

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/02/2018.



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Botucatu



COMPORTAMENTO MATERNO E CÂNCER DE BEXIGA
URINÁRIA: IMPLICAÇÕES DA MODULAÇÃO DE EIXOS
HORMONAIS E RECEPTORES DE ESTEROIDES NA
FISIOPATOLOGIA DE LESÕES NEOPLÁSICAS

LUIZ ANTONIO LUPI JÚNIOR

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral
e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular
Estrutural e Funcional.

Orientador: Prof. Dr. Wilson de Mello Júnior

**BOTUCATU – SP
2016**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

COMPORTAMENTO MATERNO E CÂNCER DE BEXIGA
URINÁRIA: IMPLICAÇÕES DA MODULAÇÃO DE EIXOS
HORMONAIS E RECEPTORES DE ESTEROIDES NA
FISIOPATOLOGIA DE LESÕES NEOPLÁSICAS

LUIZ ANTONIO LUPI JÚNIOR

PROF DR. WÍLSON DE MELLO JÚNIOR

PROF. DR. WAGNER JOSÉ FÁVARO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional.

Orientador: Prof. Dr. Wilson de Mello Júnior

**BOTUCATU – SP
2016**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Lupi Júnior, Luiz Antonio.

Comportamento materno e câncer de bexiga urinária :
implicações da modulação de eixos hormonais e receptores
de esteroides na fisiopatologia de lesões neoplásicas /
Luiz Antonio Lupi Júnior. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Wilson de Mello Júnior

Coorientador: Wagner José Fávaro

Capes: 20600003

1. Bexiga - Câncer. 2. Hormônios esteroidianos. 3.
Fisiopatologia. 4. Resposta imune.

Palavras-chave: Bexiga urinária; Câncer; Comportamento
materno; HHA; Receptores esteroides.

Agradecimentos

Agradeço à minha família por todo o incentivo e força prestados durante esta fase, especialmente à minha mãe Maria Cecília S. Lupi por todo o carinho, suporte, dedicação e amor prestados, à minha companheira Marcilene A. Tomazela pela paciência, compreensão e amor todos os dias e às minhas irmãs Carolina S. L. de Almeida e Camila S. L. Redondo por nunca deixarem de viver o amor de irmãos.

Agradeço especialmente ao meu filho Lorenzo T. Lupi, que em sua inocência de criança me faz acordar todos os dias e me dedicar cada vez mais em busca de um futuro melhor para nossa família.

Ao meu querido pai Luiz Antonio Lupi por todo o amor, apoio, carinho e dedicação ímpares para que um dia eu pudesse seguir meus sonhos, na tentativa de me tornar um pouco do grande homem que ele foi um dia.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, especialmente ao Departamento de Anatomia e todos os seus professores e assessores técnico-administrativos pela acolhida e convivência diária.

Agradeço ao Prof. Dr. Wilson de Mello Júnior por todos os anos de orientação, pelo exemplo de profissional a ser seguido e por acreditar que eu poderia chegar onde estou hoje.

Ao Prof. Dr. Wagner José Fávaro pela coorientação e suporte prestado no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Gustavo de Almeida Chuffa pela parceria, pela atenção constante e pelos ensinamentos essenciais para este e outros trabalhos.

Agradeço à CAPES pelo suporte financeiro a mim concedido e à FAPESP pelo financiamento deste projeto de pesquisa.

Sumário

Resumo	6
Introdução	7
Bexiga Urinária	7
Câncer de bexiga urinária	7
Receptores de esteroides e câncer de bexiga urinária	10
Comportamento materno	12
Materiais e métodos	18
Avaliação do comportamento materno	19
Formação dos grupos experimentais	20
Indução química do câncer de bexiga urinária	21
Análise histopatológica	21
Imuno-histoquímica	23
<i>Western blotting</i>	24
Análise estatística.....	25
Resultados	26
Comportamento materno	26
Análise histopatológica	26
Análise da imunorreatividade aos receptores de esteroides e à proteína p53	27
Análise dos níveis de receptores de esteroides e da proteína p53.....	27
Dosagem sérica de testosterona e 17 β -estradiol	28
Discussão	38
Referências bibliográficas	45

Resumo

O carcinoma de bexiga urinária é o tipo de câncer mais prevalente no sistema urinário em seres humanos e apresenta altos índices de morbidade e mortalidade. Seu desenvolvimento está relacionado a diversos fatores de risco, como o hábito de fumar, a exposição a agentes químicos industriais e metais pesados e o estresse crônico. As experiências adversas no início da vida estão relacionadas à modulação de eixos hormonais importantes, como o hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA) e hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG). Alterações na resposta do eixo HHA, componente central da resposta fisiológica ao estresse, levam a distúrbios fisiológicos, como aumento da proliferação celular, angiogênese e prejuízo da resposta imune, que podem ser responsáveis pelo aumento da susceptibilidade do indivíduo a uma série de doenças na vida adulta, incluindo o câncer. Paralelamente, alterações na fisiologia de hormônios esteroides como andrógenos, estrógenos e glicocorticoides, bem como seus receptores, também têm sido relacionadas ao desenvolvimento de enfermidades como o câncer de bexiga urinária. Em ratos, o comportamento materno funciona como um fator importante na modulação desses eixos hormonais, modificando suas respostas na vida adulta, e estudos recentes têm relacionado os cuidados recebidos por filhotes à incidência de tumores. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do comportamento materno e sua consequente modulação nos eixos HHA e HHG, no desenvolvimento do câncer de bexiga urinária. Os resultados mostraram que ratas criadas por mães negligentes apresentaram maior susceptibilidade ao desenvolvimento do câncer de bexiga urinária induzido quimicamente, pois desenvolveram lesões uroteliais mais graves quando comparadas a fêmeas que receberam cuidados maternos intensos. Também foi observado que os níveis de receptores de hormônios esteroides na bexiga urinária foram sensíveis ao tipo de cuidados recebidos. Desta forma concluímos que o comportamento materno, recebido durante o desenvolvimento pós-natal, influencia o desenvolvimento e a gravidade de tumores uroteliais induzidos quimicamente em roedores, possivelmente através da regulação de níveis hormonais e de receptores de esteroides. Novos estudos são necessários para entender essa relação complexa, principalmente para compreender se os cuidados maternos neonatais são protetores ou se a negligência materna favorece o desenvolvimento de enfermidades graves no adulto, como o carcinoma urotelial.

Introdução

Bexiga Urinária

A bexiga urinária é um órgão muscular oco responsável pelo armazenamento do produto de excreção dos rins, a urina. Em seres humanos, o órgão está localizado na cavidade pélvica e, no homem, faz relação direta com as alças do intestino delgado e o colo sigmoide superiormente, com a sínfise púbica anteriormente, com as glândulas seminais e a próstata inferiormente e com o reto, posteriormente. Na mulher, a bexiga urinária tem relação anatômica com o útero e as alças intestinais superiormente, com a vagina posteriormente, assoalho pélvico inferiormente e sínfise púbica anteriormente (DRAKE *et al.*, 2013). Em roedores, utilizados no desenvolvimento deste trabalho, localiza-se na cavidade abdominopélvica, fazendo relação com as alças intestinais em sua parte crânio-ventral e com o reto em sua parte dorso-caudal (POPESKO *et al.*, 1992).

A bexiga urinária possui três camadas de tecidos: mucosa, muscular e adventícia ou serosa, esta última conforme a região da bexiga urinária. A camada mucosa é formada por epitélio estratificado de transição, composto por 3 a 5 camadas de células uroteliais, sendo a camada superficial a mais diferenciada, formada por grandes células superficiais (células em guarda-chuva). A camada muscular é constituída por músculo liso interposto com tecido conjuntivo e é composta por duas camadas longitudinais, interna e externa, e uma camada circular entre elas. A túnica adventícia é constituída por tecido conjuntivo frouxo e contém vasos sanguíneos, linfáticos e nervos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Câncer de bexiga urinária

O câncer de bexiga urinária figura como o tipo de câncer mais prevalente no sistema urinário e apresenta altos índices de morbidade e mortalidade (SIEGEL *et al.*, 2013). Trata-se da quarta maior causa de morte em decorrência de cânceres em homens no Reino Unido, onde a

chance de um homem desenvolver essa neoplasia, em algum momento da vida, é de uma em 26 (CANCER RESEARCH UK, 2015). Nos Estados Unidos, havia para o ano de 2015, a estimativa de 74.000 novos casos e mais de 16.000 mortes em decorrência da doença (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2015). No último levantamento realizado pelo Instituto Nacional do Câncer, estimou-se que, em 2014, ocorreriam 8.940 novos casos de câncer de bexiga urinária (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2015).

Os tumores de bexiga urinária são divididos em duas categorias: não músculo-invasivos, mais comuns, e músculo-invasivos, menos frequentes e com baixa expectativa de vida pós-diagnóstico (KNOWLES & HURST, 2015). Segundo postulado pela Organização Mundial da Saúde, as alterações superficiais (não invasivas) da bexiga urinária são classificadas em: hiperplasia plana, hiperplasia papilífera, neoplasia intraurotelial de baixo grau, neoplasia intraurotelial de alto grau - carcinoma *in situ* (pTis), carcinoma urotelial papilífero (pTa) de baixo grau, carcinoma urotelial papilífero (pTa) de alto grau e carcinoma invasivo da lâmina própria (pT1) (MIYAMOTO *et al.*, 2010). O estadiamento do câncer de bexiga urinária refere-se à quão profunda é a invasão das células neoplásicas no tecido da bexiga urinária, enquanto a graduação dos tumores refere-se ao nível de alterações celulares presentes no exame microscópico (LOKESHWAR *et al.*, 2011). Mais de 70% dos tumores da bexiga urinária são superficiais e 50% deles recorrem após quatro anos de tratamento, sendo que 11% progridem para tumores músculo-invasivos (SHIMADA *et al.*, 2011). Os índices de recorrência dos tumores uroteliais são altos, entre 50% e 90% dos casos dependendo do estágio, grau e número de tumores primários, exigindo acompanhamento de sua evolução pelo resto da vida (GEORGE *et al.*, 2013). Segundo Sievert *et al.* (2009), tal necessidade torna o custo médio por paciente com câncer de bexiga urinária, do diagnóstico ao fim da vida, um dos maiores entre diversos tipos de câncer.

Um fator intrigante sobre o câncer de bexiga urinária é que os homens são de três a quatro vezes mais propensos a desenvolvê-lo do que as mulheres (SIEGEL *et al.*, 2013). No entanto, as chances de um homem vir a óbito em decorrência da doença são pouco maiores que duas vezes a encontrada em mulheres. Desta forma, mulheres diagnosticadas com câncer de bexiga urinária perdem mais anos de vida pós-diagnóstico (6,5 anos em mulheres *versus* 3,9 em homens) e maior parcela da expectativa de vida (47% em mulheres *versus* 33% em homens) (SCOSYREV *et al.*, 2012). Estudo recente da base de dados do *Surveillance, Epidemiology and End Results Program*, mostrou que essa é uma das poucas malignidades em que as mulheres apresentam pior prognóstico do que os homens (NAJARI *et al.*, 2012).

Henning *et al.* (2013) observaram que não existem diferenças entre os gêneros ao que se refere aos sintomas clínicos ou apresentação (hematúria, irritação do trato urinário inferior) do câncer de bexiga urinária de pacientes recém-diagnosticados com a doença. No entanto, 78% dos homens, contra 55% das mulheres, visitaram um urologista após apresentarem esses sintomas. Além disso, apenas 19% dos homens contra 47% de mulheres receberam tratamento sintomático, sem análise profunda do motivo dos sintomas, um ano antes do diagnóstico do câncer de bexiga urinária. Tais dados sugerem que a diferença de abordagens utilizadas para homens e mulheres pode influenciar o momento do diagnóstico dessa doença, geralmente tardio nas mulheres, favorecendo a ocorrência de tumores mais agressivos e com pior prognóstico. Outra possível explicação para a diferença gênero-específica no câncer de bexiga urinária é a exposição excessiva a produtos químicos industriais, metais pesados, tinturas e, principalmente, ao cigarro. Porém, mesmo tendo esses fatores de risco sob controle, a diferença persiste (HARTGE *et al.*, 1990; FREEDMAN *et al.*, 2011). Consequentemente, a hipótese que tem sido mais discutida é a de que hormônios esteroides como andrógenos, estrógenos e glicocorticoides, e seus respectivos receptores, podem exercer um papel importante na promoção e progressão dos tumores de

bexiga urinária (MIYAMOTO *et al.*, 2012a; GAKIS & STENZL, 2013; DOBRUCH *et al.*, 2015).

Receptores de esteroides e câncer de bexiga urinária

Com a disparidade da incidência do câncer de bexiga urinária entre homens e mulheres, é natural que pesquisadores tenham começado a investigar o impacto de eixos hormonais como uma possível explicação biológica para o desenvolvimento da doença. A fim de avaliar a relevância desses eixos a níveis teciduais, muitos pesquisadores têm investigado a expressão de receptores de hormônios esteroides em amostras de bexiga urinária (MIYAMOTO *et al.*, 2012a). Muitos autores já relataram a presença de níveis significativos desses receptores, como os de estrógenos, andrógenos e glicocorticoides, em tumores de bexiga urinária (HSU *et al.*, 2013; HSU *et al.*, 2014; ISHIGURO *et al.*, 2014; LOMBARD & MUDRYJ, 2015).

O receptor de andrógenos (AR) é um conhecido fator de transcrição ligante-dependente, membro da superfamília de receptores nucleares, responsável pela regulação de determinados genes alvo. Este receptor atua em resposta à ligação específica de andrógenos, como a testosterona ou a 5 α -diidrotestosterona (DHT). A ligação andrógeno-AR induz uma mudança conformacional no receptor, resultando na translocação do complexo para o núcleo, aonde irá se ligar a elementos responsivos a andrógenos e, em conjunto com outros reguladores, controlar a transcrição de determinados genes (LI *et al.*, 2012; MUDRYJ & TEPPER, 2013). O AR está presente em diversos órgãos de camundongos, ratos, macacos e humanos. Na bexiga urinária saudável não há diferença na expressão entre homens e mulheres (TUYGUN *et al.* 2011, MASHHADI *et al.* 2014), bem como não há diferença significativa nos níveis desses receptores em tumores uroteliais masculinos e femininos (BOORJIAN *et al.*, 2004; TUYGUN *et al.*, 2011; KAUFFMAN *et al.*, 2011). A maioria dos estudos tem demonstrado a diminuição significativa da expressão do AR em tumores uroteliais de alto grau ou estágio (BOORJIAN *et al.*, 2004;

TUYGUN *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2012; RAHMANI *et al.*, 2013), com a exceção de poucos trabalhos que não encontraram tal associação (WU *et al.*, 2010; MIYAMOTO *et al.*, 2012b).

Os estrógenos exercem suas funções fisiológicas e tecido-específicas através da ativação de seus receptores, que se ligam a essa classe de hormônios com alta afinidade e especificidade. Suas duas subunidades, ER α e ER β , também pertencem à superfamília de receptores nucleares que atuam como fatores de transcrição e regulam diversos aspectos da fisiologia normal de um organismo (GEORGE *et al.*, 2013). Em humanos e roedores, o ER β é a subunidade predominante na bexiga urinária saudável, uma vez que alguns estudos relatam expressão fraca da subunidade ER α ou até sua ausência (CROFT *et al.*, 2005; SHEN *et al.*, 2006; BOLENZ *et al.*, 2009). Diversos estudos envolvendo o câncer de bexiga urinária e esses receptores têm trazido resultados inconsistentes sobre o quanto sua expressão está envolvida com os diferentes estádios e graus de tumores uroteliais. A pequena maioria dos estudos parece concordar que os níveis de ER β estão aumentados no câncer de bexiga urinária e sua expressão está relacionada a prognósticos ruins (KONTOS *et al.*, 2011; HAN *et al.*, 2012; MIYAMOTO *et al.*, 2012b). Por sua vez, o papel do ER α permanece contraditório, pois parece estar diminuído na maioria dos tumores uroteliais estudados (CROFT *et al.*, 2005; SHEN *et al.*, 2006; BOLENZ *et al.*, 2009). No entanto, George *et al.* (2013) relataram que camundongos induzidos com BBN (*N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine*) para o câncer de bexiga urinária passaram a expressar ER α , ausente no urotélio normal, e que esse fato pode ter favorecido a tumorigênese.

Os glicocorticoides exercem seu mecanismo de ação ligando-se a dois tipos de receptores intracelulares: o receptor de mineralocorticoides (MR) e o receptor de glicocorticoides (GR). Tem-se evidenciado que os MRs são responsáveis pela ligação aos glicocorticoides nas situações em que esses se apresentam a níveis basais, enquanto os GRs são ativados em situações de aumento dos níveis circulantes de glicocorticoides, como condições de estresse ou infecções (LIBERMAN *et al.*, 2007). O seu mecanismo de ação é semelhante ao de outros receptores

nucleares, atuando como fator de transcrição para genes relacionados à produção e à liberação de mediadores inflamatórios (CHROUSOS & KINO, 2005; McBETH *et al.*, 2015). O GR pode ser expresso na forma de duas subunidades, GR α e GR β . Os glicocorticoides circulantes controlam os processos celulares anti-inflamatórios via ligação e ativação da subunidade GR α . Desta forma, as propriedades antiproliferativas dos glicocorticoides ocorrem via ativação de GR α , que atua como fator de transcrição e aumenta a produção de proteínas indutoras da parada do ciclo celular (p27 e p21) (KUMAR *et al.*, 2004), bem como PTEN, envolvida em processos pró-apoptóticos (YEMELYANOV *et al.*, 2007). Em contraste ao GR α , a subunidade GR β não apresenta o domínio de ligação para os glicocorticoides, não podendo se ligar aos mesmos (HINDS JR. *et al.*, 2010). Desta forma, essa subunidade é induzida por outras vias inflamatórias, como as ativadas por TNF α e NF- κ B, sugerindo um papel importante no aumento da inflamação, que está diretamente relacionada com o câncer de bexiga urinária (TRIKHA *et al.*, 2003).

Estudos recentes têm demonstrado que o GR desempenha um papel importante nos tumores uroteliais, no entanto o mecanismo preciso permanece desconhecido. Os níveis de GR apresentam-se reduzidos em tumores, comparados ao urotélio normal, e em tumores com fenótipo invasivo, quando comparados a tumores de baixo grau (ISHIGURO *et al.*, 2014). Baixos níveis de GR parecem estar relacionados com um prognóstico pior do câncer de bexiga urinária e podem predizer altas chances de recorrência de tumores não músculo-invasivos (ZHENG *et al.*, 2012).

Comportamento materno

Eventos adversos no início da vida têm sido relacionados a alterações no desenvolvimento do cérebro e, na vida adulta, com mudanças nas respostas comportamentais e fisiológicas a situações de estresse, nas respostas imunes a patógenos e na susceptibilidade a doenças infecciosas e inflamatórias (McEWEN *et al.*, 2012; BREIVIK *et al.*, 2015). Experiências

nos primeiros dias de vida, em particular, podem alterar permanentemente a reatividade de circuitos controlados pelo cérebro, como o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA) e hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG) (PRYCE *et al.*, 2002; GOMES *et al.*, 2005; CHAMPAGNE, 2008; CHAMPAGNE & CURLEY, 2009; BREIVIK *et al.*, 2015). A desregulação imune e metabólica, causada pelas alterações do eixo HHA, é uma importante via de ligação entre os eventos no início da vida e a posterior susceptibilidade aumentada a uma série de doenças (THAKER *et al.*, 2006; THAKER *et al.*, 2007; McEWEN *et al.*, 2012). Estudos epidemiológicos revisados por Langley-Evans (2015) levaram à asserção de que fatores ligados ao comportamento materno, influenciando o crescimento e desenvolvimento de filhotes, podem também alterar a função tecidual, refletindo na fisiologia do organismo adulto. Evidências também sugerem que o baixo peso ao nascimento e início da vida pode modular a resposta do eixo HHA, aumentando a reatividade do indivíduo a situações de estresse na vida adulta (XIONG & ZHANG, 2010; KAJANTIE & RAIKKONEN, 2010; DUNKEL SCHETTER & TANNER, 2012).

A separação materna por períodos breves ou prolongados é um método experimental bem definido, que visa induzir comportamentos maternos distintos para observação dos seus efeitos sobre a prole na vida adulta (BOYD *et al.*, 2010; SCHULER & AUGER, 2010; NISHI *et al.*, 2013). A mudança das interações comuns entre mãe e filhote tem-se mostrado capaz de induzir alterações permanentes na neurobiologia, fisiologia e comportamento de animais na vida adulta, todas causadas pela programação da responsividade do eixo HHA ao estresse (LYONS *et al.*, 1998; PRYCE *et al.*, 2005; ENTHOVEN *et al.*, 2008). Períodos longos de separação materna (ex: 4 horas) durante o período pós-natal causam hiper-reatividade do eixo HHA na vida adulta. Por outro lado, períodos curtos de privação do contato materno (ex: 15 minutos) são considerados manipulações estimulantes, capazes de reduzir a ansiedade e a responsividade ao eixo HHA, gerando respostas mais brandas ao estresse (NISHI *et al.*, 2013).

Estudos utilizando a separação materna durante o período neonatal mostraram a relação entre a potencialização da resposta do eixo HHA ao estresse, causada pelas diferenças no comportamento materno, com o aumento e progressão de tumores e a incidência de carcinomas invasivos (BOYD *et al.*, 2010; SCHULER & AUGER, 2010). Boyd *et al.* (2010) observaram que a incidência de lesões neoplásicas induzidas na mama foi maior em fêmeas expostas a períodos longos de separação materna, concluindo que o estresse crônico da separação materna prolongada no início da vida aumenta o risco de desenvolvimento de tumores em camundongos.

Em nossos estudos prévios com ratas UChA e UChB, linhagens classicamente utilizadas para estudos sobre alcoolismo crônico (MARDONES & SEGOVIA-RIQUELME, 1983), provenientes do Chile (UCh - Universidade do Chile) e trazidas ao Instituto de Biociências em 1999, observamos que as linhagens possuem comportamento materno diferenciado: UChA - alto cuidado materno e UChB - baixo cuidado materno (MARTINS, 2007; AMORIM *et al.*, 2011; LUPI JÚNIOR (dados não publicados)). Em estudo subsequente, observamos que animais criados por fêmeas UChB desenvolveram lesões com estadiamento mais grave, quando comparados àqueles criados por mãe UChA. A adoção cruzada de filhotes de uma linhagem para outra influenciou no estágio das lesões, sugerindo a correlação entre o comportamento materno e o desenvolvimento de lesões uroteliais, à medida que animais UChB criados por mãe UChA apresentaram menor porcentagem de lesões graves, quando comparados aos filhotes UChB criados por mãe UChB. Apoiando esses resultados, Stöhr *et al.* (2000) observaram que a linhagem Fischer 344, modelo também utilizado para estudo do câncer vesical, possui hiperreatividade ao estresse comparado à linhagem Lewis, mais resistente ao desenvolvimento do câncer de bexiga urinária (REIS *et al.*, 2014).

Assim, formulamos a hipótese de que o comportamento materno e suas consequentes modulações fisiológicas influenciam o desenvolvimento de tumores vesicais induzidos. Procurando entender a etiologia e o desenvolvimento desses tumores e sua relação com o

comportamento materno, propusemos comparar comportamentos maternos extremos (intenso e negligente), para estudar a influência dos cuidados maternos recebidos pela prole e a consequente modulação de eixos hormonais (HHA e HHG), no desenvolvimento de lesões neoplásicas não músculo-invasivas da bexiga urinária.

Referências bibliográficas

AHRENDT *et al.* p53 Mutations and survival in stage I non-small-cell lung cancer: results of a prospective study. *Journal of the National Cancer Institute*, v.95, p.961-970, 2003.

AL HUSSAIN, T. & AKHTAR, M. Molecular basis of urinary bladder cancer. *Advances in Anatomic Pathology*, v.20, p.53-60, 2013.

AMERICAN CANCER SOCIETY. Learn about cancer. Disponível em: <http://www.cancer.org/cancer/bladdercancer/>. Acesso em: 09 de outubro de 2015.

AMORIM, J.P.A. *et al.* Variations in maternal care alter corticosterone and 17beta-estradiol levels, estrous cycle and folliculogenesis and stimulate the expression of estrogen receptors alpha and beta in the ovaries of UCh rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, v.9, p.160-172, 2011.

BASAKCI, A. *et al.* Prognostic significance of estrogen receptor expression in superficial transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *European Urology*, v.41, p.342-345, 2002.

BØDKER, A. *et al.* Estrogen receptors in the human male bladder, prostatic urethra, and prostate. An immunohistochemical and biochemical study. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, v.29, p.161-165, 1995.

BOLENZ, C. *et al.* Estrogen and progesterone hormonal receptor expression in urothelial carcinoma of the bladder. *European Urology*, v.56, p.1093-1095, 2009.

BOORJIAN, S. *et al.* Androgen receptor expression is inversely correlated with pathologic tumor stage in bladder cancer. *Urology*, v.64, p.383-388, 2004.

BOYD, A.L. *et al.* Neonatal experiences differentially influence mammary gland morphology, estrogen receptor a protein levels, and carcinogenesis in BALB/c mice. *Cancer Prevention Research*, v.11, p.1397-1408, 2010.

BREIVIK, T. *et al.* Maternal deprivation of lewis rat pups increases the severity of experimental periodontitis in adulthood. *The Open Dentistry Journal*, v.9, p.65-78, 2015.

BURDGE, G.C. & LILLYCROP, K.A. Nutrition, epigenetics, and developmental plasticity: implications for understanding human disease. *Annual Review of Nutrition*, v.30, p.315-39, 2010.

CANCER RESEARCH UK. Cancer incidence and mortality in the UK. Disponível em: cruk.org/cancerstats. Acesso em: 09 de outubro de 2015.

CANTWELL, M.M. *et al.* Reproductive factors, exogenous hormone use and bladder cancer risk in a prospective study. *International Journal of Cancer*, v.119, p.2398-2401, 2006. CHAMPAGNE, F.A. Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v.29, p. 386-397, 2008.

CHAMPAGNE, F.A. & CURLEY, J.P. Epigenetic mechanisms mediating the long-term effects of maternal care on development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v.33, p. 593-600, 2009.

CHROUSOS, G. P. & KINO, T. Intracellular glucocorticoid signaling: a formerly simple system turns stochastic. *Science's Signal Transduction Knowledge Environment*, v.2005, p.48, 2005.

CROFT, P.R. *et al.* Estrogen receptor expression in papillary urothelial carcinoma of the bladder and ovarian transitional cell carcinoma. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, v.129, p.194-199, 2005.

DAUGHERTY, S.E. *et al.* Reproductive factors and menopausal hormone therapy and bladder cancer risk in the NIH-AARP Diet and Health Study. *International Journal of Cancer*, v.133, p.462-472, 2013.

DIETRICH, K. *et al.* Glucocorticoid therapy and risk of bladder cancer. *British Journal of Cancer*, v.101, p.1316-1320, 2009.

DOBRUCH, J. *et al.* Gender and bladder cancer: a collaborative review of etiology, biology, and outcomes. *European Association of Urology*, 2015, In Press: [dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2015.08.037](https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.08.037)

DRAKE, R.L. *et al.* Gray's Anatomia Básica. São Paulo: Elsevier, 2013.

DUNKEL SCHETTER, C. & TANNER, L. Anxiety, depression and stress in pregnancy: implications for mothers, children, research, and practice. *Current Opinion in Psychiatry*, v.25, p.141-148, 2012.

ENTHOVEN, L. *et al.* Hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity of newborn mice rapidly desensitizes to repeated maternal absence but becomes highly responsive to novelty. *Endocrinology*, v.149, p.6366-6377, 2008.

FÁVARO, W.J. *et al.* Effects of P-MAPA Immunomodulator on Toll-Like Receptors and p53: Potential Therapeutic Strategies for Infectious Diseases and Cancer. *Infectious Agents and Cancer*, v.7, p.14, 2012.

FREEDMAN, N.D. *et al.* Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. *The Journal of the American Medical Association*, v.306, p.737-745, 2011.

GAKIS, G. & STENZL, A. Gender-specific differences in muscle-invasive bladder cancer: the concept of sex steroid sensitivity. *World Journal of Urology*, v.31, p.1059-1064, 2013.

GEORGE, S.K. *et al.* Chemoprevention of BBN-induced bladder carcinogenesis by the selective estrogen receptor modulator tamoxifen. *Translational Oncology*, v.6, p.244-255, 2013.

GOMES, C.M. *et al.* Neonatal handling and reproductive function in female rats. *Journal of Endocrinology*, v.184, p.435-445, 2005.

HAN, B. *et al.* Estrogen receptor β (ER β) is a novel prognostic marker of recurrence survival in non-muscle-invasive bladder cancer potentially by inhibiting cadherin switch. *World Journal of Urology*, v.30, p.861–867, 2012.

HARTGE, P. *et al.* Unexplained excess risk of bladder cancer in men. *Journal of the National Cancer Institute*, v.82, p.1636-1640, 1990.

HENNING, A *et al.* Do differences in clinical symptoms and referral patterns contribute to the gender gap in bladder cancer? *British Journal of Urology International*, v.112, p.68-73, 2013.

HINDS JR, T.D. *et al.* Discovery of glucocorticoid receptor-beta in mice with a role in metabolism. *Molecular Endocrinology*, v.24, p.1715-1727, 2010.

HSU, J.W. *et al.* Decreased tumorigenesis and mortality from bladder cancer in mice lacking urothelial androgen receptor. *American Journal of Pathology*, v.182, p.1811–1820, 2013.

HSU, I. *et al.* Suppression of ER β signaling via ER β knockout or antagonist protects against bladder cancer development. *Carcinogenesis*, v.35, p.651–661, 2014.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Registros de Câncer de Base Populacional. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/regpop/2013>. Acesso em: 09 de outubro de 2015.

ISHIGURO, H. *et al.* Reduced glucocorticoid receptor expression predicts bladder tumor recurrence and progression. *American Journal of Clinical Pathology*, v.142, p.157-164, 2014.

JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. *Histologia Básica - Texto e Atlas*. São Paulo: Guanabara Koogan, 2013.

KAJANTIE, E. & RÄIKKÖNEN, K. Early life predictors of the physiological stress response later in life. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v.35, p.23-32, 2010.

KAUFFMAN, E.C. *et al.* Role of androgen receptor and associated lysine-demethylase coregulators, LSD1 and JMJD2A, in localized and advanced human bladder cancer. *Molecular Carcinogenesis*, v.50, p.931–944, 2011.

KAUFFMAN, E.C. *et al.* Estrogen receptor- β expression and pharmacological targeting in bladder cancer. *Oncology reports*, v.30, p.131-138, 2013.

KNOWLES, M.A. & HURST, C.D. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nature Reviews. Cancer*, v.15, p.25-41, 2015.

KONTOS, S. *et al.* Inverse expression of estrogen receptor- β and nuclear factor- κ B in urinary bladder carcinogenesis. *International Journal of Urology*, v. 17, p.801–809, 2010.

KONTOS, S. *et al.* Expression of ER β and its co-regulators p300 and NCoR in human transitional cell bladder cancer. *Urologia Internationalis*, v.87, p.151–158, 2011.

KUMAR, R. *et al.* Overview of the structural basis for transcription regulation by nuclear hormone receptors. *Assays in Biochemistry*, v.40, p.27-39, 2004.

LANGLEY-EVANS, S.C. Nutrition in early life and the programming of adult disease: a review. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, v.28, p.1-14, 2015.

LEVINE, S. Primary social relationship influence the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Physiology & Behavior*, v.73, p.255-60, 2001.

LI, Y. *et al.* The role of the androgen receptor in the development and progression of bladder cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, v.42, n.7, p.569-577, 2012.

LIBERMAN, A.C. *et al.* Glucocorticoids in the regulation of transcription factors that control cytokine synthesis. *Cytokine Growth Factor Reviews*, v.18, p.45-56, 2007.

LOKESHWAR, V. B *et al.* Bladder tumors: molecular aspects and clinical management. New York: Humana Press, 2011.

LOMBARD, A.P. & MUDRYJ, M. The emerging role of the androgen receptor in bladder cancer. *Endocrine-Related Cancer*, v.22, p.265-277, 2015.

LYONS, D.M. *et al.* Postnatal foraging demands alter adrenocortical activity and psychosocial development. *Developmental Psychobiology*, v.32, p.285–291, 1998.

MARDONES, J.; SEGOVIA-RIQUELME, N. Thirty-two years of selection of rats by ethanol preference: UChA and UChB strains. *Neurobehavioral, Toxicology and Teratology*, v. 5, p. 171-178, 1983.

MARTINS, O.A. Estresse, alcoolismo e vitamina E: avaliação de parâmetros bioquímicos e morfofisiologia prostática. 2007. 100f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

MASHHADI, R. *et al.* Role of steroid hormone receptors in formation and progression of bladder carcinoma: a case–control study. *Urology Journal*, v.11, p.1968–1973, 2014.

McBETH, L. *et al.* Involvement of the androgen and glucocorticoid receptors in bladder câncer. *International Journal of Endocrinology*, 2015, In Press: [dx.doi.org/10.1155/2015/384860](https://doi.org/10.1155/2015/384860)

McEWEN, B.S. *et al.* Stress and anxiety: structural plasticity and epigenetic regulation as a consequence of stress. *Neuropharmacology*, v.62, p.3-12, 2012.

MCGRATH, M. *et al.* Hormonal and reproductive factors and the risk of bladder cancer in women. *American Journal of Epidemiology*, v.163, p.236-244, 2006.

MIYAMOTO, H. *et al.* Promotion of bladder cancer development and progression by androgen receptor signals. *Journal of the National Cancer Institute*, v.99, p.558-568, 2007.

MIYAMOTO, H. *et al.* Non-invasive papillary urothelial neoplasms: The 2004 WHO/ISUP classification system. *Pathology International*, v.60, p.1-8, 2010.

MIYAMOTO, H. *et al.* Nuclear hormone receptor signals as new therapeutic targets for urothelial carcinoma. *Current Cancer Drug Targets*, v.12, p.14-22, 2012a.

MIYAMOTO, H. *et al.* Expression of androgen and oestrogen receptors and its prognostic significance in urothelial neoplasm of the urinary bladder. *British Journal of Urology International.*, v.11, p.1716-1726, 2012b.

MUDRYJ, M. & TEPPER, C.G. On the origins of the androgen receptor low molecular weight species. *Hormones & Cancer*, v.4, p.259–269, 2013.

NAJARI, B.B. *et al.* Sex disparities in cancer mortality: the risks of being a man in the U. S. *Journal of Urology*, v.12, p.5774–5776, 2012.

NISHI, M. *et al.* Effects of early life stress on brain activity: Implications from maternal separation model in rodents. *General and Comparative Endocrinology*, v.181, p.306-309, 2013.

OVERDEVEST, J.B. *et al.* CD24 expression is important in male urothelial tumorigenesis and metastasis in mice and is androgenregulated. *PNAS*, v. 109, p. 3588-3596, 2012.

POPESKO, P. *et al.* A colour atlas of anatomy of small laboratory animals. London: Wolfe Publishing Ltd, 1992.

PRYCE, C.R. *et al.* Early life stress: long-term physiological impact in rodents and primates. *News in Physiological Sciences*, v.17, p.150-155, 2002.

PRYCE, C.R. *et al.* Long-term effects of early-life environmental manipulations in rodents and primates: potential animal models in depression research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v.29, p. 649–674, 2005.

RAHMANI, A.H. *et al.* Implication of androgen receptor in urinary bladder cancer: a critical mini-review. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics*, v.4, p.150-155, 2013.

REIS, L.O. *et al.* Urothelial carcinogen resistance driven by stronger Toll-like receptor 2 (TLR2) and Uroplakin III (UP III) defense mechanisms: a new model. *World Journal of Urology*, v.33, p.413-419, 2014.

SCHULER, L.A. & AUGER, A.P. Psychosocially influenced cancer: diverse early-life stress experiences and links to breast cancer. *Cancer Prevention Research*, v.3, p.1365-1370, 2010.

SCOSYREV, E. *et al.* The burden of bladder cancer in men and women: analysis of the years of life lost. *British Journal of Urology International*, v.109, p.57-62, 2012.

SHEN, S.S. *et al.* Expression of estrogen receptors-a and -b in bladder cancer cell lines and human bladder tumor tissue. *Cancer*, v.106, p.2610-2616, 2006.

SHIMADA, K. *et al.* ROS generation via NOX4 and its utility in the cytological diagnosis of urothelial carcinoma of the urinary bladder. *BMC Urology*, v.11, p.1-12, 2011.

SIEGEL R. *et al.* Cancer statistics, 2013. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v.63, p.11-30, 2013.

SIEVERT, K.D. *et al.* Economic aspects of bladder cancer: what are the benefits and costs? *World Journal of Urology*, v.27, p.295-300, 2009.

STÖHR, T. *et al.* Lewis/Fischer rat strain differences in endocrine and behavioural responses to environmental challenge. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v.67, p. 809-819, 2000.

SU, L.J. *et al.* Epigenetic contributions to the relationship between cancer and dietary intake of nutrients, bioactive food components, and environmental toxicants. *Frontiers in Genetics*, v.2, p1-12, 2011.

THAKER, P.H. *et al.* Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of ovarian carcinoma. *Nature Medicine*, v.12, p.939-944, 2006.

THAKER, P.H. *et al.* The neuroendocrine impact of chronic stress on cancer. *Cell Cycle*, v.6, p.430-433, 2007.

TRIKHA, M. *et al.* Targeted anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy for cancer: a review of the rationale and clinical evidence. *Clinical Cancer Research*, v.9, p.4653-4665, 2003.

TUYGUN, C. *et al.* Sex-specific hormone receptors in urothelial carcinomas of the human urinary bladder: a comparative analysis of clinicopathological features and survival outcomes according to receptor expression. *Urologic Oncology*, v.29, p.43–51, 2011.

WALKER, C.D. *et al.* Mother to infant or infant to mother? Reciprocal regulation of responsiveness to stress in rodents and the implications for humans. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, v.29, p.364-382, 2004.

WEI, S. *et al.* Estrogen and progesterone receptor expression is not always specific for mammary and gynecologic carcinomas: a tissue microarray and pooled literature review study. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, v.17, p.393–402, 2009.

WU, J.T. *et al.* Androgen receptor is a potential therapeutic target for bladder cancer. *Urology*, v.75, p.820-827, 2010

XIONG, F. & ZHANG, L. Role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in developmental programming of health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v.34, p.27-46, 2010.

YEMELYANOV, A. *et al.* Tumor suppressor activity of glucocorticoid receptor in the prostate. *Oncogene*, v.26, p.1885-1896, 2007.

ZHENG, Y. *et al.* Contrary regulation of bladder cancer cell proliferation and invasion by dexamethasone-mediated glucocorticoid receptor signals. *Molecular Cancer Therapeutics*, v.11, p.2621-2632, 2012.