

Carcinogênese de bexiga em ratas submetidas à ureterossigmoidostomia tratadas com L-lisina

Bladder carcinogenesis in rats subjected to ureterosigmoidostomy and treated with L-lysine

CONCEIÇÃO APARECIDA DORNELAS¹; ALESSANDRA MARQUES DOS SANTOS²; ANTONIO LUCAS OLIVEIRA CORREIA³; CAMILA DE CARVALHO JUANES²; JOÃO PAULO FERREIRA COELHO⁴; BIANCA LOPES CUNHA⁴; ANDRÉ VINICIUS VIEIRA MACIEL⁴; FRANCISCO VAGNALDO FECHINE JAMACARU⁵.

RESUMO

Objetivo: o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da L-lisina nos epitélios vesical e intestinal de ratas submetidas à vesicossigmoidostomia. **Métodos:** quarenta ratas *Wistar*, foram divididas em quatro grupos: grupo I- grupo controle (Sham); grupo II- submetido à vesicossigmoidostomia e tratado com L-lisina 150mg/kg; grupo III- submetido apenas à vesicossigmoidostomia; e grupo IV- recebeu L-lisina 150mg/kg. Após oito semanas os animais foram sacrificados. **Resultados:** na bexiga de todos os animais operados observou-se hiperplasia simples, papilar e nodular de células transitórias, papiloma de células transitórias e metaplasia escamosa. Quanto à ocorrência de focos de criptas aberrantes nos colos dos animais operados, não foi evidenciado diferença estatística significativa em nenhum dos fragmentos distal, proximal e médio, e todos juntos (P=1,0000). **Conclusão:** apesar de, estatisticamente, não ter havido promoção de carcinogênese nos epitélios dos ratos tratados com L-lisina, no tempo observado, é nítida a histogênese da carcinogênese de bexiga em sua fase inicial, no epitélio vesical, em todos os ratos operados, estando esta provavelmente associada à infecção crônica e aos diminutos cálculos vesicais.

Descritores: Lisina. Carcinogênese. Neoplasias da Bexiga Urinária. Epitélio. Terapêutica.

INTRODUÇÃO

Hammer¹ descreveu, em 1929, o primeiro caso de carcinoma em ureterossigmoidostomia. O risco de câncer em áreas de anastomoses ou em alças intestinais de pacientes submetidos à cirurgias por derivações urinárias, ampliações vesicais ou substituições vesicais com segmentos intestinais é conhecido há bastante tempo. A maioria são adenocarcinomas, mas também foram descritos carcinomas de células transitórias. Embora o tempo de latência entre a cirurgia de derivação urinária e o aparecimento da neoplasia seja longo, sabe-se, por exemplo, que o risco de câncer após ureterossigmoidostomia é estimado em 200 a 500 vezes em relação à população geral. No entanto, não se conhece a exata fisiopatologia desse processo de carcinogênese. Sabe-se que as lesões pré-neoplásicas mais precoces na carcinogênese colorretal são os focos criptas aberrantes (FCA) displásicas, o MDF (Mucin depleted foci) e o BCAC (b-catenina-accumulated

crypts)². Dornelas *et al.*³ constataram que a L-lisina tem ação promotora na carcinogênese química de bexiga em ratos. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito deste aminoácido nos epitélios vesicais e intestinais de animais submetidos à derivação urinária por vesicossigmoidostomia, um modelo de carcinogênese cirúrgica experimental clássico⁴.

MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi realizado no Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC) e desenvolvido conforme o protocolo aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará.

Quarenta ratas *Wistar* pesando 150 gramas, foram divididas em quatro grupos: o grupo I (6 animais) foi submetido à abertura e fechamento da parede lateral do

1. Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza/CE, Brasil; 2. Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza/CE, Brasil; 3. Serviço de Oftalmologia do Hospital Geral de Fortaleza, Fortaleza/CE, Brasil; 4. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza/CE, Brasil; 5. Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza/CE, Brasil.

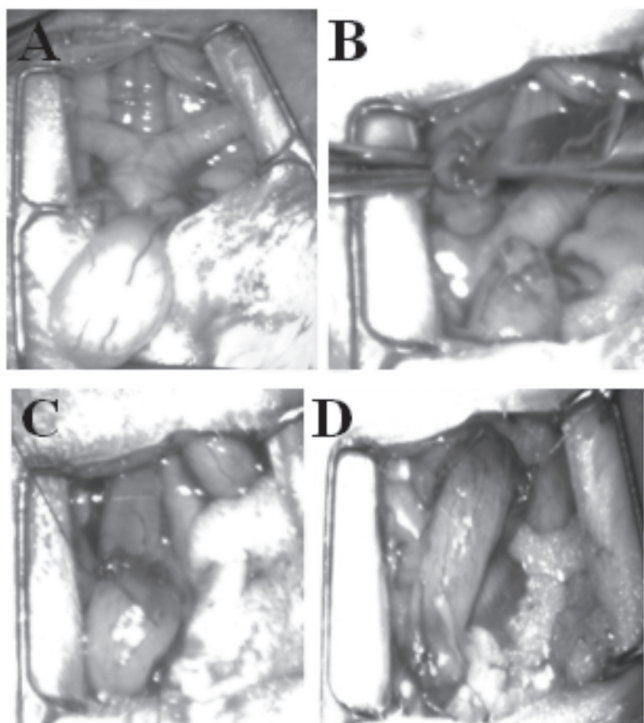


Figura 1 - Tempos cirúrgicos da vesicossigmoidostomia pela técnica de Crissey 1980: A) exposição de bexiga, útero bicorno e colo; B) abertura de cúpula vesical e incisão longitudinal em parede de colo; C) sutura com fio vycril 70 chuleio contínuo de cúpula vesical ao colon; e D) sutura de colo vesical e secção da uretra.

reto e da bexiga; o grupo II (14 animais) foi submetido à vesicossigmoidostomia, conforme técnica de Crissey⁴ (Figura 1), e posteriormente tratados com L-lisina 150mg/kg diluída em 0,5ml de água destilada via gavagem; o grupo III (14 animais) foi submetido apenas à vesicossigmoidostomia; o grupo IV recebeu apenas L-lisina 150mg/kg diluída em 0,5ml de água destilada via gavagem. Após oito semanas os animais foram mortos, sendo realizado análise histológica (hematoxilina e eosina) das áreas de anastomose de reto e de bexiga; o cólon foi fixado e posteriormente corado em azul de metileno a 0,1% para avaliação de focos de criptas aberrantes sob microscopia estereoscópica^{5,6}.

RESULTADOS

Em todos os animais operados foram observados macroscopicamente lesões polipoides localizadas em região de anastomoses e região de epitélio vesical. No interior da bexiga das vesicossigmoidostomias havia numerosos e diminutos cálculos. Em um dos animais, observou-se dilatação de ureter direito e cálculos facetados no seu interior formando *stone street* (Figura 2).

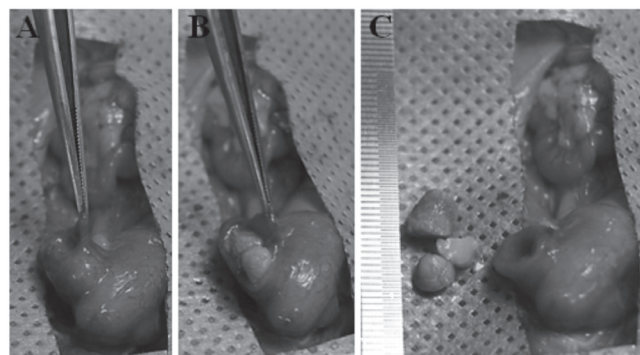


Figura 2 - A) ureter dilatado em seu segmento just vesical; B) abertura do ureter deixando expor *stone street* em seu interior; C) vários cálculos multifacetados medindo o maior 5mm.

Na histopatologia, no segmento vesical, em todos os animais operados observou-se hiperplasia simples, papilar e nodular de células transicionais, papiloma de células transicionais (Figura 3) e papiloma de células transicionais com metaplasia escamosa. No segmento intestinal, em ratos operados, havia raras criptas aberrantes e focos de colite crônica próximos à área de anastomose, e a distância, em alguns animais, observou-se atrofia do epitélio com redução de mucinas.

A mortalidade entre os animais operados foi 45% (18 animais). As principais causas foram abscessos renais e pulmonares.

Exceto no grupo IV, em todos os demais grupos, mesmo em um grupo em que os animais não foram operados, foram identificados, à microscopia estereoscópica, raros FCA. Todos os FCA continham apenas uma cripta. Não foram observadas multiplicidade de criptas nem sinais de displasias nos FCA.

Quanto à ocorrência de FCA na avaliação estereoscópica, nos grupos II e III, dos animais operados, com dados analisados pelo teste exato de Fisher entre estes grupos, não foi evidenciada diferença estatística significativa considerando o fragmento proximal ($P=1,0000$); médio ($P=1,0000$); distal ($P=1,0000$); todos os fragmentos (proximal, médio e distal) ($P=1,0000$) (Tabela 1).

Em relação à presença ou não de criptas aberrantes, os dados foram expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo das medições efetuadas em cinco animais dos grupos I e IV e seis ratos dos grupos II e III. 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

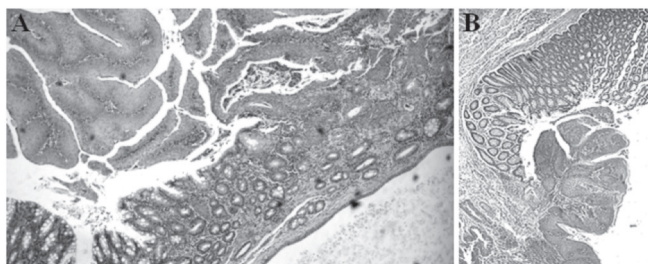


Figura 3 - A) corte histológico de anastomose vesicointestinal evidenciando papiloma de células transitórias; e B) hiperplasia papilar de células transitórias com metaplasia escamosa. Hematoxilina e eosina 10x de aumento.

aos pares. Os resultados da avaliação do número de criptas aberrantes encontrados nos segmentos proximal, médio e distal do cólon são descritos na tabela 2 e na figura 4.

DISCUSSÃO

A carcinogênese de anastomoses em derivações urinárias com alças gastrintestinais ainda permanece obscura. Alguns mecanismos foram propostos para explicar a sua fisiopatologia, tais como inflamação crônica, infecções de repetição, mudanças de potencial hidrogênio (PH) e produção de carcinógenos por bactérias, entre outras causas⁷. A primeira derivação urinária foi a ureterossigmoidostomia seguida, anos mais tarde, de colicistoplastias, ileocitoplastia e gatrocistoplastia. Assim, o que se observou foi o aparecimento de neoplasia maligna em uma porcentagem maior do que na população geral nas diversas derivações urinárias e ampliações vesicais com segmentos gastrointestinais. Alguns autores postularam que pacientes com menos de 25 anos de idade submetidos à ureterossigmoidostomias tinham o risco 7000 vezes maior para desenvolvimento de câncer que a população da mesma idade⁸.

Muitos trabalhos experimentais foram realizados em ratos utilizando modelo de vesicossigmoidos-

Tabela 1 - Ocorrência de focos de criptas aberrantes nos grupos II e III considerando os segmentos proximal, médio e distal.

Segmentos	Focos de Criptas Aberrantes		Significância (Teste exato de Fisher)
	Grupo II n / N (%)	Grupo III n / N (%)	
Proximal	3 / 6 (50)	2 / 6 (33,33)	P = 1,0000
Médio	1 / 6 (16,67)	0 / 6 (0,00)	P = 1,0000
Distal	0 / 6 (0,00)	1 / 6 (16,67)	P = 1,0000
Todos os segmentos	4 / 6 (66,67)	3 / 6 (50)	P = 1,0000

n- número de ratos com focos de criptas aberrantes no grupo; N- número de animais do grupo.

tomias de Crissey⁴, em busca de alterações histopatológicas, sem uso de carcinógeno, com identificação de inflamação crônica, hiperplasia e displasias com redução de sulfomucina e aumento de sialomucinas⁹. Gitlin *et al.*⁷ realizaram gatrocistoplastia e ileocitoplastia em cães e observaram alterações histológicas crescimento excessivo de epitélio de transição nas junções enterovesicais e gatrovesical. Estas células expressavam não apenas *uroplakins* (um marcador molecular para diferenciação urotelial), mas também mucossustância. Eles, então, sugeriram que estas células da anastomose possuíam alterações e características híbridas podendo ser vulneráveis à transformações neoplásicas.

Em 2012, pesquisadores alemães¹⁰, em um estudo de 44 diferentes centros, entre os anos de 1970 e 2007, em um total de 17.758 pacientes submetidos à derivações urinárias e plastias vesicais com alças intestinais, encontraram 32 tumores. O risco de tumores em ureterossigmoidostomia foi 22 vezes e em cistoplastia 13 vezes maior, estatisticamente significativo do que em outras formas de derivação urinária continente como neobexigas ($p < 0,0001$). O risco de tumores em derivações ileocecal (1,26%) e de neobexiga de cólon foi 1,43%, significativamente maior ($p = 0,0001$) do que em neobexiga ileal (0,5%)¹⁰.

A abordagem em nosso trabalho para avaliação da carcinogênese colorretal foi a pesquisa de focos de criptas aberrantes (FCA). O FCA foi originalmente descrito por Bird⁵, em ratos submetidos à carcinogênese química de cólon. Entretanto, alguns anos mais tarde, o mesmo autor sugeriu, e outros autores concluíram que o foco de criptas aberrantes na verdade faz parte da evolução sequencial da carcinogênese do cólon, que pode se tornar displásico podendo originar adenomas e carcinoma nesta ordem, servindo, então, como modelo de lesão precoce, ou pré-neoplásica na carcinogênese colorretal¹¹⁻¹³. Os FCA displásicos podem apresentar instabilidade de microsatélite, metilação com silenciamento epigenético¹⁴. Por este motivo, vem se consagrando como modelo para ensaios com novas moléculas antineoplásicas, utilizando o modelo em ratos submetidos à carcinogênese química^{13,15}.

Derivações urinárias seguem o curso deste modelo de foco de cripta aberrante? Esta resposta poderia ser interessante no momento que pudesse ser utilizada a pesquisa de FCA na avaliação clínica preventiva de pacientes submetidos à derivações urinárias. FCA ocorreria em vesí-

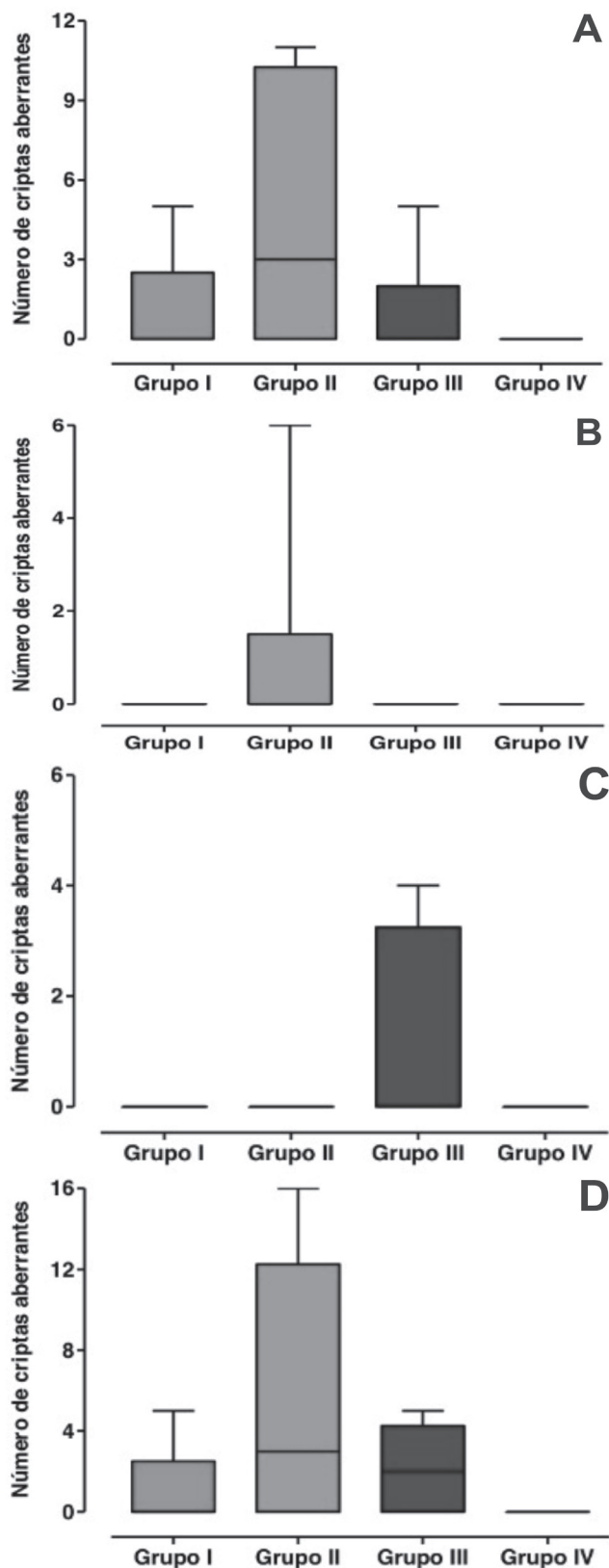


Figura 4 - A) Número de criptas aberrantes verificado no fragmento proximal dos grupos I, II, III e IV; B) Número de criptas aberrantes verificado no fragmento médio dos grupos I, II, III e IV; C) Número de criptas aberrantes verificado no fragmento distal dos grupos I, II, III e IV; D) Número de criptas aberrantes verificado nos grupos I, II, III e IV, considerando todos os fragmentos: proximal, médio e distal.

cossigmoidostomia em ratos? Não há relato na literatura. E ainda mais, pode a L-lisina promover a carcinogênese de cólon e/ou bexiga submetida à derivação urinária em ratos? Esta ocorrência é efetuada por agentes promotores em células iniciadas. Os 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 carcinogênese¹⁶. Dornelas *et al.*³, em recente trabalho, constataram que a L-lisina, tem ação promotora da carcinogênese de bexiga em ratos submetidos à carcinogênese química pelo BBN.

Em nosso estudo observaram-se raros FCA. Não foram encontradas multiplicidades de criptas aberrantes. Todos os FCA continham apenas uma cripta e não havia displasias nos FCA. E ainda mais, apesar de haver um número de focos criptas aberrantes maior em ratos submetidos à vesicossigmoidostomia, não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos II e III, portanto não ocorreu promoção de carcinogênese em ratos tratados com L-lisina, e mais, foram observados FCA em animais não operados. Muito embora o significado do encontro de FCA isolado, sem displasias, ainda seja desconhecido, existem relatos de involução de FCA. Também foram descritos surgimento espontâneo de FCA em ratos Fisher 344 sem uso de carcinógeno^{17,18}. A dieta comercial pode favorecer a indução de FCA em animais modificados¹⁹. É preciso salientar, que o tempo de observação em nosso experimento foi oito semanas. Alguns autores constataram que a idade avançada em seres humanos, pode influenciar no aparecimento espontâneo de FCA²⁰.

Quando se analisa o gráfico que mostra a presença de FCA no segmento proximal (Figura 4A) e nos segmentos médio, proximal e distal juntos (Figura 4D), nota-se que existe um número maior de FCA nos animais submetidos à cirurgia tratados com L-lisina em relação aos que foram apenas operados sem o tratamento com L-lisina. Entretanto não ocorreu diferença estatisticamente significativa.

O segmento vesical, por outro lado, mostrou-se extremamente reativo quando submetido à derivação. Todos os animais operados apresentavam igualmente lesões histológicas no epitélio vesical de hiperplasia simples, papilar e nodular de células transitórias, papiloma de células transitórias e metaplasia escamosa, lesões estas já descritas como sequenciais na histogênese/carcinogênese vesical de roedores²¹.

Tabela 2 - Número de focos de criptas aberrantes encontrados em todos os segmentos nos grupos I, II, III e IV.

Segmentos	Grupo I Mediana (Intervalo interquartil)	Grupo II Mediana (Intervalo interquartil)	Grupo III Mediana (Intervalo interquartil)	Grupo IV Mediana (Intervalo interquartil)	Significância (Kruskal-Wallis)
Proximal	0,0 (0,00 – 2,50)	3,0 (0,00 – 10,25)	0,0 (0,00 – 2,00)	0,0 (0,00 – 0,00)	P=0,2242
Médio	0,0 (0,00 – 0,00)	0,0 (0,00 – 1,50)	0,0 (0,00 – 0,00)	0,0 (0,00 – 0,00)	P=0,4459
Distal	0,0 (0,00 – 0,00)	0,0 (0,00 – 0,00)	0,0 (0,00 – 3,25)	0,0 (0,00 – 0,00)	P=0,1335
Todos os segmentos	0,0 (0,00 – 2,50)	3,0 (0,00 – 12,25)	0,0 (0,00 – 4,25)	0,0 (0,00 – 0,00)	P=0,1477

Sais de cálcio precipitam em pH alto e sais de urato precipitam em pH baixo. A litíase urinária no homem é muito frequente, porém a associação entre litíase e câncer de bexiga no homem é rara. Entretanto, em ratos e camundongos, cristais e cálculos urinários aumentam a probabilidade à carcinogênese vesical^{22,23}.

Sabemos que o epitélio vesical quando submetido a processo irritativo mecânico, (cálculos, corpo estranho) e infecção de repetição, pode evoluir para lesões histológicas reacionais e também sequencial para a carcinogênese no homem.

O epitélio vesical é semelhante entre as espécies. No entanto, existem diferenças anatômicas, que podem explicar fisiopatologicamente a associação entre cálculo e carcinogênese em animais. Durante o esvaziamento vesical, o sistema urinário dos roedores está na horizontal e no homem está na vertical. Quando a bexiga contrai, toda ela se “enruga”, exceto a região do trigono. Quando existem cálculos no interior da bexiga de ratos, esses cristais soltos na parede anterior, com a contração, promovem um dano de toda mucosa. Em humanos, corpos estranhos se localizam no trigono, a região que não contrai durante a micção. Com isso diminui o dano na mucosa. Por essa mesma razão anatômica, humanos eliminam mais rapidamente os cristais que estão no inte-

rior da bexiga. Os cálculos no homem, quando causam obstrução, causam dor, na maioria das vezes, e isso faz com que seja providenciado tratamento e desobstrução. Dessa forma, fatores anatômicos podem tornar os roedores mais susceptíveis à carcinogênese de bexiga^{23,24}.

Nossos animais não possuíam o trigono vesical funcionante. Fizemos ligadura do colo vesical, e o seccionamos, mas a bexiga ainda se manteve na posição horizontal e sacular não eliminando o conteúdo vesical pelo reto. Isso ocorreu com todos os animais operados do nosso experimento, de forma semelhante (grupos II e III). Urina, fezes, infecção de repetição podem ter originado os diminutos cálculos e estes, as lesões histológicas. Todos os animais apresentavam no interior da bexiga diminutos cálculos vesicais, e uma vez que a bexiga do animal se posiciona de forma ventral devido ao deambular de quatro patas, mantém o estímulo irritativo presente e constante, podendo explicar a magnitude das alterações histológicas observadas em epitélio vesical.

Em conclusão, apesar de, estatisticamente, não ter havido promoção de carcinogênese nos epitélios dos ratos tratados com L-lisina, no tempo observado, é nítida a histogênese da carcinogênese de bexiga em sua fase inicial, no epitélio vesical, em todos os ratos operados, estando esta provavelmente associada à infecção crônica e aos diminutos cálculos vesicais.

ABSTRACT

Objective: to evaluate the effect of L-lysine in the bladder and intestinal epithelia in rats submitted to vesicosigmoidostomy. **Methods:** we divided forty Wistar rats into four groups: group I – control group (Sham); group II – submitted to vesicosigmoidostomy and treated with L-lysine 150 mg/kg; group III – submitted only to vesicosigmoidostomy; and group IV – received L-lysine 150 mg/kg. After eight weeks the animals were sacrificed. **Results:** in the bladders of all operated animals we observed simple, papillary and nodular hyperplasia of transitional cells, transitional cell papillomas and squamous metaplasia. As for the occurrence of aberrant crypt foci in the colons of operated animals, we did not observe statistically significant differences in any of the distal, proximal and medium fragments, or in all fragments together ($p = 1.0000$). **Conclusion:** Although statistically there was no promotion of carcinogenesis in the epithelia of rats treated with L-lysine in the observed time, it was clear the histogenesis of bladder carcinogenesis in its initial phase in all operated rats, this being probably associated with chronic infection and tiny bladder stones.

Keywords: Lysine. Carcinogenesis. Urinary Bladder Neoplasms. Epithelium. Therapeutics.

REFERÊNCIAS

1. Hammer E. Cancer du colon sigmoïde dix ans après implantation des uretères d'une vessie exstrophée. *J Urol.* 1929;28:260.
2. Femia AP, Paulsen JE, Dolara P, Alexander J, Caderni G. Correspondence between flat aberrant crypt foci and mucin-depleted foci in rodent colon carcinogenesis. *Anticancer Res.* 2008;28(6A):3771-5.
3. Dornelas CA, Fachine-Jamacaru FV, Albuquerque IL, Magalhães HIF, Souza AJS, Alves LA, 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 Cir Bras.* 2012;27(2):185-92.
4. Crissey MM, Steele GD, Gittes RF. Rat model for carcinogenesis in ureterosigmoidostomy. *Science.* 1980;207(4435):1079-80.
5. Bird RP. Observations and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. *Cancer Lett.* 1987;37(2):147-51.
6. Burlamaqui IMB, Dornelas CA, Escalante RD, Mota DMC, Mesquita FJC, Carvalho ER, et al. Optimization of visibility and quantification of aberrant crypt foci in colonic mucosa in Wistar rats. *Acta Cir Bras.* 2010;25(2):148-52.
7. Gitlin JS, Wu XR, Sun TT, Ritchey ML, Shapiro E. New concepts of histological changes in experimental augmentation cystoplasty: insights into the development of neoplastic transformation at the enterovesical and gastrovesical anastomosis. *J Urol.* 1999;162(3 Pt 2):1096-100.
8. Eraklis AJ, Folkman MJ. Adenocarcinoma at the site of ureterosigmoidostomies for exstrophy of the bladder. *J Pediatr Surg.* 1978;13(6D):730-4.
9. Castro MA, Ferreira U, Martins MH, Stoppiglia RM, Rodrigues Netto Jr N. Histological and histochemical changes of the intestinal mucosa at the urothelial-enteric anastomotic site. *Int braz j urol.* 2006;32(2):222-7.
10. Kälble T, Hofmann I, Thüroff JW, Stein R, Hautmann R, Riedmiller H, et al. Secondary malignancies in urinary diversions. *Urologe A.* 2012;51(4):500, 502-6.
11. McLellan EA, Medline A, Bird RP. Sequential analyses of the growth and morphological characteristics of aberrant crypt foci: putative preneoplastic lesions. *Cancer Res.* 1991;51(19):5270-4.
12. Hurlstone DP, Cross SS. Role of aberrant crypt foci detected using high-magnification-chromoscopic colonoscopy in human colorectal carcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005;20(2):173-81.
13. Alrawi SJ, Schiff M, Carroll RE, Dayton M, Gibbs JF, Kulavlat M, et al. Aberrant crypt foci. *Anticancer Res.* 2006;26(1A):107-19.
14. Orlando FA, Tan D, Baltodano JD, Khoury T, Gibbs JF, Hassid VJ, et al. Aberrant crypt foci as precursors in colorectal cancer progression. *J Surg Oncol.* 2008;98(3):207-13.
15. Burlamaqui IMB, Dornelas CA, Valença Júnior JT, Mota DMC, Mesquita FJC, Veras LB, et al. Effect of a hyperlipidic diet rich in omegas 3, 6 and 9 on aberrant crypt formation in rat colonic mucosa. *Acta Cir Bras.* 2012;27(1):30-6.
16. Pitot HC. The molecular biology of carcinogenesis. *Cancer.* 1993;72(3 Suppl):962-70.
17. Furukawa F, Nishikawa A, Kitahori Y, Tanakamaru Z, Hirose M. Spontaneous development of aberrant crypt foci in F344 rats. *J Exp Clin Cancer Res.* 2002;21(2):197-201.
18. Tanakamaru Z, Mori I, Nishikawa A, Furukawa F, Takahashi M, Mori H. Essential similarities between spontaneous and MeIQx-promoted aberrant crypt foci in the F344 rat colon. *Cancer Lett.* 2001;172(2):143-9.
19. Svendsen C, Alexander J, Paulsen JE, Knutsen HK, Hjertholm H, Brantsæter AL, 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. *Lab Anim.* 2012;46(3):207-14.
20. Rudolph RE, Dornitz JA, Lampe JW, Levy L, Qu P, Li SS, et al. Risk factors for colorectal cancer in relation to number and size of aberrant crypt foci in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(3):605-8.
21. Oyasu R. Epithelial tumours of the lower urinary tract in humans and rodents. *Food Chem Toxicol.* 1995;33(9):747-55.

22. Cohen SM. Role of urinary physiology and chemistry in bladder carcinogenesis. *Food Chem Toxicol.* 1995;33(9):715-30.
23. Urinary bladder carcinogenesis: implications for risk assessment. Rodent Bladder Carcinogenesis Working Group. *Food Chem Toxicol.* 1995;33(9):797-802.
24. DeSesso JM. Anatomical relationships of urinary bladders compared: their potential role in the development of bladder tumours in humans and rats. *Food Chem Toxicol.* 1995;33(9):705-14.

Recebido em: 08/10/2015

Aceito para publicação em: 06/03/2016

Conflito de interesse: nenhum.

Fonte de financiamento: nenhuma.

Endereço para correspondência:

Conceição Aparecida Dornelas

E-mail: eusoucondor@yahoo.com.br