

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO



Tese de Mestrado Integrado em Medicina

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

Sónia Andreia Mimoso L. de O. Ferreira

Orientadores

Professor Doutor Paulo Correia-de-Sá

Dr. Miguel Silva Ramos

Porto, Junho 2011

U. PORTO

 **INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR**
UNIVERSIDADE DO PORTO



Tese de Mestrado Integrado em Medicina

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

Sónia Andreia Mimoso L. de O. Ferreira

**Artigo científico para obtenção do grau de Mestre em Medicina pela
Universidade do Porto**

Trabalho realizado no Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto (HSA-CHP) e Laboratório de Farmacologia e Neurobiologia, Unidade Multidisciplinar de Investigação Biomédica (UMIB), do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar – Universidade do Porto (ICBAS-UP) sob a orientação científica do Professor Doutor Paulo Correia-de-Sá (Professor Catedrático do Departamento de Imuno-Fisiologia e Farmacologia do ICBAS-UP, Director do Laboratório de Farmacologia e Neurobiologia do ICBAS-UP e Coordenador Científico da UMIB) e Dr. Miguel Silva Ramos (Médico Especialista de Urologia, Assistente Hospitalar Graduado do CHP-HSA e Professor Auxiliar Convidado do Ciclo Clínico do ICBAS-UP).

Porto, Junho 2011

Agradecimentos

Ao apresentar-se um trabalho de investigação, torna-se delicado enumerar aqui todos aqueles que, de alguma forma, inspiraram a sua escrita e, com a sua exigência crítica, estímulo instrutivo ou amizade peculiar contribuíram para a sua realização.

Ao Dr. Miguel Silva-Ramos, não poderia deixar remeter algumas palavras de reconhecimento, admiração e gratidão, pelo acolhimento intelectual e humano com que me acompanhou neste trabalho.

Ao Professor Doutor Paulo Correia-de-Sá, agradeço o apoio, a partilha do saber e as valiosas contribuições. Obrigada por me conduzir nesta jornada e estimular o meu interesse pelo conhecimento.

À Dr^a. Isabel Silva, que com amizade, cuidado, disponibilidade e paciência, partilhou comigo os momentos menos fáceis, mas também os mais divertidos e gratificantes.

À Dr^a. Margarida Duarte Araújo, pela ajuda, carinho e apoio dado nos momentos em que precisei.

A todos do laboratório de Farmacologia e Neurobiologia do ICBAS que contribuíram, directa ou indirectamente, de alguma forma, seja com um sorriso ao descer das escadas, uma palmadinha carinhosa nas costas, uma palavra de motivação ou um abraço sincero.

À minha família e amigos que me acompanham sempre.

Este trabalho foi financiado com recurso a fundos disponibilizados pela FCT (FEDER, PTDC/SAU-OSM/104369/2008 e UMIB-215/94), Universidade do Porto, Santander Totta e Associação Portuguesa de Urologia. Um agradecimento em particular, uma vez que, sem este financiamento este estudo não seria exequível.

Trabalhos apresentados

Does urinary ATP play a role as a biomarker of detrusor overactivity?

S. Ferreira^{1,2}, I. Silva¹, O. Oliveira^{1,2}, M. Duarte-Araújo¹, J. C. Oliveira³, F. Brava³, M. Silva-Ramos^{1,2} & P. Correia-de-Sá¹

Congresso Nacional da APU 2011

Índice

Agradecimentos.....	3
RESUMO/ABSTRACT.....	5
INTRODUÇÃO.....	8
MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
Estudo 1.....	18
Estudo 2.....	21
RESULTADOS.....	24
Estudo 1.....	24
Estudo 2.....	30
DISCUSSÃO.....	35
Estudo 1.....	35
Estudo 2.....	36
REFERÊNCIAS.....	40
ANEXOS.....	44

RESUMO

Introdução: A síndrome de bexiga hiperactiva tem um impacto significativo sobre a qualidade de vida dos doentes, além de ser uma condição prevalente. A sua fisiopatologia ainda não está completamente esclarecida, mas pensa-se que a sinalização purinérgica assume um papel preponderante na regulação da actividade miccional normal e patológica. A função do ATP libertado do urotélio não está completamente esclarecida, no entanto, existem evidências de que este neurotransmissor é libertado pelas células uroteliais em resposta a estímulos químicos e mecânicos. Este nucleótido actua sobre os receptores purinérgicos P2X₃, estimulando as fibras aferentes responsáveis pelo reflexo miccional. Estudos *in vitro* evidenciaram que o urotélio e as fibras colinérgicas de amostras de doentes com bexiga hiperactiva libertam mais ATP do que os controlos. Com o advento da utilização da toxina botulínica no tracto urinário inferior, passou-se a estudar os seus efeitos e o seu mecanismo de acção. Sabe-se até agora que, em modelos animais, a toxina inibe a anormal libertação urotelial de ATP, reduz a contracção do detrusor induzida pela capsaicina e inibe a libertação de factores de crescimento neuronal na mucosa. No Homem, verificou-se que provoca uma diminuição dos receptores suburoteliais P2X₃, sugerindo um mecanismo de acção em parte mediado pelas vias aferentes, as quais também se relacionam com a melhoria da sintomatologia dos doentes com hiperactividade vesical.

Objectivos: Numa fase inicial deste trabalho, investigou-se os níveis de ATP libertados na urina de mulheres com bexiga hiperactiva idiopática, comparando-os aos do grupo controlo, e a possibilidade do ATP poder desempenhar o papel de marcador biológico não invasivo no diagnóstico e monitorização da hiperactividade vesical. Numa segunda etapa do trabalho, pretendeu estudar-se o papel da toxina botulínica sobre a libertação do ATP urinário e confrontar os resultados obtidos com a melhoria da sintomatologia apresentada pelos doentes.

Metodologia: O primeiro estudo foi realizado com uma amostra de 67 mulheres, sendo composto por 35 doentes com hiperactividade idiopática do detrusor (sem outras patologias associadas) e 32 mulheres sem sintomatologia de hiperactividade vesical, nem diagnóstico urodinâmico de hiperactividade do detrusor (grupo controlo). Todas realizaram um diário miccional durante três dias e fizeram duas colheitas de urina consecutivas para a quantificação de ATP e desidrogenase do lactato.

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

A segunda parte do trabalho foi realizada numa população heterogénea (10 mulheres e 5 homens) de doentes seleccionados consecutivamente de entre os utentes da Consulta de Urologia do CHP que apresentavam sintomatologia de hiperactividade vesical e hiperactividade do detrusor demonstrada por exame urodinâmico, com indicação para a realização de tratamento com toxina botulínica por via intravesical. Da população, constavam doentes com hiperactividade do detrusor de origem idiopática (n=11), neurogénica (n=2) e secundária a cistite intersticial (n=2). A estes doentes foi também pedido que realizassem um diário miccional, fizessem duas colheitas de urina consecutivas para quantificação de ATP e desidrogenase do lactato e, ainda, que respondessem a um questionário validado clinicamente sobre a sua sintomatologia em duas situações temporais distintas: antes e após o tratamento com a toxina botulínica. Foram utilizados 3 tipos de toxina botulínica (Botox, Dysport e Xeomin), injectadas em doses que variaram entre 100 e 500 unidades e aplicadas em 20 a 30 pontos pré-determinados no detrusor, fora da região do trígono vesical, de acordo com o protocolo de aplicação de toxina botulínica seguido pelo Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto.

A quantificação do ATP urinário foi realizada pelo método de bioluminescência resultante da reacção entre a luciferina e a luciferase, utilizando-se um *kit* comercial (Roche *kit*). Para análise estatística, utilizou-se o *software* SPSS®, versão 17.0.

Resultados: Da comparação entre os níveis de ATP urinário do grupo com bexiga hiperactiva e do grupo controlo, verificou-se que os níveis de ATP urinário eram significativamente ($p < 0,05$) mais elevados no grupo com bexiga hiperactiva do que no grupo controlo. Os demais parâmetros avaliados (volume das micções, *clearance* da creatinina, pH urinário, creatinina urinária e actividade da desidrogenase do lactato) não mostraram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os dois grupos estudados. Comparando-se a situação dos doentes com bexiga hiperactiva antes e após o tratamento com toxina botulínica, foi possível demonstrar uma melhoria sintomática após o tratamento, através da análise do questionário realizado, nomeadamente no que respeita à avaliação da “Severidade”, “Adaptação” e “Preocupação” com a doença e, ainda, no parâmetro relacionado com a qualidade de vida global (“HRQL”). A melhoria sintomática dos doentes relaciona-se com a existência de uma tendência (embora ainda sem significado estatístico) para a redução dos níveis urinários de ATP medidos após o tratamento com toxina botulínica.

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica



Conclusões: Neste estudo, foi possível demonstrar que os doentes portadores de bexiga hiperactiva idiopática possuem níveis urinários de ATP significativamente mais elevados do que o grupo controlo. Os resultados preliminares obtidos no seguimento dos doentes com bexiga hiperactiva submetidos a tratamento com toxina botulínica mostram uma tendência para que a redução dos níveis urinários de ATP acompanhe a melhoria sintomática destes doentes após o tratamento, mesmo tendo em consideração que foi utilizada neste estudo uma população reduzida e heterogénea de doentes. Sugere-se, por isso, que a quantificação dos níveis urinários de ATP pode ser considerada um biomarcador não invasivo no diagnóstico (e seguimento terapêutico) da síndrome de bexiga hiperactiva.

Palavras-chave: bexiga hiperactiva, hiperactividade do detrusor, ATP, toxina botulínica.

ABSTRACT

Introduction: Besides being a prevalent condition, the overactive bladder syndrome presents a significant impact upon the quality of life of patients. It's pathophysiology remains largely unclear however purinergic signalling is thought to assume a prevalent role in the regulation of normal and pathological voiding activity. The function of the ATP released from the urothelium is not completely understood, although, existing evidence shows that the neurotransmitter is released from the urothelial cells in response to chemical and mechanical stimuli. This nucleotide acts via P2X₃ purinergic receptors leading to the stimulation of afferent nerve fibers, which are responsible for the voiding reflex. *In vitro* studies showed that the urothelium and cholinergic fibers sampled from patients with overactive bladder release more ATP than the control group. With the advent of botulinum toxin use upon the inferior urinary tract, it's effects and mechanism of action became an issue of study interest. Currently, it is known that, in animal models, the toxin inhibits the abnormal release of ATP from the urothelium, reduces detrusor muscle contraction induced by capsaicin and inhibits the release of neuronal growth factors from the mucosa. In humans, botulinum toxin caused a reduction in the expression of suburothelial P2X₃ receptors, suggesting that its mechanism of action is operated in part by interference with afferent pathways, which are also associated with symptoms improvement in patients with overactive bladder syndromes.

Objectives: The purpose of this study was to evaluate the urinary levels of ATP in female patients with idiopathic overactive bladder as compared to a control group, in order to test whether urinary ATP can be considered a non-invasive biomarker in the diagnosis and monitoring of detrusor hyperactivity. In addition, we investigated whether amelioration of urinary symptoms as a consequence of intravesical botulinum toxin injection affected urinary ATP levels measured in due course of the treatment.

Methods: The first study included 67 female patients, 35 suffering from idiopathic detrusor overactivity confirmed by detrusor hyperactivity in urodynamic studies and 32 exhibiting no symptoms of vesical overactivity. All women used a voiding diary during a three-day period and collected two consecutive urine samples for ATP and lactate dehydrogenase measurements. Next, were selected 15 consecutive patients (10 females and 5 males) suffering from bladder overactivity, who were candidates for intravesical botulinum toxin treatment. These included patients with idiopathic (n=11), neurogenic (n=2) and interstitial

cystitis-related (n=2) detrusor overactivity. The patients were asked to make use a voiding diary, to allow the collection of two consecutive urine samples for ATP and lactate dehydrogenase measurements, as well as to respond to a validated symptoms questionnaire at two different time points: before and after treatment with botulinum toxin. Three types of toxins were used (Botox, Dysport and Xeomin); these were injected from 100 to 500 units, into 20 to 30 intradetrusor and extra trigonal spots, following the Santo António Hospital-Porto Hospital Center's toxin application protocol.

The ATP quantification was made possible using the luciferin-luciferase bioluminescent kit (Roche kit). Statistical data was analyzed using the SPSS® software, version 17,0.

Results: Urinary ATP was significantly ($p<0.05$) higher in overactive bladder female patients than in control individuals; this was consistent in the two urine samples collected for each individual. ATP levels showed no correlation with voided urine volume. No significant ($p>0.05$) changes between overactive bladder patients and controls were observed in the following parameters: mean voided volume, creatinine clearance, urinary pH, urinary creatinine and urinary lactate dehydrogenase. Was observed a tendency (yet, without statistical significance) for a reduction of urinary ATP levels following botulinum toxin application. As for the evaluated symptoms questionnaire, parameters such as “Severity”, “Adaptation”, “Concern” and the “HRQL” total score showed statistical significant differences between pre and post botulinum toxin injection, indicating symptoms amelioration.

Conclusions: The results clearly demonstrate that the urine of women with idiopathic detrusor overactivity exhibit increased amounts of ATP compared to controls. Moreover, was demonstrated that there is a tendency for urinary ATP levels to become lower after intravesical botulinum toxin injection, an effect that might positively correlate with overactive bladder symptoms amelioration. This tendency is strengthened taking into consideration that it was used a small number of individuals, who were selected consecutively among a heterogeneous patients population. These findings are consistent with urinary ATP being a highly sensitive non-invasive biomarker for the diagnosis (and follow-up) of patients with detrusor overactivity.

Key words: overactive bladder, detrusor overactivity, ATP, botulinum toxin.

INTRODUÇÃO

Bexiga Hiperactiva – Definição

De acordo com a terminologia recentemente adoptada pela *International Continence Society* (ICS), a *bexiga hiperactiva* (BH) é definida como uma síndrome caracterizada por imperiosidade miccional, com ou sem incontinência urinária de urgência, normalmente associada a polaquiúria e noctúria, na ausência de factores metabólicos (e.g. *diabetes mellitus*) ou patológicos locais (e.g. infecção urinária, neoplasia vesical, litíase)¹. A polaquiúria e a imperiosidade parecem ser mais comuns do que a incontinência¹¹.

A definição da BH é baseada num diagnóstico clínico e complementa a definição de *hiperactividade do detrusor* (HD). Esta última, por sua vez, refere-se a um diagnóstico urodinâmico, caracterizado por contracções involuntárias do detrusor, espontâneas ou provocadas, durante a fase de enchimento vesical¹. A HD é descrita como HD neurogénica (HDN) quando associada a uma condição neurológica relevante (e.g. esclerose múltipla, lesões raquimedulares) e como HD idiopática (HDI) quando não há tal associação, nem se define uma causa^{1,24}. Admite-se que, em mais de 90% dos casos, a HD seja idiopática²⁵.

Bexiga Hiperactiva – Prevalência

A prevalência da BH não era estimada até há alguns anos atrás, pois a maioria dos estudos anteriores concentrava-se apenas na incontinência urinária, sem seguir a definição da ICS. A prevalência varia consideravelmente entre 3 e 43%, um intervalo amplo justificado pela diferença de critérios utilizados para definir os casos de BH¹⁹. Em dois estudos epidemiológicos realizados anteriormente à definição da ICS (o NOBLE – “*National Overactive Bladder Evaluation*” - nos Estados Unidos, e o SIFO – “*Swedish Institute for Opinion Research*” - na União Europeia), concluiu-se que a BH afectava globalmente 17% da população adulta, a prevalência aumentava com a idade e atingia igualmente ambos os géneros^{20,27}. A incontinência urinária por imperiosidade, de acordo com estes estudos, seria contudo mais frequente nas mulheres do que nos homens²⁸. Posteriormente, no estudo EPIC, o maior estudo de base populacional que utilizou a definição da ICS, constatou-se que a prevalência global de BH é de 11,8% (10,8% em homens e 12,8% em mulheres), tendendo a aumentar com a idade. Nesse estudo, confirmou-se também que a BH é mais comum em homens do que em mulheres depois dos 60 anos e o oposto é observado em idades

inferiores aos 60 anos. Relativamente à sintomatologia, a incontinência urinária ocorre em 49% das mulheres, mas só em 30% as perdas urinárias estão associadas à imperiosidade. A incontinência urinária foi identificada em 29% dos homens, estando as perdas de urina associadas à imperiosidade em 17,5%¹⁴.

Impacto da BH na qualidade de vida

A BH não é só uma condição prevalente, mas também tem um impacto significativo na *qualidade de vida* (QV) dos doentes e leva a custos significativos para a sociedade. Esta patologia pode afectar significativamente todos os aspectos da qualidade de vida, incluindo o aspecto social (e.g. redução do contacto social, necessidade de planeamento das deslocações), psicológico (e.g. sensação de culpa e depressão, distúrbios do sono, perda de auto-estima, receio de se tornar um encargo para terceiros, de não conseguir “controlar” a bexiga e do odor a urina), ocupacional (e.g. absentismo, diminuição da produtividade), doméstico (uso de roupa de cama especial), físico (limitação ou impedimento de algumas actividades físicas, precauções especiais com o vestuário, restrição de líquidos) e sexual (restrição de contactos íntimos e sexuais)^{13,15,20,27,28,29}. Verificou-se que a BH chega a ter um impacto sobre a QV maior do que a *diabetes mellitus*¹³.

Doentes com BH tendem a ir a casa de banho com mais frequência, têm um risco aumentado de infecções do trato urinário e têm duas vezes mais riscos de sofrer um traumatismo com fracturas numa queda, especialmente os idosos. Em geral, doentes com incontinência por imperiosidade têm um risco 30% maior de quedas e de 3% de aumento do risco de fracturas¹³.

A noctúria pode levar o doente a ter fadiga crónica e dificuldade em realizar as suas actividades diárias. Verificou-se que este sintoma está directamente relacionado com uma diminuição da QV, distúrbios do sono, assim como outros problemas de saúde. Isto por sua vez, tem um impacto significativo sobre o bem-estar geral, a vitalidade e a produtividade do doente, levando a custos indirectos e substancialmente elevados¹³.

Numerosos estudos documentaram que os doentes com BH tendem a apresentar depressão. Num estudo europeu, 32% dos doentes relataram que ter sintomas de BH o faziam sentir-se deprimido e 28% relataram sentir-se muito stressados. Aqueles com incontinência por imperiosidade tiveram mais distúrbios emocionais (36,4% *versus* 19,6%) e depressão (39,8% *versus* 23,3%) do que aqueles com imperiosidade sem incontinência¹⁵. No

estudo EPIC a taxa de depressão também foi significativamente maior entre os doentes com BH do que em indivíduos normais, independentemente do *status* de continência¹⁵.

Fisiopatologia da BH/HD – As 3 Teorias

A exacta causa ou as causas da BH/HD ainda não foram identificadas. Isto deve-se, em parte, ao facto da BH ser um diagnóstico clínico e sintomático, impedindo o desenvolvimento de modelos animais confiáveis. Por esse motivo, a investigação concentra-se nas anomalias da sinalização aferente e nos mecanismos que estão por trás da HD que possibilitem, posteriormente, utilizar algum raciocínio hipotético que traduza as observações científicas da clínica.

Três principais teorias têm sido propostas em relação à causa da BH/HD¹³. A primeira é a miogénica, a qual sugere que alterações do músculo liso sejam necessárias para a produção de uma contracção involuntária do detrusor. Assim, a desnervação parcial do detrusor, independentemente da etiologia, poderia alterar as propriedades do músculo liso, levando a um aumento da excitação e acoplamento eléctrico entre as células. Uma contracção local induzida em qualquer parte do detrusor, espalhar-se-ia por toda a parede da bexiga, resultando em contracções miogénicas coordenadas de toda a bexiga. A HD também estaria associada a mudanças características na ultra-estrutura, incluindo *protusion junctions* entre os miócitos e aumento do número de *gap junctions*, que poderiam facilitar a propagação da contracção ao longo de uma proporção maior do que o normal do corpo do detrusor. Isto tem sido relatado em casos de obstrução da bexiga que levam à HD, assim como em bexigas sem patologia, como parte do envelhecimento.

A teoria neurogénica, a segunda teoria, sugere que os danos às vias inibitórias centrais do cérebro ou da medula espinhal ou a sensibilização dos terminais aferentes na bexiga poderiam revelar reflexos primitivos miccionais que provocassem a HD. Isso pode resultar de danos cerebrais, os quais reduziriam a inibição suprapontina; danos às vias axonais na medula espinhal, que permitiriam a expressão de reflexos vesicais primitivos; plasticidade sináptica, levando à reorganização da actividade sagrada, com o surgimento de novos reflexos, o que poderia ser desencadeado pelas fibras C aferentes; ou sensibilização dos terminais periféricos aferentes na bexiga. A causa neurogénica pode ser observada em doentes que têm esclerose múltipla, acidente vascular cerebral e doença de Parkinson.

A terceira teoria é a teoria da bexiga autónoma, uma hipótese relativamente recente que sugere que o detrusor é modular (ou seja, é composto pela circunscrição de áreas

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

musculares). Cada módulo muscular seria definido pela área individual relacionada a um gânglio vesical intramural ou por uma rede de células intersticiais, que colectivamente são denominadas por plexo miovesical. Pode haver sincronização de actividade entre os módulos, que poderia propagar-se através do neurónio intramural ou da rede células intersticiais, ou ainda, por comunicação directa entre o miócitos. Esta teoria sugere que, durante o enchimento vesical normal, há uma actividade autónoma com contracções não-miccionais e descargas sensoriais fásicas. Estes mecanismos podem ser modificados em condições patológicas devido a uma alteração do equilíbrio, quer por excesso de vias excitatórias, quer por insuficiência de inibição, levando a um aumento inadequado de actividade autónoma e predisposição à HD. Embora esta teoria seja igualmente aplicável à miogénica, é menos específica no que diz respeito ao mecanismo. Ela propõe que todos os aspectos estruturais e alterações funcionais associadas a uma maior sensação de armazenamento e HD são somados e perifericamente integrados, cada um contribuindo para níveis locais e globais de excitação.

Em resumo, a fisiopatologia da BH/HD inclui danos às vias aferentes e eferentes de e para a bexiga, incluindo uma diminuição da capacidade de controlo das informações aferentes, aumento da sua actividade, diminuição da inibição suprapontina, e aumento da sensibilidade à libertação de neurotransmissores que medeiam a contracção. A verdadeira causa da BH e da HD pode ser diferente em indivíduos diferentes, e pode incluir uma ou mais das teorias acima e possivelmente outros mecanismos que ainda estão por esclarecer.

Alterações do urotélio na BH

Há evidências crescentes de que as células uroteliais desempenham um papel importante na modulação da actividade da bexiga. Estas células expressam diferentes "moléculas sensor" (e.g. receptores, canais iónicos), incluindo os receptores para a bradicinina; neurotrofinas (trkA e p75); purinas (P2X e P2Y); norepinefrina (α e β); acetilcolina (nicotínicos e muscarínicos), receptores activados por proteases; canais de sódio epiteliais e uma série de *receptores de potencial transitório* (TRP), tais como o TRPV₁, TRPV₂, TRPV₄, e TRPM₈. Como se pode ver na Figura 1, são estas moléculas que respondem localmente a estímulos químicos e mecânicos e, em seguida, enviam informações para as vias aferentes, através da libertação de *adenosina trifosfato* (ATP), *prostaglandinas* (PG), *factor de crescimento neuronal* (NGF), *acetilcolina* (ACh) e *monóxido de azoto* (NO)³⁰.

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

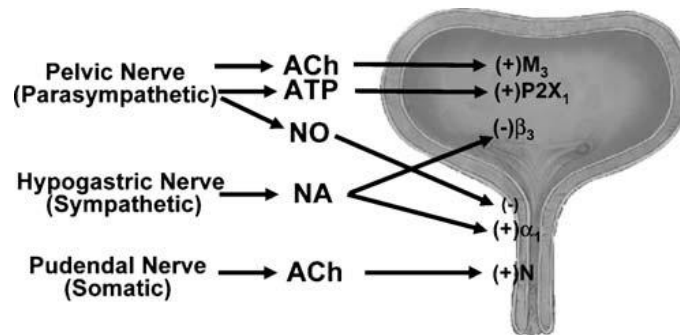


Figura 1 - Inervação do tracto urinário inferior. O nervo pélvico (parasimpático) estimula a contração do detrusor através dos receptores muscarínicos, activados pela ACh, e receptores purinérgicos, activados pelo ATP, enquanto que a sua inibição é mediada pelo NO. O nervo hipogástrico (simpático) estimula a contração do músculo liso uretral e inibe a do detrusor através dos receptores α_1 -adrenérgicos e β_3 -adrenérgicos, respectivamente. O nervo pudendo (somático) estimula a contração do músculo estriado do esfíncter uretral externo através dos receptores nicotínicos para a ACh².

Os impulsos aferentes provenientes da bexiga são conduzidos, predominantemente, por fibras pequenas e mielinizadas do tipo A δ sensíveis à distensão e/ou à contração vesical^{12,21}. As fibras aferentes do tipo C, localizadas principalmente na região suburotelial, não são mielinizadas e sua activação dá-se por estímulos químicos, irritativos e térmicos. Como referido anteriormente, os mecanismos excitatórios secundários podem ser predominantes na HD e as fibras C ficarem mais activas²².

O urotélio da bexiga também representa a maior área de superfície não-neural para a libertação de ACh durante o enchimento vesical. A sua libertação no urotélio aumenta com o estiramento do detrusor e acontece sobre os receptores muscarínicos das células do músculo liso, regulando o tónus da bexiga e ainda exercendo influência sobre os receptores suburoteliais⁴.

A descoberta de miofibroblastos ou células intersticiais de Cajal no suburotélío, extremamente ligadas por aberturas juncionais e que podem responder ao ATP de modo similar a activação do ATP bloqueado nos receptores P2Y, conduzem ao raciocínio que estas células possam representar o substrato para um órgão receptor ao estiramento². Doentes com HD apresentam um aumento significativo do número de fibras nervosas que expressam TRPV₁ e P2X₃, comparativamente a indivíduos sem este diagnóstico urodinâmico.

De acordo com Burnstock⁷, o ATP libertado pelo urotélio de ratos em resposta à distensão vesical actua sobre os receptores purinérgicos P2X₃ de neurónios subepiteliais, estimulando fibras aferentes que transmitiriam o impulso ao *Sistema Nervoso Central* (SNC), dando início, assim, ao reflexo miccional. A utilização de antagonistas do ATP também tem se mostrado eficaz na redução da actividade aferente induzida pela distensão vesical *in vitro*²³.

Trabalhos realizados no laboratório de Farmacologia e Neurobiologia do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) demonstraram também que a transmissão mecano-sensorial nociceptiva, tanto em bexigas de rato como em humanos, ocorre a partir da libertação de ATP do urotélio através da distensão desse mesmo órgão, activando os receptores P2X₃ e/ou P2X_{2/3} dos neurónios subepiteliais. Estudos *in vitro* evidenciaram que o urotélio e as fibras colinérgicas de amostras de doentes com BH libertam mais ATP do que os controlos, causando hiperactividade dessas fibras e do detrusor.

A Toxina Botulínica

A toxina botulínica é a mais potente das neurotoxinas naturais, derivando de uma bactéria anaeróbia que é o *Clostridium botulinum*, mas também de outras espécies como o *butyricum* e o *argentinense*. O desenvolvimento das neurotoxinas como tratamento iniciou-se em 1981, quando esta foi utilizada para o estrabismo. A utilização da *toxina botulínica* (BoTox, do Inglês *Botulinum Toxin*) no trato urinário inferior começou a ser estudada 6 anos mais tarde, na dissinergia detrusor-esfincteriana, com injeções no esfíncter uretral para reduzir as pressões de esvaziamento da bexiga, pressões uretrais e volumes residuais. Nos últimos treze anos, o uso da BoTox revolucionou o tratamento dos sintomas intratáveis associados à HDN e à HDI, tanto em adultos como em crianças³.

Apesar de se enfatizar o mecanismo de acção clássico da BoTox associado ao relaxamento muscular resultante da inibição da libertação de ACh pelos nervos motores, sabe-se que esta toxina pode exercer efeitos por intermédio de diferentes mecanismos. A BoTox pode ter uma acção antinociceptiva, através do bloqueio da libertação de péptidos relacionados com a dor; pode ter efeitos directos e/ou indirectos sobre o Sistema Nervoso Autónomo (e.g. glândulas salivares, sudoríparas e lacrimais, próstata). Desconhece-se, no entanto, o papel desta toxina no tracto urinário inferior, nomeadamente sobre o urotélio e sobre a actividade das fibras musculares lisas.

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

Sobre a bexiga, a BoTox tem mostrado uma significativa redução nos elevados níveis dos receptores sensoriais das fibras nervosas do suburotélío, mas não do urotélío, sem causar a degeneração das mesmas. Não se notam alterações histológicas na densidade das fibras musculares, atrofia muscular, ou outra alteração degenerativa, além de existirem poucas evidências em relação a reinervação por reorganizações axonais neoformadas. A falta dessas reorganizações pode ser explicada pela diminuição dos níveis de NGF na bexiga após a aplicação da BoTox. Estes factos reforçam o conceito que o mecanismo de acção da BoTox difere para músculos estriados e lisos⁴.

Sabe-se ainda que a BoTox inibe a anormal libertação urotelial de ATP, reduz a contracção do detrusor induzida pela capsaicina e inibe a libertação de factores de crescimento neuronal na mucosa, modulando os padrões vesicais através da inervação sensitiva. A diminuição dos receptores suburoteliais P2X₃ induzida pela BoTox é uma dessas evidências, a qual sugere um mecanismo em parte mediado pelas vias aferentes e que também se relaciona com a melhora da urgência urinária^{4,26}. Somando-se ao efeito directo sobre as fibras que levam informações aferentes à bexiga, a BoTox exerce acção no detrusor através do bloqueio da função eferente dos nervos sensoriais⁴.

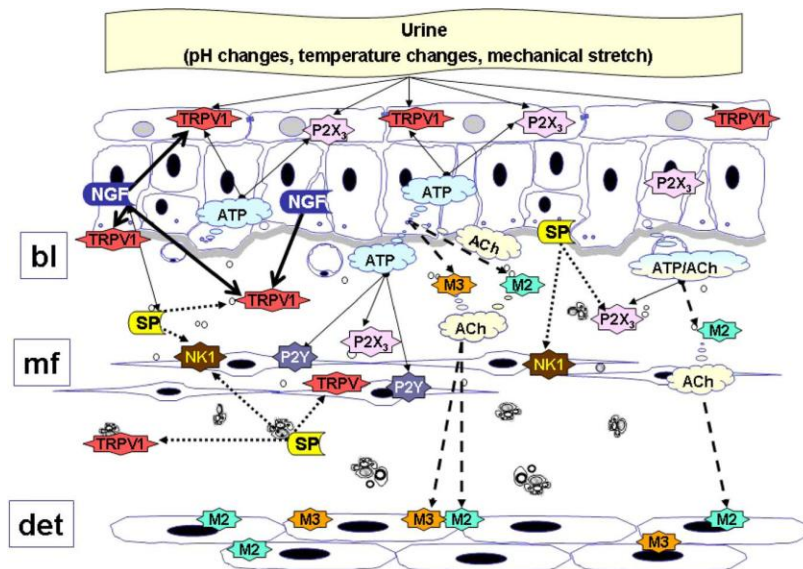


Figura 2 - Mecanismo de acção da BoTox. Mecanismo em cascata proposto para a acção da toxina botulínica quando injectada intravesicalmente, através da múltipla inibição de neurotransmissores e de neuropéptidos pelas fibras nervosas do urotélío e suburotélío, reduzindo a expressão axonal do complexo SNARE dependente de proteínas que estariam envolvidas na mecano-sensação da bexiga. Legenda: bl: lâmina basal; mf: camada de miofibroblasto; det: músculo detrusor; ATP: adenosina trifosfato; P2X₃: receptor purinérgico; TRPV1: receptor vanilóide; ACh: acetilcolina; NGF: factor de crescimento neuronal; SP: Substância P; NK1: receptor taquicinérgico; P2Y: receptor purinérgico; M2 e M3: receptores muscarínicos para ACh².

A utilização da BoTox sobre a bexiga mostrou que não só induz o relaxamento do detrusor, como também aumenta a capacidade vesical, o volume da primeira contracção reflexa do detrusor e a complacência vesical. Também são notadas mudanças na função do detrusor com diminuição das pressões durante as fases de enchimento/armazenamento e esvaziamento da bexiga. Estas alterações levam a significativas diferenças nos parâmetros urodinâmicos, melhorando a polaquiúria e a incontinência².

Assim, o mecanismo de acção proposto a nível da bexiga inclui não só o bloqueio da libertação de ACh, mas também o bloqueio do ATP, SP e redução na expressão axonal de receptores purinérgicos e vanilóides, tal como se observa na Figura 2¹⁸. Isto pode ser seguido de uma dessensibilização central através do decréscimo do aporte de SP e de factores neurotróficos. A somatória destes efeitos leva a uma duradoura inibição dos mecanismos aferentes e eferentes, que formam a base fisiológica para a sintomatologia da hiperactividade detrusora².

Com base nas evidências descritas, numa fase inicial deste trabalho (Estudo 1), pretende-se investigar os níveis de ATP libertados na urina de mulheres com bexiga hiperactiva idiopática, comparando-os aos do grupo controlo, e ainda verificar se o ATP pode ser considerado um marcador biológico não invasivo no diagnóstico e monitorização da hiperactividade vesical. A segunda etapa do trabalho (Estudo 2) pretende estudar o papel da toxina botulínica sobre a libertação do ATP urinário e confrontar os resultados obtidos com a melhoria da sintomatologia apresentada pelos doentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo 1

Desenho do Estudo

Estudo epidemiológico Observacional Analítico, de tipo “Coorte” prospectivo.

População e Amostra

A população do estudo consistiu em 67 mulheres, observadas na consulta de Urologia do Hospital Geral de Santo António - Centro Hospitalar do Porto (HSA-CHP). A selecção não-aleatória da amostra utilizou critérios de inclusão e exclusão do estudo (*vide* rubrica ANEXOS, Anexo 1), baseados num exame urodinâmico compatível com a definição de HD da ICS.

As doentes com BH (n=35) foram incluídas após confirmação urodinâmica de HD. A etiologia da HD destas doentes era somente idiopática. No grupo controlo (n=32) foram seleccionadas doentes sem sintomas de BH e sem HD no estudo urodinâmico.

Procedimentos

Este estudo ocorreu em 2 tempos - Visita 1 e 2.

VISITA 1

Após a confirmação dos critérios de inclusão e exclusão, foi pedido a cada doente a elaboração de um diário miccional de 3 dias consecutivos entre as Visitas 1 e 2. Como critério de prossecução no estudo, cada doente deveria apresentar uma média superior a 8 micções diárias, pelo menos um episódio de imperiosidade diária e uma capacidade vesical funcional inferior a 300 ml.

VISITA 2

Após confirmação dos critérios da Visita 1, programou-se uma colheita de urina de 24h para avaliação da *clerance* da creatinina, creatinina, pH e ionograma urinários e uma amostra de sangue para avaliação da creatinina e ionograma séricos. Foram também realizadas duas colheitas de urina em duas micções consecutivas com a sensação de bexiga

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

cheia. Após cada micção, procedeu-se ao registo do volume urinado e à realização de teste com tira reagente para avaliar sumariamente a presença de infecção urinária, sendo excluídas as doentes com teste positivo. Foram recolhidas amostras de urina para doseamento de DHL e ATP urinários. A urina de 24h e a amostra de sangue foram avaliadas no laboratório de Química Clínica do HGSA e o DHL e ATP urinários foram quantificados no laboratório de Farmacologia e Neurobiologia do ICBAS. As amostras para estes últimos doseamentos foram congeladas imediatamente em azoto líquido e armazenadas a -20°C.

Quantificação do ATP por bioluminescência

As amostras foram descongeladas até atingirem a temperatura ideal de 25°C. Seguidamente, foram centrifugadas para remover possíveis restos celulares e foi realizada uma avaliação sumária do sedimento urinário. Adicionou-se ao sobrenadante uma mistura de luciferina-luciferase (Roche *ATP assay II system bioluminescence detection*). A concentração de ATP foi avaliada num leitor de microplacas, comparando-se a luminescência das amostras com uma curva padrão de ATP preparada diariamente.

Preparação dos padrões e reagentes

A manipulação das amostras e dos reagentes necessários ao doseamento de ATP foi realizada utilizando-se uma técnica asséptica para evitar a contaminação dos mesmos com material biológico, o que poderia falsear os resultados obtidos.

Todos os reagentes e amostras (previamente centrifugadas) foram colocados sequencialmente num banho termostático a 25°C, a temperatura ideal para que ocorra oxidação da luciferina na presença de luciferase e ATP. A mistura liofilizada de luciferina/luciferase (L/L) foi reconstituída no tampão indicado, tendo-se aguardado cerca de uma hora (mistura protegida da luz) para que estabilizasse antes de ser utilizada.

Curva padrão de ATP

Para determinar a concentração de ATP das amostras, comparou-se a sua luminescência à obtida para concentrações conhecidas de ATP. A curva-padrão foi realizada a partir de uma solução inicial de 10 mM ATP, tendo sido realizadas diluições sucessivas até se alcançar um mínimo de 0,001 nM. As curvas-padrão foram realizadas diariamente, e o valor em *Relative Light Units* (RLU) obtido para cada concentração conhecida de ATP foi utilizado para o cálculo da equação da recta. A partir da equação obtida, foi extrapolada a

quantidade de ATP existente nas amostras. A todos os valores em RLU que integravam as curvas-padrão de ATP foi subtraído o valor obtido das amostras que continham Tyrode (branco das amostras).

Todas as amostras continham valores de ATP mensuráveis dentro do intervalo indicado pelo kit (10^{-12} - 10^{-9} M de ATP), estando de acordo com os valores de ATP incluídos na curvas-padrão.

Determinação da actividade da desidrogenase do lactato

Princípio do método

A quantificação da actividade da DHL foi efectuada segundo o método descrito por Stolzenbach (1986), cujo princípio é baseado na seguinte reacção apresentada na Figura 3.

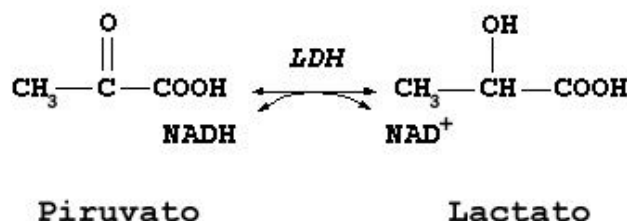


Figura 3 – Reacção de conversão de piruvato em lactato e vice-versa.

Na presença de DHL, o equilíbrio é deslocado no sentido da produção de lactato e NAD^+ . A actividade da DHL (U/mL) é medida pela velocidade de consumo de piruvato e da forma reduzida de NADH. Assim, foi construída uma recta através da diminuição da densidade óptica, a 365nm, devida à oxidação do NADH em função do tempo. A partir do declive dessa recta, determinou-se a actividade da DHL através da seguinte fórmula:

$$\text{U/mL} = \frac{|\text{declive}|}{6,2 \times 10^3} \times 10^3 \times 20$$

Procedimento experimental

Segundo o método descrito por Stolzenbach, preparou-se um tampão fosfato (pH = 7,5) a partir de duas soluções: A (50mM de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e B (50mM de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Ao tampão foi adicionado piruvato de sódio (Sigma). Assim, obteve-se um tampão fosfato

50mM contendo 0,6mM de piruvato. Seguidamente, adicionou-se NADH ao tampão, deixando-se 15 minutos à temperatura ambiente. A calibração do espectrofotómetro (*Jenway 6305 UV/Vis*) foi feita utilizando-se a solução tampão de fosfato com piruvato de sódio previamente preparada. A actividade da DHL foi determinada através da diminuição da absorvância em função do tempo (30'', 1', 2' e 3'), a um comprimento de onda de 365nm, após a adição de 200 μ L da amostra a 2,5mL de solução NADH e piruvato em tampão fosfato.

Aspectos Éticos

Na Visita 1 foram fornecidas informações sobre o objectivo da investigação, os seus riscos e benefícios, tendo sido solicitada a participação das doentes. Foi fornecido também o termo de consentimento informado, assinado pelas participantes que concordaram em colaborar no estudo.

Tratamento Estatístico

No estudo estatístico, consideraram-se os valores mínimos, máximos, medianas e médias. Para a comparação dos dois grupos em estudo, foi utilizado um teste não paramétrico, o teste U de Mann-Whitney. Considerou-se a existência de significância estatística para valores de $p < 0,05$.

O *software* utilizado na análise estatística foi o SPSS®, versão 17.0.

Estudo 2

Desenho do Estudo

Estudo epidemiológico do tipo Intervencional.

População e Amostra

A população do estudo consistiu em doentes de ambos os géneros, observados na consulta de Urologia do HSA-CHP. Foram seleccionados consecutivamente 10 doentes do género feminino e 5 género do masculino, seguindo os mesmos critérios de inclusão e exclusão do Estudo 1, assim como um exame urodinâmico compatível com a definição de HD da ICS. Todos os doentes seleccionados foram candidatos ao tratamento por injeção intravesical com toxina botulínica. A etiologia da HD destes doentes era idiopática (n=11), neurogénica (n=2) e relacionada a cistite intersticial crónica (n=2).

Procedimentos

O estudo ocorreu em 4 tempos - Visitas 1, 2, 3 e 4.

VISITA 1

Esta visita decorreu seguindo-se o mesmo formato das Visita 1 do Estudo 1.

VISITA 2

Foram realizadas duas colheitas de urina, sob as mesmas condições das realizadas na Visita 2 do Estudo 1 para quantificação de DHL e ATP urinários. Também foi pedido a estes doentes para realizarem um diário miccional.

Nesta visita foi realizado um questionário sobre a BH, cedido pela *Patient Reported Outcomes in Lower Urinary Tract Symptoms and Sexual Health*, o OAB-q (vide rubrica ANEXOS, Anexo 2).

VISITA 3

Procedeu-se à aplicação da toxina botulínica no HSA-CHP.

VISITA 4

Realizou-se entre a 4^a e a 6^a semana após a Visita 3. Mais uma vez, pediu-se para que os doentes trouxessem o diário miccional dos 3 dias consecutivos anteriores à data desta visita. Foram realizadas mais duas colheitas de urina para nova quantificação dos níveis de DHL e ATP urinários.

Aplicou-se, novamente, a cada doente o questionário OAB-q.

Questionário OAB-q

O questionário OAB-Q foi desenvolvido pela *Patient Reported Outcomes in Lower Urinary Tract Symptoms and Sexual Health* para avaliar o transtorno provocado pela sintomatologia da BH, assim como o seu impacto sobre a qualidade de vida (QV) destes doentes. Este documento foi desenvolvido e validado para doentes de ambos os géneros, com ou sem incontinência urinária associada.

O OAB-q consiste num questionário de 33 questões, sendo as 8 primeiras relacionadas à severidade dos sintomas (intensidade da imperiosidade, frequência miccional

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

e frequência dos episódios de noctúria e incontinência urinária) e as restantes 25, direccionadas à avaliação da qualidade de vida dos doentes. As 25 questões compreendem 4 subescalas de avaliação - Adaptação, Preocupação, Sono, Social – e ainda um score total de QV relacionado à saúde, o *HRQL* (do inglês, *Health-Related Quality of Life*).

O inquérito foi auto-administrado a cada um dos doentes, durante um período de 10 minutos, antes e semanas após à aplicação da toxina.

Aplicação da BoTox

Foram utilizadas 3 tipos de toxina botulínica tipo A (Botox, Dysport e Xeomin) injectadas em doses que variaram entre 100 e 500 unidades. As injeções foram aplicadas em 20 a 30 pontos pré-determinados no detrusor, fora da região do trígono vesical, de acordo com o protocolo de aplicação de toxina botulínica seguido pelo Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto.

Doseamento da concentração urinária de ATP

Procedeu-se à análise e quantificação destas amostras seguindo as mesmas orientações do Estudo 1.

Aspectos Éticos

Também na Visita 1 do Estudo 2 foram fornecidas informações sobre o objectivo, os riscos e benefícios do mesmo. Os doentes que concordaram em participar no estudo assinaram o termo de consentimento informado.

Tratamento Estatístico

No estudo estatístico, consideraram-se os valores mínimos, máximos, medianas e médias. Para a comparação das duas amostras relacionadas deste estudo, foi utilizado um teste não paramétrico, o teste de Wilcoxon. Considerou-se a existência de significância estatística para valores de $p < 0,05$.

O *software* utilizado na análise estatística foi o SPSS®, versão 17.0.

RESULTADOS

Estudo 1

Caracterização da Amostra

A amostra é composta por 100% (n=67) de doentes do género feminino.

Tabela I - Análise da idade entre os grupos.

	Controlos	BH
n	32	35
Idade Média	46,48 ± 2,31	57,11 ± 2,21
Idade Mínima	25	22
Idade Máxima	67	84
p = 0,002		

Na Tabela I, pode-se observar a diferença entre as médias de idade dos dois grupos estudados (**Controlos**: 46.48 ± 2.31 anos *versus* **BH**: 57.11 ± 2.21 anos), podendo-se também constatar que esta é estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Principais parâmetros analíticos da urina

Para nenhum dos parâmetros analisados na urina de 24h, verifica-se diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos em questão (Tabela II).

Tabela II – Análise dos principais parâmetros analíticos da urina

	Controlos	BH	p
	Média ± E.P	Média ± E.P	
Clearance da Creatinina (ml/min)	98,86 ± 9,58	116,70 ± 7,07	0,171
Creatinina urinária (µmol/l)	41,89 ± 7,87	25,94 ± 3,82	0,160
pH urinário	6,71 ± 0,42	5,85 ± 0,29	0,135

Diário Miccional

A partir da análise dos Diários Miccionais (Figura 4), observou-se que o volume médio do grupo controlo e do grupo com BH era de $201,39 \pm 12,69$ ml e $173,20 \pm 17,68$ ml, respectivamente. Para um valor de p superior a 0,05 ($p = 0,221$), não se afere significância estatística entre os volumes médios destes grupos.

Amostras de Urina

VOLUME URINÁRIO

Ambos os grupos apresentaram uma média de volume na 2ª micção superior à da 1ª (Figura 5). Analisando-se os resultados separadamente por micção, observou-se que o grupo controlo exibiu médias de volume maiores do que as do grupo com BH (**1ª micção**: $230,34 \pm 22,48$ ml *versus* $212,37 \pm 25,66$ ml; **2ª micção** $303,45 \pm 29,28$ ml *versus* $259,86 \pm 23,13$ ml). No entanto, como em ambas as micções, o valor de p é superior a 0,05 (**1ª micção**: $p = 0,295$; **2ª micção**: $p = 0,243$), não se pode inferir que existe diferenças significativas desta variável entre os grupos em questão.

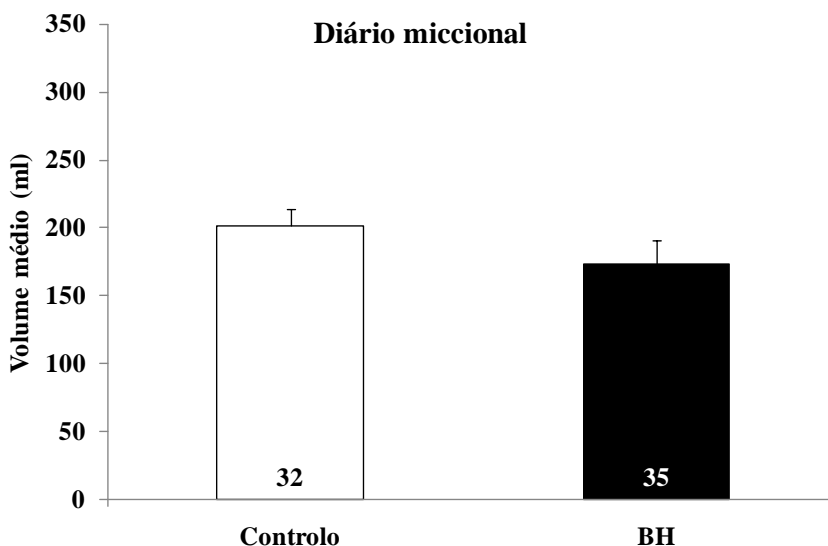


Figura 4 – Análise do diário miccional entre o grupo controlo e o grupo com BH.

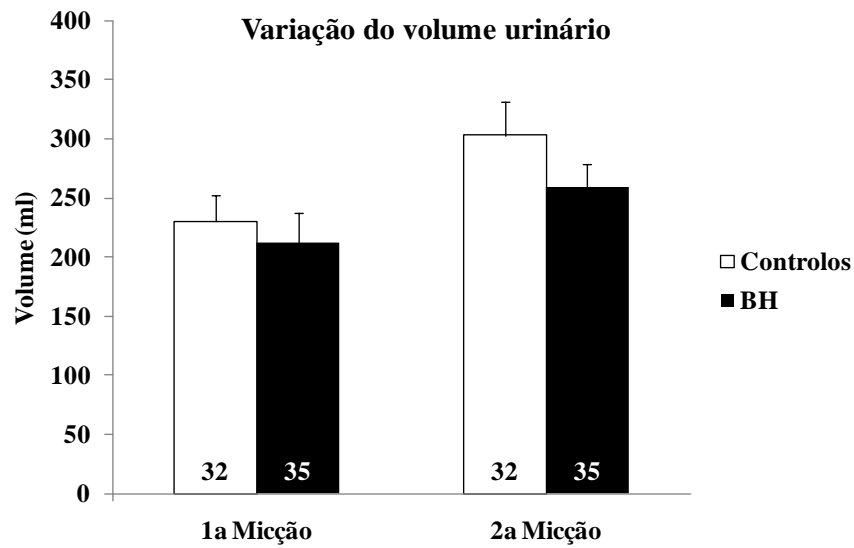


Figura 5 – Análise do volume urinário por micção.

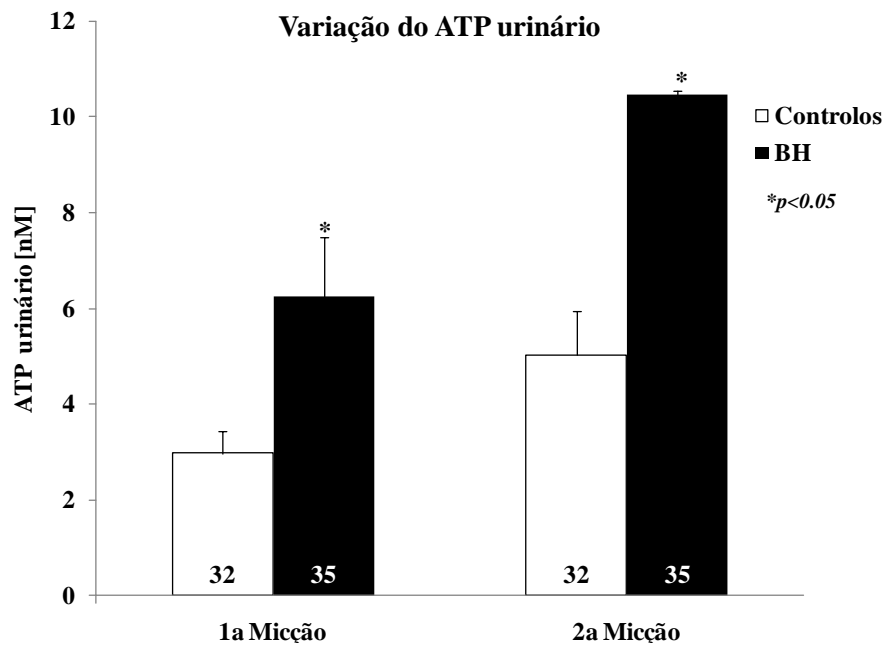


Figura 6 – Análise do ATP urinário entre os grupos, por micção.

ATP

Os dois grupos demonstraram níveis de ATP da 2ª micção superiores aos da 1ª micção (Figura 6). Quando analisados por micção, constatou-se que o grupo controlo exibiu uma média de ATP inferior, comparativamente ao grupo com BH (**1ª micção**: $2,98 \pm 0,46$ nM *versus* $6,26 \pm 1,22$ nM; **2ª micção**: $5,03 \pm 0,92$ nM *versus* $10,41 \pm 1,51$ nM). Para ambas as micções, pode dizer-se que os níveis de ATP cruzados relacionam-se de modo estatisticamente significativo, uma vez que o valor de p calculado é inferior a 0,05 (**1ª micção**: $p = 0,025$; **2ª micção**: $p = 0,002$).

DHL

Da análise dos níveis de DHL, constatou-se que o grupo controlo apresentava valores superiores em relação ao grupo com BH em ambas as micções. Contudo, esta diferença não tem significado estatístico.

Tabela III - Análise dos níveis de DHL.

	1a Micção		2a Micção	
	Controlos	OAB	Controlos	OAB
n	32	35	32	35
DHL (U/L)	$20,07 \pm 4,30$	$14,66 \pm 2,92$	$8,86, \pm 3,13$	$6,25 \pm 1,11$
	$p = 0,777$		$p = 0,777$	

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

Idade versus ATP

Da análise dos gráficos de dispersão (Figura 7), em escala logarítmica, entre a idade e os níveis de ATP na 1ª e 2ª micções, verificou-se, em ambas, que a idade exerce pouca influência sobre os dois grupos. Essa mediação é ainda menor no grupo com BH.

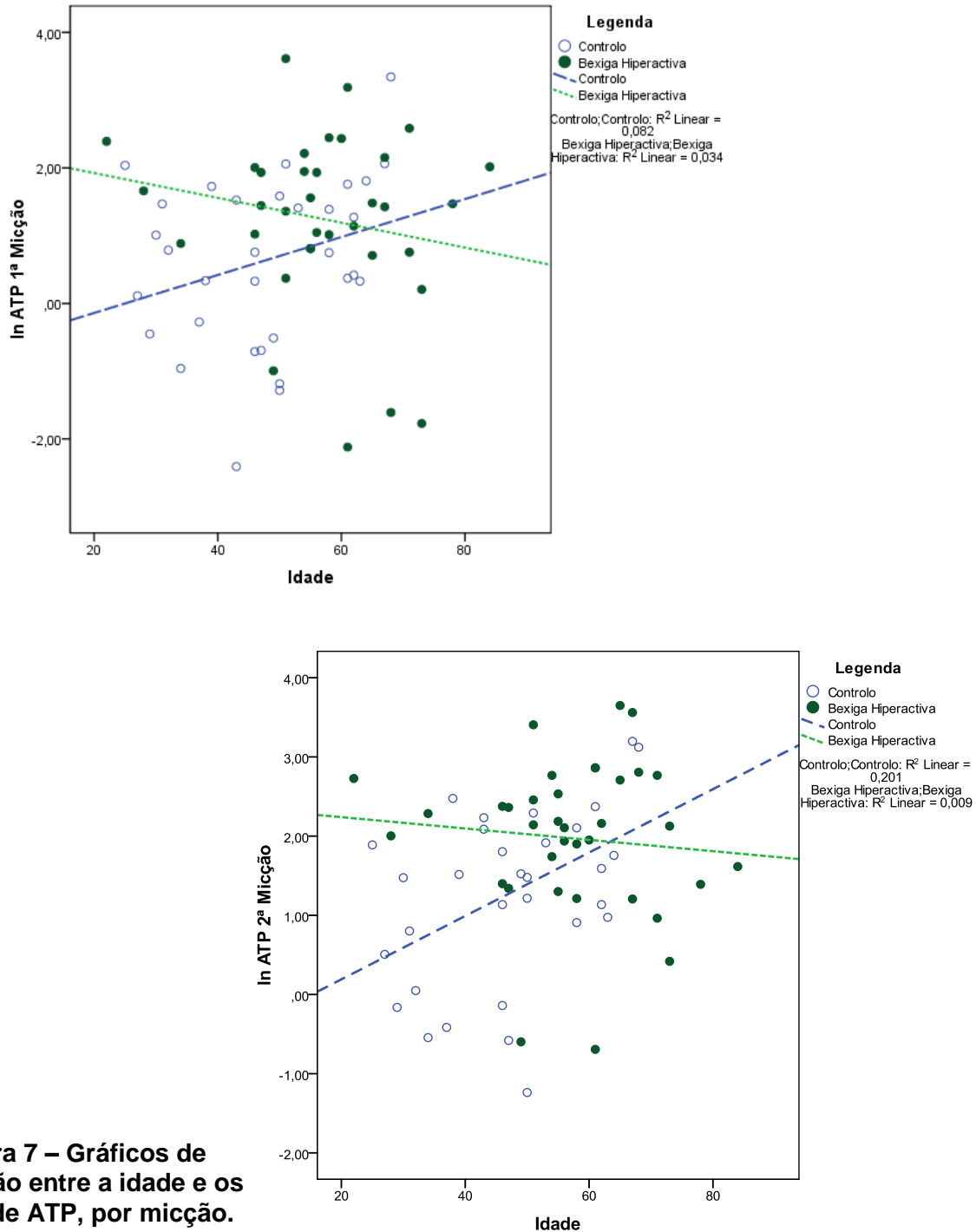


Figura 7 – Gráficos de dispersão entre a idade e os níveis de ATP, por micção.

Curva ROC ATP

A área sob a curva desta correlação é de 69,8%, com um intervalo de confiança a 95% de 57,1 a 82,5 (Figura 8). Verificou-se uma significância estatística de 0,005.

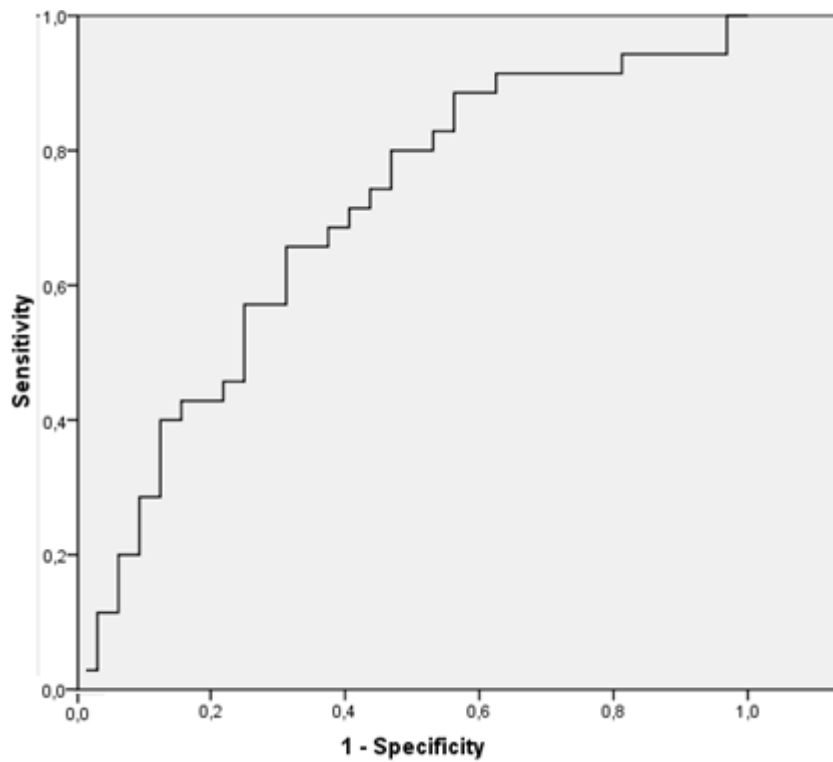


Figura 8 – Curva ROC para ATP.

Estudo 2

Caracterização da Amostra

A amostra deste estudo é composta por 15 doentes, sendo 66,7% (n=10) do género feminino, e 33,3% (n=5) do género masculino. A idade média compreendida é de 56 anos; a mínima, de 20 anos e a máxima é de 84 anos. A maioria dos doentes (n=11) apresenta HD idiopática relacionada a BH, como se pode observar na Figura 9.

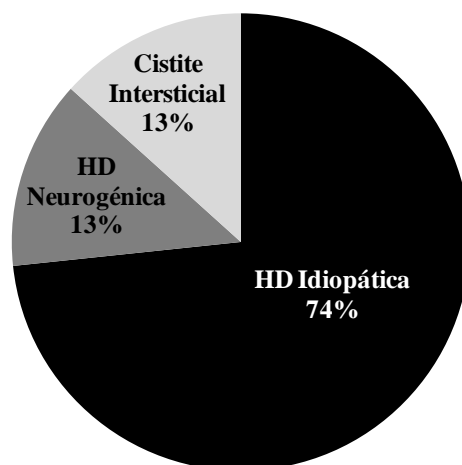


Figura 9 – Distribuição da amostra por etiologia da HD.

Análise das Amostras de Urina

VOLUME

Em ambas as situações, pré e pós toxina, os doentes apresentaram uma média de volume urinado na 2ª micção superior à da 1ª micção (Figura 10). Por micção, observou-se uma diferença maior entre volumes na 1ª do que na 2ª (**1ª micção**: 138,20 ± 19,34 ml *versus* 217,86 ± 40,33 ml; **2ª micção** 214,64 ± 38,75 ml *versus* 240,00 ± 32,18 ml). Após a análise estatística, verificou-se que apenas o valor de *p* calculado para a diferença de volumes da 1ª micção é inferior a 0,05 (**1ª micção**: *p* = 0,010; **2ª micção**: *p* = 0,401), afirmando-se, então, a sua significância estatística. Note-se que a 2ª micção é obtida após ingestão abundante de água no Serviço de Urologia, diurese forçada.

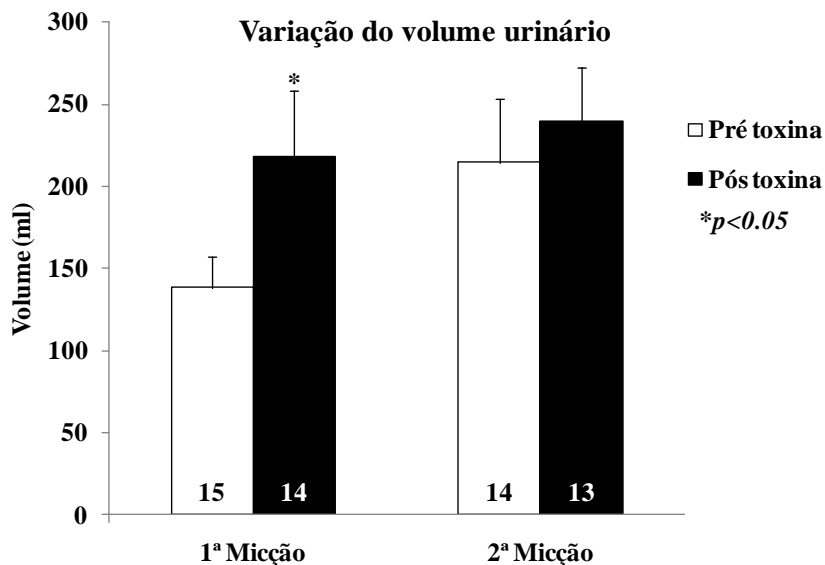


Figura 10 - Análise do volume urinário pré e pós tratamento com a toxina, por micção.

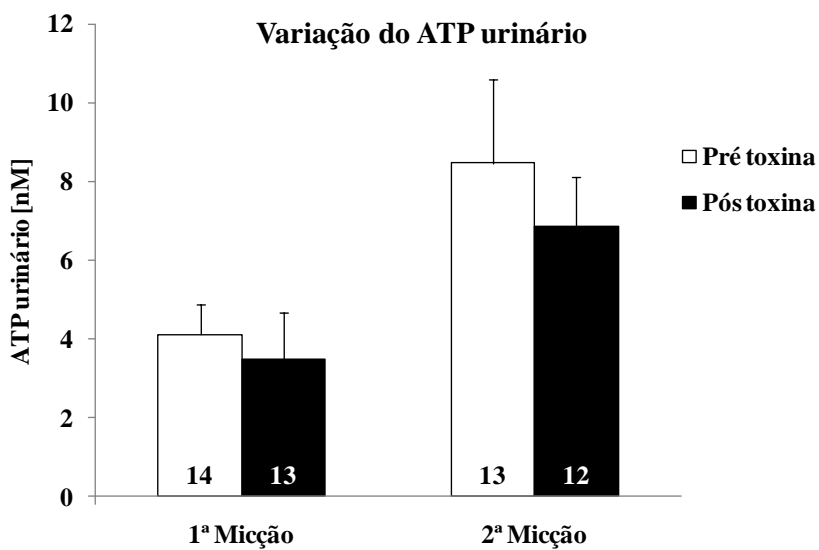


Figura 11 – Análise do ATP urinário pré e pós tratamento com a toxina, por micção.

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

ATP

Quer antes, quer depois do tratamento com a toxina botulínica constataram-se níveis de ATP superiores na 2ª micção em comparação com a 1ª micção (**1ª micção**: $4,13 \pm 0,75$ nM *versus* $3,51 \pm 1,16$ nM; **2ª micção**: $8,48 \pm 2,13$ nM *versus* $6,87 \pm 1,25$ nM). Decompondo-se a análise por micção, visualizou-se que em ambas há uma diminuição dos valores de ATP após a aplicação da toxina (Figura 11). Para estes valores, no entanto, não se constata uma correlação estatisticamente significativa, uma vez que o valor de p calculado é superior a 0,05 (**1ª micção**: $p = 0,382$; **2ª micção**: $p = 0,433$).

DHL

Não se verifica uma relação estatisticamente significativa entre os níveis de DHL pré e pós toxina, quer na 1ª micção, quer na 2ª micção (Tabela IV).

Tabela IV - Análise dos níveis de DHL pré e pós toxina, por micção.

	1a Micção		2a Micção	
	Pré Toxina	Pós Toxina	Pré Toxina	Pós Toxina
n	14	13	13	11
DHL (U/L)	$2,15 \pm 0,41$	$1,09 \pm 0,11$	$1,41 \pm 0,22$	$1,70 \pm 0,20$
	$p = 0,074$		$p = 0,444$	

Questionário - OAB-q

SEVERIDADE

Sabe-se que há uma correlação directa entre a severidade e a sintomatologia para a patologia, assim, quanto maior a pontuação maior a severidade da sintomatologia dos doentes. Considerando esta análise, verificou-se que após a aplicação da toxina (Figura 12), houve uma melhoria significativa dos sintomas (decréscimo na pontuação de 59,5 para 22,5), comprovada pelo nível de significância estatística, através de um valor de p inferior a 0,05 ($p = 0,043$).

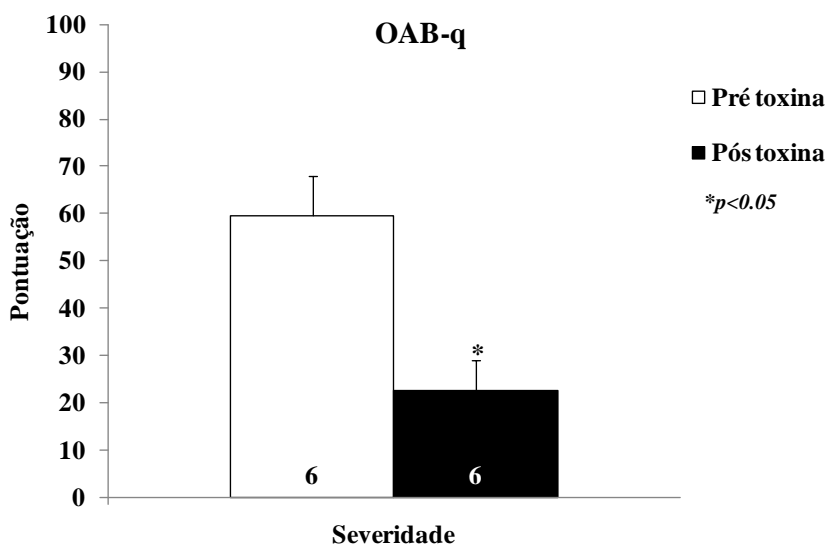


Figura 12 – Análise da subescala “Severidade” pré e pós toxina.

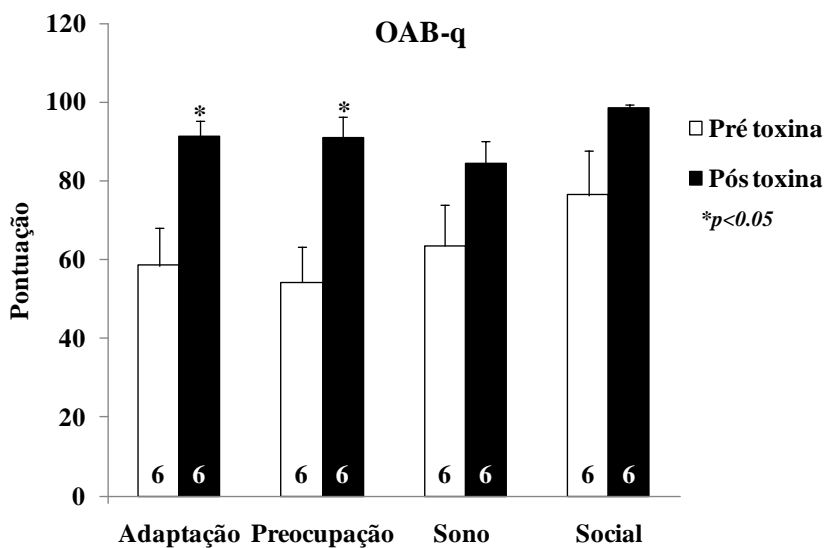


Figura 13 – Análise das subescalas “Adaptação”, “Preocupação”, “Sono” e “Social” pré e pós toxina.

QUALIDADE DE VIDA (QV)

Relativamente aos parâmetros relacionados com a QV, quanto maior a pontuação da escala melhor o nível de bem-estar dos doentes. Todas as 4 subescalas avaliadas, sem exceção, demonstraram aumento na qualidade de vida após a aplicação da toxina botulínica (Figura 13). Nas subescalas “Adaptação” e “Preocupação” a diferença é estatisticamente significativa ao ser calculado um valor de p , para ambas, inferior a 0,05. Com valores de p igual a 0,114 e a 0,144, não se verificou, no entanto, significância estatística nas subescalas “Sono” e “Social”, respectivamente.

No que respeita o score total HRQL (Figura 14), observou-se um aumento estatisticamente significativo da qualidade de vida (acréscimo na pontuação de 60,67 para 91,33), evidenciado por um valor de p inferior a 0,05 ($p = 0,028$).

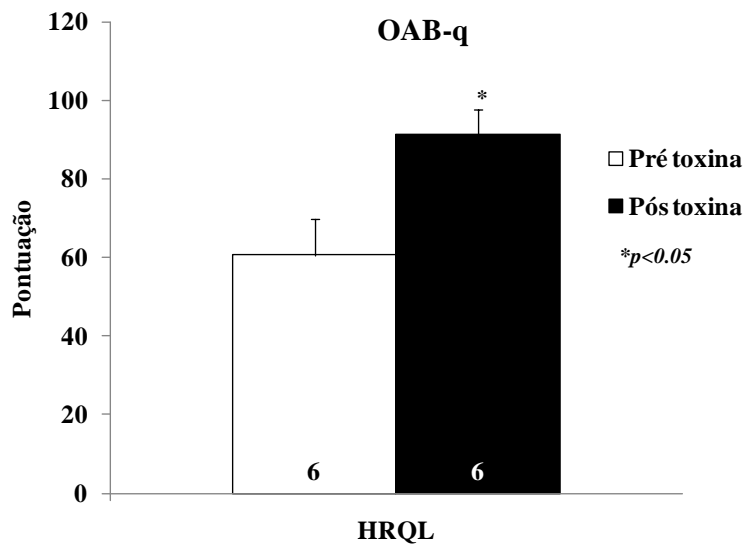


Figura 14 – Análise do score total HRQL.

DISCUSSÃO

Estudo 1

Na primeira parte do trabalho, observou-se que o grupo de doentes com BH apresentava níveis urinários de ATP superiores aos do grupo controlo.

Sabe-se que a expressão de receptores e a libertação de moléculas sinalizadoras de origem urotelial estão aumentados com a idade^{2,3}. Tendo em conta esse facto e considerando-se a diferença estatisticamente significativa entre as idades dos dois grupos estudados, poder-se-ia atribuir tais níveis de ATP no grupo com BH à sua média de idade superior. Para elucidar a possível influência deste factor sobre os níveis de ATP, efectuou-se um gráfico de dispersão entre as variáveis em questão. A partir da análise destes resultados, verifica-se que a idade exerce pouca influência sobre ambos os grupos de doentes, sobretudo no grupo com BH. Desta forma, exclui-se a possibilidade de níveis aumentados de ATP no grupo com BH advirem do aumento da transmissão purinérgica devido às alterações da estrutura e da função vesical relacionadas com a idade. Os níveis de ATP também poderiam estar elevados devido à lesão celular predominante nos doentes com BH. Esta hipótese foi, no entanto, excluída pela ausência de variações significativas dos níveis de DHL entre os dois grupos analisados.

Embora haja dificuldades em identificar-se a origem do ATP urinário, este estudo reforça a hipótese de que a libertação deste nucleótido, provavelmente a partir do urotélio durante a fase de enchimento vesical, poderia activar as fibras aferentes e, assim, actuar como um sinal para a sensação de urgência predominante nos casos de BH. Outros estudos confirmam esta hipótese, demonstrando que níveis superiores de ATP urinário em casos de HD estão relacionados com a precipitação do primeiro estímulo miccional e com a existência de uma menor capacidade de armazenamento vesical⁸. No presente trabalho, não se encontraram, no entanto, diferenças significativas quer no volume médio avaliado pelo diário miccional, quer na diferença entre o volume urinado nos dois grupos de doentes nas duas micções consecutivas analisadas. A ausência de significância destes resultados poderá resultar de uma falta de rigor por parte dos participantes na medição do volume urinado para elaboração do diário miccional, podendo considerar-se um viés de informação ou de exactidão no registo por parte dos doentes. Este fenómeno poderá ser atenuado através do aumento da amostra ou do treino dos doentes para uma execução correcta dos registos.

O papel do ATP intravesical na etiologia da BH é também apoiado por estudos com modelos animais, nos quais a aplicação intravesical de ATP serviu de modelo para a HD. A administração de ATP diminuiu a capacidade de armazenamento vesical e o volume miccional, além de ter aumentado a frequência urinária⁸. Houve, porém, na maioria desses estudos um efeito marginal sobre a pressão máxima do detrusor.

Sugere-se ainda que o ATP libertado do urotélio esteja relacionado com receptores purinérgicos P2X₃ da via sensorial aferente suburotelial, desencadeando o reflexo miccional. A densidade dessa via neuronal encontra-se aumentada em pacientes com HD⁸. Além disso, estudos em ratinhos mostram que a perda de receptores P2X₃ relaciona-se com a diminuição da frequência miccional e o aumento da capacidade vesical. Associados, estes resultados sugerem que a interação entre o ATP, os receptores P2X₃ e a via aferente seria importante na regulação da sinalização aferente da BH.

De forma a constatar o potencial do ATP como marcador biológico da BH, correlacionou-se a sensibilidade e a especificidade destas determinações na urina dos doentes. As características da curva ROC determinada (AUC: 69,8%; IC 95%: 57,1-82,5) evidenciam o desempenho satisfatório do ATP como marcador biológico para a identificação e seguimento de doentes com BH. O doseamento sistemático dos níveis de ATP urinários apresenta vantagens relativamente aos métodos urodinâmicos invasivos, já que é de simples execução e não é invasivo.

Estudo 2

Na segunda parte do trabalho, avaliou-se a sensibilidade do doseamento do ATP urinário às variações sintomáticas dos doentes com BH tratados com toxina botulínica. Esta estratégia facilitou o desenho do estudo, através da criação de dois momentos precisos de avaliação clínica, analítica e terapêutica dos doentes, isto é, antes e semanas após a injeção intravesical de toxina botulínica. Apesar da amostra deste estudo estar limitada a um número reduzido de doentes e da população incluída ser heterogénea quanto ao género e à patologia subjacente, os resultados preliminares obtidos permitiram inferir a existência de diferenças entre os dois grupos, incentivando a prossecução do estudo através do alargamento da amostra e, eventual, subdivisão dos doentes de acordo com a etiologia da BH.

Os resultados mostram que a melhoria sintomática dos doentes com BH após tratamento intravesical com toxina botulínica se relaciona com uma tendência (embora ainda sem significado estatístico) para a redução dos níveis de ATP avaliados na urina. A ausência de significado estatístico entre os níveis urinários de ATP antes e semanas após a injeção de toxina botulínica pode dever-se ao tamanho (reduzido) da amostra, mas também à sua heterogeneidade que impede o agrupamento dos indivíduos por género (as mulheres apresentam níveis de ATP mais elevados que os homens) e por doença subjacente. Apesar disso, o resultado obtido vai ao encontro do que se sabe até agora acerca da acção da toxina botulínica sobre o urotélio, mais especificamente, o seu efeito sobre a libertação de ATP pelas células uroteliais.

Os estudos desenvolvidos sobre esta temática têm sido descritos maioritariamente em modelos animais. A libertação de ATP urotelial causada pela estimulação mecanoreceptora foi avaliada *in vitro* na bexiga de ratinhos com lesão medular para determinar se a administração de BoTox intravesical inibiria a libertação desse neurotransmissor. Os resultados demonstraram que a estimulação hipo-osmótica do urotélio da bexiga provoca uma libertação significativa de ATP, que é marcadamente inibida (53%) pela BoTox. Estes resultados sugerem que a inibição da libertação de ATP pelo urotélio pode contribuir para os efeitos benéficos da toxina em situações de HD¹⁶. Noutro modelo de BH em ratinhos, testou-se a inibição da contracção do detrusor induzida pelo ATP e pela capsaicina, verificando-se uma diminuição da frequência de contracção, assim como uma menor pressão intravesical após a aplicação da toxina. A capsaicina, para além de causar a libertação de ATP pelo urotélio humano e dos roedores⁸, induz hiperactividade do detrusor através da libertação de neuropéptidos pela via sensorial aferente, os quais podem despoletar contracções do músculo liso da bexiga (função sensorial eferente). A toxina não bloqueou a acção da capsaicina de forma tão eficiente como a do ATP, presumivelmente, por ter um mecanismo de acção distinto. Desta forma, este estudo demonstrou também a eficácia da acção da toxina no bloqueio das vias purinérgicas⁶.

No Homem, o efeito da toxina sobre a via aferente, foi observado num estudo imunohistoquímico realizado com fragmentos de bexigas de doentes com HDI e HDN. A densidade de fibras TRPV1 e P2X₃ imunoreactivas diminuiu significativamente após a aplicação da toxina, sugerindo-se que níveis aumentados desses receptores sensoriais estariam relacionados com a sintomatologia da BH. Esse mesmo estudo demonstrou

também uma melhoria da urgência urinária, num período entre 4 e 16 semanas após a aplicação da toxina⁵.

Outro resultado relevante do estudo actual, relaciona-se com a eficácia da BoTox na melhoria clínica dos doentes com BH. Mais uma vez, embora os resultados se baseiem nas respostas de apenas 6 doentes que concluíram com sucesso as respostas a um questionário validado (OAB-q), foi possível provar que há diferenças estatisticamente significativas na severidade dos sintomas no sentido da sua atenuação após a injeção intravesical da toxina. Estes resultados estão de acordo com uma compilação de estudos que avaliaram o efeito da toxina por sintomas, a qual revela que, relativamente à frequência urinária, a BoTox é capaz de reduzir até 40% o número de micções diárias; no que respeita a incontinência, há uma redução de 72% (51% -91%) de perdas urinárias, e quanto à urgência, foi relatada uma redução de 70,5% (63% -78%) desses mesmos episódios³. Em relação aos parâmetros urodinâmicos, também foram visíveis as alterações provocadas pela BoTox, evidenciando-se um aumento da capacidade máxima em 47%, uma diminuição da pressão máxima do detrusor e um aumento do volume relacionado ao primeiro estímulo miccional.

Alterações mensuráveis nos parâmetros clínicos nem sempre traduzem a satisfação pela melhoria que o doente apresenta. Por esse motivo, têm sido desenvolvidas técnicas para a avaliação da qualidade de vida, seja por escalas visuais analógicas ou questionários validados. Tanto em estudos que utilizaram essa escala, como inquéritos, tais como o *Urinary Distress Inventory-6* (UDI-6), o *King's Health Questionnaire* (KHQ) e o *Incontinence Impact Questionnaire* (IIQ-7), demonstrou-se que a BoTox é responsável por uma melhoria significativa na qualidade de vida, através de subescalas relacionadas às limitações físicas, sociais e psicológicas e ainda de uma subescala de pontuação geral³.

Neste estudo também se verificou melhorias em parâmetros da QV relacionados com a adaptação e com a preocupação dos doentes com a sua patologia, assim como no *score* total, o HRQL. Relativamente aos parâmetros que avaliam a qualidade de vida social e a qualidade de sono, houve melhorias, embora sem atingirem significado estatístico. Para ambos os parâmetros, isto pode dever-se uma vez mais à limitação da dimensão da amostra. No que respeita a noctúria, podem estar relacionados factores desconhecidos que contribuem para a sua fisiopatologia, como é referido no estudo de Kalsi¹⁵, os quais contribuiriam para um atraso pontual na melhoria desse sintoma após a aplicação da toxina. Quanto à qualidade de vida social, talvez o tempo utilizado neste estudo para avaliar o efeito da toxina seja diminuto comparativamente aos hábitos adquiridos em anos para a adaptação

a esta patologia. Esta subescala, além de depender do próprio doente, envolve o meio e os indivíduos com que convive, sendo necessário também tempo para a adaptação de ambas as partes.

À luz do conhecido efeito anticolinérgico da BoTox e da crescente evidência de um mecanismo de acção através do bloqueio da libertação de receptores, neuropeptídeos e neurotransmissores envolvidos na fisiopatologia da BH, os níveis inferiores de ATP na urina após a injeção intravesical da toxina botulínica, associados a melhoria precoce da sintomatologia e QV registados no presente estudo parecem resultar de um efeito precoce da toxina nas vias aferentes da bexiga. No entanto, como já referido, futuramente seria uma mais valia dar continuidade ao estudo actual com uma amostra mais significativa. O aumento do tamanho da amostra permitirá agrupar os doentes por género e por patologia subjacente, bem como analisar a relação entre os níveis urinários de ATP e a sintomatologia com a dosagem e duração do efeito da toxina administrada.

Em conclusão, neste estudo demonstrou-se que os doentes portadores de bexiga hiperactiva idiopática possuem níveis urinários de ATP significativamente mais elevados do que o grupo controlo. Os resultados preliminares obtidos no seguimento dos doentes com bexiga hiperactiva submetidos a tratamento com toxina botulínica, mostram uma tendência para a redução dos níveis urinários de ATP que acompanha a melhoria sintomática destes doentes. Estes dados permitem sugerir que a quantificação dos níveis urinários de ATP pode ser considerada um biomarcador não invasivo no diagnóstico (e seguimento terapêutico) da síndrome de bexiga hiperactiva.

REFERÊNCIAS

- (1) Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A (2003) *The Standardization of terminology of lower urinary tract function: report from the standardization sub-committee of the International Continence Society*. Urology 61(1):37-49;
- (2) Apostolidis A, Dasgupta P, Fowler CJ (2006) *Proposed mechanism for the efficacy of injected botulinum toxin in the treatment of human detrusor overactivity*. Eur Urol 49(4):644-50;
- (3) Apostolidis A, Fowler CJ (2008) *The use of botulinum neurotoxin type A (BoNTA) in urology*. J Neural Transm 115(4):593-605;
- (4) Apostolidis A, Haferkamp A, Aoki KR (2006) *Understanding the role of botulinum toxin A in the treatment of the overactive bladder - more than just muscle relaxation*. Eur Urol Suppl 5:670–8;
- (5) Apostolidis A, Popat R, Yiangou Y, Cockayne D, Ford AP, Davis JB, Dasgupta P, Fowler CJ, Anand P (2005) *Decreased sensory receptors P2X3 and TRPV1 in suburothelial nerve fibers following intradetrusor injections of botulinum toxin for human detrusor overactivity*. J Urol 174:977-983;
- (6) Atiemo H, Wynes J, Chuo J, Nipkow L, Sklar GN, Chai TC (2005) *Effect of Botulinum toxin on detrusor overactivity induced by intravesical adenosine triphosphate and capsaicin in a rat model*. Urology 65(3):622-6
- (7) Burnstock G (1999) *Release of vasoactive substances from endothelial cells by shear stress and purinegric mechanosensory transduction*. J Anat 194 (Pt 3):335-42;

- (8) Charrua A, Reguenga C, Cordeiro JM, Correia-de-Sá P, Paule C, Nagy I, Cruz F, Avelino A.(2009) *Functional transient receptor potential vanilloid 1 is expressed in human urothelial cells.*J Urol 182(6):2944-50;
- (9) Cheng Y, Mansfield KJ, Allen W, Walsh CA, Burcher E, Moore KH (2010) *Does adenosine triphosphate released into voided urodynamic fluid contribute to urgency signaling in women with bladder dysfunction?*J Urol 183(3):1082-6;
- (10)Fowler CJ (2006) *Integrated control of lower urinary tract – Clinical perspective.* Br J Pharmacol 147 Suppl 2:S14-24;
- (11)Freeman RM, Adekanmi OA (2005) *Overactive Bladder.* Clin Obstet Gynecol 19(6):829-41;
- (12)Goldberg RP, Sand PK (2002) *Pathophysiology of the overactive bladder.* Clinical Obstet and Gynecol 45(1):182-92;
- (13)Hashim H, Abrams P. (2007). *Overactive bladder: an update.* Curr Opin Urol 17(4):231-6;
- (14)Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S, Reilly K, Kopp Z, Herschorn S, Coyne K, Kelleher C, Hampel C, Artibani W, Abrams P (2006) *Population-Based Survey of Urinary Incontinence, Overactive Bladder, and Other Lower Urinary Tract Symptoms in Five Countries: Results of the EPIC Study.* Eur Urol 50(6):1306-14; discussion 1314-5;
- (15)Irwin DE, Milson I, Kopp Z, Abrams P, Cardozo L (2005) *Impact of overactive bladder symptoms on employment, social interactions and emotional well-being in six european countries.* BJU Int 97(1):96-100;
- (16)Kalsi V, Apostolidis A, Gonzales G, Elneil S, Dasgupta P, Fowler CJ (2008) *Early effect on the overactive bladder symptoms following botulinum neurotoxin type A injections for detrusor overactivity.* Eur Urol 54(1):181-7;

- (17)Kim DK, Thomas CA, Smith C, Chancellor MB (2006) *The case for bladder botulinum toxin application*. Urol Clin North Am 33(4):503-10;
- (18)Lemack GE (2008) *Intradetrusor botulinum toxin injections for neurogenic overactive bladder: are we there yet?* Eur Urol 53(2):240-1;
- (19)Milson I, Stewart W, Thüroff J (2000) *The prevalence of overactive bladder*. Am J Manag Care 6(11 Suppl):S565-73;
- (20)Milson I, Abrams P, Cardozo L, Roberts RG, Thuroff J, Wein AJ (2001) *How widespread are the symptoms of an overactive bladder and they are managed? A population-based prevalence study*. BJU Int 87(9):760-6;
- (21)Morrison J (1999) *The activation of the bladder wall afferent nerves*. Exp Physiol 84(1):131-6;
- (22)Mostwin JL (2002) *Pathophysiology: the varieties of bladder overactivity*. Urology 60(5 Suppl 1):22-6; discussion 27;
- (23)Namasivayam S, Eardley I, Morrison JF (1999) *Purinergic sensory neurotransmission in the urinary bladder: an in vitro study in the rat*. BJU Int 84(7):854-60;
- (24)Nitti VW (2006) *Botulinum toxin for the treatment of idiopathic and neurogenic overactive bladder: state of the art*. Rev Urol 8(4):198-208;
- (25)Norton P, Brubaker L (2006) *Urinary incontinence in woman*. Lancet 367(9504):57-67;
- (26)Sahai A, Khan MS, Le Gall N, Dasgupta P; GKT Botulinum Study Group (2008) *Urodynamic assessment of poor responders after botulinum toxin-A treatment for overactive bladder*. Urology 71(3):455-9;

- (27) Stewart W, Herzog R, Wein A, Abrams P, Payne C, Corey R, Hunt T, the NOBLE Program Research Team (2001). *Prevalence and impact of overactive bladder in the US: results from the NOBLE program*. *Neurourol Urodyn* 20: 303-422;
- (28) Stewart WF, Van Rooyen JB, Cundiff GW, Abrams P, Herzog AR, Corey R, Hunt TL, Wein AJ (2003). *Prevalence and burden of overactive bladder in the United States*. *World J Urol* 20: 327-336;
- (29) Tubaro A (2004) *Defining overactive bladder: epidemiology and burden of disease*. *Urology* 64(6 Suppl 1):2-6;
- (30) Yoshimura N, Kaiho Y, Miyazato M, Yunoki T, Tai C, Chancellor MB, Tyagi P (2008) *Therapeutic receptor targets for lower urinary tract dysfunction*. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 377(4-6):437-48.

ANEXOS

Anexo 1

Abaixo encontram-se os critérios de inclusão e exclusão utilizados neste estudo para a selecção dos doentes.

Critérios de Inclusão

Estudo 1 e 2

- Doentes do género feminino com idade ≥ 18 anos e com Síndrome de Bexiga Hiperactiva, da Consulta de Urologia do HSA-CHP, capazes de compreenderem a informação dada e tendo assinado e datado o Termo de Consentimento Informado, de forma livre e esclarecida.
- Doentes com diagnóstico de Bexiga Hiperactiva, com ou sem Incontinência de esforço durante pelo menos 6 meses antes da Visita 1.
- Hiperactividade do Detrusor confirmada por exame Urodinâmico efectuado 3 meses antes da Visita 1, de acordo com as orientações da ICS: hiperactividade do detrusor definida como contracções involuntárias e espontâneas do detrusor durante a fase de enchimento do ciclo miccional.
- Diário Miccional de 3 dias consecutivos entre as Visitas 1 e 2, apresentando, em média, entre todos os dias documentados:
 - Pelo menos 8 micções/dia;
 - Pelo menos um episódio de imperiosidade/dia;
 - Capacidade Vesical Funcional ≤ 300 ml.
- Depuração de creatinina < 71 ml/min/1,73m², na urina de 24 hrs que será realizada entre Visita 1 e 2.

Estudo 2

- Doentes com indicação para tratamento com toxina botulínica, segundo critérios do médico assistente.

Critérios de Exclusão

Estudo 1 e 2

- **Medicação concomitante:**
 - Tratamento com fármacos que afectam a função da bexiga (ex. anticolinérgicos, anti-espasmódicos, inibidores da recaptção da serotonina-noradrenalina) nos 14 dias que precedem a Visita 2;
 - Tratamento com toxina botulínica, capsáicina ou resiniferatoxina nos 12 meses que precedem a Visita 1 ou em qualquer outra altura durante o estudo;
 - Utilização de agonistas colinérgicos e de inibidores da colinesterase, por ex. betanecol, donepezil, rivastigmina;
 - Doentes que estejam a tomar dadores de nitratos ou de óxido nítrico;
 - Utilização de inibidores da PDE5 nos 7 dias que precedem a Visita 1 ou em qualquer outra altura durante o estudo.

- **Historia Clínica passada ou actual - Patologias do Tracto Urinário:**
 - Insuficiência renal;
 - Infecções urinárias;
 - História de refluxo vesico-uretral secundário;
 - Macro ou micro-hematúria inexplicável, conforme determinado pelo investigador;
 - História de qualquer carcinoma do tracto urogenital;
 - Retenção urinária ou obstrução clinicamente significativa do orifício de saída da bexiga, conforme determinado pelo investigador;
 - Instrumentação do tracto urinário inferior (incluindo cistoscopia, estudo urodinâmico) nos 14 dias que precedem a Visita 1 ou em qualquer outra altura durante o estudo;
 - Biopsia à bexiga nos 30 dias que precedem a Visita 1 ou em qualquer outra altura durante o estudo;

O ATP como biomarcador da bexiga hiperactiva e o benefício clínico da toxina botulínica

- Qualquer história de radioterapia pélvica;
 - Cateter permanente.
- ***História Clínica passada ou actual - Patologias Gerais***
- Qualquer distúrbio clínico, psiquiátrico ou de abuso de substâncias que, na opinião do Investigador, possa afectar a capacidade do doente para completar o estudo ou impossibilitar a participação do doente no estudo;
 - História de malignidade em qualquer sistema de órgãos, tratada ou não, nos últimos 5 anos, independente de haver evidência de recorrência local ou metástases;
 - Distúrbio hemorrágico;
 - Doentes que não têm condições ou rejeitam a possibilidade de cateterismo vesical intermitente;
 - Doentes que não estejam dispostos ou que sejam incapazes de completar independentemente o diário de micção ou os questionários;
 - Doentes iletrados ou que sejam incapazes de compreender o diário de micção ou os questionários.

Anexo 2

Questionário OAB-q cedido pela *Patient Reported Outcomes in Lower Urinary Tract Symptoms and Sexual Health*.

Iniciais do/a entrevistado/a: _____

Entrevistado/a n° _____

Questionário sobre Bexiga Hiperativa

Este questionário quer saber o quanto você foi incomodado/a por determinados sintomas da bexiga durante as últimas 4 semanas. Por favor, faça um "X" no quadrado da resposta que melhor descreve o quanto você foi incomodado/a por cada sintoma durante as últimas 4 semanas. Não há respostas certas ou erradas. Por favor, responda a todas as perguntas.

Durante as últimas 4 semanas, o quanto você foi incomodado/a por ...	Nada	Quase nada	Um pouco	O suficiente	Muito	Muitíssimo
1. Urinar frequentemente durante o dia?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
2. Uma vontade urgente e desconfortável de urinar?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
3. Uma vontade repentina e urgente de urinar com pouco ou nenhum aviso prévio?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
4. Perdas acidentais de pequenas quantidades de urina?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
5. Ter que levantar durante a noite para urinar?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
6. Acordar durante a noite porque você teve que urinar?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
7. Uma vontade incontrolável e urgente de urinar?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
8. Perda de urina associada a uma forte vontade de urinar?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6

As perguntas acima são sobre o incômodo causado por certos sintomas de bexiga. Nas próximas perguntas, por favor, pense em seus sintomas de bexiga das últimas 4 semanas e em como estes sintomas afetaram sua vida. Por favor, responda a cada pergunta sobre com que frequência você se sentiu desta forma, da melhor maneira que puder. Por favor, a cada pergunta, faça um "X" no quadrado que melhor corresponde à sua resposta.

Iniciais do/a entrevistado/a: _____

Entrevistado/a n° _____

Durante as últimas 4 semanas, com que frequência seus sintomas de bexiga...	Nunca	Quase nunca	Algumas vezes	Muitas vezes	Quase o tempo todo	O tempo todo
9. Fizeram você planejar cuidadosamente seus trajetos diários?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
10. Fizeram você se sentir mole ou sonolento/a durante o dia?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
11. Fizeram você ficar no lugar mais próximo do banheiro quando você foi a locais públicos?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
12. Causaram-lhe sofrimento ou angústia?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
13. Aborreceram você?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
14. Fizeram você se sentir como se houvesse alguma coisa errada com você?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
15. Interferiram em sua capacidade de ter uma boa noite de sono?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
16. Fizeram você diminuir suas atividades físicas (exercícios, esportes, etc.)?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
17. Impediram você de se sentir descansado/a ao acordar pela manhã?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
18. Aborreceram sua família e seus amigos?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
19. Fizeram você se sentir ansioso/a ou preocupado/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
20. Fizeram você ficar em casa mais do que você gostaria?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
21. Fizeram você adaptar seus planos de viagem e de seus trajetos diários para estar sempre perto de um banheiro?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
22. Fizeram você evitar atividades em que não há banheiro por perto (por exemplo: passeios a pé, corridas, longas caminhadas)?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6

Iniciais do/a entrevistado/a: _____

Entrevistado/a n° _____

Durante as últimas 4 semanas, com que frequência seus sintomas de bexiga...	Nunca	Quase nunca	Algumas vezes	Muitas vezes	Quase o tempo todo	O tempo todo
23. Fizeram você se sentir irritado/a ou aborrecido/a por causa do tempo que você passou no banheiro?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
24. Acordaram você durante o sono?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
25. Deixaram você preocupado/a com o cheiro ou a higiene?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
26. Fizeram você se sentir pouco à vontade ao viajar com outras pessoas, pela necessidade de parar para ir ao banheiro?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
27. Afetaram seu relacionamento com sua família e seus amigos?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
28. Fizeram você diminuir suas participações em reuniões sociais como festas ou visitas a sua família ou a amigos?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
29. Fizeram você se sentir constrangido/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
30. Impediram você de dormir o tanto que você precisava?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
31. Fizeram você ter problemas com seu/sua parceiro/parceira ou esposo/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
32. Fizeram você planejar suas atividades com mais cuidado?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6
33. Fizeram você localizar o banheiro mais próximo assim que chegava a um lugar onde nunca tinha estado?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6

© Copyright 2004 Pfizer. All rights reserved.