

Efeitos do Suplemento de Andrógeno sobre o Conteúdo de Colágeno e Músculo do Trato Urinário Inferior de Ratas Adultas

RESUMO

Justificativa. O hipoestrogenismo é apontado como fator na etiologia da incontinência urinária na mulher, e de fato há evidências do papel do estrógeno na manutenção das características das estruturas de suporte e da própria parede da uretra, tecidos responsáveis pela continência. Mas o efeito dos andrógenos sobre as características morfológicas - notadamente a densidade em fibras colágenas e musculares - do trato urinário inferior e estruturas adjacentes é pouco esclarecido, especialmente na ausência de hipoestrogenismo. *Objetivo.* Quantificar a matriz colágena e o tecido muscular parauretral de ratas adultas, normais e ooforectomizadas, submetidas a suplementação com hormônio andrógeno. *Métodos.* Cinquenta e duas ratas adultas foram divididas em 4 grupos, os quais receberam os seguintes tratamentos por via SC durante 60 dias: **(C)** controles não-ooforectomizadas - 0,1mL/dia do placebo; **(M)** estudo não-ooforectomizadas - 0,075mg/kg/dia de metiltestosterona (MT); **(CO)** controles ooforectomizadas - 0,1mL/dia do placebo; **(MO)** estudo ooforectomizadas - 0,075mg/kg/dia de MT. Após o tratamento, sacrifício dos animais e retirada em bloco dos órgãos pélvicos, foram obtidas lâminas de cortes transversais da uretra e tecidos adjacentes corados com *sirius red* e lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE). A quantificação, não só do colágeno, mas também das fibras musculares no tecido periuretral de cada espécime foi feita por estereologia em microscópio de luz, utilizando-se o sistema de grade M42, habitualmente empregado para

quantificação de estruturas microfibrilares. As proporções médias de pontos coincidentes com matriz colágena e fibras musculares entre os grupos foram comparadas estatisticamente. *Resultados.* As percentagens médias de colágeno e músculo no tecido periuretral nos quatro grupos estudados não mostraram diferença estatística entre si ($p=0,0627$ e $p=0,0680$ respectivamente), não havendo, portanto, alteração morfológica detectável após a ooforectomia. Na comparação entre os grupos de ratas não-ooforectomizadas tratadas com andrógeno ou placebo, não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,6040$ para colágeno, $p=0,3614$ para músculo). O mesmo foi verificado entre as ratas ooforectomizadas ($p=0,5545$ e $p=0,4307$ respectivamente). *Conclusão.* A exposição do trato urinário inferior de ratas adultas, tanto híidas quanto ooforectomizadas, ao hormônio andrógeno, não foi capaz de produzir mudanças significativas nas proporções de colágeno e fibras musculares no tecido periuretral. Portanto, é provável que não haja papel para estes hormônios no tratamento da incontinência urinária.

INTRODUÇÃO

A continência urinária é determinada pela integridade tecidual das estruturas de suporte da uretra, representadas pelos ligamentos, fâscias e musculatura do assoalho pélvico. Também são relevantes os mecanismos intrínsecos de manutenção da resistência uretral, tais como a musculatura uretral, lisa e estriada, e o leito vascular submucoso da uretra (ASHTON-MILLER *et al.*, 2001). Os sintomas do trato urinário inferior em mulheres no período pós-menopausa têm sido associados à falta de estrógenos, com base na origem embriológica comum dos sistemas genital e urinário, ambos sujeitos à ação desses hormônios (ROBINSON & CARDOZO, 2003). Foi demonstrada a expressão de receptores de estrógeno na bexiga, na uretra, na parede vaginal periuretral e nos tecidos pélvicos de

suporte (MÄKËLA *et al.*, 2000; COPAS *et al.*, 2001; IOSIF *et al.*, 2002; CHEN *et al.*, 2003b), o que poderia explicar, em parte, os benefícios da terapia de reposição hormonal (TRH) na manutenção desses tecidos e sobre os sintomas de urgência e/ou incontinência em mulheres após a menopausa (GRIEBLING & NYGAARD, 1997; KLUTKE & BERGMAN, 1995). Por outro lado, há estudos que contestam o valor da TRH no tratamento desses sintomas (LARSON *et al.*, 1997; JUNG *et al.*, 2001).

Há evidências de que a ação dos estrógenos no trato urinário inferior feminino tem conseqüências em vários componentes teciduais: epitélio, leito vascular submucoso, colágeno, matriz extracelular amorfa e fibras musculares (de DEUS *et al.*, 2003; ROBINSON & CARDOZO, 2003; ROCHA *et al.*, 2003). ROCHA *et al.* (2003) mostraram, em ratas, que a reposição hormonal, independente de seu início (imediatamente ou 30 dias após a castração), foi capaz de manter as características histológicas da parede vesical, e do terço médio da uretra, semelhantes às observadas em animais não castrados. A hipótese proposta pelos autores é de que estes achados poderiam ser extrapolados para a TRH feita em mulheres pós-menopausa, apesar de não terem sido levadas em conta as alterações ocorridas em razão do próprio envelhecimento (CHEN *et al.*, 2003a).

A deficiência de estrógenos parece interferir na função contrátil do detrusor e das camadas musculares da uretra de diversas formas, entre elas através da redução no número de células contráteis e o aumento de fibras colágenas, que poderiam estar implicadas em sintomas como urgência e incontinência (SARTORI *et al.*, 2001). Os trabalhos experimentais em fêmeas de mamíferos ooforectomizadas apresentam resultados divergentes em se tratando do efeito dos hormônios sexuais femininos, ou da falta deles, no conteúdo de colágeno nos tecidos do trato urinário. A comparação entre resultados obtidos nestes experimentos e a sua discussão deve ser criteriosa, particularmente no que se refere

ao papel do colágeno na biomecânica do trato urinário inferior. PERSSON *et al.* (1996) não observaram diferenças na concentração desta proteína na musculatura lisa da uretra e no detrusor de coelhas castradas, em relação às hípidas; SARTORI *et al.*, (2001) encontraram uma densidade de fibras colágenas nos mesmos órgãos de ratas ooforectomizadas menor do que nos animais controle, sem, no entanto, deixar explícito na publicação o tipo de músculo observado na uretra. Portanto, além da hipótese óbvia da diferença entre espécies, ao tomar estes dois trabalhos como exemplos, pode haver outras variáveis capazes de gerar confusão. Notadamente: técnicas totalmente distintas de quantificação do colágeno e, hipoteticamente, a camada da parede uretral em questão.

Os andrógenos são utilizados há algum tempo em esquemas de reposição hormonal para o alívio de sintomas inespecíficos que, admite-se, seriam decorrentes de insuficiência feminina de andrógenos (FAD, *Female Androgen Deficiency*): diminuição da sensação de bem-estar, disforia e/ou fadiga, e disfunções sexuais, como queda da libido e incapacidade para o orgasmo. Especula-se que outros aspectos dessa insuficiência incluiriam perda de massa óssea, de força muscular e alterações nas funções cognitivas (MAZER, 2002; DAVIS & BURGER, 2003). A testosterona, o principal hormônio andrógeno, tem sua síntese diminuída lentamente com o avanço da idade na mulher, sendo que os sintomas atribuídos à sua falta em geral não se manifestam antes da menopausa. Ressalte-se que alterações urinárias tais como a incontinência de esforço, que pode ter alta prevalência nas mulheres em diversas faixas etárias, na vigência ou não de hipoestrogenismo (JOLLEYS, 1988; DIOKNO *et al.*, 2004), em geral não são citadas como um possível resultado desta diminuição de andrógenos com a idade.

BUMP & FRIEDMAN (1986), estudando a reposição hormonal em primatas ooforectomizadas, verificaram que a administração de estrógeno melhorou

significativamente vários parâmetros no funcionamento do esfíncter da uretra, e que a associação de testosterona não trouxe benefício adicional neste aspecto, mas uma tendência de piora não demonstrável estatisticamente. MADEIRO *et al.* (2002) mostraram que a administração de metiltestosterona em ratas ooforectomizadas aumentou significativamente o conteúdo de colágeno na bexiga e na uretra, quando comparada à reposição apenas com o estrógeno. Estes autores sugeriram que os efeitos tróficos dos andrógenos no epitélio, na mucosa e no tecido conectivo da uretra seriam benéficos na manutenção da pressão desenvolvida pelo esfíncter. Já no detrusor, este depósito poderia gerar sintomas urinários. Um trabalho feito com crianças portadoras de hiperplasia adrenal congênita admitiu como parte das ações de andrógenos nas vias urinárias femininas a diminuição sensível da capacidade vesical para a idade (CELAYIR *et al.*, 2000). Contudo, não se conhece exatamente o resultado morfológico da interação desses hormônios com o trato urinário inferior, e o modelo do pseudo-hermafroditismo feminino corresponderia a uma suplementação de andrógenos ao sistema genitourinário ainda em formação, portanto em apenas um momento da vida da mulher.

Além disso, todos os estudos apresentados não priorizaram a análise objetiva da influência dos andrógenos nos tecidos músculo-ligamentares de sustentação do assoalho pélvico feminino, os quais tem implicação potencial na predisposição e patogênese dos prolapsos urogenitais.

Ao contrário do que ocorre com os estrógenos, o efeito dos andrógenos nas características morfológicas da bexiga, da uretra, da vagina e dos tecidos envolvidos no suporte dos órgãos pélvicos e na continência urinária é muito pouco esclarecido, especialmente antes da menopausa. Além disso, o que se tem até o momento foi obtido

apenas de fêmeas de mamíferos castradas, simulando o hipoestrogenismo característico da menopausa.

O objetivo deste estudo foi analisar a densidade volumétrica de fibras colágenas e musculares no tecido periuretral de ratas adultas, normais e ooforectomizadas, quando submetidas a uma suplementação com hormônio andrógeno.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais, hormônios e cortes histológicos

Toda a experimentação com animais descrita neste projeto foi previamente avaliada e aprovada pela Comissão de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biologia da universidade.

Foram utilizadas no estudo 52 ratas adultas e virgens da raça Wistar, com idade média de 90 dias, adquiridas no Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica da Unicamp. Foram numeradas e divididas aleatoriamente em quatro grupos, os quais receberam os seguintes tratamentos durante 60 dias:

Grupo **C** (Controles não-ooforectomizadas): 15 ratas para controle receberam 0,1mL/dia do placebo, veículo do hormônio em estudo.

Grupo **M** (Tratadas com *metiltestosterona* não-ooforectomizadas): 15 ratas receberam doses diárias de 0,075 mg/Kg de metiltestosterona.

Grupo **CO** (Controles ooforectomizadas): 11 ratas ooforectomizadas receberam 0,1mL/dia do placebo.

Grupo **MO** (Tratadas com *metiltestosterona* ooforectomizadas): 11 ratas ooforectomizadas receberam doses diárias de 0,075 mg/Kg de metiltestosterona.

A droga e o placebo foram administrados por via SC uma vez ao dia. As ratas ooforectomizadas iniciaram o experimento após 30 dias da exeresse dos ovários, que foi realizada através de incisão ventral mediana.

Ao final do período de tratamento, as ratas foram sacrificadas utilizando-se tiopental sódico intravenoso, seguindo-se imediatamente a remoção em bloco da bexiga, da uretra, da vagina e da musculatura do assoalho pélvico, os quais foram posteriormente fixados em formalina tamponada.

As peças foram seccionadas numa direção transversal às paredes da uretra, da vagina e do reto em micrótomo ajustado para uma espessura de 5 μ m e corados com hematoxilina-eosina e *sirius red* para a confecção das lâminas.

Quantificação das fibras colágenas e musculares

No presente estudo, fez-se a opção pela técnica de estereologia em microscópio de luz, (HALE *et al.*, 1999; SARTORI *et al.*, 2001, MADEIRO *et al.*, 2002; ROCHA *et al.*, 2003) para este fim. As proporções de tecido colágeno e muscular foram medidas pela superposição de um sistema de pontos M42 (Tonbridge™) de 42 divisões sobre as imagens das lâminas ampliadas 400 X num microscópio óptico comum, e calculada pela expressão:

$$V_v = \frac{Pp}{42} \times 100$$

Onde: V_v = proporção volumétrica de matriz colágena ou fibras musculares; Pp = número de pontos no campo correspondentes a fibras colágenas ou musculares.

Foram analisados por uma única pessoa cortes da uretra, vagina, reto e musculatura do assoalho pélvico de cada rata, estruturas agrupadas numa mesma lâmina. A

quantificação das fibras colágenas e musculares no tecido periuretral foi feita analisando-se 15 campos por espécime, totalizando 630 pontos por animal.

Análise estatística

A comparação das proporções de matriz colágena e tecido muscular entre os grupos tratados e não tratados com MT, ou seja, entre C e M, e CO e MO, foi realizada pelo teste de Mann-Whitney. Para a comparação entre os quatro grupos, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Para ambos os testes, foi adotado um nível de significância de 0,05 ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Na tabela 1 estão as porcentagens médias de colágeno e músculo no tecido periuretral nos quatro grupos estudados, mostrando que não foram estatisticamente diferentes entre si ($p = 0,0627$ e $p = 0,0680$ respectivamente). A figura 1 é o box-plot do percentual de colágeno; e a figura 2, box-plot do percentual de tecido muscular em cada grupo. Portanto não houve diferença na proporção de colágeno e músculo mesmo entre ratas ooforectomizadas e híginas ao final do tempo de estudo.

Tabela 1 - Comparação entre as proporções médias de colágeno e músculo no tecido periuretral das ratas nos quatro grupos

% Colágeno							
grupo	n	média	desvio padrão	mín	mediana	máx	p-valor (Kruskal-Wallis)
C	15	56.91	10.34	42.78	55.86	78.94	
M	15	52.75	10.74	28.73	53.94	69.22	
CO	11	47.77	4.54	40.08	47.92	56.61	
MO	11	49.23	5.66	39.94	51.39	57.64	0.0627

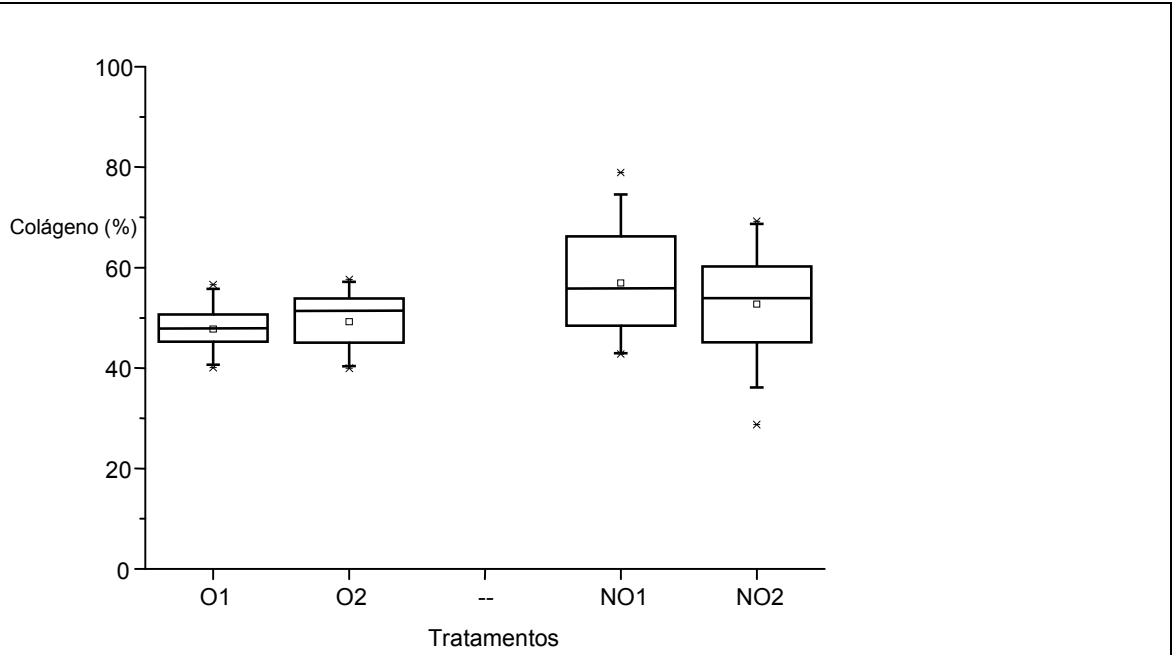
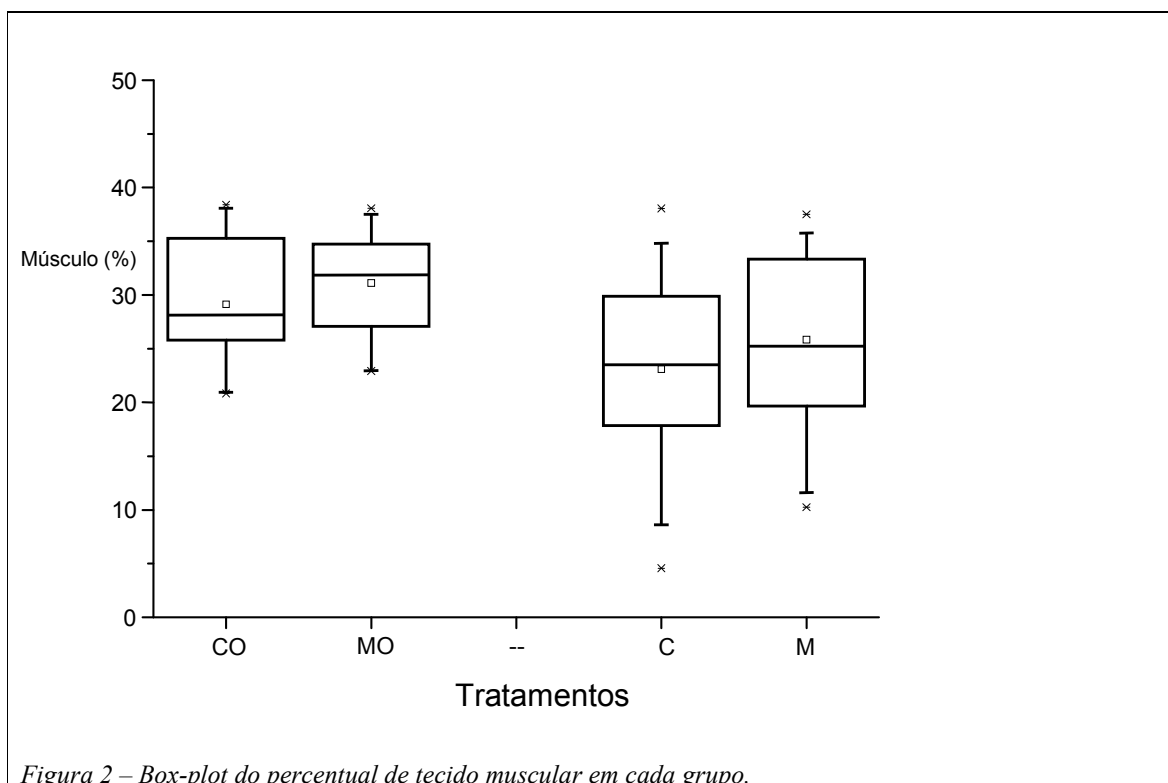


Figura 1 – Box-plot do percentual de colágeno em cada grupo.

% Músculo							
grupo	n	média	desvio padrão	mín	mediana	máx	p-valor (Kruskal-Wallis)
C	15	23.09	8.73	4.56	23.50	38.06	
M	15	25.84	8.71	10.25	25.23	37.50	
CO	11	29.13	5.81	20.83	28.14	38.39	
MO	11	31.11	4.91	22.92	31.86	38.08	0.0680



A tabela 2 contém o percentual médio de matriz colágena e fibras musculares das ratas não-ooforectomizadas após tratamento com placebo ou MT. Tanto as medidas de colágeno quanto de fibras musculares não foram significativamente diferentes entre o grupo tratado e não tratado – C e M ($p=0,6040$ e $p=0,3614$, respectivamente).

Tabela 2 - Comparação entre as proporções médias de colágeno e músculo no tecido periuretral das ratas não-ooforectomizadas

% Colágeno							
grupo	n	média	desvio padrão	mín	mediana	máx	p-valor (Mann-Whitney)
C	15	56.91	10.34	42.78	55.86	78.94	
M	15	52.75	10.74	28.73	53.94	69.22	0.6040
% Músculo							
grupo	n	média	desvio padrão	mín	mediana	máx	p-valor (Mann-Whitney)
C	15	23.09	8.73	4.56	23.50	38.06	
M	15	25.84	8.71	10.25	25.23	37.50	0.3614

Como exposto na tabela 3, também não foram observadas diferenças entre os animais ooforectomizados do grupo controle e do grupo tratado com andrógeno quanto à proporção de matriz colágena e tecido muscular periuretral ($p=0,5545$ e $p=0,4307$ respectivamente).

Tabela 3 - Comparação entre as proporções médias de colágeno e músculo no tecido periuretral das ratas ooforectomizadas

% Colágeno							
grupo	n	média	desvio padrão	mín	mediana	máx	p-valor (Mann-Whitney)
CO	11	47.77	4.54	40.08	47.92	56.61	
MO	11	49.23	5.66	39.94	51.39	57.64	0.5545
% Músculo							
grupo	n	média	desvio padrão	mín	mediana	máx	p-valor (Mann-Whitney)
CO	11	29.13	5.81	20.83	28.14	38.39	
MO	11	31.11	4.91	22.92	31.86	38.08	0.4307

DISCUSSÃO

O efeito dos estrógenos, ou a falta deles, sobre a morfologia do trato urinário inferior feminino tem sido mais bem estudado do que o dos andrógenos, sobre o qual encontram-se apenas trabalhos esporádicos (RASMUSSEN, 1968; MADEIRO *et al.*, 2002). Diversas pesquisas em animais demonstraram que a queda dos níveis de estrógeno, alteração hormonal fundamental do climatério, tem efeitos sobre a quantidade de colágeno e músculo liso, tanto na bexiga quanto na uretra. Em geral, são demonstrados aumentos na proporção de colágeno, aparentemente em detrimento do tecido muscular, condições revertidas pela reposição hormonal adequada (FALCONER *et al.*, 1996; SUSSET *et al.* apud SARTORI *et al.*, 2001; PHILLIPS & DAVIES, 1980; ROCHA *et al.*, 2003).

Nossos resultados foram discordantes dos encontrados nesses trabalhos. EIKA *et al.* (1990), por exemplo, observaram aumento de colágeno entremeado às fibras musculares lisas do detrusor em ratas ooforectomizadas. SARTORI *et al.*, mesmo tendo trabalhado apenas com animais castrados – portanto em hipoestrogenismo acentuado – mostraram aumento da musculatura lisa na uretra e diminuição do colágeno utilizando reposição com estrógeno isoladamente (sem progestágeno). Inferiram então que esta melhora no trofismo muscular da uretra, que também ocorreria na mulher, refletir-se-ia em melhora da função na continência urinária. Entretanto, não há evidência clínica suficiente de que os estrógenos melhorem a incontinência urinária de esforço a ponto de indicá-los com este objetivo. Mesmo nos casos de urgência e outros sintomas irritativos, as manifestações podem ser aliviadas com a reposição hormonal, mas aparentemente sem efeito superior na continência (KIELB, 2005; CASTRO-DIAZ & AMOROS, 2005; BALLAGH, 2005). Por outro lado, HALE *et al.* (1999) mostraram uma maior quantidade de tecido conectivo (colágeno) entremeado na musculatura estriada parauretral em biópsias de mulheres com incontinência urinária de esforço (IUE), comparadas a outras consideradas continentas. Nesse trabalho, das dez voluntárias com IUE, nove estavam na pós-menopausa, e das 17 controles, apenas uma. É provável que as alterações morfológicas tenham sido devidas ao hipoestrogenismo desta fase, mas seu verdadeiro papel na patologia ainda está por ser esclarecido.

Na comparação da percentagem de colágeno entre animais hípidos e castrados, os resultados deste trabalho foram concordantes com os de PERSSON *et al.* (1996), ou seja, não houve diferenças entre os grupos após várias semanas de observação. Esses autores demonstraram também não haver diferenças nas propriedades mecânicas do tecido conectivo da parede uretral de coelhas, o mesmo valendo para os fascículos musculares longitudinal e circular da uretra. A quantificação do colágeno foi feita pela determinação de

hidroxiprolina após desidratação e digestão dos espécimes, o que, em teoria, reflete bem o conteúdo de colágeno na peça, na maioria dos trabalhos determinado pela contagem manual com a estereologia.

A metiltestosterona é o andrógeno mais prescrito para mulheres na pós-menopausa e, indicada mais precisamente a mulheres com menopausa cirúrgica, em que os sintomas típicos – vasomotores, secura vaginal, queda da libido e diminuição da sensação de bem-estar – são bem mais dramáticos do que na menopausa natural. Seu uso, associado aos estrógenos na terapia de reposição hormonal (TRH), mostrou melhora na sensação de bem-estar, da libido e, por vezes, até na frequência de coito e orgasmo (SHERWIN, 2002; BARRET-CONNOR *et al.*, 1999). Quanto aos seus efeitos no trato urinário, poucos estudos estão disponíveis na literatura.

O uso de andrógenos na TRH não é isento de efeitos colaterais, entre eles hirsutismo e alterações na voz (rara). Por isso a dose empregada em humanos deve ser a menor possível. Tentando simular esta situação, foi utilizada no trabalho uma dose de testosterona baixa, insuficiente para alterar o padrão citológico vaginal, mas capaz de determinar mudanças na receptividade sexual (BLASBERG *et al.*, 1996). Outra razão, igualmente importante, para a escolha desta dose foi permitir a comparação com os resultados de outro trabalho recente com objetivos semelhantes (MADEIRO *et al.*, 2002).

O uso de hormônio andrógeno em animais hípidos e castrados não produziu mudanças na quantidade de fibras musculares, nem de matriz colágena, no tecido periuretral. Os dados de MADEIRO *et al.* (2002) foram concordantes quanto à quantificação do colágeno, pois a suplementação com andrógeno em ratas ooforectomizadas não alterou a percentagem destas fibras na uretra. Da mesma forma, ratas ooforectomizadas que receberam estrógeno (seria o grupo correspondente ao de ratas não-

ooforectomizadas) tiveram menor quantidade de colágeno do que o grupo controle, efeito anulado pela adição do andrógeno ao tratamento. A não interferência dos hormônios andrógenos sobre a quantidade de colágeno tanto na pele quanto no trato urinário de mamíferos é demonstrada em estudos isolados (RASMUSSEN, 1968; JØRGENSEN & SCHMIDT, 1962).

Quanto às fibras musculares, MADEIRO *et al.* (2002) mostraram pequeno aumento delas na uretra das ratas que receberam andrógeno + estrógeno em relação àquelas que receberam estrógenos apenas. Entre as ratas ooforectomizadas entretanto, houve aumento significativo da musculatura periuretral com o uso da MT, o que não foi verificado em nosso estudo. Deve-se ressaltar que em todos os trabalhos citados, como neste, não houve controle sérico do nível de hormônios esteróides durante a administração das drogas. Por isso, não é possível descartar diferenças significativas em sua biodisponibilidade e ação nos tecidos-alvo entre os estudos. Outro ponto a ser considerado refere-se às condições de acondicionamento dos animais. Havendo qualquer estímulo à atividade física (por exemplo, com uma roda de corrida), o grau de hipertrofia muscular, inclusive dos tecidos pélvicos, pode ser diferente, resultando em discrepâncias na proporção de pontos coincidentes numa grade de estereologia ao microscópio.

CONCLUSÃO

A pesquisa concernente ao papel dos hormônios andrógenos sobre a morfologia do trato urinário de fêmeas de mamíferos mostra resultados divergentes e nenhuma conclusão a respeito das propriedades biomecânicas ou da atividade *in vivo* (e.g., pressões uretrais) destes órgãos. Nossos resultados, aliados à falta de estudos clínicos consistentes, mostram

que os hormônios andrógenos provavelmente não têm lugar na terapêutica da incontinência urinária na mulher.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHTON-MILLER, J. A.; HOWARD, D.; DeLANCEY, J. O. The Functional Anatomy of the Female Pelvic Floor and Stress Continence Control System. **Scandavian Journal of Urology and Nephrology. Supplementum**, v. 207, p. 1-7, discussion p. 106-125, 2001.

BALLAGH, S. A. Vaginal Hormone Therapy for Urogenital and Menopausal Symptoms.

Seminars in Reproductive Medicine, v. 23, n. 2, p. 126-140, mai. 2005.

BARRET-CONNOR, E.; YOUNG, R.; NOTELOVITZ, M. *et al.* A Two-year, Double-blind Comparison of Estrogen-Androgen and Conjugated Estrogens in Surgically Menopausal Women. Effects on Bone Mineral Density, Symptoms and Lipid Profiles. **The Journal of Reproductive Medicine**, v. 44, n. 12, p. 1012-1020, dez. 1999.

BLASBERG, M. E.; LANGAN, C. J.; CLARK, A. S. The Effects of 17 Alpha-methyltestosterone, Methandrostenolone, and Nandrolone Decanoate on the Rat Estrous Cycle. **Physiology & Behavior**, v. 61, n. 2, p. 265-272, fev. 1997.

BUMP, R. C.; FRIEDMAN, C. I. Intraluminal Urethral Pressure Measurements in the Female Baboon: Effects of Hormonal Manipulation. **The Journal of Urology**, v. 136, n. 2, p. 508-511, aug. 1986.

CASTRO-DIAZ, D.; AMOROS, M. A. Pharmacotherapy for Stress Urinary Incontinence.

Current Opinion in Urology, v. 15, n. 4, p. 227-230, jul. 2005.

CELAYIR, S.; ILCE, Z.; DANISMEND, N. Effects of Male Sex Hormones on Urodynamics in Childhood: Intersex Patients Are a Natural Model. **Pediatric Surgery International**, v. 16, n. 7, p. 502-504, 2000.

CHEN, Y. C.; CHEN, G. D.; HU, S. W. et al. Is the Occurrence of Storage and Voiding Dysfunction Affected by Menopausal Transition or Associated with the Normal Aging Process? **Menopause (New York, N.Y.)**, v.10, n. 3, p. 203-208, may-jun. 2003a.

CHEN, B.; WEN, Y.; ZHANG, Z. et al. Menstrual Phase-dependent Gene Expression Differences in Periurethral Vaginal Tissue from Women with Stress Incontinence. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 189, n. 1, p. 89-97, jul. 2003b.

COPAS, P.; BUKOVSKY, A.; ASBURY, B. et al. Estrogen, Progesterone, and Androgen Receptor Expression in Levator Ani Muscle and Fascia. **Journal of Women's Health & Gender-based Medicine**, v. 10, n. 8, p. 785-795, oct. 2001. Resumo.

DAVIS, S. R.; BURGER, H. G. The Role of Androgen Therapy. **Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 17, n. 1, p. 165-175, mar. 2003.

de DEUS, J. M.; GIRÃO, M. J. B. C.; SARTORI, M. G. F. Glycosaminoglycan Profile in Bladder and Urethra of Castrated Rats Treated with Estrogen, Progestogen and Raloxifene. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 189, n. 6, p. 1654-1659, dec. 2003.

DIOKNO, A. C.; ESTANOL, M. V.; MALLETT, V. Epidemiology of Lower Urinary Tract Dysfunction. **Clinical obstetrics and gynecology**, v. 47, n. 1, p. 36-43, mar. 2004.

EIKA, B.; SALLING, L. N.; CHRISTENSEN, L. L. *et al.* Long-term Observation of the Detrusor Smooth Muscle in Rats. Its Relation to Ovariectomy and Estrogen Treatment. **Urological Research**, v. 18, n. 6, p. 439-442, 1990.

FALCONER, C.; EKMAN-ORDEBERG, G.; ULMSTEN, U. *et al.* Changes in Paraurethral Connective Tissue at Menopause Are Counteracted by Estrogen. **Maturitas**, v. 24, n. 3, p. 197-204, jul. 1996.

GRIEBLING, T. L.; NYGAARD, I. E. The Role of Estrogen Replacement Therapy in the Management of Urinary Incontinence and Urinary Tract Infection in Postmenopausal Women. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 347-360, jun. 1997.

HALE, D. S.; BENSON, J. T.; BRUBAKER, L. *et al.* Histologic Analysis of Needle Biopsy of Urethral Sphincter from Women with Normal and Stress Incontinence with Comparison of Electromyographic Findings. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 180, n. 2 Pt. 1, p. 342-348, mar. 1999.

KIELB, S. J. Stress Incontinence: Alternative to Surgery. **International Journal of Fertility and Women's Medicine**, v. 50, n. 1, p. 24-29, jan-fev. 2005.

IOSIF, C. S.; AL-HIJI, J.; SAMSIOE, G. Effects of Tamoxifen and Estradiol on Estrogen Binding Sites in the Urogenital Tract: an Experimental Study in the Rabbit. **Gynecological Endocrinology : the Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology**, v. 16, n. 5, p. 379-383, oct. 2002. Resumo.

JOLLEYS, J. V. Reported Prevalence of Urinary Incontinence in Women in a General Practice. **British Medical Journal (Clinical Research ed.)**, v. 296, n. 6632, p. 1300-1302, may 1988.

JØRGENSEN, M. B.; SCHMIDT A. Influence of Sex Hormones on Granulation Tissue Formation and on Healing of Linear Wounds. **Acta Chirurgica Scandinavica**, v. 124, p. 1-10, jul. 1962.

JUNG, B. H.; BAI, S. W.; CHUNG, B. C. Urinary Profile of Endogenous Steroids in Postmenopausal Women with Stress Urinary Incontinence. **The Journal of Reproductive Medicine**, v. 46, n. 11, p. 969-974, nov. 2001.

KLUTKE, J. J.; BERGMAN, A. Hormonal Influence on the Urinary Tract. **The Urologic Clinics of North America**, v. 22, n. 3, p. 629-639, aug. 1995.

LARSON, B.; COLLINS, A.; LANDGREN, B. M. Urogenital and Vasomotor Symptoms in Relation to Menopausal Status and the Use of Hormone Replacement Therapy (HRT) in Healthy Women during Transition to Menopause. **Maturitas**, v. 28, n. 2, p. 99-105, dec. 1997.

MADEIRO, A.; GIRÃO, M.; SARTORI, M. Effects of the Association of Androgen-Estrogen on the Bladder and Urethra of Castrated Rats. **Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology**, v. 29, n. 2, p. 117-120, 2002.

MÄKĒLA, S.; STRAUSS, L.; KUIPER, G. et al. Differential Expression of Estrogen Receptors Alpha and Beta in Adult Rat Accessory Sex Glands and Lower Urinary Tract. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 170, n 1-2, p. 219-229, dec. 2000.

MAZER, N. A. Testosterone Deficiency in Women: Etiologies, Diagnosis, and Emerging Treatments. **International Journal of Fertility & Women's Medicine**, v. 47, n. 2, p. 77-86, mar.-apr. 2002.

PERSSON, K.; SVANE, D.; GLAVIND, B. *et al.* Effects of Ovariectomy on Mechanical Properties and Collagen Content in Rabbit Lower Urinary Tract Smooth Muscle. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology**, v. 30, n. 1, p. 7-14, fev. 1996.

PETROS, P.E. P., ULMSTEN, U. I. An Integral Theory and its Method for the Diagnosis and Management of Female Urinary Incontinence. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology. Supplementum**, v. 153, p. 1-93, 1993.

PHILLIPS, J. I.; DAVIES, I. The Comparative Morphology of the Bladder and Urethra in Young and Old Female C57BL/1crfat Mice. **Experimental Gerontology**, v. 15, n. 6, p. 551-562, 1980.

RASMUSSEN, F. Effect of Androgens and Anabolic Steroids on Rabbit Urinary Bladder and Ureter. Biochemical and Morphological Studies on Intact Tissues and Healing Wounds. **Acta Endocrinologica (Copenh)**, v. 57, n. 3, p. 414-426, mar. 1968.

ROBINSON, D.; CARDOZO, L. D. The Role of Estrogens in Female Lower Urinary Tract Dysfunction. **Urology**, v. 62, n. 4, suppl. 1, p. 45-51, oct. 2003.

ROCHA, M. A.; SARTORI, M. G.; GIRÃO, M. J. *et al.* Histomorphometric Study of the Inferior Urinary Tract of Adult Female Rats during the Interval between Castration and Hormonal Replacement. **Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology**, v. 30, n. 2-3, p. 111-116, 2003.

SARTORI, M. G. F.; GIRÃO, M. J. B. C.; de JESUS SIMÕES, M. *et al.*
Quantitative Evaluation of Collagen and Muscle Fibers in the Lower Urinary Tract of
Castrated and under-Hormone Replacement Female Rats. **Clinical and Experimental
Obstetrics & Gynecology**, v. 28, n. 2, p. 92-96, 2001.

SHERWIN, B. B. Randomized Clinical Trials of Combined Estrogen-androgen
Preparations: Effects on Sexual Functioning. **Fertility and Sterility**, v. 77, suplem. 4, p.
49-54 abr. 2002.

SLATER, C. C.; ZHANG, C.; HODIS, H. N. Comparison of Estrogen and
Androgen Levels after Oral Estrogen Replacement Therapy. **The Journal of Reproductive
Medicine**, v. 46, n. 12, p. 1052-1056, dec. 2001.

SUSSET, J. G.; SERVOT-VIGUIER, D.; LAMY, F. *et al.* Collagen in 155 Human
Bladders. **Investigative Urology**, v. 16, n. 3, p. 204-206, nov. 1978.