

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE

HENRIQUE RODRIGUES SCHERER COELHO

**EFEITO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS EM PACIENTES COM
HIPOCONTRATILIDADE DETRUSORA**

CAMPO GRANDE
2022

HENRIQUE RODRIGUES SCHERER COELHO

**EFEITO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS EM PACIENTES COM
HIPOCONTRATILIDADE DETRUSORA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Linha de Pesquisa: Tecnologia em Saúde

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira

Co-Orientadora: Profa. Dra. Andreia Conceição Milan Brochado Antonioli Silva

CAMPO GRANDE
2022



Ata de Defesa de Tese
Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste
Doutorado

Aos sete dias do mês de março do ano de dois mil e vinte e dois, às oito horas, na videoconferência (à distância), da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Rodrigo Juliano Oliveira (UFMS), Danielle Bogo (UFMS), Elenice Deffune (UNESP), Joao Alexandre Queiroz Juveniz (UFMS) e Marcelo Luiz Brandao Vilela (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho do aluno: **HENRIQUE RODRIGUES SCHERER COELHO**, CPF 92734588153, Área de concentração em Tecnologia e Saúde, do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "**EFEITO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS EM PACIENTES COM HIPOCONTRATILIDADE DETRUSORA**" e orientação de Rodrigo Juliano Oliveira. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra ao aluno que expôs sua Tese. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

| EXAMINADOR | ASSINATURA | AVALIAÇÃO |
|--|------------|-----------|
| Dr. Rodrigo Juliano Oliveira (Interno) | | Aprovado |
| Dra. Danielle Bogo (Interno) | | Aprovado |
| Dra. Elenice Deffune (Externo) | | Aprovado |
| Dr. Joao Alexandre Queiroz Juveniz (Externo) | | Aprovado |
| Dr. Marcelo Luiz Brandao Vilela (Externo) | | Aprovado |
| Dr. Marco Antonio Goncalves (Externo) (Suplente) | | |
| Dr. Valter Aragao do Nascimento (Interno) (Suplente) | | |

RESULTADO FINAL:

Aprovação Aprovação com revisão Reprovação

OBSERVAÇÕES:

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:  
Presidente da Banca Examinadora Aluno

Aos meus pais, pelo amor incondicional e dedicação.

À minha esposa, companheira e apoio em todos os momentos.

Aos meus filhos, presentes de Deus e incentivo em minha caminhada.

A Deus, por tudo o que tenho e não tenho, e a seu imenso, misericordioso e infinito amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, através de seus professores e funcionários, que possibilitaram a concretização desse grande sonho.

Ao Professor Doutor Rodrigo Juliano Oliveira do Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste e meu orientador, por seus ensinamentos, apoio, parceria e constante encorajamento com seu exemplo e dedicação a docência e pesquisa.

A Professora Doutora Andréia Conceição Milan Brochado Antonioli Silva, Professora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste e minha co-orientadora, pelo apoio na elaboração desta tese.

A grande colega Silvia Cordeiro das Neves pelo apoio técnico, conhecimento ímpar e competência junto ao laboratório Cetrogen; pelo trabalho incansável em todas as fases dessa pesquisa especialmente no delicado processo de cultivo das células tronco mesenquimais.

Ao Professor Doutor Antonio Urt Filho, Professor Adjunto da Disciplina de Urologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, atualmente aposentado após contribuir com a formação de vários médicos, pelo convite e incentivo em ingressar no mundo da pesquisa científica e me acompanhar durante o mestrado e doutorado.

Ao Dr Peterson Vieira de Assis, meu grande mentor, amigo e exemplo em dedicação e profissionalismo na Urologia e, ainda, na direção da Unidade do Sistema Urinário do HUMAP que proporcionou total apoio na realização deste projeto de pesquisa clínica.

Ao meus colegas médicos do Serviço de Urologia em especial ao Doutor João Alexandre Queiroz Juveniz; Doutor Marco Antonio Gonçalves; Doutor Juliano Rodrigues Oliveira; Mestre Marcelino Chehoud Ibrahim; Esp Fernando Coutinho Oliviera; Esp Milton Garcia Leal Junior; Esp Dourival Magnani Junior pelo incentivo e apoio na realização desta pesquisa.

Aos médicos residentes e ex-médicos residentes do Programa de Residência Médica em Urologia do Serviço de Urologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Fabiano Fugita, Daniel Galvão Vidal,

Fábio Galvão Vidal, Antonio Palombo e Carlos Egydio Ferri do Carmo pelo auxílio e colaboração no decorrer deste trabalho.

A enfermeira Simone Zucaslini e técnica em enfermagem Isabel Ferreira de Oliveira pelo profissionalismo no cuidado e atendimento aos pacientes no Ambulatorio de Urologia. A assistência de enfermagem realizada com excelência e com toda dedicação foram essenciais para o sucesso desse projeto de pesquisa dura e realização dos atendimentos ambulatoriais, assistência de enfermagem aos pacientes sondados e durante procedimentos de avaliação urodinâmica e cistoscopia para transplante de células tronco mesenquimais.

A minha querida Esposa Patricia Manoela Scherer Coelho pelo amor, suporte, sensibilidade, inteligência, força, retidão, exemplo, dedicação, auxílio e companheirismo em todo tempo. Sou muito grato a Deus pela sua vida e não há como dimensionar o seu apoio nessa caminhada

Ao meus queridos filhos Guilherme e Daniel que alegram meus dias e me inspiram com suas descobertas e conquistas diárias.

Ao meu querido irmão Antonio Matheus Scherer, cuja amizade, parceria, apoio, todo amor e dedicação sempre me encorajaram a progredir e lutar para ser uma pessoa melhor. Aos dias felizes, alegres todas as aventuras vividas.

A minha querida irmã Eduarda Beatriz Scherer que todo amor, sensibilidade, alegria, leveza, inteligência se fizeram presente em meus dias com companheirismo de vida no dia a dia e parcerias profissionais.

Aos meus irmãos Gabriel Pinto de Arruda Cunha e Tassia Regina Nicaloski Scherer que a todo tempo me acompanham e me inspiram. Me sinto privilegiado por conviver com pessoas maravilhosas e agradeço a Deus por contar com vocês em minha família.

Aos amados Marli e Antonio Raul por toda a dedicação, acolhimento, amor e cuidado que tem comigo e com minha família. Sou muito grato pela vida de vocês.

Aos meus pais: Luiz Souza Coelho e Ercilia Rodrigues Coelho. Devo a vocês a minha vida, desenvolvimento pessoal e a toda educação recebida. O amor, ensino e criação me fizeram uma pessoa forte. Agradeço a inteligência, perseverança e contínuo apoio em todas as minhas conquistas de minha vida. Amo vocês.

A minha irmã Ana Carolina Rodrigues Coelho e Danilo Fonseca por toda apoio, amor e compreensão que auxiliaram na minha educação e projetos desenvolvidos.

RESUMO

A hipoatividade detrusora é uma doença que não possui tratamento eficaz na medicina tradicional e pode causar insuficiência renal. A presente pesquisa avaliou os efeitos da terapia celular, com células-tronco mesenquimais do tecido adiposo, no tratamento da hipoatividade detrusora em homens. Foram avaliados 9 pacientes com diagnóstico de hipoatividade detrusora. Os pacientes foram submetidos a dois transplantes, com 2×10^6 células/transplante, por meio de uretrocistoscopia. O transplante foi realizado por injeção intravesical em cinco pontos na porção supra trigonal da bexiga. Os resultados demonstram que a terapia celular aumentou ($p < 0,05$) o fluxo máximo, o fluxo médio e volume urinado e reduziu ($p < 0,05$) o volume residual no exame de urofluxometria. Observou-se ainda aumento ($p < 0,05$) do fluxo máximo, da pressão detrusora máxima, do volume urinário e do índice de contratilidade vesical no estudo de fluxo pressão. O escore do *Internacional Consultation on Incontinence Questionnaire* reduziu de $11,44 \pm 1,43$ para $3,78 \pm 0,78$, após a terapia celular, o que indica melhora na qualidade de vida e retorno às atividades diárias. Os pacientes mesmo após 6 meses da terapia celular não apresentaram intercorrências. Todos os pacientes faziam cerca de cinco cateterismo intermitente limpo diário. Após a terapia, 77,78% não fazem mais o procedimento e 22,28% reduziu a dois cateterismos diários. Frente ao exposto, sugere-se que a terapia com células-tronco mesenquimais seja uma nova e segura opção terapêutica para o tratamento da hipoatividade detrusora.

Descritores: bexiga urinária; urodinâmica; terapia celular; trato urinário inferior

ABSTRACT

Detrusor underactivity is a disease that has no effective treatment in traditional medicine and can cause kidney failure. The present research evaluated the effects of cell therapy, with mesenchymal stem cells from adipose tissue, in the treatment of detrusor underactivity in men. Nine patients diagnosed with detrusor underactivity were evaluated. Patients underwent two transplants, with 2×10^6 cells/transplant, by means of cystourethroscopy. Transplantation was performed by intravesical injection at five points in the supra trigonal portion of the bladder. The results demonstrate that cell therapy increased ($p < 0.05$) the maximum flow, mean flow and urinated volume and reduced ($p < 0.05$) the residual volume in the uroflowmetry exam. There was also an increase ($p < 0.05$) in maximum flow, maximum detrusor pressure, urinary volume and bladder contractility index in the pressure flow study. The score of the International Consultation on Incontinence Questionnaire decreased from 11.44 ± 1.43 to 3.78 ± 0.78 after cell therapy, which indicates an improvement in quality of life and return to daily activities. Patients even after 6 months of cell therapy did not present complications. All patients performed about five clean intermittent catheterizations daily. After therapy, 77.78% no longer do the procedure and 22.28% reduced to two daily catheterizations. In view of the above, it is suggested that therapy with mesenchymal stem cells is a new and safe therapeutic option for the treatment of detrusor underactivity.

Descriptors: urinary bladder; urodynamics; cell therapy; lower urinary tract.

LISTA DE ABREVIações

| | |
|-----------|--|
| BCI | <i>Bladder contractility index</i> (Índice de Contratilidade Vesical) |
| CCM | Capacidade cistométrica máxima |
| CEP | Comitê de Ética em Pesquisa de Seres Humanos |
| CeTroGen | Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica |
| CONEP | Comissão Nacional de Ética em Pesquisa |
| CTM | Células-tronco mesenquimais |
| CTMta | Células-tronco mesenquimais do tecido adiposo |
| DMEM | <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> (Meio de Cultura Modificado por Dulbecco) |
| HD | Hipoatividade detrusora |
| HPB | Hipertrofia prostática benigna |
| HUMAP | Hospital Universitária Maria Aparecida Pedrossian |
| ICIQ-SF | <i>International Continence on Incontinence Questionnaire – Short Form</i> (Questionário Internacional de Continência sobre Incontinência - Formulário Resumido) |
| IPSS | Índice Internacional de Sintomas Prostáticos |
| IRC | Insuficiência renal crônica |
| LUTS | <i>Lower Urinary Tract Symptoms</i> (Sintomas do trato urinário inferior) |
| PBS | <i>Phosphate-buffered saline</i> (Solução tampão fosfato) |
| PdetQmax | Pressão detrusora no fluxo máximo |
| Qmax | Fluxo máximo |
| QOL score | <i>Quality of life scale</i> (Escore de qualidade de vida) |
| RPM | Rotações por minuto |
| SBF | Soro bovino fetal |
| SIDA | Síndrome da imunodeficiência adquirida |
| SUS | Sistema Único de Saúde |
| TC | Terapia celular |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 13 |
| 2.1 HIPOCONTRATILIDADE DETRUSORA | 13 |
| 2.2 CÉLULAS-TRONCO | 15 |
| 2.2.1 Células-Tronco Mesenquimais | 16 |
| 2.2.2 Uso de células-tronco mesenquimais na urologia | 17 |
| 3. OBJETIVOS | 19 |
| 3.1 OBJETIVOS GERAIS | 19 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 19 |
| 4. CASUÍSTICA E MÉTODOS | 20 |
| 4.1 ASPECTOS ÉTICOS | 20 |
| 4.2 PARTICIPANTES | 20 |
| 4.3 INTERVENÇÃO..... | 20 |
| 4.4 EXTRAÇÃO | 21 |
| 4.5 CULTIVO | 22 |
| 4.6 CARACTERIZAÇÃO POR IMUNOFENOTIPAGEM DAS CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS..... | 22 |
| 4.7 COMPROVAÇÃO DA MULTIPOTÊNCIA POR ENSAIO DE DIFERENCIAÇÃO CELULAR | 23 |
| 4.7.1 Diferenciação adipogênica | 23 |
| 4.7.2 Diferenciação osteogênica | 23 |
| 4.7.3 Diferenciação condrogênica | 24 |
| 4.8 TRANSPLANTE..... | 24 |
| 4.9 ACOMPANHAMENTO CLÍNICO | 25 |
| 4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 26 |

| | |
|--|----|
| 5 RESULTADOS | 27 |
| 5.1 ARTIGO 1 - Terapia com células tronco mesenquimais reverte a hipoatividade detrusora em paciente renal crônico..... | 28 |
| Resumo | 29 |
| Introdução..... | 30 |
| Casuística e métodos | 30 |
| Relato de caso..... | 32 |
| Discussão | 35 |
| Agradecimentos..... | 37 |
| Referências..... | 37 |
| 5.2 ARTIGO 2 - Terapia com células tronco mesenquimais do tecido adiposo melhora a contratilidade vesical e reduz o resíduo miccional..... | 39 |
| Resumo | 40 |
| Introdução..... | 41 |
| Relato de caso..... | 41 |
| Discussão | 44 |
| Referências..... | 45 |
| 5.3 ARTIGO 3 - CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS REVERTEM HIPOATIVIDADE DETRUSORA..... | 47 |
| Resumo | 48 |
| Introdução..... | 49 |
| Pacientes e Métodos | 50 |
| Trial Design..... | 51 |
| Participantes | 51 |
| Intervenção..... | 51 |
| Análise de Dados..... | 52 |
| Resultados..... | 53 |
| Urofluxometria | 54 |

| | |
|--|----|
| Cistometria..... | 56 |
| Estudo fluxo Pressão | 57 |
| Discussão | 60 |
| Referências..... | 65 |
| SUPLEMENTO 1 | 68 |
| SUPLEMENTO 2 | 70 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 71 |
| REFERÊNCIAS..... | 72 |
| ANEXOS | 77 |
| A - PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA..... | 77 |
| B – Comprovante de Registo do REBEC (Registro Brasileiro de Ensaio s Clínicos) | 80 |
| C – Comprovante de Registro no ISRCTN registry (International Standard..... | 81 |
| Randomised Controlled Trial Number)' | 81 |
| D – Comprovante Submissão Relato de Caso | 82 |

1. INTRODUÇÃO

A hipoatividade detrusora (HD) caracteriza-se por baixa pressão ou contração curta do detrusor associada a baixo fluxo urinário e não possui um tratamento efetivo na medicina tradicional. Nenhuma das terapêuticas disponíveis é capaz de devolver a contratilidade da bexiga (D'ANCONA *et al.*, 2019).

Dentre os principais fatores de complicação citam-se os altos resíduos pós-miccionais, infecções urinárias de repetição, formação de cálculos de vias urinária e até insuficiência renal aguda que pode evoluir para doença renal crônica (ALDAMANHORI AND CHAPPLE, 2017; MONRÁN *et al.*, 2021; RADEMAKERS, VAN KOEVERINGE, OELKE, 2016; KALIL, D'ANCONA, 2020).

Nesse contexto são necessárias novas terapêuticas, uma delas é a terapia celular com células-tronco mesenquimais que ainda é pouco explorada nessa área.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HIPOCONTRATILIDADE DETRUSORA

A função normal da bexiga urinária é armazenar e eliminar a urina de forma coordenada e controlada, cuja atividade é regulada pelos sistemas nervoso central e periférico. Dentre as disfunções miccionais, destaca-se a bexiga neurogênica que é um termo aplicado a uma bexiga urinária com alteração funcional devido a doença neurológica, trauma raquimedular e variadas condições patológicas sistêmicas ou metabólicas que ocasionam lesão neurológica central ou periférica (MAHAJAN *et al.*, 2016).

A incidência de disfunção miccional em adultos e crianças está aumentando gradativamente. Em crianças pode atingir 1/5 da população pediátrica, e uma parcela maior para mulheres após a menopausa e homens em processo de envelhecimento acima dos 65 anos. Além das consequências nosológicas devido a própria sintomatologia miccional existe ainda o impacto social e psicológico em pacientes com disfunção miccional. A incontinência, urgência e aumento da frequência urinária constituem uma barreira importante para o convívio familiar e extrafamiliar. Em crianças existe o estigma social de que a disfunção está associada a problemas comportamentais e educativos, e a população idosa sofre com quedas

acidentais e fraturas causadas pela necessidade de encontrar um banheiro próximo (LISIEUX, 2012).

A hipoatividade detrusora ou bexiga hipocontrátil consiste em uma contração de força ou duração reduzida resultando em esvaziamento vesical prolongado e falha em alcançar o esvaziamento completo. Isso ocorre em nível tecidual pela perda de função da musculatura detrusora e substituição por tecido conjuntivo fibroso. Existem variadas causas para essa condição: idade avançada, drogas, iatrogenias, causas neurogênicas (acidente vascular cerebral, esclerose múltipla, doença de Parkinson, lesão de medula espinal), obstrução infravesical (estenose de uretra e hipertrofia prostática benigna), diabetes mellitus (Cistopatia Diabética) e doenças infecciosas do sistema nervoso (SIDA, sífilis e Síndrome de Guillan-Barre) (MIYAZATO *et al.*, 2013).

Uma das causas mais comuns no tratamento cirúrgico de pacientes com Hiperplasia Prostática Benigna é a HD que representa 25 a 33% dos pacientes com sintomas do trato urinário inferior (LUTS) tais como disúria, polaciúria, jato urinário fraco ou intermitente, hesitação, nictúria e ainda complicações mais temidas como resíduo pós miccional excessivamente elevado, infecção urinária de repetição, formação de cálculos de via urinário. A evolução final de pacientes com HD consiste em falência da musculatura vesical com incapacidade de desencadear micção e insuficiência renal crônica. Além disso estima-se que 2/3 dos idosos institucionalizados e incontinentes são portadores de HD (MIYAZATO *et al.*, 2013).

Exames neurológicos e urodinâmicos cuidadosos são necessários para o diagnóstico da bexiga neurogênica. Avaliação urodinâmica permanece com padrão ouro para avaliar a função miccional. Os dados obtidos tais como fluxo máximo, fluxo médio e pressão de contração detrusora permitem diagnosticar as disfunções miccionais e classificá-las em: hiperatividade detrusora, hipocontratibilidade detrusora, incontinência urinária de esforço e obstrução infravesical (MIYAZATO *et al.*, 2013).

Um estudo retrospectivo com 557 pacientes do sexo masculino com quadro clínico de obstrução infravesical e submetido à ressecção transuretral de próstata avaliou dados objetivos obtidos no estudo urodinâmico e qualidade de vida através do Índice Internacional de Sintomas Prostáticos (IPSS) e escore de Qualidade de Vida (QOL score). A variável fluxo máximo e volume urinário residual correlacionam-se mais fortemente com o escore de qualidade de vida (SEKI *et al.*, 2008).

Apesar dos avanços no conhecimento em relação a fisiopatologia das disfunções miccinais e no tratamento da obstrução prostática, esse ainda é problema frustrante para o profissional de saúde e sobretudo para o paciente (SEKI *et al.*, 2008).

Até o momento nenhum fármaco é eficiente no tratamento a longo prazo da HD (GILLERAN *et al.*, 2021), com isso pacientes com HD fazem uso de cateterismo intermitente limpo, sonda vesical de demora na uretra ou uso de cistostomia (CHANCELLOR; DIOKNO, 2016; LAPIDES *et al.*, 1972). Pacientes que fazem uso prolongado de cateter podem desenvolver infecção do trato urinário, obstrução do cateter, deslocamento do balonete para uretra, trauma de uretra durante a passagem da sonda, hematúria e dor (WILDE *et al.*, 2013). Além disso, existe um constrangimento ao uso do cateter que pode impactar de forma negativa na qualidade de vida do indivíduo, especialmente em idosos (GILLERAN *et al.*, 2021).

O tratamento dessa doença visa prevenir lesão ao trato urinário superior e retenção urinária crônica. A micção programada, a micção dupla, os alfabloqueadores e o autocateterismo intermitente são as opções de tratamento conservadoras típicas. A estimulação do nervo sacro pode ser uma opção de tratamento eficaz para a HD. Novos conceitos como terapia com células-tronco e terapia genética neurotrófica estão sendo explorados (MIYAZATO *et al.*, 2013).

2.2 CÉLULAS-TRONCO

Células-tronco são células primárias capazes de se renovar por divisão celular e de se diferenciarem em diversos tipos de células especializadas (EBRAHIMI *et al.*, 2021). Essas células quando reintroduzidas no organismo podem adquirir a funcionalidade de qualquer tecido o que as tornam atrativas para a regeneração de tecidos. (CAPLAN, 2000).

As células-tronco são classificadas como: totipotentes, pluripotentes ou multipotentes. São totipotentes o zigoto, resultado da fusão do espermatozóide e do ovócito, e os blastômeros, resultado do início das divisões celulares. As células totipotentes são capazes de se diferenciar em tecido embrionário e extraembrionários (EBRAHIMI *et al.*, 2021). As pluripotentes são células do blastocisto e podem se diferenciar nas três camadas germinativas: ectoderme, mesoderme e endoderme, sendo chamadas de células-tronco embrionárias

(EBRAHIMI *et al.*, 2021; ZATZ, 2004). Já as multipotentes são as células-tronco adultas. Essas células têm capacidade de se diferenciar em várias células específicas e correspondem a uma população extremamente heterogênea, e sua subclassificação já tem sido muito bem descrita na literatura em neural, hematopoiéticas e mesenquimais (KALRA; TOMAR, 2014; WAGERS; WEISSMAN, 2004).

2.2.1 Células-Tronco Mesenquimais

As Células-tronco mesenquimais (CTM) são células multipotentes não hematopoiéticas e que são capazes de se diferenciar em diversos tipos de tecidos, como da camada mesodérmica (adipócitos, condrócitos e osteócitos), da camada ectodérmica (neurócitos) e da camada endodérmica (hepatócitos) (ULLAH; SUBBARAO; RHO, 2015; WANG *et al.*, 2012).

As CTM são consideradas uma população de células heterogêneas com características morfológicas e biológicas variáveis. Três subpopulações com propriedades intrínsecas podem ser diferenciadas: (I) células pequenas capazes de se autorenovarem rapidamente; (II) células fusiformes, normalmente com função parácrina; e (III) células grandes e planas, que podem estar relacionadas ao envelhecimento celular ou a células-tronco estromais. Essas populações não são possíveis de diferenciar ao microscópio. A caracterização é feita por meio de marcadores de superfície específicos (CAMILLERI *et al.*, 2016).

Segundo a Sociedade Internacional de Terapia Celular as CTM expressam os marcadores de superfície CD90, CD 105 e CD73 e não expressam os marcadores CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45 e o antígeno leucocitário humano (HLA)-DR (FAN *et al.*, 2020; ULLAH; SUBBARAO; RHO, 2015).

O isolamento de CTMs pode vir de várias fontes, como tecido adiposo, medula óssea, polpa dentária, gengiva, fígado, cordão umbilical, placenta, líquido amniótico, membrana amniótica, músculo esquelético, sinóvia (FAN *et al.*, 2020; MISHRA *et al.*, 2020). A fonte de isolamento da CTM afeta o rendimento, os tipos de marcadores de superfície, além do perfil de citocinas (MISHRA *et al.*, 2020).

Os primeiros estudos com CTM eram de células provenientes de medula óssea, em seguida outra fonte de CTM foram demonstradas, entre elas, o tecido

adiposo. As CTM derivadas de tecido adiposo têm alguns benefícios em relação à medula óssea como fonte de célula-tronco, por ser coletado de forma minimamente invasiva e menos dolorosa, além de ser muito abundante e de fácil procedimento de isolamento (DOMPE *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2017). Esse tecido apresenta maior rentabilidade de CTM por quantidade de tecido manipulado (BROWN, 2018), além disso, as CTM derivadas de tecido adiposo têm uma ampla função imunoreguladora, o que as tornam apropriadas para terapia celular (WU *et al.*, 2017).

As CTM têm sido amplamente investigadas e isso se deve ao fato das células-tronco poderem migrar para locais lesados, se diferenciar em células funcionais em estágio final e reparar o tecido lesado, além do efeito terapêutico pela capacidade de modulação do sistema imune inato e adaptativo (FAN *et al.*, 2020). As CTM ainda podem aumentar a viabilidade celular, inibir a morte celular, aumentar a angiogênese, promover a neovascularização e modular as repostas imunes por meio de efeito parácrinos (CAPLAN; DENNIS, 2006; FAN *et al.*, 2019). O que faz da CTM um tratamento promissor para várias doenças por migrarem para locais lesados, por se diferenciarem em vários tipos de tecido e pela regulação imunológica (LI; GUO; CHEN, 2017).

2.2.2 Uso de células-tronco mesenquimais na urologia

Recentemente muitas inovações na pesquisa com células-troncos potencializam o tratamento em urologia regenerativa (SUN *et al.*, 2019). Uma dessas pesquisas foram desenvolvidas com incontinência urinária de esforço que atinge cerca de 25% de mulheres americanas. Em estudos realizados com ratas com lesão dupla de distensão vaginal e esmagamento de nervo pudendo e tratadas com CTM restauram a função uretral e nervosa (DISSARANAN *et al.*, 2014). Além disso, outros estudos demonstraram a eficácia da célula-tronco no tratamento da incontinência urinária de estresse (CARR *et al.*, 2008; STANGEL-WOJCIKIEWICZ *et al.*, 2016; SEBE *et al.*, 2011).

A doença renal crônica tem uma grande taxa de mortalidade, e o tratamento ouro que é o transplante renal, embora a fila de espera possa demorar anos, nesse sentido as CTM podem ser uma solução regenerativa e auxiliar milhões de pacientes que sofrem dessa doença (SUN *et al.*, 2019). Muitos estudos relatam melhora na

prevenção da perda da função renal (SEMEDO *et al.*, 2009; KINNAIRD *et al.*, 2004; MORIGI *et al.*, 2008).

A disfunção da bexiga contempla uma variedade de patologias que afetam a micção e podem incluir retenção urinária, bexiga neurogênica, cistite intersticial, bexiga hiperativa entre outras doenças. Apesar de muitas dessas doenças tenham tratamento cirúrgico e farmacológico, nenhum deles oferece o potencial regenerativo que as CTM proporcionam (SUN *et al.*, 2019). Estudos com ratos com disfunção miccional diabética induzido por dieta rica em gordura e estreptozocina tratados com injeções intra-detrusoras ou intravenosa de CTM demonstraram a regulação positiva do músculo liso e dos fatores de crescimento neuronal (ZHANG *et al.*, 2011). Outro estudo com células-tronco e bexiga hiperativa em ratos demonstrou que as células-tronco transplantadas liberam fatores que podem tratar a bexiga hiperativa (SONG *et al.*, 2013).

Outra área da urologia com estudos com células-tronco que mostraram benefício é a disfunção erétil masculina (SUN *et al.*, 2019). Um estudo realizado por Sun *et al.* (2012) com ratos diabéticos com disfunção erétil e tratados com células-tronco mostrou a recuperação da função erétil após os tratamentos de células-troncos.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar o efeito das células tronco mesenquimais em pacientes com hipocontratilidade detrusora.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar:

- a) A função vesical através das medidas de: fluxo máximo, fluxo médio, tempo de micção e pressão máxima de contração detrusora na avaliação Urodinâmica;
- b) Os sintomas urinários e o impacto deste na qualidade de vida através de questionários validados pela *International Continence Society*;
- c) O resíduo pós miccional pelo Cateterismo limpo intermitente e Diário Miccional.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

O teste clínico aberto foi realizado no Hospital Universitária Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP) com aprovação do Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e Comitê de Ética em Pesquisa de Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEP/CONEP) sob o nº 2.745.746. O estudo foi realizado conforme a Resolução nº 466 do Conselho Nacional da Saúde (Brasil, 2012).

4.2 PARTICIPANTES

Foram avaliados nove pacientes do sexo masculino, provenientes do Ambulatório de Urologia do HUMAP, com diagnóstico clínico e urodinâmico de hipoatividade detrusora. Os indivíduos foram esclarecidos quanto ao propósito da pesquisa, e aqueles que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os critérios de inclusão foram pacientes do sexo masculino com estudo urodinâmico demonstrando apenas hipoatividade detrusora sem a presença de fator obstrutivo ao fluxo urinário. Os pacientes ainda deveriam estar em regime de cateterismo intermitente limpo, não serem submetidos a qualquer procedimento cirúrgico no trato urinário inferior nos últimos 12 meses. Os critérios de exclusão foram insuficiência renal terminal (com anúria), infecção urinária de repetição, não aderência aos protocolos de acompanhamento clínico e autocateterismo intermitente limpo. Presença de qualquer neoplasia maligna confirmada em tratamento ou já tratada recentemente ou mesmo qualquer suspeita de câncer consistiram em importante critério de exclusão devido à contra-indicação de uso de células tronco.

4.3 INTERVENÇÃO

Os pacientes eram acompanhados no ambulatório e foram submetidos à avaliação clínica e laboratorial periodicamente, incluindo os exames pré-cirúrgicos. Para o diagnóstico, os pacientes foram também submetidos à ultrassonografia de

aparelho urinário e de próstata, uretrocistoscopia (ótica 30°, cistoscópio 19fr, acoplado em câmera Storz) e estudo urodinâmico composto por urofluxometria inicial, cistometria diferencial e estudo de fluxo pressão realizados em equipamento de urodinâmica Dynapack MPX 816.

A coleta de tecido adiposo para a extração das células-tronco mesenquimais foi realizada na face interna da coxa direita e esquerda por meio de lipoaspiração. O abdome inferior e a parte interna da coxa possuem são as melhores fontes de células-tronco mesenquimais adultas (PADOIN *et al.*, 2008). Os procedimentos foram realizados por médico especialista em cirurgia plástica em regime ambulatorial. Para a coleta fez-se a assepsia com clorexidina aquosa a 4% e colocação de campos estéreis. Em seguida, procedeu-se anestesia com 125 ml de solução anestésica (lidocaína 20% sem adrenalina, soro fisiológico 0,9% e bicarbonato de sódio 8,4%) para promover a lipodistensão do tecido. Em seguida, com o auxílio de uma cânula de lipoaspiração (3mm) fez-se a retirada de 200ml de solução. O material foi acondicionado em frasco estéril contendo solução tampão fosfato (PBS) com 1% de antibiótico/antimicótico (estreptomicina/penicilina/anfotericina B, Sigma®, Lote 097M4875V). O material foi transportado para o Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CeTroGen) em caixa térmica.

4.4 EXTRAÇÃO

O lipoaspirado foi centrifugado por 10 minutos a 2000 rpm. Aspirou-se a solução tampão fosfato (PBS) restando apenas o tecido adiposo. Os frascos foram preenchidos com PBS e procedeu-se uma nova centrifugação como descrito anteriormente. Esse processo foi repetido por mais duas vezes. Ao tecido adiposo foi adicionado uma solução de Colagenase do tipo I diluída em PBS. Incubou-se por 30 minutos a 37°C com homogeneização a cada 5 minutos. A atividade da enzima foi neutralizada com DMEM (Meio de Cultura Eagle Dulbecco Modificado baixa glicose - Sigma®) contendo 10% de soro fetal bovino (Gibco Life Technologies). Fez-se uma nova centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm. Na sequência o sobrenadante foi desprezado. Ao *pellet* foi adicionado 10mL de solução de lise de hemácias, homogeneizou-se e incubou-se por 5 minutos. Procedeu-se uma nova centrifugação por 10 minutos a 1600 rpm. Desprezou-se o sobrenadante e o *pellet*

foi ressuspensão em 3mL de meio de cultura - DMEN suplementado com 10% de soro bovino fetal e semeados em um poço de uma placa de cultura de 6 poços. A cultura foi realizada em incubadora a 37°C e 5% de CO₂. Após 24 horas o meio de cultura foi trocado.

4.5 CULTIVO

A cultura de células-tronco mesenquimais foi mantida em meio de cultura DMEN baixa glicose suplementado com 10% de soro bovino fetal a 37°C com 5% de CO₂. O meio de cultura foi trocado a cada 72 horas. Após atingir aproximadamente 80% de confluência, as células foram lavadas três vezes com PBS. Em seguida, acrescentou-se 0,5mL de tripsina (0,025%) e esperou-se o desprendimento das células (tempo máximo de 3 minutos). A tripsina foi inativada com 1mL de DMEM suplementado. A solução contendo as células foi transferida para um tubo cônico de 15ml e centrifugada por 5 minutos a 1.200 rpm. O sobrenadante foi descartado e as células foram homogeneizadas em 5ml de DMEM suplementado. Na sequência semeou-se as células em garrafa de 25 cm². O cultivo foi realizado da mesma forma já descrita. Quando o frasco atingiu confluência de 80% as células foram lavadas com PBS, tripsinizadas e semeadas em duas garrafas de 75cm². Soltou-se a células do frasco com auxílio de tripsina e após uma amostra de 10µL de solução contendo as células tronco foi colocada em um microtudo para contagem e análise da viabilidade celular por azul de tripan (1:1). Esse processo foi repetido até obter 2.10⁶ de células-tronco mesenquimais.

4.6 CARACTERIZAÇÃO POR IMUNOFENOTIPAGEM DAS CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS

A imunofenotipagem das células foi caracterizada por citometria de fluxo. Aproximadamente 2 x 10⁵ CTM na 1^o passagem foram coletadas de uma garrafa de 25 cm³ por tripsinização (1ml tripsina 0,25%/ 3 min), centrifugadas e incubadas durante 30 min a 4°C, com anticorpos, para os seguintes marcadores celulares: CD105, CD90, CD34 e CD133 (Pharmingen BD, San Diego, CA. EUA). As células foram analisadas em um ACCURI C6 (Becton Dickinson, EUA). Os gráficos de

caracterização foram gerados com a captura de 104 eventos (software BD ACCURI C6; Becton Dickinson, EUA).

4.7 COMPROVAÇÃO DA MULTIPOTÊNCIA POR ENSAIO DE DIFERENCIAÇÃO CELULAR

As células, na 3^o passagem, foram submetidas ao ensaio de diferenciação adipogênica, osteogênica e condrogênica. Para isto, foram semeadas 105 células/poço em placas de 6 poços. Após a adesão celular (24 horas), o DMEM foi descartado e, em seguida, as células foram cultivadas com o meio específico (DE CARVALHO 34 SCHWEICH et al., 2017). Os procedimentos foram realizados em triplicatas, com uma cultura de CTM utilizando meio DMEM para controle da diferenciação.

4.7.1 Diferenciação adipogênica

Para cada 1 ml HDMEM, suplementado com 20% de SBF, utilizou-se 0,714 µL de insulina (0,35mg/ml); 100 µM de indometacina (0,0447g de indometacina Sigma® em 5 ml de DMSO); 3,5 µM de rosiglitazona (0,0089g de rosiglitazona em 5 ml de DMSO); 10⁻⁵ M de dexametasona (solução estoque - 1,2 mg de dexametasona em 1223 µl de etanol sendo a solução final preparada a partir de 10 µl da solução estoque para cada 2,5 ml de DMEM) (MARKARIAN et al., 2014; DE CARVALHO SCHWEICH et al., 2017). Todas as soluções foram estocadas em freezer, exceto a indometacina (temperatura ambiente). O meio diferenciador foi preparado no dia do uso, sendo trocado a cada 3 dias (HERMETO, L. et al., 2016) e o processo de diferenciação se deu por duas semanas (VIEIRA et al., 2014). Após descarte do meio diferenciador, as células foram fixadas por 60 min, em temperatura ambiente, com formol a 10%. Em seguida, as células foram lavadas com isopropanol a 60% e, posteriormente, incubadas com Oil Red O (Sigma®) por 20 min em temperatura ambiente. O excesso de corante foi removido por lavagens com água destilada. A diferenciação foi confirmada pelo acúmulo de lipídeos intracelulares.

4.7.2 Diferenciação osteogênica

Para a produção do meio de indução osteogênica foi utilizado 7,9 ml de DMEM; 10 µL de solução estoque de ácido ascórbico (50 mg de ácido ascórbico 2-fosfato em 10 ml de DMEM); 1 ml de solução estoque de β-glicerofosfato (630mg de β-glicerofosfato em 20 ml de DMEM) e 1 ml de SBF. Todas as soluções foram estocadas em freezer, e o meio diferenciador foi preparado a cada semana, sendo que no momento de cada troca, 1µL de dexametasona 1.000x era acrescentado para cada 1 ml de meio osteogênico. O meio de diferenciação foi trocado a cada 3 dias durante quatro semanas (HERMETO, L. et al., 2016). Após descarte do meio diferenciador, as células foram fixadas por 10 min, em temperatura ambiente, com formol a 10%. Em seguida, as células foram lavadas 2 vezes com PBS e coradas com Alizarin Red (Sigma®) por 5 min em temperatura ambiente. O excesso de corante foi removido por lavagens com água destilada (MARKARIAN et al., 35 2014). A diferenciação osteogênica foi comprovada pela visualização de depósitos de cálcio no 21º dia.

4.7.3 Diferenciação condrogênica

As células foram mantidas com o *kit* de diferenciação condrogênica STEMPRO (Gibco® Life Technologies) segundo instruções do fabricante por 21 dias, sendo o meio de cultura trocado a cada 3 dias. Após o descarte do meio diferenciador, as células foram fixadas por 30 min a temperatura ambiente com paraformaldeído 4%, depois foram lavadas 2 vezes com PBS e coradas com Azul de Alcian (Neon®) por 5 min à temperatura ambiente. O excesso de corante foi removido por lavagens com água destilada (CAMASSOLA et al., 2012). A diferenciação foi confirmada pela presença de matriz extracelular rica em glicosaminoglicanos no 21º dia.

4.8 TRANSPLANTE

Quando o volume celular atingiu $2 \cdot 10^6$, as células foram lavadas três vezes com PBS. Em seguida, 1ml de tripsina, na concentração de 0,25%, foi adicionada no frasco de cultivo e incubada por 3 minutos. A atividade da enzima foi inativa com 2

mL de meio de cultura DMEN suplementado com 10% de soro bovino fetal. Em seguida, as células foram transferidas para um tubo cônico de 15mL. Fez-se a centrifugação do tubo cônico por 5 minutos a 1200 rpm. Na sequência, com auxílio de uma pipeta de *Pasteur*, aspirou-se o sobrenadante. O *pellet* celular foi ressuspenso em PBS. Fez-se a centrifugação por 5 minutos a 1200 rpm. Esse processo foi repetido por mais duas vezes. O *pellet* foi ressuspenso em 5mL de soro fisiológico estéril e colocados em uma seringa de 10 mL. O material foi encaminhado para o Ambulatório de Urologia para o transplante.

As células foram transplantadas por meio de uretrocistoscopia em regime ambulatorial sob anestesia local, via ureteral. Foram utilizados 20g de lidocaína em gel a 2%.

Cada paciente recebeu dois transplantes com 2×10^6 células-tronco mesenquimais com intervalo de 30 dias. O transplante foi realizado por meio de injeção intravesical com agulha cistoscópica (20 Gauge) em cinco pontos do corpo da bexiga acima do trígono vesical. Os pacientes foram acompanhados clinicamente durante e após o transplante para verificação de possíveis intercorrências incluindo exames laboratoriais.

4.9 ACOMPANHAMENTO CLÍNICO

Os indivíduos foram submetidos ao procedimento de uretrocistoscopia, com o transplante intravesical de células-tronco mesenquimais, em regime ambulatorial. Após o procedimento os indivíduos permaneceram em observação na sala de procedimento, em decúbito dorsal com cabeceira elevada a 45 graus por 60 minutos aos cuidados da equipe médica e de enfermagem.

Os sinais vitais (pressão arterial, frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura axilar e saturação de oxigênio) foram aferidos pela equipe de enfermagem durante o período de permanência na unidade de saúde. Os pacientes receberam hidratação via oral e durante o período foram avaliados quanto a sintomas miccionais de dor, sangramento e desconforto miccional.

Ao final desse período, os indivíduos receberam alta com orientação quanto às possíveis complicações relacionadas ao procedimento de uretrocistoscopia e do transplante intravesical de células-tronco mesenquimais. Os pacientes foram submetidos a um protocolo de profilaxia com antibioticoterapia. Após a alta os

indivíduos receberam o medicamento Levofloxacino 500mg e foram orientados a tomar o medicamento 1 vez ao dia por 3 dias consecutivos e no mesmo horário. Se necessários foram orientados à analgesia com paracetamol 500mg via oral de 6/6 horas em caso de dor.

Os pacientes retornaram no ambulatório de Urologia para avaliação médica a cada 15 dias nos primeiros 2 meses e mensalmente do segundo ao sexto mês. Os pacientes foram submetidos a exames laboratoriais (hemograma completo, uréia, creatinina, sódio, potássio, glicose, urina tipo 1 e cultura de urina) 15 dias após a realização do primeiro e do segundo transplante e a cada 60 dias do segundo ao sexto mês pós transplante.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão da média ou porcentagens. A análise estatística foi realizada por t-Student. As diferenças serão consideradas significativas quando $p \leq 0,05$ (*Software* GraphPad InStat 5). Os gráficos foram feitos usando (*Software* GraphPad Prism 5).

5 RESULTADOS

(Os resultados serão apresentados em forma de artigo).

5.1 ARTIGO 1 - Terapia com células tronco mesenquimais reverte a hipoatividade detrusora em paciente renal crônico

Terapia com células tronco mesenquimais reverte a hipoatividade detrusora em paciente renal crônico

Henrique Rodrigues Scherer Coelho^{1,2}, Silvia Cordeiro das Neves^{1,2}, Jovino da Silva Menezes³, Andréia Conceição Milan Brochado Antonioli-Silva^{1,2}, Rodrigo Juliano Oliveira^{1,2}.

¹Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CeTroGen), Hospital Univesitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP), Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta (FAMED), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³Clinica Samari, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Resumo

A Hipoatividade detrusora (HD) caracteriza-se por baixa pressão do detrusor ou contração curta associada ao baixo fluxo urinário. Essa condição pode evoluir para insuficiência renal crônica (IRC) e necessidade diálise. O presente relato de caso demonstra que um paciente com diagnóstico de HD e IRC que recebeu 2 transplantes com 2×10^6 células tronco mesenquimais, num intervalo de 30 dias, recuperou a força contrátil da bexiga e normalizou as suas funções renais. O paciente tinha score 19 no ICIQ-SF antes da terapia celular e esse score foi reduzido para 1 após o transplante. Esses resultados demonstram que houve melhora na função miccional, no jato urinário e do volume urinado avaliados pelo exame de urofluxometria. Além disso, o estudo urodinâmico realizado após o tratamento demonstrou aumento do fluxo máximo de 2 ml/s para 23 ml/s, da pressão detrusora no fluxo máximo de 21 cmH₂O para 46 cmH₂O e do *BCI* que passou de 31 para 161 caracterizando boa contração detrusora. Frente ao exposto, considera-se que o transplante de células tronco mesenquimais, no presente caso, demonstrou ser uma opção terapêutica viável uma vez que o paciente recuperou a força contrátil da bexiga e reverteu o quadro de IRC.

Introdução

A Hipoatividade Detrusora (HD) caracteriza-se por baixa pressão do detrusor ou contração curta associada ao baixo fluxo urinário. O resultado é o esvaziamento prolongado da bexiga e/ou a falha em atingir o esvaziamento completo (D' ANCONA, et. al., 2019).

Pacientes com HD desenvolvem sinais e sintomas que podem agravar o quadro. Dentre esses, cita-se o alto resíduo pós-miccional que leva ao aumento de infecções urinárias de repetição, formação de cálculos de vias urinárias e até à insuficiência renal aguda (ALDAMANHORI, CHAPPLE, 2017; LISIEUX, 2012). Até o momento, não há nenhum tratamento efetivo e/ou que devolva a função de contratilidade da bexiga. Frente ao exposto a presente pesquisa teve por objetivo relatar um caso de paciente com HD e insuficiência renal crônica (IRC) tratado com células tronco mesenquimais.

Casuística e métodos

Um paciente de 54 anos, do sexo masculino, pardo, sem história de tabagismo ou etilismo, portador de hipertensão arterial sistêmica, com história de retenção urinária aguda há 18 meses e em insuficiência renal crônica foi encaminhado para o Serviço de Urologia do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP). O paciente já era acompanhado, previamente, pelo serviço de Nefrologia do mesmo hospital e estava em hemodiálise a 6 meses. O paciente também já havia sido submetido à ressecção endoscópica de próstata para tratamento de hipertrofia de próstata. O exame anatomopatológico resultou em hiperplasia prostática benigna.

Após o tratamento cirúrgico, o paciente ainda se queixava de jato urinário fraco e intermitente, sensação de esvaziamento incompleto, gotejamento terminal e perda urinária.

O paciente foi submetido à sondagem vesical de demora, exames hematológicos e bioquímicos, incluindo os exames pré-cirúrgicos, ultrassonografia de aparelho urinário e de próstata, uretrocistoscopia (ótica 30°, cistoscópio 19fr, acoplado em câmera Storz) e estudo urodinâmico composto por urofluxometria

inicial, cistometria diferencial e estudo fluxo pressão realizados em equipamento de urodinâmica Dynapack MPX 816.

Para avaliação da qualidade de vida utilizou-se o instrumento validado *International Continence on Incontinence Questionnaire – Short Form (ICIQ-SF)*. O instrumento de coleta de dados foi aplicado no início da pesquisa e 60 dias após o último transplante.

Ao paciente foi proposto o tratamento com células tronco mesenquimais (Parecer consubstanciado CEP/CONEP número #2.745.746). Após aceitar a intervenção e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o paciente foi submetido à coleta de gordura periférica na face interna da coxa direita e esquerda por meio de lipoaspiração. O procedimento foi realizado por médico especialista em cirurgia plástica, em regime ambulatorial. Foi realizada a assepsia com clorexidina aquosa a 4% e colocação de campos estéreis. Em seguida, procedeu-se a anestesia com 125ml de solução anestésica (lidocaína 20% sem adrenalina, soro fisiológico 0,9% e bicarbonato de sódio 8,4%) para promover a lipodistensão do tecido. Em seguida, com o auxílio de uma cânula de lipoaspiração (3mm) fez-se a retirada de 200 ml de solução. O material foi acondicionado em frasco estéril contendo solução tampão fosfato (PBS) com 1% de antibiótico/antimicótico (Penicilina, Estreptomicina, Anfotericina B, SIGMA-A5955, lote 097M4875V). O material foi transportado para o Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia celular e Genética Toxicológica (CeTroGen/HUMAP) e processado segundo rotina convencional para a extração e o cultivo das células tronco mesenquimais (PESARINI *et al.*, 2018). Para a preparação do material biológico para a terapia celular procedeu-se a tripzinização das células e lavagem a exaustão, adaptado de Schweich-Adami (2021).

Após 60 dias, o paciente foi submetido a uretrocistoscopia em regime ambulatorial para o transplante de 2×10^6 células tronco mesenquimais. O transplante foi realizado por meio de injeção intravesical com agulha cistoscópica (20 Gauge) em 5 pontos no corpo da bexiga acima do trígono vesical. Um segundo transplante foi realizado 30 dias após o primeiro seguindo os mesmos princípios.

O paciente foi acompanhado clinicamente durante e após o transplante para verificação de possíveis intercorrências. O paciente foi submetido a exames de urocultura.

Relato de caso

O paciente foi submetido à sondagem vesical de demora que drenou 1200 ml de urina.

No exame físico, não foram notadas visceromegalias ou linfomegalias. Ao exame urológico, notou-se genitália externa normal. Abdome com abaulamento e dor na região hipogástrica. Exame digital retal revelou próstata de 40 gramas, sem nódulos e indolor. O hemograma e o coagulograma estavam normais. Os exames bioquímicos indicaram doença renal crônica incipiente com uréia de 89 mg/dL e creatinina com 2,8 mg/dL e clearance de creatinina 15 mL/min. O ultrassom do aparelho urinário mostrava bexiga de esforço e sinais de nefropatia crônica bilateral. O ultrassom de próstata evidenciou próstata de 45 gramas e acentuado resíduo pós-miccional.

A uretrocistoscopia apresentou-se normal. As uretras peniana, bulbar e membranosa estavam pérvias. A uretra prostática apresentou sinais de ressecção endoscópica prévia e colo vesical aberto. Os meatos ureterais eram tópicos e paredes vesicais trabeculadas.

Posteriormente, o paciente foi submetido a estudo urodinâmico para avaliação da disfunção miccional. A urofluxometria inicial mostrou fluxo máximo de 4 mL/s, fluxo médio de 1 ml/s, volume urinado de 19 ml e resíduo pós-miccional de 800 mL. Na cistometria diferencial observou-se capacidade cistométrica máxima (CCM) de 550 mL, complacência vesical de 45 ml/cmH₂O, sensibilidade diminuída, não apresentou perdas com manobras de esforço e ausência de contração não inibida do detrusor. O estudo fluxo-pressão apresentou fluxo máximo (Q_{max}) de 2 ml/s e pressão detrusora no fluxo máximo (P_{det}Q_{max}) de 21 cmH₂O, volume urinado de 82 ml, índice de contratilidade detrusora (Bladder contractility index: BCI = P_{det}Q_{max} + 5 x Q_{max}) de 31. Os valores obtidos com esse estudo urodinâmico foram compatíveis com o diagnóstico de Hipoatividade detrusora (Tabela 1).

No ICIQ-SF o score do paciente foi de 19 (Tabela 1).

Tabela 1. Valores absolutos e variação percentual dos resultados da urofluxometria, cistometria e estudo de pressão fluxo e escore do *International Continence on Incontinence Questionnaire-Short Form*, antes e após a terapia celular.

| Urofluxometria | | | |
|---|-------|--------|------|
| | Antes | Depois | % |
| Fluxo Máximo | 4 | 21 | 425 |
| Fluxo Médio | 1 | 6 | 500 |
| Volume urinado | 19 | 232 | 1121 |
| Resíduo | 800 | 20 | -98 |
| Cistometria | | | |
| | Antes | Depois | % |
| CCM | 500 | 405 | -19 |
| Perdas Urinárias | Sim | Não | |
| Hiperatividade | Não | Não | |
| Complacência | 45 | 50 | 11 |
| Estudo Fluxo Pressão | | | |
| | Antes | Depois | % |
| Fluxo Máximo | 2 | 23 | 1050 |
| Fluxo Médio | 21 | 46 | 119 |
| Volume urinado | 82 | 537 | 555 |
| BCI | 31 | 161 | 419 |
| International Continence on Incontinence Questionnaire-Short Form | | | |
| | Antes | Depois | % |
| ICIQ-SF | 19 | 1 | -95% |

Legenda: CCM - Capacidade cistométrica máxima; BCI - Índice de Contratilidade Vesical

O tratamento padrão para caso de HD foi instituído com cateterismo intermitente limpo com volume máximo em cada drenagem de 400 ml e acompanhamento periódico com diário miccional.

As células tronco mesenquimais foram imunofenotipadas e constatou-se a marcação de CD90 e CD105 e a não marcação de CD133 e CD34 (Figura 1) segundo protocolo de SCHWEICH *et al* (2017). As células ainda foram submetidas ao processo de diferenciação adipogênica, osteogênica e condrogênica (SCHWEICH *et al*, 2017). As diferenciações foram confirmadas pela presença de gotículas de lipídeos, matriz extracelular rica em cálcio e matriz extracelular rica em glicosaminoglicanas coradas por *Oil Red*, *Alizarida Red* e *Alcian Blue*, respectivamente.

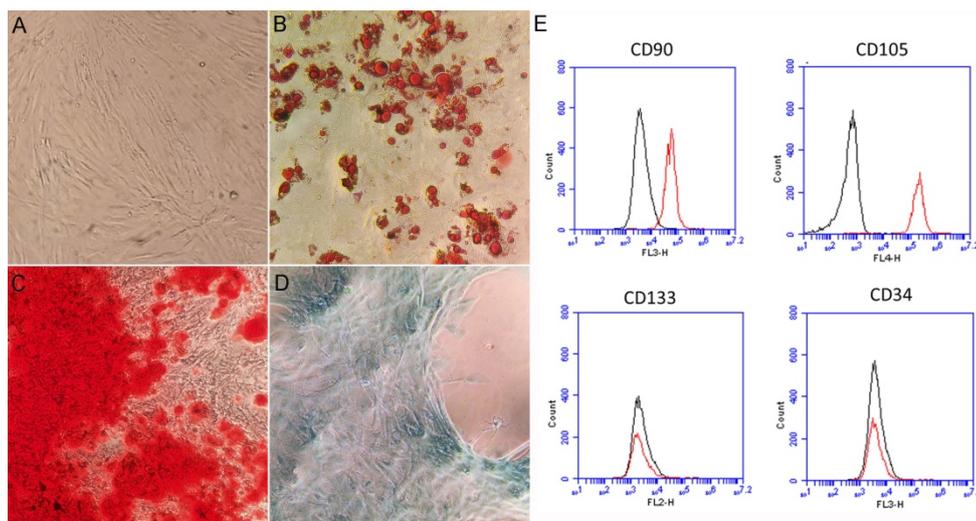


Figura 1. Morfologia, caracterização e potencial de diferenciação de células-tronco derivadas do tecido adiposo, aumento 400x – (A) Cultura indiferenciada demonstrando células com características de fibroblastos, (B) cultura de diferenciação adipogênica e vacúolos lipídicos corados com Oil red O, (C) cultura de diferenciação osteogênica e depósitos de cálcio coradas com Vermelho de Alizarina e (D) cultura de diferenciação condrogênica e matriz extracelular rica em glicosaminoglicanos corada com Azul Alcian. (E) Perfil imunofenotípico de células-tronco mesenquimais. As células expressaram os marcadores CD 90 e CD105 e não expressaram CD133 e CD34.

O paciente foi acompanhado clinicamente durante e após o transplante para verificação de possíveis intercorrências e nenhuma complicação foi observada. Os exames de urocultura não indicaram nenhuma infecção.

Após 60 dias do transplante, o paciente foi submetido a novo estudo urodinâmico. Na urofluxometria inicial apresentou fluxo máximo de 21 ml/s, fluxo médio de 6 ml/s, volume urinado de 232 ml e resíduo de 20 ml. A cistometria diferencial apresentou capacidade cistométrica máxima de 450 ml, complacência vesical 50 ml/H₂O, sensibilidade diminuída com ausência de perdas e de contração detrusora involuntária. O estudo fluxo-pressão apresentou fluxo máximo de 23 ml/s e PdetQmax de 46 cmH₂O. O volume urinado foi de 537 ml e o BCI atingiu 161.

O escore atingido no questionário ICIQ-SF foi de apenas 1.

O paciente foi acompanhado por 6 meses e o quadro de insuficiência renal crônica foi revertido passando a apresentar clearance de creatinina de 50 mL/min, creatinina 1,8 mg/dL e uréia 59 mg/dl. Esse fato garantiu ao paciente melhorias da qualidade de vida com melhora da fluxo urinário e sua suspensão da hemodiálise que era feita 3 vezes por semana.

Discussão

A HD é uma disfunção miccional caracterizada por fluxo urinário baixo, pressão detrusora diminuída ou com duração frusta que leva ao esvaziamento incompleto da bexiga (D'ANCONA *et al.*, 2019; YU, JEONG, 2017). O diagnóstico requer avaliação clínica, ultrassonografia de aparelho urinário, uretroroscopia para o devido diagnóstico diferencial de causas de sintomas do trato urinário inferior. O padrão ouro para confirmar esse diagnóstico é o estudo fluxo pressão realizado durante o estudo urodinâmico que evidencia fluxo máximo < 15 ml/s e Pdet < 30 cmH₂O (D'ANCONA *et al.*, 2019; VASCONCELOS *et al.*, 2013).

O paciente apresentava idade compatível com diagnóstico de hipertrofia prostática benigna (HPB) visto que até 50% dos pacientes acima dos 50 anos podem desenvolver essa doença e até 40% dos homens com menos de 65 anos podem apresentar hipoatividade detrusora (ABARBANEL, MARCUS, 2007; RADEMAKERS, VAN KOEVERINGE, OELKE, 2017).

A história clínica apresentada representa a evolução esperada de pacientes que possuem HPB e iniciam tardiamente o diagnóstico e o tratamento. O paciente desenvolveu retenção urinária crônica, com necessidade de uso de sonda de *Foley*, e insuficiência renal crônica. Mesmo após o tratamento cirúrgico da HPB, por meio de ressecção endoscópica de próstata, o paciente permaneceu com sinais de retenção urinária crônica com globo vesical palpável, resíduo pós-miccional elevado, jato urinário fraco, intermitente e prolongado. Essa condição também é relatada por Aldamanhori, Chapple (2017). Essas condições impactavam negativamente a qualidade de vida do paciente o que foi comprovado pelo score 19 no ICIQ-SF que possui pontuação máxima de 21 (TAMANINI *et al.*, 2004).

A ultrassonografia realizada demonstrou sinais de nefropatia crônica bilateral, bexiga espessada e resíduo pós-miccional elevada. A uretroroscopia demonstrou que não havia obstrução do trato urinário inferior por estenose de uretra e o colo vesical estava aberto. Esses fatos juntos sugerem a HD (RADEMAKERS, VAN KOEVERINGE, OELKE, 2017).

O estudo urodinâmico realizado demonstrou no estudo fluxo-pressão fluxo máximo de 2 ml/s e PdetQmax de 21 cmH₂O. O BCI calculado foi de 31, bem abaixo de 100 que confirma o diagnóstico de HD (D'ANCONA *et al.*, 2019; SELMAN *et al.*, 2019).

O paciente foi tratado com medidas conservadoras tais como cateterismo intermitente limpo e vigilância quanto à função renal e infecção do trato urinário (BAYRAK, DMOCHOWSKI, 2019). No entanto, as intervenções não foram eficientes e o quadro geral do paciente certamente evoluiria para complicações devido à insuficiência renal crônica com necessidade de hemodiálise durante toda a sua vida. Pacientes renais crônicos geram altos custos para o Sistema Único de Saúde (SUS) além de terem uma qualidade de vida comprometida e baixa sobrevida (JESUS *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2016).

Nesse contexto, de ausência de resultados satisfatórios com as terapias convencionais, a terapia com células tronco mesenquimais demonstrou-se eficiente em reverter o quadro de insuficiência renal crônica e melhorias da qualidade de vida do paciente. Tais melhorias são representadas pela redução de 18 pontos no escore do ICIQ-SF que é um questionário internacional validado e muito utilizado na área de disfunção miccional (SIRLS *et al.*, 2015; KARMAKAR, MOSTAFA, ABDEL-FATTAH, 2017).

Comprovam ainda a melhoria da qualidade de vida do paciente e nas suas função renal o fato de o paciente apresentar melhora na função miccional, no jato urinário e no volume urinado avaliados pelo exame de urofluxometria. Além disso, o estudo urodinâmico realizado após o tratamento demonstrou aumento do fluxo máximo de 2 ml/s para 23 ml/s, da pressão detrusora no fluxo máximo de 21 cmH₂O para 46 cmH₂O e do BCI que passou de 31 para 161 caracterizando boa contração detrusora (D'ANCONA *et al.*, 2019; SELMAN *et al.*, 2019). Esses valores tiram o paciente do diagnóstico de HD bem como demonstra a reversão do quadro de insuficiência renal crônica que era decorrente dessa. Por fim, o paciente relata satisfação com a função miccional e com a capacidade de esvaziamento da bexiga visto que o volume residual antes do transplante das células tronco mesenquimais era de 800 ml e atualmente é menor do que 20 ml durante o cateterismo intermitente limpo, volume desprezível por estar dentro dos parâmetros considerados normais (ASIMAKOPOULOS *et al.*, 2016).

Em conclusão inferimos que o transplante de células tronco mesenquimais, no presente caso, demonstrou ser uma opção terapêutica viável e segura uma vez que o paciente recuperou a força contrátil da bexiga e reverteu o quadro de insuficiência renal crônica passando do grau IV para o grau III.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC – Brasil, do Hospital Maria Aparecida Pedrossian - HUMAP, e com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Capes) - Código de Financiamento 001. Além do apoio da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

Referências

ABARBANEL, Joseph; MARCUS, Esther-Lee. Impaired detrusor contractility in community-dwelling elderly presenting with lower urinary tract symptoms. **Urology**, v. 69, n. 3, p. 436-440, 2007.

ALDAMANHORI, Reem; CHAPPLE, Christopher R. Underactive bladder, detrusor underactivity, definition, symptoms, epidemiology, etiopathogenesis, and risk factors. **Current opinion in urology**, v. 27, n. 3, p. 293-299, 2017.

ASIMAKOPOULOS, Anastasios D. et al. Measurement of post-void residual urine. **Neurourology and urodynamics**, v. 35, n. 1, p. 55-57, 2016.

BAYRAK, Ömer; DMOCHOWSKI, Roger Roman. Underactive bladder: a review of the current treatment concepts. **Turkish journal of urology**, v. 45, n. 6, p. 401, 2019.

D'ANCONA, Carlos et al. The International Continence Society (ICS) report on the terminology for adult male lower urinary tract and pelvic floor symptoms and dysfunction. **Neurourology and urodynamics**, v. 38, n. 2, p. 433-477, 2019.

JESUS, Nadaby Maria et al. Quality of life of individuals with chronic kidney disease on dialysis. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 41, n. 3, p. 364-374, 2019.

KARMAKAR, Debjyoti; MOSTAFA, Alyaa; ABDEL-FATTAH, Mohamed. A new validated score for detecting patient-reported success on postoperative ICIQ-SF: a novel two-stage analysis from two large RCT cohorts. **International urogynecology journal**, v. 28, n. 1, p. 95-100, 2017.

LISIEUX, E; JESUS, TCBC RJ. Disfunção miccional–doença funcional e social. **Cirurgiões**, v. 39, n. 2, p. 85, 2012.

PESARINI, João Renato et al. Calcitriol combined with calcium chloride causes apoptosis in undifferentiated adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells,

but this effect decreases during adipogenic differentiation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 914-924, 2018.

RADEMAKERS, Kevin LJ et al. Ultrasound detrusor wall thickness measurement in combination with bladder capacity can safely detect detrusor underactivity in adult men. **World journal of urology**, v. 35, n. 1, p. 153-159, 2017.

SCHWEICH, Laynna C et al. All-trans retinoic acid induces mitochondria-mediated apoptosis of human adipose-derived stem cells and affects the balance of the adipogenic differentiation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1267-1274, 2017.

Schweich-Adami, Laynna C et al. Efeitos das Células-Tronco mesenquimais no tratamento da osteoartrite de joelho: Um relato de caso no sistema único de saúde do Brasil. **Revista Brasileira de Ortopedia**, 2021

SELMAN, Lucy E. et al. Recommendations for conducting invasive urodynamics for men with lower urinary tract symptoms: Qualitative interview findings from a large randomized controlled trial (UPSTREAM). **Neurourology and urodynamics**, v. 38, n. 1, p. 320-329, 2019.

SILVA, Silvia Brand et al. Uma comparação dos custos do transplante renal em relação às diálises no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, p. e00013515, 2016.

SIRLS, Larry T. et al. The minimum important difference for the International Consultation on Incontinence Questionnaire—Urinary Incontinence Short Form in women with stress urinary incontinence. **Neurourology and urodynamics**, v. 34, n. 2, p. 183-187, 2015.

TAMANINI, José Tadeu Nunes et al. Validação para o português do "International Consultation on Incontinence Questionnaire-Short form"(ICIQ-SF). **Revista de saude publica**, v. 38, p. 438-444, 2004.

VASCONCELOS, Monica Maria de Almeida et al. Disfunção do trato urinário inferior: um diagnóstico comum na prática pediátrica. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 35, n. 1, p. 57-64, 2013.

YU, Young Dong; JEONG, Seong Jin. Epidemiology of underactive bladder: Common but underresearched. **Investigative and clinical urology**, v. 58, n. Suppl 2, p. S68, 2017.

5.2 ARTIGO 2 - Terapia com células tronco mesenquimais do tecido adiposo melhora a contratilidade vesical e reduz o resíduo miccional

Terapia com células tronco mesenquimais do tecido adiposo melhora a contratilidade vesical e reduz o resíduo miccional

Henrique Rodrigues Scherer Coelho^{1,2}, Silvia Cordeiro das Neves^{1,2}, Jovino da Silva Menezes³, Andréia Conceição Milan Brochado Antonioli-Silva^{1,2}, Rodrigo Juliano Oliveira^{1,2}.

¹Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CeTroGen), Hospital Univesitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP), Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta (FAMED), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³Clinica Samari, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Resumo

A Hipocontratilidade Detrusora (HD) é uma doença sem um tratamento padrão ouro na medicina tradicional. Logo, há a necessidade de desenvolvimento de terapias inovadoras. O presente relato apresenta um caso de paciente com HD transplantado duas vezes com 2×10^6 células tronco mesenquimais que obteve melhoras significativas em sua qualidade de vida. Os resultados demonstraram que a terapia celular reduziu o resíduo miccional de 1800 mL para 800 mL; a Capacidade Cistométrica Máxima de 800 para 550 ml; a complacência de 77 para 36,6 mL/cmH₂O. A terapia celular também aumento o fluxo máximo de 3 para 11 mL/s; a pressão detrusora de 08 para 35 cmH₂O; o volume urinado de 267 para 524 ml e o índice de contratilidade vesical (BCI) de 23 para 90. O score do International Continence on Incontinence Questionare – Short Form passou de 17 para 8. Diante do exposto inferi-se que o transplante de células tronco mesenquimais do tecido adiposo é uma estratégia terapêutica inovadora para o tratamento da HD e para melhoria da qualidade de vida de pacientes acometidos por essa doença.

Introdução

A hipoatividade detrusora (HD) está relacionada à contração de baixa duração do detrusor o que deriva em baixa pressão associada a baixo fluxo urinário (D'ANCONA *et al.*, 2019). Pacientes acometidos por essa doença possuem fluxo urinário lento, hesitação e esforço para urinar, sensação de esvaziamento incompleto da bexiga e elevado resíduo pós-miccional (GAMMIE *et al.*, 2016).

De acordo com Levanovich *et al.* (2015) as células tronco mesenquimais do músculo são capazes de reduzir a capacidade cistométrica e devolver a capacidade de urinar pequenos volumes. Mesmo com essas melhorias o paciente permanece dependente de cateterismo. No entanto, existem trabalhos em urologia com terapia celular e engenharia tecidual para o reparo do tecido renal, gonadal, esfíncter uretral e bexiga (BECKER; JAKSE, 2007; LEVANOVIK *et al.*, 2015, ASSIS *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2019). Esses fatos demonstram a necessidade de continuar os estudos nessa área.

Reforçam a necessidade de estudos para o tratamento da HD o fato de terapias convencionais não apresentarem o padrão ouro desejado. Frente ao exposto o presente estudo relatou os efeitos da terapia celular com células tronco mesenquimais do tecido adiposo no tratamento da HD

Relato de caso

Um paciente de 74 anos, do sexo masculino, branco, com história de jato urinário fraco e intermitente, micção muito prolongada, hesitação, sensação de esvaziamento incompleto, dor e abaulamento em hipogástrio foi encaminhado para o Serviço de Urologia do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP). A história prévia relatava infecção urinária de repetição e uso de sonda vesical de *Foley* por retenção urinária há um ano. O paciente não tinha história de tabagismo, etilismo e comorbidades exceto a hipertensão arterial. O paciente fazia uso de Losartana (50 mg/dia).

No exame físico, apresentava genitália externa normal, abdômen com abaulamento e dor na região hipogástrica. O exame digital retal revelou próstata < 30 gramas, sem nódulos e indolor. O hemograma e coagulograma estavam normais.

A ultrassonografia demonstrou rins normais, bexiga com resíduo miccional acentuado e próstata de 20 gramas.

A uretrocistoscopia era compatível com uretra peniana, bulbar e membranosa normais; uretra prostática normal; colo vesical aberto; meatos ureterais tópicos e paredes vesicais lisas e sem trabeculações.

O paciente foi submetido ao Estudo Urodinâmico para avaliação da disfunção miccional. A urofluxometria inicial não desencadeou micção e apresentava resíduo miccional de 1800 ml aferido por sondagem vesical. A cistometria diferencial demonstrou capacidade cistométrica máxima (CCM) de 800 ml, complacência vesical de 77 ml/cmH₂O, sensibilidade diminuída, perdas com manobras de esforço e ausência de contrações. O Estudo Fluxo-pressão apresentou fluxo máximo (Q_{max}) de 3 ml/s, Pressão Detrusora no Fluxo Máximo (p_{detqmax}) de 8 cmH₂O, volume urinado de 267 ml, Índice de Contratilidade Detrusora (Bladder contractility index: BCI = p_{detqmax} + 5 x Q_{max}) de 23. Os valores obtidos com esse estudo urodinâmico são compatíveis com Hipoatividade Detrusora (Tabela 1).

Foi aplicado o questionário ICIQ-SF (*International continence on incontinence questionnaire – Short Form*) para avaliação de qualidade de vida com e o escore foi 17 (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores absolutos e percentual de variação dos resultados de urofluxometria, cistometria e estudo fluxo pressão e score do International Continence on Incontinence Questionnaire – Short From, antes e depois da terapia celular:

| Urofluxometria | | | |
|-------------------------|-------|--------|-------|
| | Antes | Depois | % |
| Fluxo Máximo | 0 | 10 | 1000 |
| Fluxo Médio | 0 | 5 | 500 |
| Volume urinado | 0 | 176 | 17600 |
| Resíduo | 1800 | 800 | -56 |
| Cistometria | | | |
| | Antes | Depois | % |
| CCM | 800 | 550 | -31 |
| Perdas Urinárias | Sim | Não | |
| Hiperatividade | Não | Não | |
| Complacência | 77 | 33,6 | -52 |
| Estudo do Fluxo Pressão | | | |
| | Antes | Depois | % |
| Fluxo Máximo | 3 | 11 | 267 |

| | | | |
|--|-------|--------|------|
| Pressão Detrusora Máxima | 8 | 35 | 338 |
| Volume urinado | 267 | 524 | 96 |
| BCI | 23 | 90 | 291 |
| International Continence on Incontinencia Questionaire | | | |
| | Antes | Depois | % |
| ICIQ-SF | 17 | 8 | -53% |

Legenda: CCM - Capacidade cistométrica máxima; BCI - Índice de Contratilidade Vesical

O tratamento padrão para caso de Hipoatividade Detrusora foi instituído com cateterismo intermitente limpo com acompanhamento clínica e laboratorial. O volume máximo em cada drenagem era de 400 ml. Na presente condição o paciente necessitava de 5 caterismo/dia. Diante do exposto, o paciente foi recrutado para tratamento com células tronco mesenquimais (Parecer consubstanciado CEP/CONEP número #2.745.746).

Após concordância e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido o paciente foi submetido à coleta de gordura periférica da face interna da coxa direita e esquerda por de lipoaspiração. O procedimento foi realizado por médico especialista em cirurgia plástica, em regime ambulatorial. Utilizou-se 125 ml de solução anestésica contendo lidocaína 20% sem adrenalina, soro fisiológico 0,9% e bicarbonato de sódio 8,4%. Foram retirados 200 ml de solução. O material foi enviado para Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CeTroGen) para processamento segundo o procedimento operacional padrão em vigência (PESARINI *et al.*, 2018).

Após 60 dias, o paciente foi submetido a Uretrocistoscopia em regime ambulatorial para o transplante de 2×10^6 células tronco mesenquimais. O transplante foi realizado em 5 pontos no corpo da bexiga acima do trígono vesical. Um segundo transplante foi realizado 30 dias após o primeiro seguindo os mesmos princípios.

O paciente foi acompanhado clinicamente durante e após o transplante e submetido ao exame de urina com cultura. O paciente não apresentou nenhuma complicação e os exames estavam normais.

Após 60 dias do transplante o paciente realizou novo Estudo Urodinâmico. A urofluxometria inicial mostrou fluxo máximo de 10 ml/s, fluxo médio 5 ml/s, volume urinado de 176 ml e resíduo de 800 ml. A cistometria diferencial demonstrou capacidade cistométrica máximo de 550 ml, complacência vesical de 36,6

ml/cmH₂O, sensibilidade diminuída com ausência de perdas e de contração detrusora involuntária. O estudo de fluxo-pressão apresentou fluxo máximo de 11 ml/s e p_{det}Q_{max} de 35 cmH₂O. O volume urinado foi de 524 ml e o BCI atingiu 90 (Tabela 1).

Quando submetido ao questionário ICIQ-SF o escore atingido 8 (Tabela 1).

Discussão

O paciente era incapaz de desencadear a micção. Logo, a única forma de esvaziar a bexiga era o cateterismo intermitente limpo. Na primeira urofluxometria o paciente apresentou resíduo miccional de 1.800 ml. Esse volume sugere o diagnóstico de acontractilidade detrusora. Segundo Anderson; Grant (1991) a acontractilidade detrusora é diagnosticada com resíduos miccionais superiores à 1.000 ml. No entanto, foi observado que esse paciente possuía Pressão detrusora de 8 cm/H₂O. Logo, o diagnóstico sugerido é o de HD.

O diagnóstico de HD foi confirmado: (I) pelo baixo fluxo máximo de apenas 3 ml/s enquanto o esperado era acima de 15 ml/s (REYNARD *et al.*, 1998); (II) pela pequena pressão detrusora que foi de apenas 8 cmH₂O enquanto o esperado era de 30 cmH₂O (ZERATI FILHO; NARDOZA JUNIOR; REIS, 2010); e pelo baixo BCI que foi de apenas 23 enquanto o esperado era entre 100 e 150 (D'ANCONA *et al.*, 2019).

Essa condição interfere na qualidade de vida do paciente que obteve escore 17 no ICIQ-SF que tem pontuação máxima de 21 (TAMANINI *et al.*, 2004). Os pacientes com HD reduzem ou afastam-se de suas atividades diárias, em especial, do convívio social visto o cateterismo intermitente limpo é de difícil realização em ambientes fora do domicílio. Além disso, essa doença gera perda de urina que é percebida pelo mau cheiro o que causa constrangimento social (TEUNISSEN *et al.*, 2006).

Diante do exposto observa-se que a terapêutica convencional, que utiliza o cateterismo intermitente limpo, a vigilância da função renal e de infecções no trato urinário (BAYRAK, DMOCHOWSKI, 2019), traz melhorias para o paciente. No entanto, os resultados não são satisfatórios. Logo há a necessidade de terapêuticas inovadoras que possam melhorar a qualidade de vida dos pacientes com resultados além daqueles obtidos com os tratamentos conservadores. Nesse contexto destaca-se as terapias celulares com células-tronco mesenquimais.

No presente estudo dois transplantes com células tronco mesenquimais foram capazes de conferir capacidade do paciente desencadear a micção. Além disso, o exame de urofluxometria demonstrou melhora de 1000%, 500% e 17600% no fluxo máximo, fluxo médio e volume urinado respectivamente. A melhora desses parâmetros resultou um resíduo miccional 56% menor. Observou-se também que a CCM atingiu o valor de 550 ml, o esperado é entre 350-500 ml, o que demonstra uma redução de 31%. Inicialmente o paciente apresentava perda urinária e após a terapia células essas cessaram. A complacência apresentou uma redução de 52% reduzindo de 77 ml/cmH₂O para 36,6 ml/cmH₂O sendo o esperado valores acima de 30 ml/cmH₂O (D'ANCONA *et al.*, 2019).

O estudo de fluxo pressão demonstrou aumento de fluxo máximo de 267%. Esse parâmetro passou de 3 para 11 ml/s e o esperado era de acima de 15 ml/s (AHMED *et al.*, 2016). O volume urinado teve aumento de 96%. No entanto, o resíduo miccional continua elevado de acordo com D'Ancona et al. (2019) que relata esse deve ser de até 50 ml. A BCI apresentou aumento de 291% e o valor atingido foi de 90 sendo o esperado entre 100 e 150 (D'ANCONA *et al.*, 2019).

Todas essas melhorias refletiram diretamente na qualidade de vida do paciente que apresentou score no ICIQ-SF de 8 após a terapia celular. Assim, observa-se uma redução de 53% do score o que reflete diretamente no dia a dia do paciente e na retomada de suas atividades diárias e convívio social. Destaca-se ainda que essa paciente passou de 5 para 2 cateterismo intermitente por dia. Além de adquirir micção espontânea.

Diante do exposto inferimos que o transplante de células tronco mesenquimais do tecido adiposo é uma estratégia terapêutica inovadora para o tratamento da HD e para melhoria da qualidade de vida de pacientes acometidos por essa doença.

Referências

AHMED, A.; FARHAN, B.; VERNEZ, S.; GHONIEM, G. M. The challenges in the diagnosis of detrusor underactivity in clinical practice: A mini-review. **Arab journal of urology**, v. 14, n. 3, p. 223-227, 2016.

ANDERSON, J. B.; GRANT, J. B. Postoperative retention of urine: a prospective urodynamic study. **British Medical Journal**, v. 302, n. 6781, p. 894-896, 1991.

ASSIS, P. V.; NEVES, S. C.; TAKITA, L. C.; TURA, B. B.; OLIVEIRA, R. J.; ANTONIOLLI-SILVA, A. C. M. B. Cell therapy with mesenchymal stem cells of bone marrow improves renal function in pre-clinical model. **International Journal of Development Research**, V. 09, N. 03, P. 26613-26619, 2019.

BAYRAK, Ö.; DMOCHOWSKI, R. R. Underactive bladder: a review of the current treatment concepts. **Turkish journal of urology**, v. 45, n. 6, p. 401, 2019.

BECKER, C.; JAKSE, G. Stem cells for regeneration of urological structures. Review European Urology, v. 51, p. 1217-1228, 2007.

D'ANCONA, C.; HAYLEN, B.; OELKE, M.; ABRANCHES-MONTEIRO, L.; ARNOLD, E.; GOLDMAN, H.; HAMID, R.; HOMMA, Y.; MARCELISSEN, T.; RADEMAKERS, K.; SCHIZAS, A.; SINGLA, A.; SOTO, I.; TSE, V.; WACHTER, S.; HERSCHORN, S. The International Continence Society (ICS) report on the terminology for adult male lower urinary tract and pelvic floor symptoms and dysfunction. **Neurourology and urodynamics**, v. 38, n. 2, p. 433-477, 2019.

GAMMIE, A.; KAPER, M.; DORREPAAL, C.; KOS, T.; ABRAMS, P. Signs and symptoms of detrusor underactivity: an analysis of clinical presentation and urodynamic tests from a large group of patients undergoing pressure flow studies. **European urology**, v. 69, n. 2, p. 361-369, 2016.

LEVANOVICH, P. E.; DIOKNOS, A.; HASENAU, D. L.; LAJINESS, M.; PRUCHNIC, R.; CHANCELLOR, M. G. Intradetrusor injection of adult muscle-derived cells for the treatment of underactive bladder: pilot study. **International urology and nephrology**, v. 47, n. 3, p. 465-467, 2015.

OLIVEIRA, J. R.; NEVES, S. C.; REZENDE, G. C. D.; MIJI, L. N. O.; PELIZARO, B. I.; OLIVEIRA, D. D. M.; OLIVEIRA, R. J.; ANTONIOLLI-SILVA, A. C. M. B. Cell therapy with adipose tissue mesenchymal stem cells improves the quality of the germinal epithelium in swiss mice. **International Journal of Development Research**, v. 09, n. 03, p. 26280- 26288, 2019.

PESARINI, J. R.; OLIVEIRA, E. J. T.; PESSATTO, L. R.; RABACOW, A. P. M.; CAMASSOLA, M.; SANTOS, B. P.; BARROS, M. E.; CANTERO, W. B.; ANTONIOLLI-SILVA, A. C. M. B.; OLIVEIRA, R. J. Calcitriol combined with calcium chloride causes apoptosis in undifferentiated adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells, but this effect decreases during adipogenic differentiation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 914-924, 2018.

REYNARD, J. M.; YANG, Q.; DONAVAN, J. L.; PETERS, T. J. ; SCHAFER, W.; ROSETTE, J. J. M. C. H.; DABHOIWALA, N. F.; OSAWA, D.; TONG LONG LIM, A.; ABRAMS, P. The ICS-'BPH' Study: uroflowmetry, lower urinary tract symptoms and bladder outlet obstruction. **Br. J. Urol**, v. 82, p. 619-623, 1998.

TAMANINI, J. T. N.; DAMBROS, M. D'ANCONA, C. A. L.; PALMA, P. C. R.; RODRIGUES-NETO, N. Validação para o português do " International Consultation on Incontinence Questionnaire-Short form"(ICIQ-SF). **Revista de saude publica**, v. 38, p. 438-444, 2004.

TEUNISSEN, D.; DEN BOSCH, W.; VAN WEEL, C.; LAGRO-JANSSEN, T. "It can always happen": the impact of urinary incontinence on elderly men and women. **Scandinavian journal of primary health care**, v. 24, n. 3, p. 166-173, 2006.

ZERATI FILHO, M.; NARDOZZA JUNIOR, A.; REIS, R. B. **Urologia Fundamental**. São Paulo: Planmark. p. 274 , 2010.

Células-tronco mesenquimais, derivada de tecido adiposo, revertem hipoatividade detrusora

Henrique Rodrigues Scherer Coelho^{1,2}, Silvia Cordeiro das Neves^{1,2}, Jovino da Silva Menezes³, Andréia Conceição Milan Brochado Antonioli-Silva^{1,2}, Rodrigo Juliano Oliveira^{1,2}.

¹Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CeTroGen), Hospital Univesitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP), Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta (FAMED), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³Clinica Samari, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

A hipoatividade detrusora (HD) é uma doença que pode causar insuficiência renal e não possui tratamento eficaz na medicina tradicional. A presente pesquisa avaliou os efeitos da terapia celular (TC), com células-tronco mesenquimais do tecido adiposo (CTMta), no tratamento da hipoatividade detrusora em homens. Foram avaliados 9 pacientes com diagnóstico de hipoatividade detrusora. Os pacientes foram submetidos a dois transplantes, com 2×10^6 células/transplante, por meio de uretrocistoscopia. O transplante foi realizado por injeção intravesical em cinco pontos do corpo da bexiga acima do trígono vesical. Os resultados demonstram que a terapia celular aumentou ($p < 0,05$) o fluxo máximo, o fluxo médio e volume urinado e reduziu ($p < 0,05$) o volume residual no exame de urofluxometria. Observou-se ainda aumento ($p < 0,05$) do fluxo máximo, da pressão detrusora máxima, do volume urinário e do índice de contratilidade vesical no estudo de fluxo pressão. O escore do *Internacional Consultation on Incontinence Questionnaire* reduziu de $11,44 \pm 1,43$ para $3,78 \pm 0,78$, após a terapia celular, o que indica melhora na qualidade de vida e retorno às atividades diárias. Os pacientes tiveram *follow-up* de 6 meses após a TC não apresentaram intercorrências. Todos os pacientes faziam diariamente cerca de cinco cateterismo intermitente limpo. Após, a TC, 7/9 pacientes (77,78%) não necessitaram de procedimento e para 2/9 (22,28%) houve a redução de dois cateterismos/dia. Frente ao exposto, conclui-se que a TC com CTMta é segura e deve ser considerada uma nova opção terapêutica para o tratamento da hipoatividade detrusora.

A bexiga hipoativa é caracterizada por fluxo urinário lento, hesitação e esforço para urinar, com ou sem uma sensação de esvaziamento incompleto da bexiga e resíduo pós-miccional elevado (CHAPPER et al., 2018). A hipoatividade detrusora (HD) caracteriza-se por baixa pressão ou contração curta do detrusor associada a baixo fluxo urinário (D'ANCONA et al., 2019).

A incidência de disfunção miccional em crianças pode atingir até 1/5 da população pediátrica (FUENTES, MAGALHÃES, BARROSO, 2019). Em adultos, com menos de 50 anos, a disfunção miccional atinge até 28% da população e em indivíduos com mais de 70 anos esse quantitativo sobe para 48% (ALDAMANHORI AND CHAPPLE, 2017).

A HD não possui um tratamento efetivo na medicina tradicional. Nenhuma das terapêuticas disponíveis são capazes de devolver a contratilidade da bexiga. Assim, os pacientes acometidos por essa doença desenvolvem sinais e sintomas que podem agravar os casos.

Dentre os principais fatores de complicação citam-se os altos resíduos pós-miccionais, infecções urinárias de repetição, formação de cálculos de vias urinária e até insuficiência aguda que pode evoluir para doença renal crônica (ALDAMANHORI AND CHAPPLE, 2017; MONRÁN et al., 2021; RADEMAKERS, VAN KOEVERINGE, OELKE, 2016; KALIL, D'ANCONA, 2020). Frente ao exposto é necessário que novas terapêuticas sejam desenvolvidas. A Terapia Celular (TC) com células-tronco mesenquimais (CTM) é uma possibilidade. A literatura possui um relato do uso autólogo de células-tronco derivadas de músculo para tratar bexiga HD. O resultado demonstrou que a terapia é segura e reduziu a capacidade cistométrica máxima. No entanto, o indivíduo continuou dependente do autocateterismo (Levanovich et al, 2015).

Como a TC ainda é pouco explorada nessa área, a presente pesquisa avaliou pioneiramente os efeitos da TC, com células-tronco mesenquimais do tecido adiposo (CTMta), no tratamento da HD em homens.

Trial Design

O teste clínico aberto foi realizado no Hospital Universitária Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP) com aprovação do Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e Comitê de Ética em Pesquisa de Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEP/CONEP) sob o nº 2.745.746. O estudo foi realizado conforme a Resolução nº 466 do Conselho Nacional da Saúde (Brasil, 2012). Com registro no ISRCTN 23909398 e no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos - REBEC - RBR-10bk2qbb.

Participantes

Foram avaliados 9 pacientes do sexo masculino, provenientes do Ambulatório de Urologia do HUMAP, com diagnóstico clínico e urodinâmico de HD. Os indivíduos foram esclarecidos quanto ao propósito da pesquisa e aqueles que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os critérios de inclusão foram pacientes do sexo masculino com estudo urodinâmico demonstrando apenas HD sem a presença de fator obstrutivo ao fluxo urinário. Os pacientes ainda deveriam estar em regime de cateterismo intermitente limpo, não serem submetidos a qualquer procedimento cirúrgico no trato urinário inferior nos últimos 12 meses. Os critérios de exclusão foram insuficiência renal terminal (com oligo-anúria), infecção urinária de repetição, não aderência aos protocolos de acompanhamento clínico e autocateterismo intermitente limpo. Presença de qualquer neoplasia maligna confirmada em tratamento ou já tratada recentemente ou mesmo qualquer suspeita de câncer consistiram em importante critério de exclusão devido à contra-indicação de uso de células tronco.

Intervenção

Os pacientes, acompanhamentos ambulatorialmente, foram submetidos à avaliação clínica e laboratorial periodicamente, incluindo os exames pré-cirúrgicos. Para o diagnóstico, os pacientes foram também submetidos à ultrassonografia de aparelho urinário e de próstata, uretrocistoscopia (ótica 30°, cistoscópio 19fr, acoplado em câmera Storz) e estudo urodinâmico composto por urofluxometria

inicial, cistometria diferencial e estudo de fluxo pressão realizados em equipamento de urodinâmica Dynapack MPX 816.

A coleta de tecido adiposo para a extração das CTM foi realizada na face interna da coxa direita e esquerda por meio de lipoaspiração. Os procedimentos foram realizados por médico especialista em cirurgia plástica em regime ambulatorial. Para a coleta fez-se a assepsia com clorexidina aquosa a 4% e colocação de campos estéreis. Em seguida, procedeu-se anestesia com 125 mL de solução anestésica (lidocaína 20% sem adrenalina, soro fisiológico 0,9% e bicarbonato de sódio 8,4%) para promover a lipodistensão do tecido. Em seguida, com o auxílio de uma cânula de lipoaspiração (3 mm) fez-se a retirada de 200 mL de solução. O material foi acondicionado em frasco estéril contendo solução tampão fosfato (PBS) com 1% de antibiótico/antimicótico (estreptomicina/penicilina/anfotericina B, Sigma®, Lote 097M4875V). O material foi transportado para o Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CeTroGen). A extração, o cultivo, a expansão e a caracterização das células foram realizadas segundo Pesarini et al. (2018) com adaptações (Material Suplementar_1).

Após 60 dias, as células foram tripsinizadas, lavadas à exaustão com PBS e transplantadas por meio de uretrocistoscopia em regime ambulatorial sob anestesia local, via ureteral. Foram utilizados 20 g de lidocaína em gel a 2%.

Cada paciente recebeu dois transplantes com 2×10^6 células-tronco mesenquimais com intervalo de 30 dias. O transplante foi realizado por meio de injeção intravesical com agulha cistoscópica (20 Gauge) em cinco pontos do corpo da bexiga acima do trígono vesical.

Os pacientes foram acompanhados clinicamente durante e após o transplante para verificação de possíveis intercorrências incluindo exames laboratoriais (Material Suplementar_2).

Análise de Dados

Os dados do estudo de urofluxometria foram usados para descrever a eficácia do tratamento. Os dados analisados incluem o volume urinado, o resíduo e a eficiência de esvaziamento miccional antes e depois do tratamento com TC. O

cálculo foi feito usando a seguinte fórmula: Eficiência de esvaziamento miccional = $(\text{Volume urinado} / (\text{Volume urinado} + \text{Resíduo})) \times 100\%$.

Resultados

A idade dos pacientes variou entre 53 e 74 anos, com uma idade média de 66 anos. A etiologia incluiu 3 pacientes (33,3%) com hiperplasia prostática benigna, 2 pacientes (22,2%) com *Diabetes mellitus*, 1 paciente (11,1%) com estenose da uretra e 3 pacientes (33,3%) idiopáticos. As comorbidades incluíram 2 pacientes (22,2%) com Diabetes mellitus e 7 pacientes (77,7%) com hipertensão arterial sistêmica. Todos dos pacientes (100%) usavam cateterismo intermitente limpo para fazer o esvaziamento vesical (Tabela 1). Nenhum efeito adverso grave relacionado com o transplante de CTMta foi observado. Os eventos adversos relacionados a coleta de gordura e à injeção intravesical estão listados na Tabela 2. Os eventos adversos observados para a injeção intravesical já foram observados em outros procedimentos realizados pelo grupo que não envolvia o transplante de CTMta. Cita-se, por exemplo, a administração de toxina botulínica (dados não apresentados).

Tabela 1. Dados demográficos dos pacientes

| | Total |
|--------------------------------|-------------|
| Pacientes | 9 |
| Média de idade ± EPM | 65,66±2,49 |
| Etiologia | |
| Hiperplasia prostática benigna | 3/9 (33,3%) |
| Diabetes mellitus | 2/9 (22,2%) |
| Estenose Uretra | 1/9 (11,1%) |
| Idiopático | 3/9 (33,3%) |
| Comorbidade | |
| Diabetes mellitus | 2/9 (22,2%) |
| Hipertensão arterial sistêmica | 7/9 (77,7%) |
| Ausente | 2/9 (22,2%) |
| Esvaziamento vesical | |
| Cateterismo intermitente limpo | 9/9 (100%) |

Tabela 2. Efeitos adversos

| Evento relacionado ao procedimento | Número de pacientes |
|-------------------------------------|---------------------|
| Relacionadas a coleta gordura | |
| Equimose | 4 |
| Edema | 1 |
| Dor | 3 |
| Relacionadas a Injeção intravesical | |
| Infecção urinária | 2 |
| Hematúria | 1 |
| Disúria | 1 |

Urofluxometria

No exame de urofluxometria observou-se aumentou ($p < 0,05$) do fluxo máximo e do fluxo médio dos pacientes após 60 dias do último transplante. A média do fluxo máximo inicial foi era de $7,22 \pm 1,58$ e após a terapia passou a $13,56 \pm 1,17$ (Figura 1A). Já o fluxo médio inicial era de $3,44 \pm 0,74$ antes da terapia e passou a $5,89 \pm 0,45$ após o transplante (Figura 1B). De acordo com Reynard et al. (1998), o fluxo máximo normal é acima de 15 mL/s e pacientes com fluxo máximo abaixo de 10 mL/s apresentam disfunção miccional (alteração de jato urinário). Uma análise mais específica demonstrou que antes da terapia os pacientes 1-5, 7 e 8 possuíam fluxo máximo < 10 mL/s. Os pacientes 6 e 9 eram limitrofes. Após a TC, os pacientes 4, 6 e 9 atingiram valores de normalidade (> 15 mL/s). Os pacientes 1-3, 5, 7 e 8 aumentaram o fluxo máximo. A variação percentual de aumento do fluxo máximo foi entre 0% à 900% (Figura 1E).

A avaliação do volume urinado antes e após a terapia aumentou ($p < 0,05$). A média inicial do volume urinado era de $183,67 \pm 49,28$ e passou a $304,78 \pm 40,42$ após a intervenção (Figura 1C). Todos os pacientes, exceto o paciente 7, apresentaram aumento do volume urinado após a TC. O maior percentual de aumento do volume urinado foi de 17.600%, no paciente 2. O paciente 7, o único que não apresentou aumento, na realidade, apresentou uma redução de 28% do volume urinado (Figura 1E).

Todos os pacientes apresentaram redução ($p < 0,05$) do volume residual de urina. O volume médio de resíduo antes da terapia celular era de $420,00 \pm 191,41$ e

após passou a $118,33 \pm 85,51$ (Figura 1D). O menor percentual de redução do volume residual foi de 44% e o maior foi de 98% (Figura 1E). De acordo com D'Ancona et al. (2019), o volume residual deve ser < 50 mL. Numa análise mais detalhada observou-se que inicialmente somente os pacientes 7 e 8 possuíam um volume residual normal. Todos os outros pacientes possuíam volume residual > 50 mL. Após a TC, somente os pacientes 2 e 5 não atingiram os parâmetros de normalidade. No entanto, o paciente 2 teve uma redução do volume residual de 56% e o paciente 5 de 79% (Figura 1E).

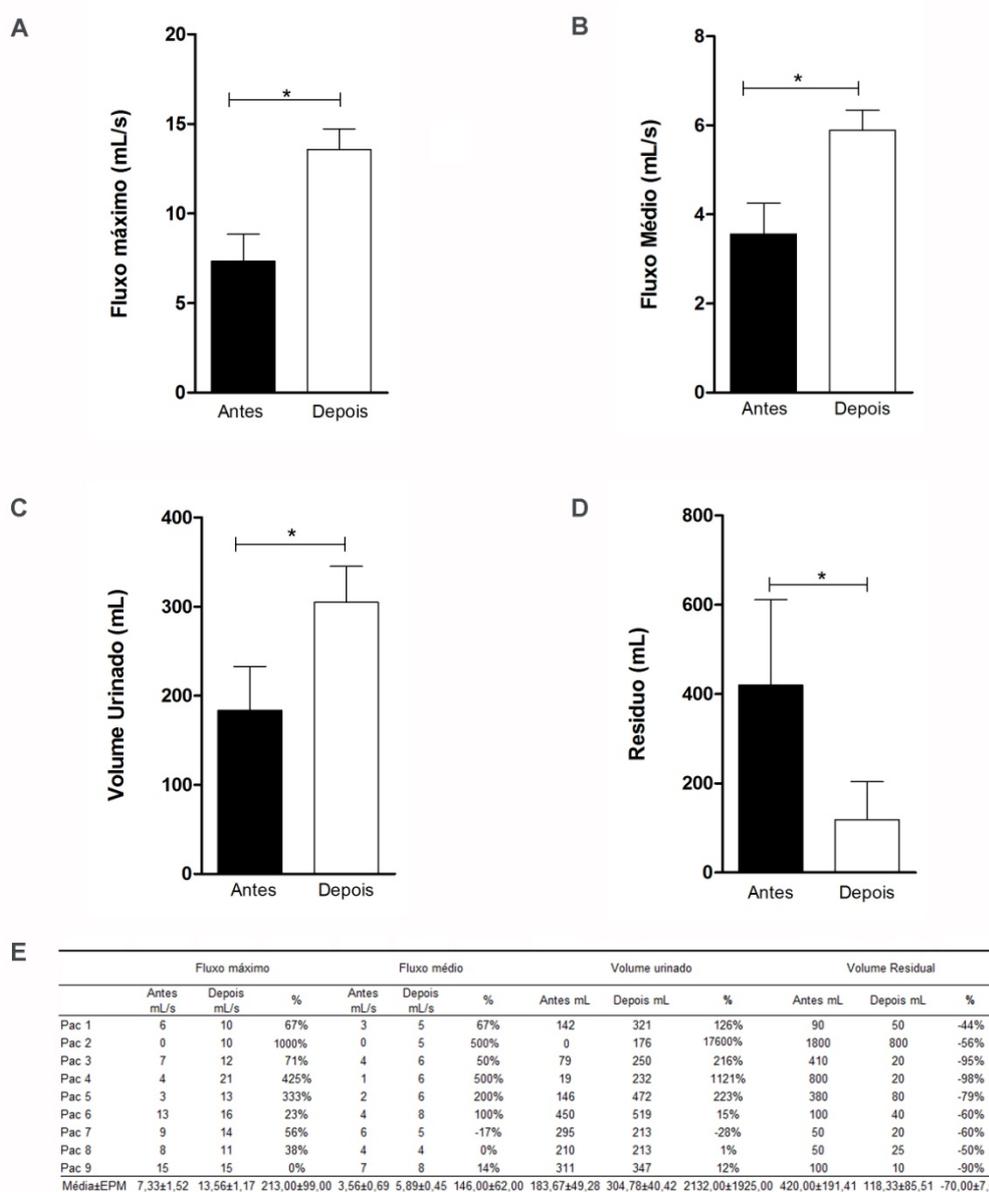


Figura 1. Valores Médios \pm Erro Padrão da Média obtidos a partir do exame de urofluxometria dos pacientes antes e 60 dias após o transplante de células-tronco mesenquimais. A - Fluxo máximo; B - Fluxo médio; C - Volume urinado; D - Volume residual; E - Fluxo máximo antes e após a

intervenção, variação percentual do fluxo máximo urinado, fluxo médio antes e após a intervenção, variação percentual do fluxo médio urinado, volume urinado absoluto antes e após a intervenção, variação percentual do volume urinado, volume residual absoluto antes e após a intervenção, variação percentual do volume residual. Pac - Paciente; % - variação de percentual (Estatística: t-Student Pariado, $p < 0,05$).

A eficiência de esvaziamento miccional antes e após o tratamento com a terapia melhorou em todos os pacientes. Após o TC, oito pacientes ficaram com um percentual acima de 85% (Figura 2).

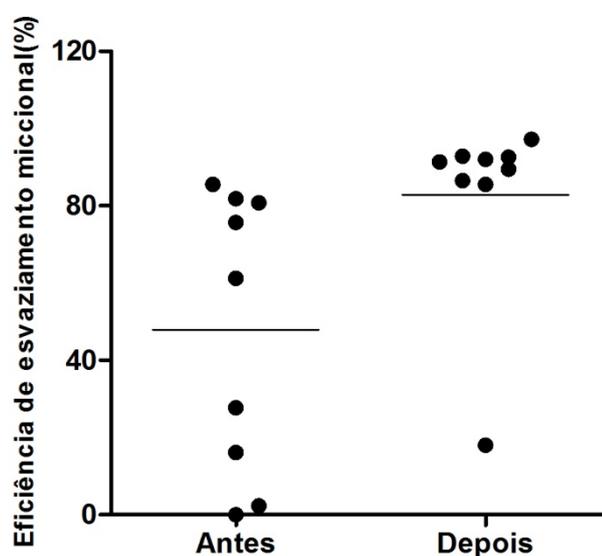


Figura 2. Percentual da Eficiência de esvaziamento miccional antes e após a intervenção da TC.

Cistometria

A CCM antes e após a terapia celular não apresentou diferenças significativas (Figura 3A). No exame de cistometria verificou-se que a capacidade cistométrica máxima aumentou para os pacientes 1, 7-9 e reduziu para os pacientes 2-6. A variação percentual da capacidade cistométrica máxima foi de -31% a 11%. De acordo com D'Ancona et al. (2019), a capacidade cistométrica máxima deve estar entre 350 à 500 mL. Inicialmente, o paciente 1 apresentou valor inferior à referência e os pacientes 2 e 5 valores superiores. Após a terapia celular o paciente 1 aumentou a CCM. No entanto, não entrou dentro do intervalo de normalidade. O paciente 2 reduziu a CCM. Mas, também não entrou dentro do intervalo de

normalidade. Já o paciente 5 teve redução da CCM e foi enquadrado dentro dos valores de referência (Figura 3C).

As perdas urinárias eram frequentes em 33,33% dos pacientes antes da TC. Após a terapia nenhum paciente apresentou perdas urinárias. A HD não foi observada em nenhum paciente inicialmente. Após a terapia, somente o paciente 8 (11,11%) apresentou contração não inibida do detrusor durante a avaliação (Figura 3C). A complacência média não diferiu ($p = 0,05$) antes e após a TC (Figura 3B). Esse parâmetro aumentou nos pacientes 1, 4, 5, 7-9; e a variação percentual mínima foi de 11% e a maior foi de 127%. Já os pacientes 2, 3 e 6 apresentaram redução da complacência e a menor variação percentual foi de 11% e a maior de 52% (Figura 3C).

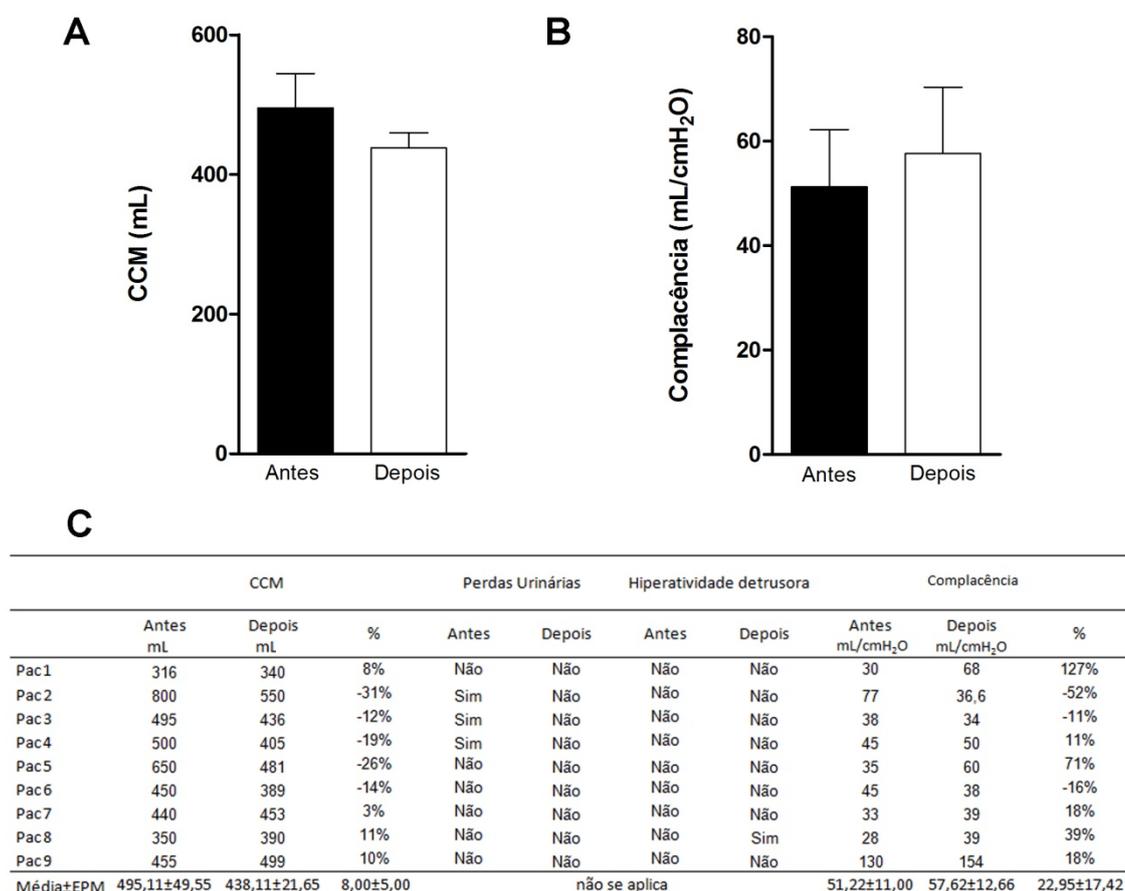


Figura 3 – Valores médios \pm erro padrão da média da capacidade cistométrica máxima, perdas urinárias, HD e complacência obtidos a partir do exame de cistometria diferencial dos pacientes antes e 60 dias após o transplante de CTM. Pac – Paciente; CCM – capacidade cistométrica máxima antes e após a intervenção; % – variação percentual (Estatística: t-Student Pareado, $p < 0,05$). H₂O

O exame de fluxo pressão demonstrou que o fluxo máximo aumentou ($p < 0,05$) se comparados os pacientes antes e após a terapia com as CTM. O fluxo máximo médio inicial era de $4,78 \pm 0,76$ antes da terapia celular. Após o transplante o fluxo máximo passou a $11,56 \pm 1,67$ (Figura 4A). Segundo Ahmed et al. (2016), o fluxo máximo, na avaliação de fluxo pressão, deve ser > 15 mL/s. Inicialmente, todos os pacientes possuíam fluxo máximo inferior ao desejado. Após a TC somente os pacientes 4 e 9 atingiram os parâmetros de normalidade. No entanto, os demais pacientes tiveram melhoras que variaram de 13 a 267% (Figura 4E).

A média da pressão detrusora máxima aumentou ($p < 0,05$) após a TC (Figura 4B). Os valores médios iniciais da pressão detrusora máxima era de $20,22 \pm 8,29$ e passou a $41,56 \pm 5,75$. A variação do percentual de aumento variou de 32 a 683%. Zerati Filho; Nardoza Junior; Reis, (2010), a pressão detrusora máxima normal é acima de 30 cm/H₂O). Antes da TC todos os pacientes estavam abaixo da normalidade e após o tratamento 100% dos pacientes foram enquadrados dentro da normalidade (Figura 4E).

Todos os pacientes apresentaram aumento ($p < 0,05$) do volume urinado. A média inicial era de $244,00 \pm 27,60$ e após a TC o volume médio passou a $418,89 \pm 32,73$ (Figura 4C). A variação do percentual de aumento foi de 4 a 555% (Figura 4E).

O BCI aumentou ($p < 0,05$) se comparados os pacientes antes e após o transplante de CTM. O BCI médio inicial era $44,33 \pm 4,85$ antes da terapia celular. Após o transplante de CTM o BCI atingiu $100,56 \pm 8,89$ (Figura 4D). Segundo D'Ancona et al. (2019), o BCI desejado é acima de 100. Inicialmente, todos os pacientes possuíam BCI abaixo do desejado. Após a TC os pacientes 4, 7 e 9 atingiram valores normais. Os demais pacientes, apesar de não terem atingido o valor de referência, apresentaram melhoras no BCI que variaram de 64 a 291% (Figura 4E).

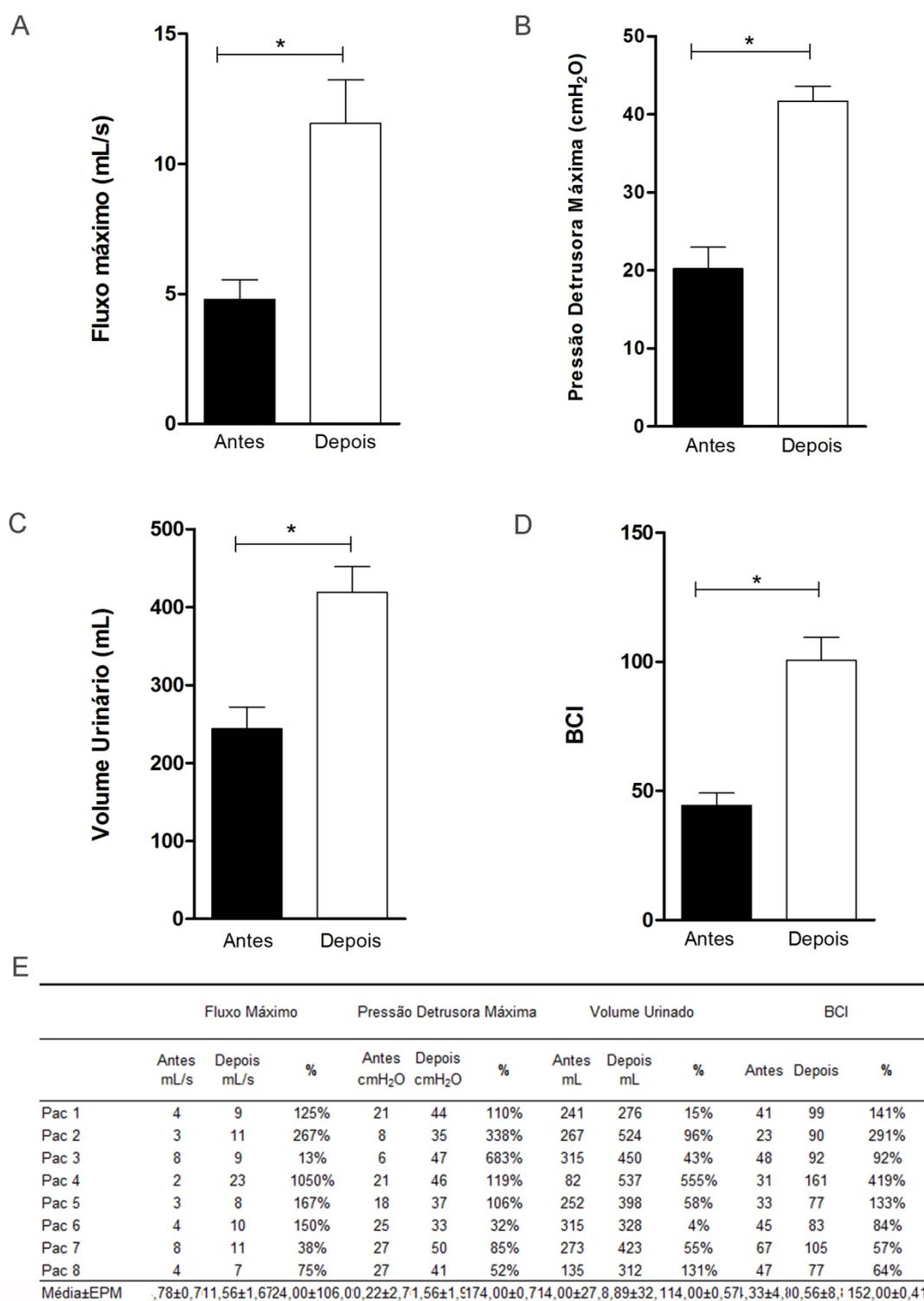


Figura 4. Valores Médios ± Erro Padrão da Média obtidos no Estudo Fluxo pressão dos pacientes antes e 60 dias após o transplante de CTM. A - Fluxo máximo; B - Pressão detrusora máxima; C - Volume Urinado; D - Índice de Contratilidade Vesical (BCI); E - Fluxo máximo, variação percentual de aumento do volume urinado, Pressão Detrusora Máxima, variação percentual de aumento do volume urinado, Volume Urinado, variação percentual de aumento do volume urinado, Índice de Contratilidade Vesical (BCI). Pac – Paciente; % - Variação percentual; BCI – Índice de Contratilidade Vesical (Estatística: t-Student Pareado, $p < 0,05$).

O escore obtido no ICIQ-SF (*International Consultation on Incontinence Questionnaire – Short-Form*) diminuiu ($p < 0,05$) se comparados os pacientes antes e após 6 meses e 12 meses do transplante de CTM. O ICIQ-SF médio inicial, antes da TC, era $11,44 \pm 1,43$. Após 6 meses do transplante de CTM passou a $3,77 \pm 0,80$ e após 12 meses atingiu $2,44 \pm 0,56$ (Figura 5).

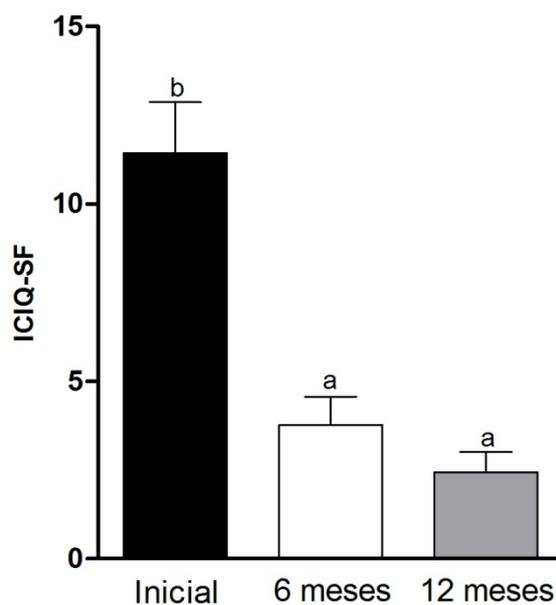


Figura 4. Valores Médios \pm Erro Padrão da Média do escore do *International Consultation on Incontinence Questionnaire – Short-Form* (ICIQ-SF) obtidos na avaliação clínica antes da realização do estudo urodinâmico (pré TC), 6 e 12 meses após o transplante de CTM (Estatística: t-Student Pariado, $p < 0,05$).

Discussão

A HD é uma doença que ainda não possui tratamento padrão-ouro na medicina convencional. Nós demonstramos que a TC, com CTMta, pode tratar essa doença eficientemente visto que ela foi capaz de aumentar o fluxo máximo, o fluxo médio e o volume urinado bem como reduzir o volume residual no exame de urofluxometria, além de melhorar a eficiência do esvaziamento miccional. A TC ainda foi capaz de aumentar o fluxo máximo, a pressão detrusora máxima, o volume urinado e o BCI no estudo fluxo pressão. Esse é o primeiro relato que demonstra que o transplante de CTMta pode trazer esses benefícios para pacientes com diagnóstico de HD.

A literatura consultada possui apenas um relato de caso e um estudo do tratamento de bexiga hipoativa com célula-tronco. Esses dados foram produzidos pelo mesmo grupo de pesquisa (Levanovich et al., 2015; Gilleran et al., 2021). O relato de caso foi realizado com apenas um paciente e as células-tronco tinham origem muscular. Os resultados indicaram redução da capacidade cistométrica e o paciente adquiriu a capacidade de urinar pequenos volumes. Mas, o paciente permaneceu dependente de cateterismo sendo o acompanhamento feito até um ano após o transplante. O segundo estudo, que utilizou células derivadas do músculo autólogo, relata uma melhora em 83% dos pacientes estudados, embora apenas 69% deixaram de fazer uso do cateter intermitente. Além disso, nos dois estudos a terapêutica foi considerada segura visto que não houve nenhum efeito adverso incluindo ausência de hematúria, urgências urológicas e infecções (Levanovich et al., 2015; Gilleran et al., 2021). Ainda sobre esses estudos é importante relatar que apesar de serem produzidos pelo mesmo grupo de pesquisadores não há uma padronização na nomenclatura do tipo de célula que foi usada. No entanto, nos dois estudos as células foram adquiridas da empresa Cook MyoSite. No site da referida empresa a célula é descrita como mioblasto de músculo esquelético humano (Human Skeletal Muscle Myoblasts). Mas em outros locais o site também descreve as células como células musculares humanas primárias não diferenciadas, semelhantes a mioblastos (myoblast-like, non-differentiated primary human muscle cells), de um único doador (Cook, 2022). Diante do exposto, ainda permanece a dúvida de qual o nível de diferenciação a célula utilizada estava. No entanto, supõem-se que sejam células de origem mesenquimal. Mas, que já está comprometidas com rota de diferenciação muscular.

A presente pesquisa utilizou o tecido adiposo como fonte para extração de células-tronco mesenquimais. Essa é uma fonte de fácil acesso e que possui um maior *pool* de células-tronco (MAZINI et al., 2019) o que facilita a extração, o isolamento e a produção da quantidade de células desejáveis para o transplante. Além disso, utilizamos dois transplantes, com intervalo de 30 dias, com 2×10^6 células/transplante. Diferentemente, Levanovich et al. (2015) utilizou 250×10^6 células em transplante único. Já Gilleran et al. (2021) utilizou 125×10^6 no primeiro transplante e em alguns casos um segundo transplante de 125×10^6 , após 8 meses da primeira aplicação. Os nossos resultados foram muito satisfatórios o que sugere que a quantidade de células usada e o espaço de tempo entre os dois transplantes

foi adequado e devem ser considerados em outros estudos que validarão essa terapia. Salientamos ainda que a quantidade de células utilizadas nesse estudo é bem menor do que foi proposto por Levanovich et al. (2015) e Gilleran et al. (2021). Nos utilizamos 62,5x menos células do que os outros autores e obtivemos resultados superiores. Nós acreditamos que a superioridade dos nossos resultados se deve ao fato de termos utilizamos células-tronco mesenquimais que são células multipotentes (KALRA; TOMAR, 2014; WAGERS; WEISSMAN, 2004). Já Levanovich et al. (2015) e Gilleran et al. (2021) utilizaram células de origem mesenquimais. Mas, que já estavam comprometidas com a rota de diferenciação muscular. Portanto, células unipotentes (ARCHACKA et al., 2021; ORBAY; TOBITA; MIZUNO, 2012). Essas células possuem capacidade de produzir fatores de crescimento específicos para a produção de células musculares. As células satélites que geralmente estão quiescentes, entre o sarcolema da miofibrila e a lâmina basal são estimuladas à proliferação e diferenciação em mioblastos. Além disso, essas células unipotentes ainda podem se integrar ao tecido fazendo transdiferenciação (ARCHACKA et al., 2021). Essas duas vias podem levar à regeneração tecidual. As CTM, por sua vez, podem fazer regeneração por transdiferenciação, ou seja, aderem ao tecido lesionado e se diferenciam nas células daquele órgão (Little et al., 2018) (no caso a bexiga). Esse fato pode ocorrer porque o próprio tecido lesionado produz fatores de crescimento e fatores diferenciadores que induzem as CTM a se transformarem no tecido do órgão que necessita da regeneração (LIU et al., 2016). Outro efeito importante, e que suplanta a capacidade das células derivadas do músculo (utilizadas pelos outros estudos), é a ação parácrina. Essa se dá quando as CTM migram até o local da lesão e produzem fatores reparadores endógenos, fatores anti-inflamatórios e antiapoptóticos que auxiliam na recuperação do órgão/tecido lesionado. Porém, sem se integrarem à matriz tecidual do órgão lesionado (LIU et al., 2016).

Outro fato que chama atenção na comparação do nosso estudo com o de Gilleran et al. (2021) é o número de pacientes avaliados. Nosso estudo iniciou-se e terminou com nove pacientes. Já o estudo Gilleran et al. (2021) iniciou-se com vinte pacientes e terminou com nove. No artigo, não há relato sobre o real motivo da desistência dos pacientes em participar da pesquisa. Essa informação seria de grande importância para validar os resultados apresentados. No nosso estudo tivemos a permanência de 100% dos pacientes no protocolo porque os resultados

eram significativos no dia a dia do paciente e, portanto, eles estavam motivados a continuar o tratamento. Outro fato a considerar que Gilleran et al. (2021), ao final do estudo, teve apenas um paciente com eficiência de esvaziamento miccional acima de 80%, três pacientes entre 40 e 60% e cinco pacientes abaixo de 20%. Os nossos resultados apresentam eficiência superior visto que oito pacientes apresentaram eficiência de esvaziamento miccional superior a 85% e apenas um paciente ficou entre 40 e 60%. Esses fatos nos permitem considerar que a quantidade de células não foi um fator preponderante para a obtenção dos resultados visto que usamos uma menor quantidade (62,5x menos células). No entanto, o tipo celular (como discutido no parágrafo anterior), o tempo, o intervalo entre os dois transplantes, podem ser importantes diferenciais visto que aumentamos a eficiência da TC nessas condições. A redução do número de células transplantadas é um fator crucial para reduzir os custos do tratamento e, portanto, precisa ser considerado. Outro fato importante é a fonte das células. Nossos resultados foram superiores com células derivadas do tecido adiposo. Diante, do exposto sugerimos que a melhor fonte sejam as células-tronco mesenquimais do tecido adiposo, mesmo observando todas as diferenças de delineamento experimental, e que o tempo entre os transplantes deva ser de 30 dias e não os 8 meses propostos por Gilleran et al. (2021).

Destacamos ainda que nossos pacientes foram acompanhados por 12 meses e não apresentaram efeitos adversos e nem a ocorrência de hematúrias, urgências miccionais e/ou infecção. Assim, consideramos a terapêutica segura o que é corroborado por Levanovich et al. (2015). No entanto, em média, a capacidade cistométrica máxima não reduziu após a terapia celular. Segundo Levanovich et al. (2015) a capacidade cistométrica máxima reduz após a terapia. Nossos resultados indicam que esse fato só ocorreu em 55,55% dos pacientes. Assim, sugerimos que esse parâmetro não é o mais adequado para se avaliar o efeito da terapia na hipoatividade detrusora. Nós destacamos ainda que são parâmetros importantes o aumento do fluxo máximo, do fluxo médio e do volume urinado que ocorreu em 88,89% dos pacientes no exame de urofluxometria. Porém é ainda mais importante a redução do volume residual que ocorreu em 100% dos pacientes. Destacamos ainda que 77,78% dos pacientes após a terapia apresentavam resíduo < 50 mL o que é considerado normal (D'ANCONA et al., 2019). Apenas dois pacientes permaneceram com resíduo maior do que > 50 mL. No entanto, esses dois pacientes apresentaram importante redução da ordem de 56 e 79%. Um dos pacientes possui volume

residual de 1.800 mL e após a terapia o volume passou a 800 mL. O outro possuía volume residual de 360 mL e passou a 80 mL. Esses valores são expressivos mesmo os pacientes não tendo atingido os parâmetros normais.

Sugerimos ainda que os parâmetros, obtidos no estudo de fluxo pressão, de fluxo máximo, volume urinário, pressão máxima detrusora e BCI sejam importantes para avaliar os efeitos da terapia celular. Em nossos pacientes todos esses valores foram aumentados em 100, 100, 88,89 e 100% dos pacientes, respectivamente, o que confirma o efeito da terapia.

Esses resultados quantitativos são corroborados pela redução de 67,54% do escore do ICIQ-SF após 6 meses de avaliação e de 78,60% após 12 meses. Esse é um importante questionário de qualidade de vida condição-específico para incontinência urinária (Avery; Donovan; Abrams, 2001). O alto escore antes da terapia celular, somado aos relatos dos pacientes, demonstravam que eles não possuíam a qualidade de vida desejada e que inclusive limitavam suas rotinas devido à disfunção miccional. Após a terapia celular todos os pacientes relataram melhora significativa em sua qualidade de vida e inclusive retornaram às atividades de rotina que estavam interrompidas.

Todos os pacientes mantiveram acompanhamento clínico com consultas clínicas periódicas, realização de diário miccional e exames laboratoriais. Em nenhum momento, nenhum paciente relatou nenhuma intercorrência e mesmo após 12 meses da TC, 77,78% dos pacientes não fazem mais uso de cateterismo intermitente limpo e 22,22% passaram de cinco para dois cateterismos diários. Os exames bioquímicos não indicam nenhuma alteração da função renal (dados não mostrados).

Frente ao exposto, consideramos que esse estudo é inédito e pioneiro, e propõe-se que a TC com CTM seja uma nova e segura opção terapêutica para o tratamento da hipoatividade detrusora.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC – Brasil, do Hospital Maria Aparecida Pedrosian - HUMAP, e com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Capes) - Código de Financiamento 001. Além do

apoio da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

Referências

- AHMED, A.; FARHAN, B.; VERNEZ, S.; GHONIEM, G. M. The challenges in the diagnosis of detrusor underactivity in clinical practice: A mini-review. **Arab journal of urology**, v. 14, n. 3, p. 223-227, 2016.
- ALDAMANHORI, R.; CHAPPLE, C. R. Underactive bladder, detrusor underactivity, definition, symptoms, epidemiology, etiopathogenesis, and risk factors. **Current opinion in urology**, v. 27, n. 3, p. 293-299, 2017.
- ARCHACKA, K.; GRABOWSKA, I.; MIERZEJEWSKI, B.; GRAFFSTEIN, J.; GORZYNSKA, A.; KRAWCZYK, M.; ROZYCKA, A. M.; KALASZCZYNSKA, I.; MURAS, G.; STREMINSKA, W.; JANCZYK-ILACH, K.; WALCZAK, P.; JANOWSKI, M.; CIEMERYCH, M. A.; BRZOSKA, E. Hypoxia preconditioned bone marrow-derived mesenchymal stromal/stem cells enhance myoblast fusion and skeletal muscle regeneration. **Stem cell research & therapy**, v. 12, n. 1, p. 1-18, 2021.
- AVERY, K.; DONOVAN, J.; ABRAMS, P. Validation of a new questionnaire for incontinence: the International Consultation on Incontinence Questionnaire (ICI-Q). **Neurourology and Urodynamics**, v. 20, n. 4, p. 86-86, 2001.
- CHAPPLE, C. R.; OSMAN, N.I.; BIRDER, L.; DMOCHOWSKI, R.; DRAKE, M. J.; KOEVERINGE, G. V.; NITTI, V. EW.; OELKE, M.; SMITH, P. P.; YAMAGUCHI, O.; WEIN, A.; ABRAMS, P. Terminology report from the international continence society (ICS) working group on underactive bladder (UAB). **Neurourology and urodynamics**, v. 37, n. 8, p. 2928-2931, 2018.
- D'ANCONA, C.; HAYLEN, B.; OELKE, M.; ABRANCHES-MONTEIRO, L.; ARNOLD, E.; GOLDMAN, H.; HAMID, R.; HOMMA, Y.; MARCELISSEN, T.; RADEMAKERS, K.; SCHIZAS, A.; SINGLA, A.; SOTO, I.; TSE, V.; WACHTER, S.; HERSCHORN, S. The International Continence Society (ICS) report on the terminology for adult male lower urinary tract and pelvic floor symptoms and dysfunction. **Neurourology and urodynamics**, v. 38, n. 2, p. 433-477, 2019.

- FUENTES, M.; MAGALHÃES, J.; BARROSO JR, U. Diagnosis and management of bladder dysfunction in neurologically normal children. **Frontiers in pediatrics**, v. 7, p. 298, 2019.
- KALIL, J.; D'ANCONA, C. A. L. Detrusor underactivity versus bladder outlet obstruction clinical and urodynamic factors. **International braz j urol**, v. 46, n. 3, p. 419-424, 2020.
- KALRA, K.; TOMAR, P. Stem cell: basics, classification and applications. **American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics**, v. 2, n. 7, p. 919-930, 2014.
- LEVANOVICH, P. E.; DIOKNOS, A.; HASENAU, D. L.; LAJINESS, M.; PRUCHNIC, R.; CHANCELLOR, M. G. Intradetrusor injection of adult muscle-derived cells for the treatment of underactive bladder: pilot study. **International urology and nephrology**, v. 47, n. 3, p. 465-467, 2015.
- LIU, S.; ZHOU, J.; ZHANG, X.; LIU, Y.; CHEN, J.; HU, B.; SONG, J.; ZHANG, Y. Strategies to optimize adult stem cell therapy for tissue regeneration. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 6, p. 982, 2016.
- MAZINI, L.; ROCHETTE, L.; AMINE, M.; MALKA, G. Regenerative capacity of adipose derived stem cells (ADSCs), comparison with mesenchymal stem cells (MSCs). **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 10, p. 2523, 2019.
- MORÁN, E.; SÁEZ, I.; BÓLON, J.; COLET, O.; BONILLO, M.A.; MARTÍNEZ-CUENCA, E.; BROSETA, E.; ARLANDIS, S. Evolution of male patients with detrusor underactivity and conservative treatment. Five-year follow-up. **Actas Urológicas Españolas (English Edition)**, v. 45, n. 1, p. 83-89, 2021.
- ORBAY, H.; TOBITA, M.; MIZUNO, H. Mesenchymal stem cells isolated from adipose and other tissues: basic biological properties and clinical applications. **Stem cells international**, v. 2012, 2012.
- PESARINI, J. R.; OLIVEIRA, E. J. T.; PESSATTO, L. R.; RABACOW, A. P, M.; CAMASSOLA, M.; SANTOS, B. P.; BARROS, M. E.; CANTERO, W. B.; ANTONIOLLI-SILVA, A. C. M. B.; OLIVEIRA, R. J. Calcitriol combined with calcium chloride causes apoptosis in undifferentiated adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells, but this effect decreases during adipogenic differentiation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 914-924, 2018.
- RADEMAKERS, K. L. J.; VAN KOEVERINGE, G. A.; OELKE, M. Detrusor underactivity in men with lower urinary tract symptoms/benign prostatic obstruction:

characterization and potential impact on indications for surgical treatment of the prostate. **Current opinion in urology**, v. 26, n. 1, p. 3-10, 2016.

REYNARD, J. M.; YANG, Q.; DONAVAN, J. L.; PETERS, T. J. ; SCHAFER, W.; ROSETTE, J. J. M. C. H.; DABHOIWALA, N. F.; OSAWA, D.; TONG LONG LIM, A.; ABRAMS, P. The ICS-‘BPH’Study: uroflowmetry, lower urinary tract symptoms and bladder outlet obstruction. **Br. J. Urol**, v. 82, p. 619-623, 1998.

WAGERS, A. J.; WEISSMAN, I. L. Plasticity of adult stem cells. **Cell**, v. 116, n. 5, p. 639-648, 2004.

ZERATI FILHO, M.; NARDOZZA JUNIOR, A.; REIS, R. B. **Urologia Fundamental**. São Paulo: Planmark. p. 274 , 2010.

SUPLEMENTO 1

Extração:

O lipoaspirado foi centrifugado por 10 minutos a 2000 rpm. Aspirou-se a solução tampão fosfato (PBS) restando apenas o tecido adiposo. Os frascos foram preenchidos com PBS e procedeu-se uma nova centrifugação como descrito anteriormente. Esse processo foi repetido por mais duas vezes. Ao tecido adiposo foi adicionado uma solução de Colagenase do tipo I diluída em PBS. Incubou-se por 30 minutos a 37°C. com homogeneização a cada 5 minutos. A atividade da enzima foi neutralizada com DMEM (Meio de Cultura Eagle Dulbecco Modificado baixa glicose - Sigma®) contendo 10% de soro fetal bovino (Gibco Life Technologies). Fez-se uma nova centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm. Na sequência o sobrenadante foi desprezado. Ao *pellet* foi adicionado 10ml de solução de lise de hemácias, homogeneizou-se e incubou-se por 5 minutos. Procedeu-se uma nova centrifugação por 10 minutos a 1600 rpm. Desprezou-se o sobrenadante e o *pellet* foi ressuspensão em 3ml de meio de cultura - DMEM suplementado com 10% de soro bovino fetal e semeados em um poço de uma placa de cultura de 6 poços. A cultura foi realizada em incubadora a 37°C e 5% de CO₂. Após 24 horas o meio de cultura foi trocado.

Cultivo

A cultura de células-tronco mesenquimais foi mantida em meio de cultura DMEM baixa glicose suplementado com 10% de soro bovino fetal a 37°C com 5% de CO₂. O meio de cultura foi trocado a cada 72 horas. Após atingir aproximadamente 80% de confluência, as células foram lavadas três vezes com PBS. Em seguida, acrescentou-se 0,5ml de tripsina (0,025%) e esperou-se o desprendimento das células (tempo máximo de 3 minutos). A tripsina foi inativada com 1mL de DMEM suplementado. A solução contendo as células foi transferida para um tubo cônico de 15mL e centrifugada por 5 minutos a 1.200 rpm. O sobrenadante foi descartado e as células foram homogeneizadas em 5mL de DMEM suplementado. Na sequência semeou-se as células em garrafa de 25 cm². O cultivo foi realizado da mesma forma já descrita. Quando o frasco atingiu confluência de 80% as células foram lavadas

com PBS, tripsinizadas e semeadas em duas garrafas de 75cm². Soltou-se a células do frasco com auxílio de tripsina e após uma amostra de 10µL de solução contendo as células tronco foi colocada em um microtudo para contagem e análise da viabilidade celular por azul de tripan (1:1). Esse processo foi repetido até obter 2.10⁶ de células-tronco mesenquimais.

Transplante

Quando o volume celular atingiu 2.10⁶, as células foram lavadas três vezes com PBS. Em seguida, 1ml de tripsina, na concentração de 0,25%, foi adicionada no frasco de cultivo e incubado por 3 minutos. A atividade da enzima foi inativa com 2 ml de meio de cultura DMEN suplementado com 10% de soro bovino fetal. Em seguida, as células foram transferidas para um tubo cônico de 15ml. Fez-se a centrifugação do tubo cônico por 5 minutos a 1200 rpm. Na sequência, com auxílio de uma pipeta de Pasteur, aspirou-se o sobrenadante. O *pellet* celular foi ressuspenso em PBS. Fez-se a centrifugação por 5 minutos a 1200 rpm. Esse processo foi repetido por mais duas vezes. O *pellet* foi ressuspenso em 5ml de soro fisiológico estéril e colocados em uma seringa de 10 ml. O material foi encaminhado para o Ambulatório de Urologia para o transplante.

SUPLEMENTO 2

Os indivíduos foram submetidos ao procedimento de uretrocistoscopia, com o transplante intravesical de células-tronco mesenquimais, em regime ambulatorial. Após o procedimento os indivíduos permaneceram em observação na sala de procedimento, em decúbito dorsal com cabeceira elevada a 45 graus por 60 minutos aos cuidados da equipe médica e de enfermagem.

Os sinais vitais (pressão arterial, frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura axilar e saturação de oxigênio) foram aferidos pela equipe de enfermagem durante o período de permanência na unidade de saúde. Os pacientes receberam hidratação via oral e durante o período foram avaliados quanto a sintomas miccionais de dor, sangramento e desconforto miccional.

Ao final desse período, os indivíduos receberam alta com orientação quanto as possíveis complicações relacionadas ao procedimento de uretrocistoscopia e do transplante intravesical de células-tronco mesenquimais. Os pacientes foram submetidos a um protocolo de profilaxia com antibioticoterapia. Após a alta os indivíduos receberam o medicamento Levofloxacino 500mg e foram orientados a tomar o medicamento 1 vez ao dia por 3 dias consecutivos e no mesmo horário. Se necessários foram orientados à analgesia com paracetamol 500mg via oral de 6/6 horas em caso de dor.

Os pacientes retornaram no ambulatório de Urologia para avaliação médica a cada 15 dias nos primeiros 2 meses e mensalmente do segundo ao sexto mês. Os pacientes foram submetidos à exames laboratoriais (hemograma completo, uréia, creatinina, sódio, potássio, glicose, urina tipo 1 e cultura de urina) 15 dias após a realização do primeiro e do segundo transplante e a cada 60 dias do segundo ao sexto mês pós transplante.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Demonstramos pioneiramente que a terapia celular, com células tronco mesenquimais, pode tratar a hipoatividade detrusora visto que ela foi capaz de aumentar o fluxo máximo, o fluxo médio e o volume urinado bem como reduzir o volume residual no estudo urofluxometria. A terapia celular ainda foi capaz de aumentar o fluxo máximo, a pressão detrusora máxima, o volume urinado e o BCI no estudo fluxo pressão. Os pacientes não apresentaram nenhuma intercorrência. Frente ao exposto, sugere-se que a terapia com células-tronco mesenquimais seja uma nova e segura opção terapêutica para o tratamento da hipoatividade detrusora.

REFERÊNCIAS

ALDAMANHORI, R.; CHAPPLE, C. R. Underactive bladder, detrusor underactivity, definition, symptoms, epidemiology, etiopathogenesis, and risk factors. **Current opinion in urology**, v. 27, n. 3, p. 293-299, 2017.

BECKER, C.; JAKSE, G. **Stem cells for regeneration of urological structures**. Review European Urology, v. 51, p. 1217-1228, 2007.

BROWN, L. L. Adipose-Derived Stromal Stem Cells. In: (Ed.). **Advanced Procedures for Pain Management**: Springer, 2018, p.489-507.

CAMILLERI, E.T.; GUSTAFSON, M.P.; DUDAKOVIC, A.; RIESTER, S.M.; GARCES, C.G.; PARADISE, C.R.; TAKAI, H.; KARPERIEN, M.; COLL, S.; SAMPEN, H.I.; LARSON, A.N.; QU, W.; SMITH, J.; DIETZ, A.B.; VAN WIJNEN, A. J. Identification and validation of multiple cell surface markers of clinical-grade adipose-derived mesenchymal stromal cells as novel release criteria for good manufacturing practice-compliant production. **Stem cell research & therapy**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2016.

CAPLAN, A. I. Mesenchymal stem cells and gene therapy. **Clinical Orthopaedics and Related Research (1976-2007)**, v. 379, n., p. S67-S70, 2000.

CAPLAN, A. I.; DENNIS, J. E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. **Journal of cellular biochemistry**, v. 98, n. 5, p. 1076-1084, 2006.

CARR, L. K.; STEELE, D.; WAGNER, D.; PRUCHNIC, R.; JANKOWSKI, R.; ERICKSON, J.; HUARD, J.; CHANCELLOR, M. B. 1-year follow-up of autologous muscle-derived stem cell injection pilot study to treat stress urinary incontinence. **International Urogynecology Journal**, v. 19, n. 6, p. 881-883, 2008.

CHANCELLOR, Michael B.; DIOKNO, Ananias C. (Ed.). **The underactive bladder**. Springer, 2016.

D'ANCONA, C.; HAYLEN, B.; OELKE, M.; ABRANCHES-MONTEIRO, L.; ARNOLD, E.; GOLDMAN, H.; HAMID, R.; HOMMA, Y.; MARCELISSEN, T.; RADEMAKERS, K.; SCHIZAS, A.; SINGLA, A.; SOTO, I.; TSE, V.; WACHTER, S.; HERSCHORN, S. The International Continence Society (ICS) report on the terminology for adult male lower urinary tract and pelvic floor symptoms and dysfunction. **Neurourology and urodynamics**, v. 38, n. 2, p. 433-477, 2019.

DISSARANAN, C.; CRUZ, M. A.; KIEDROWSKI, M. J.; BALOG, B. M.; GILL, B. C.; PENN, M. S.; GOLDMAN, H. B.; DAMASER, M. S. Rat mesenchymal stem cell secretome promotes elastogenesis and facilitates recovery from simulated childbirth injury. **Cell transplantation**, v. 23, n. 11, p. 1395-1406, 2014.

DOMINICI, M. L. B. K. et al. **Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells**. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, v. 8, n. 4, p. 315-317, 2006.

DOMPE, C.; WAŚIATYCZ, G.; MOZDZIAK, P.; JANKOWSKI, M.; KEMPISTY, B. Current clinical applications of adipose-derived stem cells in humans and animals. **Medical Journal of Cell Biology**, v. 7, n. 3, p. 105-111, 2019.

EBRAHIMI, A.; AHMADI, H.; GRASRODASHTI, Z. P.; TANIDEH, N.; SHAHRIARIRAD, R.; ERFANI, A.; RANJBAR, K.; ASHKANI-ESFAHANI, S. Therapeutic effects of stem cells in different body systems, a novel method that is yet to gain trust: A comprehensive review. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 21, n. 6, p. 672, 2021.

FAN, X; ZHANG, Y. K.; MA, C. Y.; FU, Q. L. Mesenchymal stem cells for inflammatory airway disorders: promises and challenges. **Bioscience Reports**, v. 39, n. 1, 2019.

FAN, X; ZHANG, Y. K.; FU, Q. L. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy. **Cellular and molecular life sciences**, v. 77, n. 14, p. 2771-2794, 2020.

GILLERAN, J.; DIOKNO, A. C.; WARD, E.; SIRLS, L.; HASENAU, D.; GIORDANO, J.; SHEA, E.; BARTOLONE, S. N.; LAMB, L. E.; CHANCELLOR, M. B. Improved global response outcome after intradetrusor injection of adult muscle-derived cells for the treatment of underactive bladder. **International urology and nephrology**, v. 53, n. 7, p. 1331-1338, 2021.

IKADO, Y.; OBINATA, D.; MATSUMOTO, T.; MURATA, Y.; KANO, K.; FUKUDA, N.; YAMAGUCHI, K.; YAKAHASHI, S. **Transplantation of mature adipocyte-derived dedifferentiated fat cells for the treatment of vesicoureteral reflux in a rat model**. *Int. Urol. Nephrol.*, v. 48, n. 12, p. 1951-1960, 2016.

KALIL, J.; D'ANCONA, C. A. L. Detrusor underactivity versus bladder outlet obstruction clinical and urodynamic factors. **International braz j urol**, v. 46, n. 3, p. 419-424, 2020.

KALRA, K.; TOMAR, P. Stem cell: basics, classification and applications. **American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics**, v. 2, n. 7, p. 919-930, 2014.

KIM, A.; YU, H.Y.; HEO, J.; SONG, M.; SHIN J.H.; LIM, J.; YONN, S.J.; KIM, Y.; LEE, S.; SIM, S.W.; OH, W.; CHOI, S.J.; SHIN, D.M.; CHOO, M.S. **Mesenchymal stem cells protect against the tissue fibrosis of ketamine-induced cystitis in rat bladder**. *Scientific Reports*, v. 2, n. 6, p. 1-11, 2016.

KINNAIRD, T.; STABILE, E.; BURNETT, M. S.; SHOU, M.; LEE, C. W.; BARR, S.; FUCHS, S.; EPSTEIN, S. E. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. **Circulation**, v. 109, n. 12, p. 1543-1549, 2004.

KOLF, C.; CHO, E.; TUAN, R. **Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation** *Arthrores. Therapy*, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2007.

LAPIDES, J.; DIOKNO, A. C.; SILBER, S. J.; LOWE, B. S. Clean, intermittent self-catheterization in the treatment of urinary tract disease. **The Journal of urology**, v. 107, n. 3, p. 458-461, 1972.

LI, F.; GUO, X.; CHEN, S. Y. Function and therapeutic potential of mesenchymal stem cells in atherosclerosis. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 4, p. 32, 2017.

LISIEUX, E.J. **Disfunção miccional – doença funcional e social**. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, v. 39, n. 2, p. 085, 2012.

MAHAJAN, P.V.; SUBRAMANIAN, S.; DANKE, A.; KUMAR, A. **Neurogenic bladder repair using autologous mesenchymal stem cells**. Review Case Report in Urology, 3f, 2016.

MEIRELLES, L.S.; CHAGASTELLES, P.C.; NARDI, N.B. **Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues**. Journal of Cell Science, v. 119, p. 2204-2213, 2006.

MISHRA, V. K.; SHIH, H. H.; PARVEEN, F.; LENZEN, D.; ITO, E.; CHAN, T. F.; KE, L. Y. Identifying the therapeutic significance of mesenchymal stem cells. **Cells**, v. 9, n. 5, p. 1145, 2020.

MIYAZATO, M.; UOSHIMURA, N.; CHANCELLOR, M.B. **The other bladder syndrome: Underactive bladder**. Review in Urology, v. 15, n. 1, p. 11-22, 2013.

MONTEIRO, B.S. **Tratamento de defeitos críticos em calvária de camundongos com células-tronco mesenquimais associadas ou não ao plasma rico em plaquetas**. Tese (Doutorado Medicina Veterinária) – Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, MG, 109f, 2009.

MORÁN, E.; SÁEZ, I.; BÓLON, J.; COLET, O.; BONILLO, M.A.; MARTÍNEZ-CUENCA, E.; BROSETA, E.; ARLANDIS, S. Evolution of male patients with detrusor underactivity and conservative treatment. Five-year follow-up. **Actas Urológicas Españolas (English Edition)**, v. 45, n. 1, p. 83-89, 2021.

MORIGI, M.; INTROMA, M.; IMBERTI, B.; CORNA, D.; ABBATE, M.; ROTA, C.; ROTTOLI, D.; BENIGNI, A.; PERICO, N.; ZOJA, C.; RAMBALDI, A.; REMUZZI, A.; REMUZZI, G. Human bone marrow mesenchymal stem cells accelerate recovery of acute renal injury and prolong survival in mice. **Stem cells**, v. 26, n. 8, p. 2075-2082, 2008.

OLIVEIRA, C.D.; SEMEDO, P.; SILVA, M.B.; CENEDEZE, M.A.; MALHEIROS, D.M.A.C.; REIS, M.A.; SILVA, A.P.; CÂMARA, N.O.S. **Papel das células-tronco derivadas do tecido adiposo na progressão da doença renal**. Einstein, v. 9, n. 1, p. 36-45, 2011.

PADOIN, A.V.; BRAGA-SILVA, J.; MARTINS, P.; REZENDE, K.; REZENDE, A.R.D.R.; GRECHI, B.; GEHLEN, D.; MACHADO, D.C. **Sources of processed lipoaspirate cells: influence of donor site on cell concentration.** *Plast Reconstr Surg.*, v. 122, n.2 p. 614-618, 2008.

PINGGERA, G.M.; MARKSTEINER, R.; MARGREITER, E.; PLATTNER, R.; KLIMA, G.; BARTSCH, G.; STRASSER, H. **Functional and histological changes after myoblast injections in the porcine rhabdosphincter.** *European Urology*, v. 52, n. 6, p. 1736-1743, 2007.

RADEMAKERS, K. L. J.; VAN KOEVERINGE, G. A.; OELKE, M. Detrusor underactivity in men with lower urinary tract symptoms/benign prostatic obstruction: characterization and potential impact on indications for surgical treatment of the prostate. **Current opinion in urology**, v. 26, n. 1, p. 3-10, 2016.

SÈBE, P.; DOUCET, C.; CORNU, J. N.; CIOFU, C.; COSTA, P.; MEDINA, S. G. D.; PINSET, C.; HAAB, F. Intrasphincteric injections of autologous muscular cells in women with refractory stress urinary incontinence: a prospective study. **International urogynecology journal**, v. 22, n. 2, p. 183-189, 2011.

SEKI, N.; KAI, N.; SEGUCHI, H.; TAKEI, M. YAMAGUCHI, A.; NAITO, S. **Predictives regarding outcome after transurethral resection for prostatic adenoma associated with detrusor underactivity.** *Urology*, v. 67, n. 2, p. 306-310, 2006.

SEKI, N.; YUNOKI, T.; TOMODA, T.; TAKEI, M.; YAMAGUCHI, A.; NAITO, S. **Association among the symptoms, quality of life and urodynamic parameters in patients with improved lower urinary tract symptoms following a transurethral resection of the prostate.** *Neurourol Urodyn*, v. 27, n. 3, p. 222-225, 2008.

SEMB, H. **Human embryonic stem cells: origin, properties and applications.** *Acta pathologica microbiologica et immunologica scandinavica*, v. 113, p. 743-750, 2005.

SEMEDO, P.; CORREA-COSTA, M.; CENEDEZE, M. A.; MALHEIROS, D. M. A. C.; REIS, M. A.; SHIMIZU, M. H.; SEGURO, A. C.; PACHECO-SILVA, A.; CAMARA, N. O. S. Mesenchymal stem cells attenuate renal fibrosis through immune modulation and remodeling properties in a rat remnant kidney model. **Stem cells**, v. 27, n. 12, p. 3063-3073, 2009.

SMOLAR, J.; SALEMI, S.; HORST, M.; SUSLSER, T.; EBERLI, D. **Stem cells in functional bladder engineering.** *Transfus Med Hemother*, v. 43, n. 5, p. 328-335, 2016.

STANGEL-WOJCIKIEWICZ, K.; PIWOWAR, M.; JACH, R.; MAJKA, M.; BASTA, A. Quality of life assessment in female patients 2 and 4 years after muscle-derived cell transplants for stress urinary incontinence treatment. **Ginekologia polska**, v. 87, n. 3, p. 183-189, 2016.

STEWART, Matthew C.; STEWART, Allison A. **Mesenchymal stem cells: characteristics, sources, and mechanisms of action.** *Veterinary Clinics: Equine Practice*, v. 27, n. 2, p. 243-261, 2011.

SUN, C.; LIN, H.; YU, W.; LI, X.; CHEN, Y.; QUI, X.; WANG, R.; DAI, Y. Neurotrophic effect of bone marrow mesenchymal stem cells for erectile dysfunction in diabetic rats. **International journal of andrology**, v. 35, n. 4, p. 601-607, 2012.

SUN, D.; ABELSON, B.; BABBAR, P.; DAMASER, M. S. Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for regenerative urology. **Nature Reviews Urology**, v. 16, n. 6, p. 363-375, 2019.

ULLAH, I.; SUBBARAO, R. B.; RHO, G. J. Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective. **Bioscience reports**, v. 35, n. 2, 2015.

WAGERS, Amy J.; WEISSMAN, Irving L. Plasticity of adult stem cells. **Cell**, v. 116, n. 5, p. 639-648, 2004.

WANG, S. P.; Wang, Z. H.; Peng, D. Y.; Li, S. M.; Wang, H.; Wang, X. H. Therapeutic effect of mesenchymal stem cells in rats with intracerebral hemorrhage: reduced apoptosis and enhanced neuroprotection. **Molecular medicine reports**, v. 6, n. 4, p. 848-854, 2012.

Wang, S. P., Wang, Z. H., Peng, D. Y., Li, S. M., Wang, H., & Wang, X. H. (2012). Therapeutic effect of mesenchymal stem cells in rats with intracerebral hemorrhage: reduced apoptosis and enhanced neuroprotection. *Molecular medicine reports*, 6(4), 848-854.

WATT, F.M.; DRISKELL, R.R. **The therapeutic potential of stem cells.** Review *Philosophical Transactions of the Royal Society*, v. 365, p.155-163, 2010.

WILDE, M. H.; MCDONALD, M. V.; BRASCH, J.; MCMAHON, J. M.; FAIRBANKS, E.; SHAH, S.; TANG, W.; SCHEID, E. Long-term urinary catheter users self-care practices and problems. **Journal of clinical nursing**, v. 22, n. 3-4, p. 356-367, 2013.

WEI, Si-Ming; YAN, Zhi-Zhong; ZHOU, Jian. **Involvement of reactive oxygen species and TATA box-binding protein-related factor 2 in testicular torsion/detorsion-induced injury.** *Urology*, v. 81, n. 2, p. 466. e9-466. e14, 2013.

WU, Y.; HOOGDUIJN, M. J.; BAAN, C. C.; KOREVAAR, S. S.; KUIPER, R.; YAN, L.; WANG, L.; BESOUW, N. M. V. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have a heterogenic cytokine secretion profile. **Stem cells international**, v. 2017, 2017.

ZATZ, M. Clonagem e células-tronco. **Estudos avançados**, v. 18, n. 51, p. 247-256, 2004.

ZHANG, H.; QUI, X.; SHINDEL, A. W.; NING, H.; FERRETTI, L.; JIN, X.; LIN, G.; LIN, C. S.; LUE, T. F. Adipose tissue-derived stem cells ameliorate diabetic bladder dysfunction in a type II diabetic rat model. **Stem cells and development**, v. 21, n. 9, p. 1391-1400, 2012.

ANEXOS

A - PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA****PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: EFEITO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS AUTOGENAS EM PACIENTES COM DISFUNÇÃO MICCIONAL:HIPOCONTRATILIDADE DETRUSORA

Pesquisador: HENRIQUE RODRIGUES SCHERER COELHO

Área Temática: Novos procedimentos terapêuticos invasivos;

Versão: 3

CAAE: 78716517.4.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.745.746

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram copiadas do parecer pendente nº 2.404.452 emitido pela Conep em 01/12/2017.

INTRODUÇÃO

Na rotina clínica frente a tomada de decisão frente a pacientes com hipocontratilidade detrusora cujo o tratamento consiste apenas em métodos de esvaziamento vesical através de cateterismo intermitente limpo (CIL) e mesmo na necessidade de enterocistoplastia de aumento da capacidade vesical, mas permanecendo a necessidade do CIL, causa grande transtorno e diminuição importante a qualidade de vida a essa população acometida. Fazem-se necessárias novas pesquisas no tratamento dessa condição patológica tão prevalente e sem tratamento eficaz.

O projeto vem de encontro à consolidação de linha de pesquisa em terapia celular e engenharia tecidual permitindo o desenvolvimento de nova linha de atuação em pacientes com falência a músculo detrusor vesical utilizando células-tronco mesenquimais autólogas. Pretende-se encontrar um modo de recuperara função da bexiga e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

O modelo é de fácil realização, baixo custo e permitirá a obtenção rápida de resultados pela também simplicidade dos testes de avaliação a serem realizados. Poderá ser realizado na UFMS, há disponibilidade de pacientes, há possibilidade de envolvimento de acadêmicos e por este motivo

Endereço: SRNTV 701, Via W 5 Norte - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-049

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.745.746

| | | | | |
|--------------|--------------------------|------------------------|----------------|--------|
| Investigador | projetoddoabril2018.docx | 29/04/2018 21:49:52 | SCHERER COELHO | Aceito |
|--------------|--------------------------|------------------------|----------------|--------|

Situação do Parecer:

Aprovado

BRASILIA, 29 de Junho de 2018

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador)

Endereço: SRNTV 701, Via W 5 Norte - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-049
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

B – Comprovante de Registo do REBEC (Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos)

 **ReBEC** <sistema.rebec@icict.fiocruz.br>
Para: henriquercoelho@yahoo.com.br, ReBEC

qui, 27 de mai. às 23:35

Prezado Registrante,

Temos o prazer de informar que seu estudo foi publicado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC). Agradecemos por seu registro e colaboração e, desde já, nos colocamos à disposição para esclarecer quaisquer dúvidas que possam surgir, seja em caso de atualização do registro ou, até mesmo, uma nova submissão. Por favor, não hesite em contactar-nos. Cordialmente, ReBEC Staff - ReBEC/ICICT/LIS Av. Brasil 4036 - Maré - sala 807 Rio de Janeiro RJ CEP: 21040-360 Tel: +55(21)3882-9227

Acesso: <https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-10bk2qbb>

Dear Registrant,

We are pleased to inform you that your study registered on the Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) has been published. The ReBEC staff thank you for your subscription and, we are at your entire disposal to clarify any questions that may arise and/or in the event you need to update records or even a new submission. Please do not hesitate in contacting us in case of any doubt. Sincerely, ReBEC Staff - ReBEC/ICICT/LIS Av. Brasil 4036 - Maré - sala 807 Rio de Janeiro RJ CEP: 21040-360 Tel: +55(21)3882-9227 www.ensaiosclinicos.gov.br

Link: <https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-10bk2qbb>

Estimado Solicitante de registro,

Tenemos el agrado de informar que su estudio fue publicado en el Registro Brasileño de Ensayos Clínicos (Rebec). Gracias por su registro y colaboración y, a partir de ahora, nos ponemos a su disposición para responder a cualquier pregunta que pueda surgir, ya sea en el caso de la actualización del registro o incluso un nuevo envío. Por favor, no dude en ponerse en contacto con nosotros. Atentamente, ReBEC Staff - ReBEC/ICICT/LIS Av. Brasil 4036 - Maré - sala 807 Rio de Janeiro RJ CEP: 21040-360 Tel: +55(21)3882-9227 www.ensaiosclinicos.gov.br

Acesso: <https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-10bk2qbb>



C – Comprovante de Registro no ISRCTN registry (International Standard Randomised Controlled Trial Number)

ISRCTNregistry [Advanced Search](#)

[View all studies](#) |
 [Why register?](#) |
 [Register your study](#) |
 [Update your record](#) |
 [Report your results](#)

ISRCTN23909398 <https://doi.org/10.1186/ISRCTN23909398>



Effect of stem cells on hypoactive bladder

| | |
|---------------------------------|----------------------------------|
| Condition category | Prospective/Retrospective |
| Urological and Genital Diseases | Retrospectively registered |
| Date applied | Overall trial status |
| 13/03/2021 | Completed |
| Date assigned | Recruitment status |
| 15/03/2021 | No longer recruiting |
| Last edited | |
| 15/03/2021 | |

Plain English Summary

Background and study aims

An underactive bladder (also known as detrusor hypocontractility or hypocontractile bladder) is a bladder which has a contraction of reduced strength and/or reduced duration, resulting in slow bladder emptying or an inability to completely empty. There are several causes for this condition, including old age, drugs, medical activity, neurogenic causes (stroke, multiple sclerosis, Parkinson's disease, spinal cord injury), obstruction, diabetes and infectious diseases of the nervous system (AIDS, syphilis and Guillan-Barre Syndrome). Programmed urination, double urination, al-blockers and occasional self-catheterization are typical conservative treatment options. The aim of this study is to evaluate the effect of mesenchymal stem cells in patients with detrusor hypocontractility.

Who can participate?

Patients with detrusor hypocontractility

D – Comprovante Submissão Relato de Caso

The American Journal of Medicine
MESENCHYMAL STEM CELL THERAPY REVERSES DETRUSOR HYPOACTIVITY
IN A CHRONIC KIDNEY PATIENT
 --Manuscript Draft--

| | |
|------------------------------|---|
| Manuscript Number: | |
| Article Type: | Clinical Communication to the Editor |
| Corresponding Author: | Rodrigo Juliano Oliveira BRAZIL |
| First Author: | Henrique Rodrigues Scherer Coelho |
| Order of Authors: | Henrique Rodrigues Scherer Coelho Sílvia Cordeiro das Neves Jovino da Silva Menezes Andreia Conceição Milan Brochado Antonioli-Silva Rodrigo Juliano Oliveira |

This is an automated message.

Journal: The American Journal of Medicine
 Title: MESENCHYMAL STEM CELL THERAPY REVERSES DETRUSOR HYPOACTIVITY IN A CHRONIC KIDNEY PATIENT
 Corresponding Author: Dr. Rodrigo Juliano Oliveira
 Co-Authors: Henrique Rodrigues Scherer Coelho; Sílvia Cordeiro das Neves; Jovino da Silva Menezes; Andreia Conceição Milan Brochado Antonioli-Silva
 Manuscript Number:

Dear Sílvia Cordeiro das Neves,

The corresponding author Dr. Rodrigo Juliano Oliveira has listed you as a contributing author of the following submission via Elsevier's online submission system for The American Journal of Medicine.

Submission Title: MESENCHYMAL STEM CELL THERAPY REVERSES DETRUSOR HYPOACTIVITY IN A CHRONIC KIDNEY PATIENT

Elsevier asks all authors to verify their co-authorship by confirming agreement to publish this article if it is accepted for publication.

Please read the following statement and confirm your agreement by clicking on this link: <https://www.editorialmanager.com/ajm/v1.asp?i=361336&I=EY41FL5M>

I irrevocably authorize and grant my full consent to the corresponding author of the manuscript to: (1) enter into an exclusive publishing agreement with Elsevier on my behalf (or, if the article is to be published under a CC BY license, a non-exclusive publishing agreement), in the relevant form set out at www.elsevier.com/copyright, and (2) unless I am a US government employee, to transfer my copyright or grant an exclusive license of rights (or for CC BY articles a non-exclusive license of rights) to Elsevier as part of that publishing agreement, effective on acceptance of the article for publication. If the article is a work made for hire, I am authorized to confirm this on behalf of my employer. I agree that the copyright status selected by the corresponding author for the article if it is accepted for publication shall apply and that this agreement is subject to the governing law of the country in which the journal owner is located.

If you did not co-author this submission, please contact the corresponding author directly at rodrigo.oliveira@ufms.br.

Thank you,
 The American Journal of Medicine

More information and support
 FAQ: What is copyright co-author verification?
https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28460/supporthub/publishing/