PAULO SAJOVIC DE CONTI

Avaliação dos biomarcadores urinários de inflamação e de remodelação tecidual na disfunção vesical em pacientes com hiperplasia prostática benigna.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do Título de Doutor em Ciências

Programa de Urologia

Orientador: Prof. Dr. Alberto Azoubel Antunes

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Conti, Paulo Sajovic de

Avaliação dos biomarcadores urinários de inflamação e de remodelação tecidual na disfunção vesical em pacientes com hiperplasia prostática benigna / Paulo Sajovic de Conti. -- São Paulo, 2018.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Urologia.

Orientador: Alberto Azoubel Antunes.

Descritores: 1.Marcadores biológicos 2.Hiperplasia prostática
3.Obstrução do colo da bexiga urinária 4.Bexiga urinária hiperativa
5.Ressecção transuretral da próstata 6.Interleucina-6 7.Fator de crescimento neural 8.Quimiocinas 9.Fator de crescimento epidérmico
10.Metaloproteinase 1 da matriz

USP/FM/DBD-454/18

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Paulo e Ana**, pelo amor que eu e meus irmãos recebemos, pelos exemplos de carinho, ternura e honradez. Vocês, em todas as fases, nos educaram com amor e se dedicaram à nossa educação nos ensinado a caminhar e assim poder seguir com nossos próprios passos. Sei dos esforços que fizeram para que pudéssemos alcançar os nossos sonhos. Nós retribuímos tentando ser os melhores filhos que pais como vocês merecem ter. A vocês, meus amados pais, eu dedico a tese e agradeço a tudo oque sou e aquilo que em um dia poderei me tornar.

Aos meus irmãos **Luísa e Henrique**, por todas as alegrias vividas e compartilhadas, dividindo as mesmos sonhos e lembranças da infância, com união e compaixão. Ambos sempre torceram pelas minhas conquistas e felicidades e eu também torço muito por vocês. A alma de vocês reflete toda ternura encontrada em seus filhos: meu querido afilhado Diego e minha linda sobrinha Sofia.

Aos meus primos, tios e cunhados, sempre presentes, pela torcida e carinho verdadeiros.

AGRADECIMENTOS

Ao **Professor Miguel Srougi**, pelo seu exemplo profissional, acadêmico e humano que nos inspira a buscar o melhor dentro nós, estimulando a nos tornar indivíduos melhores. É difícil encontrar as palavras para poder expressar a minha admiração e gratidão. Durante esse período de aprendizado tive a oportunidade de conviver e aprender com o maior urologista do país e sua equipe, um grupo de pessoas maravilhosas que sempre admirei. Apesar de seu inestimável conhecimento científico e o carinho especial que dedica ao ensino, seus exemplos e qualidades como ser humano nos lapidam e é algo que levo para minha vida profissional e pessoal. Obrigado por oferecer o aprendizado, a paciência e por permitir a realização desse projeto.

Ao meu orientador, **Prof Dr. Alberto Azoubel Antunes**, meu amigo e orientador por ter me aceitado como aluno e ter me dado a oportunidade de desenvolver esse projeto. A minha admiração e respeito pela sua inestimável competência e comprometimento com a vida acadêmica, sendo que sua filosofia de trabalho responsável, séria e próativa cativa a todos que tem o privilégio de trabalhar ao seu lado, tornando-o um exemplo a ser seguido. Seus ensinamentos e seu olhar crítico permitiu meu desenvolvimento científico ao longo desses anos. Serei sempre grato por além da oportunidade de defender esta tese de doutoramento sob sua orientação na Universidade de São Paulo, pela confiança, ensinamentos, paciência e apoio nos momentos mais difíceis.

A **Profa. Dra. Sabrina Thalita dos Reis**, amiga e pesquisadora incrível com profundo conhecimento em inúmeras áreas de pesquisa. Sou muito grato por toda ajuda na elaboração e realização da tese e pelo inestimável auxílio na análise laboratorial e estatística. Me ofereceu as oportunidades de aprender e desenvolver o projeto, além da segurança com o auxílio nos momentos em que precisei. Sou extremamente grato pela sua ajuda, carinho e paciência.

A **Dra. Nayara Izabel Viana**, amiga, bióloga e pesquisadora pela

importantíssima ajuda na parte laboratorial com o processamento e análise das amostras do estudo. Agradeço também ao auxílio na lapidação e formatação da estrutura técnica do texto final da dissertação e antes das fases mais importantes. Muito obrigado por toda ajuda e paciência.

A **Profa. Dra. Katia Ramos Moreira Leite**, Professora chefe do laboratório LIM-55, pela oportunidade de desenvolver esse projeto no laboratório que, com seu entusiasmo, competência e conhecimento dedicado à patologia clínica e molecular, o faz ser uma excelência nacional em pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Homero Bruschini**, chefe do grupo de Disfunção Miccional da Divisão de Urologia da FMUSP, pelas contribuições, suporte acadêmico e garantir a infraestrutura necessária a realização dos estudos urodinâmicos.

Aos colegas **Dr. Marco Antônio Nunes da Silva** e **Dr. Yuri Afonso Ferreira**, pelas contribuições, ensinamentos e companheirismo no desenvolvimento dessa linha de pesquisa. As contribuições e a visão científica e acadêmica de vocês foram fundamentais e me trouxeram um grande auxílio para o desenvolvimento desse projeto.

Ao **Dr. Leopoldo Alves Ribeiro Filho**, **Dr. Daher Chade**, **Dr. Alexandre Iscaife** e **Dr. Jose Pontes Junior** pelas preciosas sugestões quando da aula de qualificação.

Aos colegas e grandes amigos que fiz durante a pós-graduação, com quem troquei experiências valiosas ao longo desse período em especial **Dr. Adriano Nesrallah**, **Prof. Dr. Carlo Camargo Passerotti**, **Dr. Fernando Froes**, **Dr. Karlo Dornelles**, **Dr. Fabio Oliveira**, **Dr. Rafael Domingues**, **Dr. Luiz Henrique Araujo**, **Dr. Francisco Hidelbrando**, **Dr. Laércio Pachelli**, **Dr. André Oliveira** e **Dr. Renan Éboli**.

Aos amigos da Divisão de Clínica Urológica em especial do Grupo da Próstata: **Dr. Paulo Cordeiro, Dr. Alexandre Iscaife, Dr. Eduardo Muracca, Dr. Elcio Nakano, Dr. Mario Paranhos e Dr. Elias Chedid.**

Aos amigos do LIM-55, **Iran Amorim Silva, Vanessa Ribeiro Guimarães, Denis Reis Moraes, Ruan César Aparecido Pimenta e Isis Correa Paloppi.**

As secretárias da Divisão de Urologia do HC-FMUSP **Sra. Teresa e Sra. Madalena** e em especial a **Sra. Elisa de Arruda Cruz da Silva** pela dedicação, e pelo atencioso e competente trabalho que executa dentro do serviço de Pós-Graduação.

A toda equipe do Ambulatório e Enfermaria da Divisão de Urologia do HC-FMUSP, em especial a **Sra. Madalena Quintino** pelas inestimáveis contribuições. Agradeço também aos técnicos de enfermagem **Renato e Zilda** pela ajuda com os estudos urodinâmicos.

Aos pacientes que gentilmente prestaram uma contribuição fundamental para que o estudo fosse realizado e colaborando com o avanço da investigação científica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio de pesquisa a esse estudo e diversas outras linhas de pesquisas e sem o qual o mesmo não poderia ter sido realizado.

Por tudo aquilo que já superamos e iremos superar, pela dádiva da vida e pela benção de cada dia, agradeço à Deus.

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (ABNT).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas Símbolos e Siglas

Lista da Tabelas

Lista de Figuras

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	23
1.1. Considerações Gerais	24
1.2. Manifestações clínicas da HPB e suas consequências na bexiga	25
1.3. Definição e epidemiologia da Hiperatividade Detrusora e da Síndrome de Bexiga Hiperativa (SBH)	26
1.3.1. Síndrome da Bexiga Hiperativa (SBH)	26
1.3.2. Hiperatividade detrusora (HD)	28
1.4. Sintomas miccionais e HD	28
1.5. Fisiopatologia da Hiperatividade Detrusora	30
1.6. Papel da função de barreira urotelial	33
1.7. Inflamação e HD	35
1.8. Neuroplasticidade vesical	38
1.9. Papel da matriz extracelular na bexiga	39
1.10. Biomarcadores urinários	40
1.10.1. Interleucina 6	42
1.10.2. Fator de crescimento neural	43
1.10.3. Proteína quimiotática de monócitos 1	44
1.10.4. Fator de crescimento epidérmico	44
1.10.5. Metaloproteinase de matriz 1	45
2. OBJETIVOS	49
2.1. Objetivo Primário	50
2.2. Objetivo Secundário	50
3. MÉTODOS	51
3.1. Desenho do Estudo	52
3.2. Local e Época	52
3.3. Sujeitos	52
3.4. Grupo Controle	53
3.5. Intervenção	54
3.6. Técnica do Estudo Urodinâmico	55
3.7. Coleta e processamento das amostras de urina	56
3.8. Análise Estatística	59

4. RESULTADOS	60
4.1. Características Clínicas	61
4.2. Características Urodinâmicas	64
4.3. Características Clínicas e Urodinâmicas	66
4.4. Análise das variáveis clínicas e urodinâmicas com resolução da HD	69
4.5. Análise da concentração dos biomarcadores urinários do grupo estudado	70
4.4.1 Nível médio da concentração urinária dos biomarcadores considerando as características clínicas dos pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico.	73
4.6. Curvas ROC	84
5. DISCUSSÃO	92
6. CONCLUSÕES	110
7. REFERÊNCIAS	114
8. ANEXOS	124
Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	125
Anexo 2 – Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa	128
Anexo 3 - Questionário do Índice Internacional de Sintomas Prostáticos (IPSS) e Qualidade de Vida (QoL) referente aos sintomas urinários.	130

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

ABP - Aumento Benigno da Próstata

Ach - Acetilcolina

ANOVA - Análise de variância múltipla

APF - Fator Antiproliferativo

ATP - Trifosfato de Adenosina Extracelular

AUC - Área sob a Curva

BTX-A - Toxina Botulínica A

CC - Subfamília CC de Quimiocina

CCM - Capacidade Cistométrica Máxima

CHRM - Receptores Muscarínicos

CIs - Células fusiformes intersticiais

Cr - Creatinina

CVI - Contração Vesical Involuntária

CX3C - Subfamília CX3C de Quimiocina

CXC - Subfamília CXC de Quimiocina

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

EFP - Estudo Fluxo Pressão

EGF - Fator de Crescimento Epidérmico

EGFR - Receptor de Fator de Crescimento Epidérmico

ELISA - *Enzyme linked immunosorbent assay*

GPCRs - Receptores com sete domínios Transmembranares Acoplados a

Proteína G

GRO- α – Proteína Alfa regulada pelo crescimento de Quimiocina

HB-EGF - Fator de Crescimento Epidérmico de ligação à Heparina

HC-FMUSP - Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

HD - Hiperatividade Detrusora

HPB - Hiperplasia Prostática Benigna

ICS - Sociedade Internacional de Continência

IFN- γ - Interferon Gama

IL-10 - Interleucina 10

IL-12p70/p40 - Interleucina 12p70/p40

IL-6 - Interleucina 6

IL-8 - Interleucina 8

IMC - Índice de Massa Corpórea

IPSS - Escore Internacional de Sintomas Prostáticos

ITU - Infecção do Trato Urinário

LIM-55 - Laboratório de Investigação Médica 55

LUTS - Lower Urinary Traty Symptoms

MAPKsp38 - Proteínas Quinases Ativadas por Mitógeno p38

MCP-1 - Fator Quimiotático para Monócitos tipo 1

MEC -Matriz Extracelular

mg - Miligrama

ml - Mililitro

MMP - Metaloproteínase da Matriz

MMP-1 - Metaloproteínase da Matriz tipo 1

MMP-13 - Metaloproteínase da Matriz tipo 13

MMP-2 - Metaloproteínase da Matriz tipo 2

MMP-8 - Metaloproteínase da Matriz tipo 8

MMP-9 - Metaloproteínase da Matriz tipo 9

NFAT - Fator Nuclear de Células T Ativadas

NF-Kb - Fator Nuclear Kappa B

NGF - Fator de Crescimento Neural

NK1 - Receptor de neuroquinina K1

NK2 - Receptor de neuroquinina K2

NO - Óxido nítrico

NOBLE - Programa Nacional de Avaliação de Bexiga Hiperativa

NR - Receptor de Neuroquinina

OIV - Obstrução Infravesical

P2X - Receptor purinérgico X

P2x3 - Receptores purinérgicos

P2Y - Receptor purinérgico Y

Pabd - Pressão abdominal

PCR - Proteína C Reativa

Pdet - Pressão detrusora

PSA - Antígeno Prostático Específico

Pves - Pressão vesical

Qmax - Fluxo Urinário Máximo

RFCNB - Fator de Crescimento Neural de Baixa Afinidade

ROC - *Receiver operator characteristic*

RPM - Resíduo Urinário pós-miccional

RTUP - Ressecção Endoscópica da Próstata

SBH - Síndrome de Bexiga Hiperativa

sCD40L - Fração Solúvel do Ligando CD40

sIL-2R α - Receptor Solúvel de Interleucina 2 α

SP - Substância P

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral α

Trka - Receptor do Tropomiosina Quinase

TRPs - Fator de Crescimento Neural de Alta Afinidade

US -Ultra-som

VU - Volume urinado

XC - Subfamília XC de Quimiocina

μ g - micrograma

Lista de Tabelas

Tabela 1. Kits de Elisa utilizados para determinação dos níveis urinários dos biomarcadores.....	58
Tabela 2. Características clínicas dos pacientes com hiperplasia prostática benigna submetidos ao tratamento cirúrgico e dos 10 pacientes do grupo controle.	62
Tabela 3. Dados urodinâmicos pré-operatórios dos 71 pacientes avaliados em relação a presença de HD.....	65
Tabela 4. Características clínicas dos pacientes com HPB de acordo com o Schafer e HD.....	67
Tabela 5. Dados urodinâmicos pré e pós-operatórios dos pacientes avaliados.	68
Tabela 6. Dados urodinâmicos pós-operatórios (6o mês) em pacientes com HD pré-RTUP.	69
Tabela 7. Características clínicas relacionadas a resolução da HD.	70
Tabela 8. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador comparados ao grupo controle.	71
Tabela 9. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação à idade e IMC.....	73
Tabela 10. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação ao IPSS e urgência miccional.	74
Tabela 11. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação a presença de HD e amplitude das CVIs.....	76
Tabela 12. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação ao período de início das CVIs.	77
Tabela 13. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação ao fluxo miccional e a pressão miccional.	78
Tabela 14. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação a Complacência e Índice de Contratilidade Vesical.....	79
Tabela 15. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação ao Schafer.	80
Tabela 16. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação à persistência do sintoma de urgência após 6 meses de tratamento cirúrgico.....	82
Tabela 17. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação à Persistência da HD após 6 meses de tratamento cirúrgico.	83

Lista de Figuras

Figura 1. Parede vesical e ação de agentes externos influenciando a função urotelial (Birder et al, 2012). Adaptada de Birder et al.....	35
Figura 2. Interação entre as fibras aferentes e eferentes da bexiga, células uroteliais, miofibroblastos e musculatura detrusora (Groat et al, 2007). Adaptada de Groat et al.....	46
Figura 3. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do MCP-1/Cr em prever HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,84)(p=0,002).	85
Figura 4. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do MCP-1 em prever HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,83) (p=0,002).	85
Figura 5. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do IL-6 em prever HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,70 (95% CI 0,58 a 0,82) (p=0,003).	86
Figura 6. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do IL-6/Cr em prever HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,65 (95% CI 0,52 a 0,78) (p=0,024).	86
Figura 7. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do MMP-1 em prever OIV. Área sob a curva (AUC) foi de 0,66 (95% CI 0,54 a 0,79) (p=0,116).	87
Figura 8. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do MMP-1/Cr em prever OIV. Área sob a curva (AUC) foi de 0,60 (95% CI 0,46 a 0,73) (p=0,139).	88
Figura 9. Curva ROC demonstrando acurácia do NGF/Cr em prever a persistência da HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,77 (95% CI 0,62 a 0,92) (p=0,006).....	89
Figura 10. Curva ROC demonstrando acurácia do MMP-1/Cr em prever a persistência da HD. Área sob a curva (AUC) foi 0,72 (95% CI 0,56 a 0,88) (p=0,022).....	90
Figura 11. Curva ROC demonstrando acurácia do MMP-1 em prever a persistência da HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,68 (95% CI 0,51 a 0,86) (p=0,577).....	90
Figura 12. Curva ROC demonstrando acurácia do NGF em prever a persistência da HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,66 (95% CI 0,48 a 0,85) (p=0,094).....	91

RESUMO

Conti, PS. *Avaliação dos biomarcadores urinários de inflamação e de remodelação tecidual na disfunção vesical em pacientes com hiperplasia prostática benigna* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

INTRODUÇÃO: A HD está presente em aproximadamente 50% dos pacientes com OIV devido HPB e 30% dos casos não apresentarão melhora após o tratamento cirúrgico. Até o momento, nenhuma característica clínica pode prever acuradamente quais pacientes serão beneficiados. Há espaço para o aprimoramento de novos métodos diagnósticos não invasivos capazes de discriminar quais os melhores candidatos à cirurgia. Neste estudo nós analisamos o papel de cinco biomarcadores urinários moleculares associados à HD e à OIV em pacientes com HPB que serão submetidos à RTUP. **MÉTODOS:** Um estudo prospectivo e controlado analisou 71 pacientes candidatos à RTUP devido HPB, submetidos ao procedimento cirúrgico entre 2011 a 2016. O grupo controle foi composto por pacientes assintomáticos apresentando IPSS menor que 6, volume prostático menor que 30 gramas, ausência de resíduo pós-miccional e fluxometria máxima $\geq 15\text{ml/s}$. Todos os pacientes do grupo de estudo realizaram estudo urodinâmico no pré-operatório e 63 pacientes no período pós-operatório. Nós analisamos a presença, o período de início (primeira vs segunda metade do enchimento vesical) e a amplitude (< 40 vs > 40 cmH₂O) das CVIs, assim como o grau de obstrução infravesical. A coleta da urina foi realizada no pré-operatório para os pacientes do grupo de estudo. A urina foi analisada para 5 quimiocinas, citocinas e fatores de crescimento usando teste de ELISA. Os valores de concentração das proteínas foram analisados de forma absoluta e normalizados para os níveis de creatinina (/Cr). **RESULTADOS:** A idade média dos pacientes foi 67 anos (50 a 88). A HD estava presente em 39 (54,9%) pacientes. De acordo com aferições pré-operatórias, a média da concentração urinária de IL-6/Cr ($p=0,007$), MCP-1($p=0,000$), MCP-1/Cr ($p=0,000$), EFG/Cr ($p=0,044$) e MMP-1/Cr ($p=0,043$) estavam respectivamente cerca de 4,5x, 7,1x, 23x, 1,7x e 2,2x vezes significativamente aumentadas em relação aos controles assintomáticos. O nível de EGF foi 1,3 vezes maior nos pacientes que iniciaram CVI tardiamente quando comparados àqueles que iniciaram as contrações na fase inicial de enchimento vesical ($p=0,044$). A amplitude das CVIs, o fluxo urinário, a complacência, o índice de contratilidade, e o schafer não apresentaram correlações estatísticas com as proteínas estudadas. Em relação a presença de HD, os níveis urinários de IL-6 ($p=0,003$), MCP-1($p=0,002$), e MCP-1/Cr ($p=0,002$) foram respectivamente 1,8x, 2x, e 2,7 vezes aumentados em relação aos pacientes submetidos à cirurgia sem HD ao estudo urodinâmico. O MCP-1/Cr foi o marcador com melhores propriedades diagnósticas para HD, apresentando área sob a curva (AUC) de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,84). A dosagem do MCP-1 não ajustada pela creatinina apresentou uma AUC de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,83). A IL-6, por sua vez, teve uma AUC de 0,70 (95% CI 0,58 a 0,82). Todos os outros biomarcadores apresentaram propriedades inadequadas neste cenário para avaliação da HD e OIV. Em relação à resolução ou persistência da HD após 12 meses de tratamento cirúrgico, os níveis dos biomarcadores NGF/Cr ($p=0,005$) e MMP-1/Cr ($p=0,021$) foram superiores entre os pacientes que não

obtiveram interrupção das CVIs no pós-operatório. Demonstraram serem úteis para predizer a persistência da HD no pós-operatório, o NGF/Cr com AUC de 0,77 (95% CI 0,62 à 0,92) ($p=0,006$) e o MMP-1/Cr com AUC de 0,72 (95% CI 0,56 à 0,88) ($p=0,022$). CONCLUSÕES: Vias neuronais parecem estar relacionadas com o período de início das CVIs durante a fase de enchimento vesical. A presença de níveis elevados na urina de biomarcadores inflamatórios e de reparo tecidual sugere um papel da inflamação na gênese da HD, e pode ajudar no diagnóstico não invasivo deste achado no pré-operatório. MCP-1, MCP-1 /Cr e IL-6 foram associados a presença de de HD ao estudo urodinâmico em pacientes com HPB candidatos a RTUP. O nível de EGF/Cr foi associado a contrações vesicais tardias. O MMP-1/Cr foi relacionado a maior pressão detrusora. O biomarcador MCP-1/Cr demonstrou-se ser útil no diagnóstico de HD nos pacientes com HPB. NGF/Cr e MMP-1/Cr demonstraram-se ser úteis para predizer a persistência da HD no pós-operatório.

Descritores: marcadores biológicos; hiperplasia prostática; obstrução do colo da bexiga urinária; bexiga urinária hiperativa; ressecção transuretral da próstata;; interleucina-6; fator de crescimento neural; quimiocinas; fator de crescimento epidérmico; metaloproteinase 1 da matriz.

SUMMARY

Conti PS. *Evaluation of urinary biomarkers of inflammation and tissue remodeling in bladder dysfunction in patients with benign prostatic hyperplasia* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2018.

INTRODUCTION: Detrusor hyperactivity (DH) is present in approximately 50% of patients with bladder outlet obstruction (BOO) due to benign prostatic hyperplasia (BPH), and 30% of the cases will not show improvement after surgical treatment. To date, no clinical feature can accurately predict which patients will benefit from surgical treatment. This rate can be improved because new noninvasive diagnostic methods are capable of determining the best candidates for surgery. In this study, we analyzed the role of five molecular biomarkers in urine associated with DH and BOO in patients with BPH undergoing transurethral resection of the prostate (TURP). **METHODS:** This prospective and controlled study analyzed 71 patients who were candidates for TURP due to BPH and underwent surgery between 2011 and 2016. The control group consisted of asymptomatic patients with International Prostate Symptom Scores (IPSSs) less than 6, prostate volume less than 30 grams, absence of estimated postvoid residual volume and a maximum flow rate ≥ 15 ml/s. All patients in the study group underwent a preoperative urodynamic study, with 63 patients undergoing a repeat urodynamic study during the postoperative period. We analyzed the presence, onset period (first vs second half of bladder filling) and amplitude (< 40 vs > 40 cmH₂O) of the involuntary detrusor contractions (IDCs), as well as the degree of BOO. Urine was collected preoperatively from patients in the study group. The urine was analyzed for five chemokines, cytokines and growth factors using ELISAs. The protein concentrations were analyzed as absolute and creatinine (/Cr)-adjusted values. **RESULTS:** The mean age of the patients was 67 years (50 to 88). DH was present in 39 (54.9%) patients. According to preoperative measurements, the mean urine concentrations of IL-6/Cr ($p = 0.007$), MCP-1 ($p = 0.000$), MCP-1/Cr ($p = 0.000$), EGF/Cr ($p = 0.044$) and MMP-1/Cr ($p = 0.043$) were approximately 4.5, 7.1, 23, 1.7 and 2.2 times, respectively, those of asymptomatic controls (all significantly increased). The EGF level was 1.3 times higher in patients with late IDCs than in those whose contractions started in the early stage of bladder filling ($p = 0.044$). The IDC amplitude, urinary flow, compliance, bladder contractility index, and Schafer's grade were not significantly correlated with the proteins studied. In patients with DH, urinary levels of IL-6 ($p = 0.003$), MCP-1 ($p = 0.002$), and MCP-1/Cr ($p = 0.002$) were 1.8, 2, and 2.7 times higher, respectively, than in patients without DH who underwent surgery, according to the urodynamic study. MCP-1/Cr had the best diagnostic properties for DH, with an area under the curve (AUC) of 0.71 (95% CI: 0.59 to 0.84). The non-Cr adjusted MCP-1 concentration had an AUC of 0.71 (95% CI: 0.59 to 0.83). Additionally, IL-6 had an AUC of 0.70 (95% CI: 0.58 to 0.82). All other biomarkers were inadequate for DH and BOO evaluation. Regarding the resolution or persistence of DH 12 months after surgery, the NGF/Cr (0.13 vs 0.08, $p = 0.005$) and MMP-1/Cr (0.11 vs 0.04, $p = 0.021$) levels were higher in patients for whom the IDCs continued during the postoperative period. The following factors were shown to be useful for predicting the persistence of DH during the postoperative period: NGF/Cr, with an AUC of

0.77 (95% CI: 0.62 to 0.92) ($p = 0.006$), and MMP-1/Cr, with an AUC of 0.72 (95% CI: 0.56 to 0.88) ($p = 0.022$). **CONCLUSIONS:** Neural pathways appear to be related to the onset period of IDCs during bladder filling. The presence of high urinary levels of inflammatory and tissue repair biomarkers suggests a role of inflammation in the genesis of DH and may aid in the noninvasive diagnosis of this condition during the preoperative period. MCP-1, MCP-1/Cr and IL-6 were associated with the presence of DH in the urodynamic studies of patients with BPH who were candidates for TURP. The EGF/Cr level was associated with late detrusor contractions. MMP-1/Cr was associated with increased detrusor pressure. The MCP-1/Cr biomarker was shown to be useful for the diagnosis of DH in patients with BPH. NGF/Cr and MMP-1/Cr were shown to be useful in predicting the persistence of DH during the postoperative period.

Descriptors: biological markers; prostatic hyperplasia; urinary bladder neck obstruction; urinary bladder, overactive; transurethral resection of prostate; interleukin-6; nerve growth factor; chemokines; epidermal growth factor; matrix metalloproteinase 1.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações Gerais

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é uma doença urológica de alta prevalência, resultante da proliferação de elementos estromais e epiteliais, causando um aumento benigno da próstata (ABP) e sintomas, além de constituir um importante fator de impacto à saúde masculina. É um processo relacionado ao envelhecimento masculino sendo que em autópsias, a prevalência histológica de HPB se eleva a partir dos 40 anos de idade e está presente em cerca de 40% dos homens com 50 anos e em mais de 80% dos homens acima de 80 anos (Lepor, 2004; Berry et al., 1984). Além do critério histológico, a prevalência da HPB pode ser calculada baseada em critério clínico (palpação digital da próstata). Essa análise mostra que somente 20% dos homens com 50 anos e 45% dos homens com 80 anos apresentam evidências de aumento da glândula (Lepor, 2004; Abrams, 2001; Berry et al., 1984). Avaliando-se a importância da HPB em termos de saúde pública e suas consequências econômicas os dados são expressivos, tornando-se ainda mais preocupante quando observamos o envelhecimento da população mundial. Estimasse que nos EUA o custo direto dos serviços médicos prestados para o gerenciamento da HPB, excluindo tratamento farmacológico, supere 1,1 bilhão de dólares anualmente (Wei et al., 2005). Entre os tratamentos cirúrgicos para esta afecção, a ressecção transuretral da próstata (RTUP) já foi responsável por um gasto anual maior que dois bilhões de dólares (Wei et al., 2005).

1.2. Manifestações clínicas da HPB e suas consequências na bexiga

A HPB decorre da proliferação do epitélio glandular e do estroma fibromuscular na região periuretral e na zona de transição. Normalmente as manifestações clínicas da HPB (LUTS - Lower Urinary Tract Symptoms) apresentam-se como sintomas de esvaziamento (hesitação, jato fraco e intermitente, esforço miccional, gotejamento terminal e sensação de esvaziamento incompleto) ou de armazenamento (urgência miccional, noctúria, aumento da frequência miccional diurna e incontinência urinária). Os sintomas decorrentes da HPB surgem do efeito de três componentes: mecânico, dinâmico e vesical. A resultante da ação desses três fatores promove o aparecimento e gravidade da sintomatologia da HPB (Mirone et al., 2004). Os sintomas de esvaziamento surgem do efeito mecânico da próstata sobre a uretra, com diminuição do calibre e aumento da resistência uretral além do componente dinâmico representado pela atividade alfa-adrenérgica exacerbada na região decorrente da presença dos altos níveis desses receptores na cápsula, no estroma prostático e no colo vesical. Esses fatores contribuem para obstrução infravesical (OIV). Os sintomas de armazenamento aparecem decorrentes do componente vesical como por exemplo a hiperatividade detrusora (HD) gerada pela reação do detrusor à obstrução uretral. O componente vesical pode apresentar outras alterações secundárias geradas decorrentes da obstrução produzida pela HPB na musculatura detrusora que se traduzem por hipocontratilidade, alterações de sensibilidade, e à complacência vesical (Dahmani et al., 2002).

Atualmente, sabe-se que ABP pode gerar como complicação a OIV, mas os mecanismos pelos quais a HPB produz os sintomas permanecem pouco compreendidos. Os sintomas relacionados à HPB podem surgir em decorrência de

fenômenos fisiopatológicos que agem de forma independente ou combinada: obstrução uretral causada pelo ABP, reação da musculatura detrusora e alterações neuronais. A resistência causada pelo ABP pode aumentar devido a obstáculos estáticos (aumento do tecido glandular) ou dinâmicos (hiperatividade autônoma simpática da musculatura lisa). No entanto, é inconsistente a relação entre gravidade dos sintomas com resultados anatômicos da ABP e urodinâmicos de OIV (Barry et al., 1993). OIV foi confirmada com estudo urodinâmico em apenas 56% dos homens que relataram sintomas (Reynard et al., 1998). Isso pode ser explicado devido aos sintomas sugestivos de OIV serem decorrentes também do enfraquecimento do detrusor ou um relaxamento insuficiente do esfíncter uretral e não exclusivamente de patologias prostáticas (Kuo et al., 2007).

1.3. Definição e epidemiologia da Hiperatividade Detrusora e da Síndrome de Bexiga Hiperativa (SBH)

A HD é uma importante causa de sintomas miccionais, caracterizada por contrações involuntárias do detrusor durante a fase de enchimento (ou armazenamento) vesical que pode ser espontânea ou provocada (Abrams et al., 1988). HD constitui uma observação urodinâmica frequente da Síndrome da Bexiga Hiperativa (SBH) (Hashim et al., 2006).

1.3.1. Síndrome da Bexiga Hiperativa (SBH)

A Sociedade Internacional de Continência (ICS) define a SBH como uma condição caracterizada por sintomas de urgência, com ou sem urgeincontinência,

geralmente associada à freqüência miccional e noctúria (Abrams et al., 2002). É uma doença crônica muito freqüente com custos sócio-econômicos consideráveis, afetando 17 milhões de pessoas nos EUA, com prevalência global na população adulta acima dos 10%, podendo exceder os 40 % na faixa etária geriátrica (Tyagi et al., 2006; Irwin et al., 2006). Uma análise de um estudo do Programa Nacional de Avaliação de Bexiga Hiperativa (NOBLE - The National Overactive Bladder Evaluation Program) fez estimativa dos custos anuais com a SBH na população adulta norte-americana em 24,9 bilhões de dólares, sendo que os custos indiretos podem chegar à 36,5 bilhões de dólares (Hu et al., 2004; Onukwughu et al., 2009). A bexiga hiperativa atinge cerca de 16,5% dos homens nos EUA, e sua prevalência também aumenta com a idade (Stewart et al., 2003). Estudos realizados na América Latina encontraram uma prevalência similar na população adulta no Brasil, de aproximadamente 18,9%, sendo que em homens de 18 a 75 anos foi de 14% (Teloken et al., 2006). Milson e cols, 2001, relataram que a prevalência de HD aumenta de 3% entre homens com 40 a 44 anos para 42% naqueles acima de 75 anos (Milson et al., 2001).

A SBH apresenta sintomas sugestivos de HD, mas estes podem ser decorrentes de outras formas de disfunção miccional (Abrams et al., 2002). HD foi observada em 64% dos pacientes com SBH de acordo retrospectiva de 1076 pacientes (Hashim et al., 2006). Por outro lado, os autores enfatizaram que cerca de 30% dos pacientes não tinham SBH e apresentaram HD (Hashim et al., 2006; Digesu G et al, 2003).

1.3.2. Hiperatividade detrusora (HD)

A Sociedade Internacional de Continência (ICS) (Abrams, et al., 2003) classifica a HD em idiopática, quando não há uma causa definida e neurogênica, quando há uma condição neurológica associada ao quadro. Outra forma de caracterização da HD é através do traçado urodinâmico. Em 2002, a ICS descreveu dois tipos básicos: **a.** HD de fase definida por uma forma de onda característica, e pode ou não levar à incontinência urinária; **b.** HD terminal definida pela presença de uma única contração detrusora involuntária durante a capacidade cistométrica que não pode ser inibida e gera a incontinência que geralmente resulta em esvaziamento vesical completo. A HD de fase é a forma mais visualizada em pacientes com HD idiopática. É caracterizada por contrações de amplitudes crescentes, espontâneas ou provocadas desencadeada pelo detrusor, durante a fase de enchimento vesical. Os pacientes são subdivididos em dois grupos: **a.1.** Instabilidade primária idiopática, quando não há causa definida, e **a.2.** Instabilidade detrusora associada à obstrução infravesical.

1.4. Sintomas miccionais e HD

É reconhecido que os sintomas miccionais nos homens são causados por OIV ou uma combinação de disfunção vesical e OIV. No entanto, os sintomas podem ser decorrentes somente de disfunções vesicais sem a presença de patologias prostáticas. Foi observado que 60% dos homens com sintomas miccionais e idade menor que 60 anos, não apresentavam ABP ou história de HPB (Gades et al., 2005). Foi demonstrada também a ocorrência de HD em 50% dos pacientes com sintomas miccionais, mas sem se correlacionar com a presença ou severidade de obstrução

infravesical (Dorflinger, 1985). Assim, HD pode ocorrer em uma porcentagem significativa de homens que apresentam HPB com ou sem OIV, como foi observado em vários estudos (Hyman et al., 2001). Da mesma forma, aproximadamente 50 % dos homens com OIV apresentam estudo urodinâmico confirmando HD (Hyman et al., 2001; Andersen et al., 1979).

Há algum tempo a OIV é postulada como etiologia de HD, especialmente em homens com HPB (Mirone et al., 2004; Dahmani et al., 2002). No entanto, após a desobstrução, os sintomas desaparecem em cerca de dois terços dos pacientes, confirmando que em alguns casos podem apresentar disfunções vesicais não relacionadas à desobstrução prostática (Abrams, 1985). Outros estudos relataram que os sintomas de HD permanecem em cerca de 20 a 40% dos pacientes após a cirurgia (Abrams et al., 1979; Gormley, 1993). Em estudos com seguimento em longo prazo, houve recorrência dos sintomas miccionais após 10 anos em cerca de 60% dos pacientes submetidos à RTUP (Thomas et al., 2000). Masumori e cols, 2010, no entanto, em um estudo com seguimento de 12 anos, observou uma melhora sustentada dos sintomas após a RTUP, mesmo nos pacientes com HD (Masumori et al., 2010). Atualmente, poucos estudos conseguiram correlacionar com acurácia a associação de variáveis clínicas com os resultados da RTUP em pacientes com OIV e sintomas de HD. Não há também, método diagnóstico que possa prever se a presença de HD está relacionada ao processo obstrutivo ou à uma disfunção vesical primária. Assim, são necessários métodos diagnósticos que nos permitam prever de forma objetiva a resposta após desobstrução urinária.

1.5. Fisiopatologia da Hiperatividade Detrusora

Três principais hipóteses são propostas para explicar as bases fisiopatológicas de HD. As teorias neurogênicas (de Groat, 1997), miogênica (Brading, 1997) e uroteliogênica (Andersson, 2002; Roosen, 2009). A separação nesses grupos é importante para discussão da etiologia da disfunção, no entanto, esses processos coexistem e se correlacionam, cada um dos quais contribuindo em diferentes proporções para os complexos mecanismos da gênese da HD. As alterações primárias do detrusor podem desencadear anormalidades neurológicas, que estimulariam a condução da atividade elétrica, predominante na HD. Da mesma forma, alterações neurológicas podem levar a mudanças na estrutura do detrusor. Foram evidenciadas alterações histológicas no detrusor de suínos, mostrando hiperplasia e hipertrofia dos miócitos, com diminuição da inervação parassimpática (Dixon et al, 1989). Vários estudos experimentais, sugerem que essa denervação do detrusor seja consequência de lesões isquêmicas provocadas pela redução relativa do fluxo sanguíneo vesical ao detrusor hipertrofiado (Saito et al, 1997; Greenland et al, 2001). Outros estudos, demonstraram que a hipertrofia do detrusor é acompanhada de perda do sincronismo das fibras musculares devido à diminuição da função contrátil destas e surgimento da atividade elétrica espontânea (Mostwin et al, 1991).

A proposta neurogênica pressupõe que alterações histológicas na parede vesical representadas por denervação, ligações intercelulares anormais do detrusor obstruído e a diminuição dos receptores colinérgicos associada à supersensibilidade dos receptores muscarínicos, podem determinar os sintomas de urgência e frequência miccional (Mills, 2000). Essas alterações já foram demonstradas na HD por instabilidade primária idiopática, como na instabilidade detrusora associada à OIV, e

também na hiperreflexia detrusora em pacientes neurológicos (Goldberg et al, 2002). Outras mudanças nas fibras aferentes no sistema nervoso central são descritas, ocorrendo substituição de fibras pequenas e mielinizadas do tipo A- δ por fibras do tipo C. Essas não são mielinizadas e medeiam o reflexo de contração vesical após estímulos químicos, irritativos e térmicos, mas existem dúvidas quanto a sua participação na micção normal (Habler et al, 1991; Morrison et al, 1999).

A teoria miogênica sugere que alterações estruturais primárias do detrusor estariam implicadas na gênese da HD. Achados microscópicos demonstram anormalidades estruturais no detrusor, como o aumento de elastina, colágeno e alterações nas junções intercelulares (Goldberg et al, 2002; Elbadawi, 1993). Nessas alterações juncionais há o predomínio de tipos de junções celulares que foram demonstradas em estudos de microscopia eletrônica e são responsáveis pela transmissão celular elétrica que originam as contrações detrusoras involuntárias e sincrônicas (Elbadawi et al, 1993; Branding, 1994; Branding et al, 1997).

De acordo com a hipótese uroteliogênica, alterações na função dos receptores uroteliais, além de alterações na sensibilidade e acoplamento das células fusiformes intersticiais (CIs) suburoteliais podem contribuir para o aumento das contrações detrusoras involuntárias (Andersson, 2002). Andersson e cols, 2002, ao estudar a perspectiva farmacológica sobre a fisiologia do trato urinário inferior, confirmou que vários neurotransmissores produzidos e liberados pelo urotélio e pelo plexo de nervos aferentes suburoteliais em resposta a distensão vesical podem alterar o início da micção e, conseqüentemente, estarem implicados na fisiopatologia da HD (Andersson et al, 2002). Tem sido demonstrado que a distensão vesical provoca a partir do urotélio, a liberação de Trifosfato de Adenosina Extracelular (ATP) que atuaria sobre os receptores purinérgicos P2x3 de nervos suburoteliais, estimulando as fibras

nervosas aferentes para evocar descarga neuronal e dar início ao reflexo da micção (Burnstock, 1999; Andersson et al, 2002). Outro neurotransmissor envolvido na fisiopatologia da HD e liberado da mesma forma é o óxido nítrico (NO), que atua como fator de relaxamento do músculo detrusor durante o enchimento vesical. Estudos indicam que pode ser um dos fatores envolvidos na diminuição da pressão intrauretral que precede a contração do detrusor no início do esvaziamento vesical (Andersson et al, 1995). Alguns moduladores do reflexo da micção no sistema nervoso central e periférico como as taquicininas e bradicininas A e B também foram detectadas em fibras aferentes do tipo C, demonstrando HD induzida após serem liberadas em resposta ao estímulo químico, como demonstrado por Lecci e Maggi, 2001 (Lecci et al, 2001).

A resposta do músculo detrusor a OIV esta associada com hipertrofia e hiperplasia das fibras musculares gerando um desequilíbrio entre oferta vascular e demanda de oxigênio e nutrientes. Sob condições isquêmicas e de hipóxia a presença de hiperatividade desenvolve uma condição mais lesiva devida à depleção de fontes de energia e substâncias antioxidantes. Consequentemente, há o acúmulo de radicais livres de oxigênio que interagem com óxido nítrico gerando espécies reativas de nitrogênio (Sayre, 2001). Esse produto, causa danos em fibras nervosas, no urotélio e na microvasculatura através de mecanismos de desregulação de citocinas pró-inflamatórias, peroxidação lipídica, oxidação as proteínas e ao DNA (ácido desoxirribonucléico).

Estudos experimentais com animais demonstraram que um estado crônico de hipóxia resultou em HD e na expressão de marcadores apoptóticos em neurônios na parede vesical. Um estado moderado de isquemia vesical estava associado a HD levando a danos estruturais no urotélio e exposição crônica de terminações nervosas

e tecidos adjacentes à urina (Azadizoi et al, 1999). As perturbações na integridade da barreira urotelial são postuladas também como uma causa do surgimento de HD. Acredita-se que o adelgaçamento (desbaste) ou lesões nesta barreira, decorrentes dos processos funcionais de remodelação e inflamação, estão envolvidos nesse processo (Kim, 2009). O rompimento da barreira urotelial tem sido associado ao aumento da expressão de substâncias como o Fator antiproliferativo (APF) que quando acumulado na urina, é capaz de alterar a fisiologia e o comportamento das células uroteliais, através da supressão da proliferação de células epiteliais da bexiga, do aumento da permeabilidade transcelular por redução de expressão de proteínas envolvidas em complexos juncionais intercelulares, e consequentemente do aumento da produção do fator de crescimento epidérmico (EGF) a partir das células epiteliais da bexiga (Kim, 2009). Foi observado um nível de expressão do EGF urinário diminuído em pacientes idosas que haviam sido submetidas a procedimento cirúrgico de incontinência urinária após um ano de pós-operatório. Os autores observaram um aumento da atividade da collagenase na urina associada à idade, sugerindo a ocorrência de um aumento da remodelação tecidual em pacientes mais idosas (Chai et al, 2014).

1.6. Papel da função de barreira urotelial

Em uma situação de funcionamento normal, a distensão da bexiga durante o enchimento vesical é acompanhada de uma mudança na forma do epitélio superficial. Além disso, há também um aumento do tráfego vesicular (exocitose / endocitose) na membrana de superfície celular apical ou superficial, permitindo assim o enchimento vesical sem a perda da função de barreira urotelial (Balestreire et al,

2007; Wang et al, 2005). Alguns estudos revelaram que a exocitose induzida por estiramento envolve moléculas de sinalização, incluindo o receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR) (Balestreire et al, 2007; Cheng et al, 2002). Esses processos permitem que a bexiga acomode o aumento de volume de urina durante o enchimento sem comprometer a função de barreira urotelial. Apesar da existência da barreira urotelial, alguns fatores de estress local tais como o pH urinário, trauma mecânico ou químico, alterações hormonais, infecções bacterianas, podem modular a função de barreira. Outras condições como senescência, lesão medular, cistite intersticial e HD, também estão associadas a mudança da barreira urotelial. (Laberge et al, 2006) (Apodaca et al, 2003).

A figura 1 demonstra a ação de alguns fatores externos influenciando a função urotelial. A mucosa consiste em urotelio e suburotelio e está em contato com uma camada proteoglicana externa voltada para a urina. O urotélio inclui uma camada externa de células voltada para a urina e acoplada por junções apertadas, reduzindo assim a capacidade dos solutos de penetrar no urotelio. O suburotelio contém fibras neuronais aferentes, vasos sanguíneos e células intersticiais e na face interna algumas células musculares. Após exposição a tensões externas, o urotélio libera uma série de transmissores, incluindo aqueles que podem influenciar a atividade neuronal aferente ou difundir na camada de detrusor e alterar a função contrátil, tais como ATP, acetilcolina (ACh), óxido nítrico (NO), IL-6 e MCP-1. Fatores externos que afetam a liberação do transmissor incluem fatores físicos, tais como variação da pressão transmural, tensão lateral ou torcional, ou mudanças na composição química da urina.

Figura 1. Parede vesical e ação de agentes externos influenciando a função urotelial (Birder et al, 2012). Adaptada de Birder et al.

1.7. Inflamação e HD

O processo inflamatório como papel central na gênese da HD vem sendo sustentado através de estudos recentes que revelam evidência histológica de inflamação vesical em doentes com SBH (Tyagi et al, 2010; Comperat, 2006, Apostolidis et al, 2008). Os sinais de inflamação sugeridos por estudos de biópsia envolvem a predominância de células mononucleares linfocíticas, restritas as camadas superiores da bexiga, especialmente a suburotelial (Comperat, 2006). Bouchelouche K e cols, 2004, demonstraram que a inflamação vesical induzida por infiltrado de células imunes pode ser amplificada por células presentes no detrusor e no urotélio através da liberação de quimiocinas como a proteína quimiotática de monócito 1 (MCP-1) e interleucinas 8 (IL-8) e 6 (IL-6) (Bouchelouche et al, 2004; Bouchelouche et al, 2006). As quimiocinas pertencem a família de proteínas

secretoras que são expressas por leucócitos e células não inflamatórias locais e funcionam como mediadores do processo inflamatório. A citocina é um termo genérico utilizado para designar um grupo de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes. Estudos experimentais em ratos mostraram que os níveis aumentados na urina de MCP-1 e do oncogene relacionado com o crescimento (GRO- α) são evidências de inflamação vesical após a indução com ciclofosfamida (Smaldone et al, 2009; Perini et al, 2007). Tyagi e col, 2010, sugerem que a produção aumentada de citocinas inflamatórias pode contribuir para alteração no processamento sensorial da bexiga. Para os autores desse estudo, a regulação de citocinas inflamatórias em pacientes com SBH pode ocorrer como uma interação da inervação parassimpática sensorial com células imunes locais (Tyagi et al, 2010).

As quimiocinas são subdivididas em quatro famílias (CXC, CC, C, CX3C) dependendo da posição relativa e do número dos seus resíduos N-terminais de cisteína, bem como a ausência (CC) ou presença de amioácido (s) entre esses resíduos de cisteína (CXC) (Tyagi et al, 2010). Cada classe tem seus receptores específicos com funções diferentes. A classe de quimiocinas CC, como MCP-1, tem atividade quimiotática para monócitos, mas não para neutrófilos (Bouchelouche et al, 2006). Outra classe de quimiocinas, CXC, são angiogênicas e promovem a quimiotaxia de neutrófilos, como o oncogene relacionado com o crescimento (GRO- α) (Moser et al, 1991).

Estudos recentes sobre a análise do perfil de citocinas urinárias na SBH reforçam o papel do processo inflamatório na gênese da HD. Ghoniem e col, 2011, recentemente descreveram o aumento de MCP-1 e outras citocinas exclusivamente na urina de pacientes com SBH (Ghoniem et al, 2011). Tyagi e cols, 2009, analisando

a urina para determinadas citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e receptores solúveis, demonstrou um aumento de vários desses biomarcadores em pacientes portadores de SBH (Tyagi et al, 2010). Os níveis urinários de MCP-1 e da fração solúvel do ligando CD40 (sCD40L) estavam aumentados em mais de dez vezes nos pacientes com SBH em comparação com pacientes assintomáticos do grupo controle (Tyagi et al, 2010). Além disso, os níveis urinários da proteína inflamatória macrofágica (MIP-1 β), da interleucina 12p70/40 (IL-12p70/p40), da interleucina 5 (IL-5), do fator de crescimento epidérmico (EGF), e do GRO- α estavam aumentados em cerca de cinco vezes nos pacientes com SBH em comparação aos pacientes do grupo controle (Tyagi et al, 2010). No mesmo estudo, foi constatado também o aumento dos níveis urinários do receptor solúvel de interleucina 2 α (sIL-2R α) e da interleucina 10 (IL-10) (Tyagi et al, 2010).

Outros dados que demonstram a relação entre o processo inflamatório tecidual da bexiga com HD são obtidos no estudo Chuang e cols, 2010. Foram constatados níveis significativamente elevados de proteína C reativa (PCR) no soro de pacientes com SBH. Segundo os autores, os níveis de PCR na urina e no tecido vesical parecem ser muito inferiores à sua concentração sérica (Chuang et al, 2010). Kupelian e cols, 2009, descreveram uma associação significativa entre nível sérico de PCR e presença de sintomas miccionais em homens e mulheres (Kupelian et al, 2009).

Com base nesses estudos, observamos uma evidente associação entre níveis elevados de marcadores inflamatórios na urina e no sangue com SBH, sugerindo uma relação entre essa condição e a inflamação tecidual da bexiga. É também crescente a quantidade de estudos que enfatizam essa associação (Tyagi et al, 2010; Chuang et al, 2010; Ghoniem et al, 2011). Desse modo, podemos especular um possível papel desses biomarcadores no diagnóstico e prognóstico dos pacientes com SBH, HD e

aqueles com persistência de HD após a RTUP. Até o presente momento nenhuma análise destes marcadores correlacionada ao estudo urodinâmico foi realizada em pacientes candidatos à RTUP e também naqueles com persistência de HD após desobstrução cirúrgica.

1.8. Neuroplasticidade vesical

Conforme dito anteriormente, é descrito mudança nas fibras aferentes no sistema nervoso central, ocorrendo substituição de fibras pequenas e mielinizadas do tipo A- δ por fibras do tipo C. Essas fibras estão normalmente em repouso durante o período de enchimento vesical, e em algumas situações patológicas tornam-se ativas levando ao desenvolvimento da HD. São fibras não mielinizadas e medeiam o reflexo de contração vesical por exemplo após estímulos químicos, irritativos, térmicos. (Habler et al, 1991; Morrison et al, 1999). As células uroteliais expressam numerosos receptores capazes de modular, ativar ou inibir fibras sensoriais como as neurotrofinas que são fatores de crescimento que participam do processo de diferenciação, crescimento e manutenção celular (Allen et al, 2006). O fator de crescimento neural (NGF) é um exemplo, sendo sintetizado tanto por células neuronais quanto por células não neuronais, é liberado na bexiga e terminações nervosas pela urotélio e músculo liso detrusor. Foi sugerido que a superexpressão específica do NGF na urina poderia sensibilizar vias aferentes na bexiga, e aumentar os estímulos sensoriais para o sistema nervoso central resultando no aumento da frequência miccional e HD (Schnegelsberg et al, 2010; Girard et al, 2011). O urotélio é um sítio com uma expressão importante de NGF e seus receptores, que tem sido encontrado em níveis elevados na bexiga e urina de pacientes com sintomas miccionais de armazenamento,

incluindo OIV devido HPB, cistopatia diabética, cistite intersticial, HD idiopática e neurogênica e processos inflamatórios (Ochodnický et al, 2011; Dupont et al, 2001).

1.9. Papel da matriz extracelular na bexiga

Matriz Extracelular (MEC) é um espaço extracelular, preenchido por componentes fibrosos e protéicos, que fornecem um substrato adequado para o crescimento e diferenciação de variados tipos celulares do organismo (Junqueira et al, 2005). As principais moléculas que compõem a matriz extracelular são as glicosaminoglicanas e as proteínas. O colágeno corresponde a 50% do estroma vesical possuindo importante papel na adaptação vesical e condições fisiopatológicas (Alberts, 2010).

O estresse mecânico secundário à OIV é a principal causa relacionada a redução da complacência vesical (Levin et al, 1995). O aumento da espessura vesical que é observada nesses casos decorre da hipertrofia da musculatura lisa detrusora e da deposição do excesso de matriz extracelular (MEC). Sutherland et al, 1998, apontam que a complacência está relacionada à deposição da MEC, que depende da atividade de enzimas proteolíticas como as metaloproteinases (MMP) da matriz (Sutherland et al, 1998). As MMP são subdivididas em 5 grupos: Matrilisinas, Estromelisinases, Gelatinases, MMP tipo membrana e as collagenases. As collagenases contém um domínio simples de hemopexina (que determina o substrato) conectado ao domínio catalítico de uma região rica em prolina. As MMPs degradam a hélice nativa de colágeno tipo I, II e III. As principais MMPs envolvidas nesse processo são MMP-1, MMP-8 e MMP-13 (Curran et al, 1999).

1.10. Biomarcadores urinários

Um biomarcador é uma molécula que pode ser aferida objetivamente e poderia fornecer uma informação como indicador de processos patológicos ou biológicos normais, ou até mesmo como um preditor de uma resposta à uma intervenção terapêutica (Atkinson et al, 2001). É geralmente usado para definir a presença de (biomarcador diagnóstico), a gravidade, a progressão (biomarcador prognóstico) de uma doença e/ou sua resposta à um tratamento específico (biomarcador preditivo) (Alka, 2013).

A identificação de um biomarcador ideal é um grande desafio, visto que os marcadores biológicos apresentam valores que variam também em indivíduos saudáveis. Além disso, os biomarcadores devem apresentar um alto valor preditivo, serem altamente sensíveis e específicos. Outro desafio é a implementação na prática clínica que faz a necessidade do biomarcador ser facilmente utilizado, acessado, apresentar baixo custo, e ter resultados que possam ser reproduzidos.

Os biomarcadores urinários estão demonstrando-se ser bastante promissores como método de diagnóstico e monitorização de pacientes com as mais diversas patologias. As proteínas urinárias podem fornecer informações da situação fisiológica e tem potencial para serem utilizadas para detecção precoce de alterações patológicas, assim como escolha de determinado tratamento ou monitorização (Chevalier, 2004; Kuo, 2012).

Devido a natureza multifatorial da HD e das consequências do efeito da OIV na bexiga é improvável que uma única molécula seja identificada de maneira a atender todas as características de um biomarcador urinário ideal. No caso da OIV deveria confirmar a presença de obstrução significativa e o comprometimento da função

vesical. Em relação a HD deveria ajudar a indicar a presença de contrações detrusoras involuntárias. Em ambos os casos seria uma ferramenta objetiva e menos invasiva para diagnosticar e avaliar o resultado terapêutico em pacientes com HD e OIV. Os biomarcadores ideais poderiam evidenciar estágios iniciais de disfunção vesical como em casos de OIV, indicando uma necessidade de intervenção de forma mais precoce. Poderia também funcionar como uma ferramenta para diferenciar as características da HD ou então para monitorizar e fazer um controle evolutivo desses pacientes (Kuo, 2012).

Diante desse cenário, são realizadas diversas tentativas para utilizar biomarcadores urinários em SBH, HD e OIV. Caso o marcador se correlacionar com a presença de HD no traçado urodinâmico ou com o score de urgência em complemento com o diário miccional, poderá ser um bom marcador para HD e SBH. Caso o marcador se correlacione com o índice de contratilidade vesical poderá ser um bom indicador da progressão da disfunção vesical. Por fim, se o biomarcador urinário se correlacionar com o grau de obstrução infravesical indicado no estudo urodinâmico poderá ser um bom indicador com potencial para discriminar quais pacientes necessitarão de cirurgia, e também o momento ideal para indicação de cirurgia para desobstrução. Existe uma expectativa de identificarmos alguns biomarcadores urinários que gere especificidade e sensibilidade exigidas e que também possa ser reprodutível com elevado valor preditivo. Até o momento os potenciais marcadores mais conhecidos para HD são: IL-1, IL-6, IL-10, IL12p/70, TNF- α , IFN- γ , NGF e MCP-1. Os marcadores para OIV mais conhecidos são: MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-13, N-telopeptídeo colágeno reticulado (NTx), EGF e HB-EGF. Esses biomarcadores mostram diferentes graus de preenchimento dos critérios citados acima (Chai et al, 2014).

A identificação de biomarcadores urinários para HD e OIV requer um profundo entendimento dos mecanismos biológicos envolvidos na patogênese dessas alterações. Uma possível maneira de investigar essas proteínas acima citadas seria analisar aquelas que já possuem um papel demonstrado em diferentes apresentações de SBH, HD e OIV (Chai et al, 2014; Tyagi et al, 2010; Apostolidis et al, 2008; Comperat et al, 2006; Kuo, 2012).

Após uma revisão cuidadosa da literatura, não identificamos até o momento nenhum estudo que contemple a utilização de biomarcadores urinários e que os correlacione com os achados do estudo urodinâmico em pacientes candidatos a RTUP, devido a HPB com e sem hiperatividade detrusora (Alka, 2013).

1.10.1. Interleucina 6

A interleucina 6 (IL-6) atua como uma citocina pró-inflamatória. É uma glicoproteína importante na sinalização celular, envolvida em uma grande variedade de funções biológicas. Apresenta em sua estrutura cerca de 170 a 180 resíduos de aminoácidos com quatro resíduos de cisteína que participam em duas ligações dissulfureto. Ela desempenha um papel essencial na diferenciação final de células B. Assim como outras citocinas, são produzidas por células T e macrófagos para estimular a resposta imune em danos teciduais que conduzem à inflamação, por exemplo durante uma infecção, trauma, stress, mudanças de pressão transmural e mudanças da composição química do meio (urina ou sangue). As células musculares lisas produzem IL-6 como uma proteína pró-inflamatória. A sinalização nos macrófagos é dependente de uma via de sinalização de fator nuclear kappa B (NF-Kb), enquanto que nas células musculares é regulada por uma rede de cascatas de

sinalização que incluem as vias de proteínas quinases ativadas por mitógeno p38 (MAPKsp38) e cálcio/fator nuclear de células T ativadas (Ca²⁺/NFAT) (Brandt et al, 2010). A IL-6 apresentou-se elevada em em tecido e urina de modelos experimentais de HD em ratos (Kim W, 2016). Outros autores associaram a elevação dos níveis de IL-6 e outras citocinas na urina de pacientes com SBH e HD (Tyagi et al, 2010).

1.10.2. Fator de crescimento neural

Fator de crescimento neural (NGF) é um fator neurotrófico envolvido principalmente na regulação do crescimento, manutenção, proliferação, e sobrevivência de terminações neuronais. É um complexo protéico de aproximadamente 30 kDa. O mecanismo de ação ocorre ligando-se com duas classes de receptores: receptor de tropomiosina quinase A (TrKA) e o receptor do fator de crescimento neural de baixa afinidade (RFCNB). O NGF é produzido no urotélio e na musculatura lisa vesical. Dados clínicos e experimentais têm mostrado uma associação direta entre o aumento da expressão de NGF no tecido vesical e na urina (Liu et al, 2008). Qu et al. conduziram uma meta-análise que identificou oito estudos controlados (Qu et al, 2014). Em todos eles, pacientes portadores de HD com SBH mostraram níveis de NGF urinário mais elevados do que os indivíduos saudáveis e atingiram níveis mais baixos de NGF após o tratamento efetivo realizado (Qu et al, 2014).

1.10.3. Proteína quimiotática de monócitos 1

A Proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1) pertence a classe de quimiocinas CC caracterizado por ter dois resíduos de cisteínas adjacentes. Estas quimiocinas tem sua atividade exercida pela ligação a receptores com sete domínios transmembranares acoplados a proteína G (GPCRs), e esta principalmente relacionado com o trânsito de células do sistema imune. A estimulação de mastócitos pela substância P (SP) induz a produção desta quimiocina induzindo a ativação de novos mastócitos. A MCP-1 provoca a ativação de mastócitos e tem atividade quimiotática potente para monócitos, mas não para neutrófilos. Esta citocina é produzida predominantemente por macrófagos, mastócitos, células dendríticas e endoteliais. É um polipeptídeo monomérico, com um peso molecular de aproximadamente 13kDa (Tyagi et al, 2010; Bouchelouche et al, 2004). Assim como a IL-6, estimula a resposta imune em danos teciduais que conduzem à inflamação, durante processos infecciosos, trauma, stress, mudanças de pressão transmural e mudanças da composição química do meio (urina ou sangue). Os níveis urinários de MCP-1 foram observados elevados em pacientes com SBH sem infecção do trato urinário (ITU), em cerca de 10 vezes quando comparado ao grupo controle assintomático (Tyagi et al, 2010).

1.10.4. Fator de crescimento epidérmico

O fator de crescimento epidérmico (EGF) é um fator de crescimento que estimula o crescimento, a proliferação e a diferenciação celular através da ligação ao seu receptor (EGFR). Apresenta 53 resíduos de aminoácidos e três ligações de

dissulfureto. Tem uma função de proteção das mucosas contra fatores intraluminais prejudiciais tais como, urina, agentes físicos, químicos e bacterianos (Roy, 2004). A presença de EGF na urina é sugestivo de reparação tecidual (Tyagi et al, 2010). Chai et al, 2014 classificaram o EGF como um biomarcador de remodelação tecidual (Chai et al, 2010). Foram encontrados níveis urinários cinco vezes maior de EGF nos pacientes portadores de SBH quando comparado aos pacientes assintomáticos do grupo controle (Tyagi et al, 2010).

1.10.5. Metaloproteinase de matriz 1

A metaloproteinase de matriz 1 (MMP-1) é uma enzima de 52 KDa na forma inativa e 41 KDa na forma ativa. É expressa por fibroblastos, condrócitos, monócitos, hatócitos, e células tumorais. Os substratos identificados dessa enzima são o colágeno dos tipos I, II, III, VII, VIII e X, além de agregana, serpins e α 2-macroglobulina (Nagase et al, 1999). São envolvidas na degradação da matriz extracelular em processos fisiológicos normais tais como reprodução, desenvolvimento embriológico, e remodelação tecidual, bem como em processos de doenças como artrite e metástase. A diminuição da sua concentração urinária ajustada pela creatinina foi associada a remodelação tecidual após implante de sling para tratamento de incontinência urinária em mulheres após a menopausa (Chai et al, 2014).

A figura 2 representa um modelo hipotético que retrata possíveis interações entre as fibras aferentes e eferentes da bexiga, células uroteliais, miofibroblastos, musculatura detrusora e os biomarcadores estudados. A estimulação de receptores e canais em células uroteliais pode liberar mediadores que visam as terminações neuronais da bexiga e outros tipos de células. As células uroteliais também podem ser

permanecem apresentando HD, alguns desenvolvem hipocontratilidade e outros alterações da sensibilidade vesical. Nos casos em que há predominância dos sintomas de armazenamento, a identificação desses casos de HD no pré-operatório poderia ajudar a definir o prognóstico dos sintomas urinários. Até o momento nenhuma variável clínica aponta quais pacientes poderiam apresentar resolução da HD. Thomas et al. demonstrou em estudo com seguimento em longo prazo, que houve recorrência dos sintomas de armazenamento após 10 anos em cerca de 60% dos pacientes submetidos à RTUP (Thomas et al, 2000). Outro estudo identificou que os pacientes com OIV e HD que apresentaram CVIs de forma contínua desde o início do enchimento vesical no EUD pré-operatório, apresentaram os piores resultados quanto a resolução da HD (Kageyama et al, 2000). Aqueles pacientes que apresentaram contrações vesicais após 160 ml de enchimento vesical no EUD pré-operatório apresentaram melhora das CVIs após 6 meses da desobstrução cirúrgica (Kageyama et al, 2000). Acreditamos que o maior conhecimento da fisiopatologia da HD em pacientes que apresentem HPB e OIV pode ser o caminho para o encontro de biomarcadores urinários que permitam saber quais pacientes poderão apresentar resolução da HD no pós-operatório.

Além disto, os níveis de expressão de colágeno, das metaloproteínases, e de seus reguladores teciduais na musculatura detrusora, relacionados com alterações da fisiologia miccional são pouco conhecidos. As alterações dos níveis de expressão de biomarcadores urinários como consequência do processo obstrutivo infra-vesical e suas correlações com variáveis clínicas e urodinâmicas dos pacientes com HPB e OIV ainda não foram descritas de forma adequada. Chai et al. analisou a concentração urinária dos seguintes marcadores de remodelação tecidual: MMP-1, MMP-2, MMP-

9, MMP-13, EGF e HB-EGF. Analisou também os níveis dos seguintes biomarcadores inflamatórios: IL-6, IL-10, IL12p70/p40, IL-17, NGF.

Uma revisão sistemática avaliou o papel dos biomarcadores urinários para avaliar bexiga hiperativa (HD) no diagnóstico, progressão e monitorização da resposta ao tratamento. Esse estudo incluiu 20 artigos e demonstrou o potencial de diversas moléculas (Alka, 2013). Frente aos mais promissores e recentes marcadores de HD, optamos por avaliar a concentração urinária dos seguintes marcadores: IL-6, NGF, MCP-1. Chai Tc et al. denominou esses marcadores como inflamatórios e analisou a concentração urinária dos seguintes marcadores de remodelação tecidual: MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-13, EGF e Fator de Crescimento Epidérmico de ligação à Heparina (HB-EGF). Nos optamos em avaliar a concentração urinária dos seguintes biomarcadores de remodelação tecidual: EGF e MMP-1. Acreditamos que tais moléculas apresentam potencial para serem úteis no diagnóstico de OIV e HD, podendo atuar como coadjuvantes na indicação de desobstrução cirúrgica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Primário

Determinar o perfil de expressão dos biomarcadores de remodelação tecidual EGF e MMP-1 e inflamatórios IL-6, NGF e MCP-1 na urina de pacientes com HPB candidatos a RTUP, e sua relação com a evolução da HD após a desobstrução prostática.

2.2 Objetivo Secundário

Correlacionar a concentração urinária destes biomarcadores com parâmetros clínicos e urodinâmicos.

Determinar acurácia dos biomarcadores urinários para o diagnóstico de OIV e HD.

3. MÉTODOS

3.1. Desenho do Estudo

Estudo prospectivo controlado utilizando amostras de urina para medição de biomarcadores em pacientes com diagnóstico de HPB submetidos a tratamento cirúrgico.

3.2. Local e Época

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Investigação Médica 55 (LIM-55) e divisão de urologia do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), sendo executado de janeiro de 2011 a janeiro de 2016.

3.3. Sujeitos

Foram selecionados 71 pacientes atendidos no Setor de Próstata da Divisão de Clínica Urológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), com queixas de sintomas miccionais secundários à OIV por HPB, candidatos a tratamento cirúrgico através de ressecção transuretral da próstata (RTUP). Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo 1), sendo este projeto submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisas sob o protocolo número 214.307 (anexo 2).

Os critérios de exclusão aplicados foram: pacientes com mais de 75 anos, com presença de retenção urinária em uso de sonda vesical de demora, antecedente de

cirurgia prostática, antecedente de cirurgia pélvica, cirurgia vesical, portadores de bexiga neurogênica, neuropatia diabética, Doença de Parkinson, uso de medicamentos que alterem a função do trato urinário inferior, radioterapia pélvica, estenose de uretra, suspeita de câncer de próstata, antecedente de câncer de bexiga, cálculos vesicais, infecção urinária sintomática, e pacientes que não realizaram estudo urodinâmico.

3.4. Grupo Controle

No grupo controle foram selecionados 10 pacientes saudáveis, com características semelhantes no que concerne a idade e comorbidades da população estudada, atendidos no Setor de Próstata e no Setor de Andrologia da Divisão de Clínica Urológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). As características clínicas do grupo estão expostas na tabela 1. Os pacientes apresentaram idade média de 61 anos (DP=10,5). Foram considerados saudáveis os indivíduos assintomáticos ou oligoassintomáticos, sem antecedente de cirurgia urológica prévia, com escore internacional de sintomas prostáticos (IPSS) menor que 7, tamanho da próstata ao US de 33g em média (DP=12,4), sem projeção intra-vesical, sem alterações de espessura vesical, sem alterações do trato urinário alto, urofluxometria com Fluxo Urinário Máximo (Q_{max}) $\geq$ 15ml/s. Todos os pacientes do grupo controle aceitaram participar do estudo assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.5. Intervenção

Todos os participantes realizaram anamnese (incluindo o IPSS) (anexo 3) e exame físico (incluindo toque digital da próstata), direcionado para as queixas miccionais, aferido índice de massa corpórea (IMC) através do cálculo de $\text{Peso (kg)}/\text{Altura}^2 \text{ (m)}$, medida do antígeno prostático específico (PSA), creatinina, exame de urina tipo I, ultra-som abdominal e pélvico, e estudo urodinâmico completo no pré-operatório de acordo com os padrões estabelecidos pela sociedade de ICS (Barry et al, 1992; Abrams, 2003). As variáveis urodinâmicas avaliadas foram a sensibilidade vesical, presença de HD, amplitude das CVIs, período de início das CVIs, perda urinária, fluxo máximo, índice de contratilidade vesical, complacência vesical, capacidade cistométrica máxima, pressão detrusora de abertura e no fluxo urinário máximo, resíduo pós-miccional. Os pacientes realizaram tratamento cirúrgico da OIV, confirmada pelo estudo urodinâmico, através da RTUP.

Cada paciente do grupo de estudo foi submetido a coleta pré-operatória de amostra de urina para medição de biomarcadores. Todas as amostras utilizadas neste estudo foram codificadas, garantindo sua confidencialidade. A bióloga responsável pela medida dos níveis dos biomarcadores não teve acesso às informações clínicas dos pacientes.

A mensuração dos níveis dos biomarcadores urinários de remodelação tecidual (EGF e MMP-1) e inflamatórios (MCP-1, IL-6 e NGF) foi realizada pela técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Essa técnica foi utilizada por diversos autores que evidenciaram a sua alta sensibilidade e especificidade (Alka, 2013). Os níveis dos biomarcadores NGF, MCP-1, EGF e MMP-1 foram medidos por um ensaio imunoabsorvente ligado a enzima comercial (ELISA; R&D Systems - Minneapolis, MN,

Canada), de acordo com as instruções do fabricante. A sensibilidade do ensaio de cada kit foi 12.5 ng/mL, 50ng/mL, 71pg/mL e 0.095 ng/mL respectivamente. O nível do biomarcador IL-6 foi medido por um ensaio imunoabsorvente ligado a enzima comercial (ELISA; Merck Millipore - Darmstadt, Germany) de acordo com as instruções do fabricante. A sensibilidade deste ensaio foi de 1.6 pg/mL.

Os níveis dos biomarcadores foram obtidos primeiramente, através da comparação com o grupo controle, e então confrontados entre os pacientes com e sem HD e avaliados em relação às outras variáveis clínicas e urodinâmicas. Após seis meses de pós-operatório, os pacientes realizaram novo estudo urodinâmico para avaliação da melhora da HD. Os níveis dos biomarcadores foram novamente comparados entre os pacientes que permaneceram e que não permaneceram com HD.

3.6. Técnica do Estudo Urodinâmico

O estudo urodinâmico realizado no pré-operatório consistiu na avaliação dos componentes que incluem a fluxometria, cistometria e estudo miccional de fluxo e pressão (EFP). Durante a fluxometria foram aferidos o fluxo urinário máximo (Qmax) e médio (Qave) em mililitros por segundo (ml/s), volume urinado (VU) maior que 125 ml, o resíduo urinário pos-miccional (RPM) e o aspecto da curva (MacConnell et al, 1994). A cistometria avaliou os parâmetros de capacidade cistometrica máxima (CCM), complacência vesical, sensibilidade da bexiga, e a atividade detrusora (McGuire et al, 1996). Durante o enchimento vesical foram mensurados a pressão intravesical continuamente com cateteres, a pressão intra-abdominal estimada a partir da pressão retal, e a pressão detrusora oriunda das forças ativas e passivas da parede

vesical e o fluxo urinário. A solução salina teve uma velocidade de enchimento de 30 - 50 ml/min e os cateteres foram conectados a microtransdutores de pressão externos. A capacidade cistométrica máxima foi considerada o volume com o qual o paciente apresentou um forte desejo de urinar. A complacência vesical foi observada nos gráficos de pressão e volume (McGuire et al, 1996). A atividade detrusora foi avaliada através da presença de contrações involuntárias. A sensibilidade vesical foi classificada em aumentada, diminuída e normal. O estudo miccional de fluxo e pressão (EFP) consistiu na aferição simultânea da pressão abdominal, vesical e do fluxo de urina na fase miccional. O EFP se iniciou após repleção adequada da bexiga e relato de desejo miccional. O cateter uretral 6 – 7 french foi usado para medir a pressão vesical (Pves) e o balão retal para monitorar a pressão abdominal (Pabd). A pressão detrusora (Pdet) foi obtida subtraindo-se a Pabd da Pves ($P_{det} = P_{ves} - P_{abd}$). A análise do EFP foi baseada na relação entre amplitude da contração detrusora (Pdet) e fluxo urinário. O Nomograma de Schafer foi utilizado como método de análise do EFP (Schafer et al, 2002; Schafer, 1985).

3.7. Coleta e processamento das amostras de urina

Cada paciente foi submetido a coleta da amostra de urina para mensuração dos biomarcadores no pré-operatório. Foram coletadas amostras de urina de jato médio, em que a primeira urina da manhã foi evitada para reduzir a possível degradação de marcadores ao permanecerem por períodos prolongados na bexiga urinária. Essas amostras foram imediatamente encaminhadas para o Laboratório de Investigação Médica da Disciplina de Urologia da Faculdade de Medicina da

Universidade de São Paulo (FMUSP), LIM-55, onde foram armazenadas e processadas.

Em cada coleta foram obtidos aproximadamente 20 ml de urina que foram divididos em tubos Falcon de 15 ml e processados por centrifugação a uma rotação de 3.500 rpm durante 10 minutos. Após centrifugadas, as amostras foram divididas em alíquotas individuais que foram estocadas em refrigerador em tubos de microcentrífuga tipo *ependorfs* individuais de 1,5 ml em triplicata, ou seja, 3 *ependorfs* por coleta para posterior dosagem de IL-6, NGF, MCP-1, EGF, MMP-1 e creatinina. Tais alíquotas foram conservadas à temperatura de -80° C para posterior ensaio e avaliação com os reagentes dos biomarcadores. Todos os ensaios foram realizados em duplicado, tal como descrito abaixo e normalizado para creatinina urinária (Cr, mg/dl), conforme já demonstrado por diversos autores em suas metodologias (Tyagi et al, 2010; Alkis et al, 2015; Seth et al, 2013; Chai, 2014). Todos os *ependorfs* foram colocados em pequenas caixas com grade interna, a fim de que tubos permanecessem na posição vertical facilitando a identificação. Para armazenamento das amostras e realização dos experimentos utilizando *kits* de ELISA, foram utilizadas as instalações do LIM-55. Todas as análises foram realizadas utilizando ensaios com o mesmo lote, a fim de limitar a variabilidade entre os *kits*. As amostras foram congeladas em triplicata para evitar múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento da mesma amostra. As dosagens foram realizadas em um mesmo momento para evitar variações no método e otimização do uso dos *kits*. Cada amostra de urina foi submetida à dosagem de IL-6, NGF, MCP-1, EGF, MMP-1 e creatinina, utilizando os *kits de ELISA* conforme a tabela 1.

Tabela 1. Kits de Elisa utilizados para determinação dos níveis urinários dos biomarcadores.

Biomarcador	Código de Identificação do Kit
Creatinina	KGE005
IL-6	EZHIL6
NGF	DY256-05
MCP-1	DY279-05
EGF	DY236-05
MMP-1	DMP100

Inicialmente, realizou-se a preparação dos reagentes. Todos os componentes do kit e das amostras foram direcionados à temperatura ambiente (18-25°C) antes da aplicação. Para cada *kit* há uma recomendação específica de acondicionamento das amostras e dos reagentes, além do preparo da solução de lavagem.

O princípio do ELISA aplica uma técnica chamada de *quantitative sandwich immunoassay*. A placa de microtitulação fornecida nesse *kit* contém poços revestidos para a medição quantitativa do marcador e utiliza um anticorpo específico e um anticorpo policlonal HRP conjugado. A amostra de ensaio e o tampão são incubados juntamente com HRP conjugado na placa pré-revestida. Após o período de incubação, os poços (*wells*) são decantados e lavados para serem incubados com substrato para enzima HRP. O produto da reação enzima-substrato forma um complexo de coloração azulada. Finalmente, uma solução de parada (*stop solution*) é adicionada para parar a reação, que transformará a solução em amarelo. A intensidade de cor é medida em espectrofotômetro a 450 nm em um leitor de microplacas. A concentração do biomarcador avaliado é determinada pela comparação da densidade óptica das

amostras com a curva padrão. A intensidade da cor é diretamente proporcional à concentração do biomarcador das amostras, visto que o biomarcador presente nas amostras e o no HRP conjugado competem pelo anticorpo específico no sítio de ligação. A fim de medir a concentração do biomarcador na amostra, o kit inclui um conjunto de padrões para calibração. Os padrões de calibração utilizados são analisados ao mesmo tempo em que as amostras e permitem ao investigador produzir curva padrão de densidade óptica. Foram obtidas curvas padrão para garantir a qualidade de cada experiência de medição de biomarcadores.

Por fim, para avaliar os coeficientes de variabilidade entre os diferentes kits e dentro do mesmo kit, todas as amostras foram repetidas, em cada placa para todos os biomarcadores urinários.

3.8. Análise Estatística

As variáveis quantitativas, contínuas ou ordinais, foram descritas por suas medidas de tendência central (médias ou medianas) e pelas respectivas medidas de dispersão (desvio-padrão, variação interquartil ou valores mínimo e máximo). As variáveis nominais ou qualitativas foram descritas por seus valores absolutos, percentagens ou proporções. A análise estatística foi realizada através do software SPSS 19.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). Para a comparação dos dados categóricos utilizamos o teste do qui-quadrado e suas variantes. Os testes paramétricos e não paramétricos de T de student e Mann-Whitney respectivamente foram utilizados para comparação entre os grupos quando apropriados. Um valor de p inferior ou igual a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo para todos os cálculos.

4. RESULTADOS

4.1. Características Clínicas

As características clínicas dos 71 pacientes submetidos à RTU de próstata estão demonstradas na tabela 2. Nesse grupo a idade média foi de 67,7 anos (55-88 anos). O tempo médio de sintomas foi de 47 meses (19 - 120 meses), e o Índice Internacional de Sintomas Prostáticos (IPSS) médio de 26,2 (16 - 33). O PSA médio foi de 3,12 ng/ml (0,4 - 14,8 ng/ml) e o tamanho médio da próstata, aferido pelo US, foi de 57,13 g (20 - 121g), sendo que 62% do total apresentou volume menor que 60g. Em relação a presença de comorbidades, 39 pacientes (55%) referiram hipertensão arterial sistêmica (HAS), 15 pacientes referiram diabetes mellitus (21%), e 18 dislipidemia (25%).

No grupo controle foram selecionados 10 pacientes, e as características clínicas deste grupo estão na tabela 2. Os pacientes tinham idade em média de 61 anos (43-76), possuíam tamanho de próstata menor, ao ultra-som de 33,2 g (21-65), e apresentavam-se relativamente assintomáticos, com o IPSS 2,1 (1-4), apesar de não terem sido submetidos ao estudo urodinâmico que pudesse comprovar a ausência de obstrução infra-vesical.

Tabela 2. Características clínicas dos pacientes com hiperplasia prostática benigna submetidos ao tratamento cirúrgico e dos 10 pacientes do grupo controle.

Variável clínica	HBP (n=71)	Controles (n=10)	p
Idade (anos)			
Média	67,732	61,3	0,030*
Mediana	67,5	61,5	
Desvio Padrão	10,785	10,583	
Variação	50 - 88	43 - 76	
PSA (ng/mL)			
Média	3,123	1,45	0,082*
Mediana	2	1	
Desvio Padrão	2,927	1,367	
Variação	0,4 - 14,8	0,4 - 5,1	
Resíduo pós-miccional (ml)(US)			
Média	115,577	39,9	0,084*
Mediana	90	41,5	
Desvio Padrão	134,968	16,953	
Variação	18 - 800	7 - 59.	
Tamanho da Próstata (g) (US)			
Média	57,133	33,26	0,001*
Mediana	55	31,5	
Desvio Padrão	22,476	12,444	
Variação	20 - 121	21 - 65	
≥ 60g n(%)	27	1	
< 60g n(%)	44	9	
IPSS (score)			
Média	26,239	2,1	0,000*
Mediana	27	2	
Desvio Padrão	4,712	0,994	
Variação	16 - 33	1 - 4	
Comorbidades			
HAS	39	2	0,004**
DM	15	4	0,187**
Dislipidemia	18	4	0,385**
Tabagismo	15	2	0,935**
IMC			
Média	26,563	28,9	0,112*
Mediana	27	28	
Desvio Padrão	4,984	3,842	
Variação	18 - 36	21 - 35	

Tabela 2. Características clínicas dos pacientes com hiperplasia prostática benigna submetidos ao tratamento cirúrgico e dos 10 pacientes do grupo controle (continuação).

Variável clínica	HBP (n=71)	Controles (n=10)	p
Qualidade de vida (score)			
Média	4,408	0,8	0,000*
Mediana	4	1	
Desvio Padrão	0,744	0,788	
Variação	3 - 6	0 - 2	
Urgência Miccional			
Sim	50	0	#
Tempo de sintomas (meses)			
Média	48,864	0	#
Mediana	47	0	
Desvio Padrão	19,091	0	
Variação	19 - 120	0	
Qmax (ml/s)			
Média	7,935	26,6	0,000*
Mediana	8	25	
Desvio Padrão	3,435	6,818	
Variação	2 - 16	18 - 39	

*Teste T ** Teste Qui-quadrado #Estatística não-pertinente

Não houve diferenças estatísticas entre os grupos no que concerne ao IMC ($p=0,112$), valor do PSA ($p=0,082$), e resíduo pós-miccional ($p=0,084$). No grupo controle eram pacientes relativamente um pouco mais jovens ($p=0,03$), com tamanho de próstata ($p=0,001$) e IPSS ($p=0,000$) significativamente inferior ao grupo de estudo, como demonstrado na tabela 2. Também não houve diferença estatística entre os grupos em relação as comorbidades, com excessão da hipertensão arterial sistêmica que 39 pacientes (54%) do grupo de estudo tinham o diagnóstico e apresentavam-se controlados com uso contínuo de medicações, enquanto 2 indivíduos (20%) do grupo controle referiram a comorbidade controlada com medicamentos.

4.2. Características Urodinâmicas

Todos os pacientes submetidos a RTUP realizaram estudo urodinâmico completo como protocolo de avaliação pré-operatória. Os dados estão demonstrados na tabela 3.

Tabela 3. Dados urodinâmicos pré-operatórios dos 71 pacientes avaliados em relação a presença de HD.

Hiperatividade Detrusora (HD)	Sim	Não	p
Número de pacientes (n)	39	32	
Amplitude da CVI (cmH ₂ O) Média	68,358 (36,588)	0	#
Qmax (ml/seg) Média	8,489	7,259	0,134*
Pdet Qmax (cm H ₂ O) Média	77,548	77,228	0,962*
Índice de contratilidade vesical (Pdet Qmax + 5 Qmax) Média	119,707	111,753	0,208*
Período da CVI (n)			
Precoce	18	0	#
Tardia	19	0	
Integral	2	0	
Perda urinária (n)	19	0	0,000*
Schafer pré-op Média	3,687	3,666	0,952**
CCM (ml) Média	350,461	385,687	0,135*
Pabertura (cmH ₂ O) Média	67,553	71	0,321*
Complacência (ml/cmH ₂ O) Média	40,27	44,27	0,779*
Resíduo pós-miccional (ml) Média	109,531	89,948	0,472*
Sensibilidade (n)			
Diminuída	0	5	0,258**
Normal	28	20	
Aumentada	11	7	

*Teste T **Teste de Mann-Whitney # Estatística não-pertinente

Abreviações: CVI (contrações vesicais involuntárias); Qmax (Fluxo máximo); Pdet Qmax (pressão do detrusor no fluxo máximo); CCM (capacidade cistométrica máxima); Pabertura (pressão do detrusor no início da micção).

Exceto pelas características inerentes às contrações vesicais involuntárias (CVI), não foi observado diferenças estatísticas entre a maioria das variáveis analisadas, tais como pressão do detrusor no fluxo máximo e no início da micção, índice de contratilidade vesical, capacidade cistométrica máxima, resíduo pós-

miccional, complacência e sensibilidade vesical. No entanto, a presença de CVI levou a presença de perdas urinárias em 48,7% dos pacientes com HD, o que ocorreu em nenhum paciente do outro grupo. Essas contrações possuíam amplitude média de 68 cmH₂O e tiveram início de forma similar tanto na primeira metade (CVI precoce) quanto na metade final da fase de enchimento vesical (CVI tardio).

4.3. Características Clínicas e Urodinâmicas

A tabela 4 correlaciona as características clínicas dos pacientes com hiperplasia prostática benigna submetidos ao tratamento cirúrgico de acordo com o padrão de Schafer e a presença de HD. A tabela 4 demonstrou que os grupos foram bastante homogêneos, observado pela semelhança entre os dados pré-operatórios, porém pacientes classificados como Schafer 3 e 4 apresentaram maior prevalência de HAS ($p=0,004$) e queixa mais frequente do sintoma de urgência miccional ($p=0,000$).

Tabela 4. Características clínicas dos pacientes com HPB de acordo com o Schafer e HD.

Variável clínica	Schafer			Hiperatividade Detrusora (HD)	
	0-2 (n=11)	3-4 (n=45)	5-6 (n=15)	Sim (n=39)	Não (n=32)
Idade (anos)					
Média	65,81	68,55	66,66	68,89	66,32
Mediana	63	69	65	69	65,5
Desvio Padrão	7,06	8,51	8,73	8,53	7,96
Variação	58-78	52-88	50-81	52-88	50-81
Comorbidades					
HAS	4	29(p=0,004)	6	24(p=0,000)	15
DM	2	11	2	9	6
Dislipidemia	2	13	3	12	6
Tabagismo	4	9	2	9	6
Urgência Miccional (sim)	8(p=0,000)	37	5	32(p=0,018)	18
IMC					
Média	23,81	27,13	27	26,94	26,09
Mediana	24	27	27	27	27
Desvio Padrão	3,89	4,28	4,12	4,34	4,27
Variação	18-28	19-36	18-34	19-36	18-34
Tempo de sintomas (meses)					
Média	49,63	49,98	44,93	49,65	47,9
Mediana	48	48	45	48	43
Desvio Padrão	26,01	19,21	12,53	16,57	22,09
Variação	19-120	20-120	28-68	20-96	19-120
IPSS (score)					
Média	23,9	26,91	25,93	28,3(p=0,000)	23,68
Mediana	22	28	28	28	22
Desvio Padrão	5,71	4,23	5,07	3,51	4,78
Variação	16-33	18-33	17-32	18-33	16-32
Tamanho da Próstata (g) (US)					
Média	48,18	57,67	62,06	61,15	52,23
Mediana	42	55	58	58	52,8
Desvio Padrão	16,82	23,32	22,06	24,82	17,98
Variação	29-79	20-121	29-104	20-121	29-92

Todas as variáveis foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado.

Após 6 meses da RTUP os pacientes realizaram EUD de controle. Os dados obtidos estão expostos na tabela 5.

Tabela 5. Dados urodinâmicos pré e pós-operatórios dos pacientes avaliados.

Características Urodinâmicas	Pré	Pós	p
Número de pacientes (n)	63	63	
Qmax (ml/seg) Média (DP)	7,9 (3,5)	25,09 (8,2)	0,000**
Pdet Qmax (cm H2O) Média (DP)	78,9 (28,5)	31,5 (9,1)	0,000**
CCM (ml) Média (DP)	367,4 (102,3)	374,8 (99,6)	0,568**
Pabertura (cmH2O) Média (DP)	66,2 (24,8)	27,07 (8,8)	0,000**
Amplitude da CVI (cmH2O) Média (DP)	40,9 (42,4)	13,96 (23,4)	0,000**
Hiperatividade Detrusora (n)	39	13	0,006*
Perda urinária (n)	19	5	0,001*
Complacência (ml/cmH2O) Média (DP)	44,3 (62,2)	88,5 (119,2)	0,003**
Resíduo pós-miccional (ml) Média (DP)	96,6 (115,2)	0	#

* Teste do Qui-quadrado ** Teste de Mann-Whitney # Estatística não-pertinente

Analisando os pacientes dos dois grupos em conjunto, obtivemos melhora na maioria das variáveis urodinâmicas analisadas em relação aos dados pré-operatórios, comprovando que houve desobstrução infra-vesical importante, com aumento significativo do fluxo máximo e da complacência vesical, assim como a diminuição da pressão de abertura uretral e pressão do detrusor no fluxo máximo. Dos 39 pacientes que apresentaram HD pré-RTUP, em 13 (33,3%) houve persistência de HD, porém com diminuição significativa da amplitude média das CVIs aferidas.

Quando comparamos somente o grupo de HD pré-RTUP, não encontramos diferenças estatísticas entre as variáveis urodinâmicas daqueles que persistiram ou não com HD após tratamento, como observado na Tabela 6 abaixo:

Tabela 6. Dados urodinâmicos pós-operatórios (60 mês) em pacientes com HD pré-RTUP.

Persistência da Hiperatividade Detrusora após 6 meses	Sim	Não	p
Número de pacientes (n)	13	26	
Qmax (ml/seg) Média	22,8	26,1	0,281*
Pdet Qmax (cm H ₂ O) Média	31,9	31,5	0,879*
CCM (ml) Média	338,1	370,9	0,394*
Paabertura (cmH ₂ O) Média	27,9	27,1	0,782*
Amplitude da CVI (cmH ₂ O) Média	29,6	0	#
Perda urinária (n)	5	0	0,111
Complacência (ml/cmH ₂ O) Média	43,2	93,9	0,373*
Resíduo pós-miccional (ml) Média	0	0	#

* Teste T ** Teste de Fisher # Estatística não-pertinente

4.4. Análise das variáveis clínicas e urodinâmicas com resolução da HD

Realizando uma análise univariada de todas variáveis clínicas em associação com resolução da HD após 6 meses de tratamento cirúrgico para desobstrução prostática, nenhum item mostrou correlação com a resolução da mesma, conforme observado na tabela 7.

Tabela 7. Características clínicas relacionadas a resolução da HD.

Variável Clínica	p
HAS	0,248*
Dislipidemia	0,597*
Diabetes Melitus	0,891*
Tabagismo	0,773*
IMC	0,171*
Idade	0,810*
Tempo de sintomas	0,654*
IPSS	0,591*

* Teste do Qui-quadrado

Em uma análise multivariada de todas as características clínicas e urodinâmicas em associação com resolução da HD, nenhum item mostrou correlação com a resolução da mesma.

4.5. Análise da concentração dos biomarcadores urinários do grupo estudado

Os valores médios absolutos e ajustados dos biomarcadores urinários obtidos em cada amostra dos pacientes submetidos à RTUP bem como os medidos no grupo controle compostos por pacientes assintomáticos sem OIV são demonstrados na tabela 8.

Tabela 8. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador comparados ao grupo controle.

Biomarcador	Grupo de Estudo Média (desvio padrão)	Grupo controle Média (desvio padrão)	p
IL-6 (ng/ml) - Média (desvio padrão)	0,792 (0,708)	0,325 (0,156)	0,068*
IL-6/Cr (ng/ml) - Média (desvio padrão)	2,321 (5,568)	0,52 (0,255)	0,007*
NGF (ng/ml) - Média (desvio padrão)	0,046 (0,022)	0,057 (0,015)	0,031*
NGF/Cr (ng/ml) - Média (desvio padrão)	0,121 (0,145)	0,092 (0,156)	0,774*
MCP-1 (ng/ml) - Média (desvio padrão)	0,535 (0,515)	0,074 (0,047)	0,000*
MCP-1/ Cr (ng/ml) - Média (desvio padrão)	2,393 (11,265)	0,113 (0,006)	0,000*
EGF (ng/ml) - Média (desvio padrão)	3,44 (0,048)	3,328 (0,361)	0,000*
EGF/Cr (ng/ml) - Média (desvio padrão)	10,503 (23,376)	5,625 (2,174)	0,044*
MMP-1(ng/ml) - Média (desvio padrão)	0,023 (0,056)	0,007 (0,003)	0,317*
MMP-1/Cr (ng/ml) - Média (desvio padrão)	0,052 (0,093)	0,013 (0,009)	0,043*

* Teste de Mann-Whitney ** Teste de Kolmogorov-Smirnov

Nota-se que nos pacientes submetidos à RTUP a concentração média dos biomarcadores não ajustada pela creatinina urinária é significativamente maior para o MCP-1 e EGF e menor para NGF em comparação com os controles. Os únicos biomarcadores que não demonstraram diferença estatisticamente significativa na análise da concentração absoluta pelo teste de de Mann-Whitney foram: IL-6 ($p = 0,068$) e o MMP-1 ($p = 0,317$). No entanto, pacientes submetidos a cirurgia tiveram

uma concentração média absoluta de IL-6 maior quando comparados aos indivíduos do grupo controle ($p=0,068$).

No presente estudo houve uma boa correlação entre os valores absolutos e ajustados pela creatinina nos pacientes submetidos a RTUP quando comparados aos controles dos seguintes biomarcadores urinários: IL-6, MCP-1 EGF e MMP-1. No entanto, houve diferença estatística entre as análises feitas com concentrações absolutas e ajustadas do biomarcador NGF.

Nota-se que nos pacientes submetidos a RTUP a concentração média dos biomarcadores ajustada pela creatinina urinária é significativamente maior para o IL-6, MCP-1, EGF e MMP-1 em comparação com os controles. A IL-6 e EGF apresentaram uma concentração média ajustada pela creatinina 2 vezes maior nos pacientes submetidos à cirurgia quando comparados aos pacientes do grupo controle ($p=0,007$) ($p=0,044$). O MCP-1 apresentou a concentração média ajustada pela creatinina cerca de 20 vezes maior no grupo de pacientes submetidos à desobstrução cirúrgica quando comparado aos pacientes do grupo controle ($p=0,000$). A concentração média ajustada pela creatinina do MMP-1 foi 5 vezes maior no pré-operatório quando comparados ao grupo controle ($p=0,043$). O único biomarcador que não demonstrou diferença estatisticamente significativa na análise feita em concentração ajustada pelo teste de Mann-Whitney foi o NGF ($p = 0,774$).

O ajuste das concentrações dos biomarcadores pela creatinina urinária é amplamente empregado na literatura no intuito de padronizar as comparações e limitar o impacto do estado de hidratação nas medidas. Foi então optado por centrar nossa análise em comparações utilizando os valores ajustados em acordo com o que é atualmente empregado na literatura.

4.5.1 Nível médio da concentração urinária dos biomarcadores considerando as características clínicas dos pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico.

O nível de concentração relativa dos biomarcadores urinários considerando as características clínicas dos pacientes está demonstrado nas tabelas 9 e 10.

Tabela 9. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação à idade e IMC.

Biomarcador	Idade			IMC		
	Média (desvio padrão)			Média (desvio padrão)		
	< 60 anos (n=12)	≥ 60 anos (n=59)	p	< 30 (n=51)	≥ 30 (n=20)	p
IL-6 (ng/ml)	0,711 (0,807)	0,809 (0,693)	0,665*	0,774 (0,716)	0,840 (0,703)	0,726*
IL-6/Cr (ng/ml)	5,149 (13,074)	1,745 (1,736)	0,963**	1,577 (1,549)	4,218 (10,131)	0,981**
NGF (ng/ml)	0,037 (0,024)	0,048 (0,022)	0,123*	0,045 (0,019)	0,049 (0,031)	0,969**
NGF/Cr (ng/ml)	0,173 (0,333)	0,110 (0,062)	0,167**	0,102 (0,056)	0,168 (0,258)	0,711**
MCP-1 (ng/ml)	0,571 (0,479)	0,528 (0,526)	0,796*	0,541 (0,528)	0,521 (0,492)	0,882*
MCP-1/Cr (ng/ml)	8,937 (27,323)	0,062 (0,954)	0,480**	1,080 (0,921)	5,740 (21,187)	0,898**
EGF (ng/ml)	3,376 (0,031)	3,318 (0,395)	0,619*	3,368 (0,043)	3,226 (0,520)	0,740**
EGF/Cr (ng/ml)	24,308 (56,269)	7,696 (3,404)	0,830**	7,790 (3,310)	17,421 (43,753)	0,898**
MMP-1(ng/ml)	0,011 (0,013)	0,026 (0,061)	0,396*	0,021 (0,056)	0,032 (0,054)	0,415*
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,053 (0,083)	0,013 (0,009)	0,973*	0,041 (0,085)	0,082 (0,106)	0,068**

*Teste T ** Teste de Mann-Whitney

Tabela 10. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação ao IPSS e urgência miccional.

Biomarcador	IPSS			Urgência miccional		
	Média (desvio padrão)			Média (desvio padrão)		
	< 19 (n=12)	≥ 19 (n=59)	p	Não (n=21)	Sim (n=50)	p
IL-6 (ng/ml)	0,824 (0,758)	0,786 (0,704)	0,867*	0,439 (0,307)	0,940 (0,776)	0,028**
IL-6/Cr (ng/ml)	1,859 (1,880)	2,415 (6,058)	0,755*	1,077 (0,746)	4,843 (6,567)	0,225*
NGF (ng/ml)	0,040 (0,015)	0,047 (0,024)	0,367*	0,044 (0,022)	0,047 (0,023)	0,601*
NGF/Cr (ng/ml)	0,101 (0,058)	0,125 (0,157)	0,607*	0,113 (0,065)	0,124 (0,169)	0,773*
MCP-1 (ng/ml)	0,506 (0,461)	0,541 (0,529)	0,829*	0,312 (0,313)	0,629 (0,556)	0,010**
MCP-1/Cr (ng/ml)	1,028 (0,461)	2,670 (12,354)	0,649*	0,767 (0,671)	3,076 (13,397)	0,434*
EGF (ng/ml)	3,358 (0,046)	3,322 (0,395)	0,753*	3,355 (0,035)	3,317 (0,430)	0,688*
EGF/Cr (ng/ml)	8,441 (3,636)	10,923 (25,611)	0,740*	8,722 (3,398)	11,252 (27,821)	0,680*
MMP-1 (ng/ml)	0,008 (0,004)	0,026 (0,061)	0,296*	0,017 (0,024)	0,026 (0,065)	0,536*
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,021 (0,015)	0,059 (0,101)	0,204*	0,043 (0,051)	0,056 (0,106)	0,584*

*Teste T ** Teste de Mann-Whitney

A concentração média dos biomarcadores urinários dos pacientes com OIV em relação a idade e ao IMC não teve significância estatística entre os grupos (tabela 9). Assim como também não houve significância estatística entre os biomarcadores e o valor do IPSS (tabela 10). No entanto, pacientes obesos tiveram uma média de concentração do MMP-1/Cr maior quando comparados aos não obesos ($p=0,068$).

A análise do nível médio dos biomarcadores de acordo com o sintoma de urgência miccional (tabela 10), demonstrou que as concentrações urinárias absolutas

de IL-6 e MCP-1 foram estatisticamente maior entre os pacientes com presença de urgência miccional ($p=0,028$) ($p=0,010$). Ambos os biomarcadores apresentaram uma concentração média 2 vezes maior nos pacientes submetidos à RTUP que apresentaram o sintoma de urgência miccional. Os níveis ajustados de IL-6 e MCP-1 também foram aumentados em relação aos pacientes operados sem queixa de urgência miccional, apesar de não apresentarem significância estatística. Os demais biomarcadores não demonstraram diferença estatisticamente significativa de acordo com os sintomas.

4.5.2 Nível médio da concentração urinária dos biomarcadores considerando as características do estudo urodinâmico pré-operatório.

O nível médio de concentração relativa dos biomarcadores urinários tendo em consideração as características do estudo urodinâmico pré-operatório dos pacientes está demonstrado nas tabelas 11, 12, 13,14 e 15.

Tabela 11. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação a presença de HD e amplitude das CVIs.

Biomarcador	HD Média (desvio padrão)			Amplitude da CVI Média (desvio padrão)		
	Não (n=32)	Sim (n=39)	p	<40 cm H2O (n=11)	≥40 cm H2O (n=28)	p
IL-6 (ng/ml)	0,563 (0,582)	0,980 (0,753)	0,003**	1,041 (0,887)	0,957 (0,710)	0,757*
IL-6/Cr (ng/ml)	2,602 (8,093)	2,090 (1,887)	0,703*	2,025 (1,493)	2,116 (2,046)	0,898*
NGF (ng/ml)	0,041 (0,023)	0,044 (0,022)	0,565*	0,048 (0,019)	0,043 (0,024)	0,535*
NGF/Cr (ng/ml)	0,147 (0,206)	0,099 (0,058)	0,166*	0,110 (0,058)	0,094 (0,058)	0,473*
MCP-1 (ng/ml)	0,343 (0,347)	0,693 (0,578)	0,002**	0,579 (0,403)	0,738 (0,634)	0,890**
MCP-1/Cr (ng/ml)	1,387 (1,023)	3,619 (16,806)	0,002**	1,156 (0,542)	1,478 (1,155)	0,794**
EGF (ng/ml)	3,375 (0,042)	3,289 (0,485)	0,322*	3,353 (0,035)	3,264 (0,573)	0,612*
EGF/Cr (ng/ml)	13,853 (34,570)	7,755 (3,809)	0,746**	7,958 (3,892)	7,675 (3,845)	0,838*
MMP-1 (ng/ml)	0,013 (0,0015)	0,032 (0,073)	0,264**	0,009 (0,002)	0,041 (0,085)	0,818**
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,038 (0,052)	0,064 (0,115)	0,460**	0,021 (0,011)	0,081 (0,133)	0,612**

*Teste T ** Teste de Mann-Whitney

Tabela 12. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação ao período de início das CVIs.

Biomarcador	Período da CVI Média (desvio padrão)		
	Precoce (n=19)	Tardio (n=20)	p
IL-6 (ng/ml)	0,977 (0,778)	0,983 (0,749)	0,982*
IL-6/Cr (ng/ml)	1,742 (0,778)	2,421 (2,320)	0,267*
NGF (ng/ml)	0,048 (0,025)	0,041 (0,019)	0,297*
NGF/Cr (ng/ml)	0,104 (0,056)	0,093 (0,061)	0,543*
MCP-1 (ng/ml)	0,785 (0,594)	0,605 (0,563)	0,339*
MCP-1/ Cr (ng/ml)	1,386 (1,017)	1,387 (1,056)	0,998*
EGF (ng/ml)	3,212 (0,694)	3,363 (0,038)	0,341*
EGF/Cr (ng/ml)	6,505 (3,423)	8,942 (3,855)	0,044*
MMP-1(ng/ml)	0,051 (0,102)	0,014 (0,017)	0,496**
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,088 (0,152)	0,041 (0,059)	0,945**

*Teste T ** Teste de Mann-Whitney

Tabela 13. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação ao fluxo miccional e a pressão miccional.

Biomarcador	Fluxo urinário			Pressão miccional		
	Média (desvio padrão)			Média (desvio padrão)		
	≤8ml/s (n=44)	>8,1 (n=27)	p	≤77 cm H ₂ O (n=38)	>78 cm H ₂ O (n=33)	p
IL-6 (ng/ml)	0,6719 (0,655)	0,989 (0,759)	0,066*	0,783 (0,667)	0,803 (0,764)	0,911*
IL-6/Cr (ng/ml)	1,45 (1,725)	3,739 (8,671)	0,025**	2,799 (7,405)	1,77 (1,961)	0,441*
NGF (ng/ml)	0,044 (0,017)	0,049 (0,029)	0,790**	0,042 (0,02)	0,05 (0,025)	0,168*
NGF/Cr (ng/ml)	0,06 (0,068)	0,1515 (0,222)	0,456**	0,128 (0,191)	0,112 (0,064)	0,666*
MCP-1 (ng/ml)	0,437 (0,455)	0,696 (0,574)	0,043**	0,501 (0,465)	0,574 (0,572)	0,556*
MCP-1/ Cr (ng/ml)	0,856 (0,758)	4,898 (18,171)	0,022**	3,503 (15,378)	1,11 (1,012)	0,377*
EGF (ng/ml)	3,374 (0,038)	3,254 (0,582)	0,343**	3,289 (0,491)	3,373 (0,041)	0,333*
EGF/Cr (ng/ml)	7,728 (3,443)	15,027 (37,648)	0,678**	12,989 (31,793)	7,641 (3,292)	0,340*
MMP-1(ng/ml)	0,028 (0,068)	0,016 (0,023)	0,383*	0,009 (0,009)	0,04 (0,079)	0,011**
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,0537 (0,104)	0,0512 (0,073)	0,914*	0,033 (0,054)	0,074 (0,12)	0,025**

*Teste T ** Teste de Mann-Whitney

Tabela 14. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação a Complacência e Índice de Contratilidade Vesical.

Biomarcador	Complacência Média (desvio padrão)			Índice de Contratilidade Vesical Média (desvio padrão)			
	<15 cm H ₂ O/ml (n=16)	≥15 cm H ₂ O/ml (n=55)	p	<100 (n=15)	100-150 (n=48)	>150 (n=8)	p
IL-6 (ng/ml)	0,607 (0,631)	0,846 (0,720)	0,912*	0,657 (0,610)	0,834 (0,750)	0,792 (0,666)	0,706**
IL-6/Cr (ng/ml)	1,123 (1,097)	2,669 (6,270)	0,642*	1,755 (1,571)	2,597 (6,707)	1,722 (1,199)	0,837**
NGF (ng/ml)	0,047 (0,029)	0,046 (0,021)	0,424*	0,045 (0,0174)	0,044 (0,022)	0,058 (0,032)	0,319**
NGF/Cr (ng/ml)	0,113 (0,061)	0,123 (0,162)	0,763*	0,119 (0,068)	0,118 (0,171)	0,141 (0,074)	0,920**
MCP-1 (ng/ml)	0,499 (0,458)	0,546 (0,524)	0,167*	0,3134 (0,157)	0,617 (0,584)	0,460 (0,397)	0,123**
MCP-1/ Cr (ng/ml)	1,106 (0,870)	2,767 (12,793)	0,626*	0,834 (0,559)	3,091 (13,682)	1,126 (1,056)	0,756**
EGF (ng/ml)	3,373 (0,050)	3,315 (0,409)	0,673*	3,376 (0,042)	3,304 (0,437)	3,386 (0,026)	0,716**
EGF/Cr (ng/ml)	8,626 (2,772)	11,049 (26,550)	0,674*	9,087 (4,180)	11,258 (28,361)	8,634 (4,085)	0,927**
MMP-1 (ng/ml)	0,042 (0,061)	0,018 (0,053)	0,901*	0,007 (0,004)	0,026 (0,066)	0,035 (0,037)	0,427**
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,091 (0,107)	0,041 (0,086)	0,783*	0,020 (0,015)	0,058 (0,107)	0,080 (0,074)	0,262**

*Teste T **ANOVA *** Teste de Mann-Whitney

Tabela 15. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação ao Schafer.

Biomarcador	Schafer (desvio padrão)			p
	0-2 (n=11)	3-4 (n=45)	5-6 (n=15)	
IL-6 (ng/ml)	0,8687 (0,606)	0,874 (0,764)	0,490 (0,536)	0,179**
IL-6/Cr (ng/ml)	2,303 (1,730)	2,800 (6,896)	0,896 (0,714)	0,525**
NGF (ng/ml)	0,040 (0,013)	0,046 (0,023)	0,051 (0,026)	0,456**
NGF/Cr (ng/ml)	0,124 (0,061)	0,123 (0,178)	0,111 (0,060)	0,959**
MCP-1 (ng/ml)	0,441 (0,318)	0,637 (0,580)	0,301 (0,312)	0,072**
MCP-1/ Cr (ng/ml)	1,257 (0,663)	3,280 (14,122)	0,564 (0,543)	0,681**
EGF (ng/ml)	3,363 (0,0364)	3,306 (0,453)	3,368 (0,036)	0,802**
EGF/Cr (ng/ml)	10,299 (3,274)	11,635 (29,332)	7,257 (2,285)	0,825**
MMP-1(ng/ml)	0,006 (0,004)	0,195 (0,037)	0,049 (0,101)	0,115**
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,021 (0,017)	0,049 (0,079)	0,086 (0,145)	0,191**

*Teste T **ANOVA *** Teste de Mann-Whitney

Na análise conjunta dos pacientes, demonstrou-se uma concentração urinária significativamente maior de IL-6 ($p=0,003$), MCP-1($p=0,002$) e MCP-1/Cr ($0,002$) naqueles que possuíam HD, com uma média cerca de 2 vezes maior que os pacientes sem HD no estudo urodinâmico pré-operatório (tabela 11). A amplitude das CVIs falhou em demonstrar correlações estatísticas com os biomarcadores urinários (tabela 11). Quando observamos somente os pacientes portadores de HD, a concentração urinária média do EGF ajustada pela creatinina apresentou significância estatística em

relação ao período de ocorrência das CVIs (tabela 12). Sua concentração foi 1,3 vezes maior naqueles que apresentaram CVIs tardiamente, comparados aqueles que as iniciaram na primeira metade do enchimento vesical ($p=0.044$). Ao observarmos os pacientes candidatos à desobstrução cirúrgica e $Q_{\max}>8,1\text{ml/s}$ identificamos um aumento significativo dos valores de IL-6/Cr ($P=0,0025$) e MCP-1/Cr ($P=0,022$) quando comparados ao mesmo grupo de pacientes e $Q_{\max}\leq 8$ (tabela 13). O aumento na concentração dos níveis desses biomarcadores foram cerca de 2,5 vezes para IL-6 e 6 vezes para MCP-1. O MCP-1 apresentou seu nível de concentração absoluto também aumentado nos pacientes submetidos à cirurgia e $Q_{\max}>8,1\text{ml/s}$ ($p=0,043$), com uma média cerca de 1,5 vezes. A concentração urinária de MMP-1 e MMP-1/Cr esteve aumentada de forma significativa nos pacientes com presença de $P_{\text{detmax}}>78\text{cmH}_2\text{O}$ ($p=0,001$)($p=0,025$). Sua concentração absoluta estava 4 vezes aumentada nos pacientes submetidos à cirurgia e $P_{\text{detmax}}>78$ quando comparados aqueles com $P_{\text{det}}\leq 77\text{cmH}_2\text{O}$. Quando ajustada pela creatinina observa-se o aumento de 2,2 vezes para este biomarcador quando a $P_{\text{det}}>78\text{cmH}_2\text{O}$ em comparação com a $P_{\text{det}}\leq 77\text{cmH}_2\text{O}$.

Não houve alterações significativas nas concentrações quando realizada a análise da complacência e no Índice de Contratilidade Vesical para nenhum dos biomarcadores urinários (tabela 14). Também não houve significância para nenhum dos biomarcadores analisados quando avaliamos o Schafer (tabela 15).

Os níveis da concentração dos biomarcadores de acordo com a resolução ou persistência do sintoma de urgência após 6 meses de tratamento cirúrgico estão ilustrados na Tabela 16 abaixo. Nessa análise nenhum dos biomarcadores se destacou:

Tabela 16. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação à persistência do sintoma de urgência após 6 meses de tratamento cirúrgico.

Biomarcador	Persistência do sintoma de Urgência Média (desvio padrão)		
	Sim (n=18)	Não (n=53)	p
IL-6 (ng/ml)	0,825 (0,724)	0,781 (0,710)	0,634**
IL-6/Cr (ng/ml)	1,834 (1,816)	2,486 (6,368)	0,606**
NGF (ng/ml)	0,048 (0,023)	0,045 (0,022)	0,504**
NGF/Cr (ng/ml)	0,104 (0,046)	0,126 (0,166)	0,561**
MCP-1 (ng/ml)	0,470 (0,365)	0,557 (0,558)	0,540*
MCP-1/ Cr (ng/ml)	1,006 (0,786)	2,864 (13,028)	0,549*
EGF (ng/ml)	3,371 (0,037)	3,314 (0,417)	0,565*
EGF/Cr (ng/ml)	7,612 (2,434)	11,485 (27,015)	0,747*
MMP-1(ng/ml)	0,037 (0,093)	0,019 (0,036)	0,726*,*
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,067 (0,135)	0,047 (0,074)	0,448*

*Teste T ** Teste de Mann-Whitney

Os níveis da concentração dos biomarcadores de acordo com a resolução ou persistência da HD após 6 meses de tratamento cirúrgico estão ilustrados na Tabela 17 abaixo:

Tabela 17. Valores médios absolutos e ajustados pela creatinina da concentração de cada biomarcador em relação à Persistência da HD após 6 meses de tratamento cirúrgico.

Biomarcador	Persistência da HD Média (desvio padrão)		
	Sim (n=13)	Não (n=26)	p
IL-6 (ng/ml)	0,967 (0,782)	0,987 (0,754)	0,803**
IL-6/Cr (ng/ml)	2,096 (1,705)	2,087 (2,005)	0,988**
NGF (ng/ml)	0,053 (0,025)	0,040 (0,020)	0,087*
NGF/Cr (ng/ml)	0,131 (0,053)	0,083 (0,054)	0,005**
MCP-1 (ng/ml)	0,467 (0,289)	0,806 (0,654)	0,084*
MCP-1/ Cr (ng/ml)	1,169 (0,781)	1,496 (1,123)	0,354*
EGF (ng/ml)	3,373 (0,034)	3,248 (0,592)	0,308**
EGF/Cr (ng/ml)	6,141 (2,583)	8,254 (3,815)	0,054**
MMP-1(ng/ml)	0,056 (0,108)	0,020 (0,046)	0,058**
MMP-1/Cr (ng/ml)	0,111 (0,158)	0,040 (0,081)	0,021**

*Teste T ** Teste de Mann-Whitney

Os biomarcadores que se destacaram foram o NGF/Cr ($p=0,005$) e MMP-1/Cr ($p=0,021$). O nível médio da concentração destes foram maiores cerca de 1,5 e 2,7 vezes respectivamente entre os pacientes que não obtiveram interrupção das CVIs no pós-operatório.

4.6. Curvas ROC

Curvas ROC foram desenhadas e suas performances foram avaliadas, com o intuito de avaliar as propriedades diagnósticas dos valores pré-operatórios de cada um dos biomarcadores urinários no grupo de estudo para prever a presença de HD, obstrução e a resolução da HD no pós-operatório.

A aplicação da Curva ROC para prever HD no grupo de estudo demonstrou que o MCP-1/Cr apresentou uma área sob a curva (AUC) de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,84) ($p=0,002$), sendo o biomarcador que apresentou a melhor acurácia dentre os biomarcadores estudados na discriminação de HD. A sua dosagem absoluta de MCP-1 também apresentou uma AUC de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,83) ($p=0,002$). A IL-6, por sua vez, teve uma AUC de 0,70 (95% CI 0,58 a 0,82) ($p=0,003$), a IL-6/Cr de 0,65 (95% CI 0,52 a 0,78) ($p=0,024$), o MMP-1 de 0,57 (95% CI 0,44 a 0,71) ($p=0,265$), o MMP-1/Cr de 0,55 (95% CI 0,41 a 0,68) ($p=0,46$), o EGF/Cr de 0,47 (95% CI 0,34 a 0,61) ($p=0,746$), o NGF de 0,47 (CI 95% 0,33 a 0,61) ($p=0,712$), o NGF/Cr de 0,45 (CI 95% 0,31 a 0,58) ($p=0,481$), e o EGF de 0,43 (95% CI 0,29 a 0,56) ($p=0,329$). Assim, os únicos biomarcadores com propriedades adequadas nesse cenário foram MCP-1, MCP-1/Cr e IL-6. Os outros biomarcadores apresentaram propriedades inadequadas neste cenário. O poder discriminatório dos testes com melhor performance pode ser mais bem dimensionado nas figuras 3 a 6.

Figura 3. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do MCP-1/Cr em predizer HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,84) ($p=0,002$).

Figura 4. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do MCP-1 em predizer HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,83) ($p=0,002$).

Figura 5. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do IL-6 em predizer HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,70 (95% CI 0,58 a 0,82) ($p=0,003$).

Figura 6. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do IL-6/Cr em predizer HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,65 (95% CI 0,52 a 0,78) ($p=0,024$).

A aplicação da Curva ROC para prever obstrução no grupo de estudo demonstrou que o MMP-1 apresentou uma área sob a curva (AUC) de 0,66 (95% CI 0,54 a 0,79) ($p=0,116$), sendo o biomarcador que apresentou a melhor acurácia dentre os biomarcadores estudados na discriminação de obstrução. A dosagem ajustada pela creatinina de MMP-1 (MMP-1/Cr) apresentou uma AUC de 0,60 (95% CI 0,46 a 0,73) ($p=0,16$). O EGF, por sua vez, teve uma AUC de 0,55 (95% CI 0,41 a 0,69) ($p=0,415$), o MCP-1 de 0,52 (95% CI 0,39 a 0,66) ($p=0,701$), o NGF de 0,52 (95% CI 0,38 a 0,67) ($p=0,675$), a IL-6 de 0,47 (95% CI 0,34 a 0,61) ($p=0,744$), o MCP-1/Cr de 0,45 (95% CI 0,32 a 0,59) ($p=0,561$), o NGF/Cr de 0,45 (CI 95% 0,31 a 0,59) ($p=0,50$), o EGF/Cr de 0,39 (CI 95% 0,25 a 0,53) ($p=0,39$), e a IL-6/Cr de 0,39 (95% CI 0,25 a 0,52) ($p=0,116$). Assim, todos os biomarcadores apresentaram propriedades inadequadas neste cenário. O poder discriminatório dos testes que apresentaram melhor performance pode ser mais bem dimensionado nas figuras 7 e 8.

Figura 7. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do MMP-1 em prever OIV. Área sob a curva (AUC) foi de 0,66 (95% CI 0,54 a 0,79) ($p=0,116$).

Figura 8. Curva ROC demonstrando acurácia diagnóstica do MMP-1/Cr em predizer OIV. Área sob a curva (AUC) foi de 0,60 (95% CI 0,46 a 0,73) ($p=0,139$).

A aplicação da Curva ROC para predizer a persistência da HD no pós-operatório demonstrou que o NGF/Cr apresentou uma área sob a curva (AUC) de 0,77 (95% CI 0,62 a 0,92) ($p=0,006$), sendo o biomarcador que apresentou a melhor acurácia dentre os biomarcadores estudados na discriminação da persistência da HD no pós-operatório. O biomarcador MMP-1/Cr apresentou uma área sob a curva (AUC) de 0,72 (95% CI 0,56 a 0,88) ($p=0,022$). O MMP-1, por sua vez, teve uma AUC de 0,68 (95% CI 0,51 a 0,86) ($p=0,577$), o NGF de 0,66 (95% CI 0,48 a 0,85) ($p=0,094$), o EGF de 0,60 (95% CI 0,41 a 0,78) ($p=0,094$), a IL-6/Cr de 0,50 (95% CI 0,29 a 0,712) ($p=0,976$), a IL-6 de 0,47 (95% CI 0,27 a 0,67) ($p=0,789$), o MCP-1/Cr de 0,42 (CI 95% 0,23 a 0,60) ($p=0,095$), o MCP-1 de 0,37 (CI 95% 0,19 a 0,54) ($p=0,196$), e o EGF/Cr de 0,30 (95% CI 0,12 a 0,49) ($p=0,053$). Assim, os únicos biomarcadores com propriedades adequadas nesse cenário foram NGF/Cr ($p=0,006$) e MMP-1/Cr ($p=0,022$). Os outros biomarcadores apresentaram propriedades inadequadas neste

cenário. O poder discriminatório dos testes com melhor performance podem ser mais bem dimensionado nas figuras 9 a 12.

Figura 9. Curva ROC demonstrando acurácia do NGF/Cr em predizer a persistência da HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,77 (95% CI 0,62 a 0,92) ($p=0,006$).

Figura 10. Curva ROC demonstrando acurácia do MMP-1/Cr em prever a persistência da HD. Área sob a curva (AUC) foi 0,72 (95% CI 0,56 a 0,88) ($p=0,022$).

Figura 11. Curva ROC demonstrando acurácia do MMP-1 em prever a persistência da HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,68 (95% CI 0,51 a 0,86) ($p=0,577$).

Figura 12. Curva ROC demonstrando acurácia do NGF em prever a persistência da HD. Área sob a curva (AUC) foi de 0,66 (95% CI 0,48 a 0,85) ($p=0,094$).

5. DISCUSSÃO

Apesar de alguns estudos anteriores terem investigado o papel dos biomarcadores urinários de obstrução e inflamação em OIV, HD e SBH na população geral e em mulheres, este trabalho é o primeiro a fazer essa avaliação e correlacionar com estudo urodinâmico no pré e pós-operatório à RTUP. A HPB é um processo relacionado ao envelhecimento masculino com prevalência elevada a partir dos 50 anos de idade e está presente em mais de 80% dos homens acima de 80 anos (Lepor, 2004; Berry et al., 1984). Essa condição é de considerável expressão na população masculina, e suas implicações e consequências merecem ser profundamente entendidas. Além disso, mesmo conhecendo a relação existente entre a OIV e HD, não sabemos porque aproximadamente 30-40% dos pacientes submetidos à desobstrução prostática continuam apresentando HD, alguns desenvolvem hipocontratilidade e outras alterações da sensibilidade vesical. Acreditamos que o maior conhecimento da fisiopatologia da HD em pacientes que apresentem HPB e OIV pode ser o caminho para o encontro de biomarcadores urinários que apresentem potencial de serem úteis no diagnóstico de OIV e HD, podendo atuar como coadjuvantes na indicação de desobstrução cirúrgica e também permitam saber quais pacientes poderão apresentar resolução da HD no pós-operatório.

Resumidamente, as comparações entre as concentrações de biomarcadores urinários na urina proveniente da bexiga a partir dos pacientes candidatos a RTUP e o grupo controle do nosso estudo mostraram de forma estatisticamente significativa uma maior concentração de IL-6/Cr($p=0,007$), MCP-1($p=0,000$), MCP-1/Cr($p=0,000$), EGF($p=0,000$), EGF/Cr($p=0,044$) e MMP-1/Cr($p=0,043$). Por outro lado, encontramos uma menor concentração dos níveis de NGF ($p=0,031$) nesses pacientes comparados ao grupo controle. Em relação à análise dos parâmetros clínicos, observamos uma maior concentração urinária de IL-6($p=0,028$) e MCP-1($p=0,010$) em pacientes com a

queixa de urgência miccional. De acordo com as alterações urodinâmicas, encontramos uma associação entre HD e níveis mais elevados da concentração urinária de MCP-1($p=0,002$), MCP-1/Cr ($p=0,002$) e IL-6($p=0,003$). Nos pacientes portadores de HD, o início das CIVs na segunda fase do enchimento vesical foi associado com uma maior concentração urinária de EGF/Cr ($p=0,044$) quando comparado aqueles pacientes que apresentaram CIVs na primeira fase do enchimento vesical. Aplicando a Curva ROC, os biomarcadores urinários demonstraram ser úteis no diagnóstico de HD nos pacientes com HPB, sendo que o MCP-1/Cr apresentou uma acurácia de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,84), o MCP-1 de 0,71 (95% CI 0,59 a 0,83), e a IL-6 de 0,70 (95% CI 0,58 a 0,82). A MCP-1/Cr foi o marcador mais sensível e a IL-6 o mais específico. Os biomarcadores demonstraram serem úteis também para predizer a persistência da HD no pós-operatório, sendo que o NGF/Cr apresentou uma acurácia de 0,77 (95% CI 0,62 a 0,92) ($p=0,006$) e o MMP-1/Cr uma acurácia de 0,72 (95% CI 0,56 a 0,88) ($p=0,022$).

Quando comparado a concentração urinária dos biomarcadores entre os pacientes candidatos à RTUP e o grupo controle, encontramos níveis aumentados em 7,1 vezes para MCP-1($p=0,000$) e 23 vezes para MCP-1/Cr ($p=0,000$). A IL-6 e EGF apresentaram uma concentração ajustada pela creatinina (IL-6/Cr e EGF/Cr) no pré-operatório 2 vezes maior nos pacientes candidatos a cirurgia, quando comparados aos pacientes do grupo controle ($p=0,007$) ($p=0,044$). Os biomarcadores NGF/Cr ($p=0,774$), MMP-1 ($p=0,317$) e IL-6 ($p=0,068$) não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os pacientes candidatos a RTUP e o grupo controle. No entanto, as concentrações urinárias pré-operatória de IL-6 e MMP-1 estavam aumentadas em relação aos controles.

O resultado do nosso estudo difere de outra série que demonstrou níveis urinários diminuídos de MMP-1 em pacientes obstruídos, apresentando uma tendência a ser negativamente correlacionado com a obstrução infravesical, apesar do autor não evidenciar significância estatística (Chai et al., 2014). Contudo, alguns autores demonstraram, em análise tecidual, que um modelo de OIV em ovelhas resultou no desenvolvimento de fibrose vesical e acúmulo de colágeno e matriz extracelular (Peters, 1997). Descreveram também que esse fenômeno esteve correlacionado, nesse modelo, com diminuição da atividade tecidual de metaloproteinases MMP-1 e MMP-2, além do aumento da atividade do inibidor tecidual dessas enzimas (Peters, 1997). Outros autores demonstraram uma atividade tecidual diminuída das MMPs 1, 2 e 9 quando a cultura de células de musculatura lisa vesical de humanos foram submetidas à pressão hidrostática de 20 cm H₂O em menos de 7 horas ao comparar com culturas submetidas à pressão atmosférica. Além da desorganização estrutural da matriz celular vesical, foi observado também alteração da espessura da parede e déficit de complacência (Backhaus et al., 2002).

Até o momento, a concentração urinária de MMP-1 não foi avaliada em pacientes candidatos a RTUP com obstrução infravesical crônica, e relacionada ao estudo urodinâmico pré-operatório. Os resultados do presente estudo representam uma primeira abordagem em urina proveniente de tais pacientes. Deve-se notar que a maioria dos pacientes incluídos no estudo possuíam diagnóstico de OIV por HPB, motivo pelo qual são esperadas, teoricamente, alterações basais na concentração de metaloproteinases em relação ao grupo controle sem OIV. Embora não existam trabalhos que avaliaram a concentração urinária de MMP-1 em pacientes portadores de HPB no pré-operatório de RTUP, Chai et al (2014), demonstraram uma tendência a diminuição da concentração urinária dos biomarcadores de remodelação tecidual

MMP-1, MMP-2 e MMP-13 no período de 1 ano de pós-operatório do implante de sling para tratamento de incontinência urinária de esforço em mulheres. Apesar deste autor ter observado essa tendência à diminuição dos valores de MMP-1 após a cirurgia, em relação a esse biomarcador, seus resultados não evidenciaram significância estatística. Estudos experimentais em animais mostraram que os níveis urinários de determinados biomarcadores, como as citocinas inflamatórias nem sempre refletem as variações de suas concentrações no tecido (Smaldone et al., 2009), sugerindo que as alterações dos níveis teciduais de determinadas moléculas podem não ser acompanhadas pelas alterações de suas concentrações urinárias.

A parede vesical tem três camadas bem definidas: a mucosa (porção mais profunda), a muscular, e a adventícia / serosa. A mucosa (urotélío, membrana basal, lâmina própria) também contém algumas células de músculo liso, denominada de camada muscular da mucosa (Neuhaus et al., 1999). O urotélío é um tecido epitelial de transição, composto por pelo menos três camadas: uma camada de células basais ligada a uma membrana basal, uma camada intermédia, e uma camada superficial ou apical composta de grandes células hexagonais conhecido como "células guarda-chuva" (Neuhaus et al., 1999). Uma camada de glicosaminoglicano uroteliais (GAG) e proteínas uroplakin abrangem as "células de guarda-chuva" e tem sido sugerido por contribuir para a função de barreira urotelial (Neuhaus et al., 1999).

Estudos de pesquisa básica trazem novas percepções sobre a compreensão da fisiopatologia dos sintomas do trato urinário inferior. Foi evidenciado que o urotélío expressa uma variedade de receptores sensoriais, muscarínicos, nicotínicos, canabinóides, canais iônicos, assim como fatores neutróficos, óxido nítrico, acetilcolina, citocinas e prostaglandinas (Grol et al., 2009; Rahnham et al., 2010). Todos esses fatores estão implicados em interações uroteliais-neuronais e envolvidos em

sinais que, através de componentes da lâmina própria subjacente (suburotélíio) e do detrusor, como as células intersticiais e miofibroblastos respectivamente, podem ser amplificados e transmitidos às fibras nervosas através de canais, que permitem movimentos de moléculas e íons de uma célula a outra, chamados de “gap junctions”. Esses canais, permitem também o transporte de neurotransmissores e neuropeptídeos que podem gerar contrações detrusoras espontâneas. Assim, as células uroteliais tem a capacidade de perceber as alterações do seu ambiente extracelular, e responder à estímulos químicos, mecânicos e térmicos, liberando diversos fatores como já citado acima. Essas recentes informações sustentam a base da teoria miogênica, neurogênica e mais recentemente a teoria uroteliogênica que demonstra o papel do urotélíio e suburotélíio contribuindo na gênese desse processo, suportando a idéia de que as estruturas da parede vesical funcionam como uma unidade funcional e um sínclcio intrinsecamente interativo (Apostolidis, 2011).

A via neuronal é um mecanismo potencialmente responsável pela descompensação vesical na HPB. Atualmente alguns autores tem sugerido o papel importante das neurotrofinas na fisiologia da HD, SBH e síndrome da dor pélvica crônica (Kuo et al., 2010; Steers, 2006). Durante a fase de enchimento vesical as fibras neurais tipo C estão em repouso. Em algumas situações patológicas, podem se tornar ativas e mecâno-sensitivas levando ao desenvolvimento de HD. Esse processo ocorre através da substituição de fibras A- δ em fibras C, mediadas pela ação das neurotrofinas.

O NGF é uma neurotrofina produzida abundantemente pelas células do urotélíio e do músculo detrusor. São fatores indispensáveis para o funcionamento adequado dos nervos sensoriais e das fibras simpáticas que são essenciais para o funcionamento da bexiga (Ochodnicky et al., 2011). Além disso, o NGF também é

considerado um mediador na modulação da resposta inflamatória urotelial e sinalizador da via de dor (Kuo et al., 2010). Um estudo quantificou os níveis de NGF em tecido vesical humano, utilizando testes imunoenzimáticos (ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), sendo realizado biópsias da bexiga antes e no período de 1 e 3 meses após a injeção de toxina botulínica A (BTX-A) no músculo detrusor de pacientes com HD neurogênica (Giannantoni et al., 2006). Os parâmetros urodinâmicos e os níveis de NGF do tecido diminuíram significativamente nesse período. Isto sugere que BTX-A pode diminuir os níveis de neurotransmissores, o que pode de outro modo estimular a produção e liberação de NGF na urina. Vários autores evidenciaram um nível mais elevado de concentração urinária de NGF ajustada pela creatinina (NGF/Cr) em pacientes com HD e SBH (Kim et al., 2006; Kuo et al., 2010). Outro estudo demonstrou que a expressão do NGF no músculo detrusor de pacientes obstruídos com HD foi significativamente maior que nos obstruídos sem HD e no grupo controle (Liu et al., 2004). Liu et al, 2008, em outra série, confirmaram os níveis significativamente elevados da concentração urinária de NGF/Cr nos pacientes obstruídos com HD quando comparados aos obstruídos sem HD e o grupo controle (Liu et al., 2008).

Nosso estudo é o primeiro que busca correlacionar os níveis de concentração urinária pré-operatória com resultados urodinâmicos, de um grupo de biomarcadores classificados como mediadores da modulação de resposta inflamatória urotelial e de remodelação tecidual em pacientes candidatos a RTUP. Nossos resultados mostraram uma concentração urinária de NGF 1,2 vezes menor no grupo de pacientes candidatos à RTUP em comparação aos pacientes do grupo controle ($p=0,031$). A concentração de NGF normalizada pela creatinina (NGF/Cr) apresentou-se com nível ligeiramente maior que os controles, no entanto sem significância estatística. Na

análise de subgrupos, em relação a presença de HD o grupo com hiperatividade apresentou os níveis de concentração de NGF e NFG/Cr menores que o grupo controle, no entanto sem significância estatística. Na análise da queixa de urgência urinária também não houve diferença estatística significativa, no entanto os pacientes com essa queixa apresentaram níveis ligeiramente maiores de NGF e NGF/Cr que os pacientes sem urgência miccional. Os nossos resultados apontaram que níveis de NGF e NGF/Cr não apresentaram variação significativa em relação ao padrão de Schafer pré-operatório, em concordância com outro estudo que analisou esse biomarcador normalizado pela creatinina (Liu et al., 2008), e não observou diferença significativa entre as concentrações urinárias de NGF/Cr entre pacientes com OIV sem HD e o grupo controle de pacientes assintomáticos. No entanto, Liu et al., 2008 observou níveis aumentados de NGF/Cr em pacientes com OIV e HD em comparação aos controles, o que difere dos nossos resultados.

Apesar de alguns autores indicarem que homens com sintomas de HD e OIV causados por HPB apresentarem níveis teciduais vesicais e urinários aumentados de NGF (Steers et al., 1991) (Liu et al., 2008), estes pacientes quando submetidos a tratamento medicamentoso com alfa bloqueadores ou inibidor de 5 alfa redutase apresentaram redução dos níveis urinários deste biomarcador (Liu et al., 2008), corroborando com outros estudos que demonstram uma possível correlação com os níveis elevados deste biomarcador e o processo de OIV.

Considerando a presença de HD no grupo de pacientes candidatos à RTUP, demonstramos que pacientes portadores de hiperatividade apresentaram uma concentração urinária pré-operatória maior de IL-6 ($p=0,003$) e MCP-1 ($p=0,002$) quando comparados aos pacientes sem HD. Esses resultados estão em concordância com os encontrados em séries que avaliaram os níveis desses biomarcadores em

pacientes com SBH e HD (Tyagi et al., 2010; Bouchelouche et al., 2004; Bouchelouche et al., 2006; Alkis et al., 2015; Chai et al., 2014). Tyagi et al, 2010 evidenciaram um aumento na concentração urinária MCP-1 em cerca de 10 vezes em pacientes com SBH em comparação aos pacientes assintomáticos do grupo controle. Alguns autores sugerem que nesse grupo de pacientes portadores de HD e SBH possivelmente o aumento de citocinas inflamatórias decorre de disfunção urotelial por alterações na modulação da resposta inflamatória tecidual e alterações aferentes de neuroplasticidade (Tyagi et al., 2010; Alkis et al., 2016; Chai et al., 2014). Nosso estudo encontrou uma concentração de MCP-1 e IL-6 aumentada em 2 e 1,8 vezes respectivamente nos pacientes com presença de hiperatividade comparados aos pacientes sem HD. Na análise de MCP-1 ajustada pela creatinina (MCP-1/Cr), notamos uma concentração urinária maior cerca de 2 vezes para os pacientes portadores de HD ($p=0,002$) em comparação aqueles sem HD.

No grupo de pacientes portadores de HD foi observado que a concentração de EGF/Cr estava significativamente aumentada nos indivíduos que apresentaram início das CVIs na segunda fase de enchimento vesical ($p=0,044$). Não encontramos dados na literatura para compararmos aos nossos resultados, no entanto alguns autores encontraram níveis significativamente aumentado de EGF/Cr em indivíduos com SBH em comparação aos controles (Tyagi et al., 2010). A presença de EGF aumentado na urina é sugestivo de reparação tecidual e fibrose em pacientes com SBH e OIV (Tyagi et al., 2010; Chai et al., 2014). Kageyama et al, 2000 demonstrou que os pacientes que iniciavam as CVIs precocemente e de forma contínua apresentavam piores índices de resolução em relação aqueles que iniciavam as CVIs na segunda fase de enchimento vesical (Kageyama et al, 2000). Considerando que 30 a 40% dos pacientes permanecerão com sintomas miccionais após a RTUP e estudos que

acompanharam pacientes no pós-operatório demonstraram maior eficácia cirúrgica na medida que o grau de obstrução também aumenta, este biomarcador pode apresentar um potencial para ser um preditor da melhora dos sintomas de armazenamento após a RTUP.

A avaliação dos outros biomarcadores urinários em relação ao período da CVIs não apresentaram significância estatística, no entanto a concentração absoluta do NGF foi aumentada nos pacientes com início das CVIs na primeira fase do enchimento vesical. Podemos relacionar esse resultado encontrado com dados de outra pesquisa de nosso grupo, onde foi encontrado uma superexpressão tecidual significativa de NGF nos pacientes que apresentaram início das CVIs na primeira fase de enchimento vesical (dados não publicados, tese de doutorado Marco Antônio Nunes). O presente estudo é o primeiro que busca correlacionar níveis urinários dos biomarcadores em pacientes candidatos a RTUP, portadores ou não de HD, e sua relação com a evolução pós-operatória da HD. Em discordância com a literatura, nossos resultados mostraram níveis de concentração urinária menor de NGF no grupo portador de HD, no entanto sem mostrar correlação estatística. Neste grupo com HD, notou-se um aumento da concentração dos níveis de NGF nos pacientes que apresentaram início das CVIs na primeira fase de enchimento vesical, apesar de também não exibirem significancia estatística. Em relação a evolução pós-operatória no grupo portador de HD, observou-se uma concentração urinária significativamente mais elevada de NGF/Cr e MMP-1/Cr em cerca de 1,5 vezes e 2,7 vezes respectivamente naqueles que persistiram com HD após 6 meses de tratamento. Não encontramos resultados semelhantes na literatura, no entanto, Hu et al, 2018, demonstrou uma associação de maiores níveis de NGF/Cr no pré-operatório com a persistência dos sintomas de SBH no pós-operatório (Hu et al, 2018). No geral, o aumento da concentração urinária de

NGF/Cr foi associado a fatores de prognósticos desfavoráveis como início precoce das CVIs e persistência de HD no pós-operatório. Níveis mais elevados da concentração urinária de MMP-1/Cr foram associado também à fatores mais desfavoráveis como baixa complacência vesical, e persistência da HD no pós-operatório. No entanto, os níveis mais elevados de EGF/Cr demonstraram-se estar associado a fatores de prognóstico mais favoráveis assim como início tardio da CVIs, melhora da complacência vesical no pós-operatório e resolução da HD no pós-operatório.

Em relação ao fluxo urinário máximo, encontramos os valores ajustados pela creatinina de IL-6 e MCP-1 aumentados em cerca de 2,6 ($p=0,025$) e 8 ($p=0,022$) vezes respectivamente nos pacientes do grupo de estudo com $Q_{max}>8,1$ ml/s em comparação com aqueles que apresentaram $Q_{max}\leq 8$ ml/s. O nível de MCP-1 também foi aumentado nesses indivíduos em cerca de 1,2 vezes ($p=0,043$) comparados aqueles que apresentaram $Q_{max}\leq 8$ ml/s. Embora não existam dados da literatura para compararmos aos nossos em relação a este subgrupo, acreditamos que a maior concentração destes biomarcadores em pacientes com o fluxo urinário máximo $>8,1$ ml/s decorre do fato de que alguns desses pacientes candidatos a RTUP apresentarem-se como Schafer 2 e 3, além da presença de HD associada. Esses fatores poderiam impactar no resultado do Q_{max} aferido.

No que concerne à pressão detrusora máxima, notamos que os pacientes candidatos a RTUP com pressão detrusora máxima $>78\text{cmH}_2\text{O}$ apresentaram uma concentração urinária de MMP-1 cerca de 4,4 vezes maior que os pacientes do mesmo grupo que apresentaram pressão detrusora máxima $\leq 77\text{cmH}_2\text{O}$ ($p=0,011$). Da mesma forma, em relação ao MMP-1/Cr a concentração foi 2,2 vezes maior ($p=0,025$). Isso pode sugerir que nesse grupo primeiramente ocorre uma mudança no

perfil de expressão tecidual de MMPs devido a deposição de colágeno, e posteriormente uma alteração na liberação dessas MMPs na urina. Tais alterações, com aumento dos níveis urinários de MMP-1 na urina, podem revelar um estágio mais avançado de remodelação tecidual em resposta a OIV. Como já demonstrado em estudos patológicos, a deposição de colágeno na musculatura detrusora é um dos mecanismos responsáveis pela disfunção vesical irreversível relacionada à OIV. Talvez o aumento da expressão da MMP-1 possa significar um fenômeno protetor no sentido de reduzir a taxa de acúmulo de colágeno no detrusor.

Considerando complacência, índice de contratilidade vesical e padrão de schaffer não encontramos diferenças significativas. Entretanto, encontramos uma concentração de MCP-1 maior nos pacientes classificados entre schaffer 3 e 4. Notamos que a concentração urinária de MCP-1 foi 1,5 vezes maior em relação aos pacientes classificados entre schaffer 0 e 2, e 2,1 vezes maior em relação aqueles com schaffer 5 e 6 ($p=0,072$). Curiosamente, apesar de não apresentar significância estatística, todos os biomarcadores urinários avaliados obtiveram um nível de concentração maior nos pacientes submetidos a RTUP e classificados com Schafer entre 3 e 4, quando comparados com os valores dos pacientes classificados entre 0 e 2 ou 5 e 6, exceto o MMP-1/Cr, que apresentou uma relação positiva de aumento dos níveis de concentração urinária conforme maior a classificação de Schafer. Esse achado pode sugerir uma alteração na liberação da MMP-1 na urina, nos pacientes que apresentam OIV.

Em relação as variáveis clínicas como idade, IMC e IPSS não encontramos diferença estatística significativa. Entretanto, os pacientes submetidos à RTUP que apresentaram queixa de urgência miccional no pré-operatório, mostraram uma concentração de IL-6 cerca de 2,2 vezes maior do que aqueles pacientes que não

apresentaram essa queixa ($p=0,028$). O MCP-1 foi aproximadamente 2 vezes maior nos pacientes com urgência miccional ($p=0,01$). Tyagi et al., 2010 evidenciou um aumento na concentração urinária absoluta de MCP-1 em cerca de 10 vezes em pacientes com queixa de urgência miccional em comparação com os pacientes assintomáticos do grupo controle (Tyagi et al., 2010). Outro estudo, correlacionou diretamente os níveis urinários de MCP-1 e interleucinas em mulheres com SBH com o número médio de micções no período de 24 horas. O estudo encontrou o aumento estatisticamente significativo nos níveis urinários de IL-8 e MCP-1 em pacientes com SBH e queixa de urgência miccional em relação aos controles ($p < 0,05$) (Lesovoy et al., 2010).

O principal sintoma da SBH é a urgência miccional, que é usada também para definir essa condição. No entanto, há um aspecto subjetivo na medição da urgência o que dificulta a investigação (Abrams, 2005). Em alguns casos, os aspectos objetivos e subjetivos podem não se correlacionar. A medição objetiva da gravidade do sintoma de urgência miccional é por vezes difícil de se fazer. O estudo urodinâmico é utilizado em algumas situações nessa condição, uma vez que demonstra HD de forma objetiva. Existem guidelines que recomendam o teste urodinâmico para a avaliação inicial de pacientes com sintomas do trato urinário baixo (de Sèze et al., 2007). No entanto, nem todos os pacientes com urgência tem HD (Hashim et al., 2006; Foon et al., 2010). Por outro lado, alguns pacientes com HD submetidos à estudos urodinâmicos ambulatoriais não apresentaram urgência miccional (Bristol et al., 1996). Nosso estudo, entretanto, apresentou concordância ao analisar os níveis dos biomarcadores urinários relacionados ao sintoma de urgência miccional e a presença objetiva de HD ao exame de urodinâmica. Em ambos os casos observamos níveis urinários significativamente maiores de dois biomarcadores, a IL-6 e o MCP-1. Esses

biomarcadores foram estatisticamente mais elevados em pacientes candidatos a RTUP portadores de HD e urgência miccional em comparação aqueles sem HD e sem queixa de urgência miccional.

A atividade contrátil miogênica vesical que gera sinais aferentes pode estar relacionada a liberação de Ach durante a fase de enchimento. A liberação não-neuronal de Ach na bexiga humana, originada parcialmente pelo urotélio, mostrou estar aumentada quando as fibras musculares estão estiradas e o urotélio intacto, mostrando que a tensão de cisalhamento do urotélio durante a distensão vesical pode ser um dos mecanismos responsáveis (Groat et al., 2015). Em outra pesquisa de nosso grupo, foi observado, em análise histológica, uma média de expressão dos receptores muscarínicos (CHRM) cerca de dez a quinze vezes maior nos pacientes obstruídos portadores de HPB. No caso dos receptores muscarínicos do subtipo M3, foi notado uma expressão relativa duas vezes maior nos portadores de HD (dados não publicados, tese de doutorado Marco Antônio Nunes). Em análise de espécimes vesicais de pacientes portadores de HD idiopática foi observado um aumento significativo da imunorreatividade de CHRM2 e CHRM3, quando comparado aos controles (Mukerji, 2006). Baseado nessas evidências foi pressuposto que a liberação aumentada de Ach pelo urotélio e assim como uma supra-regulação dos receptores muscarínicos no detrusor e urotélio pode levar à um aumento da atividade aferente e contribuir para o desenvolvimento de HD.

Nossos resultados sugerem que a HD pode ser correlacionada com a inflamação, presumivelmente resultante da liberação de citocinas inflamatórias (Bettelli et al., 2007). Estudos com biópsia demonstraram sinais físicos de inflamação na SBH e HD na ausência de infecção do trato urinário (Loran et al., 2007). A inflamação na bexiga envolve tipicamente infiltrado linfocítico e monocítico restritos as

camadas mais superficiais da parede vesical, especialmente o suburotélíio (Comperat et al., 2006). Alguns estudos têm mostrado que a inflamação vesical induzida pela infiltração de células imunes pode ser amplificada pelas células presentes no urotélíio e detrusor através da liberação de quimiocinas como o MCP-1, IL-8 e IL-6 (Bouchelouche et al, 2004; Bouchelouche et al, 2006; Beatrice et al, 2011). No nosso estudo observamos um nível significativamente aumentado de MCP-1 e IL-6 em pacientes portadores de HD candidatos à cirurgia de desobstrução, quando comparado aos pacientes sem HD. A presença de níveis mais baixos de citocinas inflamatórias na urina de pacientes assintomáticos do grupo controle do nosso estudo confirma os dados de outros estudos (Bouchelouche et al., 2004; Bouchelouche et al., 2006; Tyagi et al., 2010).

A etiologia da HD é multifatorial e não foi completamente elucidada até o momento quanto a sua patogênese, no entanto, existem várias propostas que podem ser responsáveis pelo desenvolvimento da HD e SBH, como a ativação de fibras do tipo C aferentes da bexiga, a tensão de cisalhamento do urotélíio durante a distensão vesical, a liberação de compostos neuroativos ao nível vesical com ativação de mastócitos, e regulação positiva de mediadores inflamatórios incluindo citocinas e citocinas quimiotáticas (quimiocinas). Tyagi et al (2010) sugeriu que os níveis elevados de citocinas na urina pode ser uma manifestação do stress, ou da privação do sono relacionada à noctúria e outros sintomas presentes na SBH e HD (Tyagi et al., 2010).

Outra questão que deve ser levantada é sobre a necessidade do ajuste dos biomarcadores pela creatinina urinária. A vantagem óbvia da utilização de biomarcadores urinários não invasivos é um pouco atenuada pelo aumento da variabilidade que surge devido às trocas e mudanças inter-individuais no volume de

urina, pH, e outros componentes de urina (Good et al., 2007; Candela et al., 1998). As concentrações de creatinina urinária podem ser influenciadas pela idade, sexo, raça, etnia, dieta, momento específico (horário do dia) de coleta da urina e função renal. Por isso, este ajuste nos níveis dos biomarcadores pela creatinina é utilizado rotineiramente em análise proteômica de urina e tem sido considerado válido para estudos envolvendo a medição de proteínas urinárias que se acredita ser liberadas na urina pelo urotélio durante a fase miccional de armazenamento (Goto et al., 2007; Zimmerli et al., 2008).

A maioria dos estudos com biomarcadores urinários utiliza a concentração ajustada pelos valores de creatinina urinária em sua análise para diminuir a variabilidade dos marcadores em função do estado de concentração de urina (Tyagi et al., 2010; Bouchelouche et al., 2004; Bouchelouche et al., 2006; Alkis et al., 2015; Chai et al., 2014; Liu et al., 2008).

Em nossa análise observamos que o ajuste pela creatinina urinária diminuiu a acurácia de todos os biomarcadores em predizer a HD, exceto EGF e MCP-1. No entanto, foi estatisticamente significativo somente para IL-6, que na dosagem absoluta (IL-6) apresentou AUC da análise na curva ROC de 0,70 (95% CI 0,58 a 0,82) e quando ajustado pela creatinina (IL-6/Cr) apresentou AUC 0,65 (95% CI 0,52 a 0,78). Em predizer a OIV, o ajuste pela creatinina diminuiu a acurácia de todos os biomarcadores. No entanto essa variação não foi estatisticamente significativa. Provavelmente, por tratar-se de amostras de urina coletadas no mesmo período do dia, provenientes de pacientes adultos com características clínicas (IMC, comorbidades, faixa etária, função renal), sem diferenças estatisticamente significativas, o estado de hidratação tenha um menor impacto na concentração dos biomarcadores urinários no nosso grupo de estudo e, por isso, o ajuste possa ser

dispensado. No entanto, optamos por manter também o ajuste pela creatinina em nossas análises para estar em conformidade com o que a literatura atual recomenda e também servir como base de comparação aos estudos que utilizaram os mesmos marcadores.

Vários potenciais novos biomarcadores urinários para a obstrução infravesical, SBH e HD foram introduzidos durante esta década, mas nenhum deles foi ainda implementado na prática clínica diária, devido às suas limitações e necessidade de uma maior validação em estudos clínicos. Um questionamento importante é a falta de padronização coerente dos vários estudos, como por exemplo diferentes critérios de inclusão de pacientes, procedimentos diferentes para a coleta da amostra urinária, e variações biológicas entre pessoas e idade dos indivíduos. Além disso, os valores de referência são também um desafio, uma vez que existe uma alta variação nos valores medidos dependendo dos métodos e técnicas de análise utilizados para mensuração dos biomarcadores.

Algumas limitações do presente estudo valem ser ressaltadas: o tamanho da amostra, a não realização de cálculo amostral e o fato de não ter sido realizado a análise dos níveis teciduais dos biomarcadores. No entanto, utilizamos uma série que não é muito pequena de pacientes, ressaltando que esta análise é inédita e a maior na literatura que analisa os níveis de biomarcadores inflamatórios e de remodelação tecidual vesical na urina em pacientes candidatos a RTUP com e sem HD. Desse modo, não teríamos como calcular uma amostra adequada para um desvio padrão determinado.

Outro fator de crítica é que os casos selecionados de pacientes com HPB foram restritos à pacientes candidatos à tratamento cirúrgico. Desse modo, não podemos aferir se esse seria um modelo adequado na avaliação de pacientes com sintomas

mais amenos. Pode-se continuar o presente estudo, ampliando para os pacientes com HPB de quadro clínico menos severo (90% da população com HPB), abrindo a possibilidade de um padrão de concentração desses biomarcadores diferente dos pacientes descompensados.

Outro ponto susceptível a críticas é a não realização de análise tecidual dos biomarcadores estudados na urina. No entanto, apesar de não ter sido realizado estudo histopatológico de espécimes vesicais desses pacientes, estudamos diversos mecanismos potencialmente responsáveis pela descompensação vesical como as vias neuronais, inflamatórias e matriz extracelular. Ademais, alguns desses biomarcadores nunca foram avaliados através de critérios clínicos e urodinâmicos pré e pós-operatórios em pacientes com OIV por HPB e indicação para tratamento cirúrgico, e nesse aspecto o presente estudo constitui uma contrubuição científica nesse sentido. Ressaltamos que a análise histológica de componentes da matriz extracelular faz parte de outra pesquisa de nosso grupo (dados não publicados, tese de doutorado de Yuri Afonso Ferreira), e que o estudo histológico de vias neuronais e angiogênicas fazem parte de outro estudo de nosso grupo (dados não publicados, tese de doutorado de Marco Antônio Nunes).

6. CONCLUSÕES

Os nossos resultados demonstram uma diminuição dos níveis urinários de neurotrofina (NGF) com aumento nos níveis de citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e metaloproteinase em pacientes portadores de HPB candidatos a cirurgia em comparação ao grupo controle. A citocina IL-6/Cr, a quimiocina MCP-1 e MCP-1/Cr, o fator de crescimento EGF, EGF/Cr, e a metaloproteinase MMP-1 foram encontrados aumentados na urina destes pacientes. O sintoma de urgência miccional foi associado, de forma significativa, a uma maior concentração urinária de IL-6 e MCP-1 em pacientes com HPB candidatos à RTUP.

De acordo com alterações urodinâmicas encontramos uma associação entre HD e níveis mais elevados da concentração urinária de MCP-1, MCP-1/Cr e IL-6. O início das CVIs na segunda fase do enchimento vesical está associado com uma maior concentração urinária de EGF/Cr. O aumento da pressão detrusora foi relacionado ao aumento da concentração urinária de MMP-1 e MMP-1/Cr.

Em relação a evolução pós-operatória da HD após a desobstrução prostática, observamos uma concentração urinária significativamente mais elevada de NGF/Cr e MMP-1/Cr no pré-operatório dos pacientes que persistiram com HD após 6 meses de tratamento cirúrgico.

Os biomarcadores urinários demonstraram ser úteis no diagnóstico de HD nos pacientes com HPB, sendo que o MCP-1/Cr foi o marcador mais sensível e a IL-6 o mais específico. Demonstraram serem úteis também para predizer a persistência da HD no pós-operatório o NGF/Cr e o MMP-1/Cr, sendo o NGF/Cr o biomarcador mais sensível e específico.

Perspectivas

As perspectivas, com base nos achados, são ampliar a análise das proteínas para outros biomarcadores na urina como ATP/Cr, BDNF/Cr e PGE2/Cr e analisar estes e outros biomarcadores em biópsias de bexiga.

Os resultados poderiam ser ampliados para pacientes com HPB, que não apresentam evolução clínica e critérios urodinâmicos de indicação de tratamento cirúrgico, e também para outros grupos de pacientes como portadores de SBH e CI.

Considerando que um biomarcador pode ser um indicador de uma doença em particular, e que geralmente são utilizados para avaliação de diagnóstico, severidade, prognóstico e resposta a um tratamento específico, nossas perspectivas futuras, com base nos nossos achados, é poder analisar concomitantemente estas proteínas a nível tecidual na bexiga e na urina dos pacientes e tentar identificar aquelas que possuam um papel no prognóstico da resolução da HD após desobstrução prostática, com realização de dosagens urinárias também após a desobstrução prostática o que extrapolou o objetivo primário do presente trabalho.

Acreditamos que seja possível que tais marcadores possam ter utilidade na prática clínica em um futuro próximo, contudo novas séries devem ser realizadas para sedimentar os resultados do nosso estudo.

Desse modo, sugerimos a realização de novos estudos usando esses e novos biomarcadores em cenários clínicos distintos, com uma avaliação clínica complementar e um prazo pós-operatório mais longo de acompanhamento. Assim, vai ser possível avaliar de forma sedimentada o valor diagnóstico e prognóstico destes biomarcadores aqui estudados, especialmente MCP-1, IL-6, NGF, MMP-1 e EGF. Em uma perspectiva futura, seria possível vislumbrar um cenário em que os biomarcadores

urinários sejam dosados em pacientes com HPB, sem indicação de tratamento cirúrgico, e também outros grupos de pacientes como portadores de SBH e CI.

7. REFERÊNCIAS

Abrams P, Blaivas IG, Stanton SL et. al. The International Continence Society Committee on Standardization of Terminology. The standardization of terminology of lower urinary tract function. **Scand J Urol Nephrol** 1988; 114: 5-19.

Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Kerrebroeck PV, Victor A, Wein A. The standardization of terminology in lower urinary tract function: report from the standardization sub-committee of the International Continence Society. **Urology** 2003; 61: 306-310.

Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. **Neurourol Urodyn** 2002; 21:167-178.

Abrams P. Benign prostatic hyperplasia has precise meaning. **BMJ** 2001; 322:106.

Abrams P. Detrusor instability and bladder outlet obstruction. **Neurourol Urodyn** 1985; 4: 317.

Abrams P. Urgency: the key to defining the overactive bladder. **BJU int** 2005; 96:1-3.

Abrams PH, Farrar DJ, Turner-Warwick RT, et al. The results of prostatectomy: A symptomatic and urodynamic evaluation analysis of 152 patients. **J Urol** 1979; 121:640-2.

Alberts B. As células em seu contexto social. **Biologia Molecular da Célula**. 2010; 1131-1204.

Alka A. Biomarkers in overactive bladder. **Int Urogynecol J**. 2013 24:1065-1072.

Alkis O, Zumrutbas AE, Toktas C, Aybek H, Aybek Z. The use of biomarkers in the diagnosis and treatment of overactive bladder: Can we predict the patients who will be resistant to treatment? **Neurourol Urodyn**. 2015 Dec 10.

Allen SJ, Dawbarn. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. **Clin Sci**. 2006; 110(2):175-191.

Andersen JT, Nordling J, Walter S: Prostatism. I: The correlation between symptoms, cystometric and urodynamic findings. **Scand J Urol Nephrol** 1979, 13:229-236.

Andersson KE, Hedlund P. Pharmacologic perspective on the physiology of the lower urinary tract. **Urology** 2002; 60 (Supp. 5A): 13-20.

Andersson KE, Persson K. Nitric oxide synthase and the lower urinary tract: possible implications for physiology and pathophysiology. **Scand J Urol Nephrol** 1995; 29 (Suppl 175): 43-53.

Andersson KE. Bladder activation: afferent mechanisms. **Urology** 59: 43-50, 2002.

Andersson KE. Overactive bladder--pharmacological aspects. **Scand J Urol Nephrol Suppl**. 2002;(210):72-81.

Apodaca G, Kiss S, Ruiz W, Meyers S, Zeidel M, Birder L. Disruption of bladder epithelium barrier function after spinal cord injury. **Am J Physiol Renal Physiol**. 2003; 284: F966–F976.

Apostolidis A, Jacques TS, Freeman A, et al. Histological changes in urothelium and suburothelium of human overactive bladder following intradetrusor injections of botulinumneurotoxin type A for the treatment of neurogenic or idiopathic detrusor overactivity. **EurUrol** 2008; 53:1245-53.

Apostolidis A. Novel Insights and Targets for Managing Overactive Bladder. **J Urol** 2011; 185:2018- 2020.

Atkinson A., Colburn W., DeGruttola V., Zeger S. NIH Biomarkers Definitions Working Group, Bethesda, Md. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clinical pharmacology and therapeutics**. 2001;69(3):89-95.

Azadzoi KM, Tarcan T, Kozlowski R, Krane RJ and Siroky MB: Overactivity and structural changes in the chronically ischemic bladder. **J Urol** 1999; 162:1768.

Backhaus B, Kaefer M, Haberstroh KM, Hile K, Nagatomi, J, Rink RC, Cain MP, ± casale A and Bizios, R. Alterations in the molecular determinants of bladder Compliance at hydrostatic pressures less than 40 cm. H₂O. **Jurol**. 2002 dec; 168, 2600–2604.

Balestreire EM, Apodaca G. Apical EGF receptor signaling: regulation of stretch-dependent exocytosis in bladder umbrella cells. **Mol Biol Cell**. 2007; 13:830–843.

Barry MJ, Cockett AT, Holtgrewe HL, et al: Relationship of symptoms of prostatism to commonly used physiological and anatomical measures of the severity of benign prostatic hyperplasia. **J Urol** 1993 Aug; 150(2 Pt 1): 351-8.

Barry MJ, Fowler FJ Jr, O'Leary MP, Bruskewitz RC, Holtgrewe HL, Mebust WK, Cockett AT. The American Urological Association symptom index for benign prostatic hyperplasia. The Measurement Committee of the American Urological Association.**J Urol**. 1992; 148(5):1549-57.

Beatrice M, Bopaiah P, Susan E, Kristin C, Victor M, Margareth A. MalleyIncreased Expression of Interleukin-6 Family Members and Receptors in Urinary Bladder with Cyclophosphamide-Induced Bladder Inflammation in Female Rats. **Front Neurosci**. 2011; 5: 20.

Berry SJ , Coffey DS , PC Walsh , Ewing LL .The development of human benign prostatic hyperplasia with age. **J Urol**. 1984; 132(3): 474-9.

Bettelli E, Oukka H, Kuchroo V. T(H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. **Nat Immunol**. 2007;8(4):345-50.

Birder L, Ruggieri M, Takeda M, VanKoeveeringe G, Veltkamp S, Korstanje C, Parsons B, Fry C. How does the urothelium affect bladder function in health and disease? **Neurourol Urodyn**. 2012 Mar; 31(3): 293-299.

Bouchelouche K, Alvarez S, Andersen L, Nordling J, Horn T, Bouchelouche P. Monocyte chemoattractant protein-1 production by human detrusor smooth muscle cells. **J Urol**. 2004; 171: 462–6

Bouchelouche K, Alvarez S, Horn T, Nordling J, Bouchelouche P. Human detrusor smooth muscle cells release interleukin-6, interleukin-8, and RANTES in response to proinflammatory cytokines interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha. **Urology** 2006; 67: 214–9.

Brading AF. A Myogenic basis for the overactive bladder. **Urology** 1997; 50 (Suppl. 6):57-67.

Brading AF, Turner WH. The unstable bladder: towards a common mechanism. **Br J Urol** 1994; 73: 3-8.

Brandt C, Pedersen B. The Role of Exercise Induced Myokines in Muscle Homeostasis and the Defense against Chronic Diseases. **J Biomed Biotechnol** 2010; 2010:520258. Doi: 10.1155/2010/520258. Epub 2010.

Bristol SE, Neal DE. Ambulatory urodynamics. **Br J Urol**. 1996 Mar;77(3):333-8.

Burnstock G. Release of vasoactive substances from endothelial cells by shear stress and purinergic mechanosensory transduction. **J Anat** 1999; 194:335-342.

Candela J, Park E, Gerspach JM, Davidoff R, Stout L, Levy S. Evaluation of urinary IL-1alpha and IL-1beta in gravid females and patients with bacterial cystitis and microscopic hematuria. **Urol Res**. 1998; 26:175–180.

Chai TC, Richter HE, Moalli P, Keay S, Biggio J, Zong W, Curto T, Kim HY, Stoddard AM, Kusek JW. Inflammatory and Tissue Remodeling Urinary Biomarkers before and after Mid Urethral Sling Surgery for Stress Urinary Incontinence. **J Urol**. 2014 Mar;191(3):703-9.

Cheng J, Huang H, Zhang ZT. Overexpression of epidermal growth factor receptor in urothelium elicits urothelial hyperplasia and promotes bladder tumore growth. **Cancer Res**. 2002; 62:4157–4163.

Chevalier RL. Biomarkers of congenital obstructive nephropathy: past, present and future. **The Journal of urology**. 2004; 172(3):852-7.

Chuang YC, Tyagi V, Liu RT, Chancellor MB. Urine and Serum C - reactive protein Levels as Potential Biomarkers of Lower Urinary Tract Symptoms. **Urol Sci**. 2010; 21(3):132-6.

Comperat E, Reitz A, Delcourt A, Capron F, Denys P, Chartier-Kastler E. Histologic features in the urinary bladder wall affected from neurogenic overactivity—a comparison of inflammation, edema and fibrosis with and without injection of botulinum toxin type A. **Eur Urol**. 2006; 50: 1058–64.

Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis. **J Pathol**. 1999 Nov;189(3):300-8.

Dahmani L, Bruy re F, Ouaki F, Pires C, Irani J, Dor B. Consequences of intravesical obstruction on detrusor muscle energy metabolism. **Prog Urol**. 2002 Sep;12(4):569-74.

de Groat W.C. (1997) A neurologic basis for the overactive bladder. **Urology** 50 (6A Suppl): 36–5

de Sèze M, Ruffion A, Denys P, Joseph PA, Perrouin-Verbe B. GENULF. The neurogenic bladder in multiple sclerosis: review of the literature and proposal of management guidelines. **Mult Scler**. 2007;13:915–928.

Digesu GA, Khullar V, Cardozo L, Salvatore S. Overactive bladder symptoms: Do we need urodynamics? **Neurourol**. Urodynam. 22:105–108, 2003.

Dixon JS, Gilpin CJ, Gilpin SA, et al. Sequential morphological changes in the pig detrusor in response to chronic partial urethral obstruction. **Br J Urol** 1989; 64: 385-390.

Dorflinger T, Frimodt M, Bruskewitz RC, Jensen KM, Iversen P, Madsen PO: The significance of uninhibited detrusor contractions in prostatism. **J Urol**, 133: 819-821, 1985.

Dupont MC, Spitsbergen JM, Kim KB, Tuttle JB, Steers WD. Histological and neurotrophic changes triggered by varying models of bladder inflammation. **J Urol** 2001; 166(3):1111-111.

Elbadawi A, Yalla SV, Resnick NM. Structural basis of geriatric voiding dysfunction III. Detrusor Overactivity. **J Urol** 1993; 150: 1668-1680.

Festcher C, Fleischman M, Schmidt M, Kregge S, Michel MC. M3 muscarinic receptors mediate contraction of human urinary bladder. **Br J Pharmacol** 2002; 136:641–643.

Foon R, Drake MJ. The overactive bladder. **Therapeutic Advances in Urology**. 2010;2(4):147-155. doi: 10.1177/1756287210373757.

Gades NM, Jacobson DJ, Girman CJ, et al.: Prevalence of conditions potentially associated with lower urinary tract symptoms in men. **BJU Int** 2005, 95:549–553.

Ghoniem G, Faruqui N, Elmissiry M, Mahdy Um, Abdelwahab H, Oommen M, Abdel-Mageed AB. Differential profile analysis of urinary cytokines in patients with overactive bladder. **Int J Urogynecol**. 2011; 22 (8):953-61.

Giannantoni A, Di Stasi SM, Nardicchi V et al. Botulinum-A toxin injections into the detrusor muscle decrease nerve growth factor bladder tissue levels in patients with neurogenic detrusor overactivity. **J Urol** 2006; 175: 2341–2344.

Girard BM, Malley SE, Vizzard MA. Neurotrophin/receptor expression in urinary bladder of mice with overexpression of NGF in urothelium. **Am J Physiol Renal Physiol**. 2011; 300 : F345–F355.

Goldberg RP, Sand PK. Pathophysiology of the overactive bladder. **Clinical Obstet and Gynecol** 2002; 45(01): 182-192.

Good D, Thongboonkerd V, Novak J, Bascands J, Schanstra J, Coon J. Body fluid proteomics for biomarker discovery: lessons from the past hold the key to success in the future. **J Proteome Res**. 2007; 6:4549–4555.

Gormley EA, Griffiths DJ, McCracken PN, et al. Effects of transurethral resection of the prostate on detrusor instability and urge incontinence in elderly males. **NeurourolUrodyn** 1993; 12:445–53.

Goto T, Morioka J, Inamura H, Yano M, Kodaira K, Igarashi Y. Urinary eosinophil-derived neurotoxin concentrations in patients with atopic dermatitis: a useful clinical marker for disease activity. **Allergol Int.** 2007; 56:433–438.

Greenland J, Brading A. The effect of bladder outlet obstruction on detrusor blood flow changes during the voiding cycle in conscious pigs. **J Urol** 2001; 165: 245-248.

Groat W, Birder L. Mechanisms of Disease: involvement of the urothelium in bladder dysfunction. **Nat Clin Pract Urol.**; 4(1): 46-54.

Groat W, Griffiths D, Yoshimura N. Neural Control of the Lower Urinary Tract. **Compr Physiol.** 2015 Jan; 5(1): 327–396. doi: 10.1002/cphy.c130056.

Grol S, Essers PB, van Koeveringe GA, Martinez-Martinez P, de Vente J, Gillespie JI. M(3) muscarinic receptor expression on suburothelial interstitial cells. **BJU Int** 104: 398–405, 2009.

Habler HJ, Janig W, Koltzenburg M. Activation of unmyelinated afferent fibers by mechanical stimuli and inflammation of the urinary bladder in the cat. **J Physiol** 1990; 425: 545-562.

Hashim H , P Abrams .Is the bladder a reliable witness for predicting detrusor overactivity?. **J Urol** 2006 Jan; 175 (1):191-4; discussion 194-5.

Hashim H, Abrams. Is the bladder a reliable witness for predicting detrusor overactivity? **J.Urol.** 2006; 175:191-195.

Hu H, Zhang W, Liu X, Wang H, Fang Z, Liang C, Wang T, Xu K, Nerve growth factor levels are associated with overactive bladder symptoms and long-term treatment outcome after transurethral resection of the prostate in patients with benign prostate hyperplasia. **J Urol** (2018), doi: 10.1016/j.juro.2018.03.130.

Hu TW , Wagner TH , Bentkover JD , Leblanc K , Zhou SZ , Caça T .Costs of urinary incontinence and overactive bladder in the United States: a comparative study. **Urology.** 2004 Mar; 63 (3):461-5.

Hyman MJ, Groutz A, Blaivas JG: Detrusor instability in men: correlation of lower urinary tract symptoms with urodynamic findings. **J Urol** 2001, 166:550–553.

Irwin DE , Milsom I , Hunskaar S , Reilly K , Kopp Z , Herschorn S , Coyne K , Kelleher C , Hampel C , Artibani W , Abrams P. Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study.**Eur Urol.** 2006 Dez; 50 (6):1306-14.

Junqueira L., Carneiro J. Biologia da Interação Célula- Matriz Extracelular. **Biologia Celular e Molecular.** 2005; 230-238.

Kageyama S, Watanabe T, Kurita Y, et al.: Can persisting detrusor hyperreflexia be predicted after transurethral prostatectomy for benign prostatic hypertrophy? **Neurourol Urodyn**; 2000; 19:233–240.

Kim J, Keay SK, Freeman MR. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor functionally antagonizes interstitial cystitis antiproliferative factor via mitogen-activated protein kinase pathway activation. **BJU Int.** 2009; 103:541–546

Kim JC, Park EY, Seo SI, Park YH, Hwang TK. Nerve growth factor and prostaglandins in the urine of female patients with overactive bladder. **J Urol** 2006; 175: 1773–1776; discussion 6.

Kim W, Bae W, Park J, Choi J, Kim S, Cho H, Hong S, Lee J, Hwang S, Kim S. Development of an Improved Animal Model of Overactive Bladder: Transperineal Ligation versus Transperitoneal Ligation in Male Rats. **World J Mens Health**. 2016; 34(2):137-44. doi: 10.5534/wjmh.2016.34.2.137. Epub 2016 Aug 23.

Kuo HC, Liu HT, Chancellor MB. Urinary nerve growth factor is a better biomarker than detrusor wall thickness for the assessment of overactive bladder with incontinence. **Neurourol Urodyn**. 2010; 29 :482–7.

Kuo HC, Liu HT, Chancellor MB. Urinary nerve growth factor is a better biomarker than detrusor wall thickness for the assessment of overactive bladder with incontinence. **Neurourol Urodyn** 2010; 29: 482–487.

Kuo HC. Potential Biomarkers Utilized to Define and Manage Overactive Bladder Syndrome. **Low Urin Tract Symptoms**. 2012 Mar;4 Suppl 1:32-41.

Kuo HC. Videourodynamic analysis of pathophysiology of men with both storage and voiding lower urinary tract symptoms. **Urology** 2007 agosto; 70 (2):272-6.

Kupelian V, McVary KT, Barry MJ, et al. Association of C-reactive protein and lower urinary tract symptoms in men and women: results from Boston Area Community Health survey. **Urology** 2009; 73:950-7.

LaBerge J, Malley SE, Zvarova K, Vizzard MA. Expression of corticotrophin-releasing factor and CRF receptors in micturition pathways after cyclophosphamide-induced cystitis. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. 2006; 291: R692–R703.

Lecci A and Maggi CA. Tachykinins as modulators of the micturition reflex in the central and peripheral nervous system. **Regul Pept** 2001; 101: 1-18.

Lepor H. Pathophysiology, Epidemiology, and Natural History of Benign Prostatic Hyperplasia. **Rev Urol**. 2004; 6 Suppl 9: S3-S10.

Lesovoy V, Kolupayev S, Savenkov V. Diagnostic Value of urine cytokine levels in women with overactive bladder. 855.
<http://www.ics.org/Abstracts/Publish/326/000855.pdf>.

Levin RM, Monson FC, Haugaard N, Buttyan R, Hudson A, Roelofs M, Sartore S, Wein AJ. Genetic and cellular characteristics of bladder outlet obstruction. **Urol Clin North Am**. 1995; 22:263-83.

Liu B, Zheng BZ, Zhou ZL, Xu ZH, Cai SL. Change of nerve growth factor mRNA in human detrusor in bladder outlet obstruction with benign prostatic hyperplasia and their implication. **Zhonghua Wai Ke Za Zhi** 2004; 42(14):874-876.

Liu HT, Kuo HC. Urinary nerve growth factor levels are increased in patients with bladder outlet obstruction with overactive bladder symptoms and reduced after successful medical treatment. **Urology** 2008; 72: 104–108; discussion 8.

Loran O, Pisarev S, Kleimenova N, Sukhorukov V. Allergic inflammation as one of the factors of pathogenesis of overactive urinary bladder. **Urology**. 2007;(2):37-41.

Masumori N , Furuya R , Y Tanaka , Furuya S , Ogura H , Tsukamoto T. The 12-year symptomatic outcome of transurethral resection of the prostate for patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic obstruction compared to the urodynamic findings before surgery. **BJU Int**. 2010, 105 (10):1429-33.

McConnell JD, Barry MJ, Bruskewitz R: Benign Prostatic Hyperplasia: Diagnosis and Treatment. Clinical Practice Guideline 8 (AHCPR Publication No 94-0582). Rockville, MD, Agency for Health Care Policy and Research, Public Health Service, US Department of Health and Human Services, 1994.

McGuire EJ, Cespedes RD, O'Connell HE: Leak-point pressures. **UrolClin North Am**, 23: 253-262, 1996.

Mills IW, Greenland JE, McMurray G, et al. Studies of the pathophysiology of idiopathic detrusor instability: the physiological properties of the detrusor smooth muscle and its pattern of innervation. **J Urol** 2000; 163: 646-651.

Milsom I, Abrams P, Cardozo L, Roberts RG, Thuroff J, Wein AJ. How widespread are the symptoms of an overactive bladder and how are they managed? A population-based prevalence study. **BJU Int** 2001; 87:760–6.

Mirone V, Imbimbo C. Correlation between detrusor collagen content and Urinary symptoms in patients with prostatic obstruction. **J Urol** vol. 172, 1386– 1389, october 2004.

Morrison JFB. The activation of the bladder wall afferent nerves. **Exp Physiol** 1999; 84: 131-136.

Moser B, C Schumacher , Tscharnner Vv , Clark-Lewis I , Baggiolini M . Neutrophil-activating peptide 2 and gro/melanoma growth-stimulatory activity interact with neutrophil-activating peptide 1-interleukin 8 receptors on human neutrophils. **J Biol Chem**.1991; 266 (16):10666-71.

Mostwin JL, Karim OM, van Koevinge G, et al. The guinea pig as a model of gradual urethral obstruction. **J Urol** 1991; 145: 854-858.

Mukerji G, Yiangou Y, Grogono J, et al: Lo- calization of M2 and M3 muscarinic receptors in human bladder disorders and their clinical correlations. **J Urol** 2006; 176:367– 373.

Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. **J Biol Chem**. 1999 Jul 30;274(31):21491-4.

Neuhaus J, Pfeiffer F, Wolburg H, Horn LC, Dorschner W. Alterations in connexin expression in the bladder of patients with urge symptoms. **BJU Int** 96: 854–860, 1999.

Ochodnick P, Cruz CD, Yoshimura N, Michel MC. Nerve growth factor in bladder dysfunction: contributing factor, biomarker, and therapeutic target. **Neurourol Urodyn**. 2011; 30:1227–1241.

Onukwugha E, Zuckerman IH, McNally D, Coyne KS, Vats V, Mullins CD. The total economic burden of overactive bladder in the United States: a disease-specific approach. **Am J Manag Care**. 2009;15: S90–S97.

Perini P, Calabrese M, Rinaldi L, Gallo P. The safety profile of cyclophosphamide in multiple sclerosis therapy. **Perito Opin Drogas Saf**. 2007 Mar; 6 (2):183-90.

Peters, C. A.: Lower urinary tract obstruction: clinical and experimental aspects. **Br J Urol**, suppl., 81: 22, 1998.

Qu HC, Yan S, Zhang XL, Zhu XW, Liu Y, Wang P. Urinary nerve growth factor levels could be a biomarker for overactive bladder symptom: a meta-analysis. **Genet Mol Res**. 2014; 13(4):8609-19. doi: 10.4238/2014.April.14.14.

Rahnam'i MS, van Koeveeringe GA, Essers PB. Prostaglandin receptor EP1 and EP2 site in guinea pig bladder urothelium and lamina propria. **J Urol** 183: 1241–1247, 2010.

Reynard JM, Yang Q, Donovan JL, Peters TJ, Schafer W, de la Rosette JJ, Dabhoiwala NF, Osawa D, Lim AT, Abrams P. The ICS-'BPH' Study: uroflowmetry, lower urinary tract symptoms and bladder outlet obstruction. **Br J Urol** 1998 Nov; 82 (5):619-23.

Roosen A, Chapple CR, Dmochowski Fowler RR, CJ, Gratzke C, Roehrborn CG, Stief CG, Andersson KE. A refocus on the bladder as the originator of storage lower urinary tract symptoms: a systematic review of the latest literature. **Eur Urol** 2009; 56: 810–819.

Roy S Herbest. Review of epidermal growth factor receptor biology. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 59 (2 Suppl): 21–6. doi:10.1016/j.ijrobp.2003.11.041.

Saito M, Yokoi K, Ohmura M, et al. Effects of partial outflow obstruction on bladder contractility and blood flow to the detrusor: comparison between mild and severe obstruction. **Urol Int** 1997; 59: 226-230.

Sayre LM, Smith MA and Perry G: Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. **Curr Med Chem** 2001; 8:721.

Schäfer W, Abrams P, Liao L, Mattiasson A, Pesce F, Spangberg A, Sterling AM, Zinner NR, van Kerrebroeck P; International Continence Society. Good urodynamic practices: uroflowmetry, filling cystometry, and pressure-flow studies. **Neurourol Urodyn**. 2002;21 (3):261-74

Schafer W: Urethral resistance? Urodynamics concepts of physiological and pathological bladder outlet function during voiding. **Neurourol Urodyn**. 1985, 4: 161.

Schnegelsberg B, Sun TT, Cain G, Bhattacharya A, Nunn PA, Ford AP, Vizzard MA, Cockayne DA. Overexpression of NGF in mouse urothelium leads to neuronal hyperinnervation, pelvic sensitivity, and changes in urinary bladder function. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. 2010; 298: R534–R547.

Seth JH, Sahai A, Khan MS, van der Aa F, de Ridder D, Panicker JN, Dasgupta P, Fowler CJ. Nerve growth factor (NGF): a potential urinary biomarker for overactive bladder syndrome (OAB)? **BJU Int**. 2013;111 (3):372-80.

Smaldone M, Vodovotz Y, Tyagi V et al. Multiplex analysis of urinary cytokine levels in a rat model of cyclophosphamide-induced cystitis. **Urology** 2009; 7: 421–6.

Song YS, Lee HJ, Doo SW, An J, Kim SU. Enhanced angiogenesis and relaxation of bladder as early response to bladder outlet obstruction. **Int J Urol** 2013; 20:116–122.

Steers WD, Kolbeck S, Creedon D, Tuttle JB. Nerve growth factor in the urinary bladder of the adult regulates neuronal form and function. **J Clin Invest**. 1991; 88 :1709–1715.

Stewart WF, Van Rooyen JB, Cundiff GW, et al. Prevalence and burden of overactive bladder in the United States. **World J Urol** 2003; 20:327–36.

Sutherland RS, Baskin LS, Kogan BA, Cunha G. Neuroanatomical changes in the rat bladder after bladder outlet obstruction. **Br J Urol**. 1998;82(6):895-901.

Tanaka Y, Masumori N, Itoh N, Furuya S, Ogura H, Tsukamoto T. Is the short-term outcome of transurethral resection of the prostate affected by preoperative degree of bladder outlet obstruction, status of detrusor contractility or detrusor overactivity? **Int J Urol** 2006; 13:1398-1404.

Teloken C, Caraver F, Weber FA, Teloken PE, Moraes JF, Sogari PR, et al. Overactive bladder: prevalence and implications in Brazil. **Eur Urol**. 2006; 49:1087–1092.

Thomas AW, Abrams P. Lower urinary tract symptoms, benign prostatic obstruction and the overactive bladder. **BJU Int** 2000; 85Suppl 3: 57-68.

Tyagi P, Barclay D, Zamora R, et al. Urine cytokines suggest an inflammatory response in the overactive bladder: a pilot study. **Int Urol Nephrol**. 2010; 42:629-35.

Tyagi S, Thomas CA, Hayashi Y, Chancellor MB. The overactive bladder: Epidemiology and morbidity. **Urol Clin North Am**. 2006 Nov; 33(4):433-8, vii.

Wang EC, Lee JM, Ruiz WG, Balestreire EM von Bodungen M, Barrick S, Cockayne DA, Birder LA, Apodaca G. ATP and purinergic receptor-dependent membrane traffic in bladder umbrella cells. **J Clin Invest**. 2005; 115:2412–2422.

Wei JT, Calhoun EA, Jacobsen SJ. Urologic diseases in America project: benign prostatic hyperplasia. **J Urol**. 2005; 173: 1256-1261.

White F, Wilson N. Chemokines as pain mediators and modulators. **Curr Opin Anaesthesiol**. 2008; 21:580-5. Doi: 10.1097/ACO.0b013e32830eb69d.

Zimmerli L, Schiffer E, Zürbig P, Good D, Kellmann M, Mouis L. Urinary proteomic biomarkers in coronary artery disease. **Mol Cell Proteomics**. 2008; 7:290–298.

8. ANEXOS

Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1.NOME:.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº :SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO..... Nº APTO:

BAIRRO:.....CIDADE.....

CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....

2.RESPONSÁVEL LEGAL.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador, etc.).....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO:..... Nº APTO:.....

BAIRRO:.....CIDADE:.....

CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Papel dos biomarcadores inflamatórios urinários na hiperatividade detrusora em pacientes com hiperplasia prostática.

2. PESQUISADOR: Prof. Dr. Alberto Azoubel Antunes

CARGO/FUNÇÃO: Chefe INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 113877

UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de cirurgia, disciplina de urologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☐ RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO X RISCO MAIOR ☐

4.DURAÇÃO DA PESQUISA: 24 meses

1 –O senhor está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa cujo objetivo é analisar proteínas que estão na sua urina, para tentar encontrar marcadores para o seu problema que é a Hiperplasia Prostática Benigna. Com o crescimento da próstata, o fluxo urinário se altera, e ao longo dos anos, a bexiga também sofre alterações, contribuindo para aumentar os sintomas. Os principais sintomas são o aumento do número de vezes e desconforto ao urinar. Atualmente, os mecanismos que levam às alterações da bexiga não são totalmente conhecidos. Por isso, os urologistas e cientistas estudam as alterações de fluxo da urina e sua correspondência com mudanças que ocorrem no tecido da bexiga, para compreender melhor essa doença. Conhecer e dosar as proteínas produzidas na parede da bexiga e outras substâncias que comandam sua produção ou destruição é fundamental para esclarecer o processo dessa doença

2 – Caso o senhor aceite participar do estudo o senhor precisará colher um frasco de urina durante os procedimentos pré-operatório.

3 – O senhor passará por consultas, e fará todos exames pré-operatórios rotineiros, como exames sangue, e o exame urodinamico. Os exames de sangue serão coletados no período pre-operatorio e em jejum. O exame urodinamico indicado também sera realizado pois e essencial para definir e predizer a resposta ao tratamento que o Sr. sera submetido. O exame consiste na colocacao de uma pequena sonda no interior da bexiga. Essa sonda possui dois canais, um que ira medir a pressão no interior da bexiga e outro que será utilizado para realizar o enchimento da bexiga com soro fisiológico. Após encher a sua bexiga será solicitado que você urine normalmente para esvaziá-la. Alguns testes podem ser realizados durante o exame, tais como pedir para você tossir, fazer força com a barriga e mudar de posição. O exame tem duração de aproximadamente 1 hora.

4 – A coleta de sangue pode gerar um pequeno desconforto e eventualmente a formação de hematoma que regride espontaneamente nos dias seguintes a coleta do exame. O exame de urodinamica geralmente não gera dor, apenas um pequeno desconforto pela passagem da sonda uretral. Um medicamento anestésico tópico na forma de pomada é utilizado para diminuir esse incômodo;

5- O único procedimento adicional será a coleta de um frasco de urina caso o senhor aceite participar deste trabalho. Caso o senhor não queira participar, isso não acarretará nenhum prejuízo ao seu tratamento.

6 – Não há benefício direto para o participante, somente no final do estudo poderemos identificar algum benefício para os pacientes;

7 – Não há procedimentos alternativos;

8 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr Alberto Azoubel Antunes. que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Arnaldo, 455, 2º andar, sala 2145 Telefone(s) 11 2661-7183. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

9 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

10 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

11 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

12 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

13 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo” Papel dos biomarcadores inflamatórios urinários na hiperatividade detrusora em pacientes com hiperplasia prostática”.

Eu discuti com a Dr. Alberto Azoubel Antunes sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de

confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data / /

Assinatura da testemunha Data / /
para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Dr. Alberto Azoubel Antunes
Assinatura do responsável pelo estudo Data / /

Anexo 2 – Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: PAPEL DOS BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS URINÁRIOS NA HIPERATIVIDADE DETRUSORA EM PACIENTES COM HIPERPLASIA PROSTÁTICA.

Pesquisador Responsável: Alberto Azoubel Antunes

Versão: 3

Pesquisador Executante: Paulo Sajovic de Conti

CAAE: 13023413.5.0000.0068

Co-autores: Katia Ramos Leite, Miguel Srougi, Sabrina Reis, Nayara Viana

Finalidade Acadêmica: Doutorado

Instituição: HCFMUSP

Departamento: CIRURGIA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 10118

Número do Parecer: 214.307

Data da Relatoria: 06/03/2013

Apresentação do Projeto: O projeto apresentado é interessante e está fundamentado em dados científicos já publicados. O estudo será realizado no Laboratório de Investigação Médica 55 (LIM-55) e no grupo da próstata da divisão de urologia do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). Serão avaliados 60 pacientes atendidos no ambulatório de urologia do HC-FMUSP com queixa de LUTS (Lower Urinary Tract Symptoms) secundários à hiperplasia prostática benigna (HPB) e candidatos a ressecção transuretral da próstata (RTU-P). Os pacientes serão avaliados por meio de testes urodinâmicos e dosagens de biomarcadores inflamatórios urinários.

Objetivo da Pesquisa: Os objetivos da pesquisa são: avaliar a relação entre os níveis de expressão de marcadores de inflamação na urina com a presença de hiperatividade detrusora (DOA) em homens com hiperplasia prostática benigna (HPB); avaliar a relação entre os níveis de expressão de marcadores de inflamação na urina com outras variáveis clínicas e urodinâmicas em homens com HPB e avaliar a relação entre os níveis de expressão de marcadores de inflamação na urina com a evolução pós-operatória da DOA em pacientes submetidos à desobstrução cirúrgica da próstata.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: Os pesquisadores declaram que não há riscos para os pacientes e os benefícios serão avaliados apenas após a finalização do estudo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: O projeto está apresentado de maneira clara e os objetivos são justificáveis para melhor entendimento da etiologia da doença.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: O pesquisador enviou nova versão do TCLE com as modificações no texto sugeridas anteriormente.

Recomendações: Não há mais nenhuma recomendação.

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: O pesquisador realizou as mudanças solicitadas de maneira satisfatória.

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com o item IX.2 da Resolução CNS nº 196/96 – cabe ao pesquisador: **a)** desenvolver o projeto conforme delineado; **b)** elaborar e apresentar relatórios parciais e final; **c)** apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; **d)** manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; **e)** encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; **f)** justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 12 de Março de 2013

Prof. Dr. Luiz Eugênio Garcez Leme
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa-CAPPesq

Anexo 3 - Questionário do Índice Internacional de Sintomas Prostáticos (IPSS) e Qualidade de Vida (QoL) referente aos sintomas urinários.

Sintomas urinários	Nenhuma	Menos de uma vez em cinco	Menos da metade do tempo	Cerca da metade do tempo	Mais da metade do tempo	Quase sempre	
1. Durante o último mês, com que frequência você teve a sensação de não esvaziamento completo da bexiga após terminar de urinar?	0	1	2	3	4	5	
2. Durante o último mês, com que frequência você teve que urinar novamente menos de 2 horas depois de terminar de urinar?	0	1	2	3	4	5	
3. Durante o último mês, com que frequência você percebeu que parou e começou novamente, várias vezes, enquanto urinava?	0	1	2	3	4	5	
4. Durante o último mês, com que frequência você achou difícil adiar a micção?	0	1	2	3	4	5	
5. Durante o último mês, com que frequência você teve fluxo urinário fraco?	0	1	2	3	4	5	
6. Durante o último mês, com que frequência você teve que fazer força ou contrair a barriga para começar a urinar?	0	1	2	3	4	5	
	Nenhuma	Uma vez	Duas vezes	Três vezes	Quatro vezes	Cinco ou mais vezes	
7. Durante o último mês, quantas vezes você teve de se levantar para urinar desde a hora em que se deitou até a hora em que se levantou de manhã?	0	1	2	3	4	5	
Total de sintomas urinários:							
Qualidade de vida por causa dos sintomas urinários	Excelente	Agradável	Satisfatória na maior parte do tempo	Mista	Insatisfatória na maior parte do tempo	Infeliz	Péssima
8. Se você tivesse que passar o resto da vida com suas condições urinárias exatamente do modo como estão agora, como se sentiria?	1	2	3	4	5		
Total de qualidade de vida:							
TOTAL:							

Índice IPSS	Gravidade dos sintomas	Descrição dos sintomas
0–7	Leves	Pouco incômodo, fluxo urinário razoável e baixo volume residual
8–19	Moderados	Incômodo, fluxo urinário reduzido e volume residual mais alto, mas sem evidências de complicações
≥20	Graves	Complicações de obstrução