



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

ALESSANDRA MARQUES DOS SANTOS

L LISINA NA CARCINOGENESE DE
EPITÉLIOS INTESTINAL E UROTELIAL NAS AMPLIAÇÕES VESICAIS E
URETEROSSIGMOIDOSTOMIAS EM RATAS.

FORTALEZA
2016

ALESSANDRA MARQUES DOS SANTOS

**L LISINA NA CARCINOGENESE DE
EPITÉLIOS INTESTINAL E UROTELIAL NASAMPLIAÇÕES VESICAIS E
URETEROSSIGMOIDOSTOMIAS EM RATAS.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia. Área de concentração: Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Conceição Aparecida Dornelas

**FORTALEZA
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- S2661 Santos, Alessandra Marques dos.
L lisina na carcinogênese de epitélios intestinal e urotelial nas ampliações vesicais e ureterossigmoidostomias em ratas./ Alessandra Marques dos Santos. – 2016.
102f.: il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Mestrado em Patologia, Fortaleza, 2016.
Área de Concentração: Patologia.
Orientação: Profa. Dra. Conceição Aparecida Dornelas.
1. Derivação Urinária. 2. Lisina. 3. Focos de Criptas Aberrantes. 4. Coletores. I. Título.

CDD 615.1403

ALESSANDRA MARQUES DOS SANTOS

**L LISINA NA CARCINOGENESE DE
EPITÉLIOS INTESTINAL E UROTELIAL NAS AMPLIAÇÕES VESICAIS E
URETEROSSIGMOIDOSTOMIAS EM RATAS.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia. Área de concentração: Patologia.

Aprovada em: 15 de fevereiro de 2016

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. **Conceição Aparecida Dornelas** (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra **Silmara Cristina Galera**
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Prof. Dr. **Francisco Vagnaldo Fechine Jamacaru**
Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr **Paulo Roberto Carvalho de Almeida**
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A DEUS.
SEM ELE, NADA TERIA;
À MINHA MÃE, DULCILA MARQUES.
SEM ELA NADA SERIA.

À Dra. Profa. Orientadora e amiga, Conceição
Aparecida Dornelas, pelo estímulo e
credibilidade.

AGRADECIMENTOS

Aos alunos de iniciação científica do seu trabalho

- Nayanna Oliveira Ramos Melo(Biomedicina).
- Camila de Carvalho Juanes(Biologia)
- João Paulo Ferreira Coelho(Medicina)
- Rafael Barbosa de Azevedo(Medicina)
- Felipe Castelo Branco(Medicina)

Ao Prof. Dr. Francisco Vagnaldo Jamacaru Fecine, pela análise estatística dos FCA.

À Farmácia de Manipulação Ethical de Fortaleza pela doação da *L* lisina.

Ao Sr. Bento, pelo cuidado com os animais do biotério.

À Maria do Céu pela confecção das lâminas de H&E.

À Suzana, pelas colorações de Histoquímica.

“Pergunte a si mesmo o que realmente é importante. Então tenha coragem e sabedoria para construir a sua vida dentro da sua resposta”.

Lee Jampolksy

RESUMO

L LISINA NA CARCINOGENESE DE EPITÉLIOS INTESTINAL E UROTELIAL NAS AMPLIAÇÕES VESICAIS E URETEROSSIGMOIDOSTOMIAS EM RATAS.
ALESSANDRA MARQUES DOS SANTOS dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação (*Stricto Sensu*) em Patologia. Orientadora: Prof. Dra. Conceição Aparecida Dornelas.

Avalia os efeitos da *L* lisina na carcinogênese de epitélios intestinal e urotelial nas ampliações vesicais e ureterossigmoidostomias em ratas. O total de 66 ratas com nove semanas de idade foi dividido em nove grupos. Os animais dos grupos I, II e III foram submetidas a ampliação vesical com segmento de colo (AV) e tratados com *L* lisina, celecoxibe e H₂O, respectivamente. Os do grupo IV, V e VI foram submetidos a ureterossigmoidostomia (US) e tratados com *L* lisina, celecoxibe e H₂O nesta ordem. Os grupos VII, VIII e IX (controles não operados), receberam *L* lisina, celecoxibe e H₂O, respectivamente. A dose de *L* lisina foi de 150 mg/kg/peso e o celecoxibe foi de 20 mg/kg/peso. Os efeitos da *L* lisina no epitélio do colo de ratas submetidos a US foi inicialmente avaliado pela análise de FCA (focos de criptas aberrantes) a microscopia estereoscópica após fixação com formol e coloração pelo azul de metileno. Seguiu-se estudo histopatológico dos epitélios ureterais, cólicos e vesicais em todos os grupos, corados pela hematoxilina e eosina e PAS *Alcian Blue*. Foram encontrados raros FCA, em todas as ratas com US e na comparação entre os grupos. Não ocorreu diferença estatisticamente significantes entre os grupos. No estudo histopatológico, com hematoxilina e eosina de epitélios cólicos e vesicais de animais com AV, foram observados hiperplasia urotelial leve a moderada em todos os animais submetidos a cistoplastia, em região de anastomoses colovesical e maior número de animais apresentaram “metaplasia transicional” em epitélio glandular intestinal no grupo I ($p= 0,045$). Não havia células inflamatórias, displasias ou atipias. Nos epitélios de ureter esquerdo e colo das ratas com US, em meio a infiltrado inflamatório constituído por linfócitos, de moderada a acentuada intensidade, havia hiperplasia urotelial de moderada a acentuada, três polipos em distintos ureteres e um polipo inflamatório em colo. Não havia displasias ou atipias. Quanto à coloração pelo *Alcian Blue*, notou-se importante diminuição de células caliciformes e de mucinas em colo, em todas as ratas operadas. Desta forma, conclui-se que a *L* lisina não influenciou na carcinogênese do epitélio intestinal das ureterossigmoidostomias em ratas nos tempos e doses, bem como pelo método de avaliação de criptas aberrantes. A *L* lisina acentuou a “metaplasia urotelial” em segmento intestinal de ampliações vesicais e a hiperplasia transicional no ureter das ratas submetidas a ureterossigmoidostomias.

Palavras-chave: Derivação Urinária. Carcinogênese. Lisina. Focos de Criptas Aberrantes. Coletores Colônicos de Urina.

ABSTRACT

L LYSINE IN INTESTINAL AND UROTHELIAL EPITHELIAL CARCINOGENESIS OF THE AUGMENTATION OF BLADDER AND URETEROSIGMOIDOSTOMY IN FEMALE RATS. ALESSANDRA MARQUES DOS SANTOS. Dissertation (masters). Postgraduate Degree Program in Pathology (*Stricto Sensu*). Supervisor: Prof. Dra. Conceição Aparecida Dornelas.

The present study evaluated the effects of *L* lysine in intestinal and urothelial epithelia in augmentation of bladder and ureterosigmoidostomy in rats. A total of 66 female rats 9 weeks old were split divided into 9 experimental groups. The animals from groups: I, II and III were subjected to bladder augmentation with colon segment (AV) and treated with *L* lysine, celecoxib and H₂O, respectively. The groups: IV, V and VI were subjected to ureterosigmoidostomy (US) treated with *L* lysine, celecoxib and H₂O in that order. Groups: VII, VIII and IX (non-operated controls) received *L* lysine, celecoxib and H₂O respectively. The dosage of *L* lysine was 150mg/kg/body weight and the celecoxib was 20mg/kg/body weight. The effects of *L* lysine on the colon epithelium of rats subjected to US was initially evaluated by analysis Aberrant Crypts Foci (ACF) at stereostopic microscopy, after fixation with formaldehyde and staining with methylene blue. Followed by histopathological study of ureteral epithelium, colonic and bladder in all groups, stained with hematoxylin and eosin and PAS Alcian Blue. Rare ACF were found in all mice with US and compared between groups. There was no statistically significant difference between groups. On histopathology with hematoxylin and eosin, mild to moderate hyperplasia was observed in intestinal and urothelial epithelia at the site of anastomosis in all animals submitted to cystoplasty (Groups I and III), but transitional metaplasia of the intestinal glandular epithelium was more accentuated in Group I ($p=0.045$). There were no inflammatory cells, dysplasia or atypia. In epithelia of the left ureter and colon of mice with US a mild inflammatory infiltrate composed of lymphocytes, moderate to severe intensity, had urothelial hyperplasia of moderate to severe intensity in all the ureters, three polyps in different ureters and inflammatory polyps in colon. There were no dysplasia or atypia. The staining with Alcian Blue, noticed an important decrease of goblet cells and mucin in colon in all operated rats. In the histopathology there is similarity in the quality and quantity of injuries. Thus, we conclude that *L*-Lysine did not influence the carcinogenesis of intestinal epithelia, and urothelial of rats submitted to US and AV with colon segment, at times, doses and methods evaluated. However, the *L*-lysine stressed the "urothelial metaplasia" in intestinal segment bladder and ureter transitional hyperplasia in rats subjected to ureterosigmoidostomies.

Keywords: Urinary diversion. Carcinogenesis. Lysine; Aberrant Crypts Foci. Urinary Reservoirs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Popularização das diversas alças do trato gastrointestinal utilizadas no trato urinário e o aparecimento das primeiras neoplasias malignas.....	16
Figura 2 -	Mudanças fenotípicas de criptas aberrantes (com alterações dos genes) na carcinogênese do colo.....	32
Figura 3a -	Arcada do colo irrigado ramo da artéria mesentérica inferior (seta)...	37
Figura 3b -	Segmento de colo com vaso.....	37
Figura 3c -	Reconstituição do trânsito	37
Figura 3d -	Abertura da cúpula vesical.....	38
Figura 3e -	Anastomose da bexiga ao segmento de colo.....	38
Figura 3f -	Fechamento distal do segmento de colo com bexiga ampliada	38
Figura 4a -	Dissecção de ureter distal.....	39
Figura 4b -	Túnel com agulha hipodérmica.....	39
Figura 4c -	Orientação do ureter no túnel com fio agulhado.....	39
Figura 4d -	Ponto fixando o ureter intrainestinal na parede do colo.....	39
Figura 5a-	Funcionante.....	40
Figura 5b -	Não funcionante.....	40
Figura 6a -	Bexiga insuflada com formol a 10% fixada fechada.Grupo I - rata 2.....	41
Figura 6b -	Bexiga aberta. Grupo I - rata 2.....	41
Figura 7 -	Colo fechado (de reto a ceco) e ureterossigmoidostomia esquerda com ureter dilatado rim esquerdo e rim direito.....	42
Figura 8 -	Colo aberto (com ureterossigmoidostomia) estendido em papel kraft	42
Figura 9 -	Colo disposto em enovelado em rocambole Grupo IV- rata 8.....	43
Figura 10 -	Contagem de focos de criptas aberrantes (FCA) em microscópio estereoscópico.....	43
Figura 11 -	Criptas intestinais coradas pelo azul de metileno ao microscópio estereoscópico.....	44
Figura 12 -	Área de anastomose vesicointestinal (pinça) bexiga ampliada (30 semanas) -Grupo I rata 3.....	47
Figura 13 -	Observa-se ureter dilatado implantado em colo descendente (seta)	47
Figura 14 -	Ureterossigmoidostomia rim esquerdo com pionefroze, rim direito normal (seta) - Grupo V rata 1.....	48
Figura 15a -	Projeções epiteliais de hiperplasia transicional (seta) em criptas de colo, semelhantes a hiperplasias de células transicionais das anastomoses - Grupo I -rata 6 – HE - 100x.....	49
Figura 15b -	Mesmo aspecto de “metaplasia transicional” no epitélio de colo Grupo I - rata 7 -HE - 100x.....	49
Figura 16a -	Trajeto ureteral (setas brancas) e no seu interior projeções papilares com eixos vasculares (setas amarelas), HE, 50x.....	51
Figura 16b -	Papiloma transicional em ureter (seta), HE, 50x.....	51
Figura 16c -	Polipo inflamatório em colo justa anastomose ureterocólica seta, HE,50x.....	51
Figura 17a -	Cistoplastia–redução de células caliciformesno epitélio do colo - PAS - <i>Alcian Blue</i> 100 x.....	53
Figura 17b -	Região do colo justa ureterocólica, redução de células caliciformes PAS - <i>Alcian Blue</i> 100 x.....	53
Figura 18 -	Colo de rato do Grupo IX (controle) – rato 3 - PAS - <i>Alcian Blue</i>	

	100x.....	53
Figura 19 -	Número de criptas aberrantes verificado nos grupos IX, VII, VIII, VI, IV e V, considerando todos os segmentos : proximal, médio e distal.	61
Figura 20 -	Número de criptas aberrantes verificado nos grupos IX, VII e VIII, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.....	61
Figura 21 -	Número de criptas aberrantes verificado nos grupos água destilada IX VII VI e IV, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.....	62
Figura 22 -	Número de criptas aberrantes verificado nos grupos VI, IV e V, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.....	63
Figura 23 -	Número de criptas aberrantes verificado nos grupos IX e VI, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.....	63
Figura 24 -	Número de criptas aberrantes verificado nos grupos VII e IV, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.....	64
Figura 25 -	Número de criptas aberrantes verificado nos grupos VIII e V, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.....	64
Figura 26 -	<i>Syphacia sp</i> - microscópio óptico 20x.....	67
Figura 27 -	Histogênese da carcinogênese do urotélio vesical.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Delineamento do Experimento	35
Tabela 2	Causa <i>mortis</i> por dia e semanas de pós-operatório em todos os grupos de animais operados	46
Tabela 3	Lesões histopatógicas encontradas nos grupos I e III	50
Tabela 4	Lesões histopatológicas encontradas nos grupos IV, V e VI.	52
Tabela 5	Grupo e número de animais (n) considerados para análise estereoscópica de colo.	55
Tabela 6	Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos IX VII, VIII e VI considerando todos os fragmentos: proximal, médio e distal.	56
Tabela 7	Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos IX, VI e VII, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.	57
Tabela 8	Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos VI, IV e V, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.	57
Tabela 9	Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos IX e VI, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.	58
Tabela 10	Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos VII e IV, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.	58
Tabela 11	Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos VIII e V, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.	59
Tabela 12	Número de criptas aberrantes verificado nos grupos IX, VII ,VIII, VI IV e V, considerando todos os fragmentos proximal, médio e distal.	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>Ad libitum</i>	À vontade
APC	<i>Adenomatous polyposis coli</i>
<i>Apud.</i>	Citado por
COX	Ciclooxigenase 2
<i>et al.</i>	<i>Et alii</i> – Latim “e outros”
d	Dia
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPO	Dia de Pós-Operatório
PO	Pós-Operatório
FCA	Foco de cripta aberrante
G	Grupo
HID –AB	<i>High iron diamine alcian blue</i>
<i>Jak 3</i>	Janus Kinases 3
<i>L</i>	Levogera
MALT	<i>Mucosa-associated lymphoid tissue</i>
MUC	Gene da Mucina
neo	Neoplasia
<i>NfKB</i>	Factor nuclear Kappa beta
PAS	Acido Periodico deSchiff
s	Semana
<i>stat 3</i>	<i>signal transducers and activators of transcription</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

mg	Miligrama
kg	Quilograma
H ₂ O	Água
Ltda	Sociedade Limitada (tipo de empresa)
17p	p – braço curto (<i>petit</i>) do cromossoma
5q; 18q	q - braço longo do cromossoma
%	Porcento
x	Vezes
<i>p</i>	<i>p-value</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	Ureterossigmoidostomia.....	17
1.2	Conduto Ileal.....	19
1.3	Conduto Cólico.....	20
1.4	Gastrocistoplastia.....	21
1.5	Teoria da Carcinogênese em Derivações Urinárias e Cistoplastias com Segmentos Gastrointestinais.....	23
1.6	L- Lisina.....	29
1.7	Celecoxibe.....	30
1.8	Focos de Criptas Aberrantes.....	31
2	OBJETIVOS.....	33
2.1	Objetivo Geral.....	33
2.2	Objetivos específicos.....	33
3	MÉTODOS.....	34
3.1	Os animais.....	34
3.2	Condições de manutenção dos animais.....	34
3.3	Fármacos utilizados.....	34
3.3.1	Celecoxibe.....	34
3.3.2	L – lisina.....	34
3.4	Delineamento do experimento.....	35
3.5	Procedimentos cirúrgico.....	35
3.6	Observação clínica dos animais.....	40
3.7	Mortalidade.....	40
3.8	Sacrifício dos animais.....	40
3.9	Estudo macroscópico.....	41
3.10	Microscopia.....	43
3.11	Análise estatística.....	44
4	RESULTADOS.....	45
4.1	Peso Corporal.....	45
4.2	Mortalidade dos animais submetidos a ampliação vesical.....	45
4.3	Mortalidade dos animais submetidos a ureterossigmoidostomia..	45
4.4	Macroscopia.....	46
4.5	Funcionalidade das ureterossigmoidostomias segundo avaliação clínica.....	48
4.6	Microscopia.....	48
4.6.1	Ampliação vesical - pela hematoxilina e eosina (HE).....	48
4.6.2	Microscopia em Ureterossigmoidostomias pelo HE.....	51
4.6.3	Microscopia pelo PAS -ALCIAN BLUE.....	53
4.6.4	Focos de Criptas Aberrantes (FCA) e Criptas Aberrantes, observados à microscopia estereoscópica em colo de ratos submetidos a Ureterossigmoidostomias e seus grupos controles não operados.....	54
4.6.5	Criptas Aberrantes.....	59
5	DISCUSSÃO.....	65
6	CONCLUSÃO.....	75
	REFERÊNCIAS.....	76
	APÊNDICE A.....	86
	APÊNDICE B.....	89
	APÊNDICE C.....	95
	APÊNDICE D.....	100
	ANEXO.....	102

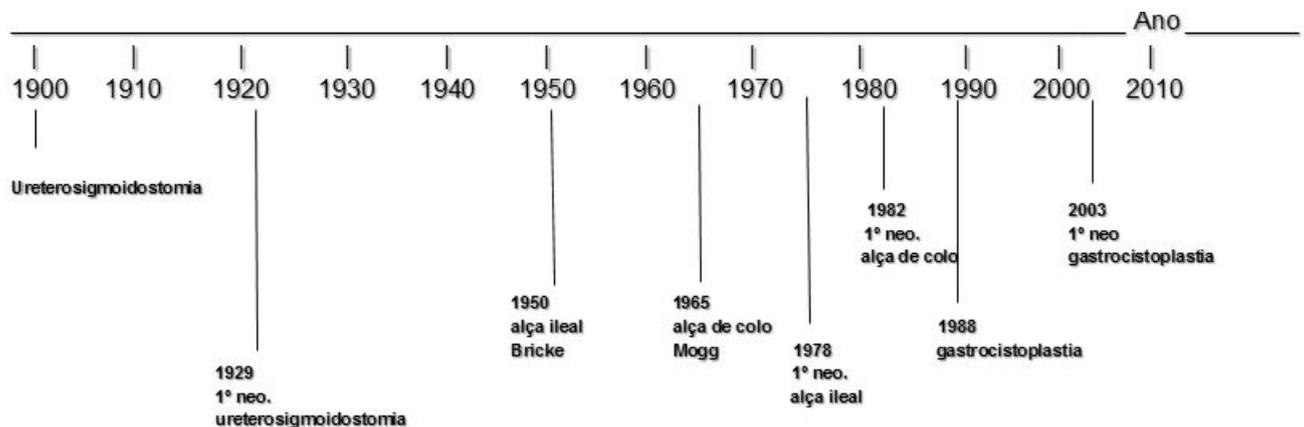
1 INTRODUÇÃO

A ureterossigmoidostomia surgiu em 1852, como técnica cirúrgica para solução do problema da perda da função de reservatório da bexiga. Outras estratégias foram surgindo anos mais tarde, utilizando diversos segmentos gastrintestinais para pacientes com distintas disfunções miccionais.

O primeiro caso de câncer associado à ureterossigmoidostomia foi publicado em 1929 (HAMMER, 1929), desde então, inúmeros relatos de tumores em outros tipos de derivações urinárias com segmento de colo, alça de sigmoide e ampliações vesicais com segmentos gastrintestinais foram registrados na literatura.

O desenvolvimento das técnicas de cistoplastias e derivações urinárias utilizando os diversos segmentos do trato gastrintestinal e o aparecimento das primeiras neoplasias mostra o longo tempo de latência no seu surgimento, bem como a similaridade na fisiopatologia entre elas (Figura 1).

Figura 1 - Popularização das diversas alças do trato gastrintestinal utilizadas no trato urinário e o aparecimento das primeiras neoplasias malignas



Fonte: Adaptado de DORNELAS, 1994.
neo - neoplasia

Embora existam novas perspectivas para substituições vesicais como a engenharia de tecidos, biologia das células estaminais, nanotecnologia, ciência dos materiais e medicina regenerativa o conhecimento atual da reconstituição da bexiga com biomateriais é insuficiente para usá-lo como um padrão na prática urológica (STEIN *et al.*, 2001). Portanto o uso de segmentos gastrintestinais na reconstituição da bexiga proposta pela primeira vez há quase 150 anos, continua sendo o padrão ouro, em virtude da ausência de uma opção superior

(EL TAJI; KHATTAK; HUSSAIN, 2015). O tempo amplo de latência, também, é um bom argumento em defesa do uso de segmentos gastrintestinais, sem falar que, em se conhecendo o problema, é possível prevenir e acompanhar de perto os pacientes que necessitam deste procedimento cirúrgico.

É importante lembrar, entretanto, que em sua maioria os pacientes submetidos a estas intervenções o são em virtude de complicações do trato urinário por malformações congênitas, ou seja, são crianças ou adolescentes, e que provavelmente irão chegar aos 40 ou 50 anos de idade. É estimado que o risco de câncer na população com menos de 25 anos de idade (submetida a ureterossigmoidostomia) seja de 7 mil vezes (ERAKLIS; FOLKMAN, 1978).

1.1 Ureterossigmoidostomia

O primeiro a realizar uma derivação ureteroretal foi Simon (1852 *apud* URDANETA *et al.*, 1966). Muitos anos depois, em 1929, foi publicado um relato de câncer em ureterovesicossigmoidostomia. Era de um paciente que apresentava extrofia vesical quando criança, e acredita-se na época ter iniciado na área do retalho de bexiga trigonal comprometida pela extrofia (HAMER, 1929).

Eraklis e Folkman (1978) realizaram interessante trabalho epidemiológico nos anos de 1970. Segundo esses pesquisadores, o número de casos de adenocarcinoma cólico na população em geral era de 27 por 100 mil casos. Em pessoas com idade abaixo de 25 anos, a incidência era de cerca de 0,7/ 100 mil; naqueles de menos de 15 anos, caía para 0,1 / 100 mil. Segundo estes mesmos pesquisadores, pacientes submetidos a ureterossigmoidostomia após os 29 anos exibiam uma incidência de 4,9%, isso com base em um grupo de 82 pessoas. Sob esta óptica, o risco calculado para câncer cólico era de 181 vezes em relação à população em geral e 7 mil vezes no concernente à população de menos de 25 anos de idade (ERAKLIS; FOLKMAN, 1978).

Por intermédio da histoquímica, pesquisadores estudaram as mucinas do colo de pessoas normais e de pacientes com derivação urinária, utilizando colorações para o *alcian blue*, em tecido biopsiado do sigmoide. Eles notaram diferenças quanto à distribuição das mucinas, sialomucina e sulfomucina. Na mucosa cólica normal, a sialomucina era observada na parte superior das criptas e a sulfomucina foi visualizada em porções médias e inferiores. Já em pacientes com ureterossigmoidostomias, observou-se que há uma substituição total pela

sialomucina (que se cora em azul) sendo, portanto, designada “cripta azul” (SHANSUDDIN; TRUMP, 1981; IANNONI *et al.*, 1986). Estas alterações também foram observadas em pacientes com adenocarcinoma de colo e retocolite ulcerativa (SHANSUDDIN; TRUMP, 1981).

Em 1988, Tomazino *et al.* registraram alterações histológicas em pacientes após um ano de cirurgia por ureterosigmoidostomia. Os pacientes apresentaram redução do número e do tamanho de células caliciformes, prolongamento e ramificações das criptas, redução do calibre da luz glandular na profundidade das criptas, com tendência a atrofia. Também foram encontradas áreas de displasia do epitélio, edema intersticial e processo inflamatório associado (TOMASINO *et al.*, 1988).

Outros estudos mostram que o risco de desenvolvimento de pólipos ou câncer em ureterossigmoidostomias está de 15% (URDANETTA *et al.*, 1966) a 40% (STARLING UEHLING; GILCHRIST, 1984; STEWART, 1986).

Grande revisão da literatura de 1929 a 1990, identificou cerca de 94 casos de neoplasias em ureterossigmoidostomias. Destes, 67 eram malignos e 27 eram benignos (HUSMANN; SPENCE, 1990). Dentre os 27 casos de tumores benignos, dez foram diagnosticados por pólipos não classificados, oito pólipos do tipo juvenil, cinco pólipos adenomatosos e quatro pólipos com metaplasia (glandular, escamosa e transicional). 70% dos casos (66 pacientes) eram portadores de extrofia de bexiga. Quanto à idade, 31 casos (33%) eram crianças de menos de dois anos, 35 (37%) tinham de três a doze anos, dez (11%) tinham mais de 12 anos de idade e não havia registro de idade nos casos restantes. Em 26 pacientes, a neoplasia maligna tinha origem no sigmoide, mesmo após a urina ter sido excluída da alça (HUSMANN; SPENCE, 1990).

Outra série de revisão publicou 184 casos de neoplasias um ano após ureterossigmoidostomias por doenças benignas. Destes, 96 eram câncer e 67 tumores benignos (MIERSCH; VOLGEL, 1992).

Existem vários relatos de neoplasia de coto ureteral em sigmoide após conversão de ureterossigmoidostomia para condutos ileais e cólicos (GILMAN, 1964; ELLIS *apud* URDANETA *et al.*, 1966; LIEN, 1973; RIVARD; BEDARD; DIONNE, 1975; ERAKLIS, 1978; SPENCE; HOFFMAN; FOSMIRE, 1979; CHIANG *et al.*, 1982; HARZMANN WECKERMANN; AUSBURG., 1989; SOHN *et al.*, 1990). A exposição do sigmoide à urina variou de nove meses a cinco anos, um tempo de latência nem tão longo assim.

Revisão sistemática procedida em 2012, constatou que a US é fator de risco bem documentado para câncer. O tipo histológico mais encontrado foi de adenocarcinoma e a incidência variou de dois a 41%, o período de latência foi de dez a 30 anos, enquanto o risco de ocorrência de câncer foi de 80 a 7 mil vezes mais maior do que a população geral (MEHTA; ENNIS; WHITTEN, 2012).

Kable em 2013 teceu algumas considerações em relação à ureterossigmoidostomia: que a derivação urinária não fosse realizada em pacientes em que se esperasse uma sobrevida além de 15 anos; que ureterossigmoidostomia deveria ser realizada como uma solução temporária, e caso isso ocorresse, que esta não se prolongasse além de 20 anos (KÄLBLE, 2013).

Nestes 150 anos vários relatos foram encontrados na literatura. Em 2015 foram publicados mais dois casos (MAKINO *et al.*, 2015; LANE *et al.*, 2015).

1.2 Conduto Ileal

Em 1888, foi realizada a primeira cirurgia de neobexiga-ileal experimental em uma cobaia, por Tizzoni e Foggi *apud*(SMITH; HARDY, 1971).

Seiffert, em 1926, *apud*(TAPPER; FOLKMAN, 1976) descreveu a primeira cirurgia utilizando conduto ileal como derivação urinária em humanos.

Coube e Bricker, em 1950, ampliar e divulgar o uso dos segmentos ileais em disfunções vesicais (doenças neurogênicas, inflamatórias, congênicas ou traumáticas).

As alterações morfológicas na mucosa do íleo, quando exposto à urina, estão descritas na literatura. O epitélio do intestino delgado vive em constante renovação dependendo da idade e estado nutricional. Este epitélio glandular reage prontamente aos estímulos farmacológicos, físicos ou fisiológicos.

Tapper e Folkman (1976), desenvolvendo estudo translacional simultâneo, observaram derivação uroileal com anastomose cutânea em humanos e cães uma marcante hipoplasia linfocítica nas placas de Peyer, assim como perda dos linfócitos tipo MALT, nos condutos ileais preenchidos por urina. Havia entretanto linfadenomegalia mesentérica. Demonstrou-se, então, que o contato da mucosa ileal com a urina causa diminuição dos linfócitos, podendo assim explicar a recorrência de infecção nesses segmentos, levando à estenose de alças e perda progressiva da função renal.

Pacientes com derivação ureteroileal, após dez anos, com infecção urinária crônica, demonstraram atrofia de vilosidades, parcial ou total, focos de metaplasia do tipo colônica e pilórica, sem evidências de quaisquer lesões potencialmente pré-neoplásicas (DEANE; WOODHOUSE; PARKINSON, 1984).

Em estudo semelhante, realizado por Thomas *et al.*, foi observado o mesmo padrão de atrofia utilizando a histoquímica. Havia substituição da sulfomucina dos terços médio e inferior pela sialomucina, da mesma forma da vista no cólo. A citometria de fluxo identificou um histograma com pico de células em G2 e fase M, perfil característico de padrão hiperplásico. A microbiota era típica da flora cólica (THOMAS *et al.*, 1990).

Filmer e Spencer (1990) encontraram 12 casos de tumores em segmento ileal utilizado como ampliação vesical ou conduto isolado. Sete de nove pacientes haviam sido tratados de tuberculose de bexiga, um dos quais apresentava disreflexia espástica e outro cistite crônica por falha na correção de hipospádia. O tipo histológico mais encontrado foi o adenocarcinoma. Dois casos eram de carcinoma urotelial, um de sarcoma indiferenciado e outro de carcinoma de pequenas células. O período de latência variou de oito a 29 anos (média de 17,9 anos). O tumor se desenvolveu em área da junção íleo-vesical ou próximo a ela.

Em 2014 foram descritos casos de ileocistoplastias por condições benignas, como cistite intersticial e tuberculose vesical (KUMAGAI *et al.*, 2014; SUGISHITA *et al.*, 2014).

O que se observa são relatos isolados, com alguns trabalhos de revisões de séries de serviços em países na Europa, América e Ásia.

1.3 Conduto Cólico

Com vistas a diminuir a quantidade de complicações oriundas das primeiras derivações urinárias, Mogg (1965) utilizou a alça de colo para ureterocolostomia.

O primeiro caso de adenocarcinoma nesta derivação urinária foi descrito no início dos anos de 1980 (CHIANG *et al.*, 1982). O paciente tinha extrofia vesical e apresentara infecção urinária de repetição durante 26 anos de derivação.

Moorcraft *et al.* (1983) analisaram condutos cólicos de 15 pacientes seguidos de cinco a 15 anos. Naqueles submetidos à derivação há menos de cinco anos, foi observado aumento do número de eosinófilos, as células caliciformes diminuíram de tamanho, com aumento da relação núcleo/citoplasma. De cinco a 15 anos de derivação, havia aumento do

infiltrado inflamatório, constituído predominantemente por eosinófilos e plasmócitos, além do crescimento do índice mitótico, como visto nos quadros de retocolite ulcerativa, contudo não havia abscessos crípticos ou alterações displásicas.

Um relato de biopsias das áreas de anastomose colovesical, seguido de dosagem de N-nitrosamidas na urina e cultura bacteriana, revelaram que oito pacientes demonstraram inflamação crônica na área de derivação e três indicaram metaplasia escamosa. Oito pacientes tiveram bacteriúria, sendo que nos pacientes de metaplasia escamosa, o crescimento bacteriano foi misto. À coloração pelo HID-AB (*High Iron Diamine Alcian Blue*), as áreas de anastomose apontaram padrão semelhante à mucosa de “transição” descrita por Filipe (1972). (FILIPE, 1972 *apud* NURSE; MUNDY, 1989).

Existem vários relatos de tumores em ampliação vesical com segmentos de colo, ceco e sigmoide, todos em pacientes com doença benigna prévia (tuberculose, cistite crônica e extrofia vesical). Os tipos histológicos encontrados foram: adenocarcinoma (sete), carcinoma uroteliais (dois), adenoma viloso (um) e pólipo sem classificação (STEG *et al.*, 1985; IBARGUREN *et al.*, 1989; HARZMANN; WECKERMANN; AUGSBURG, 1989; GOLOMB *et al.*, 1989; KADOW *et al.*, 1989; PHILLIPS *et al.*, 1991; GEPI - ATTEE *et al.*, 1992; GREGOIRE; KANTOFF; DeWOLF, 1993).

Recentemente, revisão sistemática de 57 artigos, com nível de evidência fraco, concluiu que a probabilidade do desenvolvimento de câncer após as cistoplastias com segmentos gastrointestinais variaram de 0 – 5,5% e a incidência foi de 0 a 272.3 casos/100.000 pacientes ao ano. O adenocarcinoma foi o tipo histológico mais encontrado (51,6%). As lesões malignas ocorreram predominantemente nas anastomoses vesicointestinais(50%) (BIARDEAU *et al.*, 2015).

1.4Gastrocistoplastia

Em 1988, segmentos gástricos foram popularizados como para ampliação vesical em pacientes com acidose metabólica e falência renal (CASTELLAN *et al.*, 2007).

A escolha do estômago para ampliação vesical tem como motivo a absorção de seu epitélio.

Como se sabe, a urina está repleta de substâncias tóxicas que necessitam ser eliminadas. No paciente com insuficiência renal, alças intestinais em derivações urinárias

absorverão estas escórias que irão para a corrente sanguínea, sem possibilidade de serem eliminadas, levando o paciente a retenção nitrogenada e morte.

A primeira descrição de carcinoma em gastrocistoplastia ocorreu em 2003. O paciente tinha 73 anos, submetido a cirurgia há 14 anos, em razão de bexiga neurogênica por espinha bífida. Era um carcinoma de células transicionais, localizado perto da área anastomose, envolvendo ambos os epitélios-gástrico e vesical (QIU; KORDUNSKAYA; YANTISS, 2003).

Quatro outros casos de gastrocistoplastia foram descritos em 2007, três pacientes com espinha bífida e outro com seqüela de trato urinário por válvula de uretra posterior. Tinham 6,13,18 e 22 anos de idade, no momento da cirurgia e desenvolveram neoplasia 11,12, 14 e 14 anos, respectivamente, após a cirurgia. Os quatro tumores estavam na área de anastomose. O tipo histológico predominante foi adenocarcinoma gástrico (um anel de sinete, um carcinoma gástrico moderadamente diferenciado, outro indiferenciado) e um carcinoma de células transicionais indiferenciado (CASTELLAN *et al.*, 2007). Àquela altura, Castellan *et al.* (2007), lembraram que havia na literatura mais três outros casos, o anteriormente citado, os outros de adenocarcinoma.

Na revisão de literatura, foram encontrados dois trabalhos experimentais em ratos submetidos a gastrocistoplastia, um deles com 30 ratos *Sprague dawley*, em uma média de 11,6 meses de *follow up*, com descrição de hiperplasia papilar em 58% dos ratos operados nas áreas de anastomoses (BUSON *et al.*, 1993).

Em outro trabalho com gastrocistoplastia em ratas *Long-Evans*, com média de seguimento de 24,9 meses, foram vistas lesões proliferativas benignas, embora avaliações de ciclo celular e citometria de fluxo destas alterações histológicas fossem muito importantes e típicas de lesões pré-neoplásicas para outros epitélios (CLOSE *et al.*, 2003).

Husmann (2009), identificou 20 casos de câncer de bexiga em anastomose vesicogastrintestinal, dentre os quais, nove em ileocistoplastias, três em colocistoplastias e oito em gastrocistoplastias. A incidência de câncer por década de seguimento pós-cirúrgico foi de 1,5% no íleo/colocistoplastias e de 2,8% nas anastomoses da bexiga com o estômago. A maioria dos casos ocorrem nos pacientes expostos a um estímulo carcinogênico conhecido e/ou em bexigas com predisposição identificada para carcinoma (HUSMANN, 2009).

O primeiro caso de adenocarcinoma em ampliação vesical com estômago, provindo na porção gástrica próximo à sutura da anastomose, foi em uma paciente de 64 anos de idade, com história de espinha bífida e bexiga neurogênica, dez anos após a derivação

urinária. O tipo histológico era de adenocarcinoma, de moderado a pouco diferenciado (BALACHANDRA *et al.*, 2007).

Kispal *et al.* (2015) estudaram as alterações histológicas em várias derivações urinárias, bem como expressão dos genes MUC1 e MUC2 para mucinas, em crianças e adolescentes de 1988 a 2013, submetidas a gastrocistoplastia, ileocistoplastia e colocistoplastia. Nesse estudo, em uma criança de 11 anos submetida a colocistoplastia, eles identificaram um adenocarcinoma no segmento intestinal cuja expressão de MUC 1 estava aumentada e da MUC2 estava diminuída, estando estas associadas a lesões displásicas. Estas alterações foram sugeridas como promissores marcadores para detecção precoce de neoplasias em colocistoplastias.

1.5 Teoria da Carcinogênese em Derivações Urinárias e Cistoplastias com Segmentos Gastrointestinais

Existem várias hipóteses para o surgimento de neoplasias em cistoplastias e derivações urinárias utilizando segmentos gastrintestinais, entretanto, ainda permanece obscura a fisiopatologia desta morbidade.

Até os anos de 1970, algumas teorias foram postuladas tentando explicar a carcinogênese em ureterossigmoidostomias. Algumas estavam centradas na ação irritativa uro-fecal, outras sugeriam a ação dos carcinógenos urinários (principalmente nitrosaminas produzidas pelas bactérias), ou, ainda, aquelas que argumentavam os efeitos do trauma mecânico das fezes no sítio da anastomose.

Como relatado, o primeiro caso de carcinogênese em ureterossigmoidostomia foi descrito em 1929, entretanto, somente após o conhecimento do primeiro caso de neoplasia em uma derivação ureteroileal, iniciaram-se os estudos em investigações da oncogênese nas derivações urinárias, já que as fezes não poderiam ser o fator causal (SHOUSA; SCOTT; POLAK, 1978).

O trabalho experimental realizado por Crissey; Steele e Gittis (1980) se tornou modelo clássico para esse estudo. Eles utilizaram modelos experimentais – ratos, que foram submetidos à vesicossigmoidostomia, associado ao uso de carcinógenos de colo e bexiga (dimetilhidrazina e FANFT). Em 80% dos animais foram evidenciadas alterações neoplásicas no epitélio colônico, próximo à área de anastomose. No local onde foi realizada colostomia proximal contudo, associada à vesicossigmoidostomia, não se verificaram

alterações epiteliais neoplásicas. Crissey, Steele e Gittis (1980) sugeriram que enzimas hidrolíticas da urina poderiam ativar carcinógenos conjugados nas fezes e estes então agiriam em conjunto com as bactérias entéricas e os nitratos urinários, formando compostos N-nitrosos.

Nos anos de 1970 com suporte em casos clínicos de bacteriúria, foi isolado o *Proteus mirabilis* em meio de cultura e verificou-se por cromatografia, que ele produzira carcinógenos potentes, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, mas o mesmo não acontecia com *Escherichia coli* (BROOKS *et al.*, 1972).

Em 1986, foi sugerido por alguns pesquisadores que a colostomia prevenia o aparecimento de tumores na área de sutura da anastomose (GITTES, 1986).

A hipótese bacteriana também foi investigada por Hill; Hudson e Stewart, (1983) que, após analisarem amostras de urina de 56 pacientes, em três formas de derivação urinária: ureterossigmoidostomia, alça ileal e condutos cólicos, constataram que os pacientes com ureterosigmoidostomia possuíam uma flora bacteriana mista. Em 11 dos 15 pacientes portadores de condutos ileais (73%) houve um crescimento significativo de flora bacteriana mista; nos casos de uso de alça cólica, apenas seis dos 16 casos mostraram urina infectada e todos com infecção monobacteriana. Após esse estudo, os autores concluíram que o risco de malignidade com o uso de conduto cólico era mínimo, pois se sabia que os compostos N-nitrosos são geralmente formados havendo infecção urinária com flora mista, sendo, portanto, o risco do uso do conduto ileal intermediário daquele com a ureterossigmoidostomia.

É clássico o conhecimento das alças ileais, as bactérias se ligam ao muco e este protege a mucosa. Nas derivações com conduto ileal, há uma atrofia mucosa e conseqüente diminuição do muco. Além disso, Tapper e Folkman, (1976) relataram a existência na depleção dos agregados linfóides na submucosa ileal, favorecendo a proliferação dos microorganismos e invasão da parede do íleo. Por causa dessas alterações da mucosa e submucosa, os níveis de imunoglobulina A (IgA) secretória, importante para inibição da proliferação bacteriana, diminuíram nas derivações com alça ileal, em comparação àquelas por conduto cólico, mostrando, nesta, níveis mais elevados de IgA (WILLIAMS *et al.*, *apud*, HOHENFELLNER; WAMMAACK, 1992).

Após dez anos de cirurgia, Thomas *et al.* (1990) verificaram, em 17 casos de conduto ileal, que a maioria dos reservatórios urinários, continha bactérias da flora cólica.

Macrófagos foram citados como produtores de nitrosaminas *in vitro* (MIWA *et al.*, 1987). Após a administração intraperitoneal de um ativador de macrófagos em ratos das espécies *Sprague – dowley*, *Wistar e Lewis*, evidenciou-se uma elevação na excreção de nitratos nos ratos Wistar e Sprague. Nos animais da raça Lewis, entretanto, não houve aumento significativo (DULL; GITTES; GOLDMAN, 1988). Isso revelou que ratos Lewis, com derivação urinária, não desenvolvem neoplasias em colo (GITTES, 1986).

Evidências científicas contraditórias à teoria das nitrosaminas foram observadas, principalmente com o uso do ácido ascórbico. Sabe-se que este bloqueia a formação desses compostos (MIRVISH, 1986), porém, o ácido ascórbico não diminuiu a incidência de nitrosaminas em ratos com ureterossigmoidostomia (STRIBLING *et al.*, 1989). Esse trabalho mostrou redução significativa ($p < 0,0001$) nos níveis dos carcinógenos urinários nos ratos em que foi administrado o ácido ascórbico, mas não nos tumores provindos das áreas de anastomoses.

Estudo em ratos utilizando modelo de suturas na parede vesical, com fios de seda e *catgut*, associado à administração de carcinógeno de bexiga, mostrou maior resposta inflamatória na área de sutura com fio inabsorvível e conseqüente indução de tumores, relativamente à reação ao fio absorvível. É provável que a irritação inflamatória crônica no sítio da anastomose favoreça uma proliferação celular, sendo então mais sensíveis às ações dos carcinógenos e conseqüente aceleração no desenvolvimento de neoplasmas (CHESTER *et al.*, 1987; POZHARISSKI, 1975; SLAGA *et al.*, 1981).

Análises histológicas de alças ileais e cólicas em pacientes com derivação urinária, evidenciaram processo inflamatório pronunciado nas áreas de estoma e anastomoses ureterais, sugerindo o fator de risco na oncogênese das derivações (MOORCRAFT *et al.*, 1983).

Outra hipótese para surgimento dos carcinomas terem sua origem no epitélio transicional do ureter foi levantada em virtude do aparecimento de quatro pólipos em pacientes com ureterossigmoidostomia histologicamente benignos. Postula-se que o epitélio urotelial, desde o processo inflamatório persistente levaria a uma seqüência de eventos: metaplasia glandular e hiperplasia polipoide (CHIARELLI; SANDEI, 1984).

Radicais livres liberados por leucócitos nas áreas de sutura, com a transformação celular, também foram implicados na carcinogênese (WEITZMAN *et al.*, 1985). As células inflamatórias também seriam capazes de produzir fatores de crescimento epitelial (SPORN; ROBERTS, 1986).

Outro trabalho experimental com ratos submetidos à vesicosigmoidostomias evidenciou não haver diferenças na formação de nitrosaminas, quando comparados aos ratos-controle. Em outro grupo de vesicosigmoidostomia, foi administrado um antídoto para nitrosamina, mas mesmo assim, foram observados tumores na área de anastomose. Essa observação sugeriu outras explicações que não a formação de aminas para o desenvolvimento de câncer (KALBLE *et al.*, 1991).

A ornitina descarboxilase encontra-se elevada nos tumores colorretais, por ser responsável pela catálise na produção de poliaminas essenciais para o crescimento celular (LUK; BAYLIN, 1984). Em virtude desse fato, a inibição da biossíntese de poliaminas, por via da inibição da ornitina por anti-inflamatórios (aspirina e piroxican) foi relatada como capaz de reduzir risco de câncer de colo (ROSENBERG *et al.*, *apud* GRENWALD; CLIFFORD, 1993). Weber *et al.*, (1988) relatam níveis elevados de ornitina em ratos na área de anastomose sigmoidovesical.

Por anos, questionava-se a associação de extrofia vesical com o aumento da incidência de câncer nas derivações urinárias. Husmann e Spence (1990) verificaram a existência de adenocarcinoma na região da anastomose de ureterossigmoidostomia em 94 pacientes, dos quais 70% tinham extrofia vesical. Parece que o risco de câncer vesical aumenta na bexiga que tem urina cronicamente infectada ou se há litíase vesical (HUSMANN; SPENCE, 1990).

Em relação ao aparecimento de neoplasias em área de coto ureteral deixadas no sigmoide, anos após a reconstrução de outra derivação urinária, Sohn *et al.* aventam como sendo causado pela prolongada exposição aos promotores de carcinogênese existentes na urina e ou nas fezes (SOHN *et al.*, 1990).

Estatisticamente, observou-se a importância da sequência adenoma/adenocarcinoma, os quais teriam distribuições semelhantes no cólon e no reto, aumento do risco de tumor metacrônico nos casos de adenomas (HERMANEK, 1987). Tumores sincrônicos ocorrem mais quando associados aos adenomas (FEARON; VOLGELSTEIN, 1990).

Um modelo para a progressão dos carcinomas intestinais e sua gênese foi elaborado em 1990. As alterações foram observadas em neoplasias cólicas e havia perda precoce de grupos metil no DNA de adenomas (GOELZ *et al.*, *apud* FEARON; VOLGELSTEIN, 1990). Estas alterações levariam à instabilidade do genoma das células, o que resultaria em perda ou ganho cromossomal. Essas mudanças ocorreriam principalmente

em genes supressores tumorais localizados nos cromossomos 5q, 17p e 18q (FEARON; VOLGELSTEIN, 1990).

Carcinomas uroteliais de alto grau (graus III e IV) foram observados em cerca de 63% dos casos e estavam associados à perda de alelos no cromossoma 17p. Já Puisieux *et al.* (1991) observaram mutações no cromossoma 17, usando compostos nitrosos (OLUMI *et al.*, 1990).

Tais considerações decorrem do fato de que, em 1993, pesquisadores tentaram explicar a ocorrência de adenocarcinoma e carcinoma urotelial ocorridos sincronicamente em um paciente com ampliação vesical por alça cecal, tendo como base o modelo genético de Fearon e Vogelstein para câncer de colo, nas deleções cromossomiais de carcinoma vesical, além das mutações genéticas pelos compostos N-nitrosos. Esses compostos poderiam ter efeito igual e simultâneo em ambos os epitélios (urotelial e colônico), o que levaria à carcinogênese (GREGOIRE; KANTOFF; DeWOLF *et al.*, 1993).

A importância da associação de N-nitrosaminas com o câncer gástrico já havia sido discutida em Hill (1980). Assim, mais uma vez, as nitrosaminas foram sugeridas como fator de risco para carcinogênese em pacientes submetidos à gastrocistoplastia (NURSE *et al.*, 1989), embora se saiba, que, neste caso, a urina, por ter um pH mais ácido, diminui a incidência de bacteriúria (FERNANDES; GONZALES, 1994).

A hibridização genômica comparativa foi utilizada para identificar as alterações genéticas em bexigas de pacientes submetidos a ampliações vesicais gastrintestinais, pacientes estes sob vigilância endoscópica, para estabelecer se ocorriam, nestas, mudanças similares às amostras de tumores de arquivos. O urotélio adjacente à bexiga e / ou a anastomose do intestino nestes pacientes exibiram maior grau de instabilidade genética do que a mucosa distante da anastomose. Todas as anormalidades genéticas observadas no DNA de pacientes com cistoplastia sugerem que a ativação de oncogênese pode estar envolvida na gênese tumoral. Além disso, foram identificadas muitas alterações genéticas nos epitélios de cistoplastias, semelhantes às aquelas encontradas em tumores do trato gastrintestinal e mesmo tumores vesicais, sugerindo que possam compartilhar vias comuns de carcinogênese (APANNA *et al.*, 2007).

O risco de malignidade em pacientes submetidos à enterocistoplastias, em trabalho publicado em 2008, foi associado ao uso prolongado do cigarro, estado de imunossupressão crônica ou ao risco pré-existente e conhecido associado à extrofia vesical (HUSMANN; RATHBUN, 2008). Nessa publicação, foram analisados 153 pacientes, sendo 97 com bexiga

neurogênica, 38 com extrofia vesical e 18 com valva de uretra posterior. Em um intervalo médio de seguimento de 27 anos (dez-53anos), foram observados sete casos de tumores malignos. O tempo médio do desenvolvimento tumoral foi de 32 anos (22-52anos). Dois pacientes eram portadores de bexiga neurogênica e desenvolveram carcinoma urotelial; ambos eram fumantes pesados. Dois pacientes tinham história de valva de uretra posterior com transplante renal (eram imunossuprimidos) e desenvolveram adenocarcinoma no sítio do segmento entérico. Três pacientes nasceram com extrofia vesical e desenvolveram adenocarcinoma multifocal no segmento vesical. Estes resultados mostram que o surgimento de câncer nas derivações enterovesicais, em 4,5% dos casos, estão associados a fatores conhecidos de carcinogênese (HUSMANN; RATHBUN, 2008).

O risco de desenvolvimento de câncer vesical na infância, associado às anastomoses gastrintestinais, em pacientes portadores de malformações congênitas neurológicas (espinha bífida, disrafismo espinhal, mielodisplasia, defeitos do tubo neural), valvas de uretra posterior e extrofia vesical, foi alertado por Husmann (2009). Os pacientes com derivações ileal ou colônicas associadas às anomalias congênitas da bexiga apresentaram um risco de 7-8 vezes de desenvolver câncer. Enquanto, isso, as derivações gastrovesicais, apontaram um risco de 14-15 maior (HUSMANN, 2009), ou seja, nesta série, a gastrocistoplastia parece oferecer claramente maior risco para desenvolvimento de câncer.

O microambiente hiperosmolar levando a lesão do DNA da célula foi aventado por Dixon *et al.*, (2009) como fator de risco para carcinogênese em pacientes submetidos a ampliação vesical. Pacientes submetidos a esta cirurgia são capazes de impedir a sinalização do reparo do DNA, contudo, esses efeitos são mais pronunciados nos epitélios gástricos e cólicos. Os epitélios uroteliais conseguem gradualmente se adaptar a estados de osmolaridade de 600mOsm/kg, como também cloreto de sódio ou ureia. Epitélios gastrintestinais não se adaptam facilmente e podem ter a cascata de sinalização do reparo de DNA inibida se tornando vulnerável às ações dos carcinógenos. Em contraste, a célula vesical tem a habilidade de responder à lesão do DNA em condições hiperosmolares, devido em parte por um mecanismo de acúmulo intracelular de osmólitos orgânicos e pela uroplaquina. Então, uma redução ou ausência desses fatores de proteção, favoreceriam o aumento do risco de câncer em ampliações vesicais (DIXON *et al.*, 2009).

Estudo de 153 pacientes submetidos a ampliação vesical com alças de colo ou ileorevelou que a imunossupressão é um fator de risco independente para doença maligna, entretanto pacientes com cistoplastias por anomalia congenita não possuem o risco de

neoplasia maligna da bexiga acima do perigo inerente de cancer, associado à anomalia congênita subjacente, já de longa data conhecido nesta população (HIGUCHI *et al.*, 2010).

Em 2015, Biardeau *et al.* realizaram revisão sistemática, para avaliar a evidência do risco de malignidade em ampliações vesicais. O período de latência foi de 19 anos e a maioria das lesões foi diagnosticada mais de dez anos depois da cirurgia (90%) e em estádios avançados. Concluíram que, já que realmente há uma associação entre derivações urinárias e malignidade, deve-se considerar um protocolo de *follow-up* mais eficiente, como fim de alcançar diagnósticos mais precoces dessas lesões (BIARDEAU *et al.*, 2015).

1.6 L- Lisina

A L lisina é um aminoácido essencial, ou seja, não é produzido sendo preciso ingeri-la para que possa produzir seus efeitos.

Esse aminoácido é de suma importância para diversas atividades biológicas, como proliferação e reparação tecidual, produção de anticorpos, hormônios e enzimas. No ser humano, é absorvida pelos enterócitos do intestino delgado, por transporte ativo, indo ao fígado através do sistema porta. Lá chegando se junta a outros aminoácidos para síntese de proteínas (L- LYSIN, 2007).

Na produção de energia, a L lisina é transformada em Acetil-Co-A que é um componente do metabolismo dos hidratos de carbono.

Ratos que receberam L lisina (40 semanas) em uso concomitante de carcinógeno de bexiga (14 semanas) tiveram seus tumores mais invasivos e com maior multiplicidade do que aqueles que receberam apenas carcinógeno. Os animais que receberam apenas L lisina não desenvolveram tumores. Desta forma, a L lisina naquela dose e naquele tempo de administração, se consagrou como promotora, mas não iniciadora da carcinogênese de bexiga (DORNELAS *et al.*, 2012a). Ainda no mesmo experimento, os autores investigaram a densidade microvascular e concluíram que ocorreu estímulo de angiogênese em ratos que receberam carcinógeno de bexiga e L lisina (DORNELAS *et al.*, 2012b). Ensaio com a técnica do cometa (para pesquisa do índice de dano em linfócito em sangue de aorta) e quantificação do micronúcleo em esfregaço de aspirado de medula óssea de fêmur, também foram realizados nestes mesmos animais. Os dados mostraram que a L lisina protegeu e ou reverteu genotoxicidade causada pelo carcinógeno. A L lisina oferecida por 40 semanas em animais sem ingestão de carcinógeno não causou toxicidade para aquelas células (DORNELAS

et al., 2014). Os autores concluíram que aL lisina não é genotóxica, nem para o epitélio vesical, tampouco células da medula óssea, entretanto, uma vez iniciado o processo de carcinogênese de bexiga ela é promotora de carcinogênese em bexigas de ratos (DORNELAS *et al.*, 2014).

1.7 Celecoxibe

A cicloxigenase-2 (COX-2) é uma enzima induzida no processo inflamatório que age sobre o ácido araquidônico, no que resulta a síntese de um mediador químico chamado prostaglandina.

A ideia para o uso universal de inibidores da COX2 decorre de importantes publicações no passado. O primeiro caso de regressão de polipos intestinais em pacientes com polipose intestinal e uso de anti-inflamatório não esteroide data de 1983 (WADDELL; LOUGHRY; 1983). Com o desenvolvimento da tecnologia e da pesquisa em animais modificados geneticamente, observou-se que ratos *knockout* para COX apresentavam redução de tumores, quando submetidos a carcinogênese química de colo (OSHIMA *et al.*, 1996). Inúmeros trabalhos experimentais foram publicados até então. Em 2001, uma publicação chamou a atenção dos pesquisadores: a superexpressão de COX, por si só, age como carcinógeno (LIU *et al.*, 2001). Multiplicaram-se, então, ensaios clínicos em condições patológicas reconhecidas como de alto risco para câncer, tais como: os de polipose adenomatosa familiar, doenças inflamatórias intestinais, entre outras (LANG; GASCHÉ, 2015). Muitos tumores malignos primários ou metastáticos, expressam COX-2, o que confere maior potencial de angiogênese, invasibilidade, inibição de apoptose e imunossupressão. Portanto, a expressão de COX-2 está associada a um pior prognóstico. A inibição da síntese de prostaglandinas pode ser benéfica e o consumo regular de AINE'S (anti-inflamatórios não esteroidais) pode diminuir a incidência e a mortalidade observadas em uma série de cânceres do trato gastrointestinal (BRANKE, 2002).

Foi visto que lesões ditas pré-cancerígenas cólicas regredem após a administração de inibidores da COX, inclusive em pacientes portadores de PAF (polipose adenomatosa familiar), que, como se sabe, estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento de adenocarcinoma cólico. Estudos pré-clínicos mostram que essas drogas bloqueiam a angiogênese tumoral, promovem supressão de metástases, principalmente quando essas

drogas estão associadas a quimioterapia neoadjuvante em estudos experimentais (BRANKE, 2002).

A COX2 é importante para invasão e metástase do câncer de bexiga. Foram observados altos níveis de COX2 em carcinoma de células transicionais invasivo em homens e também em carcinomas de bexiga de ratos e cães. A COX 2 estimula a produção de fatores de crescimento, óxido nítrico sintetase, interleucina e prostaglandinas, que têm efeitos na proliferação e migração da célula endotelial *in vitro*. A COX2 é expressada pelo endotélio, estando intimamente relacionada com a densidade microvascular, pela sua relação direta com os fatores de crescimento há pouco mencionados. O celecoxibe é um inibidor seletivo da COX 2 e inibe fatores de crescimento, diminuindo a incidência de tumores de bexigas em ratos. (GRUBBS *et al.*, 2000; MAZHAR; GILMORE; WAXMAN, 2005; KLEIN *et al.*, 2005).

A COX2 pode suprimir ação de células dendríticas, natural killer, células T, do tipo-1, trabalhando para o déficit da imunidade do hospedeiro, contribuindo ainda mais para a evasão das células tumorais. Parece que os anti-inflamatórios inibidores de COX2 têm relevante papel na regulação da evasão imune do tumor. Os mecanismos de inibidores COX-2 para regular a evasão imune tumor ainda requerem mais pesquisas (LIU; QU; YAN, 2015).

Diversos autores citam o efeito inibidor em FCA (RAO *et al.*, 2009; DO e BARNARD, 2005). A inibição e redução de COX2, NF κ B e Interleucinas em ratos, a proteção de células da medula óssea em submetidos a carcinogênese química para variados órgãos foram observadas por diversos autores, com publicação já disponível em 2016 (DORNELAS *et al.*, 2014; NEGI, *et al.*, 2016).

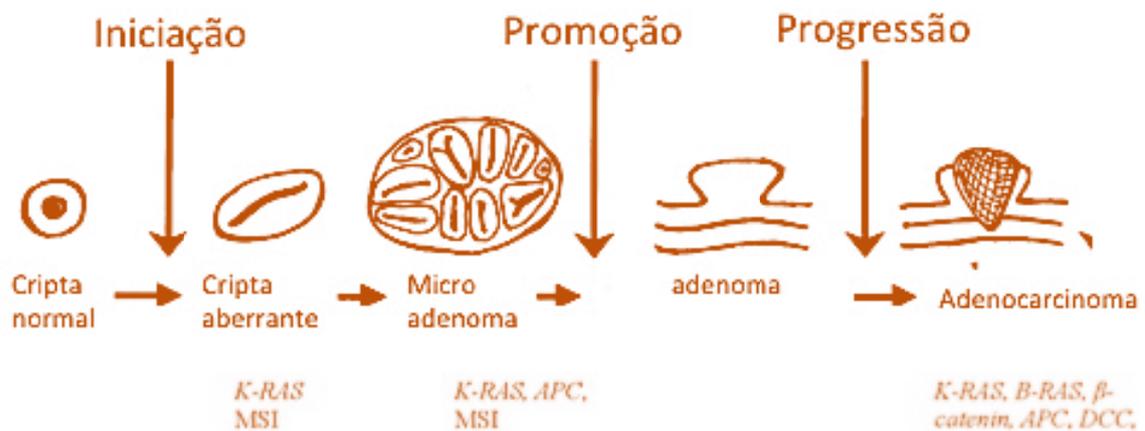
Tratamento clínico com o celecoxibe foi realizado em pacientes, para prevenção de recorrência de tumores superficiais de bexiga (PAGLIARELLO *et al.*, 2015), polipose adenomatosa familiar, doenças inflamatórias intestinais, entre outras (LANG; GASCHÉ, 2015).

1.8 Focos de Criptas Aberrantes

As criptas aberrantes se caracterizam por glândulas (criptas) de formato irregular, com abertura luminal alargada e hiperplasia celular. O foco de criptas aberrantes (FCA) é um agrupamento de criptas aberrantes. Ele pode ter uma ou mais criptas; são considerados como lesões potencialmente cancerígenas. As criptas aberrantes podem

demonstrar alterações de citomaturação e citoarquitetura, denominadas como displasias. Sabe-se que, quando se está diante dessas aberrações, há um potencial elevado de chance dessa área vir a se tornar um câncer (Figura 2). O foco de criptas aberrantes (FCA) é um agrupamento de criptas aberrantes.

Figura 2 -Mudanças fenotípicas de criptas aberrantes (com alterações dos genes) na carcinogênese do colo



Fonte: Adaptado de <http://corpet.free.fr/acfprogd.gif>. Acesso em: 15 jan, 2016

Os FCA foram visualizados, inicialmente, por Bird (1987) em cólons de roedores expostos a carcinógenos. Foi observado que em FCA ocorre mutação gênica, semelhante àquelas vistas na evolução adenoma/carcinoma. Sabe-se que a maioria das lesões malignas encontradas no intestino grosso, a mais frequente o adenocarcinoma, é oriunda de adenomas. Essa transformação (polipo/carcinoma), geralmente, está relacionada com a ativação de oncogenes e inativação de genes ditos supressores tumorais, respectivamente: *APC/K-RAS/DCC/P53* (FEARON; VOGELSTEIN, 1990).

Ogata *et al.* (2010) observaram a existência de FCA na periferia de adenocarcinoma colorretal (cerca de 1cm de distância), em mucosa macroscopicamente normal. Essas áreas não indicam, contudo expressão de beta-catenina (molécula de adesão intercelular) ou do índice de proliferação celular (Ki67), ao contrário do observado nas áreas de carcinoma, caracterizando, apenas, os FCA, como áreas iniciais susceptíveis ao desenvolvimento de câncer.

Atualmente, os FCA podem ser diagnosticados por colonoscopia ampliada, por coloração de azul de metileno e cromoendoscopia, permitindo serem utilizados como marcadores preventivos biológicos de carcinogênese e, conseqüentemente, servem para identificar os pacientes de risco para tratamento preventivo de câncer colorretal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da *L* lisina na carcinogênese nos epitélios intestinal e urotelial em ratas submetidas a ureterossigmoidostomias e cistoplastias com segmento de colo.

2.2 Objetivos específicos

Demonstrar os efeitos da *L* lisina na carcinogênese do epitélio intestinal de ampliação vesical com alça de colo.

Apontar os efeitos da *L* lisina na carcinogênese do epitélio vesical de ampliação vesical com alça de colo.

Determinar os efeitos da *L* lisina na carcinogênese do epitélio intestinal de ureterossigmoidostomia.

Indicar os efeitos da *L* lisina na carcinogênese do epitélio ureteral de ureterossigmoidostomia.

Investigar a relação de criptas aberrantes e carcinogênese cólica em ureterossigmoidostomias.

3 MÉTODOS

O projeto foi levado a Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará (Anexo A), sob o Protocolo 80/2011, estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

3.1 Os Animais

Recorreu-se ao total de 66 ratas albinas, da linhagem Wistar, com nove semanas de idade, pesando em média 190 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará.

Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno, com dimensões de 41 x 34 x 16 cm, em número de cinco a seis animais por gaiola, forradas com maravalha branca de pinho, autoclavada. Durante o experimento, os animais permaneceram no Biotério do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFC, recebendo ração basal peletizada marca Luvital e água *ad libitum*. Os animais foram mantidos em temperatura em torno de 25 graus, ciclo de luz de 12 horas claro/escuro, com sistema contínuo de exaustão.

3.2 Condições de Manutenção dos Animais

As gaiolas foram mantidas com troca de maravalha e limpeza a cada três dias. Os animais foram vermifugados com Petzi plus suspensão e Imovec injetável antes da cirurgia.

3.3 Fármacos Utilizados

3.3.1 Celecoxibe

Celebra 200 mg do laboratório Pfizer.

Administrado nas doses de 20 mg/kg peso, via gavagem.

Grupos	N	Semana DPO	1ª S	2ª S	3ª S	4ª S	30ª s
		Procedimento					
GI	08	Cirurgia/AMP	Li				
GII	08	Cirurgia/AMP	Cel				
GIII	08	Cirurgia/AMP	H2O				
GIV	08	Cirurgia/URE	Li				
GV	08	Cirurgia/URE	Cel				
GVI	08	Cirurgia/URE	H2O				
GVII	06	Lis					
GVIII	06	Cel					
GIX	06	H2O					

3.3.2 L - lisina

Aminoácido com origem e procedência da China, exibindo Certificado de Análise de Controle de Qualidade da FAGRON do Brasil Farmacêuticas Ltda., Fórmula: C₆ H₁₄ N₂ O₂HCL PM 182,65 CAS- 657-27-2. Preparada em solução de H₂O destilada em um volume de 1ml, administrada nas doses de 150 mg/kg/peso dia.

3.4 Delineamento do experimento

O delineamento encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Delineamento do Experimento

N- Número de ratos
DPO - Dia de Pós Operatório
S – Semana
G - Grupo
AMP - Ampliação vesical
Li- Lisina – 150 mg/kg
Cel- Celecoxibe 20 mg/kg

URE – Ureterosigmoidostomia

3.5 Procedimentos Cirúrgicos

O procedimento cirúrgico foi realizado sob anestesia intraperitoneal com quetamina e xilazina nas doses de 100 mg/kg peso e 10 mg/kg peso, respectivamente, e por meio de microscópio estereoscópico. Foram utilizados fios cirúrgicos *vicryl 70* agulhado para anastomoses vesical uretral e intestinal, e fios 30 de *mononylon* agulhado (agulha cortante) para parede abdominal.

Foram utilizadas 66 ratas com nove semanas de idade, assim distribuídas:

Grupo I - os animais foram submetidos a ampliação de bexiga com segmento de colo distal (DORNELAS, 1994) como descrito a seguir: realizada abertura da cavidade abdominal por planos, acesso à cavidade pélvica com ressecção de segmento de alça de colo com 1 cm de comprometimento, mantendo a sua vascularização pelo ramo de mesentérica inferior. Anastomose termino-terminal de colo ao reto, por chuleio simples, interrompido a cada dois pontos. Abertura de cúpula vesical com anastomose desta ao segmento de colo para ampliação vesical, com chuleio simples contínuo, por fim, fechamento de segmento de colo em plano único, com chuleio simples contínuo. Fechamento por planos da parede abdominal (Figuras 3a,3b,3c,3d,3e,3f). Após a 1ª semana de pós-operatório (PO), receberam *L* lisina por gavagem na dose de 150 mg/kg peso dia por 30 semanas.

Grupo II – Os animais foram submetidos à ampliação de bexiga com segmento de colo distal (DORNELAS, 1994). Após a 1ª semana de pós-operatório, receberiam celecoxibe por 30 semanas na dose de 20 mg/kg peso dia por 30 semanas.

Grupo III – Os animais foram submetidos a ampliação de bexiga com segmento de reto (DORNELAS, 1994). Após a 1ª semana de pós-operatório receberam água destilada por gavagem na dose de 1 ml dia por 30 semanas.

Grupo IV – As ratas foram submetidas a uma nova técnica cirúrgica de ureterossigmoidostomia (DORNELAS *et al.*, 2014), apresentada no XIV Congresso Internacional de Cirurgia Experimental. A cirurgia foi realizada sob microscópio estereoscópico, utilizando apenas um dos ureteres (ureter esquerdo), com dissecção e ligadura distal justa vesical e secção. O ureter com um fio 70 (agulhado) com reparo foi trespassado através de orifício no meso de corno uterino esquerdo, visando à aproximação do colo distal. Procedeu-se, a seguir, à realização de um túnel em parede de colón distal, utilizando agulha hipodérmica, transfixando-o para a luz intestinal após o trajeto de 6mm. A orientação do

ureter através do túnel foi realizada com fio vicryl 70, agulhado, transfixando a extremidade do ureter. Após tunelizar o ureter, este foi fixado com um ponto na parede do colo após sepultamento do ureter na luz intestinal (Figuras 4a, 4b, 4c e 4d). Após a 1ª semana de pós-operatório, receberam *L* lisina por gavagem na dose de 150 mg/kg peso dia por 30 semanas.

Grupo V - As ratas foram submetidas a uma nova técnica cirúrgica de ureterossigmoidostomia descrita acima. Após a 1ª semana de pós-operatório, receberam celecoxibe por 30 semanas na dose de 20 mg/kg peso dia por 30 semanas.

Grupo VI - As ratas foram submetidas a uma nova técnica cirúrgica de ureterosigmoidostomia descrita. Após a 1ª semana de pós-operatório receberam água destilada por gavagem na dose de 1 ml dia por 30 semanas.

Grupo VII - Os animais receberam *L* lisina por gavagem na dose de 150 mg/kg peso dia por 30 semanas.

Grupo VIII - Os animais receberam celecoxibe por 30 semanas na dose de 20 mg/kg peso dia por 30 semanas.

Grupo IX - Os animais receberam água destilada por gavagem na dose de 1 ml dia por 30 semanas.

Os animais foram submetidos a pré e pós-operatório rigorosos. Dieta zero nas 12 horas noturnas, véspera do procedimento, e apenas água à vontade nas 24 horas de pós-operatório. Foram administrados óleo mineral via gavagem 1ml com dois dias prévios à cirurgia e mantidos quatro dias de pós-operatório (DPO). Também foi administrada uma dose de penicilina benzatina 50 000 UI por kg/peso intramuscular no pré-operatório, e, nos pós-operatório foram administrados ceftriaxona intramuscular 100 mg/kg peso e cetoprofeno intramuscular na dose de 5mg/kg peso uma dose nas 24 horas intramuscular nos quatro dias de DPO.

Os animais foram vermifugados (Ivermectina -Ivomec®) duas vezes, com intervalos de duas semanas no pré-operatório. As caixas foram diariamente pulverizadas com vermífugocitado e nova estratégia de pré e no pós-operatório foi estabelecida, com uso de antibióticos, anti-inflamatórios no pré e no pós-operatório, como descritos anteriormente.

Figura 3a - Arcada do colo irrigado ramo da artéria mesentérica inferior (seta)



Figura 3b -Segmento de colo com vaso **Figura 3c** - Reconstituição do trânsito intestinal

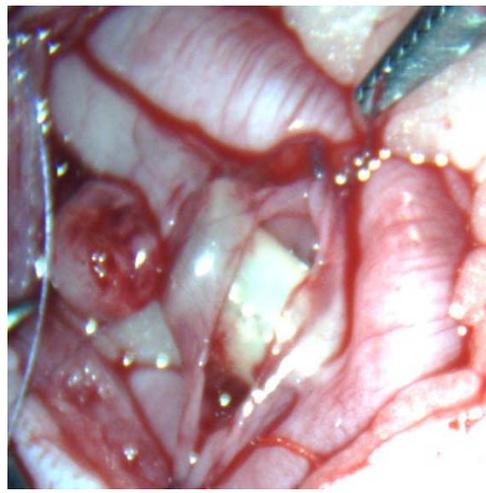
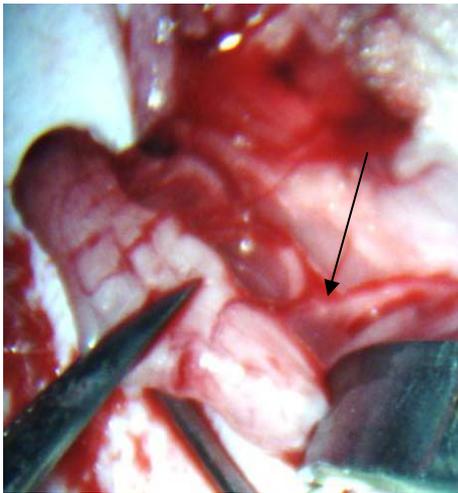


Figura 3d-Abertura da cúpula vesical **Figura 3e** - Anastomose da bexiga ao segmento de colo

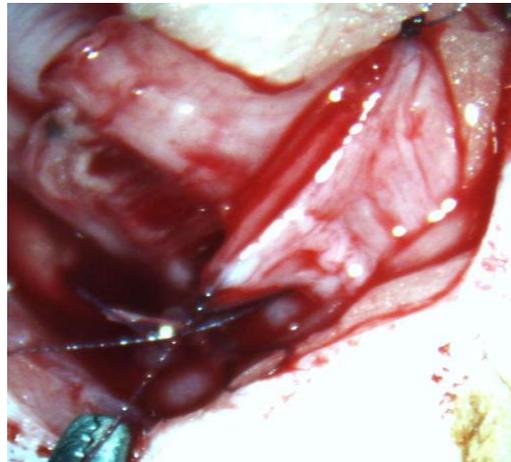


Figura 3-f - Fechamento distal do segmento de coloco com bexiga ampliada



Ureterossigmoidostomiaa Dornelaset *al.*,(2014) Figuras 4a, 4b, 4c e 4d.

Figura 4a- Dissecção de ureter distal**Figura 4b**- Túnel com agulha hipodérmica.

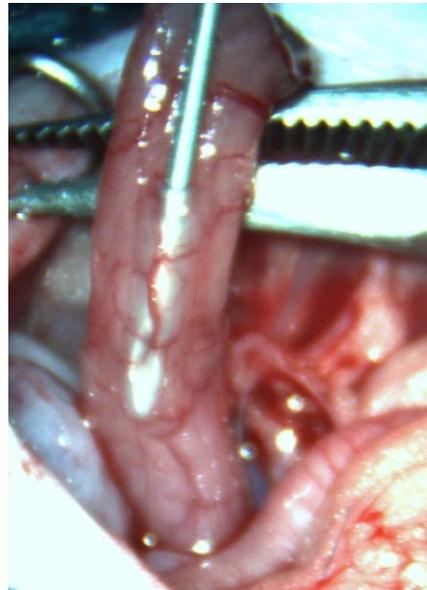


Figura4c- Orientação do ureter no túnel**Figura 4d**- Ponto fixando o ureter intrainestinal na parede. Com fio agulhado



3.6 Observação Clínica dos Animais

Observação clínica quanto à função da ureterossigmoidostomia foi realizada segundo a constatação ou não de eliminação de urina pela região anal da rata (funcionante ou não funcionante) (Figuras 5a e 5b).

Figura 5a– Funcionante **Figura5b**– Não funcionante



3.7 Mortalidade

A causa de mortalidade dos animais foi avaliada por meio de necropsia.

3.8 Sacrifício dos Animais

Na 30^a semana após a cirurgia, os animais foram então submetidos à avaliação de cavidade abdominal, morte e necropsia. Para tais procedimentos, foram realizados sob anestesia com ketamina e xilazina nas doses 100mg/kg e 10 mg/kg peso, respectivamente. Foi aberta a parede abdominal com incisão longitudinal mediana xifopubiana, interessando pele, subcutâneo e musculatura, até a cavidade abdominal. Inventário da cavidade foi realizado metodicamente, iniciando pela bexiga, observando áreas de anastomoses, colo vesical (ampliação vesical) e uretero cólica (ureterosigmoidostomia), rins bilateralmente e demais vísceras abdominais. Os animais foram então mortos com três doses a mais de ketamina e xilazina.

3.9 Estudo Macroscópico

Na ampliação vesical, a bexiga foi insuflada com formol a 10% tamponado, com ligadura de uretra e ureter bilateralmente (Figura 6a e 6b).

Figura 6a – Bexiga insuflada com formol a 10% fixada fechada - Grupo I - rato 2



Figura 6b - Bexiga aberta. Grupo I - rato 2



Na ureterossigmoidostomia, o colo foi ressecado junto com ureter esquerdo e rim esquerdo (Figura 7), aberto na borda antimesocólica, de reto a ceco, lavado com soro fisiológico estendido em papel Kraft(Figura 8), mantendo ureter e rim esquerdo na exata posição em que se encontravam. O colo foi dobrado de forma concêntrica em forma de rocambole e fixado em formol a 10% tamponado (Figura 9).

Figura 7 - Colo fechado (de reto a ceco) e ureterossigmoidostomia esquerda com ureter dilatado rim esquerdo e rim direito



Figura 8– Colo aberto (ureterossigmoidostomia)estendido em papel kraft



Figura 9-Colo disposto em enovelado em rocambole - Grupo IV- Rato 8



3.10 Microscopia

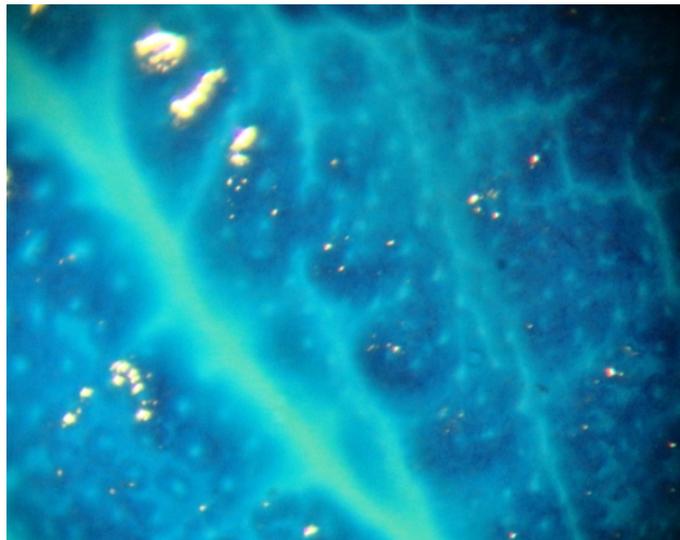
As lesões foram classificadas obedecendo à classificação internacional do sistema urinário de ratos, publicada pela *Agency for Research on Câncer*(IARC, 1992), com atualização e critérios de Oyasu (OYASU, 1995).

Após 24 horas de fixação, o colo da ureterossigmoidostomia foi corado com azul de metileno a 0,1 e PBS (solução fosfatada) por um minuto. Foi levado ao microscópio estereoscópico (Figura10), para contagem de focos de criptas aberrantes (FCA) (BIRD, 1987; BURLAMAQUI *et al.*, 2010), em toda sua extensão(Figura 11),por segmento de colo (distal, médio e proximal).

Figura 10– Contagem de focos de criptas aberrantes (FCA) em microscópio estereoscópico



Figura 11 – Criptas intestinais coradas pelo azul de metileno ao microscópio estereoscópico



Após a contagem das criptas aberrantes, as áreas de anastomoses colovesical e colo-uretral e ureter foram clivadas e encaminhadas para processamento histológico, inclusão em parafina e coloração pela hematoxilina e eosina e PASAlcian Blue.

3.11 Análise Estatística

Os dados de histopatologia foram analisados por meio de *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*, versão 17.0 para Windows, no qual todas as análises foram realizadas considerando uma confiança de 95%.

Os dados categóricos foram expressos em forma de frequência absoluta e percentual, analisados por meio do Teste Exato, de Fisher, ou Qui-quadrado, de Pearson. Os dados quantitativos foram expressos em forma de média e desvio-padrão e analisados por meio dos testes de Kruskal-Wallis/Mann-Whitney.

4 RESULTADOS

4.1 Peso Corporal

Foi observada queda do peso corporal em todos os animais após o procedimento cirúrgico, em todos desde então, operados. A curva foi ascendente até 200 gramas, estabilização em torno de 250 gramas a partir daí sem diferenças entre os grupos. Os valores médios encontram-se nas tabelas do Apêndice A.

4.2 Mortalidade dos Animais Submetidos a Ampliação Vesical

Todos os animais do grupo II morreram no pós-operatório imediato com fecaloma e peritonite. As tabelas com as datas de cirurgia número de dias de vida e sacrifício dos animais submetidos a ampliação vesical e ureterossigmoidostomias encontram-se no Apêndice B.

No grupo I, morreram três animais (peritonite com fecaloma (8º dia DPO), peritonite com fecaloma pneumonia (6º dia DPO) pneumonia (6ª semana DPO). No grupo III, morreu, um animal com peritonite e fecaloma (5º dia DPO), conforme pode ser observado na Tabela 2 e Apêndice B.

4.3 Mortalidade dos Animais Submetidos a Ureterosigmoidostomia

Reunindo todos os grupos (IV, V e VI), a mortalidade na 8ª, 20ª e 30ª s foi de 8,3%, 16,6% e 29%, respectivamente.

Ocorreram sete óbitos no total nos grupos IV, V e VI. Foram dois animais no grupo IV abscesso pulmonar e pniefroze (15^a semana (s) DPO (dia de pós-operatório),

		NÚMERO DE ÓBITOS/POR DIA(d) E SEMANA(s) DE PÓS-OPERATÓRIO					
Grupos		GI	GII	GIII	GIV	GV	GVI
Número de animais		8	8	8	8	8	8
CAUSA MORTIS	Peritonite + fecaloma + Pneumonia	1/8d					

pneumonia (18^a semanas DPO); dois animais no grupo V (fistula urinária para cavidade abdominal (9^oDPO), abscesso pulmonar – (15^a semanas PO) e três óbitos no grupo VI (peritonite com fecaloma (9^o dia PO), pneumonia

hemorragia pulmonar (16^a semanas PO) e pniefroze – (21^a semanas). (Tabela 2 e Apêndice B).

Tabela 2- *Causa mortis* por dia e semanas de pós-operatório em todos os grupos operados

Peritonite	1/6d	8/3d				
Peritonite + fecaloma	1/6s	1/5d			1/9d	
Peritonite + Fistula urinaria					1/15s	
Pneumonia			1/18s		1/16s	
Abscesso Pulmonar + Pionefrose			1/15s	1/9d		
Abscesso Pulmonar						
Pionefrose					1/21s	
Número Total de óbitos por grupo	3	8	1	2	2	3

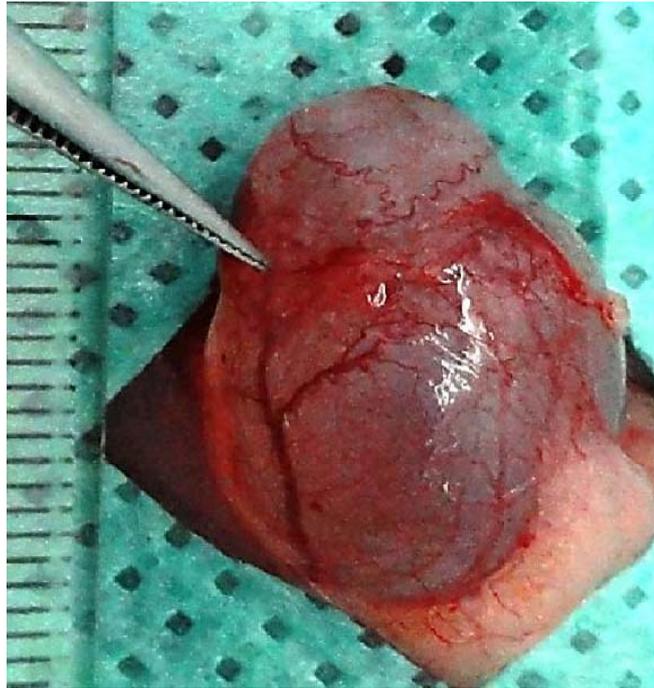
4.4 Macroscopia

Estudo detalhado de necropsia após o sacrifício dos animais dos grupos operados encontra-se no Apêndice B.

O estudo macroscópico das ampliações vesicais no momento do sacrifício evidenciou segmento cólico (Figura 12) com múltiplas aderências às vísceras adjacentes, sem obstrução e alça cólica pérvia (Apêndice B). Em alguns dos animais, à abertura da

cistoplastia, havia pequenos cistos em região de anastomose vesicointestinal e a bexiga apresentava-se com paredes finas, sem espessamentos, sem tumorações, sem cálculos.

Figura 12- Área de anastomose vesicointestinal (pinça) bexiga ampliada (30 semanas) - Grupo I rata 3



No estudo macroscópico da ureterossigmoidostomias (Apêndice B), observam-se rim e ureteres direitos sem particularidades. Em rim esquerdo com ureteres implantados em colo descendente (Figura 13), nota-se uretero-hidronefrose de moderada a importante na maioria dos animais; muitos exibiam pionefrose (Figura 14) e (Apêndice B) e microabscessos. A observação *in loco*, a expressão do rim e observação de saída de urina, pelo orifício ureteral no colo (funcionalidade), 66% no grupo IV; 57% no grupo V e 71,4% no grupo VI. Em apenas um dos ureteres dilatados foi encontrada obstrução por cálculo ureteral.

Figura 13 - Observa-se ureter dilatado implantado em colo descendente (seta)



Figura 14 –Ureterossigmoidostomia rimesquerdo com pionefrose –o rim direito normal (seta) Grupo V rata 1



4.5 Funcionalidade das Ureterossigmoidostomiassegundo avaliação clínica

Clinicamente, 100% dos animais apresentaram-se com US funcional até a 5ª semana. Nos tempos de 8ª, 20ª e 30ª semanas estavam funcionantes em 62,5%, 45,8%, 41,6%

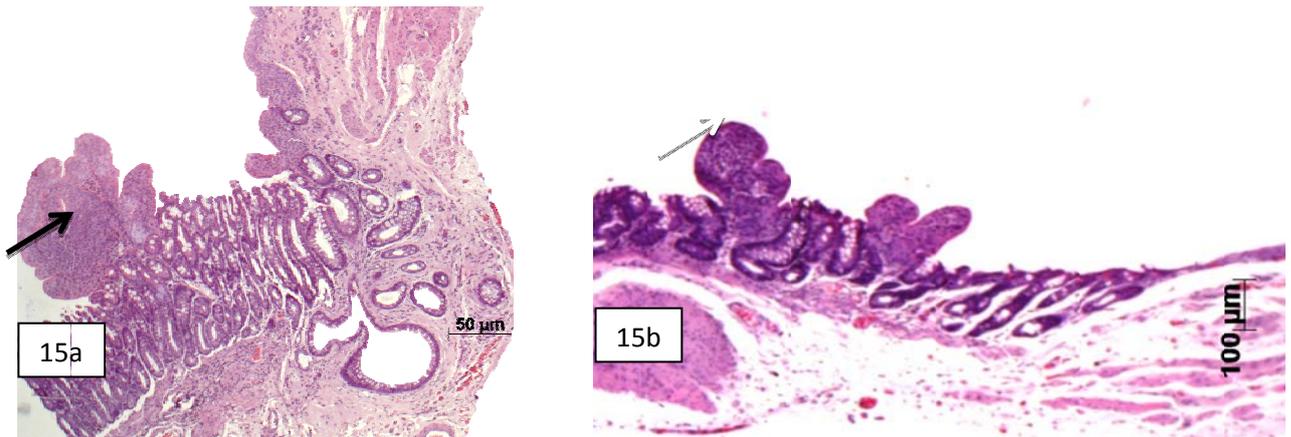
4.6 Microscopia

4.6.1 Ampliação Vesical - pela Hematoxilinae Eosina (HE)

Para avaliação da microscopia foram utilizados critérios já estabelecidos de histopatologiaanimal (IARC, 1992; OYASU, 1995). Os laudos histopatológicos encontra-se nas tabelas do apêndice C, juntamente com a funcionalidade e o tempo de vida.

Foi observada redução de células caliciformes em segmento de colo de forma difusa. Hiperplasias transicional plana e papilar foram identificadas em graus variáveis, de leve a moderada, na região de anastomose dos epitélios colovesical, bem como pequenos cistos, com epitélio colunar e camada única (Tabela 3) (Apêndice C). Também foram encontradas projeções epiteliais de hiperplasia transicional (seta - Figura 15a e 15b) em criptas de colo, semelhantes às encontradas em região de anastomoses colovesical, algumas delas com eixo vascular. Não foram encontradas células inflamatórias nas cistoplastias. Também não foram observados atipias epiteliais.

Figura 15a- Projeções epiteliais de hiperplasia transicional (seta) em criptas de colo, semelhantes a hiperplasias de células transicionais das anastomoses - Grupo I rato 6 – HE - 100x
Figura 15b – Mesmo aspecto de “metaplasia transicional”(seta) no epitélio de colo Grupo I rato 7 -HE - 100x.



	Grupo I	Grupo III	Valor de p*
Inflamação	0 0.0%	0 0.0%	1.000
Cistos	2 40.0%	5 71.4%	0.558
Metaplasia Transicional em segmento cólico	3*	0	0.045

	60.0%	0.0%	
Grau de Hiperplasia em anastomose colovesical			
Leve	1 20.0%	5 71.4%	0.242
Moderada	4 80.0%	2 28.6%	

Tabela 3 - Lesões histopatógicas encontradas nos grupos I e III

*= $p < 0.05$ Teste exato de Fisher em forma de frequência absoluta e percentual

4.6.2 Microscopia em Ureterossigmoidostomias pelo HE

No trajeto intraureteral, havia projeções de hiperplasia transicional (Figura 16a) dos tipos plana e papilar e nodular de intensidade variando de leve, moderada a acentuada. Em três animais, foi encontrado papilomatransicional em ureter (Figura 16b). Em mucosa cólica, foi observado um polipo inflamatório (Figura 16c). Há infiltrado inflamatório constituído por linfócitos em região de mucosa e submucosa ureteral e entre as criptas intestinais, com intensa

redução das mucinas em células de criptas justa anastomoses ureterocólicas(Tabela 4)(Apêndice C). Não foram observadas displasias nem atipias celulares.

Figura 16a- Trajeto ureteral (setas brancas) e no seu interior projeções papilares com eixos vasculares (setas amarelas), HE, 50x . **16b** - Papiloma transicional em ureter (seta), HE, 50x. **16c** - Polipo inflamatório em colo justa anastomose ureterocólica seta, HE,50x.

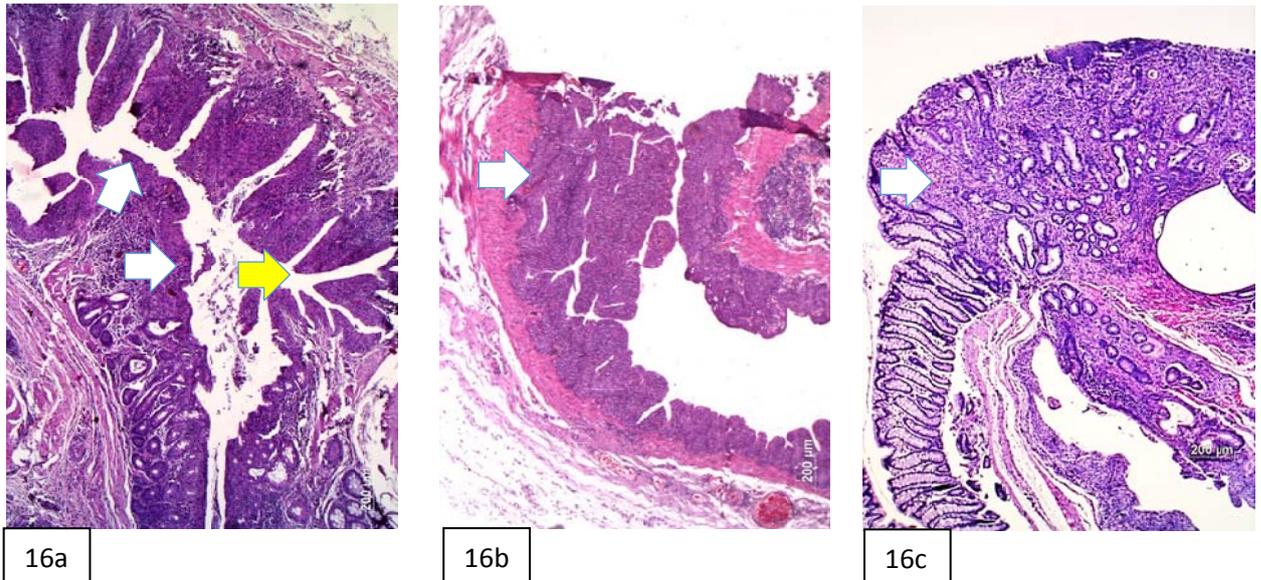


Tabela 4 - Lesões histopatológicas encontradas nos grupos IV, V e VI.

Achados histopatológicos	Grupo IV		Grupo V		Grupo VI		Significância Qui-quadrado
	n	%	n	%	n	%	
Inflamação							P = 0.5698
Ausente	1	16.67	1	16.67	0	0.00	
Presente	5	83.33	5	83.33	6	100.00	
Total	6	100.00	6	100.00	6	100.00	

Grau de Inflamação							
Ausente	1	16.67	1	16.67	0	0.00	P = 0.1644
Leve	0	0.00	1	16.67	3	50.00	
Moderada	0	0.00	1	16.67	2	33.33	
Severa	5	83.33	3	50.00	1	16.67	
Total	6	100.00	6	100.00	6	100.00	
Papilloma							
Ausente	4	66.67	6	100.00	5	83.33	P = 0.3012
Presente	2	33.33	0	0.00	1	16.67	
Total	6	100.00	6	100.00	6	100.00	
Polipos							
Ausente	6	100.00	5	83.33	6	100.00	P = 0.3469
Presente	0	0.00	1	16.67	0	0.00	
Total	6	100.00	6	100.00	6	100.00	
Grau de Hiperplasia Ureteral							
Leve	0	0.00	1	16.67	0	0.00	P = 0.1797
Moderada	1	16.67	1	16.67	4	66.67	
Severa	5	83.33	4	66.67	2	33.33	
Total	6	100.00	6	100.00	6	100.00	

Grau de hiperplasia Ureteral	Grupo IV		Grupo VI		Total		Significância (Teste exato de Fisher)
	n	%	n	%	n	%	
Leve / Moderado	1	16.67	4	66.67	5	41.67	P = 0.2424
Severa	5	83.33	2	33.33	7	58.33	
Total	6	100.00	6	100.00	12	100.00	

4.6.3 Microscopia pelo PAS -ALCIAN BLUE

A coloração pelo PAS Alcian Blue evidenciou acentuada redução das células caliciformes e da produção de mucinas, nas criptas de epitélio de colo de cistoplastia (Figura 17a), bem no epitélio de colo próximo às regiões de ureterossigmoidostomias (Figura 17b), quando comparadas com as de colo dos animais não operados (Figura 18).

Figura 17a - Cistoplastia –redução de células caliciformesno epitélio do colo - PAS -Alcian Blue 100 x

Figura 17b – Região do colo justa ureterocólica, redução de células caliciformes PAS -Alcian Blue 100 x

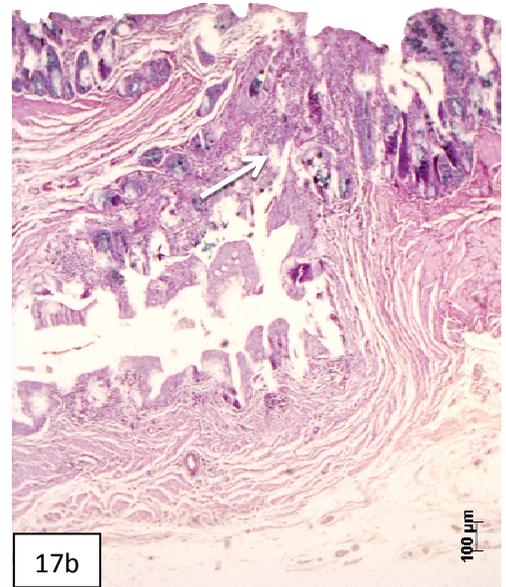
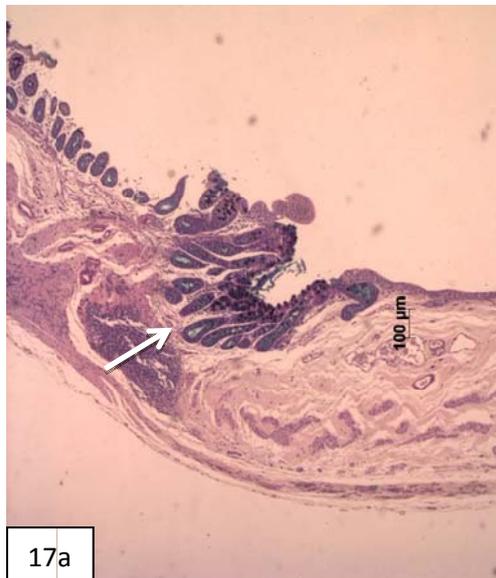
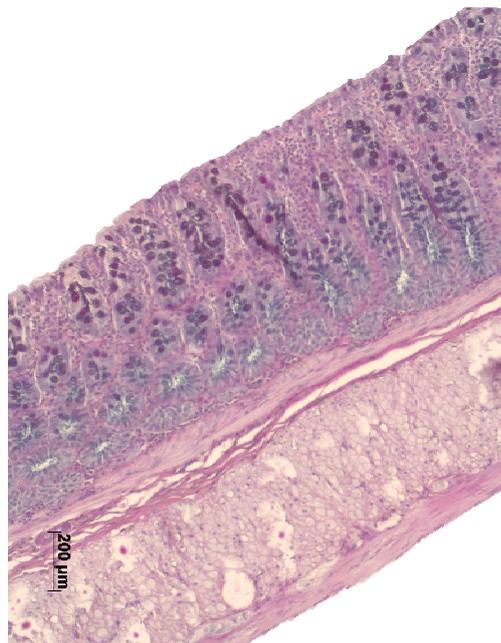


Figura 18 - Colo de rato do Grupo IX (controle) – rato 3 - PAS -Alcian Blue 100x



4.6.4 Focos de criptas aberrantes (FCA) e criptas aberrantes, observados à microscopia estereoscópica em colo de ratas submetidas a ureterossigmoidostomias e seus grupos-controle não operados

O resultado de contagens de FCA ao microscópio estereoscópico dos segmentos distal, médio e proximal do colo, classificadas quanto ao número (1,2, 3 e 4) de criptas aberrantes, estão no Apêndice D.

Sintetizando: no grupo IV havia quatro ratas com FCA. As quatro apresentavam FCA de uma cripta e localizados em colo distal; dois destes animais apresentavam FCA de dois criptas (colo distal) e um deles apresentava um FCA com três criptas no mesmo animal, todas em colo distal.

No grupo V havia três ratas com FCA; duas ratas com FCA de uma cripta e os mesmos animais apresentavam 1 FCA em colo médio e outro em colo proximal. Uma rata exibia um FCA de duas criptas em colo proximal.

No grupo VI, havia três ratas que traziam um FCA de uma cripta (dois distal e um proximal).

No grupo VII, uma rata trazia dois FCA; um de dois focos e um de três focos.

Não foram observados FCA nos grupos VIII e IX.

Não foram observados FCA displasias.

Para análise estatística dos grupos IV, V, VI, VII, VIII e IX, foram considerados como focos de criptas aberrantes (sem discriminação do número de criptas aberrantes, já que em sua maioria eram focos de uma cripta) e número de criptas aberrantes e os seguintes números de ratas (n) (Tabela 5) e Apêndice D.

Tabela 5 - Grupo e número de animais (n) considerado para análise estereoscópica de colo

Grupo	Número de animais (n)
-------	-----------------------

IX	Água destilada	6
VII	<i>L</i> Lisina	6
VIII	Celecoxibe	6
VI	Ureterossigmoidostomia + Água destilada	6
IV	Ureterossigmoidostomia + <i>L</i> Lisina	7
V	Ureterossigmoidostomia + Celecoxibe	6

Focos de criptas aberrantes encontrados à microscopia estereocópica nos animais dos grupos que receberam água destilada (IX), *L*lisina (VII), Celecoxibe (VIII), ureterossigmoidostomia+ água destilada (VI), ureterossigmoidostomia+*L* lisina (IV), ureterossigmoidostomia+celecoxibe (V), considerando todos os fragmentos: proximal, médio

e distal, foram comparados e analisados pelo teste de qui-quadrado, que não evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à presença de focos de criptas aberrantes ($p= 0,0794$) (Tabela 6).

Tabela 6–Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos IX VII, VIII e VI considerando todos os fragmentos: proximal, médio e distal.

Grupo	Focos de criptas aberrantes		Total
	Presentes	Ausentes	
Água destilada	0	6	6
L Lisina	1	5	6
Celecoxibe	0	5	5
Ureterossigmoidostomia + Água destilada	3	3	6
Ureterossigmoidostomia + L Lisina	4	3	7
Ureterossigmoidostomia + Celecoxibe	3	3	6
Total	11	25	36

Focos de criptas aberrantes observados nos animais dos grupos água destilada (IX), L lisina (VII), celecoxibe (VIII), considerando todos os fragmento- proximal, médio e distal- cujos dados foram comparados e analisados pelo Teste de Qui-Quadrado. Não se evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à presença de focos de criptas aberrantes ($p= 0,3776$), (Tabela 7).

Tabela 7–Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos IX, VI e VII, considerando todos os fragmento-proximal, médio e distal.

Grupo	Focos de criptas aberrantes		Total
	Presentes	Ausentes	
Água destilada	0	6	6
Lisina	1	5	6
Celecoxibe	0	5	5
Total	1	16	17

Focos de criptas aberrantes encontrados nos animais dos grupos ureterossigmoidostomia+água destilada (VI), ureterossigmoidostomia+L lisina (IV), ureterossigmoidostomia+celecoxibe (V), considerando todos os fragmentos- proximal, médio e distal-foram comparados e analisados pelo Teste de Qui-Quadrado e não se evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à presença de focos de criptas aberrantes ($p= 0,9558$) (Tabela 8).

Tabela 8–Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos VI, IV e V, considerando todos os fragmento-proximal, médio e distal.

Grupo	Focos de criptas aberrantes		Total
	Presentes	Ausentes	
Ureterossigmoidostomia+água destilada	3	3	6
Ureterossigmoidostomia+lisina	4	3	7
Ureterossigmoidostomia+celecoxibe	3	3	6
Total	10	9	19

O número de focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos salina (IX) e ureterossigmoidostomia+água destilada (VI), considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal. Dados analisados pelo Teste Exato, de Fisher, não revelaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos em relação à presença de focos de criptas aberrantes ($p= 0,1818$) (Tabela 9).

Tabela 9– Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos IX e VI, considerando todos os fragmentos: proximal, médio e distal.

Grupo	Focos de criptas aberrantes		Total
	Presentes	Ausentes	
Água destilada	0	6	6
Ureterossigmoidostomia+água destilada	3	3	6
Total	3	9	12

Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos *L* lisina (VII) e ureterossigmoidostomia+*L* lisina (IV), considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal. Dados analisados pelo Teste Exato, de Fisher, não evidenciaram diferenças estatisticamente significante entre os dois grupos em relação à presença de focos de criptas aberrantes ($p= 0,2657$) (Tabela 10).

Tabela 10– Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos VII e IV, considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal.

Grupo	Focos de criptas aberrantes		Total
	Presentes	Ausentes	
Lisina	1	5	6
Ureterossigmoidostomia+lisina	4	3	7
Total	5	8	13

Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos celecoxibe (VIII) e ureterossigmoidostomia+celecoxibe, considerando todos os fragmentos: proximal, médio e distal. Dados analisados pelo Teste Exato, de Fisher, não evidenciaram diferença estatisticamente significante entre os dois grupos em relação à presença de focos de criptas aberrantes ($p= 0,1818$) (Tabela 11).

Tabela 11– Focos de criptas aberrantes nos animais dos grupos VIII e V, considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal.

Grupo	Focos de criptas aberrantes		Total
	Presentes	Ausentes	
Celecoxibe	0	5	5
Ureterossigmoidostomia+Celecoxibe	3	3	6
Total	3	8	11

4.6.5 Criptas Aberrantes

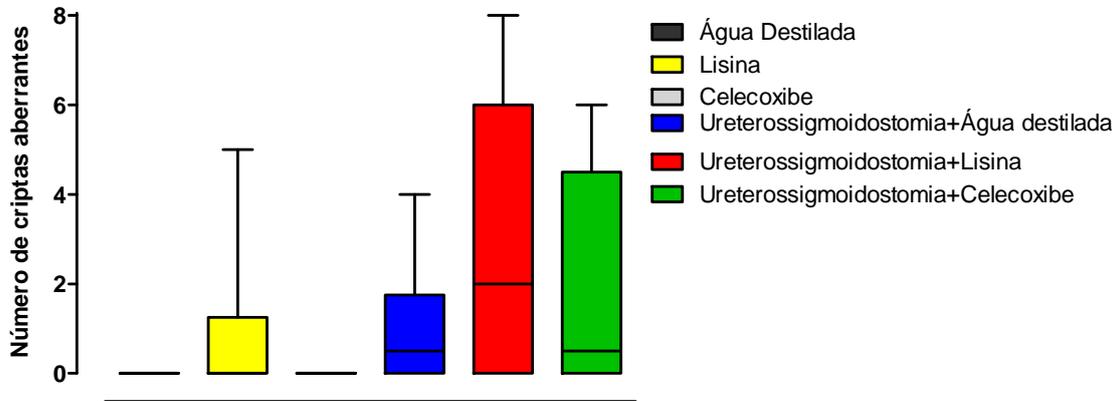
Quanto à análise pura e simples do número de criptas aberrantes observado à microscopia estereoscópica nos grupos IV, V, VI, VII, VIII e IX encontra-se na Tabela 12.

Tabela 12 – Número de criptas aberrantes verificado nos grupos IX,VII,VIII,VI, IV e V, considerando todos os fragmentos: proximal, médio e distal.

Grupo	Mediana	Mínimo	Percentil 25	Percentil 75	Máximo
Água destilada IX	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
L Lisina VII	0,00	0,00	0,00	1,25	5,00
Celecoxibe VIII	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ureterossigmoidostomia+ água destilada VI	0,50	0,00	0,00	1,75	4,00
Ureterossigmoidostomia+ L Lisina VII	2,00	0,00	0,00	6,00	8,00
Ureterossigmoidostomia+ Celecoxibe V	0,50	0,00	0,00	4,50	6,00

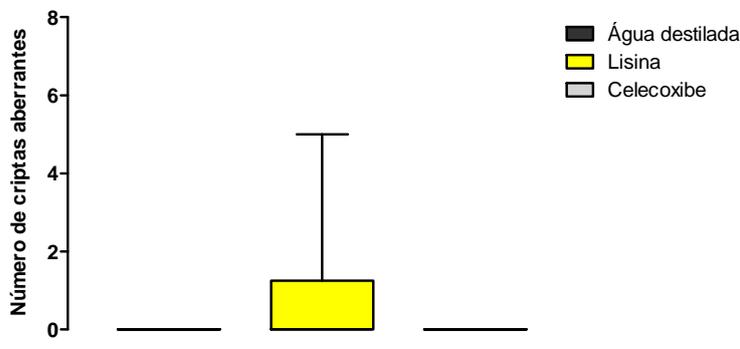
O número de criptas aberrantes foi verificado nos grupos V, VI VII, VIII e IX, considerando os segmentos proximal médio e distal, dados expressos como mediana, intervalo interquartil e valores máximos e mínimos das quantificações nos n de cada grupo. Dados foram expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo das quantificações. O Teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar os seis grupos, associado ao Teste de Comparações Múltiplas, de Dunn, para verificar diferenças entre os grupos aos pares. Não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos estudados ($p= 0,0902$) (Figura 19).

Figura 19 – Número de criptas aberrantes verificado nos grupos IX, VII, VIII,VI, IV e V, considerando todos os segmentos-proximal, médio e distal.



O número de criptas aberrantes também foi comparado nos grupos água destilada (IX), Lisina (VII), celecoxibe (VIII), ou seja, nos animais dos grupos-controle, não operados, considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal. Dados foram expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo das medições efetuadas em seus valores de n anteriormente descritos. O Teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar os três grupos, associado ao Teste de Comparações Múltiplas, de Dunn, para verificar diferenças entre os grupos aos pares. Não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos estudados ($p= 0,3998$) (Figura 20).

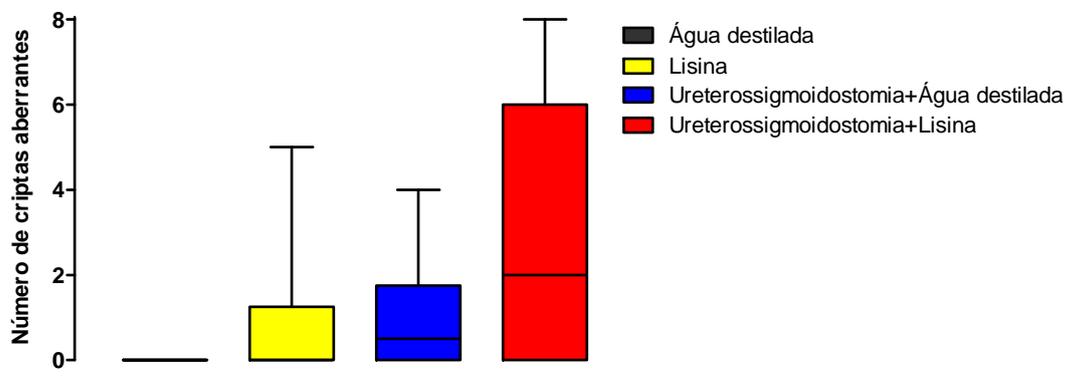
Figura 20 – Número de criptas aberrantes verificado nos grupos IX, VII e VIII, considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal.



O número de criptas aberrantes foi verificado nos grupos água destilada (IX), Lisina (VII), ureterossigmoidostomia + água destilada (VI),

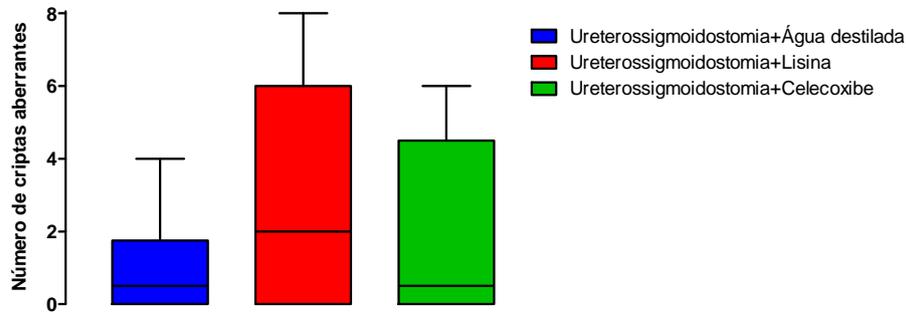
ureterossigmoidostomia+lisina (IV), ou seja, em todos as ratas operados, considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal. Os dados foram expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo das medições nos n respectivos dos grupos, anteriormente descritos. O Teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar os quatro grupos, associado ao Teste de Comparações Múltiplas, de Dunn, para verificar diferenças entre os grupos aos pares. Não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos estudados ($p= 0,1018$) (Figura 21).

Figura 21 – Número de criptas aberrantes verificado nos grupos água destilada IX VII VI e IV, considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal.



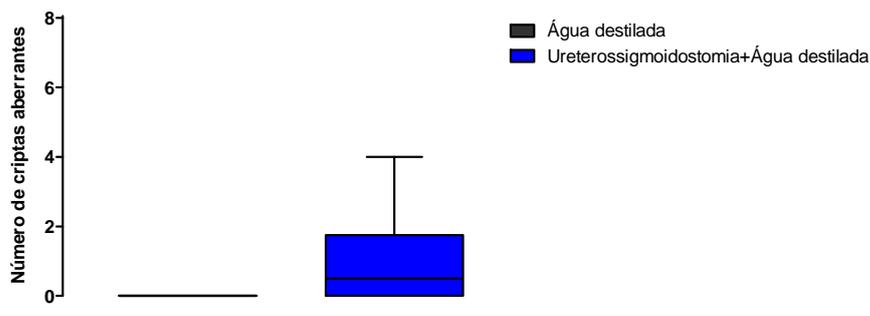
O número de criptas aberrantes foi verificado nos grupos ureterossigmoidostomia+água destilada (VI), ureterossigmoidostomia+ Lisina (IV), ureterossigmoidostomia+celecoxibe (V); ou seja, de todos os animais operados, considerando todos os fragmentos- proximal, médio e distal. Dados foram expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo das medições efetuadas, nos n acima descritos. O Teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar os três grupos, associado ao Teste de Comparações Múltiplas, de Dunn, para verificar diferenças entre os grupos aos pares. Não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos estudados ($p= 0,6034$) (Figura 22).

Figura 22 – Número de criptas aberrantes verificado nos grupos VI, IV e V, considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal.



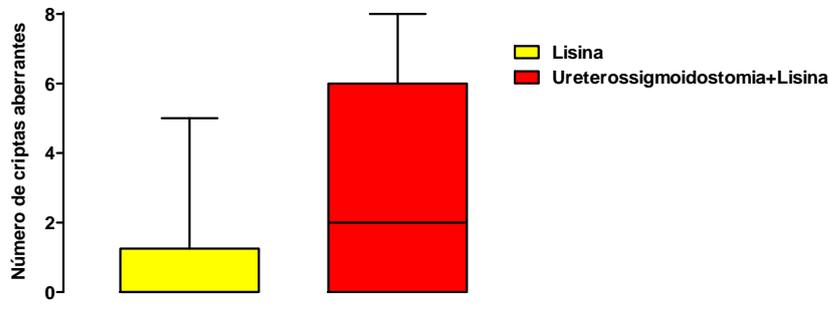
Número de criptas aberrantes foi verificado nos grupos água destilada (IX) e ureterossigmoidostomia+água destilada (VI), considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal. Os dados foram expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo das medições efetuadas para seus n anteriormente descritos. O Teste de Mann-Whitney foi usado para comparar os dois grupos. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p = 0,1812$) (Figura 23).

Figura 23 – Número de criptas aberrantes verificado nos grupos IX VI, considerando todos os fragmentos: proximal, médio e distal.



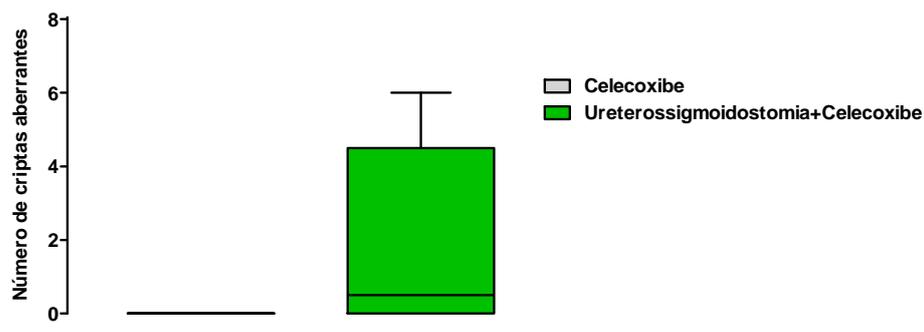
O número de criptas aberrantes verificado nos grupos com Lisina (VII) e ureterossigmoidostomia+ Lisina (IV), considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal. Os dados foram expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo das medições efetuadas em seus respectivos n anteriormente descritos. O Teste de Mann-Whitney foi usado para comparar os dois grupos. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p = 0,1655$) (Figura 24), apesar de haver um número de criptas aberrantes maior em ratas operadas com uso de *L* lisina.

Figura 24 – Número de criptas aberrantes verificado nos grupos VII IV, considerando todos os fragmentos: proximal, médio e distal.



E finalmente, o número de criptas aberrantes foi verificado nos grupos celecoxibe (VIII) e ureterossigmoidostomia+celecoxibe (V), considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal. Os dados foram expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo das medições efetuadas nos n estipulados anteriormente. O Teste de Mann-Whitney foi usado para comparar os dois grupos. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p= 0,2448$) (Figura 25).

Figura 25 – Número de criptas aberrantes verificado nos grupos VIII e V, considerando todos os fragmentos-proximal, médio e distal.



5 DISCUSSÃO

Os reais fatores que levam à carcinogênese em anastomoses de ampliações vesicais e derivações urinárias, com alças gastrintestinais, ainda permanecem desconhecidos. Vários mecanismos foram propostos para explicar a sua fisiopatologia, tais como inflamação crônica, infecções de repetição, mudanças de potencial hidrogeniônico, produção de nitrosaminas por bactérias, instabilidade genética das áreas de anastomoses, entre outras hipóteses (GITLIN *et al.*, 1999), entretanto existem muitas variáveis que ainda não foram desveladas.

Na Alemanha, importante revisão sistemática envolvendo 44 centros, de 1970 a 2007 (KÄLBLE *et al.* 2012), em um total de 17.758 pacientes submetidos a derivações urinárias e cistoplastias com alças intestinais, foram encontrados 32 tumores. O risco de tumores em ureterossigmoidostomias foi de 22 vezes e em cistoplastia 13 vezes maior, estatisticamente significativa, do que em outras formas de derivação urinária continente, como neobexiga ($p < 0,0001$). O risco de tumores em derivações ileocecais (1,26%) e de neobexiga de colo (1,43%), foi significativamente maior ($p = 0,0001$) do que em neobexiga ileais (0,5%) (KÄLBLE *et al.* 2012).

Quando se fala em trabalho experimental, há de se levar em consideração as diferenças tanto fisiológicas quanto anatômicas entre seres humanos e ratos (WORKING GROUP, 1995; DESESSO, 1995), entretanto, verifica-se que existem semelhanças não apenas entre epitélios normais, mas também nas alterações histopatológicas encontradas em derivações urinárias e ampliações vesicais entre as duas espécies, conforme visto anteriormente e se verá a seguir. Daí o interesse na investigação experimental.

Hiperplasia do epitélio de transição nas junções enterovesicais e gastrovesicais foram observadas em animais submetidos a gastrocistoplastia e ileocistoplastia (GITLIN *et al.* 1999). As imunohistoquímicas destas lesões revelou que estas células expressavam não apenas uroplaquinas (um marcador molecular para diferenciação urotelial), mas também mucosubstância. Os autores então sugeriram que estas células da anastomose possuíam alterações e características híbridas, podendo ser vulneráveis a transformações neoplásicas (GITLIN *et al.*, 1999).

Trabalhos experimentais utilizando modelos de ureterossigmoidostomias adaptados para ratos (vesicosigmoidostomias) (CRISSEY; STEELE; GITTES, 1980) descreveram alterações histopatológicas, como inflamação crônica, hiperplasia, displasias com redução de sulfomucina e aumento de sialomucinas (CASTRO *et al.*, 2006).

O modelo de ureterossigmoidostomia utilizado neste trabalho foi elaborado por Dornelas *et al.*, (2014), com resumo publicado nos Anais do XIV CONGRESSO INTERNACIONAL DE CIRURGIA EXPERIMENTAL - SOBRADPEC I FÓRUM DE PESQUISA EM CIRURGIA TRANSLACIONAL – São Paulo – 2014, bem como nos Anais do XXXV CONGRESSO BRASILEIRO DE UROLOGIA – Rio de Janeiro, 2015. Este novo modelo surgiu em decorrência de dificuldades encontradas com relação à alta morbimortalidade encontrada por esses mesmos autores, durante a realização de ureterossigmoidostomias, seguindo o modelo clássico de Crissey (1980), cuja mortalidade em oito semanas atingiu o percentual de 45% (DORNELAS *et al.*, 2016 - trabalho já aceito e em vias de publicação).

Nos animais submetidos ao novo modelo de ureterossigmoidostomia, pelos mesmos autores (DORNELAS *et al.*, 2014), no tempo de oito semanas, a mortalidade foi de apenas 8,3%. Em um tempo de 30 semanas de seguimento (tempo pelo menos três vezes maior), a mortalidade foi de apenas 29%. O novo modelo foi utilizado nesta dissertação por permitir um tempo maior de observação (já que é longo o período de latência para desenvolvimento da carcinogênese em derivações urinárias), bem como por uma adequação ética, exigida para redução do uso de animais. Implantar apenas um ureter no colo permitiu que o animal tivesse maior sobrevida, já que teria, assim, maior garantia de preservação da função do rim contralateral, em caso de perda da unidade funcional renal submetida à ureterossigmoidostomia.

Nas primeiras semanas de experimento, apesar de todos os cuidados com esterilização de campos cirúrgicos e de material cirúrgico, vários animais morreram com peritonite, inclusive um grupo inteiro (Grupo II).

Isso fez com que os cuidados com os materiais e procedimentos fossem redobrados. Isso não era esperado. A causa desta complicação foi identificada durante a abertura de uma alça intestinal sob o microscópio cirúrgico. Foi identificada grande quantidade de parasitas móveis de aspecto filiforme medindo cerca de 0,1 mm de comprimento a *Syphacia sp.* A infestação acometia todos os animais, indistintamente.

Pela dificuldade de captura do parasita, optou-se pela fita adesiva transparente, quando então pode ser identificado sob microscopia óptica (Figura 26).

Figura 26 -*Syphacia sp* - microscópio ótico 20x.



Ratos crescem muito rapidamente e se tornam sexualmente maduros com cerca de seis semanas de idade. Existe uma referência que calcula seis meses como equivalente a 18 anos. Na idade adulta, cada mês do animal é aproximadamente equivalente a 2,5 anos humanos (QUINN, 2005; ANDREOLLO *et al.*, 2012). É preciso salientar que o tempo de observação neste experimento foi \pm 30 semanas, o equivalente a 7,5 meses. Então, os nossos animais teriam de tempo de cirurgia aproximadamente 19 anos o equivalente em humanos.

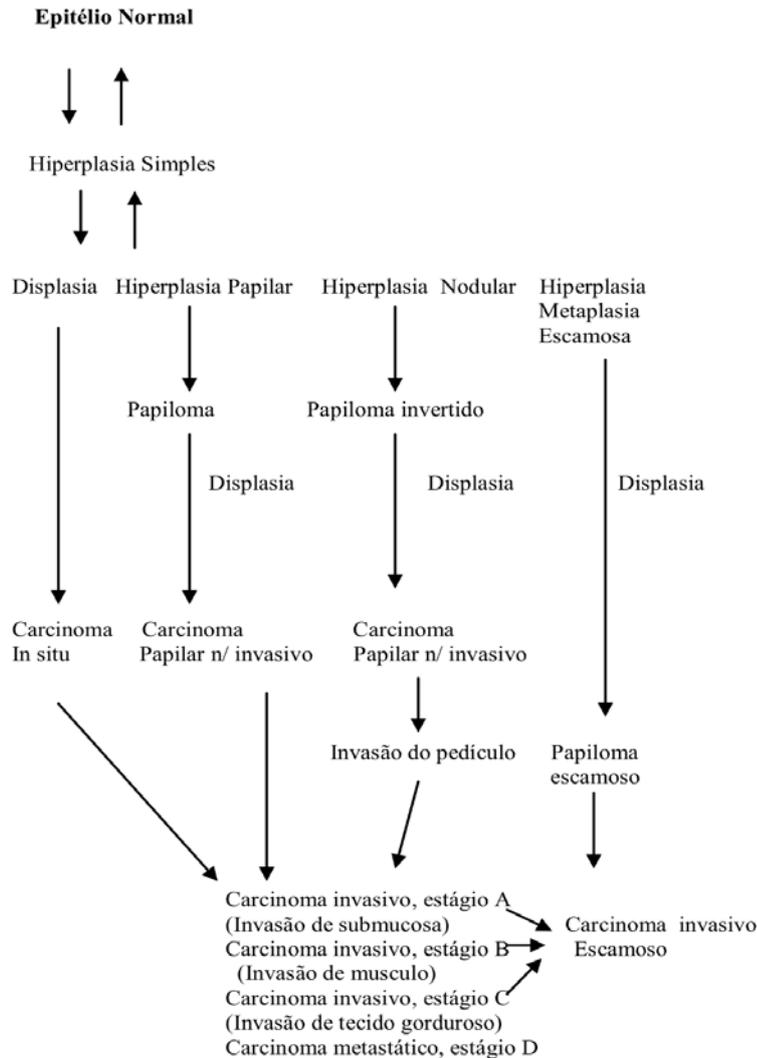
A avaliação da carcinogênese abordada nesta dissertação concentrou-se na avaliação histopatológica, tendo como referencial não apenas os aspectos inflamatórios e reacionais do epitélio e das paredes ureteral e vesical já descritas, mas também refletindo sob as teorias da carcinogênese do urotélio vesical, propostas por Oyasu (1995), e carcinogênese cólica, descrita por Bird (1987).

Nos animais submetidos à ampliação vesical, grupos I e III, modelo este que utilizou alça de colo, foram identificadas lesões de hiperplasia urotelial em áreas de anastomoses, de forma discreta, mas semelhantes aos achados por Dornelas (1994) no tempo de 18 meses de cirurgia e sem administração de *L* lisina. Não há diferenças entre os grupos I e III que receberam *L* lisina e água destilada ($p=0,242$).

O ureter, por outro lado, nos animais submetidos a ureterossigmoidostomias, (grupos IV, V e VI), apresentava lesões histológicas com hiperplasia de células transicionais, mais acentuadas, mas não estatisticamente significantes, em animais que receberam *L* lisina (grupo IV) em relação aos do grupo-controle (grupo VI) ($p=0,024$). Em alguns animais, foram observados papiloma de células transicionais com metaplasia escamosa e um polipo

inflamatório, lesões estas, também, descritas como sequenciais na histogênese carcinogênese vesical de roedores (OYASU, 1995) (Figura 27). Seria apenas reacional, ou haveria aqui, já instalado, um processo de histogênese da carcinogênese ureteral?

Figura 27 -Histogênese da carcinogênese do urotélio vesical



Fonte: Oyasu (1995)

Além disso, havia intenso infiltrado inflamatório, constituído predominantemente por linfócitos em região de mucosa e submucosa, de ureter e colo, mesmo em animais com implante ureteral não funcionando nos grupos IV, V e VI sem significância estatística. Isso remete a alguns relatos de casos de neoplasia maligna de coto ureteral, deixados em sigmoide em caso de ureterossigmoidostomias (por condições benignas em intervalos curtos de tempo), em que os pacientes foram levados a construção de outro reservatório urinário, deixando o

sigmoide livre de urina e o coto ureteral lá implantado (SCHIPPER; DECTER, 1981; SOHN *et al.*, 1990).

O que se questiona é se seriam as alterações epiteliais reacionais à inflamação crônica pronunciada e, assim sendo, poderiam elas resultar em carcinogênese ureteral futura.

Pensando nestes questionamentos, volta-se aos achados histopatológicos do grupo I e III: não foram observados quaisquer sinais de inflamação crônica ou aguda nos epitélios intestinais e vesicais de animais submetidos à ampliação vesical (grupos I e III), entretanto eles possuíam hiperplasia em áreas de anastomose, sem diferenças estatística entre os grupos, deixando livre o epitélio transicional restante da bexiga, que se encontrava normal à hematoxilina/eosina, semelhantes aos achados de Dornelas(1994).

Os cistos encontrados em regiões das anastomoses de ampliações vesicais (grupos I e III), revestidos por camada única de células, possivelmente decorrem de artefatos histológicos, produzidos cirurgicamente por estrangulamento de criptas intestinais no momento da anastomose. Estes achados também foram observados por Dornelas, em 1994.

Foi identificada nos animais submetidos à ampliação vesical (grupos I e III) proliferação de células, semelhantes às transicionais, provenientes de criptas intestinais e aderidas a elas, formando projeções para a luz das bexigas ampliadas, semelhantes à hiperplasia urotelial, encontradas nas áreas de anastomose, porém distantes das mesmas (CHIARELLI; SANDEI, 1984; DORNELAS, 1994). Havia diferenças estatisticamente significantes entre os grupos I e III com $p=0.045$, estando incidente em animais que receberam *L* lisina, mas não em grupo-controle. Chiarelli e Sandey, em 1984, chamaram estas alterações de epitélio “*transicional-like*”. Estas, também denominadas “metaplasias transicionais”, foram descritas em trabalhos experimentais com gastrocistoplastias em animais (BUSON *et al.*, 1993; GITLIN *et al.*, 1999), porém, os animais dos experimentos dos autores citados não receberam *L* lisina. A *L* lisina antecipou o aparecimento destas lesões no grupo I?

A superfície luminal do trato gastrointestinal é coberta por uma camada de muco que atua como barreira protetora contra o inóspito ambiente da luz intestinal. As características desta barreira e a sua função estão sendo estudadas exaustivamente, uma vez que as alterações à sua habitual composição têm sido identificadas em doenças gastrintestinais graves, tais como doenças inflamatórias intestinais (CORFIELD *et al.*, 2000; CORFIELD *et al.*, 2001), derivações urinárias com alças intestinais (MOORCRAFT *et al.*, 1983), esôfago de Barrett, câncer colorretal (CORFIELD *et al.*, 2000; CORFIELD *et al.*, 2001). Algumas alterações na expressão do gene MUC ou polimorfismo foram detectadas em doenças

inflamatórias do intestino, em contraste com a transformação maligna (CORFIELD *et al.*, 2001).

Há pelo menos 21 genes que codificam glicoproteínas do tipo mucina humanos (MUC1, MUC2, MUC3A, MUC3B, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC12, MUC13, MUC15, MUC16, MUC17, MUC19, MUC 20, e MUC 21) (KIM; HO, 2010). Genes de mucina são expressos em tecidos e células do tipo específica e são classificados em dois tipos - secretor em associação à membrana.

As mucinas são classificadas, quanto às suas características histoquímicas, em ácidas e neutras. As ácidas são subdivididas em sialomucinas e sulfomucinas, conforme apresentem na composição ácido siálico ou sulfatos, respectivamente. As sialomucinas, dependendo da proporção de N-acetil ou de O-acetil, derivadas do ácido siálico, podem ser subclassificadas em outros tipos. As regiões ricas em mucinas neutras são identificadas pela reação do PAS (coram-se em vermelho), enquanto o corante Alcian-Blue (cora-se em azul) identifica as ácidas, especialmente as sialomucinas (DE FARIA *et al.*, 2007). Na mucosa cólica normal, a sialomucina é observada no terço superior das criptas e a sulfamucina é geralmente vista nos dois terços inferiores (FILIFE, 1975). Já nas ureterossigmoidostomias, observou-se que há uma substituição total pela sialomucina (que se cora em azul) sendo portanto designada “cripta azul” (SHANSUDDIN *et al.*, 1981; IANNONI *et al.*, 1986). Pacientes com adenocarcinoma de colo e retocolite ulcerativa apresentaram também esta distribuição de mucinas encontradas em derivações urinárias (SHAMSUDDIN *et al.*, 1981).

Os resultados deste experimento das mucinas por meio de histoquímica com PAS - Alcian Blue mostraram, de forma difusa, que ocorreu redução expressiva do conteúdo de mucinas em células caliciformes, tanto das regiões do epitélio cólico próximos a anastomoses ureterocolicas de animais submetidos a ureterossigmoidostomias (grupos IV, V e VI), quanto dos segmentos intestinais de ampliações vesicais submetidos às ampliações vesicais (grupos I e III).

A diminuição das células caliciformes, bem como a redução do conteúdo de mucinas já foram descritas por outros autores em conduto cólico de derivações urinária, em crianças (MOORCRAFT *et al.*, 1983).

Este fenômeno de redução de mucinas ácidas também foi observado em colo descendente de ratos submetidos à carcinogênese química (RUBIO *et al.*, 1991).

Quanto à avaliação da carcinogênese cólica, o estudo centrou-se não apenas nas alterações histopatológicas, como também na avaliação por meio de microscopia estereoscópica

de lesões pré-neoplásicas classicamente conhecidas como criptas aberrantes, bem como foco de criptas aberrantes (FCA) em animais submetidos a ureterossigmoidostomias (grupo IV, V e VI).

O FCA foi originalmente descrito por Bird em 1987, em ratos submetidos a carcinogênese química de colo. Alguns anos mais tarde, entretanto, o mesmo autor sugeriu, e outros confirmaram, que o foco de criptas aberrantes, na verdade, faz parte da evolução sequencial da carcinogênese cólica, que pode se tornar displásico, podendo originar adenomas e carcinoma de colo nesta ordem, servindo então como modelo de lesão precoce, ou seja, lesão pré-neoplásica na carcinogênese colorretal (McLELLAN; MEDLINE; BIRD, 1991; HURLSTONE; CROSS, 2005; ALRAWI *et al.*, 2006; MICHAEL, 2010).

Os FCA displásicos se assemelham aos adenomas e são mais comuns em polipose adenomatosa familiar, a qual resulta de uma mutação de linha germinal do gene APC. Além de displasia, estes FCA são caracterizados pela proliferação epitelial anormal nas regiões superiores das criptas, com mutações de K-ras (SUEHIRO; HINODA, 2007). Há relatos de que os FCA displásicos podem apontar instabilidade de microssatélite ou metilação com silenciamento epigenético (ORLANDO *et al.*, 2008). Por este motivo, a investigação de FCA em ratos submetidos a carcinogênese química do colo (azoximetano), vem se consagrando como modelo para ensaios com novas moléculas antineoplásicas (ALRAWI *et al.* 2006; BURLAMAQUI *et al.*, 2012).

Alguns autores constataram que a idade avançada em seres humanos pode influenciar no aparecimento espontâneo de FCA (RUDOLPH *et al.*, 2005). Outros citam uma prevalência de FCA de 53,6% em pessoas normais acima de 50 anos, 90% em pacientes com adenoma e 100% em pacientes com carcinoma colorretal (LEÓN; SÁENZ, 2007).

FCA com características de polipos hiperplásicos possuem mutação do proto-oncogene *RAS*, e FCA displásicos (microadenomas) estão associados com mutações do gene *APC* (NUCCI *et al.*, 1997).

A carcinogênese intestinal de derivações urinárias segue o mesmo curso já conhecido da carcinogênese intestinal, cuja lesão precursora é a cripta aberrante ou o foco de cripta ou aberrante?. Esta resposta poderia ser muito interessante no momento em que pudesse ser utilizada a pesquisa de FCA, na avaliação clínica preventiva de pacientes submetidos a derivações urinárias.

A via já estabelecida da carcinogênese cólica com formação de FCA, conhecida, é a mesma via da carcinogênese cirúrgica das derivações urinárias?

Para responder a esta pergunta encontra-se um antigo trabalho de Daher *et al.*, (1988), que, pesquisando antígenos de mucinas cólicas, por meio de imuno-histoquímica, em ratos submetidos a ureterossigmoidostomia, concluíram que a carcinogênese química colorretal pelo dimetil-hidrazina, é diferente da carcinogênese em ureterossigmoidostomias (DAHER *et al.*, 1988).

FCA ocorreria em ureterossigmoidostomias em ratos?

O que se conhece até o momento é a presença de FCA em carcinogênese química e outras doenças do colo com potencial para malignização.

Em recente trabalho, enviado e aceito para publicação, Dornelas *et al.*(2016), em modelo experimental clássico de ureterossigmoidostomias (CRISSEY; STEELE; GITTES, 1980), acompanhado por oito semanas, detectaram criptas aberrantes, tanto em ratos Wistar, submetidos a vesicossigmoidostomias por oito semanas, como em grupo-controle não operados, e não havia diferença estatisticamente significante em animais que receberam *L* lisina nas mesmas doses do experimento ora relatado. Não há outro relato na literatura.

Tem a *L* lisina ação promotora na carcinogênese no colo e/ou ureter de ureterossigmoidostomias? Considerando os FCA como lesão precursora de câncer de colo, a *L* lisina aumentaria a ocorrência dos FCA?

A promoção é efetuada por agentes promotores em células iniciadas. Os agentes promotores são capazes de levar células iniciadas à proliferação e com isso desenvolver mutações adicionais. Os promotores não são capazes de produzir mutação, mas a condição de manter a proliferação celular é obrigatória, para que possam contribuir para a carcinogênese (PITOT, 1993). Dornelas *et al.*(2012), em recente trabalho, constataram que a *L*- lisina tem ação promotora da carcinogênese de bexiga em ratos submetidos a carcinogênese química pelo BBN.

Apesar de serem observados três FCA de uma cripta no grupo VI e nenhuma no grupo IX, na comparação dos grupos VI e IX, os testes estatísticos revelaram que, nos tempos observados, não há relação de formação de FCA com a cirurgia ureterossigmoidostomia: $p=0,1818$ (Tabela 5).

Reddy *et al.*(2000) demonstraram pela primeira vez que a administração de celecoxibe durante a fase de promoção / progressão inibia significativamente o desenvolvimento do tumor induzido por azoximetano, sugerindo indiretamente que a eficácia quimiopreventiva deste agente é conseguida, mesmo durante as fases posteriores do desenvolvimento do tumor de colo. Outro elegante estudo, conduzido por Vaish e Sanyal

(2011), confirmou os achados, sugerindo que isso ocorre ao se inibir a expressão e a sinalização de NF- κ B e Jak3/Stat3, inibindo citocinas e assim, também, impedindo a inflamação e a carcinogênese (VAISH; SANYAL, 2011). Muitos outros pesquisadores têm comprovado a eficácia dos inibidores de COX 2. Neste estudo, os animais do grupo V, submetidos a ureterossigmoidostomia e que receberam celecoxibe não tiveram redução de FCA, em relação ao grupo-controle (grupo VI), submetido a ureterossigmoidostomia e água destilada.

Nos animais dos grupos IV, V e VI (submetidos à ureterossigmoidostomia), em relação ao número de criptas aberrantes, bem como ao número de FCA, não ocorreu significância estatística entre os grupos, fazendo crer que o aparecimento destes focos não foi influenciado por cirurgia, administração de *L* lisina, celecoxibe e água destilada.

Alguns autores observaram correlação do câncer com o número de FCA, outros com a multiplicidade de criptas (CADERNI *et al.*, 1995; MAGNUSON *et al.*, 2000). No estudo sob relação, não foram encontradas multiplicidades de criptas aberrantes. A maioria dos FCA continha apenas uma cripta e não havia displasias nos FCA. Teria o FCA de uma cripta sem displasia importância na carcinogênese de colo? Sabe-se que a multiplicidade de criptas aberrantes está associada fortemente ao câncer de colo, ou seja, um FCA de cinco criptas tem maior associação com a displasia e o câncer de colo do que um FCA de uma cripta.

Foram observados FCA em animais não operados com uso apenas de *L* lisina (grupo VII) e apenas um animal desenvolveu dois FCA: um de duas criptas e outro de três.

Muito embora o significado do encontro de FCA isolado, sem displasias, ainda seja desconhecido, existem relatos de involução de FCA, assim como de adenomas. Também foi descrito surgimento espontâneo de FCA em ratos Fischer 344, sem uso de carcinógeno (FURUKAWA *et al.* 2002; TANAKAMARU *et al.*, 2001). A dieta comercial pode favorecer a indução de FCA em animais modificados (SVENDSEN, *et al.* 2012). Recentemente, Burlamaqui *et al.* (2012), utilizando azoximetano para carcinogênese cólica experimental, referiram existência de FCA, apesar de escassas, em ratos Wistar, que não receberam carcinógeno.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram realizadas duas técnicas cirúrgicas em ratas: cistoplastia com segmento de colo e ureterossigmoidostomias. Os efeitos da *L* lisina no epitélio do colo de ratos submetidos a ureterossigmoidostomia foram inicialmente avaliados pela análise de FCA a microscopia estereoscópica, após fixação com formol e coloração pelo azul de metileno. Seguiu-se estudo histopatológico dos epitélios ureterais, cólicos e vesicais em todos os grupos, corados pela hematoxilina e eosina e PAS *Alcian Blue*.

Pode-se observar é que, apesar de haver um número de FCA maior em ratas submetidas a ureterossigmoidostomia, eles foram em sua maioria de apenas uma cripta aberrante, sem displasias, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos IV, V, VI, VII, VIII e IX, portanto, não ocorreu proteção ou promoção de carcinogênese em ratas tratadas com *L* lisina pelo método de avaliação de criptas aberrantes.

Em relação aos estudos histopatológicos, o que se observa é hiperplasia urotelial de leve a moderada em região de anastomose de ampliações vesicais e “metaplasia transicional” (MT) no epitélio glandular do colo. A MT ocorreu mais em animais que receberam *L* lisina, em relação ao grupo-controle ($p=0,045$). Em nenhum destes animais, foram notadas células inflamatórias no epitélio vesical e ou intestinal. Nas ureterossigmoidostomias aconteceram hiperplasia urotelial (plana, papilar e nodular), de moderada a acentuada intensidade, no epitélio ureteral, e três pólipos ureterais, com maior intensidade (acentuada) nos grupos que receberam *L* lisina mas sem significância estatística em relação ao grupo-controle ($p= 0,024$). Havia infiltrado inflamatório constituído por linfócitos, de leve a acentuada intensidade. Quanto à coloração pelo *Alcian Blue*, havia acentuada diminuição de células caliciformes e de mucinas em colo, em todas as ratas operadas. Em alguns animais do grupo V, que receberam celecoxibe, observou-se leve inflamação ureteral relacionada com maior tempo de funcionalidade. Na histopatologia pelo HE, a *L* lisina influenciou na presença de “metaplasia transicional” de ampliações vesicais.

6- CONCLUSÃO

A *L* lisina não influenciou na carcinogênese dos epitélios intestinal ureterossigmoidostomias em ratas, nos tempos, doses e pelo método de avaliação de criptas aberrantes.

A *L* lisina influenciou, antecipando as alterações epiteliais de “metaplasia urotelial” em segmento intestinal de ampliações vesicais.

Criptas aberrantes não seguem o modelo de carcinogênese de colo em ratos submetidos a ureterossigmoidostomias.

REFERENCIAS

- ADAMS, M. C.; MITCHELL, M. E.; RINK, R. C. Gastrocystoplasty: an alternative solution to the problem of urological reconstruction in the severely compromised patient. **The Journal of Urology**, v.140, n. 5, pt. 2, p. 1152-1156, 1988.
- ALRAWI, S. J. *et al.* Aberrant crypt foci. **Anticancer Research**, v. 26, n. 1A, p.107-119, 2006.
- ANDREOLLO, N. A.; SANTOS, E. F.; ARAUJO, M. R.; LOPES, L. R. Rat's age versus human's age: what is the relationship? **Arquivos Brasileiros de Cirurgias Digestivas**, v. 25, n. 1, p. 49-51, 2012.
- APPANNA, T. C. *et al.* Comparative genomic hybridization (CGH) of augmentation cystoplasties. **International Journal of Urology**, v.14, n. 6, p. 539-544, 2007.
- BALACHANDRA, B. *et al.* Adenocarcinoma arising in a gastrocystoplasty. **Journal of Clinical Pathology**, v. 60, n. 1, p. 85-87, 2007.
- BIARDEAU, X. *et al.* Risk of malignancy after augmentation cystoplasty: A systematic review. **Neurourology and Urodynamics**, p. 1-8, 2015.
- BIRD, R. P. Observations and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. **Cancer Letters**, v. 37, n. 2, p. 147-151, 1987.
- BLANKE, C. D. Celecoxib with chemotherapy in colorectal cancer. **Oncology (Williston Park)**, v. 16, n. 4, Suppl. 3, p.17-21, 2002.
- BRICKER, E. M. Bladder substitution after pelvic evisceration. **Surgical Clinics of North America**, v. 30, p. 1511-1521, 1950.
- BROOKS, J. B. *et al.* Analysis by gas chromatography of amines and nitrosamines produced *in vivo* and *in vitro* by *Proteus mirabilis*. **The Journal of Infectious Disease**, v. 126, n. 2, p. 143-153, 1972.
- BURLAMAQUI, I. M.L. *et al.* Optimization of visibility and quantification of aberrant crypt foci in colonic mucosa in Wistar rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 148-152, 2010.
- BURLAMAQUI, I. M. *et al.* Effect of a hyperlipidic diet rich in omegas 3, 6 and 9 on aberrant crypt formation in rat colonic mucosa. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 30-36, 2012.
- BUSON, H. *et al.* The development of tumors in experimental gastroenterocystoplasty. **The Journal of Urology**, v. 150, n. 2, pt. 2, p. 730-733, 1993.
- CADERNI, G. *et al.* Characterisation of aberrant crypt foci in carcinogen-treated rats: association with intestinal carcinogenesis. **British Journal of Cancer**, v. 71, n. 4, p. 763-769, 1995.
- CASTELLAN, M. *et al.* Tumor in bladder reservoir after gastrocystoplasty. **The Journal of Urology**, v. 178, n. 4, pt. 2, p. 1771-1774, 2007.

- CASTRO, M. A. *et al.* Histological and histochemical changes of the intestinal mucosa at the urothelial-enteric anastomotic site. **International Braz J Urol.**, v. 32, n. 2, p. 222-227, 2006.
- CHESTER, J. F. *et al.* N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide-induced bladder cancer in mice: augmentation by sutures through the bladder wall. **The Journal of Urology**, v. 137, n. 4, p. 769-771, 1987.
- CHIANG, M. S. *et al.* Carcinoma in a colon conduit urinary diversion. **The Journal of Urology**, v. 127, n. 6, p. 1185-1187, 1982.
- CHIARELLI, S. M.; SANDEI, F. Polyps at the site of ureterosigmoidostomy. **Tumori Journal**, v. 70, n. 2, p. 209-215, 1984.
- CLOSE, C. E. *et al.* Flow cytometry analysis of proliferative lesions at the gastrocystoplasty anastomosis. **The Journal of Urology**, v. 169, n. 1, p. 365-368, 2003.
- CORFIELD, A. P. *et al.* Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease. **Gut**, v. 47, n. 4, p. 589-594, 2000.
- CORFIELD, A. P.; CARROLL, D.; MYERSCOUGH, N.; PROBERT, C. S. Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease. **Frontiers in Bioscience: a journal e virtual library**, v.6, p. D1321-57, 2001.
- CRISSEY, M. M.; STEELE, G. D.; GITTES, R. F. Rat model for a carcinogenesis in ureterosigmoidostomy. **Science**, v. 207, n. 4435, p. 1079-1080, 1980.
- DAHER, N. *et al.* Rat colonic carcinogenesis after ureterosigmoidostomy: pathogenesis and immunohistological study. **The Journal of Urology**, v. 139, n. 6, p. 1331-1336, 1988.
- DEANE, A. M.; WOODHOUSE, C. R.; PARKINSON, M.C. Histological changes in ileal conduits. **The Journal of Urology**, v. 132, n. 6, p. 1108-1111, 1984.
- DE-FARIA JR., P. C. *et al.* Relationship of the sialomucins (Tn and Stn antigens) with adenocarcinoma in Barrett's esophagus. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.53, n. 4, p. 360-364, 2007.
- DESESSO, J. M. Anatomical relationships of urinary bladders compared: their potential role in the development of bladder tumours in humans and rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 9, p. 705-714, 1995.
- DIXON, B. P. *et al.* Increased cancer risk of augmentation cystoplasty: possible role for hyperosmolal microenvironment on DNA damage recognition. **Mutation Research**, v. 670, n. 1-2, p. 88-95, 2009.
- DO, K.; BARNARD, G.F. Effect of concomitant polyethylene glycol and celecoxib on colonic aberrant crypt foci and tumors in F344 rats. **Digestive Diseases and Sciences**. v. 50, n. 7, p. 1304-1311, 2005.

DORNELAS, C. A. **Carcinogênese e derivação urinária:** estudo experimental em ratos submetidos à ampliação vesical por segmento de reto.1994. 77f. Tese(Mestrado em Urologia) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

DORNELAS C.A.*et al.* Chemoprevention with green propolis extracted in L-lysine versus carcinogenesis promotion with L-lysine in N-butyl-N-[4-hydroxybutyl] nitrosamine (BBN) induced rat bladder cancer.**Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 185-192, 2012a.

DORNELAS, C.A.*et al.*Angiogenesis inhibition by green propolis and the angiogenic effect of L-lysine on bladder cancer in rats.**ActaCirúrgica Brasileira**,v.27, n.8, p. 529-536, 2012b.

DORNELAS, C. A. *et al.* Modelo experimental para estudos de ureterosigmoidostomia em ratas. *In:* CONGRESSO INTERNACIONAL DE CIRURGIA EXPERIMENTAL I FÓRUM DE PESQUISA EM CIRURGIA TRANSLACIONAL, 2014, São Paulo. **Anais...**São Paulo, 2014.

DORNELAS, C.A. *et al.* Novo modelo experimental para ureterosigmoidostomia em ratas wistar. *In:* CONGRESSO BRASILEIRO DE UROLOGIA, 2015, Rio de Janeiro. **Anais...**Rio de Janeiro, 2015.

DORNELAS, C.A. *et al.* Bladder carcinogenesis in rats subjected to ureterosigmoidostomy treated with l-lysine. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 43 n.2, p. 80-86, 2016

DULL, B. J.; GITTES, R. F.; GOLDMAN, P. Nitrate production and phagocyte activation: differences among Sprague-Dawley, Wistar-Furth and Lewis rats. **Carcinogenesis**, v. 9, n. 4, p. 625-627, 1988.

EL-TAJI, O. M.; KHATTAK, A. Q.; HUSSAIN, S. A. Bladderreconstruction: The past, present and future.**Oncology Letters**, v. 10, n. 1, p. 3–10, 2015.

ERAKLIS, A. J.; FOLKMAN, M. J. Adenocarcinoma at the site of ureterosigmoidostomies for exstrophy of the bladder. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 13, n. 6D, p. 730-734, 1978.

FEARON, E. R.; VOGELSTEIN, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. **Cell**, v. 61, n. 5, p. 759-767, 1990.

FERNANDES, E.T.; GONZALEZ, R. Bexiga neurogênica na criança:Fisiologia e tratamento. **Jornal Brasileiro de Urologia**,v. 20, n. 1, p.1-5, 1994.

FILIPE, M. I. The value of a study of the mucosubstances in rectal biopsies from patients with carcinoma of the rectum and lower sigmoid in the diagnosis of premalignant mucosa. **Journal of Clinical Pathology**, v. 25, n. 2, p. 123-128, 1972.

FILIPE, M. I. Mucous secretion in rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. A morphological and histochemical study. **British Journal of Cancer**, v. 32, n.1, p. 60-77, 1975.

FILMER, R. B.; SPENCER, J. R. Malignancies in bladder augmentations and intestinal conduits. **The Journal of Urology**, v. 143, n. 4, p. 671-678, 1990.

FURUKAWA, F. *et al.* Spontaneous development of aberrant crypt foci in F344 rats. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 21, n. 2, p.197-201, 2002.

GILLMAN, J. C. Adenomatous polyp of bowel following ureterocolic anastomosis. A case report and review of the literature. **British Journal of Urology**, v. 36, p. 264-270, 1964.

GEPI-ATTEE, S. *et al.* Villous adenoma in augmentation colocolic anastomosis: a case report and discussion of the pathogenesis. **The Journal of Urology**, v. 147, n. 1, p. 128-130, 1992.

GITLIN, J. S. *et al.* New concepts of histological changes in experimental augmentation cystoplasty: insights into the development of neoplastic transformation at the enterovesical and gastrovesical anastomosis. **The Journal of Urology**, v. 162, n. 3, p. 1096-1100, 1999.

GITTES, R.F. Carcinogenesis in ureterosigmoidostomy. **Urologic Clinics of North America**, v. 13, n. 2, p. 201-205, 1986.

GOLOMB, J. *et al.* Bladder neoplasms associated with augmentation cystoplasty: Report of 2 cases and literature review. **The Journal of Urology**, v. 142, n. 2, pt. 1, p. 377-380, 1989.

GREENWALD, P.; CLIFFORD, C. Cancer prevention. *In*: DEVITA JUNIOR, V. T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. **Cancer: Principles & Practice of Oncology**. 4. ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1993. p .458.

GREGOIRE, M., KANTOFF, P., DeWOLF, W. C. Synchronous adenocarcinoma and transitional cell carcinoma of the bladder associated with augmentation: case report and review of the literature. **The Journal of Urology**, v.149, n.1, p.115-118, 1993.

GRUBBS, C. J. *et al.* Celecoxib inhibits N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine-induced urinary bladder cancers in male B6D2F1 mice and female Fischer-344 rats. **Cancer Research**, v. 60, n. 20, p. 5599-5602, 2000.

HAMMER, E. Cancer du colon sigmoïde dix ans après implantation des uretères d'une vessie exstrophée. **Journal d'Urologie et Néphrologie**, v. 28, n. 1, p. 260-263, 1929.

HARZMANN, R. F.; WECKERMANN, D.; AUGSBURG, F. R. G. Cancer induction caused by urinary diversion using intestine. **The Journal of Urology**, v. 141, n. 4, pt. 2, p. 304 A, 1989.

HERMANEK, P. Dysplasia-carcinoma sequence, types of adenomas and early colo-rectal carcinoma. **European Journal of Surgical Oncology**, v. 13, n. 2, p. 141-143, 1987.

HIGUCHI, T. T. *et al.* Augmentation cystoplasty and risk of neoplasia: fact, fiction and controversy. **The Journal of Urology**, v. 184, n. 6, p. 2492-2496, 2010.

HILL, M. Nitrates and bacteriology. Are these important etiological factors in gastric carcinogenesis? **Advances Bioscience**, v. 32, p. 489-492, 1980.

HILL, M. J.; HUDSON, M. J.; STEWART, M. The urinary bacterial flora in patients with three types of urinary tract diversion. **Journal of Medicine and Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 221-226, 1983.

HOHENFELLNER, R.; WAMMACK, R. **Continent urinary diversion**. London: C. Livingstone, 1992. p. 8-9.

HURLSTONE, D. P.; CROSS, S. S. Role of aberrant crypt foci detected using high-magnification-chromoscopic colonoscopy in human colorectal carcinogenesis. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 20, n. 2, p. 173-181, 2005.

HUSMANN, D. A.; SPENCE, H. M. Current status of tumor of the bowel following ureterosigmoidostomy: a Review. **The Journal of Urology**, v. 144, n. 3, p. 607-610, 1990.

HUSMANN, D. A.; RATHBUN, S. R. Long-term follow up of enteric bladder augmentations: the risk for malignancy. **Journal of Pediatric Urology**, v. 4, n. 5, p. 381-385, 2008.

HUSMANN, D. A. Malignancy after gastrointestinal augmentation in childhood. **Therapeutic Advances in Urology**, v. 1, n. 1, p. 5-11, 2009.

IANNONI, C. *et al.* Abnormal patterns of colorectal mucin secretion after urinary diversion of different types: histochemical and lectin binding studies. **Human Pathology**, v. 17, n. 8, p. 834 -840, 1986.

IARC – International Classification of rodent tumours. Part I: The rat. 3 - urinary system. **IARC Scientific Publications**, v. 122, p. 1-46, 1992.

IBARGUREN, R. L. *et al.* Adenocarcinoma de colon. Desarrollo sobre colicistoplastia. **Archivos Españoles de Urologia**, v. 42, n. 5, p. 459-461, 1989.

KADOW, C. *et al.* Adenocarcinoma in a substitution caecocystoplasty. **British Journal of Urology**, v. 63, n. 6, p. 649-650, 1989.

KÄLBLE, T. *et al.* Tumor induction in a rat model for ureterosigmoidostomy without evidence of nitrosamine formation. **The Journal of Urology**, v. 146, n. 3, p. 862-866, 1991.

KÄLBLE, T. *et al.* Secondary malignancies in urinary diversions. **Der Urologe**, v. 51, n. 4, p. 500-506, 2012.

KÄLBLE T. Continent urinary diversion - ureterosigmoidostomy: 50 years follow-up. [Article in German]. **Aktuelle Urol.**, v.44, n. 6, p. 430- 431, 2013.

KIM, Y.S.; HO, S. B. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. **Current Gastroenterology Reports**, v.12, n.5, p. 319-330, 2010.

KISPAL, Z. F. *et al.* Long-term histological and mucin alterations in the neobladder mucosa following urinary bladder augmentation or substitution with gastrointestinal segment. **Journal of Pediatric Urology**, v. 11, n. 6, p. 349.e1–349.e6, 2015.

- KLEIN, R. D. *et al.* Transitional cell hyperplasia and carcinomas in urinary bladder of transgenic mice with keratin 5 promoter-driven cyclooxygenase-2 overexpression. **Cancer Research**, v. 65, n. 5, p. 1808-1813, 2005.
- KUMAGAI, J. *et al.* A case of bladder cancer arising after augmentation cystoplasty using ileal patch for interstitial cystitis. **Hinyokika Kiyo**, v. 60, n. 10, p. 513-515, 2014.
- LANE, G.I.; KWAAN, M.; LEWIS, J. Squamous cell carcinoma at bladder exstrophy site after early cystectomy. **Pediatric Surgical International**, v. 31, n. 11, p. 1107-1110, 2015.
- LANG, M.; GASCHE, C. Chemoprevention of colorectal cancer. **Digestive Diseases**, v. 33, n. 1, p. 58-67, 2015.
- LÉON, M.V.; SÁENZ, F.R. Focos de criptas aberrantes el comienzo de la historia - Aberrant crypts foci, the beginning of the tale. **Gastroenterología Latinoamericana**, v.18, n. 4, p. 383-389, 2007.
- LIEN, W. M. Tumours of the sigmoid colon following ureterosigmoidostomy. **Postgraduate Medical Journal**, v. 49, n. 569, p. 209-211, 1973.
- LIU, C.H. *et al.* Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. **Journal Biology Chemical**, v.276, n. 21, p. 18563–18569, 2001.
- LIU, B.; QU, L.; YAN, S. Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity. **Cancer Cell International**, v. 15, 2015.
- L- LYSINE. **Alternative Medicine Review**, v.12, n. 2, 2007.
- LUK, G. D.; BAYLIN, S. B. Ornithine decarboxylase as a biologic marker in familial colonic polyposis. **The New England Journal of Medicine**, v. 311, n. 2, p. 80-83, 1984.
- MAKINO, K. *et al.* Adenocarcinoma at Anastomotic Site of Ureterosigmoidostomy Potentially of Urothelial Origin Spreading to the Upper Urinary Tract. **Case Report Urology**, 2015.
- MAGNUSON, B. A. *et al.* Increase susceptibility of adult rats to azoxymethane-induced aberrant crypt foci. **Cancer Letters**, v. 161, n. 2, p. 185-193, 2000.
- MAZHAR, D.; GILLMORE, R.; WAXMAN, J. COX and cancer. **QJM**, v. 98, n. 10, p. 711-718, 2005.
- McLELLAN, E. A.; MEDLINE, A.; BIRD, R. P. Sequential analyses of the growth and morphological characteristics of aberrant crypt foci: putative preneoplastic lesions. **Cancer Research**, v. 51, n. 19, p. 5270-5274, 1991.
- MICHAEL, J. *et al.* Aberrant Crypt Foci: The case for inclusion as biomarker for colon cancer. **Cancers (Basel)**, v. 2, n. 3, p. 1705–1716, 2010.
- MIERSCH, W. D. E.; VOGEL, J. Induction of carcinoma at ureterosigmoid anastomosis— with and without faecal stream. **British Journal of Urology**, v. 69, n. 5, p.499-506, 1992.

- MIRVISH, S. S. Effects of vitamins C and E on N-nitroso compound formation, carcinogenesis, and cancer. **Cancer**, v. 58, p. 1842-1850, 1986.
- MIWA, M. *et al.* Nitrosation of amines by stimulated macrophages. **Carcinogenesis**, v.8, n. 7, p. 955-958, 1987.
- MOGG, R. A. The treatment of neurogenic urinary incontinence using the colonic conduit. **British Journal of Urology**, v. 37, n. 6, p. 681-686, 1965.
- MOORCRAFT, J. *et al.* Changes the mucosa of colon conduits with particular reference to the risk of malignant change. **British Journal of Urology**, v. 55, n. 2, p. 185-188, 1983.
- NEGI, A.K. *et al.* Celecoxib and fish oil: a combination strategy for decreased inflammatory mediators in early stages of experimental mammary cancer. **Inflammopharmacology**. 9 Jan. 2016.
- NUCCI, M.R. *et al.* Phenotypic and genotypic characteristics of aberrant crypt foci in human colorectal mucosa. **Human Pathology**, v. 28, n.12, p.1396-1407, 1997.
- NURSE, D. E.; MUNDY, A. R. Assessment of the malignant potential of cystoplasty. **British Journal of Urology**, v. 64, n. 5, p. 489-492, 1989.
- OLUMI, A. F. *et al.* Allelic loss of chromosome 17p distinguishes high grade from low grade transitional cell carcinomas of the bladder. **Cancer Research**, v. 50, n. 21, p.7081- 7083, 1990.
- OGATA, D. C. *et al.* Aberrant crypt foci and cancer of the colorectal junction: the correlation between β -catenin/Ki-67 expression and the occurrence of early microscopic secondary lesions surrounding periphery colorectal cancer. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, n.2, 2010.
- ORLANDO, F. A. *et al.* Aberrant crypt foci as precursors in colorectal cancer progression. **Journal of Surgical Oncology**, v. 98, n. 3, p. 207-213, 2008.
- OSHIMA, M., *et al.* Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). **Cell**, v.87, n.5, p. 803-809, 1996.
- OYASU, R. Epithelial tumours of the lower urinary tract in humans and rodents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 9, p.747-755, 1995.
- PAGLIARULO, V. *et al.* Celecoxib for the prevention of nonmuscle invasive bladder cancer: results from a matched control study. **Therapeutic advances in urology**, v.6, n. 6, p. 303-311, 2015.
- PHILLIPS, T. H. *et al.* Complications of the Heitz-Boyer urinary diversion: case report of late development of malignancy. **The Journal of Urology**, v. 146, n. 1, p. 159-161, 1991.
- PITOT, H.C. The molecular biology of carcinogenesis. **Cancer**, v. 72, sup. 3, p. 962-970, 1993.

POZHARISSKI, K. M. The significance of nonspecific injury for colon carcinogenesis in rats. **Cancer Research**, v. 35, n. 12, p. 3824-3830, 1975.

PUISIEUX, A. *et al.* Selective targeting of p53 gene mutational hotspots in human cancers by etiologically defined carcinogens. **Cancer Research**, v. 51, n. 22, p. 6185-6189, 1991.

QUINN, R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? **Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 775-777, 2005. Disponível em: < <http://www.ratbehavior.org/RatYears>>. Acesso em: 29 dez. 2015.

QIU, H.; KORDUNSKAYA, S.; YANTISS, R. K. Transitional cell carcinoma arising in the gastric remnant following gastrectomy: a case report and review of the literature. **International Journal of Surgical Pathology**, v. 11, n. 2, p. 143-147, 2003.

RAO, C.V. *et al.* Inhibition of azoxymethane-induced colorectal cancer by CP-31398, a TP53 modulator, alone or in combination with low doses of celecoxib in male F344 rats. **Cancer Research**, v. 69, n. 20, p. 8175-8182, 2009.

REDDY, B. S. *et al.* Chemoprevention of colon cancer by specific cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, administered during different stages of carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 60, n. 2, p. 293-297, 2000.

RIVARD, J.; BEDARD, A.; DIONNE, L. Colonic neoplasms following ureterosigmoidostomy. **The Journal of Urology**, v. 113, n. 6, p. 781-786, 1975.

RODENT BLADDER CARCINOGENESIS WORKING GROUP. Urinary bladder carcinogenesis: implications for risk assessment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 9, p. 797-802, 1995.

RUBIO, C.A.; RIVERA, F. Quantification of acid mucins in the descending colon of rats having simultaneously growing colonic tumors. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v. 99, n. 11, p. 993-996, 1991.

RUDOLPH, R. E. *et al.* Risk factors for colorectal cancer in relation to number and size of aberrant crypt foci in humans. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 14, n. 3, p. 605-608, 2005.

SCHIPPER, H.; DECTER, A. Carcinoma of the colon arising at ureteral implant sites despite early external diversion: pathogenetic and clinical implications. **Cancer**, v. 47, n. 5, p. 2062-2065, 1981.

SHAMSUDDIN, A. K. M.; TRUMP, B.F. Colon epithelium. I. Light microscopic, histochemical, and ultrastructural features of normal colon epithelium of male Fischer 344 rats. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 66, n. 2, p. 375-388, 1981.

SHOUSA, S.; SCOTT, J.; POLAK, J. Ileal loop carcinoma after cystectomy for bladder exstrophy. **British Journal of Urology**, v. 2, n. 6134, p. 397-398, 1978.

SLAGA, T. J. *et al.* Skin tumor-promoting activity of Benzoyl Peroxide, a widely use free radical-generating compound. **Science**, v. 213, n. 4511, p. 1023-1025, 1981.

SMITH, P.; HARDY, G. J. Carcinoma occurring as a late complication of ileocystoplasty. **British Journal of Urology**, v. 43, n. 5, p. 576-579, 1971.

SOHN, M. *et al.* Signet ring cell carcinoma in adenomatous polyp at site of ureterosigmoidostomy 16 years after conversion to ileal conduit. **The Journal of Urology**, v. 143, n. 4, p. 805-807, 1990.

SPENCE, H. M.; HOFFMAN, W. W.; FOSMIRE, G. P. Tumour of the colon as a late complication of ureterosigmoidostomy for exstrophy of the bladder. **British Journal of Urology**. v. 51, n. 6, p. 466-470, 1979.

SPORN, M. B.; ROBERTS, A. B. Peptide growth factors and inflammation, tissue repair, and cancer. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 78, n. 2, p. 329-332, 1986.

STARLING, J. R.; UEHLING, D. T.; GILCHRIST, K. W. Value of colonoscopy after ureterosigmoidostomy. **Surgery**, v. 96, n. 4, p. 784-790, 1984.

STEIN, J. P. *et al.* Radical cystectomy in the treatment of invasive bladder cancer: long-term results in 1,054 patients. **Journal of Clinical Oncology**, v. 19, n. 3, p. 666-675, 2001.

STEG, A. *et al.* Cancers du côlon après urétéro-sigmoidostomie ou après agrandissement vésical à l'aide d'un greffon colique. **Annales d'Urologie**, v. 19, n. 4, p. 283-287, 1985.

STEWART, M. Urinary diversion and bowel cancer. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, v. 68, n. 2, p. 98-102, 1986.

STRIBLING, M. D. *et al.* The effect of ascorbic acid on urinary nitrosamines and tumor development in rat animal model for ureterosigmoidostomy. **The Journal of Urology**, v. 141, n. 4, part. 2, p. 304A, 1989.

SUEHIRO, Y.; HINODA, Y. Genetic and epigenetic changes in aberrant crypt foci and serrated polyps. **Cancer Science**, v.99, n.6, p.1071-6, 2008.

SUGISHITA, K. *et al.* Adenocarcinoma arising in an ileum segment of Scheele's ring 50 years after cystoplasty. **Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi**, v. 105, n. 4, p. 207-11, 2014.

SVENDSEN, C. *et al.* The impact of commercial rodent diets on the induction of tumours and flat aberrant crypt foci in the intestine of multiple intestinal neoplasia mice. **Laboratory Animals**, v. 46, n. 3, p. 207-214, 2012.

TANAKAMARU, Z. *et al.* Essential similarities between spontaneous and MeIQx-promoted aberrant crypt foci in the F344 rat colon. **Cancer Letters**, v. 172, n. 2, p. 143-149, 2001.

TAPPER, D.; FOLKMAN, J. Lymphoid depletion in ileal loops: Mechanism and clinical implications. **Journal of Pediatric Surgery**, v. XI, n.5, p. 871-880, 1976.

THOMAS, D. J. *et al.* Histological and environmental changes in longstanding ileal conduits. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 83, n. 9, p. 557-558, 1990.

TOMASINO, R. M. *et al.* Histological and histochemical changes in the colon mucosa after ureterosigmoidostomy or colonic conduit. **European Urology**, v. 15, n. 3-4, p. 248-251, 1988.

URDANETA, L. F.; DUFFEL, D.; CREEVY, C. D.; AUST, J. B. Late development of primary carcinoma of the colon following ureterosigmoidostomy: report of three cases and literature review. **Annals of Surgery**, v. 164, n. 3, p. 503-513, 1966.

VAISH, V.; SANYAL, S. N. Chemopreventive effects of NSAIDs on cytokines and transcription factors during the early stages of colorectal cancer. **Pharmacological Reports**, v. 63, n. 5, p. 1210-1221, 2011.

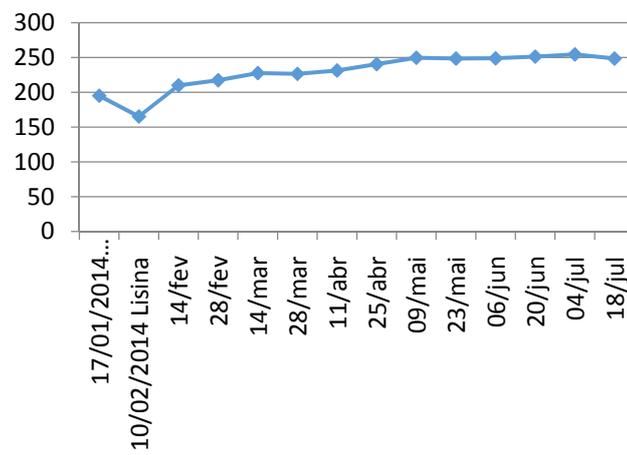
WADDELL W. R.; LOUGHRY, R. W. Sulindac for polyposis of the colon. **Journal Surgical Oncology**, v. 24, p. 83-87, 1983.

WEBER, T. R. *et al.* Malignancy associated with ureterosigmoidostomy: detection by mucosa ornithine decarboxylase. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 23, n. 12, p. 1091-1094, 1988.

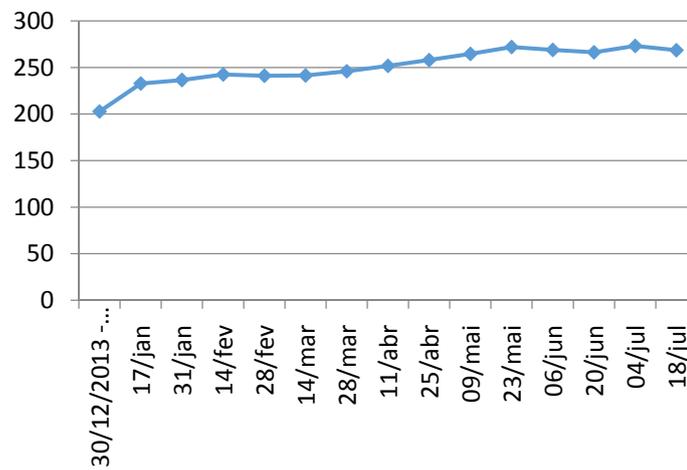
WEITZMAN, S. A. *et al.* Phagocytes as carcinogens: malignant transformation produced by human neutrophils. **Science**, v. 227, n. 4691, p. 1231-1233, 1985.

APÊNDICE A

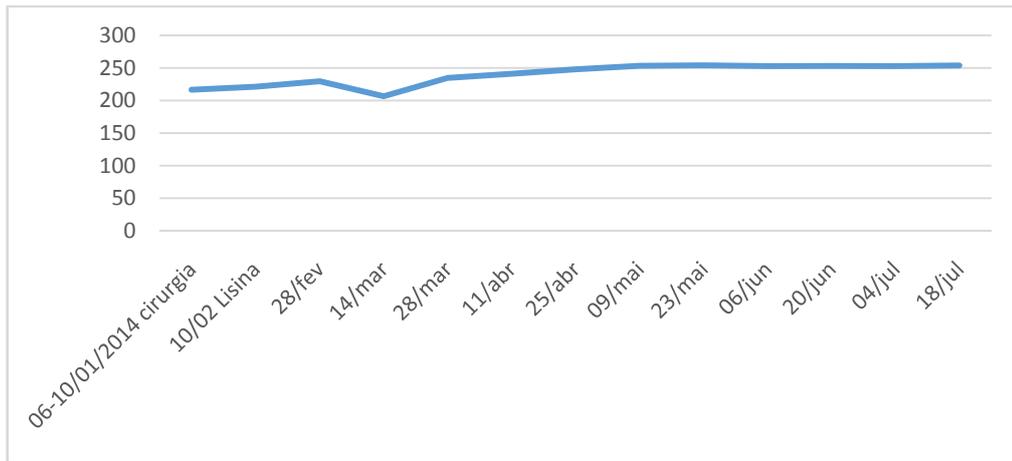
Média do peso corporal (g) do grupo I



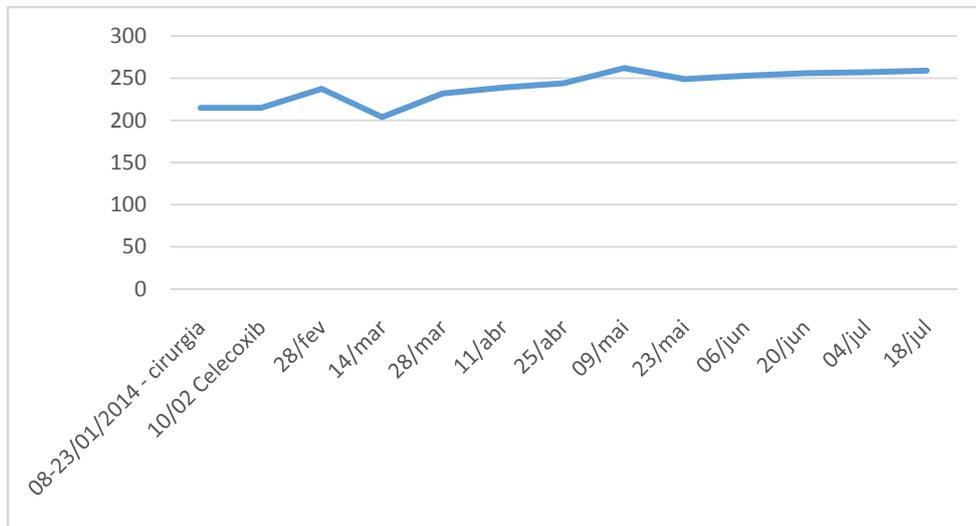
Média do peso corporal (g) do grupo III



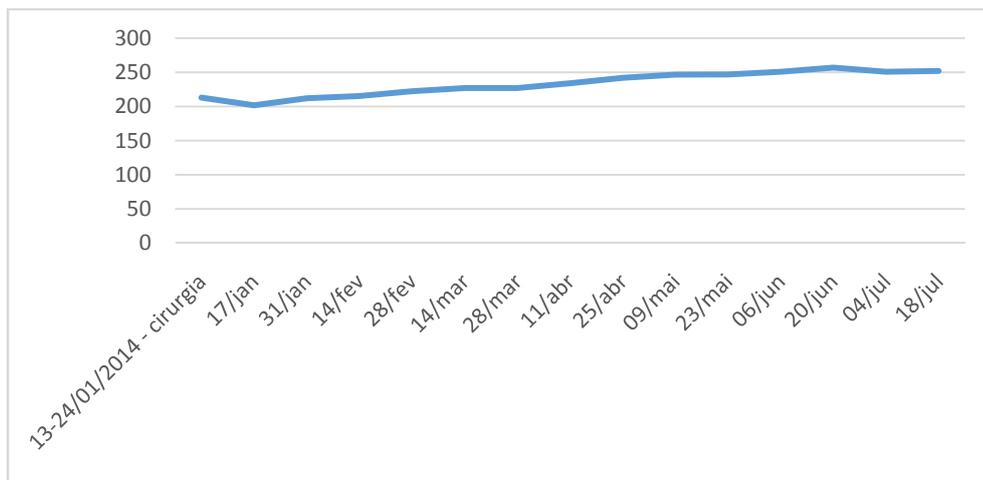
Média do peso corporal (g) do grupo IV



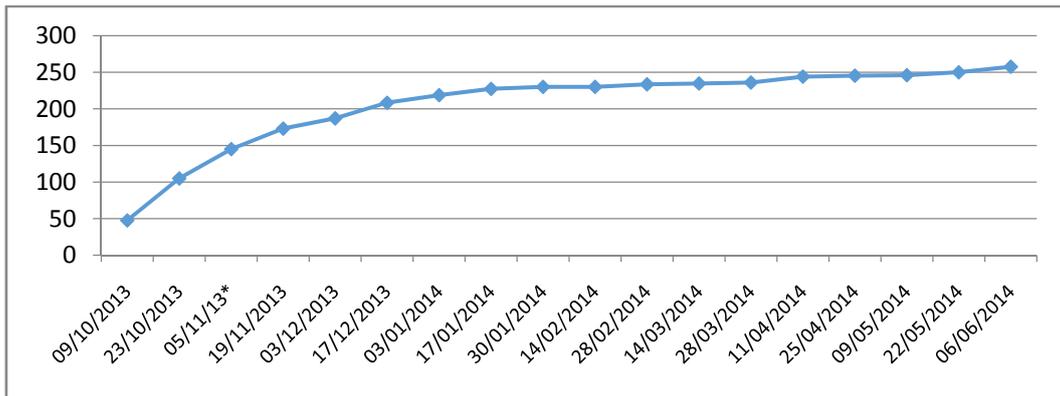
Média do peso corporal (g) do grupo V



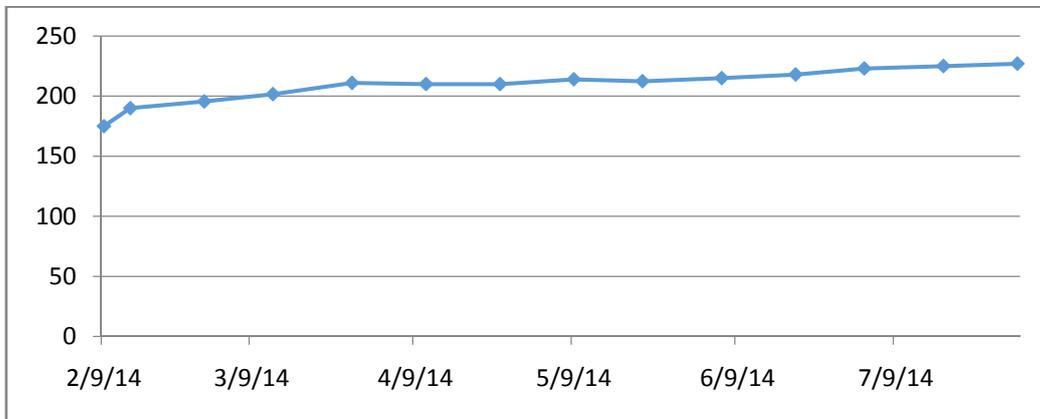
Média do peso corporal (g) do grupo VI



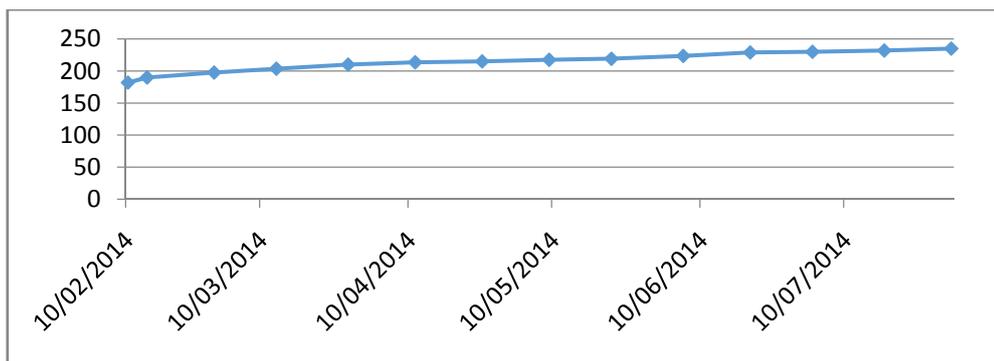
Média do peso corporal (g) do grupo VII (controle)



Média do peso corporal (g) do grupo VIII (controle)



Média do peso corporal (g) do grupo IX (controle)



APÊNDICE B

Tabelas de achados macroscópicos correlacionando com data de óbito, sacrifício e pós-operatório

Grupo I – Ampliação Vesical e *L*-lisina

Animal	Data Cirurgia	Último P.O.	Achados macroscópicos Óbitos	Achados macroscópicos Sacrifício
R1	16/01	-	Óbito no pós-operatório imediato(Peritonite com fecaloma)	-
R2	16/01	201° 28s 5 d		05/08- – Múltiplas aderências na região da cirurgia Polipo 0,2mm localizado no colo descendente
R3	16/01	201° 28s 5 d		05/08 – – Múltiplas aderências na região da cirurgia. Nódulo de aproximadamente 0,5mm em pulmão lobo superior . Grande abscesso no polo superior do pulmão esquerdo (1,8 cm X 1,5 cm). Aderências no pulmão esquerdo
R4	22/01	-	Óbito no pós-operatório imediato(pneumonia + peritonite com fecaloma)	
R5	16/01	201° 28s 5 d		05/08- – Múltiplas aderências na região da cirurgia. Necropsia não evidenciou alterações macroscópicas
R6	17/01	200° 28s 5 d		05/08– Múltiplas aderências na região da cirurgia- Necropsia não evidenciou alterações macroscópicas
R7	22/01	195° 27s 6 d		05/08- – Múltiplas aderências na região da cirurgia. Abscesso pulmonar
R8	22/01	41° 5s 6 d	04/03- Pneumonia	

Grupo II – Ampliação vesical + celecoxibe

Animal	Data Cirurgia	Último P.O.	Achados macroscópicos Óbitos	Achados macroscópicos Sacrifício
R1	08/01	-	Óbito no pós-operatório imediato (peritonite com fecaloma)	
R3	10/01	-	Óbito no pós-operatório imediato(peritonite com fecaloma)	
R4	10/01	-	Óbito no pós-operatório imediato(peritonite com fecaloma)	
R5	10/01	-	Óbito no pós-operatório imediato(peritonite com fecaloma)	
R6	14/01	-	Óbito no pós-operatório imediato (peritonite com fecaloma)	
R7	22/01	-	Transferido para o Grupo I	
R8	22/01	-	Transferido para o Grupo I	

Grupo III– Ampliação vesical + água

Animal	Data Cirurgia	Último P.O.	Achados macroscópicos Óbitos	Achados macroscópicos Sacrificio
R1	06/12/2013	231° 33s		25/07 – – Múltiplas aderências na região da cirurgia. Necropsia não evidenciou alterações macroscópicas
R2	06/12/2013	231° 33s		25/07–Múltiplas aderências
R3	27/12/2013	210° 30 s		25/07 – Múltiplas aderências na região da cirurgia
R4	27/12/2013	210° 30s		25/07 — Múltiplas aderências na região da cirurgia. Necropsia não evidenciou alterações macroscópicas
R5	06/12/2013	231° 33s		25/07 – – Múltiplas aderências na região da cirurgia. Necropsia não evidenciou alterações macroscópicas
R6	30/12/2013	207° 29s4d		25/07 – – Múltiplas aderências na região da cirurgia Necropsia não evidenciou alterações macroscópicas
R7	30/12/2013	207° 29s4d		25/07 — Múltiplas aderências na região da cirurgia. Abscesso do pulmão esquerdo

Tabelas de achados macroscópicos correlacionando com dia de pós-operatório e óbito ou sacrifício e funcionalidade, nos animais submetidos a ureterossigmoidostomias

Grupo IV – Ureterossigmoidostomia + lisina

Animal	Data Cirurgia	Último P.O.	Achados macroscópicos Óbitos	Achados macroscópicos Sacrifício
R1	06/01	205° 29s2d		30/07 – Funcionante; rim mede 3,0x2,0x1,5 –uretero-hidronefrose moderada a esquerda;
R2	06/01	205° 28s5d		30/07 – Uretero-hidronefrose moderada; rim esquerdo mede 3,5x2,5x 2,0 - processo obstrutivo por calculo medindo 0,5cm.
R3	10/01	201° 28s5d		30/07 – Uretero-hidronefrose moderada, rim esquerdo medindo 3x4x5cm; não funcionante.
R4	07/01	204° 28s5d		30/07 –Funcionante, eliminando urina pelo orifício ureteral; rim mede 2,5x1,4x1,2 hidronefrose moderada à esquerda. Apenas resquício do polo superior
R5	07/01	108° 15s 3 d	25/04 – Funcionante; rim esquerdo 4,0x20x1,5 cm. apresentando pionefrose, rim dilatado e substituído por líquido purulento	
R6	07/01	204° 29s1d		30/07 – Funcionante; ureter dilatado;rim mede 2,0x1,8x1,0; uretero-hidronefrose moderada.
R7	07/01	72° 10s 2 d	16/06 – Óbito 18 semanas Cavity abdominal limpa; alças intestinais brilhantes; áreas de hemorragia importante; rins normais; discreta dilatação do ureter; hidronefrose discreta, pulmão com áreas de coloração vinhosa e esbranquiçadas. <i>Causa mortis</i> : pulmonar	
R8	13/01	198° 28s 2 d		30/07 – Funcionante;rim mede 2,0x0,5x0,6 cm; anastomose perfeita; hidronefrose discreta;

Grupo V – ureterosigmoidostomia + celecoxibe

Animal	Data Cirurgia	Último P.O.	Achados macroscópicos Óbitos	Achados macroscópicos Sacrifício
R1	08/01	202° 28s 6 d		29/07 – Região anal com indícios de funcionalidade da cirurgia; hidronefrose acentuada; rim esquerdo medindo 6x3x1,5 cm.
R3	10/01	73° 10s 3 d	24/03 – Não funcionante hidronefrose Acentuada do rim esquerdo mede 2,0x0,5x0,5 Funcionante. Múltiplos abscessos nos pulmões; abdome distendido; gases no intestino; cirurgia ok;	
R4	10/01	200° 28s 4 d		29/07 – Não funcionante; rim atrofiado, medindo 08x0,1x0,2cm; enorme abscesso pulmonar, 3 abscessos no pulmão esquerdo; hidrossalpinge.
R5	10/01	200° 28s 4d		29/07 – Funcionante; ureter dilatado; hidronefrose moderada; rim esquerdo medindo 3x2x1,5cm múltiplos abscessos hepáticos medindo cada um no máximo 1cm; múltiplos abscessos pulmonares; observados cálculos saindo pelo orifício do implante ureteral;
R6	14/01	196° 28s		29/07 – Funcionante; visualizados microabscessos no rim esquerdo; hidronefrose moderada; rim esquerdo medindo 2x1x1 cm.
R7	23/01	187° 26s 5 d		29/07 – Não funcionante; presença de aderências; rim atrofiado medindo 1,3x0,3x0,3 cm.
R8	15/01	195° 27s 6 d		29/07 – Funcionante; rim hidronefrose moderada esquerda, apresentando alguns abscessos e medindo 3x2,5x1 cm; ureter dilatado.

Grupo VI Ureterossigmoidostomia + água

Ani mal	Data Cirurgica	Último P.O.	Achados macroscópicos Óbitos	Achados macroscópicos Sacrifício
R1	13/01	164° 23s 3 d		26/06 – Não funcionante; rim hidronefrose acentuada mede 5,5x4,5x3,5 dilatação do ureter 0,5cm de diâmetro.
R2	24/01	182° 26 s		25/07 – Funcionante; uretero-hidronefrose. Rim mede 2,5x1,2x1,5 cm. Hidronefrose acentuada. Pequena lesão em pelve renal vegetante 0,4 cm friável. Pequeno cálculo em ureter distal implantado 0,3 cm
R3	13/01	193° 27s 4 d		25/07 – Semifuncionante; rim mede 2,3x 1,5x 1,5, hidronefrose acentuada
R4	13/01	193° 27s 4 d		25/07 – Funcionante; rim mede 2,0x1,3x 0,5 sem hidronefrose discreta apenas discreta cicatriz ureter discretamente dilatado
R5	13/01	193° 27s4d		25/07 – Funcionante; ureteropielonefrose acentuada ; rim esquerdo medindo 6x5x4cm; ureter dilatado, com diâmetro de 1cm, com secreção purulenta; hidrossalpinge.
R6	14/01	153° 21s6d	16/06 – Múltiplos abscessos pulmonares; hemorragia nasal; cavidade abdominal limpa; área de anastomose inteira; rim esquerdo hidronefrose moderada, medindo 3x2x1 cm ; visualizadas duas lesões polipoides em área do implante ureteral, medindo 0,4cm, distando entre si 0,5cm; fígado comprometido. <i>Causa mortis</i> : comprometimento pulmonar.	
R7	14/01	192° 27s3d		25/07 – Rim com pus e aderência; ureteropielonefrose acentuada; rim esquerdo medindo 3,8x1,7x 1,7 cm ureter dilatado apresentando 0,5 cm de diâmetro; funcionante; visualizado pus fétido na drenagem do rim.

APÊNDICE C

Laudos histopatológicos de ampliações vesicais relacionadas a tempo de vida em semanas e dias e ureterossigmoidostomias relacionadas a tempo de vida em semanas e dias e funcionalidade

Grupo I DO PÓS OP AO ÓBITO OU SACRIFÍCIO					
Rato	Tempo de vida (semanas-dias)	Intensidade da hiperplasia Na área de anastomose			Inflamação
		LEVE	MODERADA	ACENTUADA	
R1	01 s		--		--
R2	28 s 5 dias	X cisto	--		Não
R3	28 s 5 dias		X		Não
R4	01 s				-
R5	28 s 5 dias		X Metaplasia cisto		Não
R6	28 s 4 dias		X Metaplasia		Não
R7	27 s 6 dias		X Metaplasia		Não
R8	5 s 6 dias	-	-	-	-

Média aritmética de vida		
Grupo I		
Xi	Fi	Xi.Fi
	1	2
	2	2s
5s 6d	1	5s 6d
27s 6d	1	27s 6d
28s 4d	1	28s 4d
28s 5d	3	86s 1d
Total:	8	150s 3d
Média	18s 5d	
Total:		

Grupo III
DO PÓS OP AO ÓBITO OU SACRIFÍCIO

Rato	Tempo vida (semanas)	Intensidade de hiperplasia em área de anastomose			Inflamação
		LEVE	MODERADA	ACENTUADA	
R1	33 s	X			Não
R2	33 s	X			Não
R3	30 s		X cisto		Linfócitos só na área de anastomose (fio)
R4	30 s	X cisto			Não
R5	33 s	X cisto			Não
R6	29 s	X cisto			Não
R7	29 s		X cisto		Não
R8	01 s				

Média aritmética e vida Grupo III		
Xi	Fi	Xi.F i
01	1	1
29	2	58
30	2	60
33	3	99
Total	8	218
Média total: 27s 2d		

Grupo IV

Rato	Funcionalidade (semanas)	Sobrevida/Sacrifício (semanas)	Hiperplasia Intensidade L M A	Papiloma	Inflamação
R1	29	29 s 2 d	Acentuada	Sim*	Sim acentuada
R2	06	29 s 2 d	Acentuada	sim	Sim acentuada
R3	09	28 s 5 d	Acentuada	não	Sim acentuada
R4	29	29 s 1 d	Acentuada	não	Sim acentuada
R5	09	15 s 3 d	-	-	-
R6	29	29 s 2 d	Acentuada	não	Sim acentuada
R7	10	10 s 2 d	-	-	-
R8	28	28 s 2 d	Moderada	não	não

Média aritmética de vida
Grupo IV

Xi	Fi	Xi.Fi
10 s 2 d	1	10 s 2 d
15 s 3 d	1	15 s 3 d
28 s 2 d	1	28 s 2 d
28 s 5 d	1	28 s 5 d
29 s 1 d	1	29 s 1 d
29 s 2 d	3	87 s 6 d
Total	8	199 s 5 d
Média total		24 s 6 d

Grupo V

Rato	Funcionalidade (semanas)	Sobrevida/Sacrificio (semanas)	Hiperplasia L M S	Papiloma	Inflamação
R1	28	28 s 6 d	acentuada		não
R2	01	01 s	-	-	-
R3	05	10s 3 d	-	-	-
R4	05	28 s 4 d	Moderada	não	Sim acentuada
R5	28	28 s 4 d	Leve	não	leve
R6	05	28 s	Acentuada	não	Sim acentuada
R7	07	26s 5 d	Acentuada	não	Sim Acentuada picitos aglomerados
R8	07	27 s 6 d	Acentuada *Pólipo intestinal inflamatório	não	Sim Leve a moderada

Média aritmética de vida
Grupo V

Xi	Fi	Xi.Fi
01 s	1	01 s
10 s 3 d	1	10 s 3 d
26 s 5 d	1	26 s 5 d
27 s 6 d	1	27 s 6 d
28 s	1	28 s
28 s 4 d	2	57 s 1 d
28 s 6 d	1	28 s 6 d
Total	8	180 s
Média total	22 s 3 d	

Rato	Funcionalidade (semanas)	Sobrevida/Sacrifício (semanas)	Hiperplasia L M S	Papiloma	Inflamação leve moderada acentuada
R1	04	23s 3 d	Acentuada	sim	Moderada
R2	26	26 s	Moderada	não	Moderada
R3	27	27 s 4 d	Acentuada	não	Leve
R4	27	27 s 4 d	Moderada	não	Leve na anastomose Ureter sem inflamação
R5	07	27 s 4 d	Moderada	não	Leve na anastomose Ureter sem inflamação
R6	04	21 s 6 d	-	-	-
R7	07 (27 pus)	27s 3 d	Moderada		Acentuada
R8	02 s	02 s	-	-	-

Média aritmética
Grupo VI

Xi	Fi	Xi.Fi
02 s	1	02 s
21 s 6 d	1	21 s 6 d
23 s 3 d	1	23 s 3 d
26 s	1	26 s
27s 3 d	1	27s 3 d
27 s 4 d	3	82 s 5 d
Total	8	183 s 3 d
Média total	22 s 6 d	

ANEXO



Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 3366.8331 Fax: (85) 3366.8333

DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação n° 80/2011, sobre o projeto intitulado: **“EFEITOS DA PRÓPOLIS VERMELHA E DA LISINA NAS ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS, DISPLÁSICAS, PRÉ-NEOPLÁSICAS E NEOPLÁSICAS DE DERIVAÇÕES URINÁRIAS INTESTINAIS EM RATAS WISTAR.”**, de responsabilidade da Professora CONCEIÇÃO APARECIDA DORNELAS, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA – em reunião realizada em 07 de dezembro de 2011.

Fortaleza, 29 de fevereiro de 2012


Profa. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA