

# A dessensibilização das fibras-C vesicais induz uma melhoria duradoura nos sintomas de armazenamento associados à HBP. Um estudo piloto

.....

João Silva†, Paulo Dinis†, M<sup>a</sup> José Ribeiro†, António Avelino‡, Mário Reist†,  
Francisco Cruz†‡

†Serviço de Urologia, Hospital de S. João, Porto

‡Instituto de Histologia e Embriologia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Correspondência: João Silva – R. de Courados, 247 – 4490-539 Póvoa de Varzim – Tel: 936 205 406 – e-mail: jfalturas@yahoo.com

## Resumo

**Objectivos:** Avaliar o efeito da dessensibilização das fibras-C vesicais nos sintomas de armazenamento do tracto urinário inferior (LUTS) associados à Hiperplasia benigna da próstata (HBP).

**Métodos:** Doze doentes com LUTS associados à HBP assinaram um consentimento informado para entrarem neste estudo. Foi avaliado o IPSS, bem como, o seu impacto na qualidade de vida; foi preenchido o mapa miccional; foram realizadas uma urofluxometria e uma cistometria; sendo, posteriormente, elaborada a avaliação do resíduo pós-miccional. Estes procedimentos realizaram-se no início do estudo, no primeiro e no terceiro mês após uma administração intravesical única de solução de RTX a 50nM.

**Resultados:** O IPSS médio diminuiu de  $20.1 \pm 6.0$  para  $10.5 \pm 4.4$  ao primeiro mês ( $p=0.0002$ ) e para  $10.3 \pm 4.4$  aos três meses ( $p=0.0002$ ). O impacto na qualidade de vida diminuiu de  $4.5 \pm 1$  para  $2.5 \pm 0.9$  ao primeiro mês ( $p=0.0001$ ) e para  $2.2 \pm 1$  aos três meses ( $p=0.0002$ ). A frequência urinária média diminuiu de  $15.2 \pm 8.5$  para  $10.8 \pm 7.3$  ( $p=0.0002$ ) no primeiro mês e para  $10.3 \pm 5.2$  aos três meses. A incontinência por imperiosidade, presente inicialmente em seis doentes, desapareceu em quatro doentes e diminuiu para menos de metade dos episódios noutros dois doentes. A capacidade cistométrica máxima e o primeiro desejo miccional aumentaram significativamente após a administração de RTX, não havendo alterações nos valores de fluxo máximo ou do resíduo pós-miccional.

**Conclusões:** A dessensibilização das fibras-C vesicais, através da administração intravesical de RTX, pode ser útil no tratamento de doentes com LUTS associados à HBP.

**Palavras chave:** HBP, hiperactividade vesical, RTX

## Abstract

**Objectives:** To evaluate the effect of bladder C-fibre desensitization on BPH-associated storage LUTS.

**Methods:** Twelve patients with BPH associated LUTS gave written informed consent for entering the study. IPSS was evaluated together with QoL scores. A micturition chart, an uroflowmetry, a cystometry and later on an evaluation for the post-void residue (PVR) were all obtained at the beginning of the study, in the first and third months after a single intravesical administration of 50 nM RTX solution.

**Results:** The mean IPSS score decreased from  $20.1 \pm 6.0$  to  $10.5 \pm 4.4$  in the first month ( $p=0.0002$ ), and to  $10.3 \pm 4.4$  in 3 months ( $p=0.0002$ ). The mean QoL score decreased from  $4.5 \pm 1$  to  $2.5 \pm 0.9$  in the first month ( $p=0.0001$ ), and to  $2.2 \pm 1$  in 3 months ( $p=0.00002$ ). The mean urinary frequency decreased from  $15.2 \pm 8.5$  to  $10.8 \pm 7.3$  in the first month ( $p=0.0002$ ), and to  $10.3 \pm 5.2$  in 3 months ( $p=0.001$ ). Urge incontinence, which was present in six cases, disappeared in 4 patients and decreased to less than a half in the other two. The maximal cystometric capacity and the first need desire to void increased significantly after RTX whereas Qmax and PVR were not altered.

**Conclusions:** Intravesical desensitization of bladder C fibres through intravesical RTX might be useful for treating patients with BPH associated LUTS.

**Key words:** BPH, bladder over activity, RTX

## Introdução

A polaquiúria, a imperiosidade, a noctúria e a incontinência por imperiosidade são altamente dominantes em doentes com hipertrofia benigna da próstata (HBP). Conhecidos colectivamente como sintomas do tracto urinário inferior (LUTS) de armazenamento, representam a principal razão pela qual os doentes com HBP procuram ajuda médica (1). Infelizmente, estes sintomas não são facilmente tratados ao nível médico. Os anticolinérgicos, que são eficazes no tratamento de sintomas semelhantes em doentes com bexiga hiperactiva, são, muito poucas vezes, prescritos em doentes com HBP, devido ao risco de comprometerem o esvaziamento vesical e de poderem despoletar uma retenção urinária (2). Por outro lado, os bloqueadores- $\alpha$  e os inibidores da 5- $\alpha$  reductase, que são eficazes na melhoria do esvaziamento vesical, estão longe de aliviar todos os doentes com HBP e LUTS, principalmente, quando estes sintomas são, predominantemente, de armazenamento. De facto, uma melhoria de 25% ou mais é apenas conseguida em 66% dos doentes tratados com tamsulosina (3), enquanto que o finas-

teride melhora clinicamente num terço a metade dos doentes tratados (4). Portanto, neste momento, é claro que as opções terapêuticas são limitadas e são necessárias outras alternativas para tratar os doentes com LUTS associados à HBP, predominantemente, de armazenamento.

Estudos recentes sugerem que os sintomas de armazenamento, em doentes com HBP, podem ser devidos a uma disfunção sensorial, envolvendo as fibras aferentes de tipo C da bexiga. A anestesia local da uretra prostática demonstrou um aumento de volume para a primeira sensação de micção e para a capacidade cistométrica máxima (5). Sabendo que a lidocaína é mais eficaz para anestesiarem as fibras-C do que as fibras A $\delta$ , a contribuição do aporte sensorial das fibras-C para uma sensibilidade anormal de bexiga é fortemente sugerida (5). Num outro estudo, Chai e colaboradores (6) revelaram que 71% dos doentes com HBP e obstrução infravesical apresentavam um resultado positivo para o teste da água gelada. Como sabemos que as contracções do detrusor induzidas pelo frio dependem de um circuito neuronal sagrado dependente das fibras-C, normalmente inactivo nos adultos normais (7), a ocorrência

de disfunção das fibras-C nos doentes com HBP é ainda mais reforçada. Conclusões semelhantes podem ser também retiradas de vários estudos realizados em modelos animais de obstrução infra-vesical crónica. Sob condições normais, a estimulação do nervo pélvico evoca uma actividade eferente parasimpática de latência longa, através da activação do reflexo miccional supra-espinhal mediado pelas fibras A $\delta$ . No entanto, em ratos, nos quais foi criada uma obstrução infravesical crónica, a estimulação do nervo pélvico induz uma resposta eferente parasimpática de curta latência, que precede a resposta de maior latência, sugerindo, desta forma, a ampliação do reflexo sagrado da micção dependente das fibras C (8). Embora os mecanismos, que levam à ampliação do reflexo espinhal da micção, estejam ainda sob investigação, o bloqueio do aporte sensorial das fibras-C vesicais pode constituir uma nova estratégia para tratar os sintomas do tracto urinário inferior de armazenamento em doentes com HBP. Estratégias semelhantes demonstraram já resultados na diminuição da polaquiúria, da imperiosidade e da incontinência por imperiosidade em doentes com formas neurogénicas (9, 10) e não neurogénicas (11, 12) de hiperactividade vesical, nos quais o reflexo da micção a nível espinhal está também facilitado. Para testar esta hipótese, procurámos saber se o RTX, análogo não pungente da capaicina (13), melhorava os sintomas de armazenamento em doentes com HBP. Como objectivo secundário, procurámos verificar se o RTX aumentava o volume vesical para a primeira micção e para a capacidade cistométrica máxima, sem interferir, por outro lado, no fluxo máximo e no volume pós-miccional.

## Material e Métodos

Doze doentes com LUTS associados à HBP participaram neste estudo, tendo assinado um consentimento informado para participação num protocolo previamente aprovado pela Comissão de Ética do nosso Hospital. Todos os doentes foram submetidos a uma avaliação hematológica e bioquímica básicas, exame bacteriológico da urina e avaliação ultra-sonográfica do aparelho urinário. Nenhum dos doentes apresentava dilatação do aparelho urinário alto, insuficiência renal, litíase vesical, retenção urinária ou infecção urinária. Para além disso, qualquer situação neurológica ou psiquiátrica

capaz de influenciar a função vesical foi também excluída. Dois doentes, que estavam a tomar bloqueadores  $\alpha$  há mais de seis meses, foram também incluídos, com o requisito de que a dose da medicação permaneceria inalterada ao longo de todo o estudo. Nenhum dos outros doentes estava medicado com fármacos capazes de alterar a função do tracto urinário inferior.

Antes da administração do RTX, foi avaliada a intensidade dos sintomas através do IPSS, bem como, o seu impacto na qualidade de vida e foi preenchido um mapa miccional de sete dias consecutivos. Foram também realizadas uma cistomanometria, uma urofluxometria e uma avaliação do resíduo pós-miccional num aparelho Dantec®. Para a realização da cistomanometria foi introduzida uma sonda 8Fr de duas vias, com uma velocidade de infusão de 50 ml/min e elaborada uma avaliação simultânea da pressão intravesical. Foram determinados os volumes para a primeira sensação de micção e para a capacidade cistométrica máxima.

O RTX foi obtido dos laboratórios Sigma e foi preparada uma solução a 50 nM, usando 10% etanol em soro fisiológico (SF) como veículo, imediatamente antes da instilação. Os doentes foram aliados com uma sonda Foley de três vias, permitindo a infusão de RTX e o registo simultâneo da pressão intravesical. Após a drenagem da urina, o balão da sonda foi insuflado com 10 ml de SF e mantido com uma ligeira tracção contra o colo vesical, de forma a impedir a passagem de solução para a uretra. Efetuou-se ainda uma única instilação de 100 ml de solução de RTX, deixando-a actuar por um período de 30 minutos. Os parâmetros vitais foram avaliados antes, durante e após a instilação. Para além disso, foi também pedido aos doentes que avaliassem o desconforto causado pela instilação de RTX, usando uma escala visual, em que o zero correspondia a nenhum desconforto e o 10 a uma dor tão intensa que requeresse a administração de terapêutica analgésica ou o esvaziamento da bexiga. No final do tratamento, o RTX foi evacuado, a bexiga foi lavada com SF e retirou-se a sonda vesical. Todos os doentes fizeram terapêutica antibiótica profilática.

Todos os doentes foram reavaliados um e três meses após o tratamento, com o IPSS, avaliação da qualidade de vida e um mapa miccional de sete dias consecutivos. A fluxometria, a cistometria de preenchimento e a avaliação do resíduo pós-miccional

foram realizadas sob profilaxia antibiótica em todos os doentes ao fim de um mês e repetida aos três meses em todos os doentes, excepto dois que se recusaram a realizar os exames.

Os dados são apresentados como o valor médio  $\pm$  desvio padrão, antes do tratamento, ao primeiro e ao terceiro mês. As médias foram comparadas usando o teste-t; um valor de “p” menor que 0.05 foi considerado significativo.

## Resultados

### Considerações gerais

Em geral, o RTX despertou séries de contracções fásicas do detrusor que se iniciaram rapidamente após o início da instilação e permaneceram durante o tratamento, embora se tornassem, cada vez mais, espaçadas. Durante estas contracções fásicas, os doentes referiam uma sensação urgente para urinar que desaparecia após a pressão do detrusor regressar a valores normais. Os doentes referiam ainda uma sensação de calor no hipogastro durante os minutos iniciais da instilação e que desaparecia gradualmente.

Não houve queixas de grande desconforto ou dor durante a instilação de RTX ou pedidos de medicação analgésica, apesar do facto de todo o procedimento ser realizado sem qualquer forma de anestesia. O valor médio do desconforto provocado foi de três na escala visual (0 a 10). O valor mínimo referido foi de zero em três doentes e o máximo de oito num doente. A pressão arterial e a frequência cardíaca permaneceram estáveis durante a instilação de RTX.

### Achados clínicos e urodinâmicos

Os valores do IPSS diminuíram ao fim de um e três meses em todos os doentes, uma melhoria de 25% ou mais foi encontrada em 10/12 (83%) ao primeiro mês e em 11/12 (91%) aos três meses. Podemos verificar que os valores médios do IPSS diminuíram de  $20.1 \pm 6.0$  antes do tratamento, para  $10.5 \pm 4.4$  ao primeiro mês ( $p=0.0002$ ) e para  $10.3 \pm 4.4$  aos três meses ( $p=0.0002$ ). Esta descida nos valores do IPSS deveu-se, em grande parte, a uma melhoria na pergunta dois (“durante o último mês, quantas vezes teve de urinar com um intervalo menor que duas horas?”), na pergunta quatro (“durante o último mês, achou difícil adiar a micção?”) e pergunta sete (“durante o último mês, em média, quantas vezes tem de

se levantar para urinar?”) do questionário IPSS, que se referem essencialmente aos sintomas de armazenamento. Pelo contrário, a melhoria nas questões um, três, cinco e seis, que se referem aos sintomas de esvaziamento, não foi tão acentuada. Em relação ao impacto na qualidade de vida, houve uma melhoria de  $4.5 \pm 1$  para  $2.5 \pm 0.9$  ao primeiro mês ( $p=0.0001$ ) e para  $2.2 \pm 1$  ao terceiro mês ( $p=0.00002$ ). A frequência miccional, medida pelo diário miccional, melhorou em todos os doentes, excepto num caso. Os valores médios, diminuíram de  $15.2 \pm 8.5$  para  $10.8 \pm 7.3$  ao primeiro mês ( $p=0.0002$ ) e para  $10.3 \pm 5.2$  aos três meses ( $p=0.001$ ). A incontinência urinária estava presente em seis casos. Este sintoma desapareceu completamente em quatro doentes e sofreu uma melhoria franca nos outros dois doentes, com diminuição para menos de metade do número de episódios de incontinência semanais. As cistometrias realizadas antes da administração de RTX não revelaram contracções não inibidas, excepto num caso, mesmo no ponto em que os doentes referiam urgência máxima e pediam para parar o exame. Após a administração de RTX, o único doente que apresentava contracções involuntárias do detrusor manteve o mesmo padrão urodinâmico. O volume para a primeira sensação de micção, aumentou de  $142 \pm 91$ ml antes do tratamento, para  $180 \pm 106.9$ ml ( $p=0.369$ ) ao primeiro mês e para  $279 \pm 126$ ml ( $p=0.01$ ) aos três meses. A capacidade cistométrica máxima aumentou de  $289 \pm 150$ ml antes do início do estudo, para  $402 \pm 107.9$ ml ( $p=0.08$ ) ao fim do primeiro mês e para  $460 \pm 214$ ml ( $p=0.04$ ) aos três meses. O fluxo máximo médio não sofreu alterações significativas, sendo de  $13.4 \pm 3.4$ ml/s antes do tratamento,  $14.3 \pm 4.7$ ml/s ao primeiro mês e de  $14.9 \pm 5.1$ ml/s aos três meses.

## Discussão

Os nossos resultados confirmam que o RTX intravesical é capaz de diminuir os LUTS nos doentes com HBP, como é visível na diminuição dos “scores” do IPSS e do impacto na qualidade de vida. Esta melhoria foi devida, essencialmente, à diminuição da polaquiúria, da noctúria, da imperiosidade e da incontinência por imperiosidade e não à melhoria do fluxo urinário ou de outros sintomas de esvaziamento. Embora não seja um estudo controlado por placebo, as alterações observadas em termos uro-

dinâmicos apontam no mesmo sentido. Verificou-se um aumento significativo do volume para a primeira sensação de micção e para a CCM após o tratamento com RTX, enquanto que o Qmax não sofreu alterações significativas. Para além disso, conclusões semelhantes foram descritas num estudo recente, no qual uma solução a 100 nM RTX foi infundida em doentes pós-prostatectomia com hiperactividade do detrusor resistente aos anti-colinérgicos (12). Embora se trate de um subgrupo de doentes provavelmente mais difícil de tratar que o nosso, mesmo assim, houve uma melhoria sintomática na ordem dos 60% (12).

O RTX é um ligando específico do receptor TRPV1 (14), o qual se caracteriza por ser um canal iónico não selectivo (15), que se expressa abundantemente nas fibras nervosas aferentes tipo C da bexiga (16, 17) e nas células uroteliais (18). Após a ligação do RTX ao TRPV1, as fibras C vesicais tornam-se inactivas, através de um processo geralmente designado por dessensibilização(14), durante o qual as aferências sensoriais da bexiga são impedidas de atingir a espinal medula (19). A dessensibilização vesical é acompanhada por um desaparecimento transitório da imunoreactividade para o TPVR1 (20, 21). As razões para este desaparecimento ainda não são completamente claras. As hipóteses actuais incluem: (I) internalização do receptor (22), (II) alterações conformacionais na sua estrutura molecular (23), (III) um “down-regulation” do TRPV1, devido à ausência de factor de crescimento neuronal (NGF) nas fibras sensoriais da bexiga, induzida pelo RTX (24, 25), ou (IV) degenerescência das fibras sensoriais (26). Qualquer que seja o mecanismo pelo qual desaparece o TRPV1, após a administração intravesical de RTX, a sua diminuição terá um efeito importante no despertar de contracções reflexas da bexiga. De facto, em ratos com ausência do gene para o TRPV1, o volume que despertou contracções reflexas da bexiga foi praticamente o dobro do volume necessário em animais com esse gene (27). Além disso, em pessoas com actividade neurogénica do detrusor que receberam RTX intravesical, demonstrou-se que a CCM estava inversamente correlacionada com a densidade de TRPV1 na parede vesical (21).

Complementar ao descrito anteriormente, é importante relembrar que o RTX intravesical conduz a uma diminuição dos receptores purinérgicos do subtipo P2X3, presentes na parede vesical de doentes

com hiperactividade do detrusor de origem neurogénica (28). Os receptores TRPV1 e P2X3 têm uma forte co-expressão nas fibras sensitivas do tipo C (29). Portanto, em caso de degenerescência das fibras-C induzida pelo RTX, a diminuição dos receptores P2X3 acompanha a dos receptores TRPV1. Os receptores P2X3, que podem ser activados pela libertação de ATP das células uroteliais durante o estiramento vesical (30), influenciam também o volume vesical em que ocorre micção reflexa. De facto, em ratos, com ausência do gene para o P2X3, ocorrem menos contracções vesicais durante o seu preenchimento do que em ratos normais (31).

O TRPV1 é expresso em bexigas normais (16, 17). Para além disso, nas doses usadas habitualmente, a administração intravesical de RTX a voluntários normais não tem nenhum efeito na função vesical (32). Portanto, podemos especular que tipo de alterações ocorrem nos doentes com HBP, que levam a uma alteração do papel normal dos aferentes vesicais e que expressam o TRPV1. A resposta pode estar no NGF. A obstrução infravesical crónica revelou um aumento do NGF vesical, tanto no homem como em modelos experimentais (33). Esta substância induz hiperactividade vesical quando instilada em bexigas de ratos normais (34). Por outro lado, a auto-imunidade contra este factor neurotrófico reduziu a hiperactividade vesical em modelos experimentais de obstrução infravesical (33, 35). O excesso de NGF em bexigas cronicamente obstruídas tem efeitos neuroplásticos profundos nos seus neurónios sensitivos, podendo contribuir para uma ampliação do reflexo sagrado da micção, mediado pelas fibras-C. Aumenta o tamanho de corpos celulares pequenos no gânglio da raiz dorsal a nível L6 do rato (36). Expande a área de terminação dos aferentes vesicais em redor dos neurónios motores parassimpáticos que enervam a bexiga, sugerindo uma reorganização sináptica na espinal medula sagrada nos ratos obstruídos (36). Ao nível do receptor, o NGF faz uma “up-regulation” do TRPV1 nas fibras sensitivas (37). Além disso, o NGF pode trazer este receptor de uma forma inactiva para uma forma activa. Isto ocorre após uma clivagem (dependente do NGF) do PIP2, uma molécula que mantém o TRPV1 sob uma inibição tónica (38). Interessantemente, o RTX intravesical diminui o conteúdo de NGF nas fibras sensitivas vesicais (25), um achado que pode anular as alterações descritas anteriormente.

Apesar do presente estudo sugerir um envolvimento das fibras-C vesicais nos LUTS de armazenamento, não nos podemos esquecer que anomalias do próprio detrusor também têm sido identificadas nas bexigas de doentes com HBP. Contracções tetânicas espontâneas têm sido identificadas em “tiras” de detrusor retiradas de doentes com HBP e hiperactividade vesical, um achado que pressupõe uma condução eléctrica facilitada entre as células musculares lisas (39). Estes achados, que suportam uma origem miogénica para os sintomas de armazenamento, têm sido atribuídos a um aumento do número de junções apertadas “ultraclose junctions” entre os miócitos (40). Por outro lado, uma diminuição da actividade da ATPase, uma enzima que degrada o ATP, pode aumentar a concentração deste neurotransmissor na fenda sináptica (41). Para além disso, foi, recentemente, demonstrado que há um aumento da densidade do receptor purinérgico do subtipo P2X2, no detrusor de mulheres com hiperactividade vesical idiopática, o que pode contribuir para a emergência de contracções do detrusor induzidas pelo parassimpático e resistentes à atropina (42). Estes dados e os nossos achados não se excluem mutuamente, mas, antes pelo contrário, podem ser complementares. As fibras-C com expressão de TRPV1 são numerosas no detrusor, no qual permanecem em íntimo contacto com as células musculares lisas (20). Portanto, qualquer actividade espontânea das células musculares pode excitar as fibras-C, tornadas, eventualmente, já mais excitáveis por um excesso de factores neurotróficos. Isto pode desencadear uma resposta parassimpática, levando à contracção das células musculares lisas do detrusor. No entanto, este mecanismo parece menos provável nos nossos doentes, tomando em linha de conta os achados das cistometrias realizados antes da administração de RTX. De facto, não detectámos contracções involuntárias do detrusor até ao ponto dos doentes referirem urgência máxima para urinar. Portanto, o mecanismo para os sintomas de armazenamento no nosso grupo de doentes parece ser atribuível mais a uma urgência sensorial do que, propriamente, a uma hiperactividade do detrusor.

Em conclusão, o nosso estudo suporta a hipótese de que a dessensibilização das fibras C vesicais pode ser uma opção importante no tratamento dos sintomas de armazenamento de doentes com HBP.

Nesta medida, um estudo randomizado de aplicação intravesical de RTX, controlado por placebo, é amplamente justificado para confirmar os resultados do estudo actual.

.....

## Agradecimento

Este trabalho foi financiado pelo Governo Português, através da Fundação para a Ciência e Tecnologia, projecto – POCTI/FEDER32466/NSE/00

## Referências

- Peters, T.J., Donovan, J.L., Kay, H.E., Abrams, P., de la Rsette, J.J.M.C.H., Porru, D. et Al. (1997) The International Continence Society “Benign Prostatic Hyperplasia” study: the bothersomeness of urinary symptoms. *J Urol*, 1257, 885.
- Meigs, J.B., Barry, M.J., Giovannucci, E., Rimm, E.B., Stampfer, M.F., & Kawachi, I. (1999). Incidence rates and risk factors for acute urinary retention. The health professional’s follow-up study. *J Urol*, 162, 376-382.
- Schulman, C.C. (1996) Tamsulosin. In Kirby R., McConnell J.D., Fitzpatrick J.M., Roehrborn C.G., Boyle P. (Editors). *Textbook of Benign Prostatic Hyperplasia* (p. 307-323), Oxford Isis Medical Media Ltd.
- McConnell, J.D. (1996). Finasteride therapy for benign prostatic hyperplasia. In Kirby R., McConnell J.D., Fitzpatrick J.M., Roehrborn C.G., Boyle P. (Editors). *Textbook of Benign Prostatic Hyperplasia* (p. 259-265). Oxford Isis Medical Media Ltd.
- Yokoyama, O., Nagano, K., Kawaguchi, K., Ueki, O., & Ohkawa, Mitsuo. (1994). The influence of prostatic urethral anesthesia in overactive detrusor in patients with benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, 151, 1554-1556.
- Chai, T.C., Gray, M.L., Steers, W. (1998). The incidence of a positive ice water test in bladder outlet obstructed patients: evidence for bladder neural plasticity. *J Urol*, 160, 34-38.
- Geirsson, G., Lindstrom, S., Fall, M. (1999). The bladder coolinf reflex and the use of cooling as stimulus to the lower urinary tract. *J Urol*, 162, 1890-1896.
- Steers, W.D., de Groat, W.C. (1988). Effect of bladder outlet obstruction on micturition reflex pathways in the rat. *J Urol*, 140, 864-871.
- Fowler, C.J., Jewkes, D., McDonald, W.I., Lynn, B., de Groat, W.C. (1992). Intravesical capsaicin for neurogenic bladder dysfunction. *Lancet*, 339, 1239.
- Silva, C., Rio, M.E., Cruz, F. (2000). Desensitization of bladder sensory fibres by intravesical resiniferatoxin, a capsaicin analogue: long term results for the treatment of detrusor hyperreflexia. *Eur Urol*, 38, 444-452.

11. Silva, C., Ribeiro, M.J., Cruz, F. (2002). The effect of intravesical resiniferatoxin in patients with idiopathic instability suggests that involuntary detrusor contractions are triggered by C-fiber input. *J Urol*, 168, 575-579.
12. Kuo, H. (2003). Effectiveness of intravesical resiniferatoxin for anticholinergic treatment refractory detrusor overactivity due to nonspinal cord lesions. *J Urol*, 170, 835-839.
13. Cruz, F., Guimarães, M., Silva, C., Reis, M. (1997). Suppression of bladder hyperreflexia by intravesical resiniferatoxin. *Lancet*, 350, 640-641.
14. Szallasi, A., Blumberg, P.M. (1999). Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacol Rev*, 51, 159-211.
15. Caterina, M.J., Schumacher, M.A., Tominaga, M., et al. (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Science*, 389, 816-824.
16. Yiangou, Y., Facer, P., Ford, A., et al. (2001). Capsaicin receptor VR1 and ATP-gated ion channel P2X3 in human urinary bladder. *BJU Int*, 87, 774.
17. Avelino, A., Cruz, C., Nagy, I., et al. (2002). Vanilloid receptor type 1 expression in the rat urinary tract. *Neuroscience*, 109(4), 787-798.
18. Birder, L.A., Kanai, A.J., de Groat, W.C., Kiss, S., Nealen, M.L., Burke, N.E., Dineley, K.E., Watkins, S., Reynolds, I.J., Caterina, M.J. (2001). Vanilloid receptor expression suggests a sensory role for urinary bladder epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 13396-401.
19. Avelino, A., Cruz, F., Coimbra, A. (1999): Intravesical resiniferatoxin desensitizes rat bladder sensory fibres without causing intense noxious excitation. A c-fos study. *Eur J Pharmacol*, 378, 17-22.
20. Avelino, A., Cruz, C., Nagy, I., Cruz, F. (2002). Vanilloid receptor type 1 expression in the rat urinary tract. *Neuroscience*, 109, 787-98.
21. Apostolidis, A.N., Brady, C., Yiangou, Y., et al. (2003) Parallel changes in suburothelial vanilloid receptor TRPV1 (VR1) and pan-neuronal marker PGP9.5 immunoreactivity in patients with neurogenic detrusor overactivity (NDO) following intravesical RTX. *Eur Urol* (sup), 2, 91 (abstract).
22. Brown, A., Hudson, L.J., Nagy, I., Winter, J., McIntyre, P. (2000). Rapid capsaicin-induced redistribution of the rat vanilloid receptor subtype 1 in heterologously expression CHO cells and in DRG neurons. *Soc Neurosci Abstr*, 26, 1967 (abstract).
23. Kedei, N., Szabo, T., Lile, J.D., et al. (2001). Analysis of the native quaternary structure of vanilloid receptor 1. *J Biol Chem*, 276, 28613-9.
24. Winston, J., Toma, H., Shenoy, M., Pasricha, P.J. (2001). Nerve growth factor regulates VR-1 mRNA levels in cultures of adult dorsal root ganglion neurons. *Pain*, 89, 181-186.
25. Avelino, A., Cruz, C., Cruz, F. (2002). Nerve growth factor regulates galanin and c-jun overexpression occurring in dorsal root ganglion cells after intravesical resiniferatoxin application. *Brain Res*, 951, 264-9.
26. Dasgupta, P., Chandiramani, V.A., Beckett, A., Scaravilli, F., Fowler, C.J. (2000). The effect of intravesical capsaicin on the suburothelial innervation in patients with detrusor hyperreflexia. *BJU Int*, 85, 238-245.
27. Birder, L.A., Nakamura, Y., Kiss, S., et al. (2002). Altered urinary bladder function in mice lacking the vanilloid receptor TRPV1. *Nature Neurosci*, 5, 856-60.
28. Brady, C., Apostolidis, A.N., Yiangou, Y., Baecker, P.A., Ford, A.P., Fowler, C.J., Anand, P. (2003). P2X3-immunoreactive nerve fibers in neurogenic detrusor overactivity and the effect of intravesical resiniferatoxin (RTX). *Eur Urol* (supl.), 2, 93 (abstract).
29. Gui, A., Vulchanova, L., Wang, J., Li, X., Elde, R. (1999). Immunocytochemical localization of the vanilloid receptor 1 (VR1): relationship to neuropeptides, the P2X3 purinoreceptor and IB4 binding sites. *Eur J Neurosci*, 11, 946-958.
30. Vlaskovska, M., Kasakov, L., Rong, W., Bodin, P., Bardini, M., Cockayne, D.A., Ford, A.P., Burnstock, G. (2001). P2X3 knock-out mice reveal a major sensory role for urothelially released ATP. *J Neurosci*, 21, 5670-7.
31. Cockayne, D.A., Hamilton, S.G., Zhu, Q.M., et al. (2000). Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X3-deficient mice. *Nature*, 407, 1011-15.
32. Lazzeri, M., Beneforti, P., Turini, D. (1997). Urodynamic effects of intravesical resiniferatoxin in humans: preliminary results in stable and unstable detrusor. *J Urol*, 158, 2093-2096.
33. Steers, W.D., Kolbeck, S., Creedon, D., et al. (1991). Nerve growth factor in the urinary bladder of the adult regulates neuronal form and function. *J Clin Invest*, 88, 1709-1715.
34. Chuang, Y.C., Fraser, M.O., Yu, Y., Chancellor, M.B., de Groat, W.C., Yoshimura, N. (2001). The role of bladder afferent pathways in bladder hyperactivity induced by the intravesical administration of nerve growth factor. *J Urol*, 165(3), 975-9.
35. Steers, W.D., Creedon, D.J., Tuttle, J.B. (1996). Immunity to nerve growth factor prevents afferent plasticity following urinary bladder hypertrophy. *J Urol*, 155, 379.
36. Steers, W.D., Ciambotti, J., Etzel, B., Erdman, S., de Groat, W.C. (1991). Alterations in afferent pathways from the urinary bladder of the rat in response to partial urethral obstruction. *J Comp Neurol*, 310, 401-410.
37. Ji, R.R., Samad, T., Jin, S.X., Schmolli, R., Woolf, C.J. (2002). P38 MAPK activation by NGF in primary sensory neurons after inflammation increases TRPV1 levels and maintains heat hyperalgesia. *Neuron*, 36, 57.
38. Chuang, H.H., Prescott, E.D., Kong, H., et al. (2001). Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P2-mediated inhibition. *Nature*, 411, 957-62.

39. Brading, A.F. (1997). A myogenic basis for the overactive bladder. *Urology*, 50(Supl 6A), 57-67.
40. Tse, V., Wills, E., Szoni, G., et al. (2000). The application of ultrastructural studies in the diagnosis of bladder dysfunction in a clinical setting. *J Urol*, 163, 535.
41. Fry, C.H., Skennerton, D., Wood, D., Wu, C. (2002). The cellular basis of contraction in human detrusor smooth muscle from patients with stable and unstable bladders. *Urology*, 59(supl), 3-12.
42. O'Rilly, B.A., Kosaka, A.H., Knight, G.F., Chang, T.K., Ford, A.P., Rymer, J.M., Popert, R., Burnstock, G., McMahon, S.B. (2002). P2X receptors and their role in female idiopathic detrusor instability. *J Urol*, 167, 157-64.