

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE**

JORGE ANTÔNIO PASTRO NORONHA

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DO RECEPTOR 2A DA
SEROTONINA (5-HT_{2A}) COM INCONTINÊNCIA URINÁRIA EM MULHERES IDOSAS**

PORTO ALEGRE

2008

JORGE ANTÔNIO PASTRO NORONHA

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DO RECEPTOR 2A DA
SEROTONINA (5-HT_{2A}) COM INCONTINÊNCIA URINÁRIA EM MULHERES IDOSAS**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Área de concentração: Clínica Médica.

Orientadora: Prof^a. Denise Cantarelli Machado, MSc, PhD
Co-Orientadora: Prof^a. Carla Helena Augustin Schwanke, MD, PhD

PORTO ALEGRE

2008

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

N852 Noronha, Jorge Antônio Pastro

Associação do polimorfismo genético do receptor 2A da serotonina (5-HT_{2A}) com incontinência urinária em mulheres idosas / Jorge Antônio Pastro Noronha. Porto Alegre: PUCRS, 2008.

84 f. : gráf. il. tab. (inclui um artigo de periódico, em apêndice)

Orientador: Prof^o. Dr^o. Denise Cantarelli Machado.

Co-Orientadora: Prof^o. Dr^o. Carla Helena A. Schwanke.

Tese(Doutorado) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde. Área de concentração: Clínica Médica.

1. RECEPTOR 5-HT_{2A} DE SEROTONINA. 2. POLIMORFISMO GENÉTICO. 3. INCONTINÊNCIA URINÁRIA. 4. URODINÂMICA. 5. IDOSO. 6. FEMININO 7. HUMANOS. 8. ESTUDOS DE CASOS E CONTRÔLES. I. Machado, Denise Cantarelli. II. Schwanke, Carla Helena A. III. Título.

C.D.D. 618.9766

C.D.U. 616.62-008.22-053.9:541.7(043.3)

N.L.M. WJ 146

Rosária Maria Lúcia Preena Geremia
Bibliotecária CRB 10/196

JORGE ANTÔNIO PASTRO NORONHA

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DO RECEPTOR 2A DA
SEROTONINA (5-HT_{2A}) COM INCONTINÊNCIA URINÁRIA EM MULHERES IDOSAS**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Área de concentração: Clínica Médica.

Porto Alegre, 24 de novembro de 2008.

Orientadora: Prof^a. Denise Cantarelli Machado, MSc, PhD

Co-Orientadora: Prof^a. Carla Helena Augustin Schwanke, MD, PhD

APROVADA PELA BANCA EXAMINADORA

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não poderia ter sido por mim concebido sem a contribuição de grande número de profissionais que, no anonimato, com entusiasmo, experiência e profissionalismo, não só me apoiaram como ajudaram e engrandeceram a pesquisa. A eles sou e serei eternamente grato.

Em especial a minha esposa Fabiane, meus filhos Aline, Luis Henrique e ao pequeno Arthur, a quem privei de minha companhia, e a todos os meus familiares que souberam compreender minha ausência e inquietude durante os anos de elaboração desta pesquisa.

Aos meus orientadores Ivana Beatrice Mânica da Cruz, MSc., PhD., Carla Helena Augustin Schwanke, PhD., Denise Cantarelli Machado, MSc, PhD., pela compreensão, apoio e dedicação incansáveis no desenvolvimento deste estudo.

Aos meus colegas do Serviço de Urologia quero também agradecer pela colaboração direta e indireta, no apoio ao meu projeto.

Aos meus auxiliares de trabalho, Sr^s Leandro e Felipe e, as Sr^{as} Neila, Priscila, Regina e Rosane do Serviço de Urodinâmica do Hospital São Lucas da PUCRS, meu muito obrigado.

Faço agradecimento especial aos bolsistas de iniciação científica, acadêmico Rafael Braga e ao biólogo Jeremia Lubianca, que realizaram a genotipagem da 5-HT2A.

Sou grato a todos os meus amigos, grandes incentivadores.

Aos pacientes que ao aceitar participar deste projeto colaboraram de forma pontual para minha formação.

Acadêmicos, colegas, e profissionais da área da saúde, espero que desfrutem dos conteúdos desta obra.

RESUMO

Introdução: estudos prévios mostraram possível associação entre o polimorfismo T102C do receptor 2A da serotonina (5-HT_{2A}) e incontinência urinária em idosos. Como a serotonina está envolvida na modulação do controle vesical-esfincteriano, tal associação é biologicamente plausível. Uma vez que a terapêutica farmacológica da incontinência urinária (IU) inclui o uso de inibidores da recaptação da serotonina, estudos complementares deste polimorfismo são de relevância clínico-científica. **Objetivos:** em mulheres idosas que vivem na comunidade: (1) descrever e comparar as freqüências alélicas e genótípicas do polimorfismo 102C do receptor 2A da serotonina (5-HT_{2A}) em idosas incontinentes e continentas; (2) descrever e comparar os parâmetros urodinâmicos nas idosas incontinentes portadoras de diferentes genótipos/alelos; (3) descrever e comparar a freqüência dos tipos de incontinência urinária urodinâmica (de esforço, de incontinência de urgência e mista) nas idosas incontinentes portadoras de diferentes genótipos/alelos; (4) descrever e comparar o impacto da IU na qualidade de vida nas idosas incontinentes portadoras de diferentes genótipos/alelos. **Metodologia:** um estudo caso-controle foi conduzido, sendo 68 mulheres idosas incontinentes (submetidas à avaliação urodinâmica) e 162 mulheres continentas (auto-relato). Os critérios de exclusão foram: uso de diuréticos, diabetes, indivíduos de outras etnias que não a caucasiana, distúrbios de mobilidade e neurológicos graves. O polimorfismo foi analisado por técnica de biologia molecular PCR-RFLP. O Comitê de Ética aprovou a pesquisa e todos os participantes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. **Resultados:** idosas incontinentes apresentaram freqüência do genótipo TT significativamente maior (TT= 34,8%, CC= 19,3%, TC= 45,9%) do que nas mulheres continentas (TT=17%, CC=23,3%, TC=59,7%) e na amostra geral da população (TT=21,5%, CC=16,6%, TC=61,9%) (p=0,001). As freqüências genéticas das três amostras estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Análise urodinâmica mostrou associação significativa entre o genótipo TT e maior pressão detrusora na capacidade cistométrica máxima, menor capacidade cistométrica máxima e complacência vesical reduzida. O genótipo TT também apresentou maior prevalência de IU de urgência (44%) do que os demais genótipos

($p=0,01$). O conjunto destes resultados sugeriu que o genótipo TT está associado a alterações de fatores fisiológicos, predisponentes a incontinência urinária. Entretanto, análises de indicadores da qualidade de vida e a IU mostraram maior impacto negativo em portadoras do alelo C (CC+TC). Esta condição pode estar associada à sugestão de predisposição de portadoras do alelo C a distúrbios emocionais. **Conclusão:** o conjunto dos resultados sugere que o polimorfismo T102C do gene do receptor 5-HT_{2A} tenha um possível efeito fisiológico no trato urinário inferior (TUI) de seres humanos. Esta hipótese precisa ser confirmada por estudos complementares. O efeito do desbalanço na quantidade deste receptor, que ocorre no genótipo TT estaria associado à maior chance de IU de urgência na mulher idosa.

Palavras-chave: Receptor 2A da Serotonina; Polimorfismo T102C do Receptor 2A da Serotonina; Receptor; Polimorfismo; Serotonina; Genética; 2-HT_{2A}; Incontinência urinária; Urodinâmica; Geriatria; Mulher idosa.

ABSTRACT

Introduction: Previous studies showed a possible association between the T102C polymorphism of the serotonin 2A receptor (5-HT_{2A}) and urinary incontinence in the elderly. Since serotonin is involved in the modulation of bladder sphincter control, such association is biologically plausible. Since the pharmacological treatment of urinary incontinence (UI) includes the use of serotonin reuptake inhibitors, complementary studies of this polymorphism are of scientific and clinical importance. **Objectives:** The aims of this study in older women living in a senior living community were: (1) to describe and compare the allelic and genotypic frequencies of the 102C polymorphism of the serotonin 2A receptor (5-HT_{2A}) in incontinent and continent individuals; (2) to describe and compare the urodynamic parameters in incontinent individuals carrying different genotypes/alleles; (3) to describe and compare the frequency of the urodynamic types of urinary incontinence (stress, urge and mixed) in incontinent individuals carrying different genotypes/alleles; and (4) to describe and compare the impact of UI on the quality of life in incontinent individuals carrying different genotypes/alleles. **Methodology:** A case-control study was conducted including 68 incontinent older women (submitted to urodynamic evaluation) and 162 continent older women (self-reporting). The criteria for exclusion were: use of diuretics, diabetes, non-Caucasian individuals, and severe mobility and neurological disturbances. The polymorphism was analyzed by the PCR-RFLP technique. The Ethics Committee approved the study, and all participants signed an informed consent form. **Results:** Incontinent older women showed a significantly greater frequency of the TT genotype (TT= 34.8%, CC= 19.3%, TC= 45.9%) compared to continent older women (TT=17%, CC=23.3%, TC=59.7%) and the general sample of the population (TT=21.5%, CC=16.6%, TC=61.9%) ($p=0.001$). The genetic frequencies of the three samples were in Hardy-Weinberg equilibrium. Urodynamic analysis showed a significant association between the TT genotype and greater detrusor pressure at maximal cystometric capacity, lower maximal cystometric capacity and reduced bladder compliance. The TT genotype also showed a higher prevalence of urge UI (44%) than did the other genotypes ($p=0.01$). Analyses of indicators of quality of life and UI demonstrated a greater negative impact in carriers of the C allele (CC+TC). **Conclusion:** Together, the results

suggest that the T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene has a physiological effect on the lower urinary tract of humans. This hypothesis needs to be confirmed by complementary studies. The effect of an imbalance in the quantity of this receptor, which occurs in the TT genotype, could be associated with a greater chance or urge UI in older women.

Key words: Serotonin 2A Receptor; Polymorphism; Genetic; Receptor; Serotonin; 5-HT_{2A}; Urinary incontinence; Urodynamics; Aged; Female.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema geral das estruturas anatômicas do trato urinário inferior em mulheres e homens.....	20
Figura 2 – Esquema geral do ciclo da micção.....	23
Figura 3 – Esquema geral dos principais centros de controle da micção.....	26
Figura 4 – Mecanismo de continência comparado aos diferentes tipos de incontinência urinária	27
Figura 5 – Síntese esquemática do papel neuromodulatório na promoção da continência urinária	33
Figura 6 – Atividade do nervo Pudendo primariamente controlado no núcleo de Onuf no segmento sacral.....	37
Figura 7 – Esquema mostrando o mecanismo gerado pela serotonina na fenda juncional sendo liberada e recaptada pelo neurônio motor liberador, após ativação do neurônio pós-juncional do rabdoesfincter originado no núcleo de Onuf no segmento sacral medular	38
Figura 8 – Equipamento de urodinâmica utilizado no estudo.....	52
Figura 9 – Visualização da variação genética (alelo) através da exposição do gel de agarose à luz ultravioleta	55
Figura 10 – Indicadores de impacto na qualidade de vida de mulheres portadoras de incontinência urinária com diferentes genótipos do polimorfismo T102C do gene do receptor 5-HT2A.....	63

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Principais tipos e causas de incontinência urinária estabelecida	28
Quadro 2 – Principais compostos ligantes e receptores do sistema nervoso central que estão envolvidos com o reflexo de micção	34
Quadro 3 – Subtipos de receptores da serotonina, localização e função.....	35
Quadro 4 – Síntese dos principais estudos caso-controle do polimorfismo T102C do gene do receptor 2A da serotonina	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo T102C do gene do receptor 5-HT2A.....	58
Tabela 2 – Avaliação da associação entre dados urodinâmicos e polimorfismo T102C do receptor 5-HT2A	61
Tabela 3 – Avaliação da associação entre informações de exame físico e dados urodinâmicos com polimorfismo T102C do receptor 5-HT2A	62

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 INCONTINÊNCIA URINÁRIA E ENVELHECIMENTO; ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	17
2.2 MORFO-FISIOLOGIA DA MICÇÃO ASSOCIADA À ETIOLOGIA E CLÍNICA DA INCONTINÊNCIA URINÁRIA	19
2.3 INCONTINÊNCIA URINÁRIA E O SISTEMA SEROTONÉRGICO	32
2.4 INCONTINÊNCIA URINÁRIA E O POLIMORFISMO T102C DO GENE RECEPTOR 2A DA SEROTONINA	43
3 OBJETIVOS	48
3.1 GERAL	48
3.2 ESPECÍFICOS	48
4 METODOLOGIA	49
4.1 DELINEAMENTO	49
4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA	49
4.3 PRINCIPAIS VARIÁVEIS INVESTIGADAS, LOGÍSTICA E INSTRUMENTOS DA PESQUISA	51
4.3.3 Diagnóstico molecular do polimorfismo T 102 C do gene 5-HT2A	52
4.3.3.1 Extração do DNA	53
4.3.3.2 Reação de amplificação do gene 5-HT2A	54
4.3.3.3 Genotipagem do polimorfismo T102C do gene 5-HTR2A pela técnica <i>Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)</i>	54
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
4.5 ASPECTOS ÉTICOS	57
5 RESULTADOS	58
6 DISCUSSÃO	64
6.1 ANÁLISE GENÉTICA: RESULTADOS E ASPECTOS METODOLÓGICOS	65
6.2 PARÂMETROS URODINÂMICOS EM IDOSAS INCONTINENTES E CONTINENTES COM DIFERENTES POLIMORFISMOS T102C DO GENE DO RECEPTOR 5-HT2A	67

6.3 IMPACTO DA INCONTINÊNCIA URINÁRIA NOS INDICADORES DE QUALIDADE DE VIDA DE IDOSAS COM DIFERENTES GENÓTIPOS DO POLIMORFISMO T102C DO GENE DO RECEPTOR 5-HT2A.....	72
7 CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS.....	75
APÊNDICE A – PROTOCOLO DE PESQUISA – JORGE ANTONIO PASTRO NORONHA.....	88
APÊNDICE B – ARTIGO DA TESE EM INGLÊS ELABORADO PARA PUBLICAÇÃO.....	91
ANEXO A – CARTA DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL (PARECER 481/06 DE 08 DE MAIO DE 2006).....	98
ANEXO B – CARTA AUTORIZAÇÃO DE UTILIZAÇÃO DO BANCO DE DADOS DA PROFESSORA CARLA HELENA AUGUSTIN SCHWANKE	100
ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	102

1 INTRODUÇÃO

Um dos fenômenos mais marcantes da atualidade é o envelhecimento da população. Nas últimas décadas tem-se observado crescente aumento da parcela de idosos em relação à população geral, tanto em proporção como em número absoluto.¹

O envelhecimento populacional tem sido verificado não apenas em países industrializados. No Brasil, isto também tem ocorrido graças à redução da mortalidade e da natalidade infantil, e ao aumento na expectativa de vida. Adicionalmente, programas de conscientização e de planejamento familiar associados à melhoria das condições de saneamento básico e de avanços técnico-científicos na área da saúde têm favorecido o aumento da esperança de vida da população e, portanto, o aumento do número de idosos.²

Muitos idosos apresentam problemas mentais e, ou, físicos que implicam em limitações funcionais. Muitos dessas requerem atenção especial da família ou de enfermagem especializada. Grande parte desses problemas é de caráter urológico, como, por exemplo, a incontinência, retenção e as infecções urinárias.³

A incontinência urinária é considerada o sintoma que mais compromete a qualidade de vida dos idosos, trazendo severo impacto emocional para o paciente e para a família, além de grande desgaste financeiro.⁴ Essa condição traz como conseqüência: dermatites, quedas e fraturas, infecções, depressão, ansiedade, isolamento social e severa redução na atividade física e produtividade.⁵

A Sociedade Internacional de Continência (ICS) definia incontinência urinária como a perda involuntária de qualquer quantidade de urina capaz de representar um problema social e, ou, higiênico.⁶ Recente publicação do subcomitê de terminologia e normatização das funções do trato urinário inferior da ICS apresenta as novas definições e modificações das antigas denominações das disfunções do trato urinário inferior, redefinindo sinais, sintomas, observações e estudos urodinâmicos para serem empregados em todos as faixas etárias, desde crianças até idosos.⁷ Sendo assim, incontinência urinária passa a ser considerada “qualquer perda involuntária de urina.”⁸

De maneira resumida, o processo miccional é composto por duas fases: armazenamento e eliminação da urina, e depende da integridade das estruturas anatômicas do trato urinário inferior e suas conexões com os sistemas nervosos autônomo periférico e central.⁹

O envelhecimento normal imprime modificações estruturais e funcionais no trato urinário inferior em ambos os sexos, fato verificado tanto em indivíduos normais como em indivíduos incontinentes.¹⁰

Várias estruturas anatômicas encontram-se envolvidas no ciclo miccional normal. Vários neurotransmissores e neuroreceptores exercem ações de controle das funções do TUI. Estudos funcionais têm mostrado que os agonistas serotoninérgicos, geralmente, suprimem a atividade parassimpática e aumentam a atividade somática e simpática, enquanto os antagonistas exercem papel contrário. Parte desta ação parece ser decorrente da modulação central de vias aferentes vesicais, podendo tornar-se, particularmente, mais aparente quando a bexiga é irritada por instilação com ácido acético, que determina supressão da atividade aferente primária da serotonina.^{9,11}

Vários subtipos de receptores da serotonina foram identificados nos três centros medulares miccionais (5HT-1A, 5HT-2 e 5HT-3). Assim, a serotonina vem ganhando interesse clínico pelo seu efeito potencializador nos mecanismos pró-continência.^{9,11}

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INCONTINÊNCIA URINÁRIA E ENVELHECIMENTO; ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A incontinência urinária (IU) é condição prevalente entre idosos com efeitos negativos não apenas no que tange à saúde. A principal consequência da IU é o comprometimento da qualidade de vida incluindo a saúde sexual. Isto porque a incontinência urinária está associada à redução da libido e do trofismo vaginal e dispareunia. Muitas mulheres com incontinência relatam perda de urina durante o intercurso, o que causa embaraço, constrangimento e problemas no relacionamento.¹²

Uma revisão recente feita por Rogers e cols.¹³ publicada no *The New England Journal of Medicine* comenta que: aproximadamente 25% das mulheres pré-menopáusicas e 40% das pós-menopáusicas relatam perda de urina. Nem todas consideravam esta condição como problema. Entretanto, 10% das mulheres pré-menopáusicas relatam episódios diários de IU, sendo que em um terço delas, eles ocorrem semanalmente.

Apesar do impacto da incontinência na vida da mulher, pouco mais da metade delas considera a IU um problema que justifique a busca pelo auxílio médico. Além do mais, muitas vezes, quando a mulher busca auxílio, alguns profissionais podem não estar suficientemente preparado para realizar o diagnóstico correto e oferecer terapêutica adequada.¹²

Um dos aspectos epidemiológicos importantes é o aumento da prevalência da IU proporcionalmente à idade. O envelhecimento biológico é caracterizado por acúmulo de disfunções morfofisiológicas que afetam também o sistema genitourinário. Estas modificações podem originar graus variados de disfunção miccional nesta faixa etária incluindo IU.¹⁰

Embora a IU traga graves repercussões e comprometimentos na vida diária de indivíduos idosos, o adequado diagnóstico desta condição, invariavelmente,

melhora o sintoma e, freqüentemente, restabelece a continência em grande número destes indivíduos.¹⁰ Como a IU do idoso está associada às modificações biogerontológicas, seu manejo difere daquele empregado em pacientes de faixas etárias mais jovens.^{10,14}

Os sintomas do TUI na população idosa são agravados pela presença de múltiplas morbidades comuns, especialmente as doenças não transmissíveis, geralmente associadas à polifarmácia. Deste modo, a IU em indivíduos idosos quase sempre é multifatorial, os quais não estão relacionados diretamente com patologias do sistema genitourinário. Adicionalmente, sua abordagem terapêutica deve basear-se na análise sistêmica das condições clínica e biológica do idoso. Para tanto, clínicos, urologistas e ginecologistas devem estabelecer padrões primários de amplo espectro sempre que tratarem idosos, considerando todos os fatores capazes de afetar a continência.¹⁰

A relevância do tratamento da IU no idoso não se resume apenas aos aspectos clínicos, afeta também o relacionamento social e representa o principal fator no processo de decisão da institucionalização do idoso pela família.¹⁰ Em termos epidemiológicos, a IU nos idosos tem prevalência estimada em 30% dos idosos que vivem em comunidade e de 50% daqueles que vivem em instituições.¹⁵ A sua incidência é de 10% em idosos do gênero masculino e de 20% em idosos do gênero feminino.^{10,15.}

Um estudo prévio realizado em 206 idosos atendidos no ambulatório do Serviço de Geriatria do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul observou uma prevalência de 35% de incontinência. No grupo dos afetados, 82% eram do gênero feminino que apresentavam associação entre esta morbidade e severo impacto psico-social.⁵

DuBeau¹⁶, no seu trabalho “*Clinical presentation and diagnosis of urinary incontinence*” publicado em 2008, comenta que muitos pacientes relutam em discutir sobre sua incontinência, mas, que esta questão deve ser averiguada clinicamente, principalmente, em mulheres que tiveram filhos, pacientes com morbidades como diabetes e doenças neurológicas e todos os indivíduos com idade igual ou acima de 65 anos. Assim, a investigação relacionada à IU deve, portanto, incorporar avaliação da qualidade da saúde. Para tanto, a autora sugere que as seguintes questões sejam

investigadas: (1) você perde urina sem querer? (2) você perde urina quando você ri ou faz exercício? (3) você perde urina quando está indo para o banheiro? (4) você usa algum tipo de proteção (pano, papel, absorvente) para se proteger da perda de urina? A perda de urina também pode apresentar uma variedade de sintomas específicos que não necessariamente implicam em diagnósticos específicos.

Deste modo, o conjunto dos resultados obtidos até o presente momento indica que investigações relacionadas com a prospecção de fatores de riscos adicionais à disfunção miccional são de grande relevância na clínica médica, como as variáveis biomédicas, ambientais, e genéticas.

2.2 MORFO-FISIOLOGIA DA MICÇÃO ASSOCIADA À ETIOLOGIA E CLÍNICA DA INCONTINÊNCIA URINÁRIA

Em termos fisiológicos o TUI, representado pela bexiga e pelo complexo vesico-uretral tem por função armazenar e esvaziar todo o conteúdo de urina produzido pelos rins, em intervalos de tempos adequados, de forma fácil, indolor, em local socialmente aceito, sem que se perceba escape líquido nos intervalos ou a permanência de resíduo urinário na bexiga no final do ato. Para que isto ocorra é necessário que exista integridade da complexa inervação central e periférica (neuro-hormonal), e adequada coordenação autônoma e voluntária (neuro-muscular e cognitiva), assim como das estruturas efectoras do TUI,⁹ que se encontram esquematizadas na Figura 1.

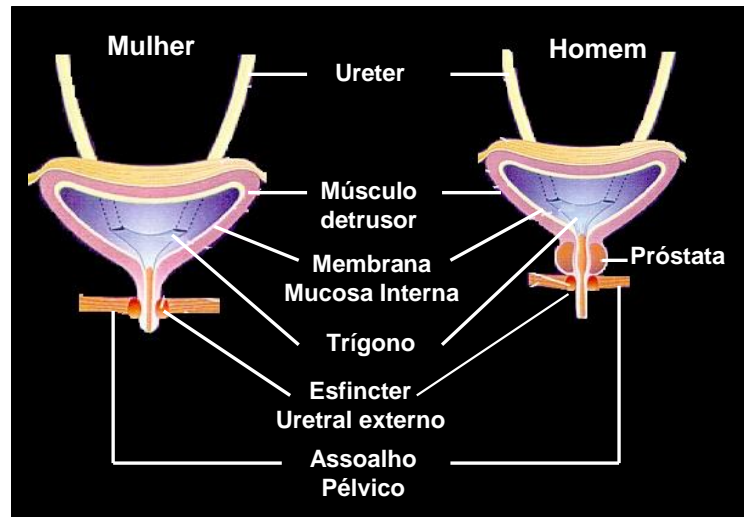


Figura 1 – Esquema geral das estruturas anatômicas do trato urinário inferior em mulheres e homens.¹⁷

Apesar de a micção ser um ato reflexo medular simples, a mesma está submetida ao controle nervoso central e periférico. A seqüência de eventos deste processo pode ser resumida como se segue.

O enchimento vesical causa o estiramento muscular que, excita os receptores proprioceptivos localizados no interior do detrusor, que por sua vez gera impulsos aferentes de baixa freqüência que atingem o centro medular da micção localizado na região sacral.¹⁸

O processo de produção e de armazenamento temporário de urina na bexiga representa um dos maiores desafios fisiológicos. Isto porque, o volume contínuo de urina excretado pelos rins não é eliminado com a mesma velocidade com que é produzido. Basicamente, esta coordenação só é possível graças a dois eventos simultâneos no ciclo miccional: 1) relaxamento do detrusor que permite acomodação do aumento progressivo do volume de urina na bexiga, sem elevação da pressão intravesical, e 2) a contração do colo vesical, da uretra e do andar pélvico que promove a necessária resistência uretral que previne a IU involuntária.^{9,18}

Durante a fase enchimento vesical, graças à integridade e às conexões neuro-urológicas, muito do que acontece, diariamente, no sistema urinário não é percebido, até o momento em que ocorre a sensação do primeiro desejo, sem que isto implique no início automático de micção. Habitualmente, baseado em princípios

sociais regidos pelos costumes culturais, o intervalo aguardado entre o primeiro desejo e o início do esvaziamento vesical, em indivíduos habilitados, depende do tempo gasto para o acesso ao toalete. A partir deste momento, a uretra e o andar pélvico se relaxam e o detrusor se contrai para eliminar a urina. Em situações peculiares, na presença de qualquer tipo de impedimento para urinar, o detrusor permanecerá relaxado e a uretra contraída garantindo a continência por intervalo de tempo mais prolongado, até que ocorra oportunidade ou condições para tal.¹⁸

Esta automação, usualmente envolve o sistema nervoso central (SNC) e parte do sistema periférico autônomo. Seguindo este raciocínio, a sensação do primeiro desejo durante o enchimento vesical, aparentemente, envolve um significativo número de processos cognitivos acompanhados de vontade e guiados pelo comportamento. Isto tipicamente envolve o SNC no processo de informação e a musculatura esquelética estriada para exercer a resultante da atividade proposta (como deslocamento ao toalete e concomitante redução da resistência uretral).¹⁸

A parede da bexiga urinária é composta por unidades funcionais e fascículos de músculo liso detrusor com propriedades visco-elásticas e habilidade para se contrair e se relaxar em intervalos de tempo variados (variando as relações de tamanho e tensão em suas fibras). Esta atividade é regulada por nervos externos, múltiplos receptores e seus neurotransmissores/moduladores, e de vias sinalizadoras especializadas no controle aferente e eferente do TUI.^{9,19}

Outro aspecto relevante é o de que o tecido muscular liso, independentemente da função e do sistema envolvido, possui propriedades comuns. Outrossim, a musculatura lisa da parede vesical apresenta grande variabilidade não somente na sua ultra-estrutura, mas, também em suas propriedades regulatórias, contratilidade e eletrofisiologia, além da sensibilidade a drogas e aos neurotransmissores. Conhecimentos adquiridos sobre estrutura e funcionalidade deste tecido são de utilidade na abordagem terapêutica das disfunções do trato urinário inferior. Ao contrário, muito dos conceitos atuais baseiam-se em experimentação animal, trazendo certas restrições quando extrapoladas para humanos, como por exemplo, a variação de volume entre espécies (capacidade vesical: camundongos, $\approx 0,15$ mL, rato ≈ 1 mL, humanos ≈ 500 mL).¹⁹

Sendo a bexiga um órgão esférico, com o estiramento muscular uniformemente distribuído em toda sua parede, de forma isotrópica homogênea (relação não linear entre estiramento e tensão passiva) permite que o enchimento vesical ocorra à baixa pressão, o que implica que a bexiga se relaxe durante esta fase. Distúrbios da função de armazenamento podem resultar em sintomas irritativos do trato urinário inferior (LUTS), tais como urgência, freqüência e incontinência de urgência – encontrados na síndrome da bexiga hiperativa. A síndrome da bexiga hiperativa, que pode ser devida a contrações detrusoras involuntárias durante a fase de enchimento vesical, é freqüente e pouco relatada, sua real prevalência é motivo de constantes investigações.^{9,19}

Por outro lado, o esvaziamento vesical requer contração coordenada da bexiga e relaxamento simultâneo da uretra. Distúrbios da função miccional podem levar a sintomas como hesitação, jato urinário fraco, sensação de esvaziamento incompleto, gotejamento pós-miccional. Os LUTS aumentam marcadamente com a idade, tanto em homens como em mulheres, sendo responsáveis por desagradável e desconfortável comprometimento da qualidade de vida entre idosos. Particularmente, devido ao aumento de conhecimento dos LUTS e a falta de tratamento efetivo desta desordem, o interesse e constantes pesquisas sobre fisiologia e patologias do TUI têm aumentado nas últimas décadas.^{9,19}

Disfunções do TUI podem ocorrer como consequência de alterações morfológicas e funcionais dos órgãos e das estruturas que o compõe. Da mesma forma, vários fatores podem interferir no controle nervoso central e periférico do ciclo miccional. Em particular podemos citar os receptores e neurotransmissores envolvidos no processo miccional, na fisiologia da contração e do relaxamento da musculatura lisa da bexiga, bem como da musculatura lisa e esquelética da uretra. Estes aspectos são relevantes na compreensão dos principais mecanismos envolvidos nos processos fisiopatológicos da função vesical que ocorrem com o envelhecimento, com a obstrução infravesical, com a hipertrofia e com a hiperatividade detrusora.⁹

Assim, o que antes parecia tratar-se de simples função de um segmento de músculo liso (vesical) é, realmente, um processo fisiológico, altamente especializado, controlado pelo SNC, bem como pelos sistemas nervosos autônomo e somático.⁹

O segmento uretro-vesical do TUI é coordenado na formação reticular da Ponte que, simultaneamente, diminui a resistência uretral em resposta à contração vesical; mecanismo inverso é verificado durante a diástole detrusora. A manutenção destas ações é feita pela relação dos sistemas neuro-humoral-muscular representado pelos esfíncteres interno (músculo liso – colo vesical) e pelo esfíncter estriado uretral distal que permite o adequado armazenamento de urina e sua eliminação voluntária. Estas informações são importantes uma vez que estão diretamente relacionadas com a micção e com a continência.^{9,11,18,20} A Figura 2 esboça a seqüência ordenada do ciclo miccional.

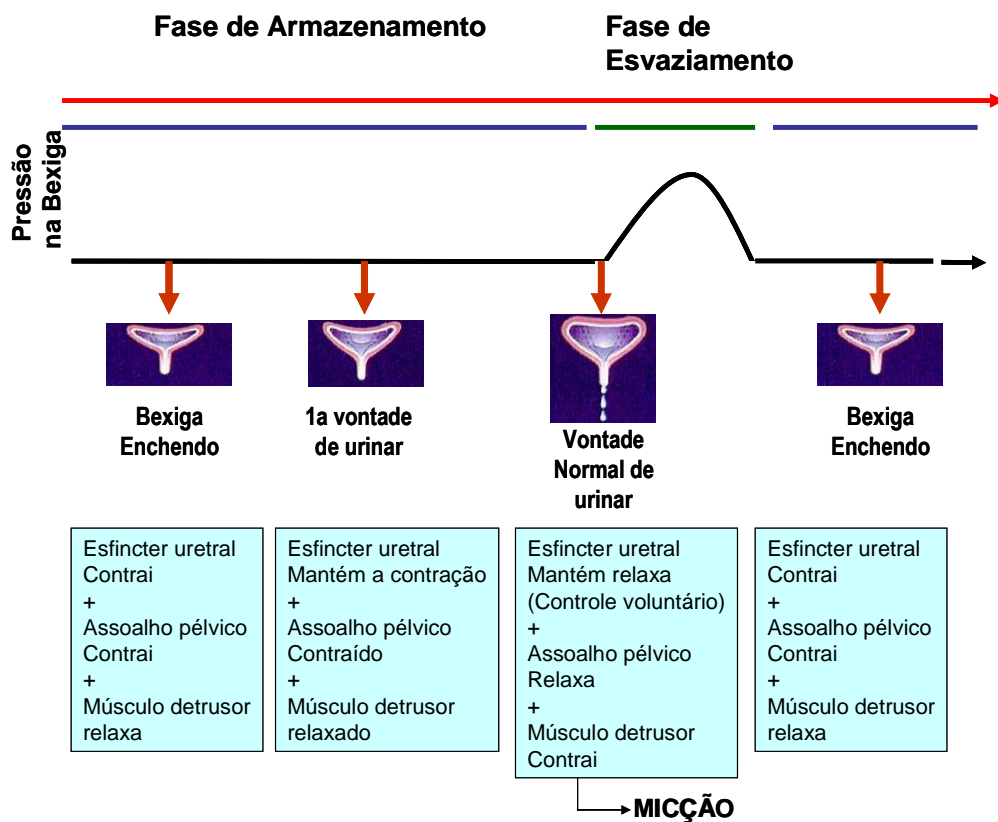


Figura 2 – Esquema geral do ciclo da micção.¹⁷

A complacência vesical é a propriedade mais freqüentemente comprometida nas disfunções de armazenamento do TUI; relaciona-se, diretamente, com a capacidade de acomodação do detrusor, definida como o volume necessário para elevar a pressão detrusora de 1 cmH₂O. Assim, a complacência vesical (C)

correlaciona o aumento de volume (V) relativo à correspondente mudança na pressão intravesical (P): $C = \Delta V / \Delta P$.⁹

O neurotransmissor responsável por este controle é a noradrenalina liberada por descarga tóraco-lombar simpática do nervo hipogástrico, que por sua vez irá estimular os receptores adrenérgicos, subtipo β_3 das células do corpo vesical em humanos, reduzindo o seu tônus.¹⁸

Apesar da existência de outros subtipos de receptores adrenérgicos na bexiga de humanos e de outras espécies, a expressão desses não é totalmente esclarecida, tendo maior significado em estados patológicos.¹⁸

Outro mecanismo de controle dinâmico da continência urinária (enchimento vesical) é a contração do colo vesical, da uretra e do andar pélvico, que aumenta a resistência uretral gerando gradiente de pressão positivo entre a bexiga e a uretra. Primariamente, o aumento do tônus na uretra proximal se deve à liberação de noradrenalina nos receptores adrenérgicos, subtipo α_1A dos neurônios simpáticos oriundos do plexo hipogástrico (tóraco-lombar, segmento T10 – L1).^{9,18}

Aliados à função da uretra proximal, o esfíncter externo e a musculatura do andar pélvico recebem estímulos somáticos dos nervos pudendos e dos nervos sacrais (medula sacral, segmentos S2, S3 e S4), respectivamente. O aumento da atividade nestas estruturas esqueléticas deve-se à liberação de acetilcolina nos receptores nicotínicos dos neurônios parassimpáticos aí localizados. Estas estruturas são, particularmente, importantes no processo de manutenção da continência durante manobras de *stress*. Do mesmo modo que o aumento da distensão vesical é acompanhado de aumento da frequência dos estímulos aferentes e correspondente aumento do tônus da musculatura uretral e perineal, a súbita elevação de pressão abdominal é acompanhada da simultânea elevação correspondente de resistência uretral (reflexo guardião) evitando que ocorra escape de urina.^{9,18}

Em indivíduos normais, antes que o reflexo miccional seja finalizado com a resposta motora detrusora, sinais aferentes são conduzidos até o tronco e ao córtex cerebral, onde serão analisadas. A partir de então, o ato miccional ocorrerá ou será inibido através do controle do reflexo medular sacral (núcleo de Onuf). Existindo

integridade das estruturas neuronais, musculares e de suas conexões e, se o momento e o local forem socialmente apropriados, o centro pontino (formação reticular) libera o reflexo miccional de forma coordenada, permitindo que ocorra contração detrusora sustentada e de intensidade suficiente para eliminar todo o volume de urina armazenada. Adicionalmente a resistência uretral é diminuída simultaneamente com o relaxamento dos esfíncteres interno e externo.¹⁸

Nas fases iniciais da micção, quando o nervo pélvico (medula sacral S2, S3 e S4) é estimulado, ocorre liberação de acetilcolina que, por sua vez, estimula os neurônios pós-juncionais dos receptores muscarínicos, subtipo M3, aumentando a pressão intravesical durante a micção. Existem fortes indícios de que a acetilcolina e outros neurotransmissores de origem não neuronal são, igualmente, liberados em resposta à distensão da parede vesical, preferencialmente, a partir do urotélio. A contração gerada pela ação conjunta destas moléculas pode ser mais facilmente percebida durante a fase de armazenamento e, predominantemente, em bexigas doentes. Adicionalmente, o relaxamento da musculatura lisa uretral durante a micção é mediada pela ativação das vias parassimpáticas, sendo a acetilcolina liberada junto à musculatura do colo vesical e uretra com o objetivo de liberar óxido nítrico, que exerce a função de neurotransmissor inibitório promotor da redução de estímulos excitatórios para a uretra. Desta maneira, o processo da elevação da pressão intravesical é acompanhado de redução da resistência nestes tecidos, imediatamente, antes e durante a micção.^{9,18}

Assim, a inter-relação neuro-muscular permite que o TUI exerça suas funções plenas, evitando a incontinência urinária e preservando a função do trato urinário superior.^{9,11,18,21}

Em outras palavras, mesmo que modulada pelo sistema nervoso autônomo, a micção é um ato reflexo medular controlado voluntariamente. A Figura 3 apresenta um esquema geral dos centros nervosos de controle da micção.

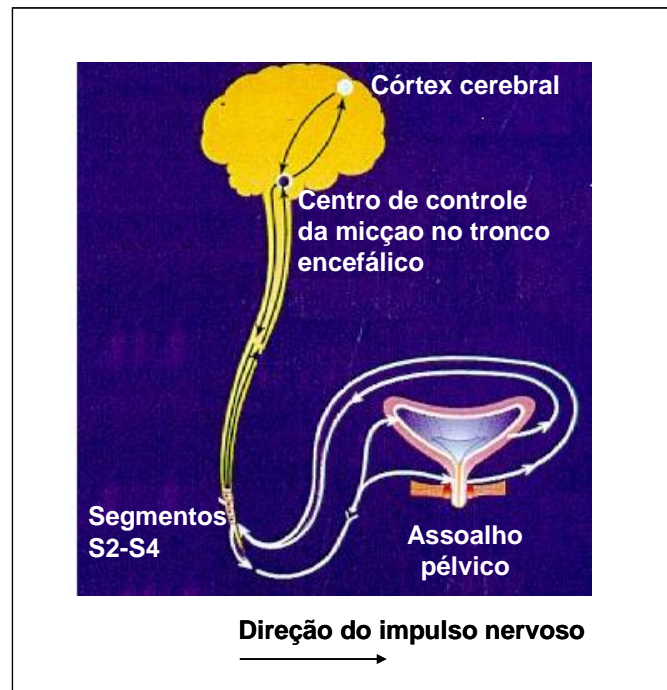


Figura 3 – Esquema geral dos principais centros de controle da micção.¹⁷

O processo completo de retenção e liberação da urina (micção) pela bexiga é bastante complexo. Portanto, a capacidade de controlar a micção pode ser comprometida em diferentes etapas por conta de várias anormalidades. O resultado dessas anormalidades é a IU (perda de controle). Por este motivo, existem diversos tipos de incontinência urinária cuja prevalência varia de acordo com o subgrupo populacional. Do ponto de vista clínico a IU pode ser classificada em transitória e estabelecida.^{6,10,12}

A IU transitória, ou reversível, caracteriza-se usualmente por condições clínicas agudas ou pelo uso de medicamentos. Tende à resolução uma vez removida a causa ou as causas, como por exemplo: uretrite, *delirium*, vaginite atrófica, infecção urinária, restrição de mobilidade, aumento do débito urinário, medicamentos, impactação fecal e distúrbios psíquicos.^{6,10,12,15,20}

Um recente estudo realizado na Suécia mostrou forte associação entre IU e bacteriúria assintomática em mulheres muito idosas (≥ 80 anos).²² Muitos medicamentos também podem apresentar efeitos colaterais que afetam a capacidade funcional da bexiga ou uretra. Estes incluem diuréticos e até mesmo medicamentos que aparentemente não incidiriam sobre a fisiologia do trato urinário.

Por exemplo, um estudo de caso, recentemente publicado por Hergüner²³, sugere que a risperidona, medicamento antipsicótico, pode induzir a IU e causar problemas severos aos pacientes.

A IU estabelecida não se relaciona exclusivamente com problemas agudos e pode persistir ao longo do tempo. É habitualmente relacionada com problemas do TUI.^{6,10,12,15,16} Na Figura 4 podemos comparar os diferentes mecanismos de continência e os diferentes tipos de incontinência urinária. O Quadro 1 traz uma síntese dos principais tipos e causas da IU, com a respectiva descrição e causas.⁶

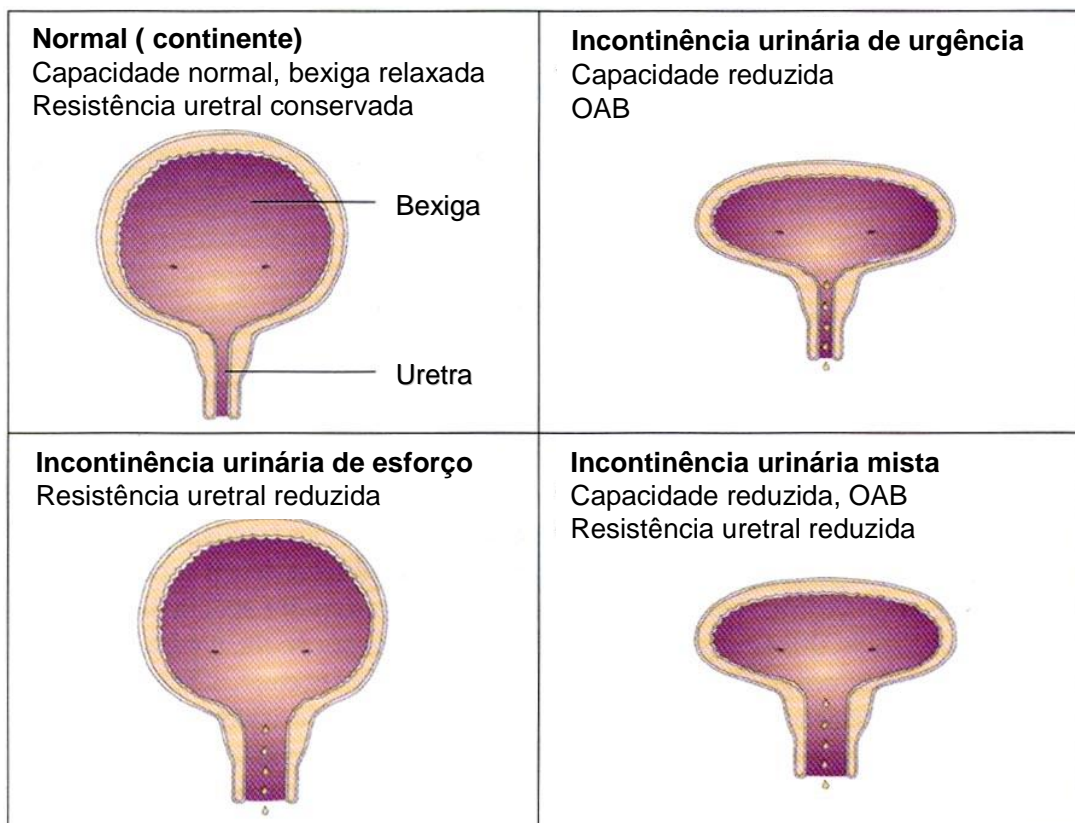


Figura 4 – Mecanismo de continência comparado aos diferentes tipos de incontinência urinária.²⁴

Tipo	Descrição	Algumas Causas Possíveis
Incontinência de urgência	Incapacidade de retardar o desejo miccional; é a mais comum nos idosos. Urgência= desejo súbito de urinar	<ul style="list-style-type: none"> • Bexiga hiperativa • Obstrução do fluxo urinário • Cálculos e tumores na bexiga • Medicamentos, especialmente os diuréticos
Incontinência por esforço	Escape de urina definido pela perda involuntária de urina durante o aumento da pressão abdominal (tosse, riso, exercícios físicos, espirro ou levantar um objeto pesado).	<ul style="list-style-type: none"> • Fraqueza do esfíncter urinário (o músculo que controla o fluxo urinário da bexiga) • Nas mulheres, diminuição da resistência ao fluxo urinário através da uretra; comumente causada pela deficiência de estrogênio • Alterações anatômicas causadas por múltiplos partos ou por uma cirurgia pélvica • Nos homens, remoção da próstata ou uma lesão da parte superior da uretra ou do colo da bexiga
Incontinência por transbordamento	Acúmulo de urina na bexiga que se torna muito grande para que o esfíncter urinário consiga reter, e, conseqüentemente, a urina escapa intermitentemente, freqüentemente sem sensação da bexiga.	<ul style="list-style-type: none"> • Obstrução do fluxo urinário, usualmente causada pelo aumento benigno ou pelo câncer de próstata nos homens e pela estenose uretral (defeito congênito) nas crianças • Musculatura da bexiga enfraquecida • Disfunção nervosa • Medicamentos
Incontinência funcional	Perda de urina sem comprometimento dos mecanismos de continência por incapacidade funcional, física, psicológica, cognitiva e ambiental	<ul style="list-style-type: none"> • Distúrbios emocionais (p.ex., depressão) • Regressão • Distúrbios de mobilidade • Hostilidade e falta de assistência
Incontinência mista	Combinação de incontinência de esforço e de urgência. Acomete 30% dos idosos. A avaliação urodinâmica mostra hiperatividade detrusora e incontinência de esforço.	<ul style="list-style-type: none"> • Combinação das causas acima

Quadro 1 – Principais tipos e causas de incontinência urinária estabelecida.⁶

Em resumo, a incontinência urinária pode ser decorrente de alterações cerebrais, alterações vesicais ou uretrais, ou problemas relacionados às fibras nervosas que inervam a bexiga. Estas são muito prevalentes em mulheres e idosos. Independentemente do sexo, o envelhecimento determina características peculiares ao comportamento do trato urinário inferior:

- a) redução da capacidade da bexiga;
- b) aumento do resíduo pós-miccional;
- c) presença de contrações involuntárias da bexiga (2/3 dos idosos);
- d) impossibilidade de retardar o desejo miccional.

Adicionalmente, dois fatores externos mais importantes ao trato urinário, implicados na precipitação da IU em idosos, são a redução da mobilidade e do nível de consciência.^{10,15}

Em qualquer idade, a continência não depende apenas da integridade do trato urinário inferior^{10,12,15} e dos mecanismos fisiológicos envolvidos no armazenamento e na eliminação da urina. O envelhecimento normal do aparelho urinário quando acompanhado de comprometimento da capacidade cognitiva, da mobilidade, da destreza manual e da motivação aumenta a predisposição à incontinência urinária nestes indivíduos.⁵

A grande maioria dos idosos é continente. Entretanto, fatores como fármacos e algumas doenças podem comprometer o delicado equilíbrio funcional normal do trato urinário inferior. Aproximadamente em 1/3 dos casos a IU geriátrica apresenta-se com mais de uma causa.^{10,15}

O estudo urodinâmico permite análise funcional do trato urinário inferior e interpretação fisiopatológica dos sinais e sintomas. Da mesma maneira, a urodinâmica, além de representar ferramenta propedêutica que permite avaliar as deficiências de armazenamento vesical e de outras disfunções miccionais, também oportuniza a adequada seleção de tratamento para os pacientes.¹⁰ A adequada investigação da IU deve basear-se primariamente na história clínica. A urodinâmica como ciência aplicável à clínica, é relativamente recente. Avanços tecnológicos têm

ampliado sua utilização na investigação de estados fisiopatológicos da função vesical, da uretra e do andar pélvico.¹⁶

Embora seu preciso papel em idosos não esteja bem estabelecido, a avaliação urodinâmica, de maneira geral, deve ser empregada sempre que o diagnóstico incerto acarretar prejuízos aos resultados terapêuticos e, igualmente, quando o tratamento empírico falhar e for necessário outro tipo de abordagem.²⁵ Adicionalmente, mesmo para idosos comprometidos a urodinâmica é reprodutível e segura.¹⁰

A indicação da investigação urodinâmica complementar, diagnóstica, tem sido discutida para pacientes do sexo feminino com história clássica de IU de esforço, e para idosos com boa resposta ao tratamento conservador inicial da incontinência urinária. Apesar de ser um método invasivo é considerado de eleição na investigação das disfunções do trato urinário inferior.²⁶

Vários autores consideram inadequada a tentativa de fazer diagnóstico de incontinência urinária com base, unicamente, nos sintomas clínicos, visto que os sintomas do trato urinário inferior (LUTS), geralmente, não são específicos. Aproximadamente 20% dos diagnósticos de LUTS são incorretos quando baseados apenas nos sintomas clínicos. A urodinâmica é importante para o diagnóstico definitivo das disfunções miccionais antes de ser implementado qualquer tipo de terapêutica, e indispensável naquelas com implicações cirúrgicas.²⁶ Portanto, a investigação computadorizada não deveria ser utilizada isoladamente, mas, sim, como parte do armamentário diagnóstico no contexto da história clínica, análise da quantificação dos prejuízos e do comprometimento da qualidade de vida, diário miccional e exame físico.²⁷ Adicionalmente, outra indicação do método é a sua utilização em pesquisa clínica.

De acordo com Homma²⁸, da Universidade de Tóquio, a investigação urodinâmica não preenche todos os critérios para ser considerada “*gold standard*”, entretanto, concorda que ela contribui para a detalhada análise clínica e melhor compreensão da fisiopatologia da incontinência. No presente, o emprego desta metodologia não está bem definido, ainda; por ser método invasivo, na prática clínica deve ser considerado o benefício, o custo e a viabilidade. Estudos bem

conduzidos, prospectivos e randomizados são essenciais para determinação objetiva de evidências que justifiquem o emprego deste tipo de exame.²⁹

Como visto anteriormente, a característica mais comum do envelhecimento são as multipatologias ou plurimorbidades que deprimem a qualidade de vida entre os idosos.³⁰ Esta situação é agravada em países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil. Neste contexto, como a sociedade brasileira apresenta várias limitações no campo sócio-cultural-econômico, o impacto do aumento do número de indivíduos portadores destas doenças pode ser avassalador.

O controle epidemiológico da maioria das doenças não transmissíveis é somente possível através da prevenção de fatores de risco associados e do diagnóstico precoce, uma vez que tais fatores podem ser manejados, evitando, assim, a instalação e a progressão da doença. Esta prática vem sendo cada vez mais incorporada à rotina médica através da Medicina Preventiva. Contudo, à medida que o tempo de vida avança, o potencial benéfico de muitas intervenções preventivo-terapêuticas diminui.³¹ Neste sentido, quanto mais precocemente se incidir sobre os fatores de risco, menor será a probabilidade de instalação, de manifestação e de evolução de estados patológicos. Adicionalmente, os esforços da prevenção devem ser voltados para o aumento do tempo de vida saudável, e não apenas ao prolongamento da vida com uma saúde precária (qualidade e não quantidade de vida). Esta concepção é ainda mais forte na geriatria, isso porque a prevenção das disfunções e declínios que também podem afetar a vida do idoso é tão ou mais importante que apenas a prevenção das doenças.³¹

Assim, diagnosticar e tratar a IU, principalmente em mulheres idosas, tem uma repercussão sistêmica sobre a saúde e sobre a qualidade de vida. Isto porque a perda da continência urinária pode afetar até 50% das mulheres em alguma fase de suas vidas, e a vida social das mesmas passa a depender da disponibilidade de toaletes.³² Os dois maiores problemas sociais relacionados à IU é o embaraço e o odor de urina. Outra condição relacionada à incontinência é o seu impacto no intercuro sexual, pois as mulheres incontinentes muitas vezes têm medo de perder urina ou de ter que interromper o ato sexual para urinar. Outros estudos também sugerem que a incontinência afeta a qualidade do sono.³³ Por tal motivo, estão

sendo desenvolvidos instrumentos para avaliar esta IU e qualidade de vida em nível mundial e alguns já são validados no Brasil.³⁴

Apesar deste panorama clínico-epidemiológico, pode-se dizer que os estudos sobre IU, até o presente realizados, ainda não elucidaram todos os aspectos etiológicos dos diversos tipos de IU, existindo forte necessidade de investigações mais aprofundadas sobre: (1) os processos bioquímico-moleculares associados a morfo-fisiologia da IU; (2) aumento no número de estudos epidemiológicos, principalmente, em países em desenvolvimento como é o caso do Brasil; (3) investigações sobre métodos diagnósticos e terapêuticos com abordagem de ponta como o caso da regeneração tecidual com células tronco.

Por exemplo, depressão e IU podem estar associadas como demonstrado pelo estudo realizado por Zorn et al.³⁵ No estudo foram incluídas 115 mulheres com diagnóstico de depressão e 80 controles. No caso, 30% das mulheres com depressão apresentavam IU idiopática enquanto no grupo controle esta prevalência foi significativamente mais baixa (17%). Os autores sugeriram que esta forte associação entre depressão e IU de origem idiopática poderia estar relacionada com a modulação do sistema serotoninérgico. Estes achados justificam a eficiência do tratamento da incontinência de urgência empregando compostos serotoninérgicos.

Para tanto, múltiplos aspectos precisam ser focados de modo mais específico como é o **caso da modulação da continência urinária pelo sistema serotoninérgico** e alterações que podem levar aos estados patológicos de incontinência.

2.3 INCONTINÊNCIA URINÁRIA E O SISTEMA SEROTONÉRGICO

O processo de micção é complexo e envolve ciclo contínuo (Figura 5) comandado por circuito nervoso que possui receptores e ligantes relacionados ao reflexo de micção (Quadro 2) incluindo a serotonina.

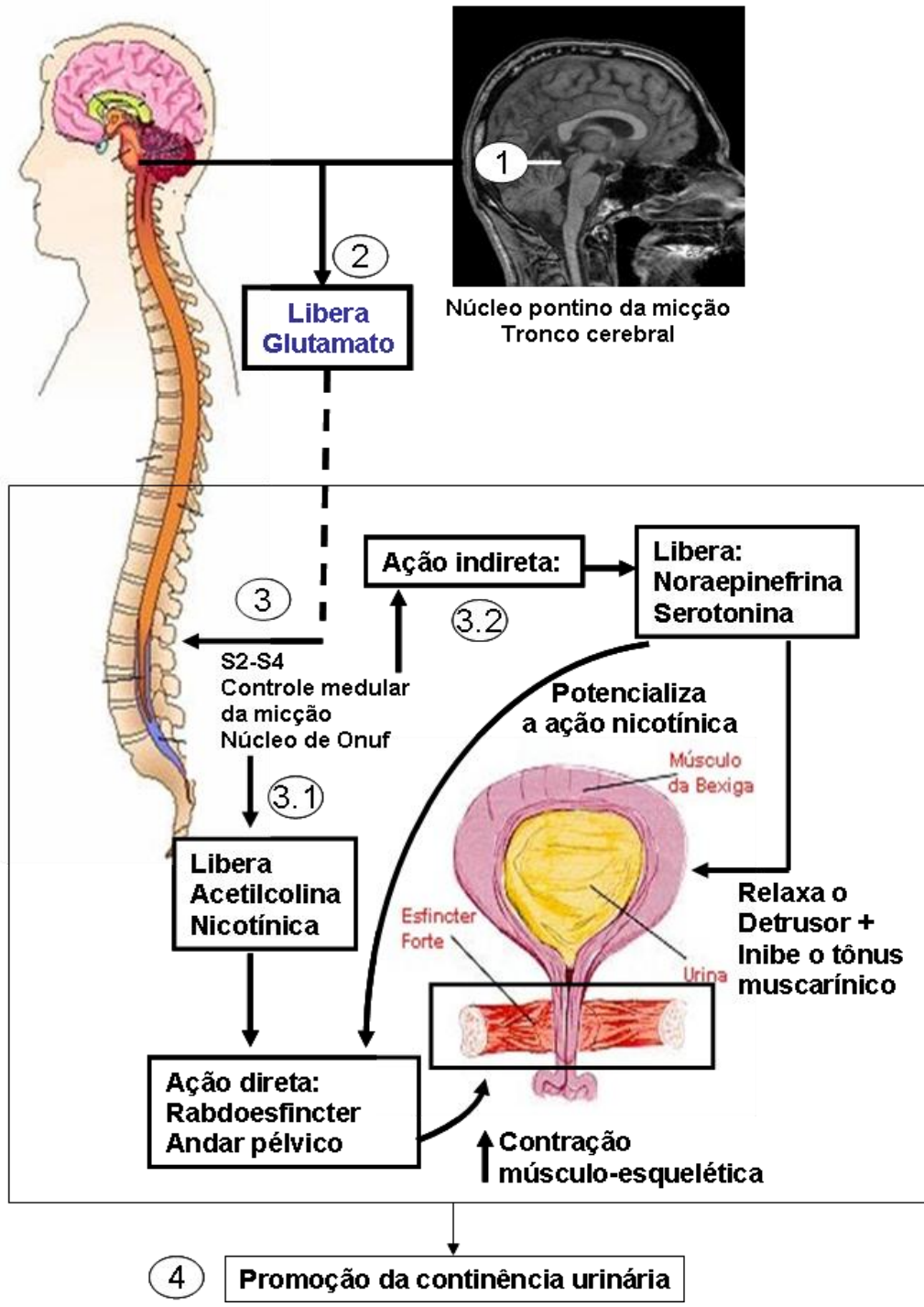


Figura 5 – Síntese esquemática do papel neuromodulatório na promoção da continência urinária.

Compostos ligantes	Receptores	Função
Noraepinefrina	ARs (α, β)	Reflexo de micção α 1- excitatório α 2- inibitório β - inibitório
Ácido γ -aminobutírico (GABA)	GABA _A GABA _B	Inibição do reflexo de micção
Glicina	GlyR	Inibição do reflexo de micção
Opióides	μ, δ, κ	Inibição do reflexo de micção
Serotonina	5-HT 1 a 7	Inibição do reflexo de micção
Dopamina	D ₁ e D ₂	Inibição do reflexo de micção
Glutamato	NMDA e AMPA	Função excitatória/inibitória
N/OAQ	NOP	Função excitatória/inibitória

Quadro 2 – Principais compostos ligantes e receptores do sistema nervoso central que estão envolvidos com o reflexo de micção.⁴³

No cérebro humano existem cerca de 10 bilhões de neurônios e estima-se que 250 mil pertençam ao sistema serotoninérgico. Estudos neuroquímicos mostram que a modulação serotoninérgica tem um papel relevante no controle da continência por atuar junto às rotas neurais, medular e supra-medular e, também, no ambiente tissular do músculo liso detrusor, do músculo esquelético do esfíncter externo uretral e do andar pélvico.¹¹

A serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) pertence à família de moléculas químicas das monoaminas, que inclui também a epinefrina, a norepinefrina e a dopamina. É sintetizada a partir do aminoácido essencial triptofano.³⁶ A fonte exógena deste aminoácido é a dieta, incluindo principalmente grãos, carnes e laticínios. Nos territórios encefálicos o triptofano é distribuído através da circulação.³⁷

Essa molécula possui diversos papéis fisiológicos, como o da neurotransmissão, neuromodulação, modulação da liberação de outros neurotransmissores e hormônios (incluindo acetilcolina, adrenalina, dopamina, aminoácidos excitatórios e vasopressina), regulação da contração da musculatura lisa e da função plaquetária.^{38,39}

Recentes avanços na bioquímica e biologia molecular revelaram que há quatro famílias estruturais e funcionais de receptores da serotonina, sendo elas: (1) 5-HT₁, (2) 5-HT₂, (3) 5-HT₄ a 7, (4) 5-HT₃. Nas primeiras três famílias, os receptores são ligados à proteína G, e na última os receptores são ligantes dos canais dos íons Na⁺ e K⁺.³⁹

No Quadro 3 são apresentados os subtipos de receptores da serotonina, sua localização e função.³⁹

Subtipo de receptor	Localização	Função
5-HT _{1A}	Núcleo da rafe, hipocampo	Auto-receptor
5-HT _{1B}	Subiculum, substância negra	Auto-receptor
5-HT _{1D}	Vasos sangüíneos craniais	Vasoconstrição
5-HT _{1E}	Córtex, estriado	-
5-HT _{1F}	Cérebro e periferia	-
5-HT _{2A}	Plaquetas Músculo liso (intestino e vasos sangüíneos) Córtex cerebral Hipocampo e núcleo caudado	Agregação plaquetária Contração Excitação neuronal -
5-HT _{2B}	Fundo gástrico	Contração
5-HT _{2C}	Plexo coróide	-
5-HT ₃	Nervos periféricos, área postrema	Excitação neuronal
5-HT ₄	Hipocampo, trato gastrointestinal	Excitação neuronal
5-HT _{5A}	Hipocampo	Desconhecida
5-HT _{5B}	-	Desconhecida
5-HT ₆	Estriado	Desconhecida
5-HT ₇	Hipotálamo, intestino	Desconhecida

Quadro 3 – Subtipos de receptores da serotonina, localização e função.^{38,39}

Em humanos, a 5-HT possui múltiplos efeitos relacionados com a contração da bexiga via ação direta nas células da musculatura lisa ou, indiretamente, através da liberação neuronal de acetilcolina dos neurônios intramurais autônomos.^{37,40} Vários circuitos neuronais corticais, subcorticais e medulares estão envolvidos na sua coordenação.⁴¹

Em todas estas situações a serotonina age de modo direto ou indireto sobre o mecanismo contração-relaxamento. Entretanto, parece que seus efeitos no estímulo contrátil ou de relaxamento não são iguais, exercendo comportamentos opostos dependendo da região anatômica do TUI e da espécie animal envolvida.^{9,11,18,41,42} Estas diferenças possivelmente são determinadas pela ocorrência dos diversos tipos de receptores serotoninérgicos que se expressam de modo variado (tanto em quantidade quanto em especificidade funcional) conforme a região anatomo-histológica. Sabidamente existem 14 subtipos de receptores para a serotonina cuja presença pode determinar se o efeito desta molécula será indutor ou modulador da contração ou do relaxamento. Além disto, este quadro aumenta de complexidade uma vez que ainda não são totalmente conhecidos todos os subtipos de receptores serotoninérgicos no trato urinário inferior e suas vias de controle neuronal, bem como a sua ação local e influência potencial da interação entre os mesmos nas suas respostas.

Recentes estudos realizados em gatos mostraram que a 5-HT tem efeito modulador no TUI. Esta modulação pode tornar-se particularmente aparente quando a bexiga é irritada, por exemplo, fenômeno que ocorre na presença de ácido acético.^{11,42,43} Adicionalmente, estas pesquisas confirmaram a presença de vários receptores da serotonina (5-HT) nos três centros medulares da micção e que quando estes receptores foram estimulados com agonistas 5-HT promoveram modulação central das vias aferentes vesicais, uretrais e perineais pró-continência, com redução da atividade parassimpática (parecendo inibir o detrusor) e aumento da estimulação simpática e somática do rabdoesfincter. Ao contrário, a utilização de antagonista 5-HT mostrou efeitos reversos.^{10-11,18,44-45} Isto porque reduz o limiar do desencadeamento do reflexo miccional dificultando o armazenamento.

A Figura 6 mostra a seqüência do modelo proposto do papel do glutamato, da serotonina (5-HT) e da noradrenalina no controle da função uretral durante a fase de armazenamento vesical.

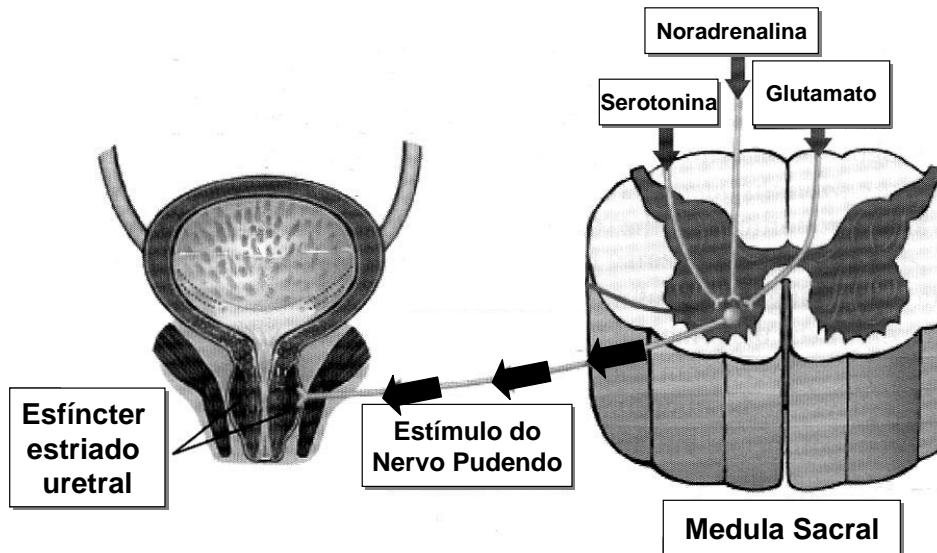


Figura 6 – Atividade do nervo Pudendo primariamente controlado no núcleo de Onuf no segmento sacral.¹⁸

Assim, a serotonina vem ganhando interesse clínico pelo seu efeito amplificador dos mecanismos pró-continência.^{11,23,44-45} A Figura 7 demonstra o esquema representativo da atividade em nível molecular da liberação da 5-HT pelo neurônio motor pré-sináptico.

Após a ativação do neurônio pós-juncional, a molécula de 5-HT sofre rápida inativação na fenda sináptica através de sua recaptação pelo neurônio liberador pré-sináptico. Este tipo de atividade ocorre de maneira similar nas fibras pré-sinápticas adrenérgicas com a noradrenalina. Assim, o emprego de inibidores da recaptação destes dois neurotransmissores tem se mostrado útil no tratamento clínico de incontinência urinária de esforço.

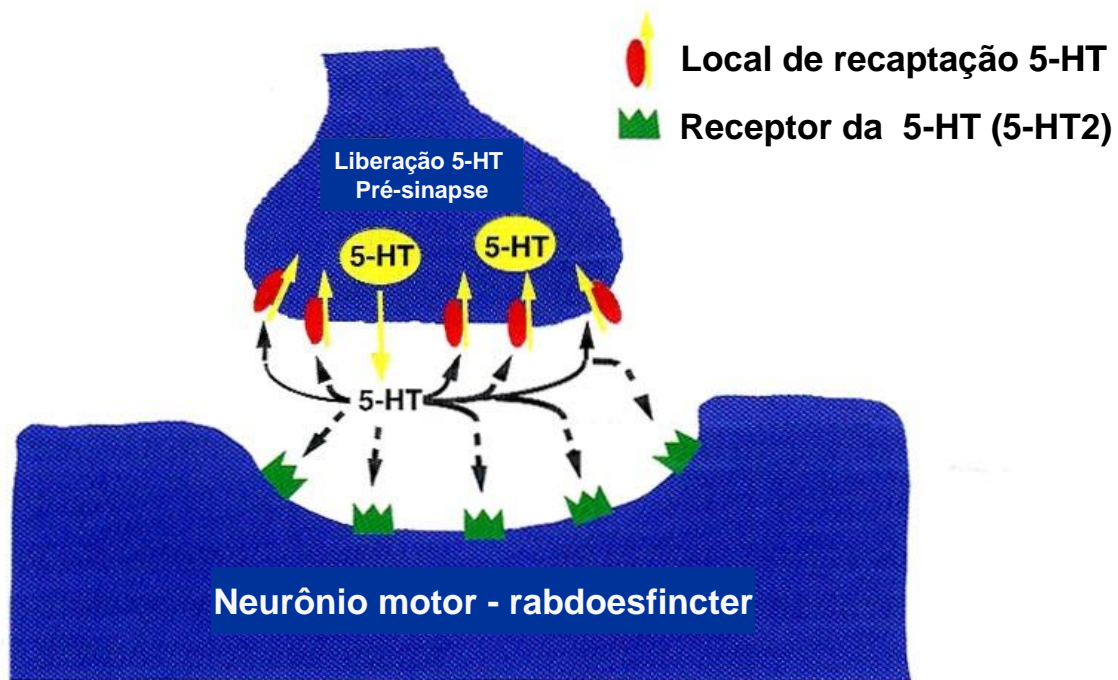


Figura 7 – Esquema mostrando o mecanismo gerado pela serotonina na fenda juncional sendo liberada e recaptada pelo neurônio motor liberador, após ativação do neurônio pós-juncional do rabdoesfincter originado no núcleo de Onuf no segmento sacral medular.¹⁸

Dos 14 subtipos de receptores conhecidos da serotonina, **os subtipos 5-HT₁** (1A, 1B, 1D, 1E e 1F), 5-HT₂ (2A, 2B, e 2C), 5-HT₃ e 5-HT₄ são considerados principais moduladores envolvidos em diferentes funções no TUI. Os receptores 5-HT₂ em homens e em cães geram contração detrusora. Os receptores 5-HT₃ potencializam a ação colinérgica na bexiga de coelhos. Por outro lado, os receptores 5-HT₄ têm mostrado ação inibitória na bexiga de macaco. Adicionalmente, receptores 5-HT localizados no urotélio de mamíferos parecem estar envolvidos com contração ureteral.

A micção requer aumento da atividade contrátil do detrusor acompanhado de redução simultânea da resistência uretral. Isto pode envolver mecanismos colinérgicos e não colinérgicos. Os mecanismos não colinérgicos parecem contribuir pouco na contração da bexiga saudável. Porém, podem mediar uma resposta considerável da estimulação nervosa presente em estados patológicos. Deste modo, o seu verdadeiro papel fisiológico precisa ser mais bem elucidado.^{18,37,46}

Assim, além dos compostos serotoninérgicos, vários outros neurotransmissores como acetilcolina, norepinefrina, dopamina, aminoácidos excitatórios e inibitórios

também participam do controle funcional no TUI. Estudos imuno-histoquímicos têm confirmado a presença de receptores sensitivos e de mecanorreceptores, como por exemplo: os vanilóides, adenosina trifosfato, purinérgicos, e de neurotransmissores como taquicininas, neuropeptídeos e peptídeo da calcitonina, além de óxido nítrico, ATP e de acetilcolina de origem não neuronal. Estes achados têm sugerido a forte relação entre o urotélio e as camadas suburoteliais da bexiga, na resposta à distensão vesical tanto em indivíduos normais como em doentes. Neurônios aferentes de fibras mielínicas A δ (distensão e estiramento) e nociceptivos primários não mielinizados C são os responsáveis pela transmissão das sensações relacionadas com o enchimento vesical ao cérebro. Esta inervação tem se tornado foco de grande interesse em estudos funcionais da bexiga de indivíduos saudáveis e comprometidos com disfunções miccionais.⁴⁶

Os receptores 5-HT_{1A} localizados nos núcleos da rafe promovem controle inibitório da atividade espinhal; a ativação dos receptores pós-sinápticos da serotonina na medula produz efeito inibitório na contração detrusora.^{47,48} Da mesma maneira, a administração intratecal de serotonina em gatos aumenta a atividade simpática, causando o relaxamento da musculatura da parede vesical e aumento da capacidade vesical mediado pelos receptores 5-HT₃. Adicionalmente, receptores 5-HT_{2C} e 5-HT_{1C} quando estimulados, exercem ação inibitória nos mecanismos parassimpáticos.⁴⁷

Análises realizadas em *in vitro* mostraram que a serotonina produz marcada contração de segmentos musculares de bexiga. Isto também foi percebido *in vivo* mediado pelos receptores 5-HT₂ e 5-HT₃.⁹ No caso específico da serotonina, os seus receptores já foram observados nos núcleos dos nervos Pélvicos, Hipogástrico e Pudendo.^{11,44-45}

Na bexiga de humanos a serotonina tem múltiplos efeitos sobre a contratilidade evocando contração e modificando a liberação neuronal de acetilcolina. Da mesma forma, os receptores 5-HT₄ são responsáveis por potencializar os estímulos elétricos, podendo representar potencial alvo terapêutico para bexiga hiperativa.^{9,11,43-44}

O artigo denominado “*Role of serotonin and noradrenaline in stress urinary incontinence*”, de Michel e Peters¹¹, apresenta uma importante síntese do papel

destes neuromoduladores na função miccional, na etiologia da incontinência e no controle do SNC pró-continência da urina.

O controle do sistema nervoso no armazenamento e micção envolve centros medulares e supra-medulares. O centro medular contém neurônios pré-ganglionares parassimpáticos pélvicos e simpáticos hipogástricos bem como neurônios motores do nervo Pudendo. Os neurônios pré-ganglionares hipogástricos simpáticos originam-se dos nervos simpáticos torácico-lombares (núcleo intermédio lateral T12-L2). O nervo Pudendo somático se origina do segmento S2-S4 do corno ventral da medula sacral (núcleo de Onuf). Os neurônios pré-ganglionares parassimpáticos do nervo pélvico originam-se do núcleo sacral também conhecido intermédio lateral S2-S4. Assim, o segmento S2-S4 ocupa um papel importante na coordenação da micção. Por este motivo é considerado o centro medular da micção como foi anteriormente referido. Este coordena os impulsos dos neurônios aferentes, interneurônios locais e a transmissão do sinal para o centro miccional da Ponte através da substância cinzenta periaquedutal. Esta coordenação envolve três principais neurotransmissores: glutamato, noradrenalina, e serotonina, que possuem diversos subtipos de receptores expressos em vários pontos do complexo neuro-miccional.^{11,18}

A origem do glutamato é o centro miccional da ponte, a serotonina é proveniente do núcleo da Rafe e a noradrenalina do núcleo Coeruleus. O estímulo da serotonina e da noradrenalina na função miccional tem sido demonstrado tanto em roedores quanto em primatas. Finalmente, o núcleo simpático e o corno dorsal da medula no segmento S2-S4 também expressam adreno-receptores. A coordenação entre esfíncter e detrusor parece ser de competência supra-medular (núcleos Coeruleus da formação reticular, conhecido como centro pontino da micção), diretamente controlada pelas áreas corticais: girus frontalis medial do lobo frontal e porção anterior do girus cingulatus.^{11,18}

O glutamato parece ser o principal neurotransmissor responsável por ativar o mecanismo de armazenamento de urina a partir do centro medular da micção, enquanto a serotonina e a norepinefrina parecem ser os principais moduladores deste processo.^{11,18}

Em um estudo também realizado em gatos com lesão medular, mostrou que os agonistas dos receptores 5-HT₂ aumentam o reflexo do nervo Pudendo e que, por outro lado, a diminuição da atividade deste nervo poderia ser feita por antagonistas destes receptores. Este efeito não foi observado em gatos com a medula intacta sugerindo que o efeito supra-medular dos agonistas da 5-HT₂ pode contra-atacar em nível de medula espinhal.^{11,18,44}

O comportamento e a modulação pró-continência deste circuito pode depender da presença de estímulos originados de áreas cerebrais supra-medulares, como o aumento do limiar de micção induzido pela serotonina.^{11,18}

Assim, a **atividade serotoninérgica** na medula espinhal parece inibir a função detrusora e estimular a função do rabdoesfincter e isto envolve receptores **5-HT_{1A}, 5-HT₂ e 5-HT₃**.^{11,18,40,43-44}

O tipo de tônus exercido pela noradrenalina da medula espinhal não está totalmente esclarecido, ainda que seu efeito pareça ser dependente, sobretudo do tipo de receptor estimulado. Pode-se dizer que os receptores noradrenérgicos (α 1) ocupam papel efetor periférico no controle simpático, e central no controle somático da função uretral.¹¹

Baseado no que foi exposto, o controle neuronal da continência pode ser sintetizado da seguinte forma: o controle do armazenamento da bexiga é desencadeado pela ação glutaminérgica que, ao mesmo tempo em que desencadeia indiretamente relaxamento da musculatura lisa da bexiga, age no aumento da resistência esfinteriana via contração da musculatura estriada. Este processo ocorre porque o glutamato liberado no núcleo de Onuf induz a liberação de acetilcolina nicotínica na musculatura esquelética do andar pélvico e do esfíncter uretral externo, o que desencadeia o aumento do tônus muscular destas estruturas e conseqüente aumento da resistência uretral. Por sua vez, a serotonina e a noradrenalina, além de potencializar indiretamente a ação do glutamato agem reduzindo a atividade colinérgica muscarínica e o tônus da musculatura lisa da bexiga (corpo vesical), respectivamente, favorecendo o armazenamento da urina (complacência).^{11,18}

A Figura 5 apresenta uma síntese esquemática da ação do centro miccional pontino e do centro medular na promoção da continência urinária destacando os efeitos do glutamato, acetilcolina nicotínica, acetilcolina muscarínica, noradrenalina e serotonina.

Desta maneira, a função do trato urinário inferior é sutilmente regulada por uma rede neuronal complexa na qual o nervo Pélvico promove uma sinalização chave para a micção enquanto os nervos Hipogástrico e Pudendo promovem o armazenamento da urina. Todos os três nervos são controlados em nível medular e supra-medular.^{11,18}

Assim, variações genéticas nos receptores dos neurotransmissores envolvidos nos mecanismos fisiológicos pró-continência poderiam estar relacionadas com a suscetibilidade para o estabelecimento de disfunções miccionais, principalmente aquelas associadas ao envelhecimento biológico como a do tipo incontinência urinária. Pesquisas de associação entre polimorfismos genéticos e IU teriam relevância não só no entendimento dos aspectos etiológicos, mas, também, para o desenvolvimento de terapias farmacológicas e não-farmacológicas complementares.

O receptor 2A é pós-sináptico e está presente em muitas áreas neocorticais ainda que seja escasso no hipocampo e completamente ausente no núcleo da rafe que está localizado no tronco cerebral. Muitas ações dos agentes serotoninérgicos têm sido atribuídas ao receptor 2A que parece ter um papel chave em outras funções metabólicas do corpo como a termorregulação, humor, apetite e sono.

Existem três subtipos de receptores serotoninérgicos **5-HT₂**: 2A, 2B e 2C. Por exemplo, o núcleo de Onuf que inerva o rabdoesfincter mostra notável associação com a serotonina e com a noraepinefrina e contém grande quantidade de receptor 5-HT_{2A}. Nesta região, a ativação destes receptores leva indiretamente ao relaxamento da bexiga. Já no detrusor foram detectados diferentes tipos de receptores 5-HT₂; no ser humano e em cães parecem promover a contração muscular via ativação colinérgica. Estudos em cães sugerem que o receptor 2A da serotonina media tal contração muscular da bexiga.^{18,40,43-44,47}

Por outro lado, a administração crônica de fármacos tricíclicos ou inibidores da monoamina-oxidases (antidepressivos) influencia na regulação dos receptores 5-HT₂. Fármacos que têm uma função similar aos tricíclicos como é o caso da imipramina são usados como agentes inibidores da recaptação da serotonina nas extremidades nervosas, gerando comportamento facilitador pró-continência.^{9,11,18,47}

Um potencial alvo de pesquisas genéticas associadas com a incontinência urinária é o sistema serotoninérgico já que inibidores da recaptação da serotonina têm sido amplamente utilizados na terapêutica da incontinência urinária feminina e masculina.⁴³⁻⁴⁵

2.4 INCONTINÊNCIA URINÁRIA E O POLIMORFISMO T102C DO GENE RECEPTOR 2A DA SEROTONINA

Investigações sobre o papel de polimorfismos genéticos no receptor 2A da serotonina de seres humanos começaram a ser conduzidas desde 1994 associando alterações funcionais, principalmente, com morbidades psiquiátricas. O gene do receptor 5-HT_{2A} está localizado no cromossomo 13 (13q14-21) consistindo de três exons (seqüências de DNA que dão origem à proteína que forma o receptor) cada um com mais de 20kb. Entre estes polimorfismos destaca-se a mutação pontual no aminoácido 102 em que uma timina é substituída por uma citosina (polimorfismo T102C). Warren et al.⁴⁹ descreveu este polimorfismo no qual foram identificados dois alelos: T e C. Assim, os indivíduos a partir da herança genética dos seus pais podem ter os seguintes genótipos: TT, CC e TC. Os principais aspectos que tornam relevante às pesquisas caso-controle relacionadas a este polimorfismo estão abaixo sintetizados: (1) Apesar da substituição da citosina pela timina não alterar o aminoácido na posição T102C, estudos conduzidos por Poleskaya e Sokolov⁵⁰ para a determinação dos efeitos dos alelos T e C na expressão dos receptores 5-HT_{2A} utilizando amostra *post-mortem* de seres humanos mostraram que a expressão do alelo C no córtex temporal de indivíduos heterozigotos normais era significativamente mais baixa do que a expressão do alelo T. Neste caso os autores

estimaram que portadores do genótipo TT possuiriam 20% a mais de receptores funcionais de membrana em relação aos CC, enquanto que os heterozigotos teriam um fenótipo intermediário (cerca de 10% a menos de receptores); (2) Esta condição fisiológica determinada pelo polimorfismo poderia lograr situações de desequilíbrio na modulação serotoninérgica causando efeitos sistêmicos neuro-humorais e metabólicos que potencialmente aumentariam o risco para determinados tipos de morbidades (principalmente neuropsiquiátricas).

Neste contexto, estudos caso-controle associando o polimorfismo T102C com morbidades e comportamentos motivados passaram a ser conduzidos. Ainda que alguns estudos não demonstraram associação positiva entre este polimorfismo e morbidades, outros descrevem esta associação. O Quadro 4 apresenta uma síntese dos resultados publicados na literatura e indexados no Medline. No caso, portadores do genótipo CC ou alelo C parecem ter maior suscetibilidade à esquizofrenia, sintomas psicóticos associados à doença de Alzheimer, comportamento de raiva e agressão, síndrome do pânico, transtorno de ansiedade generalizada, hipertensão arterial sistêmica em mulheres, enxaqueca, ideação suicida em pacientes com maior depressão, e tabagismo. Por outro lado, estudos caso-controle também descrevem associação entre portadores T/TT com maior depressão, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, ingestão preferencial de proteínas de origem animal (principalmente carne), e incontinência urinária auto-relatada por idosos que vivem na comunidade.

Sendo assim, as associações positivas entre tabagismo e portadores CC e as associações positivas entre portadores T/TT com ingestão elevada de proteína animal e incontinência urinária foram investigações realizadas pela equipe de pesquisa colaboradora do presente estudo.

Morbidades e Comportamentos	Autor, ano
Associação positiva com portadores C/CC	
Esquizofrenia	Penaz-Ledo et al. ⁵¹ ; Golimbet et al. ⁵² ; Inayama et al. ⁵³ ; Tay et al. ⁵⁴ ; Williams et al. ⁵⁵ ; Erdmann et al. ⁵⁶ ; Spurlock et al. ⁵⁷
Sintomas psicóticos na Doença de Alzheimer (tardia, esporádica e familiar)	Pritchard et al. ⁵⁸ ; Craig et al. ⁵⁹ ; Holmes et al. ⁶⁰ ; Nacmias et al. ⁶¹
Diminuição no controle comportamental/ distúrbio de humor	Bjork et al. ⁶²
Desordem afetiva sazonal	Arias et al. ⁶³
Melhor resposta ao tratamento antidepressivo	Minov et al. ⁶⁴
Ideação suicida em pacientes com depressão maior	Du et al. ⁶⁵
Suicídio	Geijer et al. ⁶⁶
Alcoolismo associado com história de problemas comportamentais em homens	Hwu e Chen ⁶⁷
Aura de enxaqueca	Erdal et al. ⁶⁸
Hipertensão essencial em mulheres	Liolitsa et al. ⁶⁹
Síndrome do pânico	Unschuld et al. ⁷⁰
Transtorno de ansiedade generalizada	Lochner et al. ⁷¹
Comportamentos de raiva e agressão	Giegling et al. ⁷² ; Jokela et al. ⁷³
Tabagismo	Prado-Lima et al. ⁷⁴
Associação positiva com portadores T/TT	
Resposta mais efetiva à Clozapina (neuroléptico utilizado em pacientes esquizofrênicos)	Arranz et al. ⁷⁵
Depressão maior	Zhang et al. ⁷⁶
Severidade da dor em pacientes com fibromialgia	Bondy et al. ⁷⁷
Infarto agudo do miocárdio não fatal em homens com 65 anos ou menos	Yamada et al. ⁷⁸
Acidente vascular cerebral (AVC)	Olesen et al. ⁷⁹
Incontinência urinária em idosos avaliada por auto-relato	Schwanke et al. ⁸⁰
Ingestão elevada de proteína animal	Prado-Lima et al. ⁸¹

Quadro 4 – Síntese dos principais estudos caso-controle do polimorfismo T102C do gene do receptor 2A da serotonina

No estudo caso-controle da associação entre auto-relato de incontinência urinária em 298 idosos socialmente ativos (17% homens, 83% mulheres, idade média de 68,0±6,4 anos) e o polimorfismo T102C do gene 5-HT_{2A}, Schwanke et al.⁸⁰ encontraram maior suscetibilidade do genótipo TT à incontinência urinária

(razão de chance= 2,0, IC95%=1,2-3,7) (APÊNDICE C). As possíveis explicações para os resultados encontrados incluem:

- a) a serotonina atua de modo diferenciado via os seus diferentes receptores. Assim, um desequilíbrio na quantidade/qualidade de determinados receptores, como é o caso do 5HT_{2A}, poderia influenciar a modulação da tonicidade basal da musculatura lisa da bexiga que ao invés de aumentar o seu relaxamento apresentaria efeito inverso favorecendo a incontinência urinária. De certa forma, esta suposição vai ao encontro de estudos que sugerem que o genótipo TT está associado a doenças cardiovasculares como o infarto agudo do miocárdio e ao AVC por aumentar a tonicidade e vasoconstrição da musculatura lisa vascular e também exercer ação na cascata da coagulação sanguínea. Se um fenômeno similar ocorre na musculatura lisa detrusora, o aumento tanto do tônus quanto da força de contração associado ao genótipo TT poderiam ser agentes facilitadores da incontinência urinária. Adicionalmente, estudos epidemiológicos sugerem associação entre incontinência e distúrbios do humor como a depressão. Como investigações genéticas prévias também descreveram ligação entre o genótipo TT e depressão (ver Quadro 4), estas duas observações reforçam a hipótese de que a maior quantidade de receptor serotoninérgico não significa, necessariamente, uma resposta saudável uma vez que também existem evidências experimentais que a exposição aguda e crônica à serotonina pode ser prejudicial ao organismo;
- b) investigações recentes também sugerem ação parácrina⁴⁸ dos receptores serotoninérgicos no microambiente tecidual, o que pode desencadear respostas antagônicas, ora inibitórias ora excitatórias, ou mesmo na intensidade das mesmas através da regulação de outros receptores serotoninérgicos ou não-serotoninérgicos como é o caso dos receptores noradrenérgicos e colinérgicos;

- c) possibilidade de ocorrência de interação entre alterações anatomo-histológicas associadas decorrentes do envelhecimento, como é o caso da redução da espessura da musculatura do esfíncter estriado e no depósito de colágeno no detrusor⁹ com o polimorfismo poderiam predispor as disfunções miccionais.

Além destas hipóteses é preciso considerar que o estudo desenvolvido por Schwanke et al.⁸⁰, por ser preliminar, apresentava como principal limitação o fato de estar baseado no auto-relato de história de incontinência urinária pelos próprios idosos.

Contudo, como demonstrado na revisão da presente tese, seria de se esperar que indivíduos com maior quantidade de receptores 5-HT_{2A} tivessem menos problemas de incontinência urinária, visto que a regulação do relaxamento vesical é feita, indiretamente, pela serotonina e noraepinefrina. Estes neurotransmissores, liberados em nível medular, reduzem a atividade no detrusor (por inibição dos receptores muscarínicos – atividade parassimpática e estímulo dos receptores β_3 adrenérgicos do corpo vesical). Adicionalmente, estes neurotransmissores potencializam o estímulo do glutamato a partir do núcleo de Onuf, reforçando a ação efetora somática do nervo podendo durante a fase de enchimento vesical, aumentando o tônus da musculatura esfíncteriana esquelética e do andar pélvico pelo aumento da resistência uretral. Finalmente, inibidores da recaptção da serotonina vêm sendo empregados no tratamento farmacológico de pacientes que apresentam incontinência urinária. Como seria de se esperar que indivíduos com uma quantidade maior de receptores devessem ter uma resposta pró-continência mais efetiva e, portanto, serem menos suscetíveis à incontinência urinária.

Assim, pesquisas que corroborem ou refutem os resultados de associação entre IU e o polimorfismo T102C e que utilizem métodos objetivos de avaliação da IU, como é o caso da urodinâmica, são relevantes tanto para o entendimento da fisiopatologia da incontinência urinária quanto para a sua aplicação clínica.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Analisar a associação entre o polimorfismo genético T102C do receptor 2A da serotonina (5-HT_{2A}) com incontinência urinária urodinâmica em mulheres idosas da comunidade.

3.2 ESPECÍFICOS

Em relação ao polimorfismo genético T102C do receptor 2A da serotonina:

- a) descrever e comparar as freqüências alélicas e genótípicas em idosas incontinentes e continentas;
- b) descrever e comparar os parâmetros urodinâmicos nas idosas incontinentes portadoras de diferentes genótipos/alelos;
- c) descrever e comparar a freqüência dos tipos de incontinência urinária urodinâmica (de esforço, de incontinência de urgência e mista) nas idosas incontinentes portadoras de diferentes genótipos/alelos;
- d) descrever e comparar o impacto da incontinência urinária na qualidade de vida nas idosas incontinentes portadoras de diferentes genótipos/alelos.

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO

Estudo observacional, do tipo caso-controle, descritivo e analítico.

4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA

Grupo caso (idosas incontinentes)= das 84 idosas que foram atendidas no Serviço de Urodinâmica do Hospital São Lucas da PUCRS para realização de avaliação urodinâmica de disfunções miccionais no período de julho de 2005 a dezembro de 2007 e que preencheram os critérios de inclusão, em **68 idosas** foi possível, além da entrevista e da avaliação urodinâmica, a realização do diagnóstico molecular do polimorfismo genético T102C do receptor 2A da serotonina no Instituto de Pesquisas Biológicas da PUCRS. Contudo, o cálculo do tamanho amostral, considerando que 90% das variáveis são quantitativas e os pressupostos de genética de populações para ocorrência de três grupos genotípicos (TT, CC e TC), foi de 60 pacientes.

Grupo controle (idosas continentares)= a partir do banco de dados do Projeto Gravataí - Programa GENESIS de Pesquisa (coletados entre 2000 e 2003), foram selecionadas para o presente estudo **162** idosas continentares (continência auto-relatada) com diagnóstico molecular prévio do polimorfismo genético T102C do receptor 2A da serotonina. Os dados analisados foram obtidos com a autorização das pesquisadoras principais do estudo, Profa. Dra. Carla Helena Augustin Schwanke e Profa. Dra. Ivana Beatrice Mânica da Cruz (ANEXO B) e detalhes da população e amostra são apresentados em Schwanke et al.⁸⁰ (APÊNDICE C). O banco completo é constituído por 1058 idosas que participaram do Projeto Gravataí, representando uma amostra não-probabilística da população constituída por idosas socialmente ativos (da comunidade) que investigava interações genético-ambientais

no envelhecimento e em doenças crônico-degenerativas associadas à idade. Os idosos deste Projeto foram recrutados a partir de grupos de terceira idade previamente cadastrados na Secretaria de Assistência Social e Trabalho do Município, cujos detalhes do Projeto Gravataí encontram-se descritos em Flores⁸² e Flores et al.⁸³

População geral= uma vez que a população investigada era idosa e que as frequências alélicas e genóticas de determinados polimorfismos podem ser alteradas em relação ao total da população, as frequências genéticas do grupo controle (mulheres continentais) foram comparadas com as de um banco amostral constituído por 687 homens e mulheres com idade entre 18 a 100 anos, com casamentos ao acaso e perfil étnico euro-caucasiano. Detalhes da proveniência desta amostra são apresentados em Jobim et al.⁸⁴ que investigaram a associação entre o mesmo polimorfismo aqui estudado e longevidade. No caso, esta pesquisa foi conduzida no Serviço de Genética do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob a responsabilidade dos pesquisadores Prof. Dr. Roberto Giugliani e Profa. Dra. Ivana Beatrice Mânica da Cruz.

4.2.1 Critérios de Inclusão

No grupo controle, foram incluídas mulheres com idade ≥ 60 anos, participantes do Programa GENESIS de Pesquisa, continentais, que viviam na comunidade (não-institucionalizadas), com um perfil socioeconômico e cultural uniforme.

No grupo caso, foram incluídas mulheres com idade ≥ 60 anos incontinentes que buscaram o Serviço de Urodinâmica do Hospital São Lucas da PUCRS para realização de avaliação urodinâmica de disfunções miccionais e que aceitaram participar do estudo.

4.2.2 Critérios de Exclusão

No grupo caso, foram excluídas as idosas que faziam uso de diuréticos, as portadoras de diabetes mellitus tipo II, declínio cognitivo moderado a severo, doenças neurológicas (como acidente vascular encefálico), limitação importante da mobilidade e as que não aceitaram participar do presente estudo.

4.3 PRINCIPAIS VARIÁVEIS INVESTIGADAS, LOGÍSTICA E INSTRUMENTOS DA PESQUISA

As principais variáveis investigadas foram: história clínica e gineco-obstétrica, avaliação urodinâmica e dos tipos de incontinência urinária e genotipagem do polimorfismo T 102 C do gene 5-HT2A.

4.3.1 História clínica e gineco-obstétrica

Os itens constantes deste item encontram-se no Apêndice A.

4.3.2 Avaliação Urodinâmica

As avaliações urodinâmicas foram realizadas pelo investigador principal. Para tanto, foi empregado o aparelho multicanal Urosystem Viotti® de fabricação nacional e utilizados os critérios sugeridos pelo Subcomitê de Padronização e Terminologia da Sociedade Internacional de Continência.⁸⁵ A Figura 8 mostra o equipamento que foi utilizado no estudo.

A avaliação consistiu de história clínica (idade da menarca, idade da menopausa, número de gestações, número de partos e de cesareanas, relato de incontinência fecal, de infecção urinária, de cirurgias prévias e uso de aparelhos para deambulação, como bengalas e andadores, representação da incontinência na vida diária e caracterização da incontinência urinária, exame físico direcionado, fluxometria, medida do resíduo pós-miccional ou vesical, cistometria de enchimento e de esvaziamento (dados armazenados no Serviço de Urodinâmica do Hospital São Lucas da PUCRS).



Figura 8 – Equipamento de urodinâmica utilizado no estudo.

4.3.3 Diagnóstico molecular do polimorfismo T 102 C do gene 5-HT2A

Para o diagnóstico molecular do gene 5-HT2A as amostras de sangue foram coletadas pelo sistema de venóclise com aparato descartável a vácuo (Vacutainer) com tubos, contendo EDTA 0,1% (volume final em concentração 1mg/dl). Após a coleta, o material coletado foi armazenado a 4°C e encaminhado ao Instituto de

Pesquisas Biológicas da PUCRS sob responsabilidade da Dr^a Denise Cantarelli Machado.

O mascaramento das amostras foi realizado por meio de investigação do tipo duplo-cego, onde o investigador principal não obteve acesso às informações do diagnóstico molecular e os pesquisadores que realizaram o diagnóstico molecular não tiveram acesso às informações clínicas e da avaliação urodinâmica. Para tanto, as pacientes foram identificadas através de números seqüenciais.

4.3.3.1 Extração do DNA

A extração do DNA foi realizada segundo a técnica descrita por Debomoy⁸⁶ através das seguintes etapas:

- a) as amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 5000 rpm por 5 minutos;
- b) após a centrifugação, a camada contendo leucócitos foi transferida para tubos de 1,5 mL e, a seguir, realizada lavagem com PBS (tampão fosfato-salina, pH 7,5);
- c) para a extração do DNA dos leucócitos (em 200µl PBS) foi adicionado 100 µl de tampão de lise (10 mM Tris, 100 mM EDTA, 0,5% SDS, 200 µg/ml proteinase K), 2,5% SDS, 25 mM EDTA pH 8,0, seguido de incubação a 55°C por 3 horas;
- d) após a incubação, o DNA da amostra foi extraído a partir de duas lavagens com uma solução de fenol: clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1);
- e) o DNA presente na porção aquosa foi então precipitado pela adição de 0,1 volumes de acetato de sódio e 0,7 volumes de isopropanol e incubado a -20°C;

- f) o DNA, observado como um sedimento translúcido e gelatinoso foi então dissolvido em 50 µl de água Milli-Q e mantido a -20°C para uso na reação de PCR.

4.3.3.2 Reação de amplificação do gene 5-HT2A

A reação de polimerização em cadeia (*Polimerase Chain Reaction* – PCR) foi executada de acordo com o método modificado a partir da técnica descrita por Warren et al.⁴⁹, utilizando-se os primers sense 5'-TCTGCTACAA-GTTCTGGCTT-3' e antisense 5'-CTGCAGCTTTTTCTAGGG-3'.

A mistura de reação foi preparada com 1µg de DNA, 2,2µM de cada primer, 2,0mM de MgCl₂ (tampão) para um volume final de 20µl e 1 U de Taq polimerase (CenBiot-RS).

As amostras serão submetidas a 35 ciclos de 60 segundos a 94°C, 60 segundos a 60°C e 90 segundos a 72°C.

A eficiência da reação de PCR foi visualizada através de eletroforese em gel de agarose (2,0%), com brometo de etídio, observando-se a presença de apenas uma banda de 342 pb sob luz ultravioleta.

4.3.3.3 Genotipagem do polimorfismo T102C do gene 5-HTR2A pela técnica *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP)

A genotipagem foi realizada pela digestão de 20 µl do produto de PCR e 5U da enzima de restrição *Hpa*II (Gibco®) em tampão específico. A digestão foi

incubada a 37°C, por três horas. A digestão gerou um produto de 342 pares de base (pb) para o alelo T (não cortado pela enzima) e 156 e 216 pares de base para o alelo C (cortado em dois fragmentos pela enzima). Os fragmentos resultantes foram, então, separados por eletroforese em gel de agarose a 2% e identificados com brometo de etídio sob luz ultravioleta, utilizando-se como marcador das bandas produzidas um marcador de peso molecular de 100 pb (Figura 9). Quando ocorreram dúvidas quanto à genotipagem, a mesma foi repetida por outro pesquisador treinado.

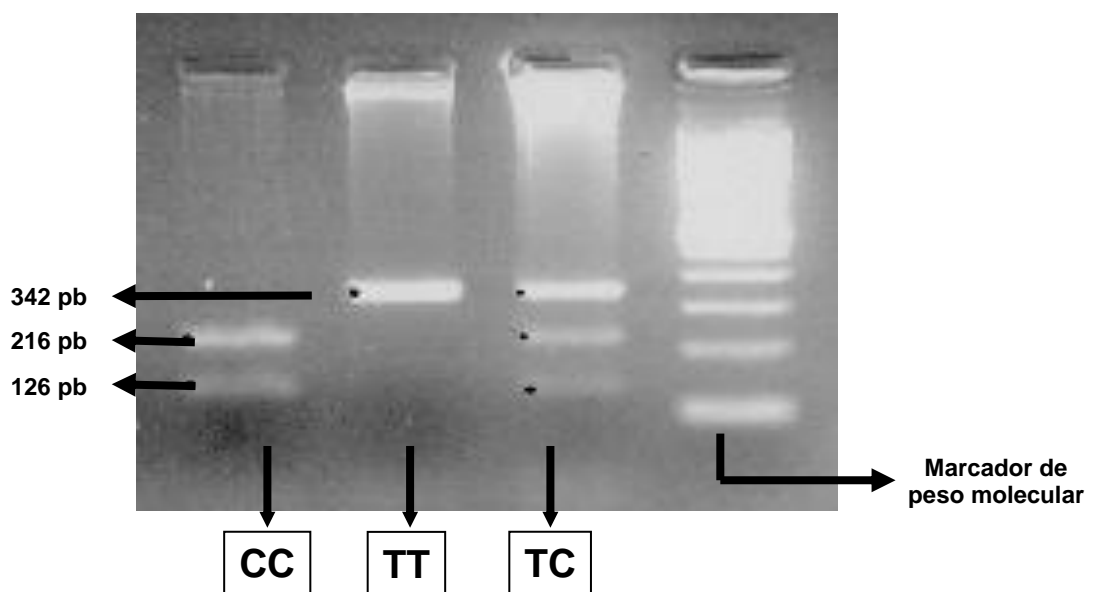


Figura 9 – Visualização da variação genética (alelo) através da exposição do gel de agarose à luz ultravioleta

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do Software estatístico SPSS 2000 – versão 12,0 for Windows. O referencial teórico estatístico, utilizado no estudo, foi o descrito por Wasser-Smoller.⁸⁷

Para as análises, foi empregada estatística descritiva e analítica. Para a determinação das freqüências gênicas e genotípicas do gene 5-HT2A, as mesmas foram calculadas utilizando o pressuposto de Hardy-Weinberg para genética de populações.⁸⁸ As freqüências genotípicas foram calculadas a partir da equação $p^2 +$

$2pq + q^2 = 1$. Para tanto, designou-se p = alelo C e q = alelo T. Para o cálculo das freqüências alélicas foi utilizada a equação: $p+q=1$. Após o cálculo das respectivas freqüências, foi verificado se as mesmas encontravam-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg que, em genética de populações, significa que "as freqüências dos alelos devem permanecer constantes de geração para geração, na ausência de seleção, mutação, migração, deriva genética e recombinação meiótica numa população grande e de cruzamentos ao acaso." Para tanto, as freqüências genóticas observadas são comparadas com as freqüências genóticas esperadas através do teste estatístico do qui-quadrado. As freqüências esperadas para cada genótipo são calculadas através das seguintes fórmulas: genótipo CC= p^2 (freqüência alélica calculada para p ao quadrado); TT= q^2 (freqüência alélica calculada para q ao quadrado) e TC= $2pq$.

Na fase analítica, os dados foram comparados entre os diferentes alelos/genótipos através dos seguintes testes:

- a) **dados contínuos**= os mesmos foram analisados pela análise de variância Oneway, seguidos por teste *post hoc* de Bonferroni. Os dados com padrão não normal foram analisados através da análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida pelo teste não paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney;
- b) **dados categóricos**= a análise estatística destes dados utilizou o teste não-paramétrico do qui-quadrado. No caso da amostra apresentar freqüência esperada menor que 05, então, foi utilizado o teste exato de Fisher. Em todos os testes foi empregada análise bicaudal, sendo consideradas significativas as análises estatísticas cujo $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com assessoria estatística especializada.

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (Parecer 481/06 de 08 de maio de 2006 (ANEXO A)).

Todas as voluntárias que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO C). O estudo seguiu as recomendações das Resoluções 196/96 e 340/04 que regulamentam as diretrizes éticas para a área temática especial de Genética Humana do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

5 RESULTADOS

A amostra que consistiu de 68 mulheres portadoras de incontinência urinária e 162 continentas apresentou uma idade média de $68,1 \pm 6,5$ anos com um mínimo de 60 e um máximo de 99 anos não ocorrendo diferenças estatísticas entre os dois grupos ($p=0,09$). Nas mulheres incontinentes e continentas, 85,3% e 80%, respectivamente, da menarca ocorreu antes dos 15 anos de idade, respectivamente ($p=0,264$). A menopausa também apresentou distribuição etária similar. Nas incontinentes 23,9% das mulheres apresentaram menopausa precoce (<45 anos) enquanto que esta frequência foi de 25,4% nas continentas. Menopausa tardia (≥ 50 anos) ocorreu em 42,4% das incontinentes e 37,3% das continentas. Estas diferenças não foram estatisticamente significativas entre si ($p=0,750$). O número médio de gestações foi de $2,4 \pm 1,5$ para no grupo das mulheres incontinentes e de $2,95 \pm 2,3$ no das continentas ($p=0,72$).

A seguir as frequências alélicas e genotípicas dos grupos caso e controle foram comparadas entre si e em relação a uma amostra geral da população. Os resultados são a apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo T102C do gene do receptor 5-HT2A.

Frequências Genotípicas	Incontinentes	Continentes	Amostra populacional
	n= 68 (%)	n= 162 (%)	n= 687 (%)
TT	25 (34,8) ^a	28 (17,0) ^b	148 (21,5) ^b
CC	13 (19,3)	38 (23,3)	114 (16,6)
TC	31 (45,9)	96 (59,7)	425 (61,9)
Frequências alélicas			
T	0,578	0,468	0,524
C	0,422	0,532	0,476

^{a,b} = Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$ pelo teste do qui-quadrado).

A análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg entre a amostra de idosas selecionadas e esta grande amostra demonstrou que as mesmas estavam em equilíbrio e similares entre si, indicando de modo consistente que não estão existindo vieses genéticos significativos como a presença de migração, seleção natural e casamentos endogâmicos. Desta maneira foi confirmado que o grupo controle de mulheres continentais apresentava frequências genéticas similares às esperadas na população em geral para o polimorfismo investigado.

Mulheres portadoras de incontinência urinária apresentaram uma frequência do genótipo TT significativamente maiores tanto em relação às mulheres continentais quanto em relação à amostra geral da população.

Análise estatística adicional foi realizada para testar o efeito de dose, ou seja, se a associação com a incontinência era associada ao alelo T. Os resultados mostraram que mulheres portadoras do genótipo TT tinham um risco significativamente maior de serem incontinentes que as mulheres portadoras do genótipo TC+CC ($p= 0.013$; $OR=2.69$; $95\%CI= 1.37-5.29$). Por outro lado, as mulheres com genótipo CC não mostraram tal significância comparando com as mulheres TT+TC ($p= 0.385$; $OR=0.68$; $95\%CI= 0.33-1.4$).

Os dados urodinâmicos comparados entre os três genótipos são apresentados nas Tabelas 2 e 3. Uma vez que, a maior parte das variáveis quantitativas não apresentou distribuição normal, os dados foram analisados por testes não-paramétricos e são apresentados sob a forma de mediana e variação interquartilica nas tabelas.

Como se pode observar, portadoras do genótipo TT apresentaram significativamente **maior pressão do primeiro desejo de urinar** do que portadoras do genótipo CC. Também apresentaram **maior pressão detrusora** e **menor volume na capacidade cistométrica máxima** do que os portadores TC e CC, assim como **complacência vesical reduzida**. Fisiologicamente estes resultados podem ser interpretados do seguinte modo: portadoras TT apresentaram uma maior pressão na musculatura lisa da bexiga o que diminui sua capacidade de armazenamento que é avaliada pela complacência. Esta situação aumenta a pressão do primeiro desejo de urinar o que se traduz em um quadro de maior estímulo à micção.

Na comparação dos achados urodinâmicos adicionais apresentados na Tabela 3 foi observada diferença significativa no tipo de incontinência urinária em relação ao genótipo. No caso, portadoras do genótipo TT apresentaram uma maior prevalência de incontinência urinária de urgência, enquanto que portadoras dos genótipos CC+TC apresentaram uma maior prevalência de incontinência urinária de esforço. A prevalência de incontinência urinária mista foi similar entre estes genótipos.

Tabela 2 – Avaliação da associação entre dados urodinâmicos e polimorfismo T102C do receptor 5-HT2A.

Variáveis	TT (n=25)	CT (n=30)	CC (n=13)	p^*	p^{**} TTxTC/CC
	Mediana (AI)	Mediana (AI)	Mediana (AI)		
Urofluxometria					
Fluxo máximo (mL/seg)	8 (0-21) ^a	8 (0-18.5) ^a	10 (7.5-20) ^a	0.722	0.923
Volume Urinado (mL)	104 (18.5-243) ^a	115 (0-302) ^a	130 (83-263) ^a	0.791	0.622
Resíduo Pós-Miccional (mL)	40 (0-75) ^a	49 (0-125) ^a	75 (0-185) ^a	0.664	0.368
Cistometria de enchimento (H2O – 50 mL/min)					
Primeiro Desejo Miccional (mL)	147 (110-200) ^a	162 (107-268) ^a	149 (111-194) ^a	0.833	0.750
Pdet, no Primeiro Desejo Miccional (cmH2O)	4 (3.5-7.5) ^a	4 (2.8-10) ^{ab}	3 (1.5-4) ^b	0.026	0.216
Pressão Abdominal de perda - ALLP (cmH2O)	70.5 (0-83.5) ^a	55 (9-88.5) ^a	83 (38-96) ^a	0.411	0.609
Volume, ALLP (mL)	209 (159-269) ^a	211 (180-284) ^a	265 (185-440) ^a	0.302	0.344
Volume da Primeira contração detrusora involuntária - IDC - (mL)	238 (102-422) ^a	154 (104-322) ^a	273 (36.5-402) ^a	0.827	0.594
Pdet IDC (cmH2O)	13 (9-25) ^a	13 (8.5-21.5) ^a	12.5 (7.8-16.5) ^a	0.657	0.417
Pressão Detrusor de Perda - DLPP (cmH2O)	16 (9.5-28.5) ^a	14 (0-23.3) ^a	14.5 (0-32) ^a	0.896	0.650
Volume, DLPP (mL)	247 (102-422) ^a	159 (0-393) ^a	76.5 (0-346) ^a	0.463	0.293
Máxima Capacidade Cistométrica - MCC (mL)	349 (258-434) ^a	387 (308-451) ^b	472 (345-555) ^b	0.050	0.047
Pdet, MCC EFP - (cm H ₂ O)	11 (5.5-17.5) ^a	7.5 (4.8-12.3) ^b	6 (4-8.5) ^b	0.059	0.032
Compliancia vesical (mL/cm H ₂ O)	34 (16-59) ^a	46.5 (35.8-87.5) ^b	76 (63-103) ^c	0.004	0.006
Estudo Fluxo-pressão					
Volume Urinado (mL)	280 (214-380) ^a	325 (128-450) ^a	420 (197-503) ^a	0.145	0.129
Fluxo máximo - Qmax (mL/seg)	15 (9-26) ^a	15 (9.5-23.3) ^a	21 (14.5-31) ^a	0.310	0.584
Pdet no Qmax (cmH2O)	10 (5.5-27) ^a	9.5 (0-17.5) ^a	6 (2-24.5) ^a	0.854	0.600

*Teste de Kruskal-Wallis; ** Teste de Mann-Whitney; AI= amplitude interquartile (P25-P75); Pdet= pressão detrusora; ^{a,b,c}= diferentes letras indicam diferenças estatísticas (p<0.05). p^* nível de significância

Tabela 3 – Avaliação da associação entre informações de exame físico e dados urodinâmicos com polimorfismo T102C do receptor 5-HT2A.

Variáveis	TT (n=25)	CT (n=30)	CC (n=13)	p*	p* TTxTC/CC
	N (%)	N (%)	N (%)		
Urofluxometria					
Fluxo regular	11 (64.7)	14 (60.9)	7 (63.6)	0.967	1.000
Prolapso de Orgãos Pélvicos					
Sim	14 (56.0) ^a	20 (66.7) ^a	8 (61.5) ^a	0.720	0.626
Ausente	11 (44.0)	10 (33.3)	5 (38.5)		
Hiperatividade detrusora idiopática (N= 67)					
Presente (31)	13 (52.0) ^a	14 (46.7) ^a	4 (33.3) ^a	0.566	0.637
Função Detrusora Normal (36)	12 (48.0)	16 (53.3)	8 (66.7)		
Tipo Funcional de micção (N= 60)					
Mista	7 (30.4) ^a	3 (12.0) ^a	4 (33.3) ^a	0.175	0.453
Detrusora	12 (52.2)	15 (60.0)	2 (16.7)		
Abdominal	2 (8.7)	4 (16.0)	4 (33.3)		
Relaxamento Perineal	2 (8.7)	3 (12.0)	2 (16.7)		
Perda urinária				0.04	0.02
Incontinência de Urgência	11 (44.0) ^a	06 (19.4) ^b	01 (7.7) ^b		
Incontinência de Esforço	06 (24.0) ^a	16 (54.8) ^b	06 (46.2) ^b		
Incontinência urinaria mista	08 (32.0) ^a	08 (25.8) ^a	06 (46.2) ^a		

*p= nível de significância (Chi-squared test); ^{a,b,c}= diferentes letras indicam diferenças estatísticas (p<0.05).

A última análise conduzida verificou se os indicadores do impacto da incontinência urinária na qualidade de vida das mulheres afetadas era genótipo dependente. Os principais resultados percentuais são mostrados na Figura 10. A prevalência dos indicadores clínicos de impacto na qualidade de vida, como os sintomas vesicais irritativos e episódios de incontinência urinária diurnos, tendeu a ser maior nas mulheres portadoras de genótipo TT em relação aos demais genótipos. Por outro lado, considerando o impacto subjetivo da incontinência urinária a partir do auto-relato das voluntárias, surpreendentemente mulheres portadoras de pelo menos um alelo C (CC+ TC) relataram maior impacto emocional e global

(representado pelo somatório do impacto social, de higiene e prejuízo emocional) do que mulheres TT.

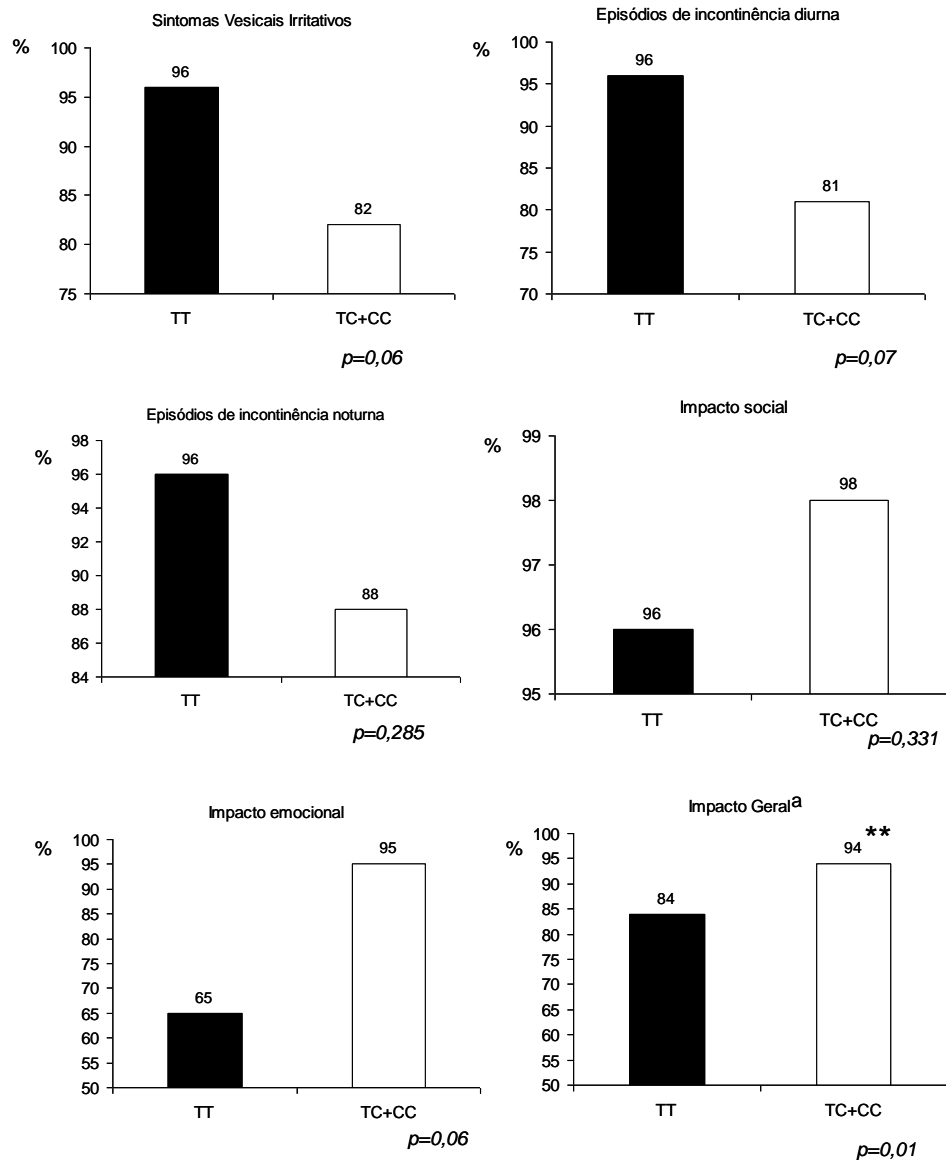


Figura 10 – Indicadores de impacto na qualidade de vida de mulheres portadoras de incontinência urinária com diferentes genótipos do polimorfismo T102C do gene do receptor 5-HT_{2A}

6 DISCUSSÃO

No presente estudo foi investigada a associação entre o polimorfismo T102C do gene do receptor 2A da serotonina (5-HT_{2A}) com a IU em mulheres idosas que vivem na comunidade analisadas urodinamicamente.

Os resultados obtidos confirmaram associação prévia entre esta disfunção miccional e o polimorfismo investigado descrita por Schwanke et al.⁸⁰ No caso, foi aqui observada associação significativa entre o alelo T (TT e TC) e a incontinência urinária.

A relevância na confirmação destes resultados baseia-se nos seguintes aspectos: (1) o estudo desenvolvido por Schwanke e colaboradores possuía um delineamento experimental diferenciado em que idosos da comunidade foram selecionados e genotipados para o polimorfismo T102C do gene 5-HT_{2A} e foram realizados testes de associação com diferentes indicadores de saúde do idoso incluindo a incontinência urinária; (2) no referido estudo, a incontinência urinária foi avaliada somente a partir do auto-relato das idosas. Assim, a presença de vieses de seleção poderia influenciar os resultados obtidos gerando uma associação falso-positiva; (3) por ser uma investigação preliminar não havia sido realizada avaliação urológica complementar com anamnese clínica urológica e urodinâmica; (4) apesar destas limitações, o trabalho é relevante uma vez que investigações sobre o papel de receptores da serotonina na incontinência urinária é um tema atual de pesquisa, que é fortemente desenvolvido em modelos animais e mais limitado nos seres humanos. A relevância destes estudos relaciona-se, por exemplo, com o emprego de fármacos inibidores da recaptção da serotonina que são utilizados no tratamento da IU. Apesar do uso amplo destes medicamentos, como é caso da duloxetina, a dinâmica fisiológica serotoninérgica carece de estudos; (5) adicionalmente, existe necessidade de maiores estudos sobre a interação gene-ambiente que influencia a incontinência urinária associada ao envelhecimento biológico, uma vez que este distúrbio é de alta prevalência em mulheres idosas, independente de outros riscos.

Antes de ser aprofundada a discussão entre os resultados obtidos com aspectos relacionados à fisiologia e clínica urológica, é importante tecer alguns

comentários sobre os aspectos metodológicos, genéticos e as principais limitações do trabalho.

6.1 ANÁLISE GENÉTICA: RESULTADOS E ASPECTOS METODOLÓGICOS

O delineamento de estudos caso-controle envolvendo polimorfismos genéticos e incontinência urinária precisa levar em conta uma série de características desta disfunção que podem interferir efetivamente nos resultados. Isto porque a IU é uma complexa condição que alia o envelhecimento biológico do trato urinário a várias comorbidades que a tornam altamente prevalente nos idosos.

A grande maioria dos idosos é continente. Entretanto, fatores como remédios e algumas doenças podem comprometer o delicado equilíbrio funcional normal da urina. Aproximadamente em 1/3 dos casos a incontinência urinária geriátrica apresenta-se com mais de uma causa.¹⁰ Ou seja, apesar do **envelhecimento biológico propriamente dito** do trato urinário inferior ocorrer igualmente em idosos incontinentes e continentares, existem fatores desencadeantes bem conhecidos. Deste modo, a precipitação desta condição está fortemente associada com causas transitórias ou com causas estabelecidas. Resnick et al.⁸⁹ Inclui nas **etiologias transitórias** (reversíveis): estados confusionais, infecção urinária, atrofia genital, uso de fármacos como diuréticos, estados emocionais (principalmente depressão), disfunções metabólicas (hipercalcemia e hiperglicemia), restrição à mobilidade e impactação fecal. Dentre as **etiologias estabelecidas geriátricas** estão: os aspectos iatrogênicos ambientais, urológicos, psico-funcionais e neurológicos. Dentre as causas que não estão diretamente relacionadas com o trato urinário inferior podem ser salientados os aspectos funcionais dos idosos (problemas de mobilidade e de cognição). Dentre as causas que estão diretamente relacionadas ao trato urinário inferior salientam-se os três tipos de incontinência urinária mais freqüente em mulheres: IU de urgência, IU de esforço (estresse), e IU mista. Este estudo concentrou suas análises apenas nas incontinências urinárias estabelecidas do trato urinário excluindo-se as demais.

Dentro deste contexto, o estudo buscou selecionar um conjunto de idosas que não apresentassem as demais etiologias transitórias e estabelecidas, diminuindo, assim, a variância amostral. Por outro lado, em termos genéticos é importante que a amostra tenha uma uniformidade étnica no estudo das freqüências genotípicas e alélicas. Investigações prévias têm sugerido que no Rio Grande do Sul, a população dita caucasiana possui na realidade 22% de contribuição genética indígena e menos de 10% de contribuição genética africana. Assim, nestes 500 anos de colonização o alto grau de miscigenação estruturou um novo grupo étnico “conhecido como gaúchos”, com grande influência euro-caucasiana. Por este motivo, no estudo aqui desenvolvido foram incluídas apenas mulheres com fenótipo caucasiano. Assim, a associação entre fatores de exclusão clínicos e genéticos rígidos fez com que esta investigação não incluísse uma amostra grande.

Na investigação genética, a fim de minimizar possível viés de seleção amostral nas idosas continentais e incontinentais que era relativamente pequena, foi incluída na análise a comparação das freqüências genéticas do grupo caso-controle com uma amostra geral maior da população entre 18 a 100 anos (687 indivíduos). Os resultados mostraram que o grupo de mulheres continentais (controle) apresentava freqüências genéticas similares a este grupo geral, o que aparentemente excluiria a existência de outros fatores intervenientes na genética do polimorfismo investigado. Deste modo, parece que a associação entre o polimorfismo investigado e a IU seria independente de outros fatores intervenientes, como o diabetes, o uso de diuréticos, problemas cognitivos e de mobilidade, etc. É importante, também, comentar que nos dois grupos (continentais e incontinentais) os fatores de risco potenciais como a história reprodutiva e a idade foram similares, minimizando, assim, a sua influência.

Ainda em relação às freqüências alélicas e genotípicas em geral também pode ser comentado que as freqüências aqui obtidas foram similares a outros estudos realizados em populações de origem caucasiana. Nas amostras aqui investigadas as freqüências alélicas de T e C giraram em torno dos 50% o que também foi observado por Du et al.⁶⁵ em canadenses (T= 0,51, C= 0,49) Verga et al.⁹⁰ em italianos (T=0,49 e de C=0,51); Bondy et al.⁷⁷ em alemães (T=0,45, C=0,55) e por Williams et al.⁵⁵ em austríacos. Portanto, parece que a população gaúcha aqui investigada apresenta similaridades genéticas com outras populações européias

relacionadas à colonização do Rio Grande do Sul como é o caso dos italianos, alemães e austríacos.

Uma limitação metodológica do estudo diz respeito ao viés de diagnóstico da IU. Isto porque, a verdadeira prevalência da IU ainda não é de todo conhecida. Apesar da definição de IU preconizada pela ICS (2002) ser mais abrangente, dados epidemiológicos estimam que apenas 40% das mulheres incontinentes procurem recursos médicos e sejam de fato diagnosticadas. Como já é conhecido, isto se relaciona com uma série de fatores e circunstâncias que levam a mulher a desconhecer ou negar que sofre de IU. Entre os fatores de desconhecimento está a crença de que a perda de urina é uma condição normal do envelhecimento (acometendo tanto homens quanto mulheres). Adicionalmente, este fato, aliado ao medo, à vergonha ou ao despreparo médico em diagnosticar esta condição, faz com que exista uma subestimativa na prevalência da IU.

Esta situação influencia os resultados aqui encontrados. Ou seja, talvez seja prematuro afirmar que o alelo T esteja verdadeiramente associado ao risco de desenvolvimento da IU. Entretanto, seria possível sugerir que o alelo T agiria como um fator agravante da condição urológica que, por sua vez, influenciaria positivamente na conscientização e na decisão da mulher de procurar clínico especializado. Esta situação obscura pode ser elucidada através da futura implantação de estudos longitudinais prospectivos incluindo análises em mulheres adultas, jovens e saudáveis.

6.2 PARÂMETROS URODINÂMICOS EM IDOSAS INCONTINENTES E CONTINENTES COM DIFERENTES POLIMORFISMOS T102C DO GENE DO RECEPTOR 5-HT2A

O conjunto dos resultados aqui obtidos mostrou associação entre alguns importantes parâmetros urodinâmicos e o polimorfismo T102C do gene do receptor 5-HT2A.

A relevância em investigar aspectos urodinâmicos na associação da incontinência urinária e a genética está baseada nas seguintes considerações. A adequada investigação da incontinência urinária deve basear-se primariamente na história clínica.⁹¹ A urodinâmica como ciência aplicável à clínica, é relativamente recente. Avanços tecnológicos têm ampliado sua utilização na investigação de estados fisiopatológicos da função vesical. A indicação da investigação urodinâmica complementar, diagnóstica, tem sido discutida para pacientes do sexo feminino com história clássica de incontinência urinária de esforço, e para idosos com boa resposta ao tratamento conservador inicial da incontinência urinária. Apesar de ser um método invasivo é considerado de eleição na investigação das disfunções do trato urinário inferior.⁵ No caso, a avaliação clínica e urodinâmica da incontinência urinária do idoso deve ser indicada para os pacientes em condições de obter algum tipo de benefício desta avaliação. Ou seja, se influenciar na escolha e no sucesso terapêutico.

Vários autores consideram inadequada a tentativa de fazer diagnóstico de incontinência urinária com base unicamente nos sintomas clínicos, porque os sintomas, geralmente, não representam morbidades específicas. Aliado a esta consideração, constata-se que aproximadamente 20% dos diagnósticos são incorretos quando baseados apenas nos sintomas clínicos. Assim, considera-se que a urodinâmica seja importante para o diagnóstico definitivo das disfunções miccionais antes de ser implementado qualquer tipo de terapêutica, e indispensável naquelas com implicações cirúrgicas.²⁶ Chapple²⁶ comenta que a investigação computadorizada não deveria ser utilizada isoladamente, mas, sim, como parte do armamentário diagnóstico no contexto da história clínica e do exame físico. Adicionalmente, outra indicação do método é a sua utilização em pesquisa clínica.

De acordo com diversos autores, a investigação urodinâmica não preenche todos os critérios para ser considerada o padrão-ouro (*gold standard*), entretanto, concorda que ela contribui para a detalhada análise clínica e melhor compreensão da fisiopatologia da incontinência.^{28, 92}

Atualmente, o emprego desta metodologia não está bem definido ainda na prática médica devendo ser considerado o benefício, o custo, a viabilidade e a

invasividade. Ou seja, clinicamente deve ser analisado caso a caso se o uso da urodinâmica deve ser empregado ou não.^{29,93}

Entretanto, nas investigações genético-epidemiológicas, como a conduzida neste estudo, a urodinâmica pode representar uma abordagem metodológica diferencial e de grande relevância. Para tanto, este exame deve ser realizado dentro das condições padronizadas e internacionalmente aceitas que são revisadas por Schäfer et al.⁸⁵ A partir deste panorama acredita-se que os resultados obtidos via urodinâmica foram realísticos e relevantes para o estudo.

Quando os dados urodinâmicos foram comparados entre os três genótipos, observou-se que portadoras TT apresentavam significativamente maior pressão do primeiro desejo de urinar, maior pressão detrusora, menor volume na capacidade cistométrica máxima e complacência vesical reduzida. Este quadro condiz com os aspectos fisiológicos diretamente relacionados com os sintomas da IU. Adicionalmente, estes resultados foram reforçados pela ocorrência de uma maior prevalência de incontinência urinária de urgência nas portadoras TT, enquanto que portadoras dos genótipos CC+TC apresentaram maior prevalência de incontinência urinária de esforço.

Qual o possível papel funcional que o receptor 2A da serotonina poderia ter no aumento do risco ou do agravamento da incontinência urinária em idosas?

Como foi inicialmente comentado na revisão do tema, se considerarmos papel da serotonina e seus receptores no controle da micção e em especial o possível papel do polimorfismo T102C do gene do receptor 2A:

- a) existem evidências de que o genótipo TT possui aproximadamente 20% a mais de receptores para a serotonina do que o genótipo CC, e que, portanto, teria uma resposta mais efetiva nos tecidos-alvo;
- b) que o processo fisiológico miccional que envolve o relaxamento do fundo da bexiga e a contração do complexo uretral tem influência da serotonina, via ação indireta, em associação com outros neurotransmissores;

- c) que a terapêutica farmacológica desta condição utiliza fármacos inibidores da recaptação da serotonina na placa sináptica a fim de reestabelecer a continência;

Seria esperado que indivíduos TT fossem pró-continentes ao invés de pró-incontinentes. Este aparente paradoxo parece ter sua origem em uma complexa rede de relações que envolvem a interação dos diversos receptores da serotonina quanto a sua expressão e localização, bem como da interação diferencial da serotonina com outras moléculas regulatórias com ou sem ação neural.

Estudos em modelos animais estão, neste momento, explorando o papel dos receptores serotoninérgicos nos diferentes tecidos do trato urinário inferior via rotas medulares e supra-medulares que estão envolvidas no controle miccional. Para tanto, a maioria das investigações analisa a ação de agonistas e antagonistas destes receptores na resposta miccional. Recentemente, Mbaki e Ramage⁹⁴ publicaram um estudo sobre o papel dos receptores 5-HT_{2A} na regulação da micção. **Os autores salientaram que estes receptores têm sido especialmente implicados no controle da uretra**, alvos potenciais na investigação de fármacos utilizados no tratamento da incontinência urinária, como a duloxetine. O estudo foi feito em ratos anestesiados a fim de determinar o papel de cada um dos três subtipos de receptores 5-HT₂ (A, B e C) na regulação esfíncteriana. Para tanto, foi investigado o efeito agonistas e antagonistas de cada um dos subtipos de receptores sobre a pressão uretral, da bexiga, do esfíncter uretral externo, do reflexo de micção induzido pela distensão vesical e também sobre a pressão arterial sistêmica e da frequência cardíaca.

Os resultados mostraram que os receptores 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C} localizados na medula sacral ativaram o esfíncter externo estriado, enquanto os receptores 5-HT_{2C} inibiram o reflexo de micção, e os receptores 5-HT_{2B} provavelmente atuaram em nível de uretra aumentando o tônus da musculatura esfíncteriana lisa. Além disto, o estudo mostrou que os receptores 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C} não tiveram papel importante na regulação fisiológica da micção. Já o receptor 2A parece estar envolvido no reflexo miccional através da ativação do esfíncter uretral estriado. Isto porque, na presença de antagonistas do receptor 2A como é o caso da quetanserina

e do MDL100907, ocorreu aumento na capacidade volumétrica da bexiga e a inibição das suas contrações isovolumétricas. Apesar de ser um estudo em modelo experimental e, portanto, as transferências para seres humanos exigir cautela, a grosso modo poderia ser interpretado que o aumento da expressão do receptor 2A no músculo detrusor da bexiga poderia diminuir a indução do relaxamento e causar dificuldade no armazenamento da urina tendo como conseqüência o desencadeamento do reflexo miccional.

Um outro estudo avaliou mudanças na resposta do músculo detrusor via receptores da serotonina em ratos diabéticos através da análise de segmentos de músculo detrusor tratados com solução salina para induzir contração isotônica e com antagonistas de receptores 5-HT para induzir relaxamento. Neste estudo é relevante salientar que os antagonistas do receptor 5-HT_{2A} inibiram a resposta contrátil da serotonina de um modo dose dependente.

Apesar de serem estudos em modelos experimentais, os resultados destes dois estudos vão ao encontro dos achados urodinâmicos aqui descritos. Isto porque, portadoras do genótipo TT apresentaram justamente maior pressão e menor volume da capacidade cistométrica máxima e complacência reduzida que indica ação do receptor 5-HT_{2A} na modulação da contração da bexiga e do esfíncter uretral externo. Infelizmente, a revisão de literatura não permitiu encontrar estudos similares em seres humanos que corroborem esta hipótese.

Uma abordagem complementar para tentar confirmar e elucidar o papel do receptor 2A na modulação da atividade vesical e esfinteriana poderia ser obtida a partir de estudos sobre a expressão tecidual dos receptores (tanto em nível de mRNA quanto em nível protéico) nos diversos segmentos anatômicos a partir de amostras de biópsias humanas. Tal estratégia faz parte da perspectiva futura de continuidade das pesquisas associadas a esta investigação.

Adicionalmente, pode-se pensar que, caso haja uma maior resposta da atividade vesical e esfinteriana associada ao genótipo TT, a mesma deve apresentar associação com respostas neurais diferenciadas relacionadas à sensação de enchimento da bexiga.

Estudos de neuroimagem cerebral têm identificado regiões que respondem ao enchimento da bexiga e de outros eventos relacionados à micção através do uso da técnica de *positron emission scan* (PET-SCAN) e ressonância magnética. Como pode ser visto a partir da recente revisão do tema feita por Griffiths,⁹⁵ resultados destas investigações, ainda que preliminares, sugerem que as sensações da bexiga registradas no cérebro são críticas no controle vesical. As regiões cerebrais associadas a este processo a partir de um estudo com seis voluntários saudáveis mostraram estímulo da insula anterior quando o desejo de urinar é muito forte. Entretanto, na presença de quadros de urgência urinária os padrões de resposta neural se modificam. Nestes termos, existe a perspectiva do desenvolvimento de futuros estudos complementares analisando a associação entre incontinência urinária, do polimorfismo T102C do receptor 5-HT2A aqui investigado, e análise de neuroimagem.

Em síntese, pode-se dizer que os resultados obtidos em relação à associação entre: (1) o polimorfismo e a incontinência urinária; (2) a resposta diferencial de parâmetros urodinâmicos; (3) ao tipo de incontinência; (4) e a resultados em modelos experimentais descritos na literatura sobre a ação do receptor 2A, reforçam a hipótese de que a associação encontrada nos estudos de Schwanke et al.⁸⁰ seja realística e de interesse científico e clínico.

6.3 IMPACTO DA INCONTINÊNCIA URINÁRIA NOS INDICADORES DE QUALIDADE DE VIDA DE IDOSAS COM DIFERENTES GENÓTIPOS DO POLIMORFISMO T102C DO GENE DO RECEPTOR 5-HT2A

Uma última questão a ser discutida em relação aos resultados obtidos diz respeito à análise do impacto da incontinência urinária em idosas com diferentes polimorfismos do gene 5-HT2A. Surpreendentemente, observou-se que mulheres idosas portadoras de pelo menos um alelo C apresentaram um impacto na qualidade de vida geral associado à IU significativamente maior do que mulheres TT.

Este resultado seria aparentemente paradoxal, uma vez que os dados urodinâmicos apontam para um quadro de maior severidade nas homozigóticas TT.

Cabe aqui salientar que diversos estudos têm descrito associação entre o genótipo CC com distúrbios neuropsiquiátricos, esquizofrenia,⁹⁶ alcoolismo,⁹⁷ tabagismo.⁷⁴ Se, indivíduos portadores de pelo menos um alelo C são mais sensíveis ao impacto da incontinência urinária do que portadores TT é uma questão que emerge do presente trabalho e que também deve ser explorada em investigações futuras.

A OMS e a *International Association of Gerontology and Geriatrics* (IAGG) produziram um documento com 15 conteúdos básicos de Medicina Geriátrica para o ensino de graduação em Medicina.⁹⁸ O 12º conteúdo refere-se a “ser familiar com o manejo das grandes síndromes geriátricas – como quedas, **incontinência** e declínio cognitivo – bem como com as condições altamente prevalentes como depressão e a sutil apresentação das doenças nos pacientes idosos.”⁹⁸ Neste mesmo sentido, em uma palestra ministrada no *American Urological Association (AUA) Meeting 2008* pelo dr. Drach, foi salientada magnitude dos idosos e suas doenças na prática urológica. 49,6% dos pacientes ambulatoriais de urologistas nos EUA têm ≥ 65 anos. Adicionalmente, a Urologia está apenas atrás da Cardiologia e Oftalmologia em proporção de pacientes idosos vistos nos consultórios (Medicare) e aproximadamente 62% dos procedimentos urológicos são realizados em idosos.⁹⁹

Deste modo, a interação Urologia-Geriatria vem fomentando avanços nos cuidados diferenciados desta grande parcela da população.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo caso-controle realizado em mulheres idosas da comunidade observou:

- a) associação positiva entre o genótipo TT do polimorfismo T102C presente no gene do receptor 2A da serotonina (5-HT2A) com a incontinência urinária;
- b) portadoras do genótipo TT apresentaram significativamente maior pressão do primeiro desejo de urinar do que portadores do genótipo CC. Também apresentaram maior pressão detrusora e menor capacidade cistométrica máxima do que os portadores TC e CC, assim como complacência vesical reduzida. O conjunto destes resultados sugere que o genótipo TT está associado a alterações de fatores fisiológicos, predisponentes a incontinência urinária;
- c) maior prevalência da incontinência urinária de urgência em portadoras do genótipo TT (44%) confirmada pelos critérios urodinâmicos. Maior prevalência de incontinência de esforço foi observada nas portadoras do genótipo CC.
- d) ocorreu impacto subjetivo da incontinência urinária associado ao polimorfismo. Portadoras de pelo menos um alelo C (CC+ TC) relataram maior impacto emocional e global (representado pelo somatório do impacto social, de higiene e prejuízo emocional) do que mulheres TT.

O conjunto dos resultados sugere ter o polimorfismo T102C do gene do receptor 5-HT2A um possível efeito fisiológico no trato urinário inferior. Hipótese que precisa ser confirmada em estudos futuros. O efeito do desbalanço na quantidade deste receptor, que ocorre no genótipo TT estaria associado a maior chance de incontinência urinária de urgência na mulher idosa.

REFERÊNCIAS

1. Fultz NH, Herzog AR. Epidemiology of urinary symptoms in the geriatric population. *Urol Clin North Am.* 1996;23(1):1-10.
2. Chaimovicz F. Epidemiologia e o envelhecimento no Brasil. In: Freitas EV, Py L, Cançado FAX, Gorzoni ML, Doll J, organizadores. *Tratado de geriatria e gerontologia.* 2ª.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p.106-30.
3. Carson CC. Conquering urinary incontinence: knowledge is key [editorial]. *Contemp Urol* 2002;14(3):11.
4. Molander U, Sundh V, Steen B. Urinary incontinence and related symptoms in older men and women studied longitudinally between 70 and 97 years of age. A population study. *Arch Gerontol Geriatr.* 2002;35(3):237-44.
5. Noronha JAP. Perfil de saúde de idosos com incontinência urinária atendidos em um ambulatório geriátrico [dissertação]. Porto Alegre (RS), PUCRS; 1999. 114f.
6. Maciel AC. Incontinência urinária. In: Freitas EV, Py L, Cançado FAX, Gorzoni ML, Doll J, organizadores. *Tratado de geriatria e gerontologia.* 2ª.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p.723-32.
7. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, et al. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(1):116-26.
8. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, et al; Standardisation Sub-Committee of the International Continence Society. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the

standardisation sub-committee of the International Continence Society. *Urology*. 2003;61(1):37-49.

9. Yoshimura N, Chancellor MB. Physiology and pharmacology of the bladder and urethra. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. *Campbell-Walsh urology*. 9th.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p.1922-72.

10. Resnick NM, Yalla SV. Geriatric incontinence and voiding dysfunction. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. *Campbell-Walsh urology*. 9th.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p.2302-21.

11. Michel MC, Peters SL. Role of serotonin and noradrenaline in stress urinary incontinence. *BJU Int*. 2004;94(Suppl 1):23-30.

12. Busby-Whitehead JM, Johnson TM. Urinary incontinence. *Clin Geriatr Med*. 1998;14(2):285-96.

13. Rogers RG. Clinical practice: urinary stress incontinence in women. *N Engl J Med*. 2008;358(10):1029-36.

14. Yim PS, Peterson AS. Urinary incontinence: basic types and their management in older patients. *Postgrad Med*. 1996;99(5):137-40, 143-4, 149-50.

15. Resnick NM. Geriatric incontinence. *Urol Clin North Am*. 1996;23(1):55-74.

16. DuBeau CE. Clinical presentation and diagnosis of urinary incontinence. Uptdate for patients [website] 2008 [cited 2008 Sept. 25]. Available from: URL: http://www.uptodate.com/patients/content/topic.do?topicKey=~._I10S6Zr2jf6D

17. Detrusitol™ Product Information Pack. Detrusitol™ urinary incontinence and overactive bladder. Oxford: OCC; 1997. 51p. [Pharmacia & Upjohn]

-
18. Michel MC, Oelke M, Peters SLM. The neuro-urological connection. *Eur Urol Suppl.* 2005;4(1):18-28.

 19. Andersson KE, Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2004;84(3):935-86.

 20. Blaivas JG. Understanding the dysfunctional bladder. *Contemp Urol.* 2001;suppl. Overactive;13(6):3-13.

 21. Jonas U, Castro-Diaz D, Bemelmans BLH, Madersbacher H, Lycklama a Nijeholt AAB. Neurogenic voiding dysfunctions (NVD). *Eur Urol.* 2003;44(3):I-XV.

 22. Rodhe N, Englund L, Mölsted S, Samuelsson E. Bacteriuria is associated with urge urinary incontinence in older women. *Scand J Prim Health Care.* 2008;26(1):35-9.

 23. Hergüner S, Mukaddes NM. Risperidone-induced double incontinence. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008;32(4):1085-6.

 24. Viktrup L, Summers KH, Dennett SL. Clinical practice guidelines for the initial management of urinary incontinence in women: a European-focused review. *BJU Int.* 2004;94(Suppl 1):14-22.

 25. Desautel MG, Badlani GH. Urodynamics in the elderly. In: Nitty VW, editor. *Practical urodynamics.* Philadelphia: Saunders; 1998. p.244-53.

 26. Chapple C. The Diagnosis of urinary incontinence: urodynamics, more or less? *Eur Urol Suppl.* 2002;1(10):25-8.

 27. Phull H, Hijaz AK, Goldman HS, Hernandez AV, Frenkl T, Moore CK, et al. Role of urodynamics on clinical decision-making in patients with urinary incontinence and voiding dysfunction [Editorial]. *J Urol.* 2008;179(4):486.

-
28. Homma Y, Batista J, Bauer S, Griffiths D, Hilton P, Kramer G, et al. Urodynamics. In: Abrams P, Cardozo L, Khouri S, Wein A, editors. Incontinence: 2nd International Consultation on Incontinence, July 1-3 2001. 2nd.ed. Plymouth: Health Publications; 2002. p.319-72.
29. Rovner ES, Wein AJ. Evaluation of lower urinary tract symptoms in females. *Curr Opin Urol*. 2003;13(4):273-8.
30. Veras, RP. O Brasil envelhecido e o preconceito social. In: Veras RP, organizador. Terceira Idade: alternativas para uma sociedade em transição. Rio de Janeiro: Relume Dumará; 1999. p.35-50.
31. Mehr DR, Tatum PE 3rd. Primary prevention of disease of old age. *Clin Geriatr Med*. 2002;18(3):407-30.
32. Luft J, Vriheas-Nichols AA. Identifying the risk factors for developing incontinence: can we modify individual risk? *Geriatr Nurs*. 1998;19(2):66-70.
33. Kizilkaya Beji N, Yalcin O, Ayyildiz EH, Kayir A. Effect of urinary leakage on sexual function during sexual intercourse. *Urol Int*. 2005;74(3):250-5.
34. Fonseca ESM, Camargo ALM, Castro RA, Sartori MGF, Fonseca MCM, Lima GR, et al. Validação do questionário de qualidade de vida (King's Health Questionnaire) em mulheres brasileiras com incontinência urinária. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2005;27(5):235-42.
35. Zorn BH, Montgomery H, Pieper K, Gray M, Steers WD. Urinary incontinence and depression. *J Urol*. 1999;162(1):82-4.
36. Fox SI. The nervous system: neurons and synapses. In: Human physiology. 6th.ed. New York: McGraw-Hill; 1999. p.172-85.

-
37. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. Sistemas de neurotransmissores. In: Neurociências: desvendando o sistema nervoso. 2ª.ed. Porto Alegre: Artmed; 2002. p.130-62.
38. Arranz B, Rosel P, Ramírez N, San L. Disfunción genética del receptor de serotonina 5-HT_{2A} en los trastornos psiquiátricos. *Actas Esp Psiquiatr.* 2001;29(2):131-8.
39. Sanders-Bush E, Mayer SE. 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor agonists and antagonists. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 9th.ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p.249-63.
40. Hernández M, Barahona MV, Simonsen U, Recio P, Rivera L, Martínez AC, et al. Characterization of the 5-hydroxytryptamine receptors mediating contraction in the pig isolated intravesical ureter. *Br J Pharmacol.* 2003;138(1):137-44.
41. de Groat WC. Anatomy of the central neural pathways controlling the lower urinary tract. *Eur Urol.* 1998;34(Suppl 1):2-5.
42. Modiri A-R. Functional models in the search for pharmacological treatment of urinary incontinence: the role of adrenergic, cholinergic and serotonergic receptors. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis; 2002. [Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine 1137] 52p.
43. Lazzeri M, Porena M. The challenge of the overactive bladder: from laboratory to new drugs. *EAU-EBU Update Ser.* 2007;5(6):250-8.
44. Thor KB. Serotonin and norepinephrine involvement in efferent pathways to the urethral rhabdosphincter: implications for treating stress urinary incontinence. *Urology.* 2003;62(4 Suppl 1):3-9.

-
45. Burgard EC, Fraser MO, Thor KB. Serotonergic modulation of bladder afferent pathways. *Urology*. 2003;62(4 Suppl 1):10-5.
46. Apostolidis A, Haferkamp A, Aoki KR. Understanding the role of botulinum toxin A in the treatment of the overactive bladder – more than just muscle relaxation. *Eur Urol Suppl*. 2006;5(11):670-8.
47. de Groat WC. Influence of central serotonergic mechanisms on lower urinary tract function. *Urology*. 2002;59(5 Suppl 1):30-6.
48. Xu C, Giuliano F, Sun XQ, Brisorgueil MJ, Leclerc P, Vergé D, et al. Serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{5A} receptors are expressed by different motoneuron populations in rat Onuf's nucleus. *J Comp Neurol*. 2007;502(4):620-34.
49. Warren JT Jr, Peacock ML, Rodriguez LC, Fink JK. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR₂): detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet*. 1993;2(3):338.
50. Poleskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT_{2A} receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res*. 2002;67(6):812-22.
51. Peñas-Lledó EM, Dorado P, Cáceres MC, de la Rubia A, Llerena A. Association between T102C and A-1438G polymorphisms in the serotonin receptor 2A (5-HT_{2A}) gene and schizophrenia: relevance for treatment with antipsychotic drugs. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(7):835-8.
52. Golimbet VE, Lavrushina OM, Kaleda VG, Abramova LI, Lezheiko TV. Supportive evidence for the association between the T102C 5-HTR_{2A} gene polymorphism and schizophrenia: a large-scale case-control and family-based study. *Eur Psychiatry*. 2007;22(3):167-70.

-
53. Inayama Y, Yoneda H, Sakai T, Ishida T, Nonomura Y, Kono Y, et al. Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia. *Am J Med Genet.* 1996;67(1):103-5.
54. Tay AH, Lim LC, Lee WL, Wong KE, Wong LY, Tsoi WF. Association between allele 1 of T102C polymorphism, 5-hydroxytryptamine 2a receptor gene and schizophrenia in Chinese males in Singapore. *Hum Hered.* 1997;47(5):298-300.
55. Williams J, Spurlock G, McGuffin P, Mallet J, Nöthen MM, Gill M, et al. Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. European Multicentre Association Study of Schizophrenia (EMASS) Group. *Lancet.* 1996;347(9011):1294-6.
56. Erdmann J, Shimron-Abarbanell D, Rietschel M, Albus M, Maier W, Körner J, et al. Systematic screening for mutations in the human serotonin-2A (5-HT_{2A}) receptor gene: identification of two naturally occurring receptor variants and association analysis in schizophrenia. *Hum Genet.* 1996;97(5):614-9.
57. Spurlock G, Heils A, Holmans P, Williams J, D'Souza UM, Cardno A, et al. A family based association study of T102C polymorphism in 5HT_{2A} and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. *Mol Psychiatry.* 1998;3(1):42-9.
58. Pritchard AL, Harris J, Pritchard CW, Coates J, Haque S, Holder R, et al. Role of 5HT_{2A} and 5HT_{2C} polymorphisms in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2008; 29(3):341-7.
59. Craig D, Donnelly C, Hart D, Carson R, Passmore P. Analysis of the 5HT-2A T102C receptor polymorphism and psychotic symptoms in Alzheimer's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2007;144B(1):126-8.

-
60. Holmes C, Arranz MJ, Powell JF, Collier DA, Lovestone S. 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor polymorphisms and psychopathology in late onset Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 1998;7(9):1507-9.
61. Nacmias B, Tedde A, Forleo P, Piacentini S, Guarnieri BM, Bartoli A, et al. Association between 5-HT(2A) receptor polymorphism and psychotic symptoms in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.* 2001;50(6):472-5.
62. Bjork JM, Moeller FG, Dougherty DM, Swann AC, Machado MA, Hanis CL. Serotonin 2a receptor T102C polymorphism and impaired impulse control. *Am J Med Genet.* 2002;114(3):336-9.
63. Arias B, Gutiérrez B, Pintor L, Gastó C, Fañanás L. Variability in the 5-HT(2A) receptor gene is associated with seasonal pattern in major depression. *Mol Psychiatry.* 2001;6(2):239-42.
64. Minov C, Baghai TC, Schüle C, Zwanzger P, Schwarz MJ, Zill P, et al. Serotonin-2A-receptor and -transporter polymorphisms: lack of association in patients with major depression. *Neurosci Lett.* 2001;303(2):119-22.
65. Du L, Bakish D, Lapierre YD, Ravindran AV, Hrdina PD. Association of polymorphism of serotonin 2A receptor gene with suicidal ideation in major depressive disorder. *Am J Med Genet.* 2000;96(1):56-60.
66. Geijer T, Frisch A, Persson ML, Wasserman D, Rockah R, Michaelovsky E, et al. Search for association between suicide attempt and serotonergic polymorphisms. *Psychiatr Genet.* 2000;10(1):19-26.
67. Hwu HG, Chen CH. Association of 5HT_{2A} receptor gene polymorphism and alcohol abuse with behavior problems. *Am J Med Genet.* 2000;96(6):797-800.

-
68. Erdal ME, Herken H, Yilmaz M, Bayazit YA. Association of the T102C polymorphism of 5-HT_{2A} receptor gene with aura in migraine. *J Neurol Sci.* 2001;188(1-2):99-101.
69. Liolitsa D, Powell JF, Prince M, Lovestone S. Association study of the 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism, T102C and essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2001;15(5):335-9.
70. Unschuld PG, Ising M, Erhardt A, Lucae S, Kloiber S, Kohli M, et al. Polymorphisms in the serotonin receptor gene HTR_{2A} are associated with quantitative traits in panic disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2007;144B(4):424-9.
71. Lochner C, Hemmings S, Seedat S, Kinnear C, Schoeman R, Annerbrink K, et al. Genetics and personality traits in patients with social anxiety disorder: a case-control study in South Africa. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2007;17(5):321-7.
72. Giegling I, Hartmann AM, Möller HJ, Rujescu D. Anger- and aggression-related traits are associated with polymorphisms in the 5-HT_{2A} gene. *J Affect Disord.* 2006;96(1-2):75-81.
73. Jokela M, Lehtimäki T, Keltikangas-Järvinen L. The influence of urban/rural residency on depressive symptoms is moderated by the serotonin receptor 2A gene. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2007;144B(7):918-22.
74. Prado-Lima PAS, Chatkin JM, Taufer M, Oliveira G, Silveira E, Neto CA, et al. Polymorphism of 5HT_{2A} serotonin receptor gene is implicated in smoking addiction. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2004;128B (1):90-3.
75. Arranz M, Collier D, Sodhi M, Ball D, Roberts G, Price J, et al. Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT_{2A} receptor gene. *Lancet.* 1995;346(8970):281-2.

-
76. Zhang HY, Ishigaki T, Tani K, Chen K, Shih JC, Miyasato K, et al. Serotonin2A receptor gene polymorphism in mood disorders. *Biol Psychiatry*. 1997;41(7):768-73.
77. Bondy B, Spaeth M, Offenbaecher M, Glatzeder K, Stratz T, Schwarz M, et al. The T102C polymorphism of the 5-HT2A-receptor gene in fibromyalgia. *Neurobiol Dis*. 1999;6(5):433-9.
78. Yamada S, Akita H, Kanazawa K, Ishida T, Hirata K, Ito K, et al. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2000;150(1):143-8.
79. Olesen OF, Bennike B, Dam H, Mellerup E. Association of the 5-HT2A receptor gene polymorphism 102T/C with ischemic stroke. *J Mol Neurosci*. 2006;30(3):323-8.
80. Schwanke CHA, Bittencourt L, Noronha JAP, Augustin SAJ, Jung IE, Cruz IB. Is there an association between T102C polymorphism of the serotonin receptor 2A gene and urinary incontinence? *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(10):1315-22.
81. Prado-Lima PAS, Cruz IB, Schwanke CH, Netto CA, Licinio J. Human food preferences are associated with a 5-HT(2A) serotonergic receptor polymorphism. *Mol Psychiatry*. 2006;11(10):889-91.
82. Flores GAL. Construção de um modelo de avaliação pluritemática da saúde de idosos socialmente ativos [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2000. 80 p.
83. Flores GAL, Cru AAM, Taufer M, Sivieiro J, Nascimento NMR, Canto MEP, et al. Indicadores de saúde dos idosos participantes do Projeto Gravataí. *Rev Med PUCRS*. 2003;13(4): 393–9.
84. Jobim PFC, Prado-Lima PAS, Schwanke CHA, Giugliane R, Dallepiane LB, Cruz IBM. The serotonin-2A receptor T102C polymorphism is associated with age in a Brazilian population. *Braz J Med Biol Res*. 2008 (no prelo).

-
85. Schäfer W, Abrams P, Liao L, Mattiasson A, Pesce F, Spangberg A, et al. Good urodynamic practices: uroflowmetry, filling cystometry, and pressure-flow studies. *Neurourol Urodyn*. 2002;21(3):261-74.
86. Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991;19(19):5444. [acesso 2008 out 25]. Disponível em:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=328920&blobtype=pdf>.
87. Waaser-Smoller S. *Biostatistics and epidemiology*. 2nd ed. New York: Spriger; 1995. 185 p.
88. Borges-Osório MR, Robinson WM. Genética de populações. In: Borges-Osório MR, Robinson WM. *Genética humana*. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2001. p.192-208.
89. Resnick NM, Yalla SV. Management of urinary incontinence in the elderly. *N Engl J Med*. 1985;313(13):800-5.
90. Verga M, Macciardi F, Cohen S, Pedrini S, Smeraldi E. No association between schizophrenia and the serotonin receptor 5HTR2a in na Italian population. *Am J Med Genet*. 1997;74(1):21-5.
91. Holroyd-Leduc JM, Tannenbaum C, Thorpe KE, Straus SE. What type of urinary incontinence does this woman have? *JAMA*. 2008;299(12):1446-56.
92. Radley SC. Differential diagnosis of stress urinary incontinence. *BJU Int*. 2004;94(Suppl 1):4-7.
93. Groth T, Guralnick ML, O'Connor RC. Review of female stress urinary incontinence. *Minerva Med*. 2007;98(3):203-9.

-
94. Mbaki Y, Ramage AG. Investigation of the role of 5-HT₂ receptor subtypes in the control of the bladder and the urethra in the anaesthetized female rat. *Br J Pharmacol*. 2008;155(3):343-56.
95. Griffiths D, Tadic SD. Bladder control, urgency, and urge incontinence: evidence from functional brain imaging. *Neurourol Urodyn*. 2008;27(6):466-74.
96. Correa H, De Marco L, Boson W, Nicolato R, Teixeira AL, Campo VR, et al. Association study of T102C 5-HT_{2A} polymorphism in schizophrenic patients: diagnosis, psychopathology, and suicidal behavior. *Dialogues Clin Neurosci*. 2007;9(1):97-101.
97. Underwood MD, Mann JJ, Huang YY, Arango V. Family history of alcoholism is associated with lower 5-HT_{2A} receptor binding in the prefrontal cortex. *Alcohol Clin Exp Res*. 2008;32(4):593-9.
98. International Association of Gerontology and Geriatrics (IAGG). Basic Contents for Undergraduate Medical Teaching. [capturado 2009 Abr 8]. Disponível em: <http://www.iagg.com.br/PdfNoticias/IAGG200831110919.pdf>
99. Drach GW. Care of the geriatric urology patient. *A.U.A. News*. 2008;13(4):15-7. [acesso 2008 out 25]. Disponível em: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/112978.php>.

APÉNDICE A

1.SIM 2.NAO Quantos episódios na
noite:.....

***Enurese** (acorda molhada à noite):
1.SIM 2.NÃO Quantas vezes à
noite:.....

***Utiliza algum tipo de proteção:**
1. SIM 2. NÃO
Que
tipo:.....
Quantos são trocados por: Dia..... Noite.....

*** Tempo de evolução:**
1. < 1ano 2.> 1 ano 3.>2 anos 4.>3 anos 5.> 4 anos 6
>5anos

*** A incontinência urinária representa para senhora um problema :**
1.Higiênico 2.Social 3.Emocional 4.Juntos

* Incontinência fecal:
1. SIM 2.NÃO
Com que freqüência:
1. uma x dia 2.duas x dia 3. > 2 x dia
4. eventualmente 5. 1 x por semana 6. outros

3. antecedentes clínicos: 1. SIM 2.NÃO
*Que tipo:.....

4. Uso de Medicamentos: 1.SIM 2.NÃO
* Que tipo de doença:.....

5.Cirurgias Previas: 1.SIM 2.NÃO
*Que tipo:.....

6. Usa aparelhos/recebe ajuda para se movimentar: 1.SIM 2.NÃO
* Que tipo:.....

7. Infecção urinária no passado: 1.SIM 2. NÃO
* Que freqüência:.....

APÉNDICE B

ORIGINAL ARTICLE

Association Between T102C Polymorphism of Serotonin 2A Receptor Gene and Urinary Incontinence in Older Women

Jorge Antônio Pastro Noronha, PhD, MD,* Carla Helena Augustin Schwanke, MD, PhD,†
Denise Cantarelli Machado, PhD,‡ Rafael Braga, MD,§ Jeremia Mistrello Lubianca, MD,||
Fabiane Lorenzoni Sesti, MD,¶ Aloysio Floriano de Toledo, PhD,*
and Ivana Beatrice Mânica da Cruz, PhD**

Background: The bladder's regulatory function is influenced by central serotonergic modulation. T102C polymorphism of the serotonin 2A (5-HT_{2A}) receptor gene is associated with urinary incontinence (UI) that has been reported by older community dwellers. We analyzed the association between 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism and urodynamic tests for UI in older women.

Methods: A case-control study was performed with 68 older women submitted to urodynamic evaluation and 162 older women without urinary problems (self-reported), all community dwellers enrolled in the Gravatai-GENESIS Project, Brazil. Clinical interviews, complete urodynamic evaluation following the International Continence Society Report on Good Urodynamic Practice (case group), and molecular analyses were performed (case and control groups). Serotonin 2A receptor gene genotyping was carried out by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism using the restriction enzyme *HpaII*. We excluded patients with diabetes mellitus, neurologic damage, and diuretic intake.

Results: The subjects' mean (SD) age was 68.1 (6.5) years (range, 60–92 years). We found an association between the TT genotype versus CC + CT genotypes and UI ($P = 0.013$; odds ratio, 2.69; 95% confidence interval, 1.37–5.29) and, in addition, an association with urgency UI, maximal cystometric capacity (TT, 349 mL; CC + CT, 429.5 mL [$P = 0.047$]), detrusor pressure at maximum cystometric capacity (TT, 11 cm H₂O; CC + CT, 6.75 cm H₂O [$P = 0.032$]), and detrusor compliance (TT, 34 mL/cm H₂O; CC + CT, 61.25 mL/cm H₂O [$P = 0.006$]).

Conclusions: We confirmed our previous findings of a genetic influence of the TT genotype on UI involving the serotonergic pathway among older women. Further investigations including 5-HT_{2A} expression in the bladder, pelvic floor, and striated sphincter muscle must be performed.

Key Words: serotonin 2A receptor, 5-HT_{2A} receptor, serotonin, genetic polymorphism, T102C polymorphism of the serotonin 2A receptor gene, 5-HT_{2A} gene polymorphism, urinary incontinence, urgency urinary incontinence, urodynamics, aged, female, older women

(*J Invest Med* 2010;58: 32–37)

Urinary incontinence (UI) is a problem with a significant impact on quality of life, affecting social, psychological, physical, and financial aspects, and has a higher prevalence in women, which is age related. Overactive bladder, characterized as a syndrome consisting of urgency with or without urge UI, is usually accompanied by frequency and nocturia. Approximately 30% of overactive bladder carriers have urinary leak.¹

Studies showed that serotonin (5-HT) metabolism is an important modulator of the procontinence voiding reflex. Serotonin is a monoamine neurotransmitter that is ubiquitously distributed throughout the peripheral and central nervous systems and modulates functions that are vital for survival.² Experimental studies in animals have revealed that spinal reflex circuits involved in voiding exhibit a dense serotonergic innervation because multiple 5-HT receptors are present. Activity in the serotonergic pathway generally enhances urine storage by facilitating the bladder sympathetic reflex pathway and inhibiting the parasympathetic voiding pathway.

Thus, 5-HT receptor antagonists and reuptake inhibitors are considered important targets for the development of new treatments of detrusor overactivity and UI, such as duloxetine.³ Studies have shown that 5-HT receptors in the Onuf nucleus facilitate sphincter contraction, increasing urethral resistance. Agonists that stimulate these receptors facilitate the guarding reflex, whereas antagonists that block these receptors inhibit this reflex.⁴

The 5-HT₂ receptor subfamily consists of 3 subtypes, A, B, and C, and the subtypes that are of interest in micturition are the 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. These receptors are believed to have an excitatory parasympathetic action, as they couple preferentially to Gq/11 to increase the hydrolysis of inositol phosphates and to elevate cytosolic (Ca²⁺), although little is known about its role in sphincter regulation.⁵

The regulation of bladder function via central serotonergic modulation of these sensory pathways has been a focus in the development of pharmacological treatments of bladder dysfunction.⁶ de Groat⁷ reviewed the influence of the central serotonergic mechanism on lower urinary tract function and concluded that in experimental animals, spinal reflex circuits involved in voiding exhibited (a) a dense serotonergic innervation, (b) multiple 5-HT receptors, and (c) sensitivity to 5-HT receptor agonists and antagonists and to 5-HT reuptake inhibitors. The author also postulated that although there is some evidence for serotonergic facilitation of voiding in the rat, most

From the *Serviço de Urologia, Hospital São Lucas and Faculdade de Medicina, †Instituto de Geriatria e Gerontologia, Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, ‡Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, §Faculdade de Medicina, and ||Instituto de Pesquisas Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; ¶Hospital Dom Vicente Scherer da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre; and **Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Porto Alegre, Brazil. Received June 30, 2009, and in revised form August 30, 2009. Accepted for publication September 3, 2009.

Reprints: Ivana Beatrice Mânica da Cruz, PhD, Av Ipiranga, 6690-601, Porto Alegre, RS, Brazil 90610-000. E-mail: ibmcruz@hotmail.com.

Supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil (Nos. 471233/2007-2 and 311231/2006-3), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brazil (No. 266/08), and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Copyright © 2010 by The American Federation for Medical Research
ISSN: 1081-5589
DOI: 10.2311/JIM.0b013e3181c04760

experiments in both the rat and the cat indicate that activation of the central serotonergic system can suppress voiding by enhancing the efferent control of the urethral outlet and by inhibiting parasympathetic excitatory input to the urinary bladder. In a review, Cohen⁸ concluded that there is marked species variability in responsiveness to 5-HT and indicated that contraction in response to 5-HT in the canine bladder is mediated by activation of the 5-HT₂ receptor.⁸

As the expression of 5-HT_{2A} receptors is controlled by nuclear genes, they can be influenced by genetic variations that could change their function. Epidemiological evidence suggests that some women have a genetic predisposition to the development of stress incontinence related to other structural and regulatory molecules other than 5-HT_{2A} receptors.⁹

The genetic polymorphism related to 5-HT metabolism, the T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene, has received considerable attention. Three genotypes, TT, CC, and TC, are possible. Although the T102C substitution does not alter amino acid sequence, there is evidence that total levels of 5-HT_{2A} receptor messenger RNA and protein in healthy people with the CC genotype are lower than those in healthy people with the TT genotype.¹⁰ Case-control studies have described an association between this polymorphism and several disturbances such as an association of the 102C allele with schizophrenia and other neuropsychiatric disorders¹¹ and with smoking¹² and an association between the T allele and nonfatal acute myocardial infarction.¹³ Recent investigations also described an association between the heterozygous genotype (TC) and poorest performance of prefrontal executive cognition in healthy adults.¹⁴

A previous investigation by our team described an association between the TT genotype and UI among elderly community dwellers in Brazil.¹⁵ In principle, we expected that TT carriers who have higher expression of membrane receptors should be more continent than TC and CC carriers because bladder relaxation is regulated indirectly by 5-HT and norepinephrine. Released at the medullary level, the role of both neurotransmitters is to facilitate bladder storage by increasing its capacity for accommodation (compliance). Serotonin acts by reducing acetylcholine activity (muscarinic receptors with parasympathetic activity), and norepinephrine causes relaxation of the detrusor by stimulation of its receptors, β_3 subtype adrenergic receptors (in humans), localized in the bladder body.¹⁶

Because detrusor relaxation and the gain in compliance are not sufficient to maintain continence, stimuli of the pudendal nerve produce an adjuvant action in this function, through the release of acetylcholine (nicotinic receptors) that reinforces the contraction of the sphincter muscles and of the pelvic pathway (increased urethral resistance). In addition, the stimulation of the adrenoceptor (α_1) of the proximal urethra, from the hypogastric nerves, reinforces the peripheral and central effector roles of the respective sympathetic and somatic controls or urethral function in the promotion of urinary continence.¹⁶

Because studies of urodynamic evaluation could be important in understanding the etiology of UI and in clinical application of this knowledge, we analyzed the association of T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene and urodynamic parameters in older women.

PATIENTS AND METHODS

We performed a case-control observational study. (1) Case group included women who were defined by the International Continence Society as having "any involuntary leakage of urine."¹⁷ First, we selected 84 incontinent older women who were seen at São Lucas Hospital during the period from July 2005

to December 2007, of whom 68 were without any associated diseases such as diabetes mellitus type 2 and use of diuretic drugs and neurodegenerative disturbances. It was possible not only to have the clinical and urodynamic analyses available but also to determine their 5-HT_{2A} genotype. (2) Control group included continent older women from 1058 older participants of the GENESIS Project (Gravatá City) that studies gene-environmental interactions in successful aging and age-related disease. We selected 162 continent older women (self-reported) with previous analysis of the T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene. (3) Population sample included 687 individuals (18–100 years old) who were previously investigated for the association of 5-HT_{2A} and longevity. We excluded first- and second-degree relatives of subjects previously included to avoid genetic frequency bias.¹⁸ We matched case and control subjects, and the sample age was 68.1 (6.5) years old (range, 60–99 years) showing no statistically significant difference between the 3 women groups evaluated.

Three UI subtypes were considered: incontinence of urgency, mixed, and stress incontinence. Stress UI is the complaint of involuntary leakage of urine on effort or exertion, or on sneezing or coughing. Urge UI is the complaint of involuntary leakage accompanied by, or immediately preceded by, a strong desire to void. Mixed incontinence is the complaint of involuntary leakage associated with urgency and also with exertion, effort, sneezing, or coughing; nocturnal enuresis is the complaint of loss of urine during sleep (the original definition of enuresis has been reassessed as that of any involuntary loss of urine).¹⁹

The study was submitted to the research ethics committee of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul affiliated with Conselho Nacional de Saúde, and the study protocol was approved (document numbers 226/01, 797/01, and 481/06). Written informed consent was obtained from all participants.

Urinary Evaluation

The urinary evaluation consisted of a clinical history, targeted physical examination, and urodynamic evaluation, which were all performed by the principal investigator. The apparatus used was the multichannel Urosystem Viotti (São Paulo, Brazil) using the criteria recommended by the Subcommittee on Standardization and Terminology of the International Continence Society (uroflowmetry, measure of post-voiding or bladder residual, filling cystometry, and pressure flow studies).²⁰ Control subjects were first evaluated by geriatric investigators, and the UI state was then confirmed by the same investigator who performed additional analysis in UI subjects.

Polymorphism Analysis

Serotonin 2A receptor gene polymorphism was determined from DNA isolated from lymphocytes using an extraction kit. Genotyping of the T102C polymorphism was performed by the polymerase chain reaction (PCR) method proposed by Warren et al.,²¹ with minor modifications performed by do Prado-Lima et al.¹² Briefly, standard PCR was carried out in a 25- μ L volume containing 100-ng genomic DNA, 200 μ mol/L of each deoxyribonucleotide triphosphate, 1.5-mmol/L MgCl₂, 250 nmol/L of the sense (5'-TGTGCTACAAG TTCTGGCTT-3') and antisense (5'-GTGCA GTTTTTCT CTAGGG-3') primers, and 0.6-U DNA Taq polymerase. The PCR products were digested with *Hpa*II (BM), and the digestion products were separated by electrophoresis and visualized under UV light. The 102T allele PCR products remained uncut, with a single-DNA band of 342 base pairs, whereas the 102C allele showed 2 bands of 216 and 126 base pairs.

TABLE 1. Allele and Genotype Frequencies of the T102C Polymorphism of the 5-HT_{2A} Receptor Gene

Genotype	Incontinent, n = 68, n (%)	Continents, n = 162, n (%)	Population Sample, n = 687, n (%)
TT	25 (34.8) ^a	28 (17.0) ^b	148 (21.5) ^b
CC	13 (19.3)	38 (23.3)	114 (16.6)
TC	30 (45.9)	96 (59.7)	425 (61.9)
Allele frequency			
T	0.578	0.468	0.524
C	0.422	0.532	0.476

Different superscripted letters indicate statistical differences ($P < 0.05$ by the χ^2 test).

The genotyping data were subjected to the following quality measures. (a) Before the sample analysis was performed, a pilot genotyping analysis ($N = 50$) was conducted to verify the reliability of the 2 investigators in charge of these analyses in the study, which showed 100% concordance. (b) All genotyping data were recorded in a notebook with numbered pages. (c) When the image conditions were unsatisfactory, the genotyping sample was prepared anew. Furthermore, to improve the accuracy of the interpretation of our genotyping analyses, we used the Image Master VDS and Fuji Film Photography System FTI-500 (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden).

Statistical Analysis

The allele and genotype frequencies were tested for Hardy-Weinberg equilibrium among cases, controls, and population groups. The significance of allele frequency or genotype distribution among case-control volunteers was examined by the nonparametric χ^2 or Fisher exact test (2 tailed). Statistical analyses were performed using the SPSS/PC Statistical Package Version 11.0 (SPSS Inc, Chicago, IL). All P values were 2 tailed, and $P < 0.05$ was considered as statistically significant.

RESULTS

Baseline characteristics and T102C genotype and allele frequencies of control and case volunteers included in the study are described in Table 1.

The genotype frequencies for the 3 groups investigated were in Hardy-Weinberg equilibrium. Women with UI had a frequency of the TT genotype significantly greater in relation to continent women and in relation to the general sample of the population.

Additional statistical analysis was carried out to test dose-effect for the association of incontinence and T allele. The results showed that women with TT genotype had a significantly greater risk of UI than TC + CC women ($P = 0.013$; odds ratio, 2.69; 95% confidence interval, 1.37–5.29). On the other hand, women with CC genotype did not show this significant difference compared with TT women ($P = 0.385$; odds ratio, 0.68; 95% confidence interval, 0.33–1.4).

The urodynamic data compared in the 3 genotypes are presented in Table 2 as variations in medians and interquartiles

TABLE 2. Association Between Urodynamic Data and Genotypes of 5-HT_{2A} Gene

Variable	TT, n = 25, Median (IR)	CT, n = 30, Median (IR)	CC, n = 13, Median (IR)	P^*	P^\dagger , TT × TC/CC
Uroflowmetry					
Maximum flow rate, mL per segment	8 (0–21) ^a	8 (0–18.5) ^a	10 (7.5–20) ^a	0.722	0.923
Voided volume, mL	104 (18.5–243) ^a	115 (0–302) ^a	130 (83–263) ^a	0.791	0.622
Postvoid residual, mL	40 (0–75) ^a	49 (0–125) ^a	75 (0–185) ^a	0.664	0.368
Filling cystometry (H₂O – 50 mL/min)					
First desire to void, mL	147 (110–200) ^a	162 (107–268) ^a	149 (111–194) ^a	0.833	0.750
P_{det} , first desire to void, cm H ₂ O	4 (3.5–7.5) ^a	4 (2.8–10) ^{ab}	3 (1.5–4) ^b	0.026	0.216
ALLP, cm H ₂ O	70.5 (0–83.5) ^a	55 (9–88.5) ^a	83 (38–96) ^a	0.411	0.609
ALLP, volume, mL	209 (159–269) ^a	211 (180–284) ^a	265 (185–440) ^a	0.302	0.344
First IDC, mL	238 (102–422) ^a	154 (104–322) ^a	273 (36.5–402) ^a	0.827	0.594
P_{det} IDC, cm H ₂ O	13 (9–25) ^a	13 (8.5–21.5) ^a	12.5 (7.8–16.5) ^a	0.657	0.417
DLPP, cm H ₂ O	16 (9.5–28.5) ^a	14 (0–23.3) ^a	14.5 (0–32) ^a	0.896	0.650
Volume, DLPP, mL	247 (102–422) ^a	159 (0–393) ^a	76.5 (0–346) ^a	0.463	0.293
MCC, mL	349 (258–434) ^a	387 (308–451) ^b	472 (345–555) ^b	0.050	0.047
P_{det} , MCC EFP, cm H ₂ O	11 (5.5–17.5) ^a	7.5 (4.8–12.3) ^b	6 (4–8.5) ^b	0.059	0.032
Bladder compliance, mL/cm H ₂ O	34 (16–59) ^a	46.5 (35.8–87.5) ^b	76 (63–103) ^c	0.004	0.006
Pressure flow studies					
Voided volume, mL	280 (214–380) ^a	325 (128–450) ^a	420 (197–503) ^a	0.145	0.129
Maximum flow rate, Q_{max} , mL per segment	15 (9–26) ^a	15 (9.5–23.3) ^a	21 (14.5–31) ^a	0.310	0.584
Pressure at Q_{max} , cm H ₂ O	10 (5.5–27) ^a	9.5 (0–17.5) ^a	6 (2–24.5) ^a	0.854	0.600

Different superscripted letters indicate statistical differences ($P < 0.05$).

*Kruskal-Wallis test.

†Mann-Whitney U test.

ALLP indicates abdominal leak point pressure; IDC, involuntary detrusor contraction; MCC, maximum cystometric capacity; DLPP, detrusor leak point pressure; IR, interquartile range (P25–P75); P_{det} , detrusor pressure.

TABLE 3. Association Between Physical Examination and Urodynamic Evaluation With Genotypes of 5-HT_{2A} Gene

Variable	TT, n = 25, n (%)	CT, n = 30, n (%)	CC, n = 13, n (%)	P*	P*, TT × TC/CC
Uroflowmetry					
Urine flow smooth	11 (64.7)	14 (60.9)	7 (63.6)	0.967	1.000
Pelvic organ prolapse					
Yes	14 (56.0) ^a	20 (66.7) ^a	8 (61.5) ^a	0.720	0.626
No	11 (44.0)	10 (33.3)	5 (38.5)		
Idiopathic detrusor overactivity (n = 67)					
With (31)	13 (52.0) ^a	14 (46.7) ^a	4 (33.3) ^a	0.566	0.637
Normal detrusor function (36)	12 (48.0)	16 (53.3)	8 (66.7)		
Functional voiding (n = 60)					
Mixed	7 (30.4) ^a	3 (12.0) ^a	4 (33.3) ^a	0.175	0.453
Detrusor	12 (52.2)	15 (60.0)	2 (16.7)		
Abdominal	2 (8.7)	4 (16.0)	4 (33.3)		
Urethral relaxation	2 (8.7)	3 (12.0)	2 (16.7)		
Urinary leakage				0.04	0.02
Incontinence of urgency	11 (44.0) ^a	06 (19.4) ^b	01 (7.7) ^b		
Stress incontinence	06 (24.0)	16 (54.8)	06 (46.2)		
Mixed UI	08 (32.0)	08 (25.8)	06 (46.2)		
UI					

Different superscripted letters indicate statistical differences ($P < 0.05$).

*Level of significance (χ^2 test).

(analyzed by a nonparametric test because most of the quantitative variables did not show a normal distribution).

The physical examination and urodynamic data are presented in Table 3.

As can be seen, genotype TT carriers showed significantly greater detrusor pressure at first desire to void than did CC carriers. The TT group also displayed a lower maximum cystometric capacity (than did TC and CC carriers) and reduced bladder compliance.

In the comparison of the additional urodynamic findings, a significant difference was observed in the type of UI in relation to genotype (Table 3). In the case group, TT carriers showed greater prevalence of urgency UI, whereas carriers of the genotypes CC and TC showed a greater prevalence of stress UI. The prevalence of mixed UI was similar among these genotypes.

DISCUSSION

In the present study, we investigated the association of the T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene with UI in older women who live in a senior community and submitted to urodynamic analysis.

We found a significant association between TT and general UI when we compared the genotype and allele frequencies between case and control older women and when we compared the case group and a general population sample. However, when we analyzed the incontinence subtypes just in incontinent older women who underwent a urodynamic evaluation, we also found differences between 5-HT_{2A} genotypes carriers. Older women with TT showed a higher frequency of urge incontinence than did CC and TC carriers. This association is explained when we observed in urodynamic evaluations that TT carriers had a detrusor pressure of first desire to void, higher detrusor pressure, lower volume at maximum cystometric capacity, and reduction of bladder compliance. Therefore, we suggest that the TT geno-

type is associated with risk of UI and that among the different UI subtypes, TT carriers have higher risk of urge incontinence than stress and mixed incontinences when compared with CC and TC carriers.

The results obtained confirmed the association between voiding dysfunction and the polymorphism investigated that was previously described by Schwanke et al.¹⁵ The importance of these results is based on the following aspects. (1) The study conducted by Schwanke et al. had a different experimental design in which older community dwellers were selected and genotyped for the T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene, and tests were performed as indicators of their health including UI. (2) The sample size was relatively small, and UI was evaluated only based on self-reporting by the older individuals. Thus, the presence of biases could have influenced the results obtained producing a false-positive association; (3) because it was a preliminary investigation, no complementary urologic evaluation with a urologic and urodynamic clinical anamnesis had been done. (4) Despite the limitations of the study by Schwanke et al., it is of extreme importance because investigations of the role of 5-HT receptors in urinary incontinence are a current theme in urologic research, being very actively pursued in animal models and in humans in a more limited manner. The importance of these studies is related, for example, to the use of 5-HT reuptake inhibitors that are used in the treatment of UI. Despite the wide use of these medications, as in the case of duloxetine, studies are lacking in serotonergic physiologic dynamics. (5) In addition, there is a need for more studies on the influence of the gene-environment interaction in UI associated with biological aging because this disturbance is highly prevalent in older women independent of other risks.

The importance of investigating urodynamic aspects in the association of UI with genetics is based on the following considerations. An adequate investigation of UI should be based primarily on clinical history. Urodynamics as a science

applicable in the clinic is relatively recent. Technological advances have broadened their use in the investigation of physiopathologic states of bladder function. The indication for complementary diagnostic urodynamic investigation has been discussed for female patients with a classic history of stress UI and for older individuals with good response to initial conservative treatment of UI. Despite being an invasive method, it is considered the method of choice in the investigation of dysfunction of the lower urinary tract. In the case group, the clinical and urodynamic evaluation of UI of older persons should be indicated for patients in situations of obtaining some type of benefit from this assessment, that is, if it influences the choice and success of treatment.²²

When the urodynamic data were compared among the 3 genotypes, it was seen that TT carriers showed a significantly higher pressure at first desire to void, higher detrusor pressure, and smaller volume at maximum cystometric capacity, besides reduced bladder compliance. This picture is compatible with the physiologic aspects directly related to the symptoms of UI. In addition, these results were reinforced by the occurrence of a greater prevalence of urge UI in TT carriers, whereas women with the CC and TC genotypes had a higher prevalence of stress UI.

What is the possible functional role of the 5-HT_{2A} in increasing the risk or worsening of UI in older individuals? If we consider the role of 5-HT/receptors in the control of micturition and T102C polymorphism, we can make the following statements:

- (1) There is evidence that the TT genotype results in approximately 20% more 5-HT_{2A} than CC genotype and thereby would show greater response to 5-HT in its target tissues.
- (2) The physiologic process of urination, which involves the relaxation of the bladder's body and the contraction of the urethral complex, is influenced by 5-HT, through an indirect action, in combination with other neurotransmitters;
- (3) The pharmacologic treatment of this condition uses 5-HT reuptake inhibitors in the synapse to enhance continence.

It would be expected that TT individuals make up procontinents instead of proincontinents. This apparent paradox seems to have its origin in a complex network of relationships that involve the interaction of various 5-HT receptors with respect to their expression and localization and the differential interaction of 5-HT with other regulatory substances with or without neural action.

Animal model studies are currently exploring the role of serotonergic receptors in different tissues of the lower urinary tract via medullary or supramedullary routes that are involved in micturition control. Most investigations analyze the action of agonists and antagonists of these receptors in the voiding response. Mbaki and Ramage²³ published a study on the role of 5-HT_{2A} receptors in the regulation of micturition. These authors pointed out that these receptors are especially implicated in the control of the urethra; which is the target in the treatment of UI, such as duloxetine. The study was conducted in anesthetized female rats for the purpose of determining the role of each of 3 subtypes of 5-HT₂ receptors (A, B, and C) in sphincter regulation. The effects of agonists and antagonists were determined in each of the receptor subtypes about the pressure of the urethra, the bladder, and the external urethral sphincter, to voiding reflex induced by bladder distention and also to systemic arterial pressure and heart rate. The results showed that the 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors located in the sacral medulla activated the striated external sphincter, whereas the 2C receptors inhibited

voiding reflex and the 2B receptors probably acted at the level of the urethra, augmenting the tone of the sphincter smooth muscles. Besides this, the study showed that the 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C} receptors did not play an important role in the physiologic regulation of micturition. However, the 2A receptors seem to be involved in the voiding reflex through the activation of the striated urethral sphincter. The reason is that in the presence of antagonists of the 2A receptor, as in the case of ketanserin and MDL100907, there was an increase in the volumetric capacity of the bladder and inhibition of its isovolumetric contractions. Although this was a study in an experimental model with limitations with respect to translation to humans, this information suggests that the increase in the expression in the 2A receptor in the detrusor muscle of the bladder could diminish the induction of its relaxation and cause difficulty in urine storage and, consequently, setting off the voiding reflex.

Another study examined the changes in response of the detrusor muscle via 5-HT receptors in diabetic rats by analyzing segments of detrusor muscle treated with saline to induce isometric contraction and with 5-HT receptor antagonists to induce relaxation. Regarding these results, it is important to point out that the 5-HT_{2A} receptor antagonists inhibited the contractile response of 5-HT in a dose-dependent manner.²⁴

Xu et al.²⁵ found a preferential localization of 5-HT_{2A} expression in striated muscles in pelvic floor with a paracrine mode of action (showing inhibitory or excitatory responses or even variable intensity through the regulation of other serotonergic or nonserotonergic receptors such as noradrenergic and cholinergic receptors) and very weak expression in Onuf nucleus in female rats.

Although the previously cited studies were carried out in experimental models, the results of these 2 studies are in agreement with our urodynamic findings described here. The reason is that carriers of the TT genotype showed only higher pressure and smaller volume of maximal cystometric capacity and reduced compliance, which indicates an action of the 5-HT_{2A} receptor in the modulation of bladder contraction. Unfortunately, a review of the literature did not show similar studies in humans that could support this hypothesis.

Tissue expression of the receptors in various anatomic segments could confirm and elucidate the role of the 2A receptor in the modulation of bladder and sphincter activities. Such strategy is part of the future aims of our research.

CONCLUSIONS

We confirmed the previous findings of a genetic influence of 5-HT_{2A} on UI in older women related to the TT genotype. Further investigations including 5-HT_{2A} expression in the bladder, pelvic floor, and striated sphincter muscle must be performed in humans.

ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to Dr Albert Leyva (Research Publications, Kansas City, MO) for English editing, Dr Ceres Oliveira for statistical analysis, Rosária Geremia for review of references, and Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul for the doctoral fellowship awarded to Jorge Noronha.

REFERENCES

1. Wein AJ, Rovner ES. Definition and epidemiology of overactive bladder. *Urology*. 2002;60:7-12.

2. Thor KB, Kirby M, Viktrup L. Serotonin and noradrenaline involvement in urinary incontinence, depression and pain: scientific basis for overlapping clinical efficacy from a single drug, duloxetine. *Int J Clin Pract.* 2007;6:1349–1355.
3. Khaled SM, Elhilali M. Role of 5-HT receptors in treatment of overactive bladder. *Drugs Today (Barc).* 2003;39:599–607.
4. Thor KB. Serotonin and norepinephrine involvement in efferent pathways to the urethral rhabdosphincter: implications for treating stress urinary incontinence. *Urology.* 2003;62:3–9.
5. Ramage AG. The role of central 5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin) receptors in the control of micturition. *Br J Pharmacol.* 2006; 147:S120–S131.
6. Burgard EC, Fraser MO, Thor KB. Serotonergic modulation of bladder afferent pathways. *Urology.* 2003;62:10–15.
7. de Groat WC. Influence of central serotonergic mechanisms on lower urinary tract function. *Urology.* 2002;59:30–36.
8. Cohen ML. Canine, but not rat bladder contracts to serotonin via activation of 5HT₂ receptors. *J Urol.* 1990;143:1037–1040.
9. Twiss C, Triaca V, Rodriguez LV. Familial transmission of urogenital prolapse and incontinence. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2007;19:464–468.
10. Poleskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT_{2A} receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res.* 2002; 67:812–822.
11. Correa H, De Marco L, Boson W, et al. Association study of T102C 5-HT_{2A} polymorphism in schizophrenic patients: diagnosis, psychopathology, and suicidal behavior. *Dialogues Clin Neurosci.* 2007;9:97–101.
12. do Prado-Lima PA, Chatkin JM, Taufer M, et al. Polymorphism of 5HT_{2A} serotonin receptor gene is implicated in smoking addiction. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2004;128B:90–93.
13. Yamada S, Akita H, Kanazawa K, et al. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2000;150:143–148.
14. Lane HY, Liu YC, Huang CL, et al. Prefrontal executive function and D1, D3, 5-HT_{2A} and 5-HT₆ receptor gene variations in healthy adults. *J Psychiatry Neurosci.* 2008;33:47–53.
15. Schwanke CH, Bittencourt L, Noronha JA, et al. Is there an association between T102C polymorphism of the serotonin receptor 2A gene and urinary incontinence? *Braz J Med Biol Res.* 2007;40:1315–1322.
16. Michel MC, Oelke M, Peters SLM. The neuro-urological connection. *Eur Urol Suppl.* 2005;4:18–28.
17. Abrams L, Cardozo M, Fall M, et al. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-Committee of the International Continence Society. *NeuroUrol Urodyn.* 2002;21:167–178.
18. Jobim PFC, Prado-Lima PAS, Schwanke CHA, et al. The serotonin-2A receptor T102C polymorphism is associated with age in a Brazilian population. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41:1018–1023.
19. Schäfer W. Some biomechanical aspects of continence function. *Scand J Urol Nephrol.* 2001;207:44–60.
20. Abrams P, Cardozo L, Fall M, et al. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-Committee of the International Continence Society. *Urology.* 2003;61:37–49.
21. Warren JT Jr, Peacock ML, Rodriguez LC, et al. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR₂): detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet.* 1993;2:338.
22. Holroyd-Leduc JM, Tannenbaum C, Thorpe KE, et al. What type of urinary incontinence does this woman have? *JAMA.* 2008; 299:1446–1456.
23. Mbaki Y, Ramage AG. Investigation of the role of 5-HT₂ receptor subtypes in the control of the bladder and the urethra in the anaesthetized female rat. *Br J Pharmacol.* 2008;155:343–356.
24. Kodama M, Takimoto Y. Influence of 5-hydroxytryptamine and the effect of a new serotonin receptor antagonist (sarpogrelate) on detrusor smooth muscle of streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat. *Int J Urol.* 2000;7:231–215.
25. Xu C, Giuliano F, Sun XQ, et al. Serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{5A} receptors are expressed by different motoneuron populations in rat Onuf's nucleus. *J Comparative Neurol.* 2007;502:620–634.

ANEXO A

Ofício 481/06-CEP

Porto Alegre, 08 de maio de 2006.

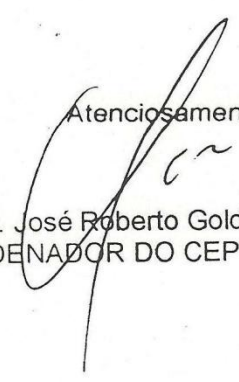
Senhor(a) Pesquisador(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 06/03038, intitulado: **"Associação do polimorfismo genético do receptor 2A da serotonina / (5-HT2A) com incontinência urinária em idosos"**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parcial e final da pesquisa devem ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente,


Prof. Dr. José Roberto Goldim
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)
Dout Jorge Antonio Pastro Noronha
N/Universidade

ANEXO B

Porto Alegre, 10 de outubro de 2005.

Ilmo. Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS

Venho, por meio desta, declarar que concedo ao doutorando Jorge Antônio Pastro Noronha, do Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde, a utilização do banco de dados da minha tese que envolve o polimorfismo genético T102C do receptor 2A da serotonina de idosos socialmente ativos do município de Gravataí-RS.

Atenciosamente,


Carla H. A. Schwanke, MD, PhD

Co-orientadora

ANEXO C

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.
(Obrigatório para pesquisa científica em seres humanos)
Resolução 196/96 do C N Saúde do Ministério da Saúde – 10.10.1996.

O curso de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde, ênfase em Geriatria da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul está desenvolvendo um projeto de pesquisa sob o título de "ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DO RECEPTOR 2A DA SEROTONINA (5-HT_{2A}) COM INCONTINÊNCIA URINÁRIA EM IDOSOS.

As doenças crônicas agravam a saúde dos idosos, trazendo, com elas, dificuldades progressivas e a necessidade de atenção especial. A perda de urina, por exemplo, é uma destas condições crônicas, é o sintoma que mais atrapalha os idosos e seus familiares e, como conseqüências traz assaduras, quedas e fraturas, infecções e depressão. Todos estes fatos juntos vão reduzir as atividades diárias da maioria destas pessoas.

De maneira geral, muitas doenças podem ser evitadas quando se descobrem fatores de risco, fatores que aumentam a chance de uma doença se manifestar ou evoluir. Muitos fatores de risco genéticos (herança de sangue) e ambientais podem aumentar as chances de uma pessoa vir a desenvolver tais doenças. Isso porque existem diversos genes que possuem polimorfismos genéticos associados ao aumento da instalação de tais doenças que já foram identificados.

Nosso projeto de pesquisa tem por objetivo analisar a associação entre polimorfismo genético e a perda de urina (incontinência urinária) em idosos.

A candidata que concordar em participar desta pesquisa, de maneira voluntária, selecionada ao acaso, a partir de sua Avaliação Urodinâmica armazenada no Banco de Dados do Setor de Urodinâmica do Hospital São Lucas da PUCRS, irá coletar uma amostra de sangue da veia para análise de um destes fatores que pode estar relacionado com a perda de urina.

A amostra de sangue da veia será obtida com seringa descartável a vácuo (Vacutainer) e o material será encaminhado para o Laboratório de Imunologia do Instituto de Pesquisa Biológicas da PUCRS.

Sua participação é isenta de pagamentos e, a senhora que se recusar a participar, não sofrerá nenhum tipo de problema ou prejuízo aos seus cuidados. Sempre que alguém colaborar nesta pesquisa, estará possibilitando a melhoria do conhecimento e entendimento deste problema, permitindo assim preveni-lo ou aliviá-lo.

Eu,....., fui informada dos objetivos deste projeto de pesquisa de forma clara e detalhada. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos ou mesmo me retirar da pesquisa em qualquer momento. Também me foi garantido pelo pesquisador, sigilo que assegure a privacidade dos dados confidenciais envolvidos na pesquisa. Além disso, poderei chamar o Dr Jorge Antonio Pastro Noronha pelo telefone (051) 9987 2955 para sanar eventuais dúvidas durante o período da pesquisa. Declaro ainda ter recebido cópia do presente Termo Consentimento Livre e Esclarecido.

Porto Alegre, / / .