, peso das preparações e peso do camundongo

Conforme ilustrado na Figura 9A, camundongos machos e fêmeas utilizados em nosso estudo não tiveram diferenças no peso corpóreo. Apesar da bexiga urinária de machos apresentaram peso maior em comparação à bexiga das fêmeas (Figura 9B), não houve diferenças na relação peso da bexiga e peso corporal (Figura 9C) e tampouco no peso das tiras de bexiga utilizadas nos estudos funcionais (Figura 9D).

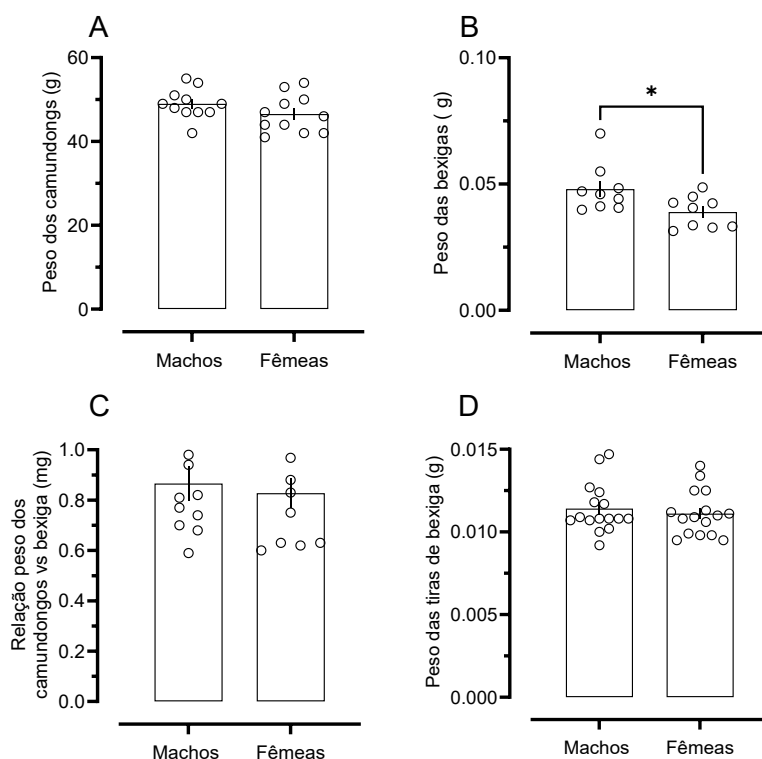


Figura 9. Peso de camundongos, peso da bexiga e peso das tiras de bexiga obtidas de camundongos machos e fêmeas. (A) Comparação entre o peso de camundongos machos e fêmeas (B). Comparação entre o peso das bexigas de camundongos machos e fêmeas (C). Comparação entre a razão do peso da bexiga urinária e o peso corporal dos camundongos machos e fêmeas (D). Comparação entre o peso das tiras de bexiga isoladas de camundongos machos e fêmeas. Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média de 8-11 animais por grupo (o número maior de amostras em “D” deve-se ao fato de que cada bexiga permite o preparo de duas tiras para experimentação). * indica $p < 0,05$ (teste t de Student).

4.2 Avaliação da resposta contrátil das preparações de bexiga isolada submetidas a diferentes tensões basais

Com a realização dos primeiros experimentos deste estudo, verificamos que as tiras de bexiga foram menos responsivas sob tensões basais menores (0,25 e 0,5 g). Entretanto, com o uso da tensão basal de 0,75 e 1 g, observamos um aumento significativo e equipotente das contrações mediadas por KCl e CCh, tanto em preparações oriundas de camundongos machos como de fêmeas. Percebemos ainda que a tensão basal de 1 g foi a tensão na qual as tiras de bexiga urinária melhor responderam aos agentes farmacológicos testados e, portanto, esta foi adotada para todos os experimentos subsequentes. O mesmo perfil de resposta foi observado em tiras de bexiga de camundongos machos (Figura 10) e fêmeas (Figura 11). Esse mesmo bloco de resultados foi utilizado para comparar as contrações obtidas em gramas com valores normalizados pelo peso das tiras utilizadas (expressas em grama de contração por grama de tecido). Com essa análise consideramos que, tanto para preparações de camundongos machos como fêmeas, as respostas contráteis normalizadas (Figuras 10 e 11, gráficos B e D) apresentavam dispersão ligeiramente menor em relação aos dados não normalizados (Figuras 10 e 11, gráficos A e C) e, por isso, optamos por expressar nossos dados utilizando essa normalização pelo peso das preparações.

4.3 Estabilidade das preparações de bexiga urinária a exposições repetidas ao CCh

Como ilustrado pelos registros típicos incluídos na Figura 12A e D, preparações de bexiga tiveram a resposta contrátil ao CCh preservada ao longo de 4 h, quando expostas a três curvas cumulativas construídas em intervalos de 60 min entre elas. Esses resultados demonstram a viabilidade e a resistência das tiras de bexiga ao longo da experimentação e que não há perda ou aumento de resposta contrátil em função da exposição repetida ao CCh, tanto para preparações de camundongos machos (Figuras 12B e C) como fêmeas (Figuras 12E e F).

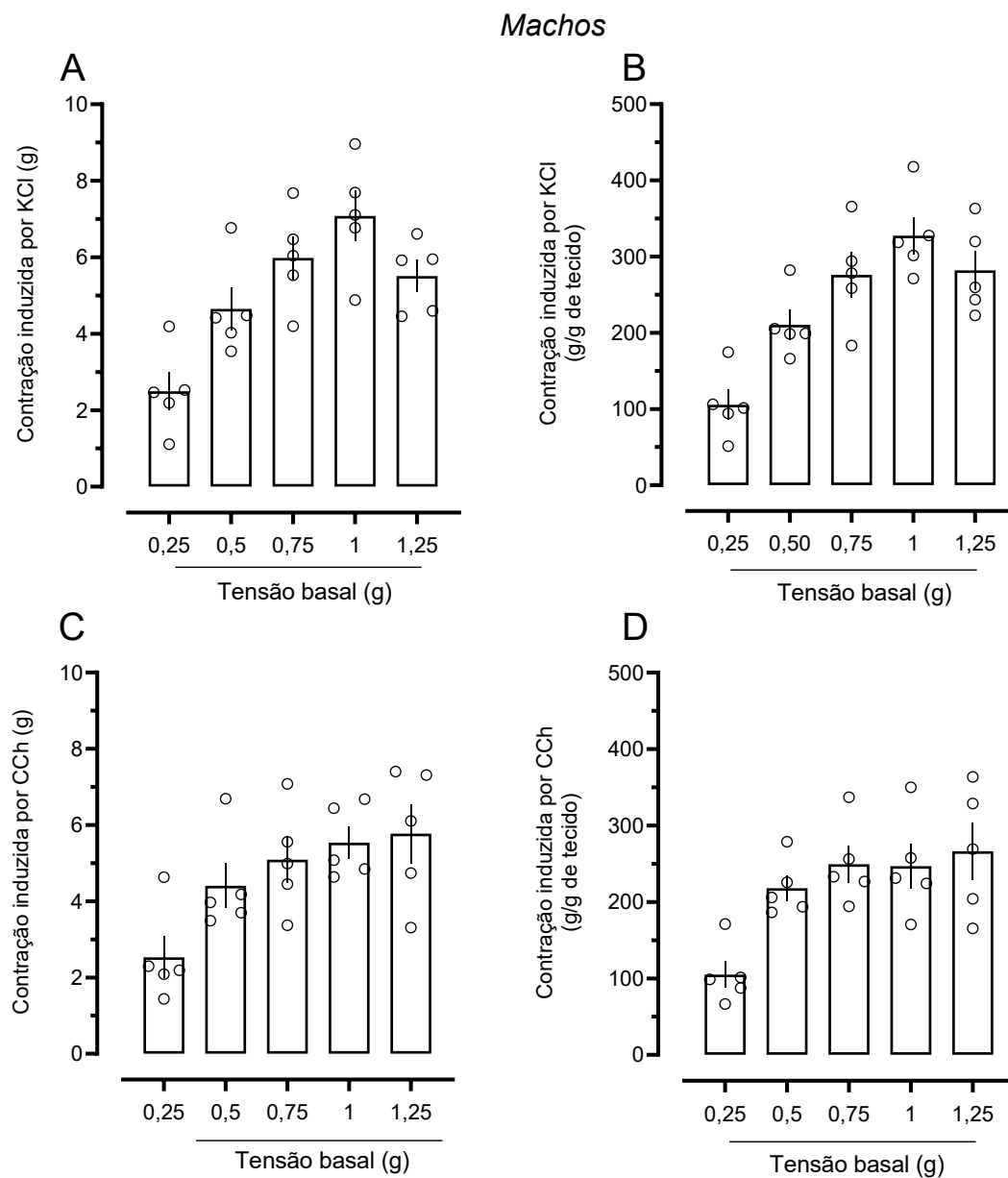


Figura 10. Respostas contráteis induzidas por KCl ou CCh em tiras de bexiga urinária obtidas de camundongos machos e mantidas sob diferentes tensões basais. Curva tensão-resposta obtida para o KCl (120 mM) com dados não normalizados (A) ou normalizados (B) pelo peso das tiras de bexiga urinária. Curva tensão resposta obtidas para CCh (10 μ M) com dados não normalizados (C) ou normalizados (D) pelo peso das tiras de bexiga urinária. Os dados são apresentados como valores individuais e como a média $\pm$ erro padrão da média de 5 preparações de animais diferentes por grupo.

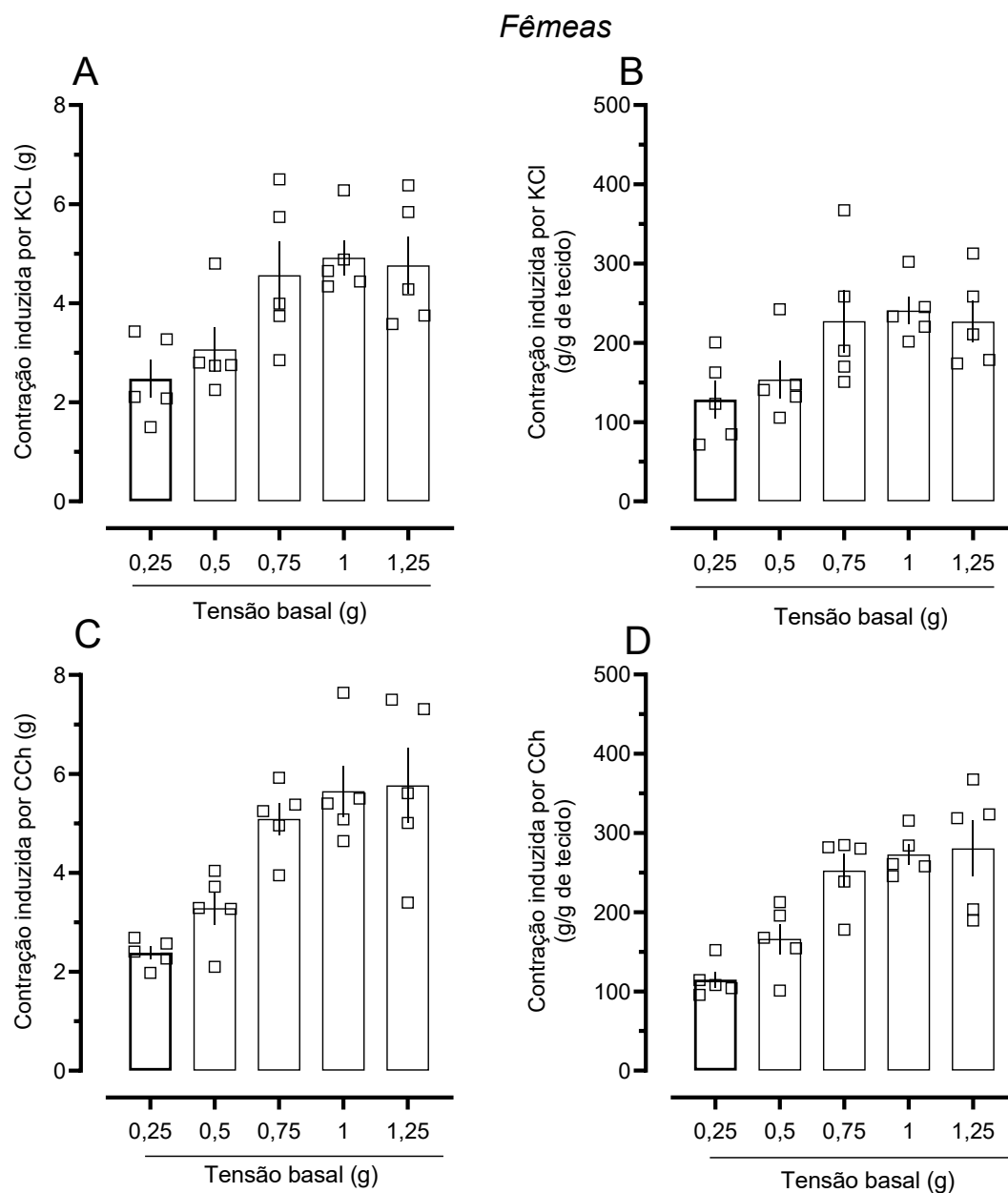


Figura 11. Curva tensão-resposta induzida por KCl ou CCh em tiras de bexiga urinária obtidas de camundongos fêmeas. Curva tensão-resposta obtida para o KCl (120 mM) com dados não normalizados (A) ou normalizados (B) pelo peso das tiras de bexiga urinária. Curva tensão resposta obtidas para CCh (10 μ M) com dados não normalizados (C) ou normalizados (D) pelo peso das tiras de bexiga urinária. Os dados são apresentados como valores individuais e a média $\pm$ erro padrão da média (EPM) de 5 preparações de animais diferentes por grupo.

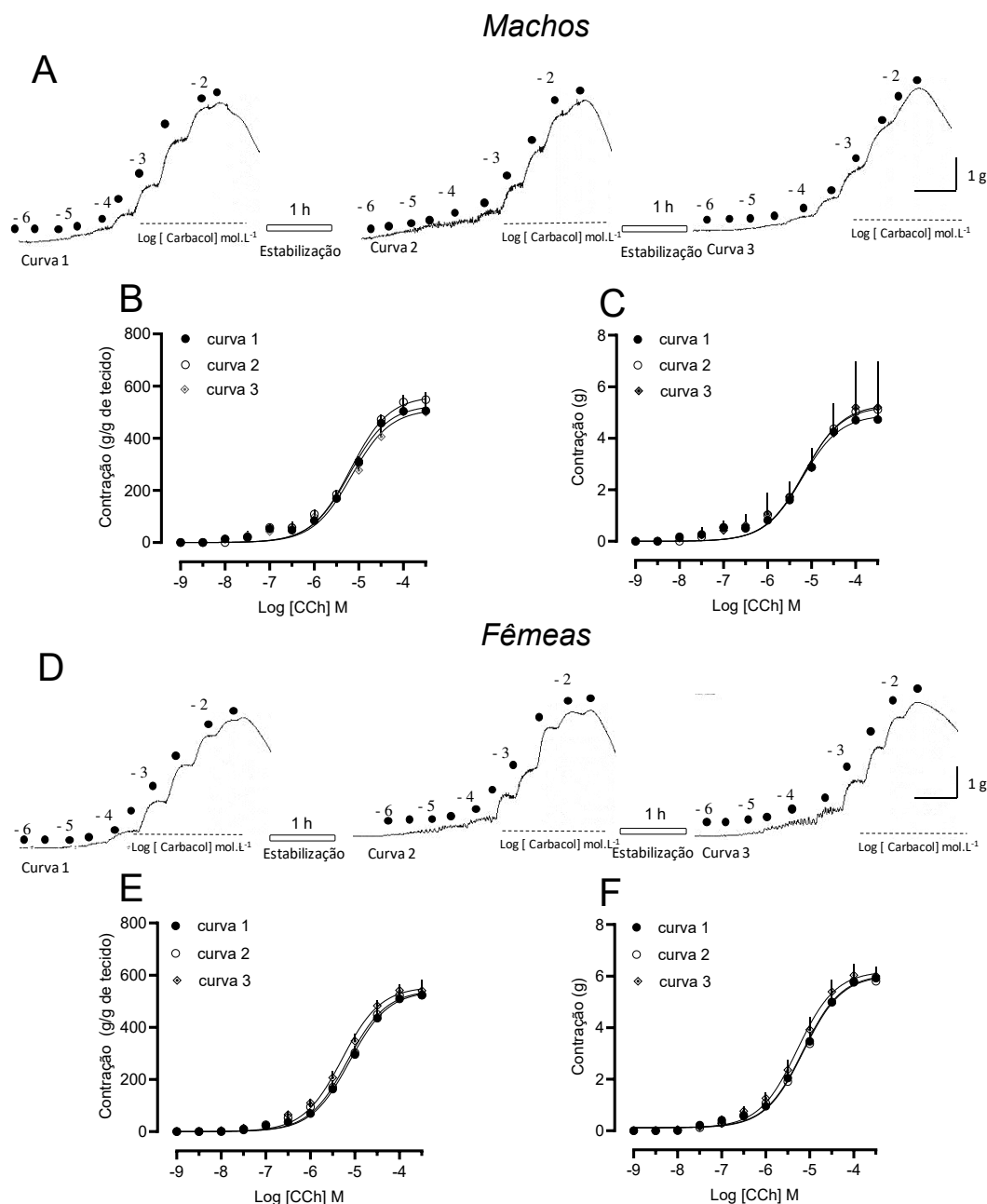


Figura 12. Curvas concentração resposta induzidas por CCh em preparações de bexiga isolada. Registros originais das curvas concentração resposta induzidas por CCh em tiras de bexiga urinária de camundongos machos (A). Curvas concentração-resposta induzidas em preparações de bexiga urinária de camundongos machos normalizadas pelo peso da tira (B) e não normalizadas (C). Registros originais das curvas concentração resposta induzidas por CCh em tiras de bexiga urinária de camundongos fêmeas (D). Curvas concentração resposta induzidas em preparações de bexiga urinária de camundongos fêmeas normalizadas pelo peso da tira (E) e não normalizadas (F). Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média (EPM) de 6 preparações de animais diferentes por grupo.

Parte II – Reatividade de preparações de camundongos machos e fêmeas

4.4 Contrações induzidas por CCh e KCl em bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas

Ao avaliarmos as contrações induzidas com líquido nutritivo (LN) contendo 120 mM de KCl notamos que nos segundos iniciais houve um aumento rápido e marcante do tônus basal (contração fásica), que foi seguido por perda significativa de tônus. Quando comparamos as contrações entre machos e fêmeas, percebemos que não houve diferenças significativas entre os sexos (Figura 13C). De maneira semelhante, não constatamos diferenças significativas na área sobre a curva e nem no Emáx (Figura 13D e E), respectivamente. Traçados mostrando o perfil de contração induzida pelo KCl em cada tira de bexiga urinária são apresentados nas Figura 13A e B.

Semelhante ao descrito para a resposta ao KCl, ao avaliarmos as contrações induzidas por 10 μ M de CCh, constatamos que nos segundos iniciais houve um aumento rápido da resposta contrátil, seguido por perda significativa de tônus. Ao comparamos as contrações obtidas entre machos e fêmeas, notamos que elas diferiram entre si e que as preparações de fêmeas foram mais reativas em comparação às dos machos (Figura 13H), conforme comprovado ao compararmos a área sob a curva (ASC) das respostas (Figura 13I). Entretanto, não observamos diferenças significativas entre os Emáx (Figura 13J). Traçados mostrando o perfil de contração induzida pelo CCh em cada tira de bexiga urinária são apresentados na Figura 13F e G.

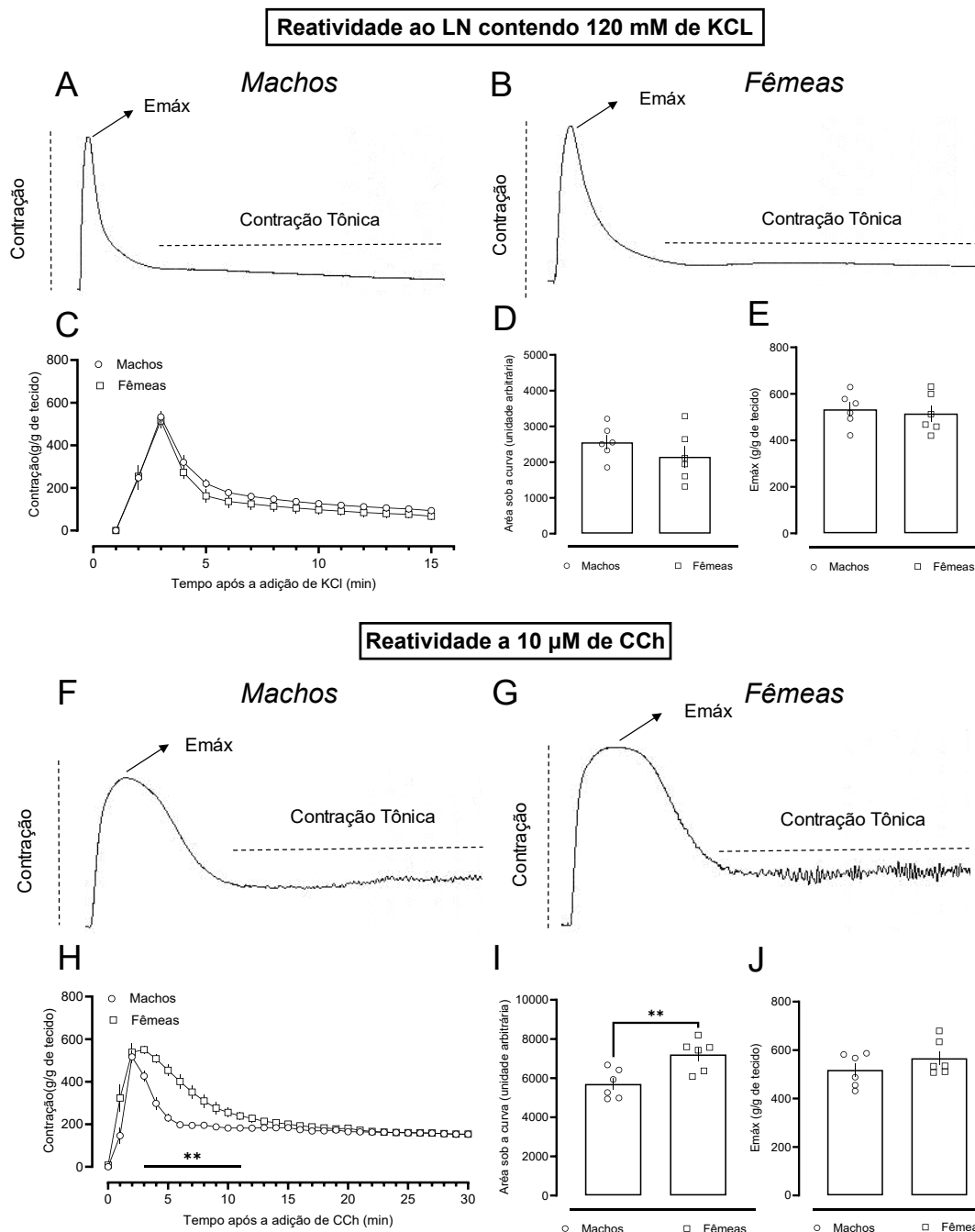


Figura 13. Perfil de contração evocada por 120 mM de KCl e 10 μ M de CCh nas tiras de camundongos saudáveis. Análise temporal da contração induzida por LN contendo 120 mM de KCl e 10 μ M de CCh em preparação de camundongos machos (A, F) e fêmeas (B, G). Comparação entre as respostas apresentadas por preparações de camundongos machos e fêmeas ao LN contendo 120 mM de KCl (C-E) ou 10 μ M de CCh (H-I). Os dados são apresentados como valores individuais e/ou a média $\pm$ erro padrão da média (EPM) de 6 preparações de animais diferentes/grupo. Teste t de Student; ** $p < 0,01$. Emáx: efeito contrátil máximo apresentado.

4.5 Reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas saudáveis à concentrações crescentes de acetilcolina e carbacol

A avaliação comparativa da reatividade da bexiga urinária de camundongos machos (Figura 14A) e fêmeas (Figura 14B) demonstrou que ambas foram reativas à adição de concentrações crescentes de ACh, embora em proporções significativamente menores (~80% menos) se comparada às respostas geradas pelo CCh. A incubação prévia das preparações com NEO aumentou as respostas à ACh para um $E_{máx}$ semelhante ao desencadeado pelo CCh. Com relação às diferenças relacionadas ao sexo, verificamos que o efeito máximo da ACh na presença de NEO foi maior nas tiras de bexiga oriundas de fêmeas.

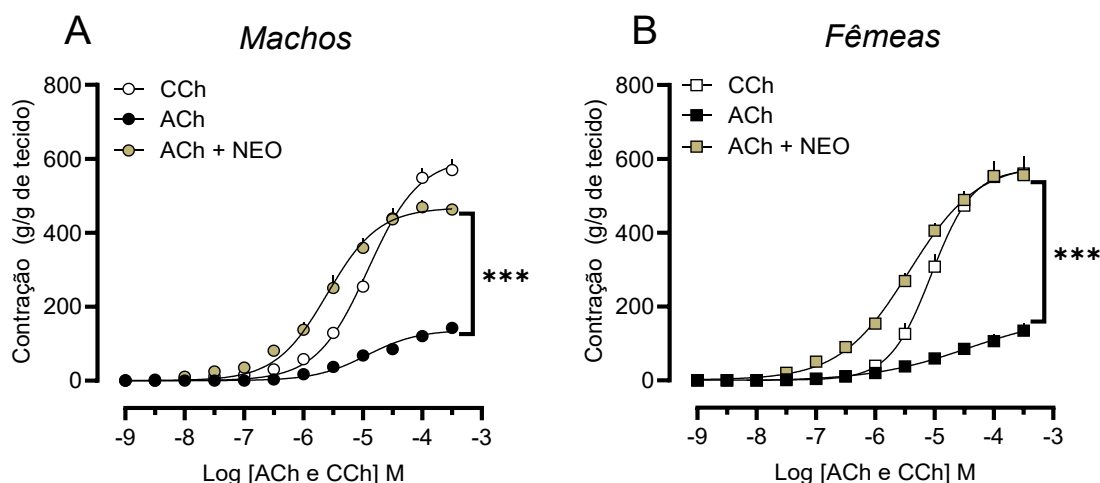


Figura 14. Curvas concentração resposta induzidas por CCh e ACh em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas. Curvas concentração resposta construídas para o CCh e para ACh na presença e ausência de neostigmina em bexiga urinária de camundongos machos (A) e fêmeas (B). Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média (EPM) de 6 preparações de animais diferentes por grupo. ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguida do pós-teste de Tukey; *** $p < 0,001$.

4.6 Contrações induzidas por neostigmina em bexiga de camundongos machos e fêmeas

A adição de NEO aumentou a amplitude (Figura 15A), mas não alterou significativamente a frequência (Figura 15B) dos movimentos registrados em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas. A adição de atropina não alterou a amplitude das contrações espontâneas, mas reduziu de maneira significativa o efeito da NEO sobre essas contrações (Figura 15A). Por outro lado, a adição de atropina reduziu a frequência

das contrações espontâneas na ausência de NEO, mas não naquelas preparações estimuladas com NEO (Figura 15B). É importante destacar que a adição de NEO aumentou o tônus basal tanto de preparações de bexiga urinária obtidas de camundongos machos como de fêmeas, efeito que foi abolido pela incubação prévia de atropina (Figura 15C-E). Nenhum desses achados se diferenciou entre tiras de bexiga urinária oriundas de camundongos machos e fêmeas.

4.7 Influência de fatores relaxantes sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas

Para verificar a influência de fatores relaxantes sobre o tônus da bexiga urinária, avaliamos a participação do óxido nítrico e da noradrenalina endógena na resposta contrátil à NEO. A adição de guanetidina não modificou significativamente a amplitude dos movimentos espontâneos quando adicionada isoladamente nas preparações de bexiga urinária, mas aumentou o efeito da NEO tanto em preparações de machos quanto de fêmeas (Figura 16A). Por sua vez, a guanetidina pareceu diminuir a frequência dos movimentos em tiras de bexiga urinária oriundas de machos e fêmeas, sem ou com exposição à NEO, porém esse efeito só atingiu significância estatística em preparações de fêmeas expostas à NEO (Figura 16B). Por fim, a incubação de guanetidina diminuiu a contração induzida por NEO tanto em tiras de bexiga oriundas de camundongos machos (Figura 16C) como de fêmeas (Figura 16D), como comprovado ao compararmos o tônus final das preparações na presença e ausência de guanetidina (Figura 16E).

A adição de L-NAME não modificou a amplitude dos movimentos espontâneos quando adicionada isoladamente nas preparações de camundongos machos e fêmeas. Por outro lado, preparações de camundongos machos que receberam NEO tiveram a amplitude de seus movimentos aumentada após a adição de L-NAME, não observamos efeitos significativos em fêmeas (Figura 17A). Por sua vez, o L-NAME isoladamente aumentou a frequência dos movimentos em preparações oriundas de machos, porém esse efeito não atingiu significância estatística em preparações de fêmeas (Figura 17B). Por fim, a incubação de L-NAME não alterou a contração induzida por NEO tanto em tiras de camundongos machos (Figura 17C) como de fêmeas (Figura 17D), como comprovado ao compararmos o tônus final das preparações na presença e ausência de L-NAME (Figura 17E).

4.8 Efeito de espécies reativas de oxigênio sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas

A adição de apocinina não modificou a amplitude dos movimentos espontâneos quando adicionada isoladamente em preparações de bexiga urinária de camundongos machos, contudo, aumentou a amplitude em fêmeas. Por outro lado, preparações de camundongos machos e fêmeas que receberam NEO tiveram a amplitude de seus movimentos aumentada após a adição de apocinina (Figura 18A). Em relação à frequência desses movimentos, percebemos um efeito dimórfico entre os sexos, conforme pode ser observado na Figura 18B, na qual se observa que a presença de apocinina isoladamente gerou uma diminuição significativa dos movimentos registrados em tiras de bexiga urinária de camundongos machos e um aumento significativo naquelas oriundas de fêmeas. Por sua vez, as preparações de bexiga urinária que receberam apocinina e posteriormente NEO não tiveram nenhuma alteração sobre a frequência dos movimentos. Por fim, a incubação de apocinina diminui a contração induzida por NEO tanto em tiras de camundongos machos (Figura 18C) como de fêmeas (Figura 18D), como comprovado ao compararmos o tônus final das preparações na presença e ausência de apocinina (Figura 18E).

A adição de tempol não modificou a amplitude dos movimentos espontâneos quando adicionada isoladamente nas preparações de bexiga de camundongos machos e fêmeas. Por outro lado, as preparações de camundongos fêmeas que receberam NEO tiveram a amplitude de seus movimentos aumentada após a adição de tempol, enquanto não causou nenhuma alteração nos efeitos observados em machos (Figura 19A). Por sua vez, a NEO na presença e na ausência de tempol, não alterou a frequência dos movimentos em tiras de bexiga urinária oriundas de machos ou fêmeas (Figura 19B). Por fim, a incubação de tempol não alterou a contração induzida por NEO tanto em tiras de camundongos machos (Figura 19C), como de fêmeas (Figura 19D). Conforme observado ao compararmos o tônus final das preparações na presença e ausência de tempol (Figura 19E).

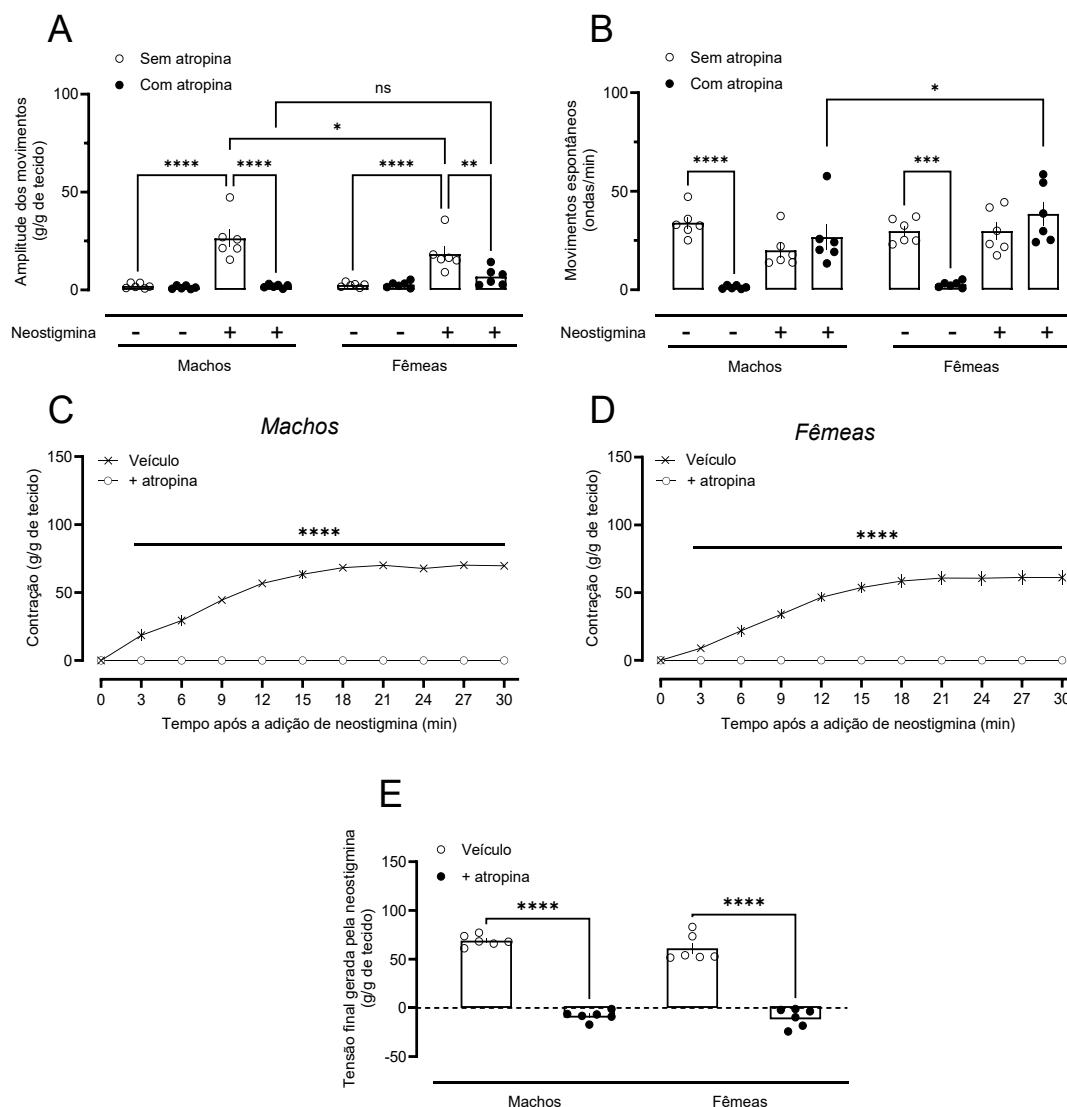


Figura 15. Efeito da neostigmina sobre o tônus da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas. Comparação entre a amplitude (A) e frequência (B) dos movimentos espontâneos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas após estimulação com neostigmina (1 μ M) na ausência e na presença de atropina (3 μ M). Análise temporal da contração induzida por neostigmina em preparações provenientes de camundongos machos (C) e fêmeas (D). Efeito da atropina sobre a contração final gerada pela neostigmina em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas (E). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) e/ou valores individuais de 6 preparações de animais diferentes por grupo. *, ** e **** indicam $p < 0,05$, $p < 0,001$ e $p < 0,0001$, em relação ao grupo indicado; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

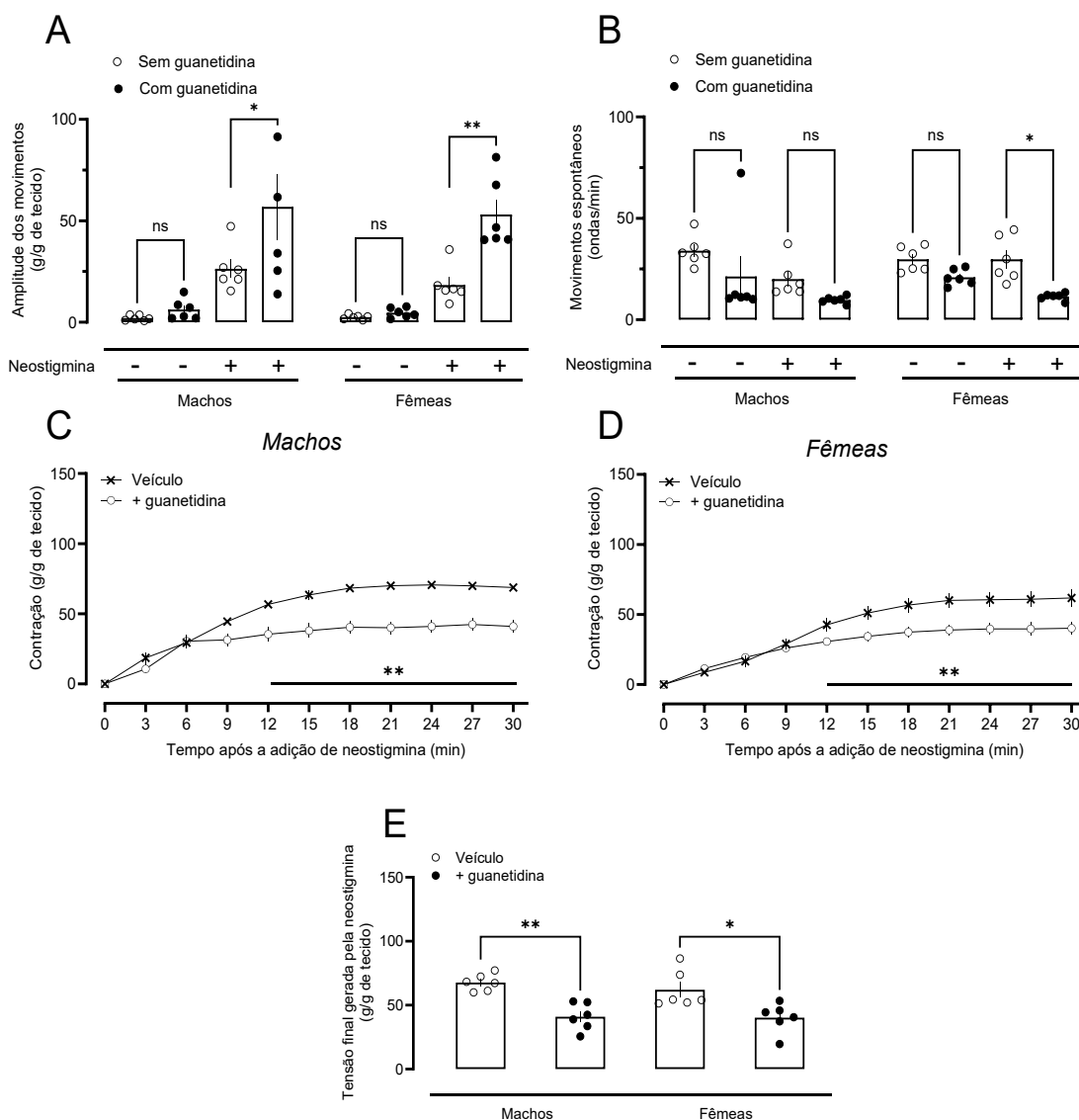


Figura 16. Efeito da guanetidina sobre a reatividade da bexiga urinária à neostigmina. Comparação entre a amplitude (A) e frequência (B) dos movimentos espontâneos obtidos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas após a estimulação com neostigmina (1 μ M) na ausência e na presença de guanetidina (30 μ M). Análise temporal da contração induzida por neostigmina em tiras de bexiga urinária de camundongos machos (C) e fêmeas (D). Efeito da guanetidina sobre a contração final gerada pela neostigmina em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas (E). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) e/ou valores individuais de 6 preparações de animais diferentes por grupo. * e ** indicam $p < 0,05$, $p < 0,001$ e, em relação ao grupo indicado; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

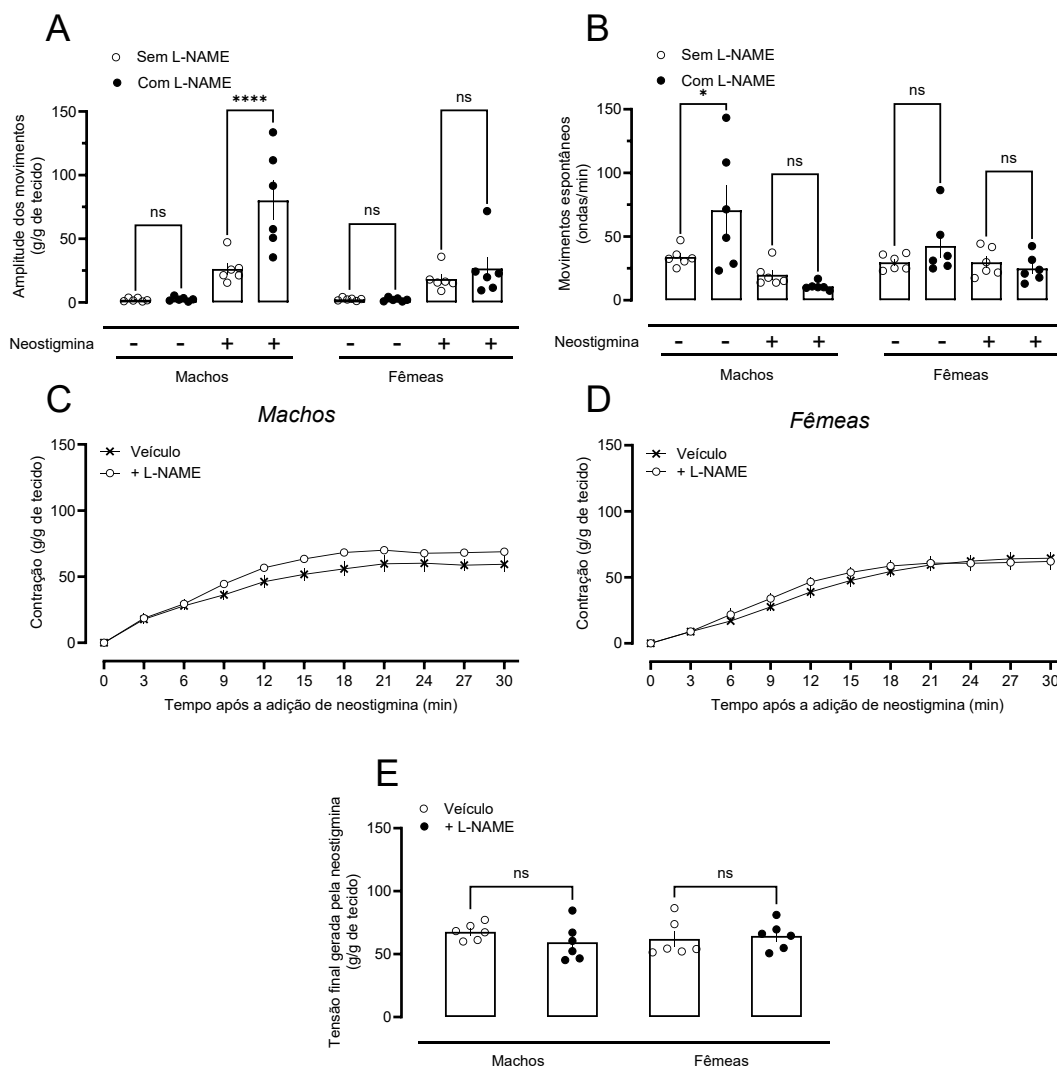


Figura 17. Efeito do L-NAME sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas.

Comparação entre a amplitude (A) e frequência (B) dos movimentos espontâneos obtidos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas após a estimulação com neostigmina (1 μ M) na ausência e na presença de L-NAME (100 μ M). Análise temporal da contração induzida por neostigmina em tiras de bexiga urinária de camundongos machos (C) e fêmeas (D). Efeito do L-NAME sobre a contração final gerada pela neostigmina em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas (E). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) e/ou valores individuais de 6 preparações de animais diferentes por grupo. * e **** indicam $p < 0,05$ e $p < 0,0001$, em relação ao grupo indicado; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

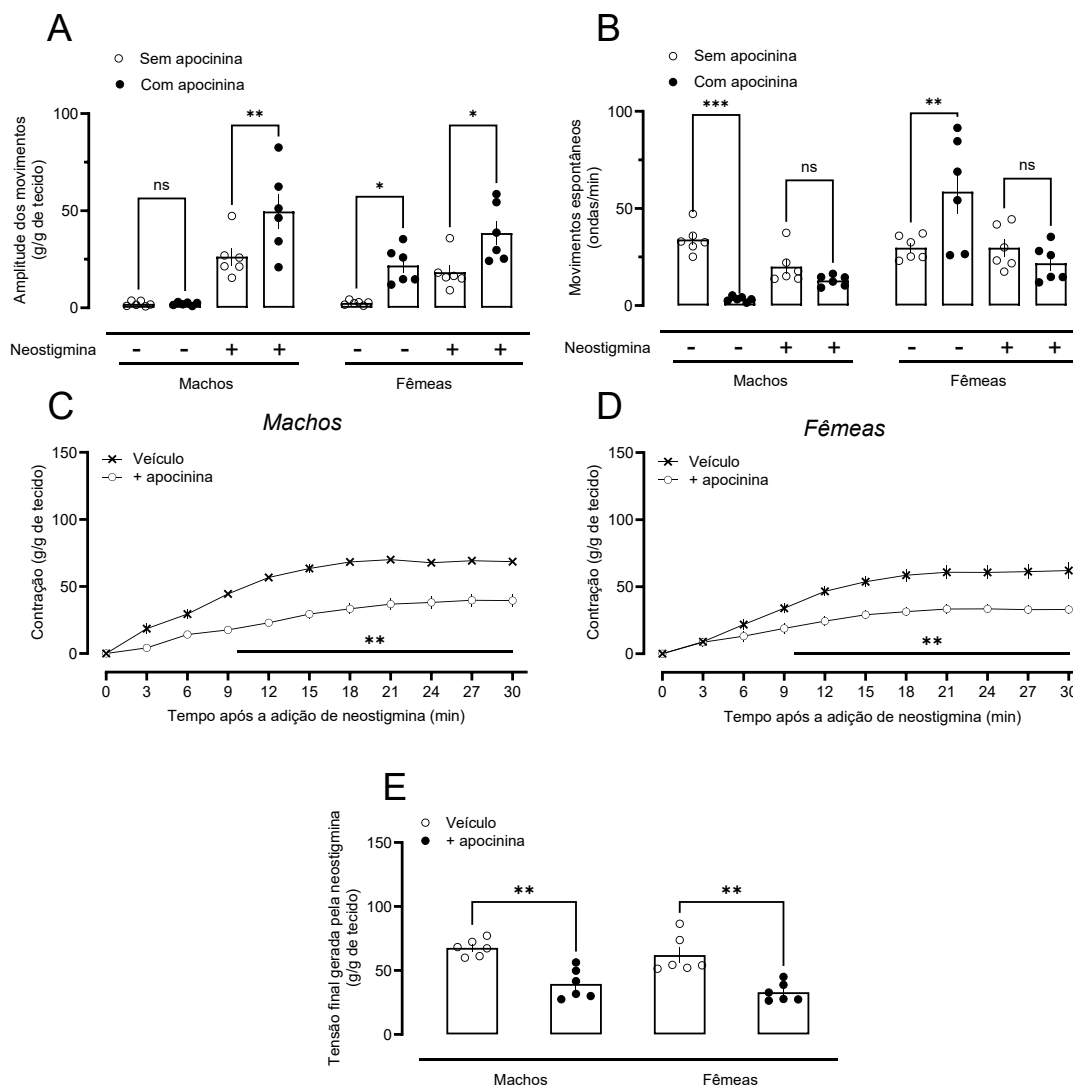


Figura 18. Efeito da apocinina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas. Comparação entre a amplitude (A) e frequência (B) dos movimentos espontâneos obtidos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas após a estimulação com neostigmina (1 μ M) na ausência e na presença de apocinina (100 μ M). Análise temporal da contração induzida por neostigmina em tiras de bexiga urinária de camundongos machos (C) e fêmeas (D). Efeito da apocinina sobre a contração final gerada pela neostigmina em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas (E). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) e/ou valores individuais de 6 preparações de animais diferentes por grupo. *, ** e *** indicam $p < 0.05$, $p < 0.001$ e $p < 0.001$, em relação ao grupo indicado; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

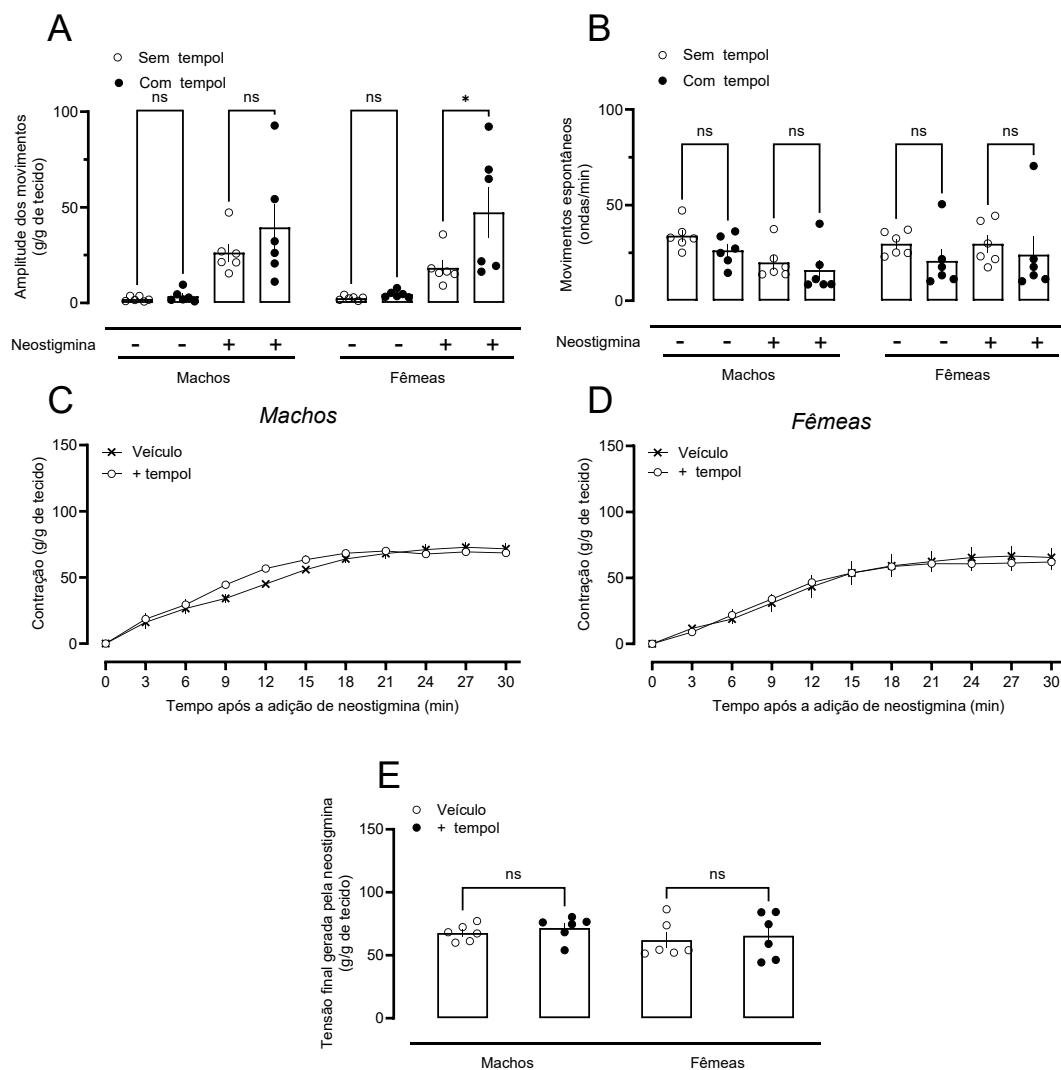


Figura 19. Efeito do tempol sobre a reatividade na bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas. Comparação entre a amplitude (A) e frequência (B) dos movimentos espontâneos obtidos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas após a estimulação com neostigmina ($1 \mu\text{M}$) na ausência e na presença de tempol ($300 \mu\text{M}$). Análise temporal da contração induzida por neostigmina em tiras de bexiga urinária de camundongos machos (C) e fêmeas (D). Efeito do tempol sobre a contração final gerada pela neostigmina em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas (E). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) e/ou valores individuais de 6 preparações de animais diferentes por grupo. * indica $p < 0,05$, em relação ao grupo indicado; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

4.9 Efeito da indometacina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas

Também investigamos o papel de prostanóides derivados da via do ácido araquidônico-ciclooxigenase sobre o tônus da bexiga urinária. Para isso, as preparações de bexiga urinária foram pré-incubadas com indometacina, inibidor não seletivo da COX, durante 30 minutos. A adição de indometacina não modificou a amplitude dos movimentos espontâneos nas preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas, quando adicionada isoladamente. Por outro lado, as preparações de bexiga de camundongos fêmeas que receberam NEO tiveram a amplitude de seus movimentos aumentada após a adição de indometacina, não observamos efeitos significativos em machos (Figura 20A). Por sua vez, a indometacina isoladamente aumentou a frequência dos movimentos em preparações oriundas de machos e fêmeas. Em tiras de bexiga expostas a NEO, não houve atingiu significância estatística em preparações em nenhum dos grupos (Figura 20B). Por fim, a incubação de indometacina potencializou a contração induzida por NEO em tiras de camundongos machos (Figura 20C), mas não de fêmeas (Figura 20D), como comprovado ao compararmos o tônus final das preparações na presença e ausência de indometacina (Figura 20E).

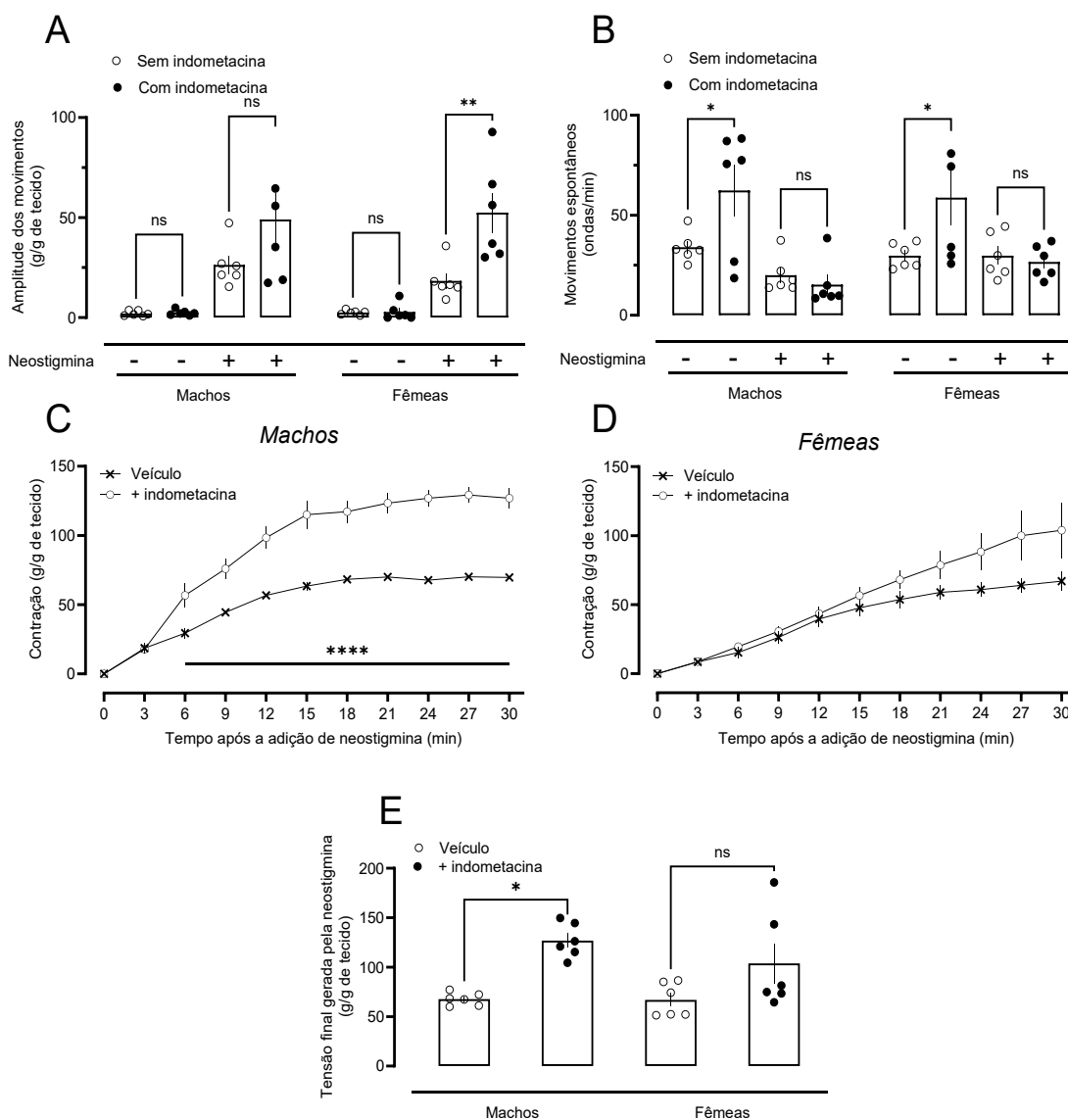


Figura 20. Efeito da indometacina sobre a reatividade bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas.

Comparação entre a amplitude (A) e frequência (B) dos movimentos espontâneos obtidos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas após a estimulação com neostigmina (1 μ M) na ausência e na presença de indometacina (10 μ M). Análise temporal da contração induzida por neostigmina em tiras de bexiga urinária de camundongos machos (C) e fêmeas (D). Efeito da indometacina sobre a contração final gerada pela neostigmina em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas (E). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) e/ou valores individuais de 6 preparações de animais diferentes por grupo. *, ** e **** indicam $p < 0,05$, $p < 0,001$ e $p < 0,0001$, em relação ao grupo indicado; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

Parte III – Análise do impacto da inflamação sistêmica sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas

4.10 Contrações induzidas por CCh na bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS

A análise das contrações induzidas por 10 μ M de CCh em bexiga urinária de camundongos machos tratados ou não com LPS não revelou diferenças significativas entre os grupos (Figuras 21A). No entanto, ao compararmos os dados obtidos em fêmeas, observamos uma redução significativa das contrações induzidas por CCh nos grupos LPS 6 h e 18 h (Figuras 21B). Em contrapartida, ao analisarmos as curvas de contração obtidas pela adição de concentrações cumulativas de CCh não observamos diferenças significativas entre os grupos, tanto em preparações obtidas de machos (Figura 21C) como de fêmeas (Figura 21D). Em relação à contração induzida por concentrações cumulativas de ACh em tiras de bexiga de machos e de fêmeas, também não observamos diferenças entre os grupos controle e tratados com LPS (Figuras 21E e F). Além disso, a incubação prévia de NEO elevou as respostas à ACh para a mesma faixa de efeito gerado pelo CCh em todos os grupos experimentais (Figuras 21E e F).

4.11 Contrações induzidas por neostigmina em bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS

Como previamente descrito (Figura 15), e reapresentado nas Figuras 22A e B, o aumento na amplitude dos movimentos gerados pela NEO foi atenuada pela atropina no grupo controle, tanto em machos quanto em fêmeas. A inflamação sistêmica aumentou a amplitude dos movimentos espontâneos em tiras de bexiga urinária de camundongos tratados com LPS em 6 e 18 h quando estimuladas com NEO, efeito que foi abolido pela atropina, independente do sexo (Figura 22A e B). Preparações de bexiga dos machos e fêmeas LPS 6 e 18 h apresentaram redução da frequência de movimentos após a estimulação com NEO, conforme demonstrado na Figura 22C e D. A adição de atropina, reverteu o efeito da NEO sobre a frequência dos movimentos espontâneos nas preparações de bexiga urinária obtidas de animais machos do grupo LPS 18 h, e, embora sem atingir nosso critério de significância

estatística, pareceu ter o mesmo efeito nos demais grupos LPS (Figuras 22C-D). Importante destacar que a atropina não alterou as respostas registradas nas preparações dos animais do grupo controle. Entretanto, tanto o efeito constritor gerado pela neostigmina ao longo de 30 min de incubação, como a ação inibitória da atropina sobre esse efeito não diferiu entre preparações de bexiga dos grupos controle (Figura 23A e D) ou LPS 6 e 18 h de machos (Figuras 23B e C) ou fêmeas (Figuras 23E e F).

4.12 Influência de guanetidina sobre o efeito da NEO na reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS

Como previamente descrito (Figura 16), e reapresentado nas Figuras 24A e B, a guanetidina aumentou a amplitude dos movimentos em preparações de bexiga urinária de camundongos controle estimuladas com NEO, enquanto diminuiu a amplitude dos movimentos. A incubação prévia de guanetidina aumentou a amplitude dos movimentos após adição de NEO nos grupos LPS 6 h (Figuras 24 A e B). Por sua vez, a adição de guanetidina isoladamente diminuiu a frequência dos movimentos somente em tiras de bexiga de camundongos machos do grupo LPS 6 h. A NEO reduziu a frequência dos movimentos em preparações de camundongos dos grupos machos LPS 6 h e fêmeas LPS 6 h e 18 h (Figura 24C e D), efeito que não foi alterado pela presença de guanetidina. Ademais, a incubação prévia com guanetidina reduziu o aumento do tônus evocado pela incubação de NEO em tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas dos grupos controle. Esse perfil de respostas também foi reproduzido em preparações obtidas dos grupos machos LPS 6 e 18 h (Figuras 25B e C) e de fêmeas do grupo LPS 18 h (Figura 25F), mas não no grupo fêmeas 6 h (Figura 25E).

4.13 Efeito do L-NAME sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos ou fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS

Como previamente descrito (Figura 17), e reexibido nas Figuras 26, o tratamento prévio das preparações de bexiga urinária de animais controle com L-NAME aumentou somente a amplitude dos movimentos no grupo de machos expostos à NEO. Preparações de bexiga dos machos e fêmeas LPS 6 e 18 h apresentaram aumento da amplitude de

movimentos após a estimulação com NEO, conforme demonstrado na Figura 26A-D. A adição de L-NAME, não alterou o efeito da NEO sobre a amplitude dos movimentos espontâneos nas preparações obtidas de animais tratados com LPS. De maneira antagônica, o L-NAME isoladamente, reduziu a frequência em preparações de bexiga oriundas de camundongos machos do grupo LPS 6 h, enquanto potencializou os movimentos espontâneos em camundongos machos LPS 18 h (Figura 26C). Por outro lado, nenhum efeito foi observado para preparações oriundas de fêmeas (Figuras 26D). A incubação prévia com L-NAME não modificou o aumento do tônus evocado pela incubação de NEO em tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas dos grupos controle (Figuras 27A e D), e tampouco no grupo fêmeas LPS 6 h (Figura 27E). Por sua vez, o L-NAME potencializou o tônus induzido pela NEO em preparações de camundongos machos LPS 6 e 18 h (Figuras 27B e C) e fêmeas 18 h (Figura 27F).

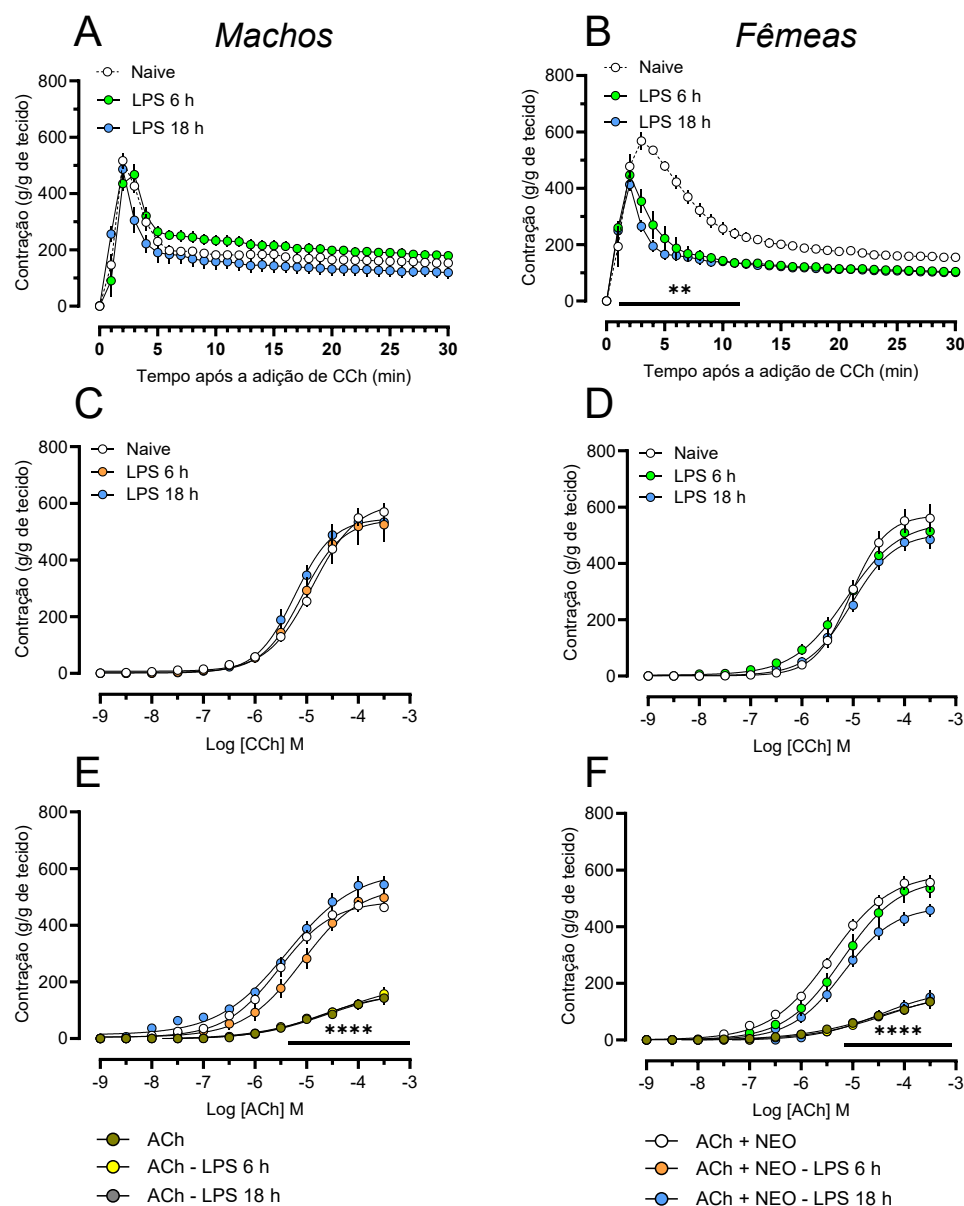


Figura 21. Curvas concentração resposta induzidas por CCh e ACh em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas. Comparação entre curvas concentração única usando 10 μ M de CCh em bexiga urinária de camundongos dos grupos Controle, LPS 6 h e LPS 18 h machos (A) e fêmeas (B). Comparação entre curvas de respostas dependentes da concentração para CCh em bexiga urinária de camundongos dos grupos Controle, LPS 6 h e LPS 18 h machos (C) e fêmeas (D). Comparação entre curvas de respostas dependentes da concentração para acetilcolina na presença e ausência de neostigmina em bexiga urinária de camundongos dos grupos Controle, LPS 6 h e LPS 18 h machos (E) e fêmeas (F). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) de 6 preparações de animais diferentes por grupo. ** $p < 0.01$, Controle vs. LPS 6 h ou LPS 18 h; **** $p < 0.0001$, ACh vs. ACh + NEO; ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguida do pós-teste de Tukey.

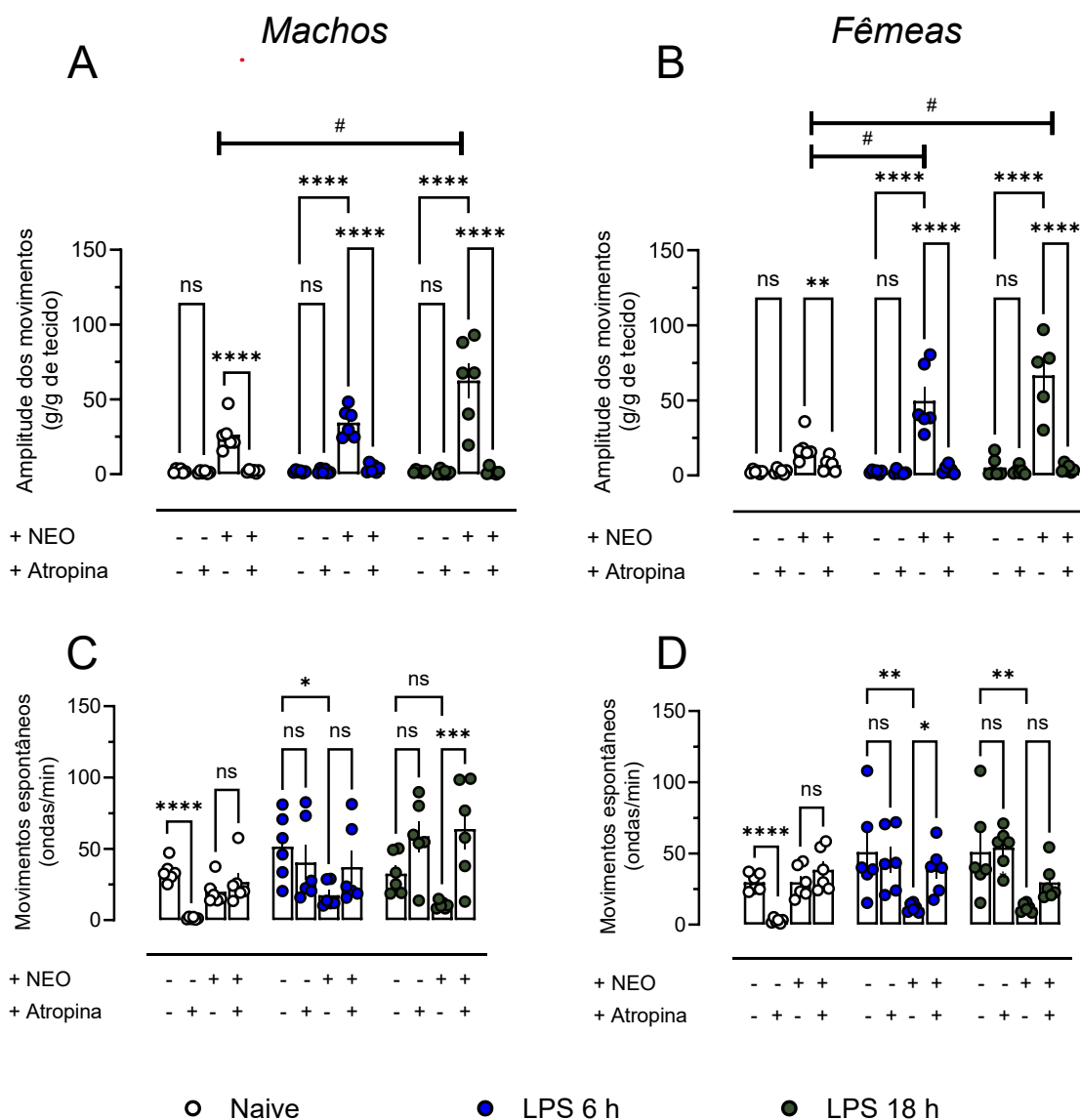


Figura 22. Efeito da inflamação sistêmica sobre os movimentos espontâneos de tiras de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Comparação entre a amplitude (A e B) e frequência (C e D) dos movimentos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas sem adição de drogas, ou estimulados com neostigmina (1 μ M), com ou sem a adição de atropina (3 μ M). Os dados são apresentados, como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). *, ** e **** indicam * p < 0,05, ** p < 0,01, **** p < 0,0001; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

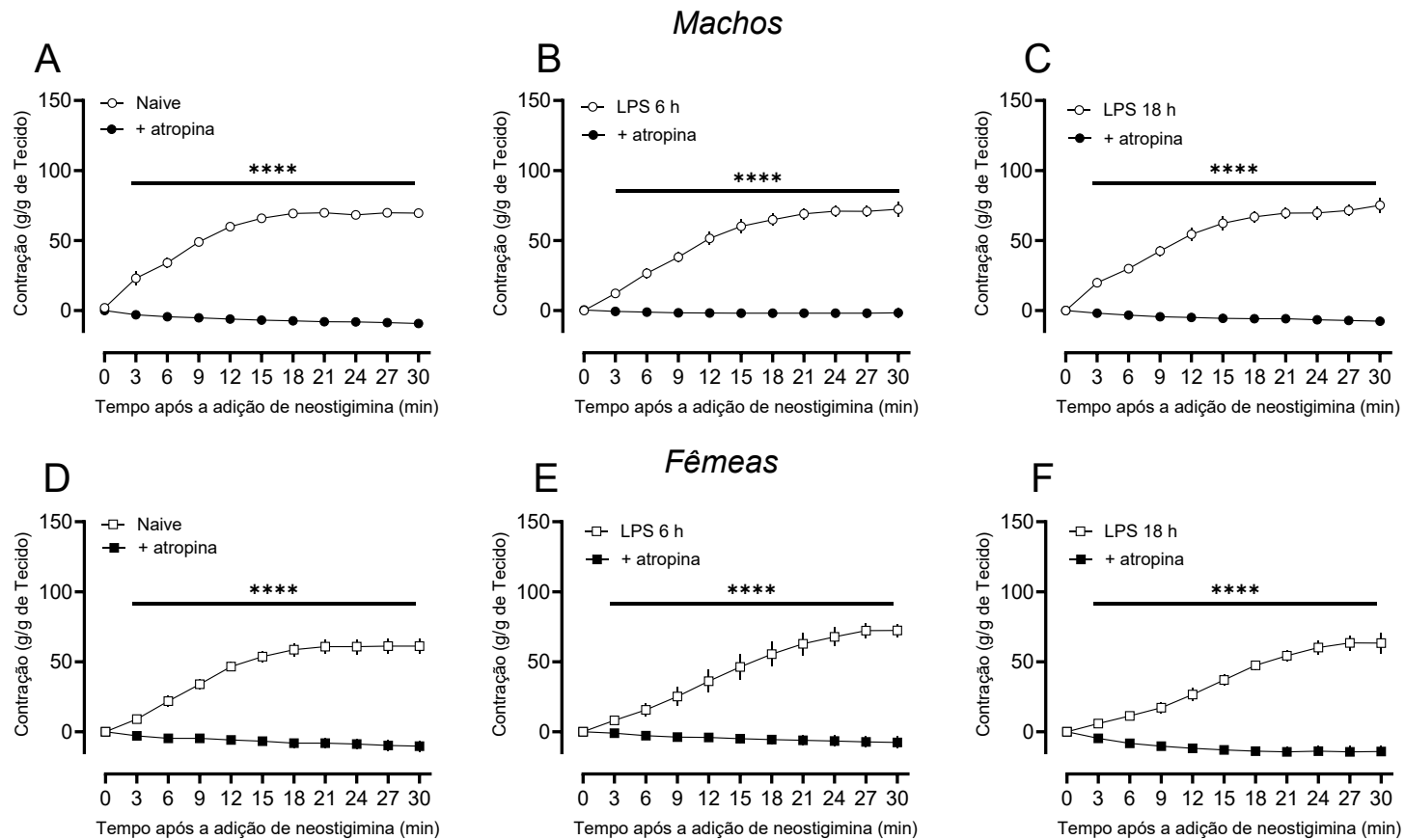


Figura 23. Efeito da neostigmina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Tiras de bexiga de animais dos grupos controle (A e D), LPS 6 h (B e E) e LPS 18 h (C e F) foram expostos à neostigmina (1 μ M) na ausência ou após incubação com atropina (3 μ M). A contração induzida pela neostigmina foi registrada continuamente durante 30 min. Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). **** indica $p < 0,0001$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

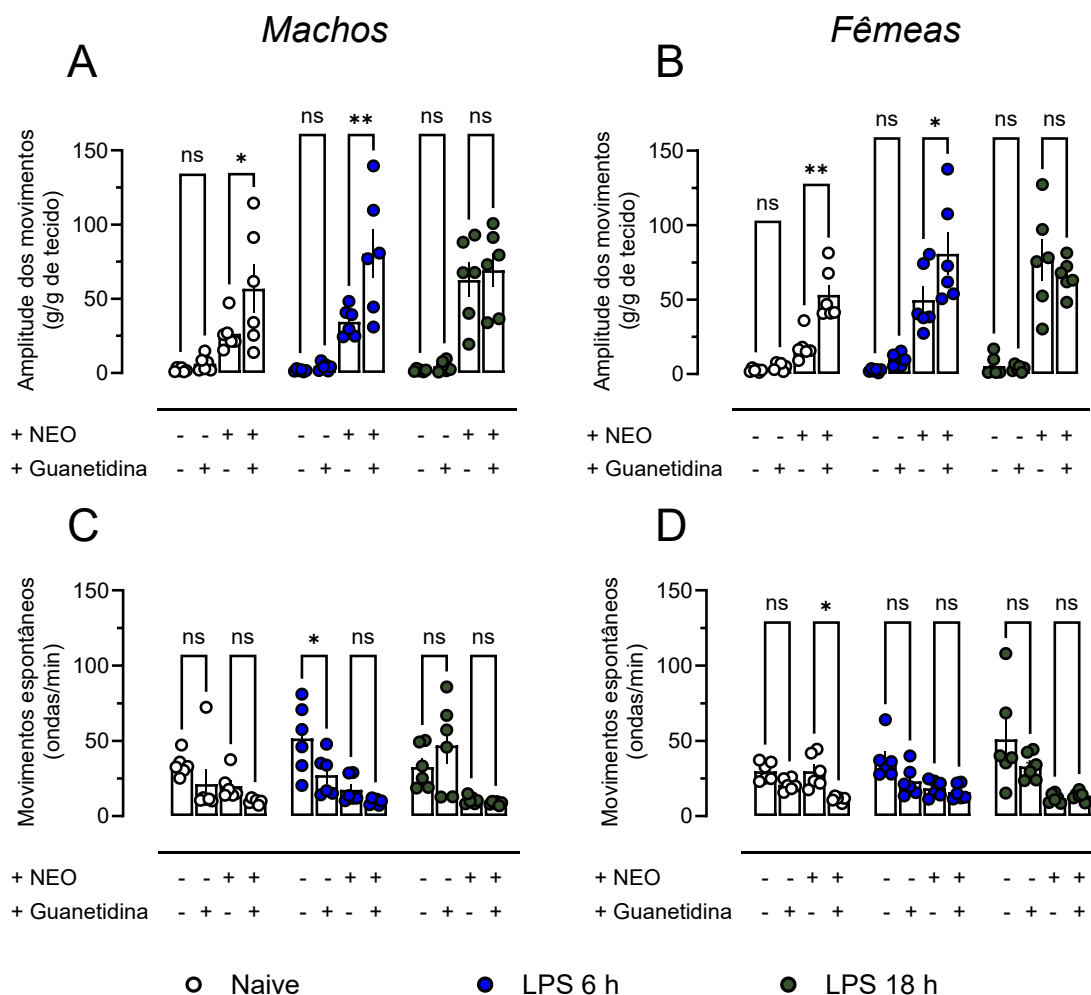


Figura 24. Efeito da guanetidina sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Comparação entre a amplitude (A e B) e frequência (C e D) dos movimentos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas sem adição de drogas, ou estimulados com neostigmina (1 μ M), com ou sem a adição de guanetidina (10 μ M). Os dados são apresentados, como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). * e ** indicam * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

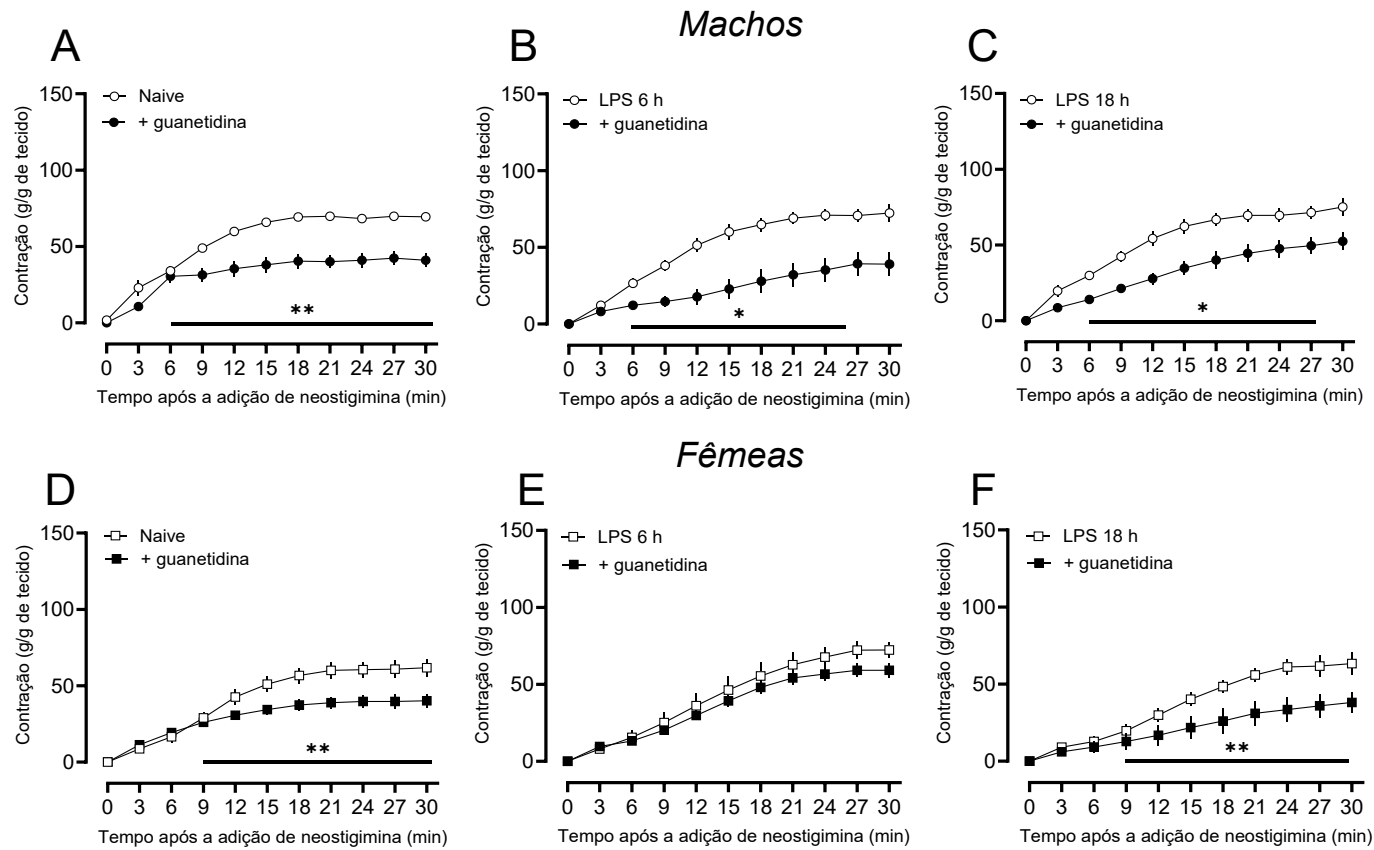


Figura 25. Efeito da guanetidina sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Tiras de bexiga de animais dos grupos controle (sem estímulo inflamatório; A e D), LPS 6 h (B e E) e LPS 18 h (C e F) foram expostos à neostigmina (1 μ M) na ausência ou após incubação com guanetidina (10 μ M). A contração induzida pela neostigmina foi registrada continuamente durante 30 min. Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média (EPM) de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). * e ** indicam $p < 0,05$ e $p < 0,01$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

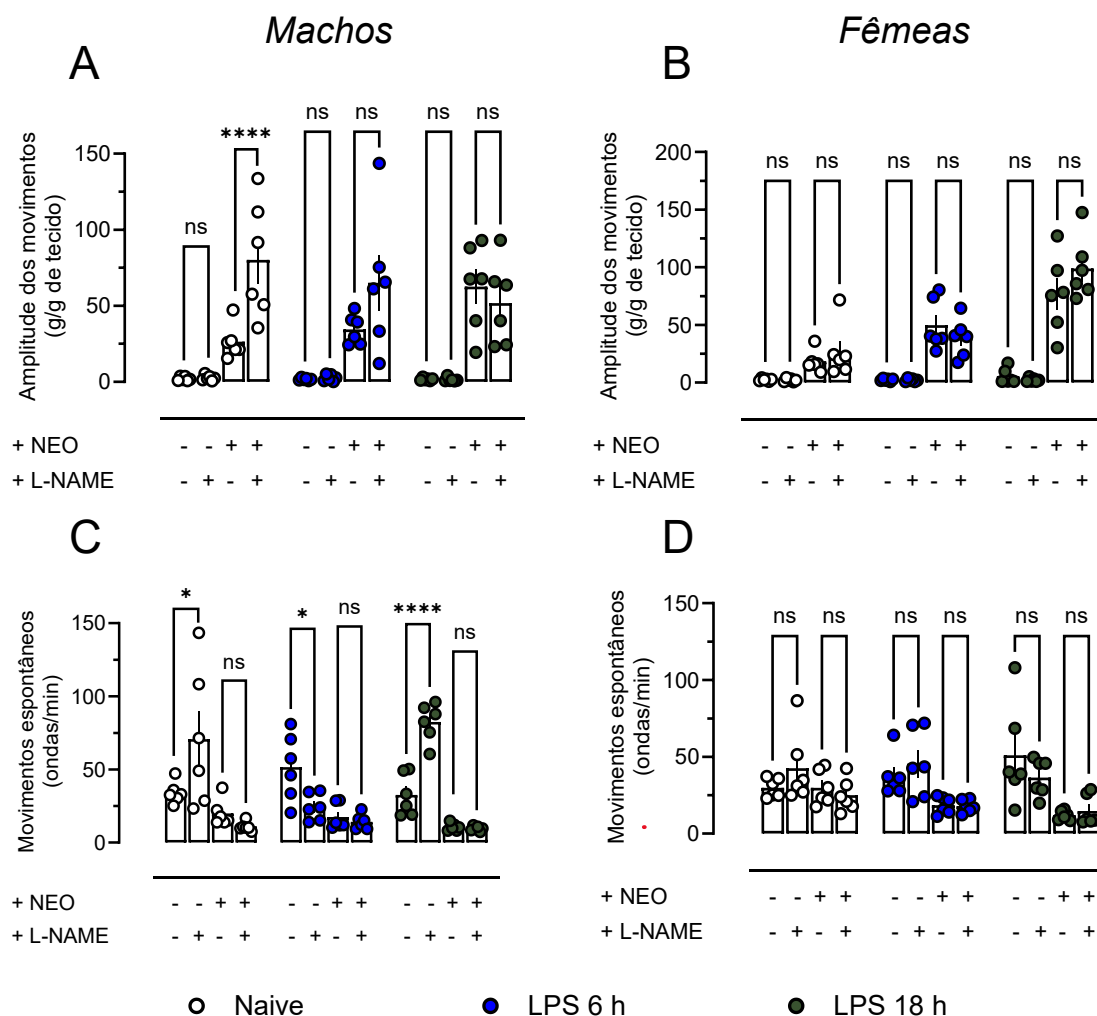


Figura 26. Efeito do L-NAME sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Comparação entre a amplitude (A e B) e frequência (C e D) dos movimentos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas sem adição de drogas, ou estimulados com neostigmina (1 μ M), com ou sem a adição de L-NAME (100 μ M). Os dados são apresentados, como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). ** e **** indicam * $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

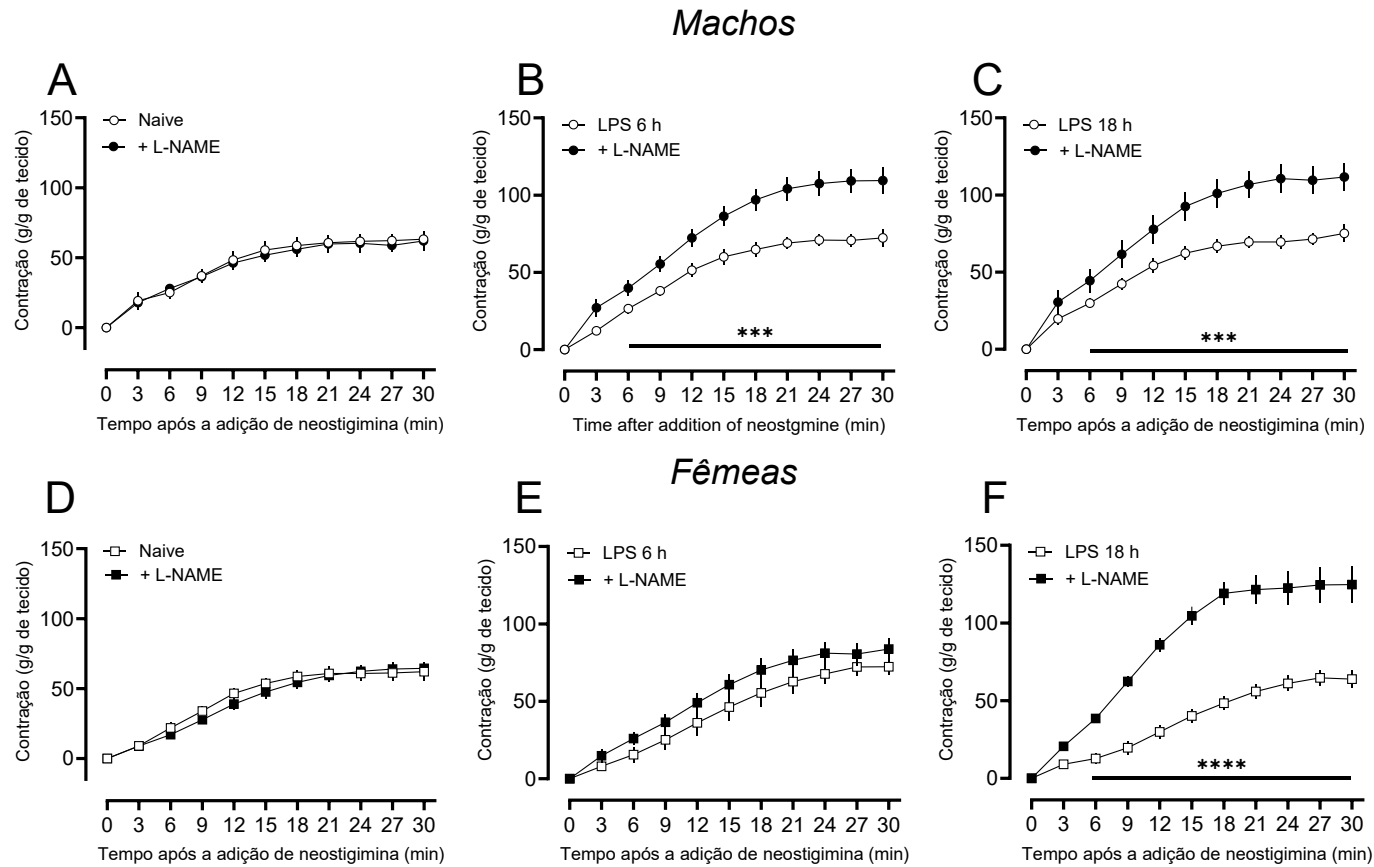


Figura 27. Efeito do L-NAME sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Tiras de bexiga de animais dos grupos controle (sem estímulo inflamatório; A e D), LPS 6 h (B e E) e LPS 18 h (C e F) foram expostos à neostigmina (1 μ M) na ausência ou após incubação com L-NAME (100 μ M). A contração induzida pela neostigmina foi registrada continuamente durante 30 min. Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). *** indica $p < 0,001$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

4.14 Efeito de espécies reativas ao oxigênio sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS

Como previamente descrito (Figura 18), e reexibido nas Figuras 28, a apocinina não modificou a amplitude dos movimentos espontâneos quando adicionada isoladamente em preparações de bexiga urinária de camundongos machos, contudo aumentou a amplitude em fêmeas. Tiras de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas que receberam NEO tiveram a amplitude de seus movimentos aumentada após a adição de apocinina (Figura 18A). Em relação a frequência desses movimentos, percebemos que na presença da apocinina houve uma diminuição significativa dos movimentos em preparações de camundongos machos e um aumento significativo em preparações oriundas de fêmeas. E não constatamos nenhuma alteração em relação a frequência dos movimentos. Por outro lado, Preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas LPS apresentaram aumento da amplitude de movimentos após a estimulação com NEO, conforme demonstrado na Figura 28A. A adição de apocinina, potencializou o efeito da NEO sobre a amplitude dos movimentos espontâneos em preparações obtidas de animais machos LPS 6 h. De maneira antagônica, a apocinina isoladamente, reduziu a frequência em preparações de camundongos machos do grupo LPS 6 h, enquanto potencializou os movimentos espontâneos em camundongos machos LPS 18 h (Figura 28C). Contudo, nenhum efeito foi observado em preparações de bexiga urinária oriundas de fêmeas LPS 6 h, mas notamos uma diminuição significativa da frequência em fêmeas LPS 18 h após adição de apocinina (Figuras 28D). A incubação prévia com apocinina reduziu o aumento do tônus evocado pela incubação de NEO em tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas dos grupos controle (Figuras 29A e D), e não alterou em machos LPS 6 h (Figura 29E). Por sua vez, a apocinina potencializou o tônus induzido pela NEO em preparações de camundongos machos 18 h (Figuras 29B e C) e fêmeas LPS 6 e 18 h (Figura 29F).

Como previamente descrito (Figura 19), e reexibido nas Figuras 30, A adição de tempol não modificou a amplitude dos movimentos espontâneos quando adicionada isoladamente em preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas. Além disso, as preparações de bexiga urinária de camundongos fêmeas que receberam NEO tiveram a amplitude de seus movimentos aumentada após a adição de tempol, mesmo não foi observado em machos. O tempol, não alterou a frequência dos movimentos em preparações

oriundas de machos ou fêmeas. Em animais LPS, preparações de bexiga dos machos e fêmeas apresentaram aumento da amplitude de movimentos após a estimulação com NEO, conforme demonstrado na Figura 30A. A adição de tempol, não alterou a amplitude dos movimentos espontâneos nas tiras de bexiga obtidas de animais LPS na presença ou ausência de NEO. De maneira oposta, o tempol isoladamente, não alterou a frequência em tiras de bexiga oriundas de camundongos machos, enquanto reduziu os movimentos espontâneos em preparações obtidas de camundongos fêmeas LPS 18 h (Figura 30D). A incubação prévia com tempol não modificou evocado pela incubação de NEO em tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas dos grupos controle (Figuras 31A e D), e não alterou em fêmeas LPS 6 h (Figura 31E). Por sua vez, o tempol potencializou o tônus induzido pela NEO em preparações de camundongos machos LPS 6 e 18 h (Figuras 31B e C) e fêmeas 18 h (Figura 31F).

4.15 Efeito da indometacina sobre a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos a inflamação sistêmica induzida por LPS

Como demonstrado na Figura 20, e reinserido nas Figuras 32A-D, a incubação prévia de indometacina em preparações de bexiga urinária de animais controle estimuladas pela NEO aumentou significativamente a amplitude dos movimentos apenas do grupo fêmeas. A inflamação sistêmica aumentou a amplitude dos movimentos espontâneos em tiras de bexiga urinária de camundongos tratados com LPS em 6 e 18 h quando estimuladas com NEO, efeito que foi potencializado pela indometacina em preparações de camundongos machos LPS 6 h (Figura 32A) mas não de fêmeas LPS 6 h (Figura 32B). Por outro lado, a presença de indometacina não alterou o efeito da NEO em preparações do grupo macho LPS 18 h (Figura 32A), mas reduziu esse efeito no grupo fêmeas LPS 18 h (Figura 32B). Ao analisarmos a frequência dos movimentos, notamos que a indometacina isoladamente aumentou a frequência apenas em tiras de bexiga obtidas camundongos machos e fêmeas LPS 18 h (Figura 32C-D). Ainda nessa perspectiva, o desenvolvimento da resposta contrátil induzida pela NEO foi potencializada na presença de indometacina em preparações de machos do grupo controle (Figura 33A e D) e nos grupos LPS 6 h e LPS 18 h, independentemente do sexo (Figuras 33B-C, E-F).

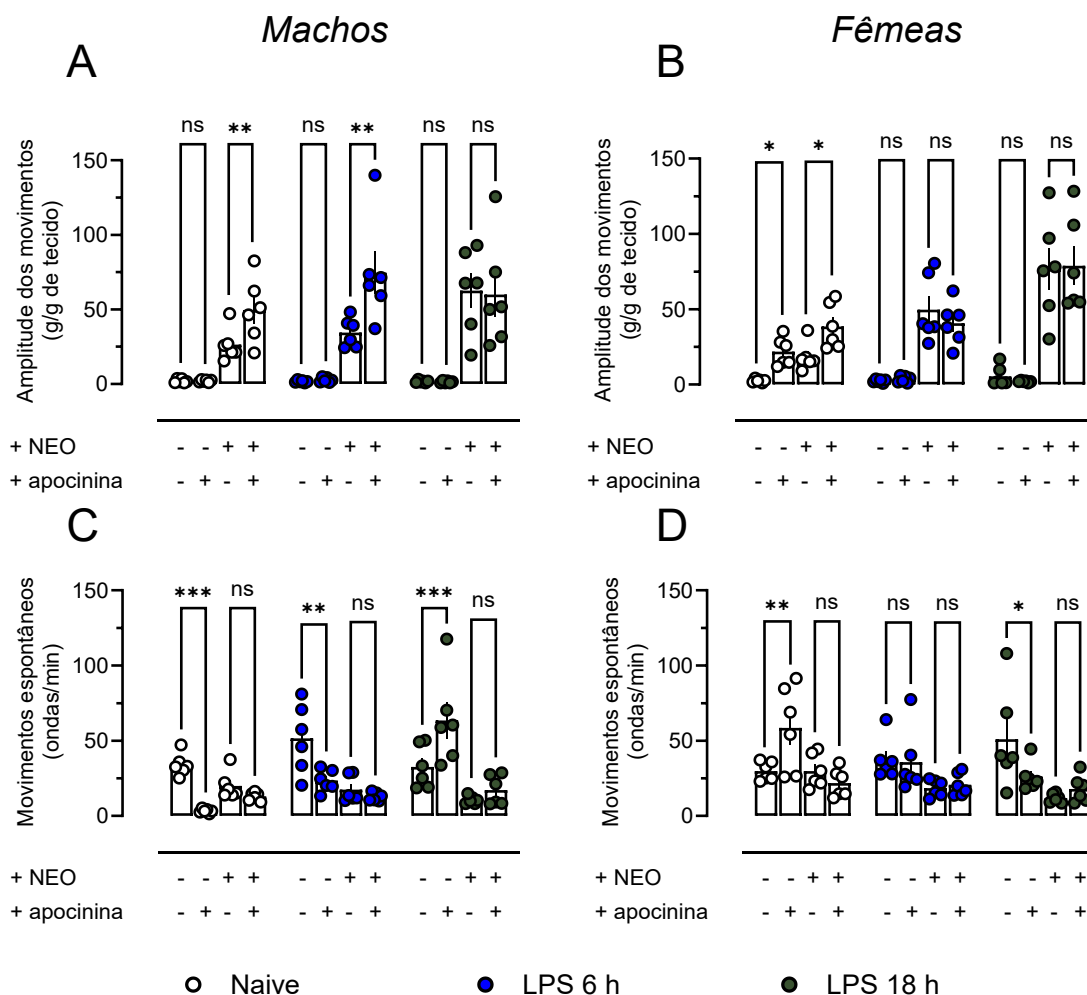


Figura 28. Efeito da apocinina sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Comparação entre a amplitude (A e B) e frequência (C e D) dos movimentos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas sem adição de drogas, ou estimulados com neostigmina (1 μ M), com ou sem a adição de apocinina (100 μ M). Os dados são apresentados, como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). *, ** e *** indicam * p < 0,05, ** p < 0,01; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

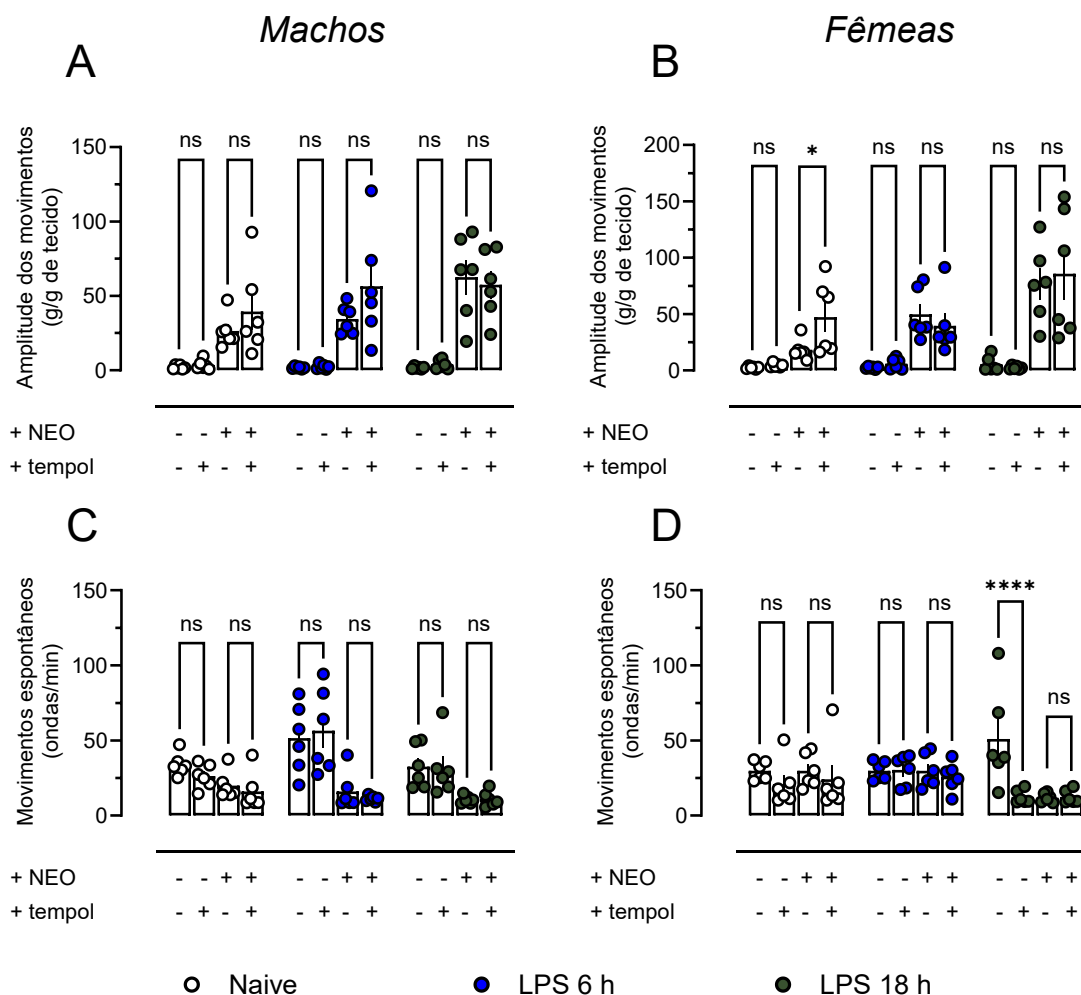


Figura 29. Efeito do tempol sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Comparação entre a amplitude (A e B) e frequência (C e D) dos movimentos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas sem adição de drogas, ou estimulados com neostigmina (1 μ M), com ou sem a adição de tempol (300 μ M). Os dados são apresentados, como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). *** indica $p < 0,0001$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

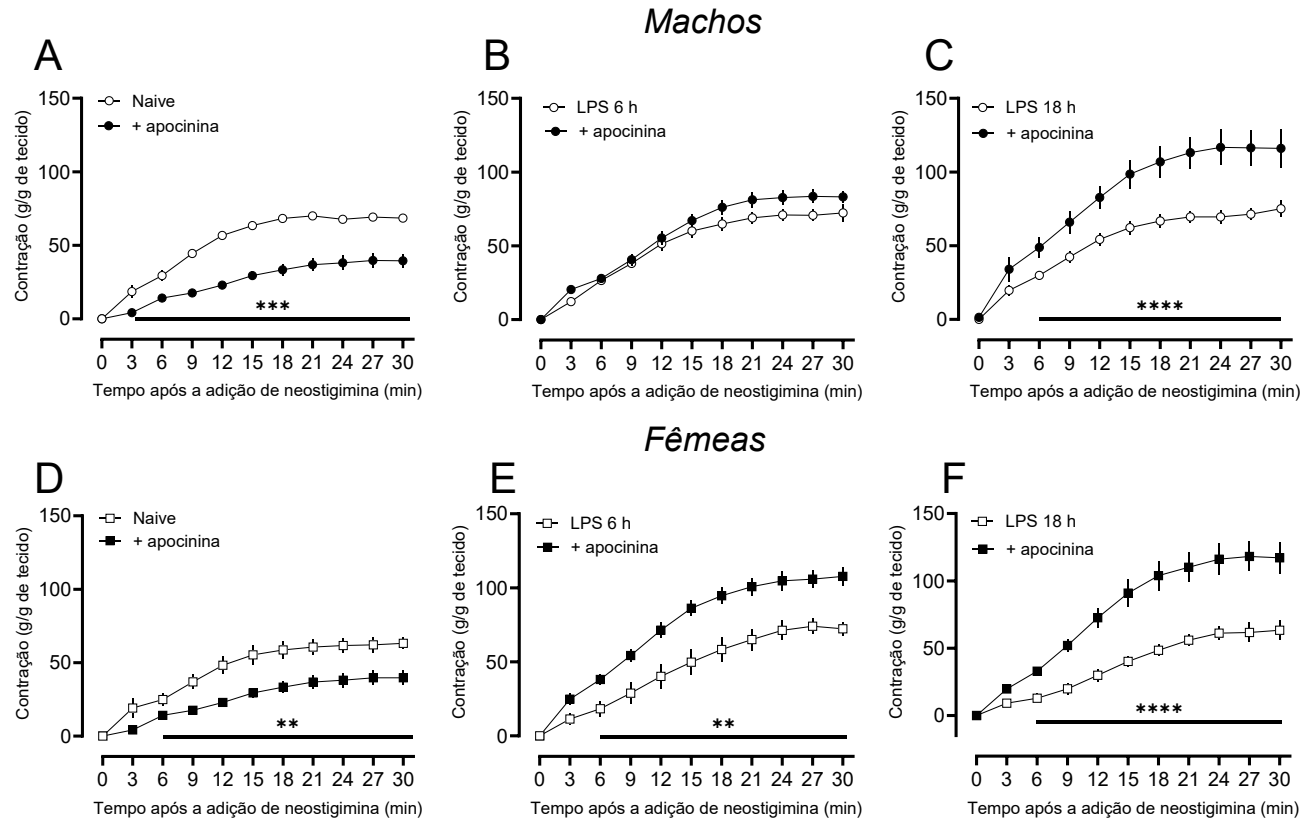


Figura 30. Efeito do apocinina sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Tiras de bexiga de animais dos grupos controle (sem estímulo inflamatório; A e D), LPS 6 h (B e E) e LPS 18 h (C e F) foram expostas à neostigmina (1 μ M) na ausência ou após incubação com apocinina (100 μ M). A contração induzida pela neostigmina foi registrada continuamente durante 30 min. Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). **, *** e **** indicam $p < 0,01$, $p < 0,001$ e $p < 0,0001$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

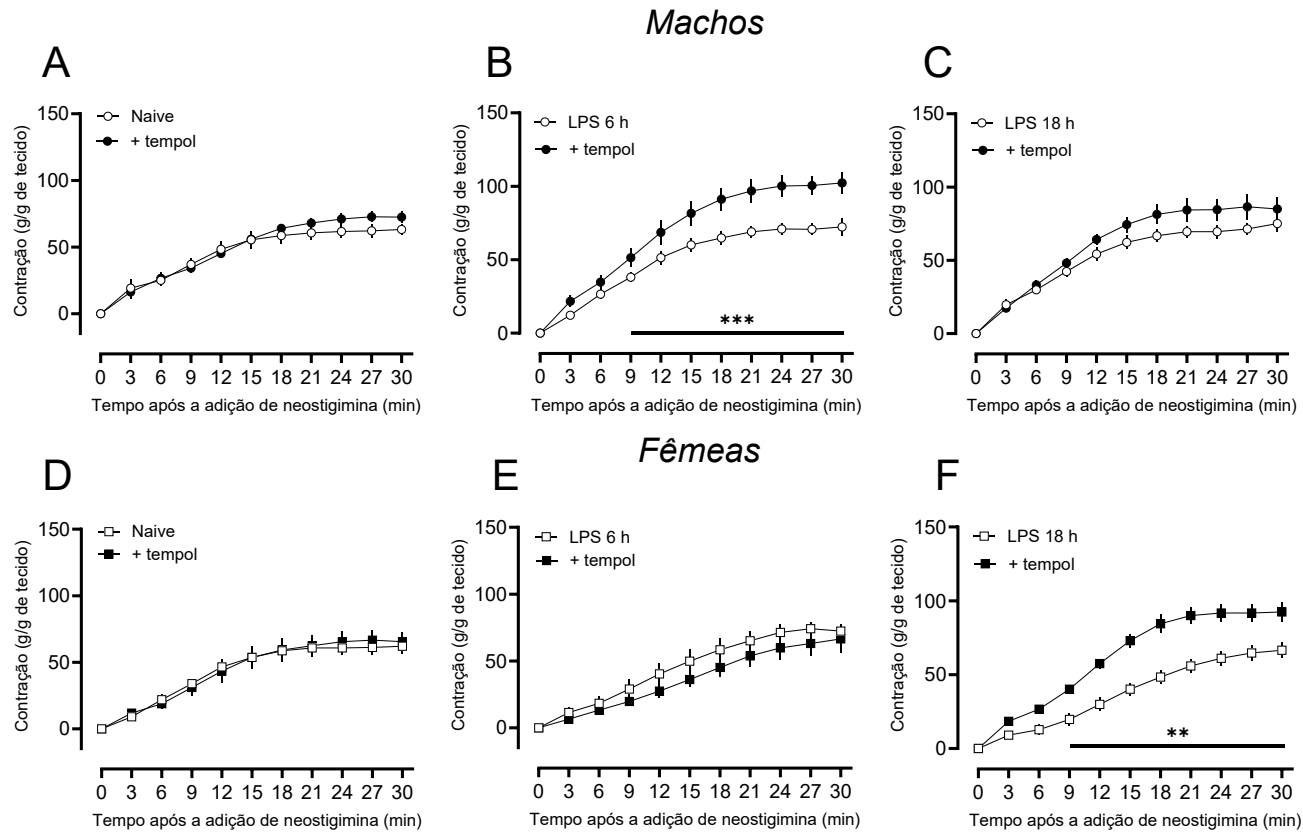


Figura 31. Efeito do tempol sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Tiras de bexiga de animais dos grupos controle (sem estímulo inflamatório; A e D), LPS 6 h (B e E) e LPS 18 h (C e F) foram expostos à neostigmina (1 μ M) na ausência ou após incubação com tempol (300 μ M). A contração induzida pela neostigmina foi registrada continuamente durante 30 min. Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). ** e *** indicam $p < 0,01$ e $p < 0,001$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

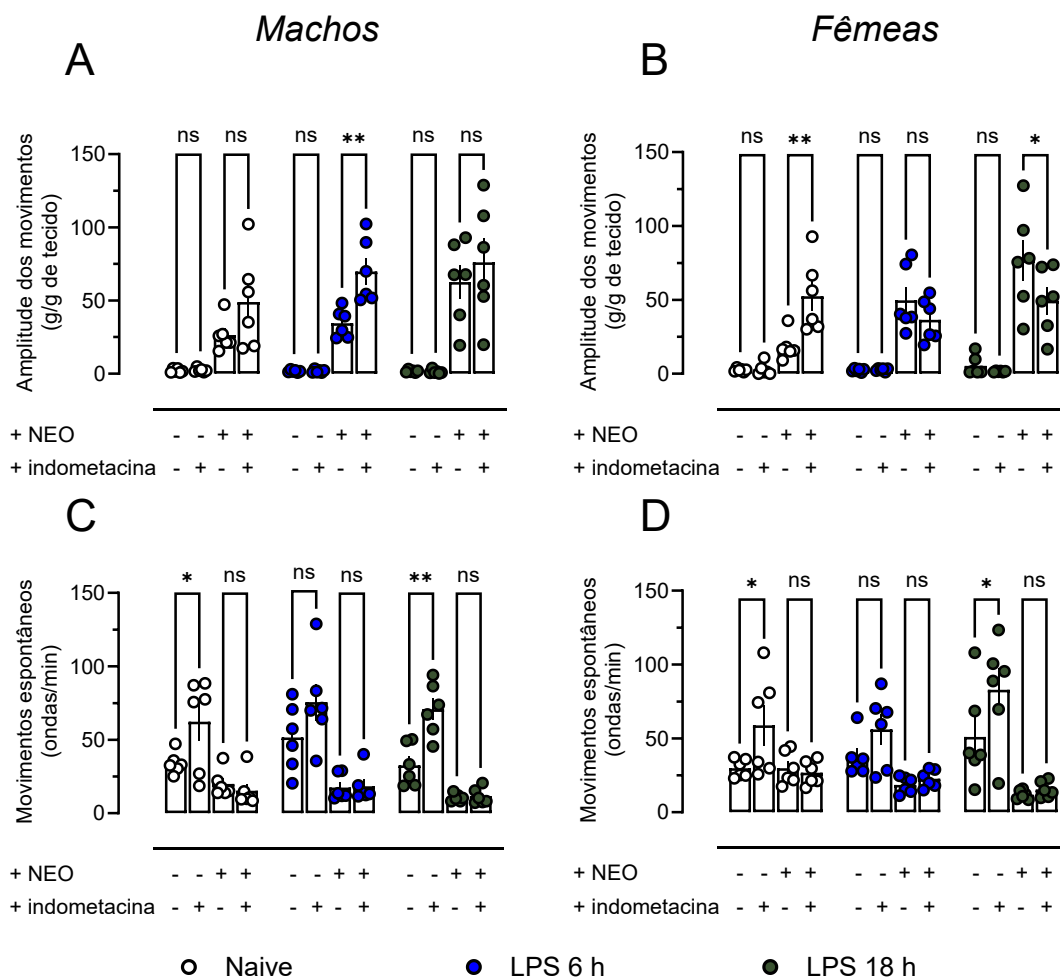


Figura 32. Efeito da indometacina sobre os movimentos de tiras de bexiga de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Comparação entre a amplitude (A e B) e frequência (C e D) dos movimentos de preparações de bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas sem adição de drogas, ou estimulados com neostigmina (1 μ M), na ausência e presença de indometacina (10 μ M). Os dados são apresentados como pontos individuais e a média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). * e ** indicam $p < 0.05$ e $p < 0.001$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

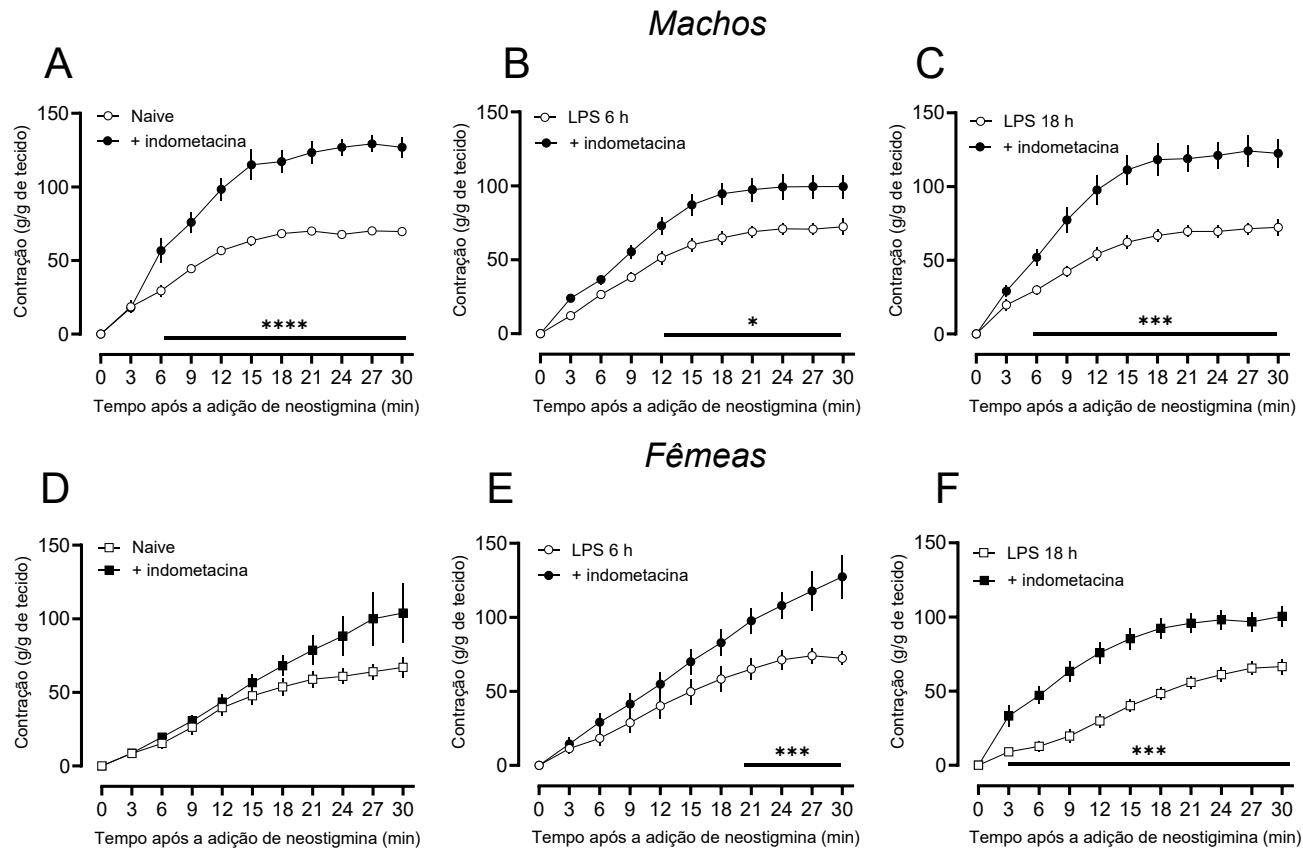


Figura 33. Efeito da indometacina sobre a resposta contrátil evocada pela neostigmina na bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas submetidos à inflamação sistêmica induzida por LPS. Tiras de bexiga de animais dos grupos controle (sem estímulo inflamatório; A e D), LPS 6 h (B e E) e LPS 18 h (C e F) foram expostos à neostigmina (1 μ M) na ausência ou após incubação com indometacina (10 μ M). A contração induzida pela neostigmina foi registrada continuamente durante 30 min. Os dados são apresentados como média $\pm$ o erro padrão da média de 6 preparações de animais diferentes por grupo (machos e fêmeas). *, *** e **** indicam $p < 0.05$, $p < 0.01$ e $p < 0.001$ e $p < 0.0001$; ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Tukey.

5. DISCUSSÃO

As doenças que acometem a bexiga urinária causam impactos significativos na qualidade de vida das pessoas, com repercussões biopsicossociais importantes, como ansiedade, depressão e perda da capacidade de controle miccional (Moraes; Marino, Santos, 2010). As alterações na fisiologia da bexiga urinária e o desenvolvimento de comorbidades estão relacionadas a mudanças na liberação de mediadores pelo urotélio e/ou pelos nervos simpáticos e parassimpáticos, descompensando a dinâmica de controle deste órgão (Merrill *et al.*, 2016). Essa regulação endógena da bexiga urinária, além de ser modulada durante processos patológicos, também é influenciada pelo dimorfismo sexual. Em humanos, sabe-se que mulheres são maioria nos principais quadros clínicos relacionados ao mal funcionamento da bexiga, como incontinência urinária (Silva *et al.*, 2005), cistite intersticial (Almeida *et al.*, 2023) e bexiga hiperativa (Bontempo *et al.*, 2017), sustentando a ideia de que o sexo também é um fator importante na função da bexiga urinária. Adicionalmente, estudos têm demonstrado que as respostas inflamatórias também variam de acordo com o sexo, tanto em intensidade quanto em relação aos mediadores envolvidos, o que pode influenciar diretamente a fisiopatologia das disfunções urinárias (Deltourbe, 2024). Assim, a consideração da inflamação sistêmica como variável experimental é essencial para compreender como processos patológicos afetam diferencialmente a bexiga em homens e mulheres. Deste modo, buscamos através deste estudo avaliar em camundongos a influência do sexo e da inflamação sistêmica induzida por LPS em camundongos sobre a reatividade da bexiga urinária. Para essa abordagem buscamos inicialmente determinar as condições necessárias para a funcionalidade e reprodutibilidade da bexiga urinária em banho de órgão isolado. O controle das condições às quais uma preparação é mantida em banho de órgãos é extremamente importante para a reprodutibilidade de processos fisiológicos *in vitro*. Inicialmente, exploramos o perfil de reatividade de tiras de bexiga urinária sob diferentes tensões basais. Para montagem das tiras no banho de órgãos seguimos as condições comumente utilizadas *in vitro*, como o uso de LN a 37 °C, sob oxigenação fornecida por borbulhamento com mistura carbogênica. Tiras de bexiga urinária foram submetidas a tensões basais de 0,25, 0,5; 0,75; 1 e 1,25 g e estimuladas com KCl ou CCh. Através dessa abordagem, visualizamos que as contrações aumentavam à medida que a tensão basal

aumentava, atingindo seu efeito máximo sob 1 g de tensão (Figuras 10-11). Esses achados, foram ao encontro do estudo desenvolvido por Birder *et al.*, 2002. Em virtude dessas evidências, definimos a tensão basal de 1 g para os experimentos subsequentes.

Após determinarmos a tensão basal a ser usada em nossos experimentos, avaliamos a reatividade da bexiga urinária ao KCl. Os resultados indicaram que as preparações se mantiveram funcionais após o processo de montagem, sem diferenças significativas entre os sexos. Essa constatação ofereceu uma margem de segurança confiável para a interpretação dos dados deste estudo, além de demonstrar que as contrações induzidas por KCl não são afetadas pelo dimorfismo sexual. Entretanto, como os mecanismos envolvidos na contração mediada pelo KCl diferem daqueles relacionados à ativação de receptores muscarínicos, buscamos então avaliar a resposta da bexiga urinária frente a distintos agonistas muscarínicos. Deste modo, com a finalidade de determinar a estabilidade e reprodutibilidade dos resultados decidimos expor as preparações de bexiga urinária a concentrações crescentes de CCh, realizadas três vezes seguidas e em intervalos de 1 hora entre cada exposição. Esse experimento (Figura 12) se baseou em estudos anteriores de dessensibilização dos receptores muscarínicos devido à exposição repetida, como já demonstrado em preparações de intestino (Ehlert *et al.*, 2003). O processo de dessensibilização pode ocorrer quando há um aumento na disponibilidade de agonistas, levando a uma estimulação excessiva das células musculares. A dessensibilização é ativada por meio da estimulação persistente de receptores acoplados à proteína G. Esse processo envolve vias paralelas que promovem a internalização dos receptores, frequentemente mediada por proteínas como as β -arrestinas e quinases de receptores acoplados à proteína G (GRKs). Essas proteínas ajudam a prevenir a superestimulação celular, diminuindo a interação entre o agonista e o receptor, o que, por sua vez, reduz a resposta celular mesmo na presença contínua de um agonista (Golan; Schreiber; Avissar *et al.*, 2009). Nossos resultados não apontaram para um processo de dessensibilização. Deste modo, descartamos a possibilidade de qualquer interferência relacionada à perda de resposta em nossos experimentos.

Uma vez que determinamos parâmetros usuais para os nossos experimentos, buscamos avaliar a reatividade da bexiga urinária para diferentes agonistas. Nossos resultados revelaram diferenças na resposta contrátil após a adição de uma única concentração de CCh (10 μ M) entre preparações de bexiga urinária de camundongos machos

e fêmeas. Como mostrado na Figura 13, o efeito máximo causado pelo CCh não apresentou alterações significativas. No entanto, ao avaliarmos a curva de contratilidade verificamos que houve uma variação notável, o que foi corroborado pela análise da área sob a curva de contratilidade, sugerindo que as preparações provenientes das fêmeas são mais reativas ao CCh. Essas evidências podem estar relacionadas, entre outros fatores, a diferenças na expressão de receptores muscarínicos como os M3 e M2. Sabe-se que em outras preparações de músculo liso os receptores M3 estão relacionados às contrações fásicas e os M2 à manutenção da contração (Lentle *et al.*, 2013). Dessa forma, a perda rápida do tônus observado nos machos poderia decorrer de uma menor expressão de receptores M2 em relação às fêmeas. Além disso, essas diferenças podem ainda ser dependentes do recrutamento e ativação de segundos mensageiros envolvidos no mecanismo contrátil dos receptores muscarínicos, como IP3 e diacilglicerol (DAG). Outro fator pode ser a ativação de vias alternativas que favorecem a manutenção da contratilidade, como a via da Rho quinase (ROCK) (revisado por Kuo; Ehrlich *et al.*, 2015).

Ainda na perspectiva de estudar a reatividade da bexiga urinária de camundongos machos e fêmeas induzimos curvas de concentração-resposta cumulativa utilizando ACh e CCh. Observamos que a bexiga urinária foi reativa tanto ao CCh quanto à ACh, embora os efeitos da ACh tenham sido significativamente menores em comparação aos do CCh. Essa diferença está relacionada à degradação da acetilcolina pelas enzimas colinesterases (Massoulié *et al.*, 1993), o que foi comprovado quando induzimos curvas concentração-resposta na presença de neostigmina (inibidor reversível da acetilcolinesterase). A neostigmina aumentou a resposta contrátil à ACh, elevando-a ao mesmo nível alcançado pelo CCh. Ao compararmos as respostas obtidas entre machos e fêmeas, percebemos que as respostas deflagradas pelo carbacol foram semelhantes, assim como as respostas induzidas pela acetilcolina. Entretanto, ao analisarmos as contrações induzida pela ACh na presença de neostigmina, percebemos que as preparações de fêmeas apresentaram um efeito máximo superior aos das preparações de machos, sugerindo que essa diferença poderia estar relacionada à degradação de ACh pela enzima acetilcolinesterase (AChE) (Figura 14). De maneira semelhante, Moura *et al.*, 2022 observou um aumento significativo do efeito máximo da ACh no cólon de camundongos fêmeas em relação ao de machos, reforçando a nossa hipótese de que há diferenças na expressão de AChE ou na atividade e de que elas também

são importantes para resposta à ACh na bexiga urinária. Além disso, também não observamos qualquer diferença na resposta ao CCh entre machos e fêmeas. O CCh é um agonista muscarínico resistente à ação da AChE (Sung *et al.*, 1998).

Curiosamente, durante os experimentos em que exploramos o efeito da acetilcolina, observamos que as preparações tratadas com NEO apresentaram um aumento significativo no tônus basal (Figura 14). É conhecido que em órgãos viscerais, como o intestino, há uma intensa atividade neuronal mesmo em condições de repouso, as quais levam à liberação espontânea de diversos mediadores, entre eles a acetilcolina (Furness, 2006). Na bexiga urinária os neurônios não funcionam apenas como uma rede de transmissão de informação entre a bexiga urinária e o cérebro, mas também como uma rede de neurônios que modulam e coordenam atividades do órgão de forma independente, semelhante ao sistema nervoso entérico (Gillespie *et al.*, 2006). As primeiras evidências desse fenômeno foram observadas em 1984 por Maggi e colaboradores, com adição de fisostigmina, inibidor da acetilcolinesterase, o qual provocou contrações em preparações de bexiga urinária de ratos, aparentemente pela liberação espontânea de acetilcolina, de forma análoga aos resultados encontrados em nosso estudo.

Dentre os mecanismos envolvidos na capacidade de autorregulação da bexiga urinária, sugere-se que as células uroteliais, ao serem ativadas pelo aumento da pressão intravesical ou pelo estiramento da parede da bexiga urinária, poderiam estimular receptores do tipo TRPV. A ativação desses receptores permite o influxo de íons como sódio e cálcio para o interior das células uroteliais, sendo a liberação de ATP favorecida pelo aumento da concentração de cálcio. Nesse cenário, o ATP liberado e seus subprodutos poderiam se difundir até os neurônios, estimulando-os, e assim causam a liberação de mediadores como a acetilcolina (Takezawa *et al.*, 2017). Outra hipótese é que a atividade intrínseca das células intersticiais da bexiga urinária, devido ao seu alto potencial de despolarização, poderia estimular neurônios colinérgicos a liberação de acetilcolina (Stenqvist *et al.*, 2020).

Para confirmar a hipótese de que as contrações observadas após a adição de NEO eram resultantes da liberação espontânea de acetilcolina, incubamos atropina, um antagonista muscarínico não seletivo, as tiras de bexiga urinária, antes de estimulá-las com NEO. Como previsto, não observamos aumento do tônus na presença de atropina, o que confirmou a hipótese inicial e alinhou-se com outras evidências previamente disponíveis na literatura

(Daly *et al.*, 2019). Além disso, observamos que o tônus da bexiga urinária, quando exposto à atropina, era reduzido para níveis inferiores aos basais (Figura 15). Além disso, tem-se observado que a atropina pode apresentar características semelhantes às de agonistas inversos (Kenakin *et al.*, 1987). Assim, é possível que a atropina tenha bloqueado a atividade basal de receptores muscarínicos reduzindo sua atividade fisiológica.

A análise detalhada desses experimentos revelou também um padrão de contrações espontâneas na bexiga urinária durante o repouso, ou seja, na ausência de estímulos exógenos, a qual foi exacerbada pela NEO (Figura 15). Acredita-se que essas contrações são causadas pela liberação contínua de neurotransmissores pelos neurônios colinérgicos ou pela atividade intrínseca do músculo do detrusor (Ikeda Y, Kanai *et al.*, 2008). Além disso, estudos mostram que a despolarização resultante de impulsos elétricos dispersos pelas células intersticiais também desempenha um papel importante na produção dessas contrações (Hanna-Mitchell *et al.*, 2007). Ao avaliarmos a gênese desses movimentos através do uso de atropina, fomos surpreendidos com a evidência de que a frequência desses movimentos era resistente à ação desse antagonista, enquanto a amplitude era reduzida significativamente, principalmente em preparações estimuladas com NEO (Figura 15), sugerindo uma possível participação de outro(s) mediador(es) na frequência desses movimentos.

Com finalidade de avaliar o papel de outros possíveis mediadores na reatividade da bexiga urinária, decidimos estudar os efeitos do óxido nítrico, das espécies reativas ao oxigênio (EROS), dos prostanóides derivados da COX e da noradrenalina oriunda dos terminais sinápticos sobre a contratilidade vesical. É sabido que em preparações de músculo liso estimuladas com agentes contractantes ocorre, simultaneamente, a liberação de óxido nítrico, mediador que tem ação inibitória, conforme já descrito em artérias (Tschudi *et al.*, 1996) e no intestino (Martin *et al.*, 2001). Por sua vez, as EROS podem exercer diferentes papéis em relação à contratilidade. Por exemplo, o ânion superóxido produz aumento das contrações e o peróxido de hidrogênio leva à diminuição da resposta contrátil. Já os prostanóides derivados da COX também podem exercer tanto efeitos relaxantes (Mitchell; Kirkby, 2019) como deflagrar respostas contráteis (Root; Davey; Forselles, 2015). A noradrenalina pode atuar como um modulador negativo das contrações induzidas pela acetilcolina em tiras de bexiga urinária, contribuindo para a redução da atividade contrátil do

músculo detrusor e, conseqüentemente, facilitando a fase de enchimento vesical (Hennenberg & Michel, 2023).

A adição de guanetidina (depletora de noradrenalina das vesículas noradrenérgicas) nas preparações de bexiga urinária promoveu alterações significativas na contratilidade da bexiga urinária, evidenciando a participação do sistema nervoso simpático na modulação colinérgica. Em preparações de ambos os sexos, observou-se uma redução do tônus basal induzido pela NEO, demonstrando que a noradrenalina endógena exerce um efeito inibitório sobre o tônus colinérgico. Notavelmente, em ambos os sexos, a guanetidina aumentou a amplitude dos movimentos espontâneos, mas, de forma oposta, reduziu a frequência desses movimentos em tecidos de fêmeas do grupo LPS 18 h após estimulação com NEO. Esse comportamento aparentemente paradoxal reforça a ideia de que o bloqueio do componente simpático pode ter efeitos distintos dependendo do estado funcional da bexiga, em repouso ou sob intensa atividade colinérgica. Assim, compreender a dinâmica entre os sistemas adrenérgico e colinérgico se mostra essencial para determinar com precisão a participação do sistema noradrenérgico sobre função da bexiga urinária.

Ao investigarmos a ação do óxido nítrico sobre os efeitos decorrentes da liberação de acetilcolina, partimos da proposição de que, assim como em outros tecidos, o óxido nítrico exerceria efeitos inibitórios. Entretanto, em preparações pré-incubadas com L-NAME (inibidor das óxido nítrico sintases) e, posteriormente, estimuladas com NEO não houve qualquer alteração da reatividade em relação aos controles. Heppner *et al.*, (2024), também demonstraram que ao contrair preparações de bexiga urinária na presença de L-NAME não havia alteração no efeito do agente contrátil utilizado, corroborando com resultados obtidos através de nossos experimentos (Figura 17). A inibição da NOS pelo L-NAME aumentou a amplitude e frequência dos movimentos espontâneos da bexiga em camundongos machos, mas não em fêmeas, evidenciando um efeito dependente do sexo. Essa discrepância pode estar relacionada, ao menos em parte, à influência dos hormônios sexuais, especialmente os estrogênios. Estudos prévios indicam que os estrogênios são capazes de manter a via do óxido nítrico funcionalmente ativa de maneira contínua nas fêmeas, o que, ao longo do tempo, pode levar à dessensibilização ou à adaptação da via em relação aos estímulos adicionais promovidos pela inibição enzimática com L-NAME. Em contrapartida, nos machos, a menor

exposição basal ao estrogênio poderia tornar a via mais responsiva à modulação farmacológica, resultando nos efeitos observados (Cai *et al.*, 2016).

Nessa mesma perspectiva, a incubação prévia de tempol, um análogo da SOD, também não foi capaz de causar alteração significativa no efeito mediado pela NEO, sugerindo que as espécies reativas ao oxigênio produzidas no meio intravesical não são sensíveis à ação desse agente. Contudo, a pré-incubação de apocinina, que é um inibidor seletivo das NADPH oxidase, resultou na diminuição do tônus mediado pela NEO, o que pode ser interpretado como um indício de que a estimulação das NADPH oxidases aumenta a produção de ânion superóxido, o que poderia atuar em sinergia com a acetilcolina para promover a contração das tiras de bexiga, ou junto ao óxido nítrico gerando peroxinitrito, interferindo substancialmente na biodisponibilidade de NO (Pryor; Squadrito, 1995) (Figura 17). Observamos também um efeito dimórfico sobre a frequência das contrações espontâneas induzido pela apocinina (Figura 18), sugerindo que as EROs podem desempenhar papéis distintos de acordo com o sexo. Embora a participação exata desses mecanismos não possa ser estabelecida, os dados sugerem que, sob determinadas condições, as EROs podem exercer ações funcionalmente opostas entre os sexos, assumindo diferentes papéis fisiológicos na modulação do tônus e da atividade espontânea da bexiga urinária. Na presença de tempol (Figura 19), a amplitude dos movimentos espontâneos foi significativamente aumentada em preparações de camundongos fêmeas, em contraste com as de preparações oriundas de machos. Esse achado reforça a hipótese de um efeito dependente do sexo e destaca a complexidade da atuação das espécies reativas ao oxigênio na regulação da contratilidade vesical.

Além do NO e das espécies reativas de oxigênio, a participação de metabólitos do ácido araquidônico também foi explorada em nosso estudo, tendo em vista que os prostanóides, como as prostaglandinas, o tromboxano e a prostaciclina (PGI₂) são fatores produzidos na bexiga urinária e podem produzir tanto efeitos contráteis como relaxantes (Rahnama'i *et al.*, 2012). Assim, com a finalidade de avaliar a influência dos prostanóides, por meio da inibição das ciclooxygenases, sobre as contrações induzidas por NEO, decidimos incubar indometacina nas preparações de bexiga urinária. Através desse desenho experimental, mostramos de maneira inédita um aumento significativo do tônus e da amplitude dos movimentos induzidos pela NEO nas preparações de bexiga urinária de

machos, sugerindo que muito provavelmente os prostanoídes exercem uma regulação negativa sobre o tônus da bexiga urinária e que esses efeitos também são dependentes do sexo (Figura 20). Essa discrepância de respostas entre os sexos pode ser atribuída a diferenças na ativação das isoformas da COX, como já foi observado em estudos com ratos, cães machos e fêmeas (Kargman *et al.*, 1996).

Embora não existam evidências conclusivas que identifiquem um único fator inibitório predominante na bexiga urinária, nossos dados sugerem que os prostanoídes derivados do ácido araquidônico podem desempenhar um papel relevante na regulação da contratilidade vesical. A literatura frequentemente atribui este efeito modulador à via do óxido nítrico sintase, porém, nossos experimentos, em concordância com os achados de Fovaeus *et al.* (1999), não corroboram esta hipótese. Outras vias de modulação inibitória têm sido investigadas, incluindo a estimulação noradrenérgica mediada por receptores β -adrenérgicos e a ação do ATP e seus metabólitos sobre receptores purinérgicos do tipo P2Y e P2. No entanto, evidências experimentais desalinham-se a essas possibilidades. Por exemplo, Masunaga *et al.* (2010) mostraram que o bloqueio β -adrenérgico com propranolol não afetou contrações induzidas por CCh, enquanto Tong *et al.* (1997) demonstraram que a ativação purinérgica não comprometeu a contratilidade do detrusor. Dessa forma, esses resultados indicam que nenhum desses sistemas é o principal regulador inibitório da atividade vesical. Nesse contexto, a observação de que a inibição das cicloxigenases aumenta o tônus induzido pela NEO constitui uma evidência consistente de que os prostanoídes podem representar um componente relevante desse mecanismo regulatório.

Na etapa seguinte do nosso estudo direcionamos nosso foco para a investigação da reatividade da bexiga urinária em um contexto de inflamação sistêmica, em consonância com os objetivos propostos. É amplamente reconhecido que as infecções da bexiga urinária representam uma das infecções bacterianas mais comuns em todo o mundo, afetando aproximadamente 150 milhões de pessoas por ano (Stamm *et al.*, 2001). Esse tipo de infecção representa um desafio significativo para a saúde, com destaque para crianças, idosos e mulheres em todas as faixas etárias. As principais complicações incluem pielonefrite com risco de evoluir para sepse, danos renais em crianças, parto prematuro, e hiperatividade secundária à infecção, além de problemas relacionados ao uso de antimicrobianos (Lacerda; Ingersoll *et al.*, 2020).

Essas infecções estão associadas a diversos microrganismos, sendo a *Escherichia coli* o principal agente envolvido (Flores-Mireles *et al.*, 2015; Tamadonfar *et al.*, 2019). Sabe-se que, durante a invasão da bexiga urinária por essa bactéria, ocorre a ativação de diversas respostas intracelulares destinadas a mobilizar o sistema imunológico contra esse patógeno (Hatton; Baumann; Fascione, 2021). Entre essas respostas, destaca-se a liberação de mediadores inflamatórios e a expressão de enzimas como a NOS e a NOx (NADPH oxidase), que contribuem para a criação de um ambiente hostil ao invasor. No entanto, esse microambiente também impacta negativamente as células da bexiga, incluindo os neurônios e o músculo detrusor, o que pode culminar em disfunções orgânicas. Experimentalmente, uma das maneiras de estudar os efeitos da inflamação sobre o sistema biológico é através da indução de inflamação por administração de LPS em animais de laboratório. Este modelo é capaz de mimetizar vários aspectos da inflamação, permitindo a manipulação e o ajuste de acordo com o objetivo a ser estudado, podendo-se aumentar ou diminuir a gravidade da condição. Com base em estudos anteriores realizados em nosso laboratório utilizamos neste trabalho 10 mg/kg de LPS, uma dose adequada para gerar inflamação sistêmica severa em camundongos.

Nesse contexto experimental de inflamação, observamos que as respostas contráteis ao CCh, que eram mais pronunciadas em bexigas de fêmeas do grupo controle, tornaram-se semelhantes entre os sexos, sugerindo que o estado inflamatório interferiu nos mecanismos relacionados à contratilidade vesical (Figura 21). Já a inibição da colinesterase por neostigmina aumentou o tônus vesical em todos os grupos, sem diferenças significativas em relação aos respectivos controles. No entanto, a análise dos movimentos espontâneos revelou um aumento na amplitude dos movimentos em ambos os sexos, indicando uma possível alteração na liberação ou na ação da ACh, induzida pela inflamação (Figura 22, Tabela 2). A partir desses resultados, levantamos a hipótese de que outros mediadores contráteis, além da ACh, poderiam contribuir para a modulação da contratilidade da bexiga urinária em condições inflamatórias, e corroborando com essa ideia verificamos que a frequência dos movimentos não era abolida pela ação da atropina.

Com o objetivo de aprofundar a compreensão dos efeitos da inflamação sistêmica sobre a bexiga urinária e elucidar os mecanismos subjacentes às alterações contráteis observadas, investigamos a participação do sistema noradrenérgico na modulação da

liberação basal de ACh. De forma inesperada, observamos um aumento na amplitude das contrações espontâneas em ambos os sexos no grupo LPS 6 h, acompanhado de uma atenuação do tônus induzido por NEO em todos os grupos experimentais, exceto para as fêmeas LPS 6 h (Figura 24-25). Essa diferença de efeitos pode estar relacionada ao estágio inicial da inflamação, no qual os mecanismos fisiopatológicos ainda não estão totalmente estabelecidos conforme observado na Figura 26E.

Na inflamação aguda ocorre uma série de eventos que culminam na indução de enzimas como a óxido nítrico sintase induzível e isoformas da NADPH oxidase, responsáveis pela geração de mediadores capazes de modular as respostas contráteis à ACh (Sercombe *et al.*, 2004). Por isso, buscamos investigar os efeitos do óxido nítrico e das espécies reativas ao oxigênio. Curiosamente, nas preparações de bexiga urinária dos animais tratados com LPS, a adição de L-NAME causou um aumento significativo do tônus induzido por NEO, em ambos os sexos (Figura 27). Esse efeito sugere que os efeitos inibitórios derivados do NO regulam negativamente a contratilidade do músculo detrusor durante a inflamação. Alinhando-se a esses resultados, dados de Birder *et al.* (2005) demonstram que a mucosa e músculo liso da bexiga urinária de camundongos tratados com LPS apresentam níveis de NO significativamente mais altos em comparação com bexigas de animais saudáveis, o que explicaria os resultados encontrados em nosso estudo. Contudo, o L-NAME apresentou efeitos opostos nas fêmeas tratadas com LPS em diferentes tempos. Em bexigas de camundongos fêmeas do grupo LPS 6 h, reduziu os movimentos espontâneos, sugerindo um papel pró-contrátil do NO neste estágio. Já em fêmeas do grupo LPS 18 h, aumentou a atividade contrátil, indicando uma possível mudança na função do NO ao longo da inflamação, refletindo alterações na expressão ou atividade das isoformas da NO sintase, possivelmente em virtude de outros mediadores produzidos localmente. Esses resultados nos levam a considerar o sexo como uma variável crítica na análise dos efeitos do L-NAME na bexiga urinária de animais inflamados, sendo necessários mais experimentos para elucidar os mecanismos envolvidos.

Sabemos também que em estados inflamatórios ocorre uma intensa produção de espécies reativas ao oxigênio, que podem interagir com o NO e formar radicais com enorme potencial de interferir em respostas contráteis do músculo liso, como o ONOO^- (Bateman *et al.*, 2015). Assim, decidimos explorar a proposição de que a inibição do NO pelo L-NAME

potencializou a ação pró-contrátil das EROs e de outros mediadores. Confirmando essa proposição, ao diminuir a biodisponibilidade de EROS através do uso de tempol e apocinina, nos deparamos com um aumento significativo do tônus induzido pela NEO nos grupos LPS, principalmente nas preparações que receberam apocinina (Figuras 29 e 30). Esses experimentos com tempol e apocinina reforçam ainda mais a importância do dimorfismo sexual na resposta contrátil da bexiga durante a inflamação, evidenciando efeitos antagônicos entre os sexos. A apocinina, administrada isoladamente, promoveu o aumento da amplitude e a redução da frequência dos movimentos espontâneos em preparações de bexiga urinária de camundongos machos do grupo LPS 6 h. Por sua vez, nos machos LPS 18 h, a apocinina potencializou a frequência dos movimentos da bexiga, e nas fêmeas LPS 18 h, a apocinina levou à redução da frequência dos movimentos das preparações (Figura 28). De forma semelhante, o tempol também apresentou efeitos distintos (Figura 29), o que nos leva a considerar que tais diferenças podem estar relacionadas a variações na expressão ou na atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), ou ainda à modulação diferencial de vias de sinalização redox-sensíveis. Adicionalmente, é possível que hormônios sexuais, especialmente os estrogênios, influenciem a sensibilidade da musculatura lisa vesical às EROs.

Outros mediadores que podem estar relacionados ao aumento do tônus observado anteriormente são os prostanóides derivados da COX 1 e 2, que catalisam a formação de prostaglandinas, como a PGE₂ (Khodr e Khalil, 2001). Em alguns contextos, a PGE₂ pode exercer efeitos excitatórios, aumentando a sensibilidade do músculo detrusor a estímulos colinérgicos ou não colinérgicos (Root; Davey; & Forselles, 2015). No entanto nossos achados demonstram o oposto, pois a inibição da COX pela indometacina resultou no aumento significativo do tônus e da amplitude dos movimentos das tiras e bexiga urinária de machos do grupo LPS 6 h, assim como potencializou a frequência em preparações de animais do grupo LPS 18 h. Além disso, ainda reforçou a participação do dimorfismo sexual nas diferenças observadas entre a amplitude e frequência dos movimentos em machos e fêmeas, bem como aquelas verificadas sobre a contração induzida por NEO (Figuras 32 e 33). Nesse sentido, esse conjunto de achados nos levam a considerar a ideia de que durante a inflamação sistêmica ocorre rearranjo funcional entre NO, EROs e os prostanoídes, que suprime a hiperatividade do detrusor. Além disso, também destacamos o tempo como uma variável

fundamental para compreender os efeitos da inflamação sobre a bexiga urinária, uma vez que os mecanismos variam ao longo do processo inflamatório, afetando a reatividade da vesícula urinária.

Em resumo, os resultados obtidos neste estudo demonstram que em condições saudáveis as espécies reativas de oxigênio e os prostanóides exercem um papel modulador negativo sobre a contratilidade vesical, com efeitos que apresentam variações sexuais importantes, como pode ser visualizado no Quadro 2. Durante a inflamação sistêmica, tais substâncias parecem atuar de forma compensatória, atenuando os aumentos exacerbados na atividade colinérgica espontânea e protegendo temporariamente a bexiga urinária contra uma hiper-reatividade funcional. Essa resposta adaptativa, entretanto, pode ser transitória. A queda na produção desses mediadores após a resolução inflamatória pode levar ao surgimento ou à persistência de sintomas urinários, como urgência ou incontinência. Dessa forma, nossos achados não apenas reforçam a relevância dos mediadores inflamatórios na modulação da função vesical, como também abrem caminho para novas abordagens voltadas à compreensão da regulação da atividade colinérgica vesical e do tônus, durante e após processos inflamatórios.

No entanto, é fundamental reconhecermos as limitações inerentes aos nossos experimentos, como o modelo *in vitro* utilizado. Esse modelo oferece um ambiente controlado que permite a investigação detalhada de vias moleculares específicas e a exclusão de variáveis sistêmicas. Entretanto, elementos cruciais como a interação dinâmica entre o sistema nervoso autônomo e somático, a sinalização neuroimune, o fluxo sanguíneo, além do controle central da micção, está ausente nesse contexto. Adicionalmente, a influência de hormônios sexuais, potencialmente relevantes diante das diferenças observadas entre os sexos, bem como a participação de células imunes circulantes e fatores humorais sistêmicos, não são aspectos contemplados em preparações isoladas. Sendo assim, é imprescindível a realização de estudos complementares *in vivo*, que integrem os múltiplos sistemas envolvidos, a fim de validar, aprofundar e contextualizar os mecanismos aqui descritos.

Outro ponto importante a ser destacado é a ausência de análise direta de marcadores inflamatórios neste estudo. Embora tenhamos inferido a participação funcional de espécies reativas de oxigênio (EROs), prostanóides e óxido nítrico, a quantificação desses produtos ou metabólitos associados teria fortalecido a correlação entre alterações metabólicas durante

a inflamação e os efeitos observados na contratilidade vesical. Contudo, mesmo com essas limitações, os dados aqui apresentados avançam significativamente a compreensão da fisiologia da bexiga urinária frente à inflamação sistêmica, destacando a complexidade da modulação colinérgica e a importância dos mediadores oxidativos e inflamatórios nesse processo.

Quadro 2: Resumos dos principais achados deste estudo.

Amplitude dos movimentos												
	Basal			Durante a incubação			Basal			Durante a incubação		
	Machos Naive	Machos LPS 6 h	Machos LPS 18 h	Machos Naive	Machos LPS 6 h	Machos LPS 18 h	Fêmeas Naive	Fêmeas LPS 6 h	Fêmeas LPS 18 h	Fêmeas Naive	Fêmeas LPS 6 h	Fêmeas LPS 18 h
Neostigmina	n.a	n.a.	n.a.	↑	↑	↑	n.a.	n.a.	n.a.	↑	↑	↑
+atropina	—	—	—	■	■	■	—	—	—	■	■	■
+guanetidina	—	—	—	↑	↑	—	—	—	—	↑	↑	—
+L-NAME	—	—	—	↑	—	—	—	—	—	—*	—	—
+apocinina	—	—	—	↑	↑	—	↑*	—	—	↑	—*	—
+tempol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	↑*	—	—
+indometacina	—	—	—	—	↑	—	—	—	—	↑*	—*	↓*
Frequência dos movimentos												
	Basal			Durante a incubação			Basal			Durante a incubação		
	Machos Naive	Machos LPS 6 h	Machos LPS 18 h	Machos Naive	Machos LPS 6 h	Machos LPS 18 h	Fêmeas Naive	Fêmeas LPS 6 h	Fêmeas LPS 18 h	Fêmeas Naive	Fêmeas LPS 6 h	Fêmeas LPS 18 h
Neostigmina	n.a.	n.a.	n.a.	—	↓	—	n.a.	n.a.	n.a.	—	↓	↓
+atropina	↓	—	—	—	—	↑	↓*	—	—	—	↑*	—*
+guanetidina	—	↓	—	—	—	—	—	—*	—	↓*	—	—
+L-NAME	↑	↓	↑	—	—	—	—*	—*	—*	—	—	—
+apocinina	↓	↓	↑	—	—	—	↑*	—	↓*	—	—	—
+tempol	—	—	—	—	—	—	—	—*	↓*	—	—	—
+indometacina	↑	—	—	—	—	—	↑*	—	↑*	—	—	—
Tônus muscular induzido pela neostigmina												
	Machos Naive		Macho LPS 6 h	Machos LPS 18 h		Fêmeas Naive		Fêmeas LPS 6 h		Fêmeas LPS 18 h		
Neostigmina	n.a.		n.a.	n.a.		n.a.		n.a.		n.a.		
+atropina	■		■	■		■		■		■		
+guanetidina	↓		↓	↓		↓		—*		↓		
+L-NAME	—		↑	↑		—		—*		↑		
+apocinina	↓		—	↑		↓		↑*		↑		
+tempol	—		↑	—		—		—*		↑*		
+indometacina	↑		↑	↑		—*		↑		↑		

Legenda: O quadro resume os efeitos da neostigmina e da incubação dos agentes farmacológicos utilizados sobre a amplitude (bloco superior) e a frequência (bloco intermediário) dos movimentos espontâneos observados pelas preparações de bexiga urinária. No bloco inferior, é apresentado o resumo desses mesmos agentes sobre o aumento do tônus muscular induzido pela neostigmina. Os símbolos indicam: n.a., não se aplica; ↑ Amplitude dos movimentos espontâneos, Frequência dos movimentos espontâneos e Aumento do tônus muscular induzido pela neostigmina; ↓ Amplitude dos movimentos espontâneos, Frequência dos movimentos espontâneos e Aumento do tônus muscular induzido pela neostigmina; — sem alteração da resposta biológica na presença do agente farmacológico; ■ inibição/abolição da resposta biológica na presença do agente farmacológico; * indica que existe diferenças sexuais entre machos e fêmeas; NEO – neostigmina.

6. CONCLUSÃO

Utilizando a neostigmina como uma estratégia para aumentar a disponibilidade local de acetilcolina endógena, demonstramos que a contratilidade da bexiga urinária mediada pela acetilcolina é regulada por um conjunto complexo de mecanismos endógenos, cuja ação é modulada por mediadores químicos passíveis de influência por fatores biológicos, como o sexo e o estado inflamatório sistêmico. Em condições saudáveis, observamos que espécies reativas ao oxigênio e os prostanóides exercem um papel modulador negativo sobre a contratilidade vesical nesse contexto, com efeitos distintos entre machos e fêmeas. Durante a inflamação sistêmica induzida por LPS, foi evidente um aumento significativo da amplitude dos movimentos espontâneos das tiras de bexiga isoladas oriundas de camundongos machos e fêmeas LPS 6 e 18 h, sem alterações equivalentes no tônus induzido pela NEO ou nas contrações mediadas por CCh e ACh, sugerindo um impacto na ação endógena de mediadores que aumentam o tônus da bexiga urinária. Notavelmente, o processo inflamatório alterou a sensibilidade a inibidores da síntese do óxido nítrico, EROs e prostanóides, evidenciando a participação desses mediadores na regulação do tônus muscular da bexiga de camundongos machos e fêmeas. Contrariamente à hipótese inicialmente proposta, a qual sustentava a ideia de que as fêmeas seriam as afetadas pelos efeitos da inflamação sistêmica induzida por LPS. Dessa forma, esses achados destacaram a existência de vias regulatórias sofisticadas que equilibram a hiperatividade do detrusor durante a inflamação. Embora os mecanismos precisos de ação desses mediadores permaneçam desconhecidos, nossos resultados reforçam a necessidade de investigações futuras que poderão abrir novas perspectivas para o estudo das disfunções vesicais associadas a estados inflamatórios.

7. REFERÊNCIAS

- Abrams, P. (2003). Describing bladder storage function: overactive bladder syndrome and detrusor overactivity. *Urology*, 62(5 Suppl 2), 28-37; discussion 40-22. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2003.09.050>
- Ahmed, A. U. (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6(4), 274-281. <https://doi.org/10.1007/s11515-011-1123-9>
- Almeida, L. S., Cavalcante, A. R. D. A., Vilela, M. R., Rocha, S. L., Noleto, T. O., & Rodrigues, I. G. (2023). Prevalência de infecção urinária baixa (cistite) no Estado de Goiás no ano de 2015-2020. *Revista Master-Ensino, Pesquisa e Extensão*, 8(16). <https://doi.org/10.47224/revistamaster.v8i16.395>
- Andersson, K. E., & Arner, A. (2004). Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 84(3), 935-986. <https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2003>
- Ansar Ahmed, S., Karpuzoglu, E., & Khan, D. (2009). Effects of sex steroids on innate and adaptive immunity. In *Sex hormones and immunity to infection* (pp. 19-51). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-02155-8_2
- Bateman, R. M., Sharpe, M. D., Jagger, J. E., & Ellis, C. G. (2015). Sepsis impairs microvascular autoregulation and delays capillary response within hypoxic capillaries. *Critical Care*, 19, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s13054-015-1102-7>
- Behzadi, E., & Behzadi, P. (2016). The role of toll-like receptors (TLRs) in urinary tract infections (UTIs). *Central European Journal of Urology*, 69(4), 404. <https://doi.org/10.5173/ceju.2016.871>
- Bernardy, C. C. F., Zarpelon, A. C., Pinho-Ribeiro, F. A., Calixto-Campos, C., Carvalho, T. T., Fattori, V. Verri, W. A. (2017). Tempol, a Superoxide Dismutase Mimetic Agent, Inhibits Superoxide Anion-Induced Inflammatory Pain in Mice. *BioMed Research International*, 2017, 9584819. <https://doi.org/10.1155/2017/9584819>
- Birder, L. (2004). Role of the urothelium in bladder function. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 48-53. <https://doi.org/10.1080/03008880410015165>

- Birder, L. A., Barrick, S. R., Roppolo, J. R., Kanai, A. J., de Groat, W. C., Kiss, S., & Buffington, C. A. (2003). Feline interstitial cystitis results in mechanical hypersensitivity and altered ATP release from bladder urothelium. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 285(3), F423-429. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00056.2003>
- Birder, L. A., Nakamura, Y., Kiss, S., Nealen, M. L., Barrick, S., Kanai, A. J., Caterina, M. J. (2002). Altered urinary bladder function in mice lacking the vanilloid receptor TRPV1. *Nature Neuroscience*, 5(9), 856-860. <https://doi.org/10.1038/nn902>
- Birder, L. A., Wolf-Johnston, A., Buffington, C. A., Roppolo, J. R., de Groat, W. C., & Kanai, A. J. (2005). Altered inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in the bladder of cats with feline interstitial cystitis. *Journal of Urology*, 173(2), 625-629. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000145900.22849.1d>
- Blandy, J. The bladder: Disorders of micturition. *Urology*. (eds John Blandy and Amir V. Kaisary) 6th edition. Wiley Blackwell publishers, 2009.
- Blok, B. F., De Weerd, H., & Holstege, G. (1995). Ultrastructural evidence for a paucity of projections from the lumbosacral cord to the pontine micturition center or M-region in the cat: a new concept for the organization of the micturition reflex with the periaqueductal gray as central relay. *Journal of Comparative Neurology*, 359(2), 300-309. <https://doi.org/10.1002/cne.903590208>
- Bontempo, A. P. D. S., Alves, A. T., Martins, G. D. S., Jácomo, R. H., Malschik, D. C., & Menezes, R. L. D. (2017). Fatores associados à síndrome da bexiga hiperativa em idosos: um estudo transversal. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 20, 474-483. <https://doi.org/10.1590/1981-22562017020.170030>
- Cai, K. C., van Mil, S., Murray, E., Mallet, J. F., Matar, C., & Ismail, N. (2016). Age and sex differences in immune response following LPS treatment in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 58, 327-337. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.08.002>
- Ching, C. B., Gupta, S., Li, B., Cortado, H., Mayne, N., Jackson, A. R.,...Becknell, B. (2018). Interleukin-6/Stat3 signaling has an essential role in the host antimicrobial response to urinary tract infection. *Kidney International*, 93(6), 1320-1329. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.12.006>

Czajkowski, K., Broś-Konopielko, M., & Teliga-Czajkowska, J. (2021). Urinary tract infection in women. *Menopause Review*, 20(1), 40-47. <https://doi.org/10.5114/pm.2021.105382>

Daly, D. M., Chess-Williams, R., Chapple, C., & Grundy, D. (2010). The inhibitory role of acetylcholine and muscarinic receptors in bladder afferent activity. *European Urology*, 58(1), 22-28; discussion 31-22. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2009.12.030>

de Groat, W. C., Griffiths, D., & Yoshimura, N. (2015). Neural control of the lower urinary tract. *Comprehensive Physiology*, 5(1), 327-396. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130056>

De Moraes, E. N., Marino, M. C., & Santos, R. R. (2010). Principais síndromes geriátricas. *Revista Medica de Minas Gerais*, 20(1), 54-6. <https://uniasus.ufpel.edu.br/moodle/ccufpel/bib/Sindromes%20geriatricas%20MORAES.pdf>

Deltourbe, Léa (2024). Understanding the impact of biological sex and sex hormones on immunity to urinary tract infection. Tese de Doutorado. Université Paris Cité. <https://theses.hal.science/tel-05025324/>

Ehlert, F. J. (2003). Contractile role of M2 and M3 muscarinic receptors in gastrointestinal, airway and urinary bladder smooth muscle. *Life Sciences*, 74(2-3), 355-366. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.023>

Fleischer, K., Bachi, A., Kam, J., Narayanan, P., Nair, R., & Khazali, S. (2024). Bladder Endometriosis: What do we know and what is left to find out? A narrative review. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 96, 102536. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2024.102536>

Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 269-284. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3432>

Fovaeus, M., Fujiwara, M., Högestätt, E. D., Persson, K., & Andersson, K. E. (1999). A non-nitrgergic smooth muscle relaxant factor released from rat urinary bladder by muscarinic receptor stimulation. *J Urol*, 161(2), 649-653.

Fowler, C. J., Griffiths, D., & de Groat, W. C. (2008). The neural control of micturition. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(6), 453-466. <https://doi.org/10.1038/nrn2401>

- Fry, C. H., Sui, G. P., Kanai, A. J., & Wu, C. (2007). The function of suburothelial myofibroblasts in the bladder. *Neurourology and Urodynamics*, 26(6 Suppl), 914-919. <https://doi.org/10.1002/nau.20483>
- Golan, M., Schreiber, G., & Avissar, S. (2009). Antidepressants, beta-arrestins and GRKs: from regulation of signal desensitization to intracellular multifunctional adaptor functions. *Current Pharmaceutical Design*, 15(14), 1699-1708. <https://doi.org/10.2174/138161209788168038>
- Gonzalez, R. R., Fong, T., Belmar, N., Saban, M., Felsen, D., & Te, A. (2005). Modulating bladder neuro-inflammation: RDP58, a novel anti-inflammatory peptide, decreases inflammation and nerve growth factor production in experimental cystitis. *The Journal of Urology*, 173(2), 630-634. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000143192.68223.f7>
- Grassin-Delye, S., Abrial, C., Salvator, H., Brollo, M., Naline, E., & Devillier, P. (2020). The Role of Toll-Like Receptors in the Production of Cytokines by Human Lung Macrophages. *Journal of Innate Immunity*, 12(1), 63-73. <https://doi.org/10.1159/000494463>
- Griffiths, D. (2015). Neural control of micturition in humans: a working model. *Nature Reviews Urology*, 12(12), 695-705. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2015.266>
- Hanna-Mitchell, A. T., Beckel, J. M., Barbadora, S., Kanai, A. J., de Groat, W. C., & Birdner, L. A. (2007). Non-neuronal acetylcholine and urinary bladder urothelium. *Life Sciences*, 80(24-25), 2298-2302. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.02.010>
- Hatton, N. E., Baumann, C. G., & Fascione, M. A. (2021). Developments in Mannose-Based Treatments for Uropathogenic *Escherichia coli*-Induced Urinary Tract Infections. *ChemBioChem*, 22(4), 613-629. <https://doi.org/10.1002/cbic.202000406>
- Heppner, T. J., Fallon, H. C., Rengo, J. L., Beaulieu, E. M., Hennig, G. W., Nelson, M. T., & Herrera, G. M. (2024). Urothelium-derived prostanoids enhance contractility of urinary bladder smooth muscle and stimulate bladder afferent nerve activity in the mouse. *American Journal of Physiology*, 327(1), R97-R108. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00084.2024>
- Holstege, G. (2005). Micturition and the soul. *Journal of Comparative Neurology*, 493(1), 15-20. <https://doi.org/10.1002/cne.20785>

- Hughes, T., Ho, H. C., Pietropaolo, A., & Somani, B. K. (2020). Guideline of guidelines for kidney and bladder stones. *Turkish Journal of Urology*, 46(Supp. 1), S104-S112. <https://doi.org/10.5152/tud.2020.20315>
- Iijima, N., Thompson, J. M., & Iwasaki, A. (2008). Dendritic cells and macrophages in the genitourinary tract. *Mucosal Immunology*, 1(6), 451-459. <https://doi.org/10.1038/mi.2008.57>
- Ikedo, Y., & Kanai, A. (2008). Urotheliogenic modulation of intrinsic activity in spinal cord-transected rat bladders: role of mucosal muscarinic receptors. *American Journal of Physiology – Renal Physiology*, 295(2), F454-461. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.90315.2008>
- Isaacson, B., Hadad, T., Glasner, A., Gur, C., Granot, Z., Bachrach, G., & Mandelboim, O. (2017). Stromal Cell-Derived Factor 1 Mediates Immune Cell Attraction upon Urinary Tract Infection. *Cell Reports*, 20(1), 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.06.034>
- Ischiropoulos, H., & al-Mehdi, A. B. (1995). Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS Letters*, 364(3), 279-282. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)00307-u](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00307-u)
- Janeway, C. A. (1989). Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 54 Pt 1, 1-13. <https://doi.org/10.1101/sqb.1989.054.01.003>
- Jiang, S., Ren, Q., Wang, X., Yang, G., Wei, S., Zhao, Q., & Xu, H. (2020). A huge bladder diverticulum in an elderly: a case report. *SAGE Open Medical Case Reports*, 8, 2050313X20943475. <https://doi.org/10.1177/2050313X20943475>
- Jost SP, Gosling JA, Dixon JS. The morphology of normal human bladder urothelium. *Journal of Anatomy*. 1989 Dec;167:103-15. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1256824/>
- Kargman, S., Charleson, S. T. E. L. L. A., Cartwright, M. A. R. K., Frank, J. O. H. N., Riendeau, D. E. N. I. S., Mancini, J., ... & O'Neill, G. A. R. Y. (1996). Characterization of prostaglandin G/H synthase 1 and 2 in rat, dog, monkey, and human gastrointestinal tracts. *Gastroenterology*, 111(2), 445-454. <https://doi.org/10.1053/gast.1996.v111.pm8690211>

- Kavia, R. B., Dasgupta, R., & Fowler, C. J. (2005). Functional imaging and the central control of the bladder. *Journal of Comparative Neurology*, 493(1), 27-32. <https://doi.org/10.1002/cne.20753>
- Kenakin, T. (1987). Agonists, partial agonists, antagonists, inverse agonists and agonist/antagonists?. *Trends in Pharmacological Sciences*, 8(11), 423-426. [https://www.cell.com/trends/pharmacological-sciences/abstract/0165-6147\(87\)90229-X](https://www.cell.com/trends/pharmacological-sciences/abstract/0165-6147(87)90229-X)
- Kolaczowska, E., & Kubes, P. (2013). Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 13(3), 159-175. <https://doi.org/10.1038/nri3399>
- Kuo, I. Y., & Ehrlich, B. E. (2015). Signaling in muscle contraction. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 7(2), a006023. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006023>
- Lacerda Mariano, L., & Ingersoll, M. A. (2020a). The immune response to infection in the bladder. *Nature Reviews Urology*, 17(8), 439-458. <https://doi.org/10.1038/s41585-020-0350-8>
- Lentle, R. G., Reynolds, G. W., & Janssen, P. W. M. (2013). Gastrointestinal tone; its genesis and contribution to the physical processes of digestion. *Neurogastroenterology & Motility*, 25(12), 931-942. <https://doi.org/10.1111/nmo.12223>
- Lewis, S. A. (2000). Everything you wanted to know about the bladder epithelium but were afraid to ask. *American Journal of Physiology – Renal Physiology*, 278(6), F867-874. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.2000.278.6.F867>
- Li, H., Raman, C. S., Glaser, C. B., Blasko, E., Young, T. A., Parkinson, J. F., Poulos, T. L. (1999). Crystal structures of zinc-free and -bound heme domain of human inducible nitric-oxide synthase. Implications for dimer stability and comparison with endothelial nitric-oxide synthase. *Journal of Biological Chemistry*, 274(30), 21276-21284. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.30.21276>
- Liu, G. U. O. H. U. A., Abramson, J. J., Zable, A. C., & Pessah, I. N. (1994). Direct evidence for the existence and functional role of hyperreactive sulfhydryls on the ryanodine receptor-triadin complex selectively labeled by the coumarin maleimide 7-diethylamino-3-(4'-maleimidylphenyl)-4-methylcoumarin. *Molecular pharmacology*, 45(2), 189-200.

<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=3f75c8a1d3f210c54fd824bbe639c7ba3fcc6569>

Liu, J., Ji, H., Zheng, W., Wu, X., Zhu, J. J., Arnold, A. P., & Sandberg, K. (2010). Sex differences in renal angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) activity are 17 β -oestradiol-dependent and sex chromosome-independent. *Biology of Sex Differences*, 1(1), 6. <https://doi.org/10.1186/2042-6410-1-6>

Maggi, C. A., Giuliani, S., Conte, B., Furio, M., Santicioli, P., Meli, P., Meli, A. (1988). Prostanoids modulate reflex micturition by acting through capsaicin-sensitive afferents. *European Journal of Pharmacology*, 145(2), 105-112. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90221-x](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90221-x)

Mangera, A., Osman, N. I., & Chapple, C. R. (2013). Anatomy of the lower urinary tract. *Surgery. Oxford International Edition (Oxford)*, 31(7), 319-325. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2013.04.013>

Massoulié, J., Sussman, J., Bon, S., & Silman, I. (1993). Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Progress in Brain Research*, 98, 139-146. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)62391-2](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)62391-2)

Masunaga, K., Chapple, C. R., McKay, N. G., Yoshida, M., & Sellers, D. J. (2010). The β 3-adrenoceptor mediates the inhibitory effects of β -adrenoceptor agonists via the urothelium in pig bladder dome. *Neurourology and Urodynamics*, 29(7), 1320-1325. <https://doi.org/10.1002/nau.20838>

Matthay, M. A., Taylor Thompson, B., & Brower, R. (2012). Inflammation-induced desensitization of β -receptors in acute lung injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 185(8), 894-895. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.185.8.894a>

Merrill, L., Gonzalez, E. J., Girard, B. M., & Vizzard, M. A. (2016). Receptors, channels, and signalling in the urothelial sensory system in the bladder. *Nature Reviews Urology*, 13(4), 193-204. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.13>

Michel, M. C., & Vrydag, W. (2006). α 1-, α 2- and β -adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate. *British Journal of Pharmacology*, 147(S2), S88-S119. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706619>

- Mitchell, J. A., & Kirkby, N. S. (2019). Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *British Journal of Pharmacology*, 176(8), 1038-1050. <https://doi.org/10.1111/bph.14167>
- Musavi, S. (2000). Calcium dynamics and active oxygen species in neurotoxicity. <https://core.ac.uk/download/pdf/144512608.pdf>
- Nile, C. J., & Gillespie, J. I. (2012). Interactions between cholinergic and prostaglandin signaling elements in the urothelium: role for muscarinic type 2 receptors. *Urology*, 79(1), 240.e217-223. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2011.08.029>
- Nuno, D. W., Korovkina, V. P., England, S. K., & Lamping, K. G. (2007). RhoA activation contributes to sex differences in vascular contractions. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(9), 1934-1940. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.144675>
- Oertelt-Prigione, S. (2012). The influence of sex and gender on the immune response. *Autoimmunity Reviews*, 11(6-7), A479-A485. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.11.022>
- Patnaik, S. S., Laganà, A. S., Vitale, S. G., Buttice, S., Noventa, M., Gizzo, S., ...Dandolu, V. (2017). Etiology, pathophysiology and biomarkers of interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 295(6), 1341-1359. <https://doi.org/10.1007/s00404-017-4364-2>
- Pizzol, D., Demurtas, J., Celotto, S., Maggi, S., Smith, L., Angiolelli, G., Veronese, N. (2021). Urinary incontinence and quality of life: a systematic review and meta-analysis. *Aging Clinical and Experimental Research*, 33(1), 25-35. <https://doi.org/10.1007/s40520-020-01712-y>
- Pryor, W. A., & Squadrito, G. L. (1995). The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 268(5 Pt 1), L699-722. <https://doi.org/10.1152/ajplung.1995.268.5.L699>
- Qiao, S., Luo, Q., Zhao, Y., Zhang, X. C., & Huang, Y. (2014). Structural basis for lipopolysaccharide insertion in the bacterial outer membrane. *Nature*, 511(7507), 108-111. <https://doi.org/10.1038/nature13484>

- Rahnama'i, M. S., van Kerrebroeck, P. E., de Wachter, S. G., & van Koeveringe, G. A. (2012). The role of prostanoids in urinary bladder physiology. *Nature Reviews Urology*, 9(5), 283-290. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2012.33>
- Romih, R., Korosec, P., de Mello, W., & Jezernik, K. (2005). Differentiation of epithelial cells in the urinary tract. *Cell and Tissue Research*, 320(2), 259-268. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-1005-4>
- Root, J. A., Davey, D. A., & Af Forselles, K. J. (2015). Prostanoid receptors mediating contraction in rat, macaque and human bladder smooth muscle *in vitro*. *European Journal of Pharmacology*, 769, 274-279. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.11.030>
- Saginala, K., Barsouk, A., Aluru, J. S., Rawla, P., & Padala, S. A. (2020). Epidemiology of Bladder Cancer. *Medical Sciences (Basel)*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/medsci8010015>
- Scarneciu, I., Lupu, S., Bratu, O. G., Teodorescu, A., Maxim, L. S., Brinza, A. Scarneciu, C. C. (2021). Overactive bladder: A review and update. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 22(6), 1444. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10879>
- Shi, J., Yang, Y., Cheng, A., Xu, G., & He, F. (2020). Metabolism of vascular smooth muscle cells in vascular diseases. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 319(3), H613-H631. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00220.2020>
- Silva, A. P. M. D., & Santos, V. L. C. D. G. (2005). Prevalência da incontinência urinária em adultos e idosos hospitalizados. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 39, 36-45. <https://doi.org/10.1590/S0080-62342005000100005>
- Smith, W. L., & Murphy, R. C. (2016). The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase and epoxygenase pathways. In *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes* (pp. 259-296). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63438-2.00009-2>
- Stamm, W. E., & Norrby, S. R. (2001). Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *The Journal of Infectious Diseases*, 183 Suppl 1, S1-4. <https://doi.org/10.1086/318850>
- Stenqvist, J., Aronsson, P., Carlsson, T., Winder, M., & Tobin, G. (2020). In vivo paracrine effects of ATP-induced urothelial acetylcholine in the rat urinary bladder. *Autonomic Neuroscience*, 227, 102689. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2020.102689>

- Sugaya, K., Roppolo, J. R., Yoshimura, N., Card, J. P., & de Groat, W. C. (1997). The central neural pathways involved in micturition in the neonatal rat as revealed by the injection of pseudorabies virus into the urinary bladder. *Neuroscience Letters*, 223(3), 197-200. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(97\)13433-4](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(97)13433-4)
- Sung, J. J., Kim, S. J., Lee, H. B., Chung, J. M., Choi, Y. M., Cha, C. I. Lee, K. W. (1998). Anticholinesterase induces nicotinic receptor modulation. *Muscle & Nerve*, 21(9), 1135-1144. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4598\(199809\)21:9<1135::aid-mus4>3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4598(199809)21:9<1135::aid-mus4>3.0.co;2-8)
- Takezawa, K., Kondo, M., Nonomura, N., & Shimada, S. (2017). Urothelial ATP signaling: what is its role in bladder sensation?. *Neuourology and Urodynamics*, 36(4), 966-972. <https://doi.org/10.1002/nau.23099>
- Tamadonfar, K. O., Omattage, N. S., Spaulding, C. N., & Hultgren, S. J. (2019). Reaching the End of the Line: Urinary Tract Infections. *Microbiology Spectrum*, 7(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAI-0014-2019>
- Taylor, P., & Brown, J. H. (1999). Synthesis, storage and release of acetylcholine. In *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th edition. Lippincott-Raven. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28051/>
- Tong, Y. C., Hung, Y. C., & Cheng, J. T. (1997). Evidence of P2Y-purinoceptor mediated bladder neck smooth muscle post-contraction relaxation in the male mini-pig. *Neuroscience Letters*, 225(3), 181-184. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(97\)00212-7](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(97)00212-7)
- Tschudi, M. R., Barton, M., Bersinger, N. A., Moreau, P., Cosentino, F., Noll, G. Lüscher, T. F. (1996). Effect of age on kinetics of nitric oxide release in rat aorta and pulmonary artery. *Journal of Clinical Investigation*, 98(4), 899-905. <https://doi.org/10.1172/JCI118872>
- Zhang, Y., Yuan, S., Alshayyah, R. W. A., Liu, W., Yu, Y., Shen, C. Yang, B. (2021). Spontaneous Rupture of Urinary Bladder: Two Case Reports and Review of Literature. *Frontiers in Surgery*, 8, 721705. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2021.721705>
- Zielen, S., Trischler, J., & Schubert, R. (2015). Lipopolysaccharide challenge: immunological effects and safety in humans. *Expert Review of Clinical Immunology*, 11(3), 409-418. <https://doi.org/10.1586/1744666X.2015.1012158>

ANEXOS – ANEXO 1



Universidade Federal de Santa Catarina

*Comissão de Ética no
Uso de Animais*

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE DO MÚSCULO LISO DETRUSOR DE CAMUNDONGOS (Swiss) SAUDÁVEIS E ENDOTOXÊMICOS: HÁ INFLUÊNCIA DO DIMORFISMO SEXUAL?", protocolada sob o CEUA nº 1321200723 (ID 002504), sob a responsabilidade de **José Eduardo da Silva Santos e equipe**; *Jhone Robson da Silva Costa; Stherfanni Moura de Oliveira; Leonardo Gomes Pereira* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 04/09/2023.

We certify that the proposal "Evaluation of reactivity of the detrusor smooth muscle reactivity f.r.o.m healthy and endotoxemic mice: is there a role for sexual dimorphism", utilizing 560 Heterogenics mice (males and females), protocol number CEUA 1321200723 (ID 002504), under the responsibility of **José Eduardo da Silva Santos and team**; *Jhone Robson da Silva Costa; Stherfanni Moura de Oliveira; Leonardo Gomes Pereira* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 09/04/2023.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 08/2023 a 08/2025 Área: Farmacologia

Origem: Biotério Central

Espécie: Camundongos heterogênicos

Linhagem: Swiss

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 90 a 120 dias

Quantidade: 560

Peso: 40 a 65 g

Florianópolis, 30 de dezembro de 2025

Juliano Ferreira

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Vanessa Rafaela Foletto da Silva
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

