

HYPERCHOLESTEROLEMIA IN RABBIT INDUCES INCREASE IN THICKNESS OF THE PENILE TUNICA ALBUGINEA

CLÁUDIO TELÖKEN, MÍRIAM DAMBROS, DOUGLAS BONHENBERGER,
MARINA ROSA FILHA, RAFAEL DE CONTI, CARLOS ARY VARGAS SOUTO

Division of Urology, Federal Foundation School of Medicine, Porto Alegre, RS, Brazil

ABSTRACT

Introduction and Objective: Hypercholesterolemia and other vascular risk factors for atherosclerosis are commonly associated with impotence. The main purpose of this study is to determine the possible effects of the hypercholesterolemic diet in the following parameters: a)- the thickness of rabbit penile albuginea tunica; b)- surface of smooth muscle cells in the corpora cavernosa; c)- blood analysis of cholesterol and testosterone.

Methods: Twenty-seven, 8 weeks old New Zealand male rabbits were randomly divided into 3 groups: group-1: the animals were treated with standard diet (low cholesterol) during 10 weeks; group-2: the animals were treated with hypercholesterolemic diet (high cholesterol) during 5 weeks; group-3: the animals were treated with hypercholesterolemic diet during 10 weeks. After the period determined, the animals were sacrificed and the penises were dissected. The morphologic characteristics of the penis and the blood levels of cholesterol, triglycerides and testosterone were determined. The morphometric analysis was performed with the aid of a computed system.

Results: The main penile size in the control group (group-1) was 2.45 cm, in group-2 was 2.54 cm, and in group-3 was 2.56 cm. There was no statistically significant difference between the groups. The main thickness of the penile tunica albuginea and the surface of smooth muscle cells were 767.1 μ m and 139834 μ m² in the control group, 810.2 μ m and 142344 μ m² after 5 weeks with hypercholesterolemic diet and 1045.3 μ m and 145345 μ m² after 10 weeks with hypercholesterolemic diet, respectively. The statistic analysis showed increase in the tunica albuginea after 10 weeks in the animals with hypercholesterolemic diet. The blood levels of cholesterol and testosterone were 100 mg/100 ml and 168.4 ng/dl in the control group, 103.4 mg/100 ml and 217 ng/dl after 5 weeks with hypercholesterolemic diet and 314.1 mg/100 ml and 1097 ng/dl after 10 weeks with hypercholesterolemic diet, respectively.

Conclusion: A period of 10 weeks of hypercholesterolemic diet induced increase of the thickness of rabbits penile tunica albuginea and increase in the blood levels of cholesterol and testosterone.

Key words: penis; corpus cavernosum; hypercholesterolemia; tunica albuginea; rabbits

Braz J Urol, 26: 535-540, 2000

INTRODUÇÃO

A ereção peniana é um fenômeno multifatorial que envolve vários sistemas. Fatores que alteram qualquer um destes, podem contribuir para a disfunção erétil. Os principais fatores de risco envolvidos são o fumo, diabetes, hipertensão arterial sistêmica e hipercolesterolemia (1). Entretanto, dúvidas existem sobre a fisiopatogenia da disfunção erétil orgânica. A incidência de impotência masculina

na orgânica atinge índices de 50% na população com 50 anos (1), porém estes valores vão aumentando nos grupos mais velhos.

O aumento na frequência de impotência com a idade tem sido associada às alterações arterioscleróticas nas artérias do pênis (2). Estudos em animais têm demonstrado diminuição do relaxamento dos vasos sanguíneos da musculatura lisa dos corpos cavernosos, decorrente de alterações no endotélio dos vasos, causados pela hipercolesterolemia (3). O me-

canismo da disfunção do endotélio, assim como os efeitos da hipercolesterolemia na musculatura lisa e na túnica albugínea do corpo cavernoso não foram completamente elucidados.

A túnica albugínea peniana é uma espessa e não distensível bainha que envolve os corpos cavernosos. Possui papel importante no mecanismo de ereção e afecções desta túnica podem ser responsáveis por quadros de disfunção sexual (4).

O propósito deste estudo é demonstrar os efeitos da dieta hipercolesterolêmica nas características morfológicas do pênis de coelhos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no período de janeiro a agosto de 1999.

Animais: foram utilizados 27 coelhos machos da raça Nova Zelândia, com idade de 80 dias no início do experimento. Foram divididos, de forma randomizada, em 3 grupos:

Grupo-1: composto por 7 coelhos que receberam durante 10 semanas dieta purina padrão para a idade e raça.

Grupo-2: composto por 10 coelhos que receberam durante 5 semanas dieta hipercolesterolêmica.

Grupo-3: composto por 10 coelhos que receberam durante 10 semanas dieta rica em colesterol.

Dieta: Dieta purina era composta por ração rica em sais minerais e proteínas, com baixos índices de colesterol.

A dieta hipercolesterolêmica constitui-se de ração purina acrescida de 0.5% de colesterol puro e 4% de gordura animal, foi preparada semanalmente pelos pesquisadores.

Foi fornecido aproximadamente 150 gr de ração/ diariamente para cada coelho e água livremente.

Experimento: Os animais receberam durante o período pré determinado a dieta para cada grupo. Após, foram anestesiados com tiopental intraperitoneal (5 mg/100 gr de peso) e coletado sangue venoso da orelha para dosagem sérica de testosterona total, colesterol total e triglicerídios. Foram sacrificados no mesmo momento, com 5 ml de cloreto de potássio a 10% intra cardíaco. Realizado, então, amputação peniana ao nível das glândulas de Cowper. O

pênis foi pesado com balança eletrônica e mensurado através de um paquímetro (3 medidas). Após coloração com hematoxilina e eosina foram quantificadas a espessura da túnica albugínea e a área correspondente a musculatura lisa do corpo cavernoso. Para tal foi utilizado o computador Leica 500 para a análise morfométrica. Este consta de um software que permite a avaliação histomorfométrica quantitativa e qualitativa. A lâmina histológica em estudo é demonstrada no monitor do computador. Marca-se a extensão que deseja-se mensurar, através de uma régua que é apresentada na barra de ferramentas do software, e obtém-se o valor da medida. Na mensuração da albugínea, o procedimento foi repetido em 3 locais diferentes da túnica, e realizado uma média aritmética para aproximar-se mais fielmente do valor real da sua espessura no animal em estudo. A área correspondente ao músculo liso foi avaliada da seguinte forma: selecionou-se a cor que representava o músculo na coloração utilizada e solicitou-se a mensuração desta área. O procedimento foi repetido 3 vezes e realizado média aritmética dos resultados.

Análise estatística: a comparação envolvendo variáveis independentes foi feita utilizando o teste do Qui quadrado com fator corretivo de Yates. Para identificar contraste entre grupos foi utilizado teste de Duncan. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0.05$.

RESULTADOS

Os resultados estão dispostos a seguir conforme os grupos delineados previamente na metodologia:

Grupo-1 (grupo controle) (Tabela-1)

Os animais tiveram um aumento do peso corporal total de aproximadamente 620 gr no final do experimento. A média do comprimento e peso penianos foi 2.45cm e 0.46 gr, respectivamente. A média da área correspondente ao músculo liso do corpo cavernoso foi 139834 μm^2 e da espessura da albugínea foi 767.1 μm (Figura-1). A dosagem sérica da testosterona foi 168.4 ng/dl, o colesterol total 100 mg/100 ml e os triglicerídios 98.2 mg/100ml (médias).

Grupo-2 (5 semanas de dieta hipercolesterolêmica) (Tabela-2)

Tabela 1: Grupo controle

	Peso do coelho		Pênis				Hormônios				
	Pré (gr)	Pós (gr)	Peso (gr)	Tamanho (µm)	TA (µm)	Corpo Cavernoso (µm ²)	T (ng/dl)	Colesterol Total (mg/100ml)	HDL (mg/100ml)	LDL (mg/100ml)	Tg (mg/100ml)
1	2600	3500	0.40	2.5 x 0.5	830.0	133752	217.0	100.0	< 10	92.3	88.3
2	2700	3500	0.40	2.3 x 0.6	760.2	139875	201.0	100.0	< 10	76.0	70.0
3	2800	3300	0.53	2.5 x 0.7	803.3	139000	118	100.0	< 10	76.0	70.0
4	3000	3500	0.55	2.7 x 0.5	684.7	143210	186.0	100.0	15.4	96.9	92.5
5	2500	2900	0.34	2.1 x 0.5	753.2	142137	189.0	100.0	< 10	61.0	145.0
6	2600	3500	0.52	2.7 x 0.6	794.4	135789	150.0	100.0	10.5	92.0	92.3
7	2700	3100	0.50	2.4 x 0.7	743.0	145075	118.0	100.0	19.7	93.9	129.0

TA = túnica albugínea; T = testosterona; Tg = triglicerídio

O aumento médio do peso neste grupo, no final do estudo, foi de 1070 gr. A média do comprimento e peso penianos foi 2.54 cm e 0.48 mg, respectivamente. A área do músculo liso e a espessura da túnica albugínea foi 142344 µm² e 810.2 µm, respectivamente. A média da dosagem da testosterona foi 217 ng/dl, o colesterol total 103.4 mg/100 ml e os triglicerídios 114.6 mg/100 ml.

Grupo-3 (10 semanas de dieta hipercolesterolêmica) (Tabela-3)

A média do aumento do peso dos animais foi 920 gr, do comprimento peniano foi 2.56cm e o peso do pênis foi 0.47gr. A área média do músculo liso do corpo cavernoso e a espessura da albugínea foi 145345 µm² e 1045.3µm (Figura-2), respectivamente. O valor médio da testosterona foi 1097ng/dl,

Tabela 2 – Grupo que recebeu durante 5 semanas dieta rica em colesterol.

	Peso do coelho		Pênis				Hormônios				
	Pré (gr)	Pós (gr)	Peso (gr)	Tamanho (µm)	TA (µm)	Corpo Cavernoso (µm ²)	T (ng/dl)	Colesterol Total (mg/100ml)	HDL (mg/100ml)	LDL (mg/100ml)	Tg (mg/100ml)
1	2600	3200	0.53	2.3 x 0.5	805.3	145625	180.0	123.0	19.8	117.8	76.6
2	2900	3300	0.61	2.4 x 0.65	905.4	139856	209.0	105.0	11.9	293.9	196
3	2500	3000	0.70	2.5 x 0.6	798.3	138998	169.0	86.0	13.7	87.0	96.1
4	2600	3400	0.56	2.1 x 0.6	799.8	142152	291.0	102.0	18.4	103.6	100.0
5	3000	3500	0.57	2.5 x 0.6	802.6	140201	186.0	139.0	17.7	157.3	70.0
6	3000	3500	0.61	2.5 x 0.6	810.3	129878	256.0	98.0	15.3	102.5	100.2
7	2400	2900	0.52	2.4 x 0.6	823.2	148999	245.0	107.0	12.4	104.2	102.3
8	2600	3100	0.54	2.3 x 0.5	745.2	133654	236.0	90.0	13.8	204.3	95.3
9	2700	3100	0.68	2.2 x 0.6	805.0	151020	259.0	100.0	15.3	178.9	112.4
10	3100	3500	0.72	2.5 x 0.6	806.0	153057	139.0	116.0	11.2	100.2	197.1

TA = túnica albugínea; T = testosterona; Tg = triglicerídio

Tabela 3 – Grupo com dieta rica em colesterol por 10 semanas.

	Peso do coelho		Pênis				Hormônios				
	Pré (gr)	Pós (gr)	Peso (gr)	Tamanho (µm)	TA (µm)	Corpo Cavernoso (µm ²)	T (ng/dl)	Colesterol Total (mg/100ml)	HDL (mg/100ml)	LDL (mg/100ml)	Tg (mg/100ml)
1	2800	3200	0.64	2.8 x 0.5	1051.2	142356	1119.0	225	45.1	165.9	70.0
2	2600	3300	0.5	2.3 x 0.5	985.3	148769	1500.0	>500	23.7	442.5	169.0
3	2800	3800	0.45	0.22x0.7	998.2	138596	1136.0	>500	25.1	438.1	184.0
4	3200	4300	0.45	2.2 x 0.6	1122.3	135789	927.0	250	35.5	195.9	92.7
5	3000	4300	0.45	2.0 x 0.7	1054.2	149563	934.0	133	25.9	91.8	76.2
6	2600	4000	0.46	2.2 x 0.5	945.3	142345	1500.0	224	32.9	176.6	72.2
7	3000	3200	0.50	2.5 x 0.5	1098.5	148963	873.0	208	10.3	203.4	74.3
8	2800	3100	0.50	2.8 x 0.5	1048.9	145236	907.0	124	30.9	79.1	70.0
9	2600	4100	0.25	2.0 x 0.5	1054.0	157015	980.0	477	10.0	471.2	98.8
10	2800	4100	0.58	2.3 x 0.6	1095.0	145017	1094.0	>500	13.8	425.2	305.0

TA = túnica albugínea; T = testosterona; Tg = triglicerídio

do colesterol 314.1 mg/100 ml e triglicerídios totais 122.2 mg/100 ml, respectivamente.

A análise estatística comparativa entre os grupos não evidenciou alterações significativas no peso e comprimentos penianos; assim como, na área correspondente ao músculo liso cavernoso e dosagem de triglicerídios. Houve aumento significativo ($p < 0.05$) na espessura da túnica albugínea somente após 10 semanas de dieta rica em colesterol. Os níveis de

testosterona e colesterol total foram significativamente maiores neste mesmo grupo.

DISCUSSÃO

Este estudo demonstra os efeitos da dieta rica em colesterol no pênis de coelhos, colaborando com outras pesquisas que vêm surgindo, que procuram esclarecer a fisiopatogenia da disfunção erétil masculina.

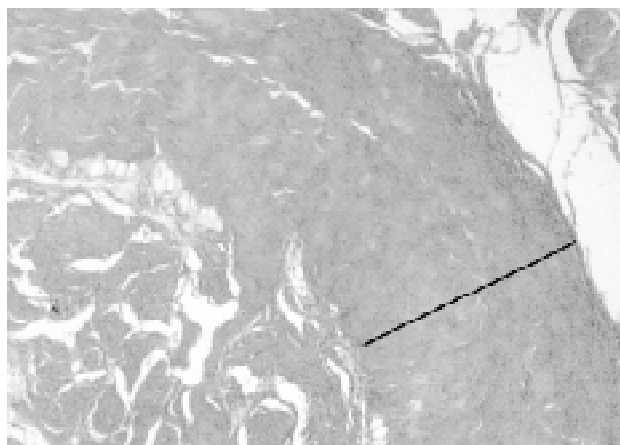


Figura 1 – Corte da túnica albugínea do pênis de animal do grupo controle, que recebeu somente dieta purina, demonstrando a espessura da albugínea - 794.4 µm (HE, X 400).

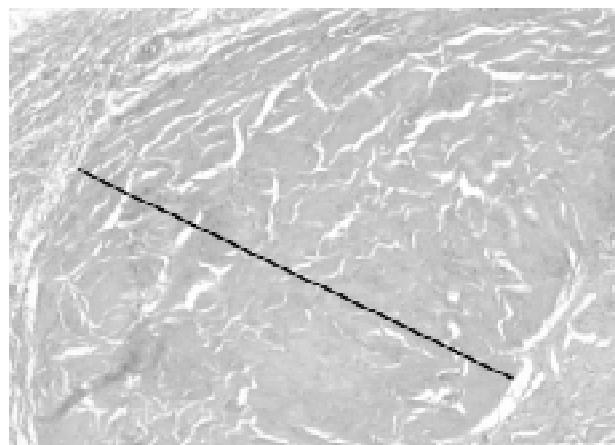


Figura 2 – Corte da túnica albugínea do pênis de animal do grupo-3, que recebeu dieta hipercolesterolêmica durante 10 semanas, demonstrando albugínea espessada - 1054.2 µm (HE, X 400)

Jünemann, em recente trabalho, avaliou a ação da dieta hipercolesterolêmica no pênis, demonstrando uma diminuição da membrana basal e diminuição dos contatos da membrana entre as células, interferindo com a transmissão intercelular da excitação (1). Constatou também uma diminuição da área correspondente a musculatura lisa cavernosa, fato este não identificado neste estudo, talvez pelo método de mensuração utilizado pelos autores, microscopia óptica associada a computador Leica neste e eletrônica naquele. Este mesmo estudo demonstrou, associado as fibras musculares diminuídas, um aumento da densidade do tecido conectivo do corpo cavernoso (1). Comparativamente, detectamos em nossa pesquisa, aumento da espessura da túnica albugínea após 10 semanas de dieta acrescida de colesterol, podendo corresponder a ação do colesterol no tecido conectivo, tornando-o mais denso, com perda da distensibilidade.

Recentemente, tem ocorrido um crescente interesse pelo estudo da forma estrutural e funcional da túnica albugínea, bem como seu papel no mecanismo da ereção peniana (4,5). Tais fatos ainda não foram totalmente compreendidos, necessitando ainda estudos maiores nesta área.

A túnica albugínea é formada por fibras elásticas e colágeno, estando envolvida com o mecanismo da ereção, participando das etapas de extensibilidade, complacência e venoclusão (6). As fibras colágenas possuem elasticidade limitada devido a sua configuração molecular, as elásticas, as quais são compostas de elastina e microfibrilas, podem alongar-se até 150% a mais do seu tamanho inicial (7). Defeitos nestas fibras alteram a hemodinâmica e complacência do pênis, podendo levar à disfunção erétil (8).

Demonstramos, pela análise morfométrica, espessamento da albugínea na vigência de níveis elevados de colesterol. Seria o espessamento um dos fatores responsável pelo mecanismo da disfunção erétil em homens hipercolesterolêmicos?

A hipercolesterolemia estimula a produção de testosterona tanto pela glândula supra-renal quanto pelo testículo (9,10). Elevados níveis de testosterona associados ao aumento do colesterol sérico parecem piorar o mecanismo de relaxamento endo-

telial, porém este comportamento não foi reproduzido quando analisado independentemente a ação da testosterona e do colesterol sobre os vasos sanguíneos (11). Neste estudo constatamos aumento da testosterona no grupo com alterações da albugínea, haveria então um mecanismo direto ou indireto da testosterona, quando em níveis supra fisiológicos, em induzir espessamento da túnica?

Ao longo do tempo tem-se procurado determinar a fisiopatogenia da disfunção erétil com o intuito de poder melhor tratar os indivíduos que possuem incapacidade de obter relações sexuais satisfatórias. Frente a isto, estudos experimentais comparando diferentes fatores de riscos e suas alterações no pênis têm colaborado para este fim, portanto devem ter sua prática estimulada.

CONCLUSÃO

A dieta hipercolesterolêmica, por um período mínimo de 10 semanas, foi responsável pelo aumento dos níveis séricos de testosterona e do colesterol total. Houve também um espessamento significativo da túnica albugínea que envolve os corpos cavernosos. Não constatamos alterações na área correspondente ao músculo liso do corpo cavernoso ou diferenças no peso e comprimento penianos.

REFERÊNCIAS

1. Jünemann KP, Aufenanger J, Konrad T, Pill J, Berle B, Jünemann CP, Alken P: The effect of impaired lipid metabolism on the smooth muscle cells of rabbits. *Urol Res*, 9: 271-175, 1991.
2. Jünemann CP, Diedrichs W, Lue TF: Correlation of impaired penile ultrastructure to quantified clinical impotence. *Proceedings of the Sixth Biennial International Symposium for Corpus Cavernosum Revascularization. Third Biennial World Meeting on Impotence: 6-9, 1988.*
3. Azadzo KM, Tejada IS: Hypercholesterolemia impairs endothelium-dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle. *J Urol*, 146: 238-240, 1991.

4. Akkus A, Carrier S, Baba K, Hsu GL, Padma-Nathan H, Nunas L, Lue TF: Structural alterations in the tunica albuginea of the penis: impact of Peyronie's disease, ageing and impotence. *Br J Urol*, 79: 47-53, 1997.
5. El Sakka AI, Selph CA, Yen TS, Dahir R, Lue TF: The effect of surgical trauma on rat tunica albuginea. *J Urol*, 159: 1700-1707, 1998.
6. Goldestein AMB, Meehan JP, Morrow JW, Buckley PA, Rogers FA: The fibrous skeleton of the corpora cavernosa and its probable function in the mechanism of erection. *Br J Urol*, 57: 574-578, 1985.
7. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: *Basic Histology*. Norwalk, Appleton & Lange, 7th ed, p 95, 1992.
8. Bitsch M, Kromann-Andersen, Schou J, Sjøntoft E: The elasticity and the tensile strength of the tunica albuginea of the corpora cavernosa. *J Urol*, 143: 642-645, 1990.
9. Azzarito C, Boiardi L, Vergoni W, Zini M, Portioli I: Testicular function in hypercholesterolemic male during prolonged simvastatin treatment. *Horm Metab Res*, 28: 193-198, 1996.
10. Bernini GP, Brogi G, Argenio GF, Moretti A: Effects of long-term pravastatin treatment on spermatogenesis and on adrenal and testicular steroidogenesis in male hypercholesterolemic patients. *J End Invest*, 21: 310-317, 1998.
11. Hutchison SJ, Sudhir K, Chou TM, Sievers RE, Sun YP; Zhu BQ, Deedwania PC, Glantz AS, Parmley WW, Chatterjee K: Testosterone worsens endothelial dysfunction associated with hypercholesterolemia and environmental tobacco smoke exposure in male rabbit aorta. *J Am Cardiol*, 29: 800-807, 1997.

Received: January 27, 2000

Accepted after revision: August 8, 2000

Correspondence address:

Dra. Míriam Dambros
 Rua Lindolfo Alves de Almeida, 228
 95530-000, Maquiné, RS, Brazil
 Fax: + + (55) (51) 628-1193