



Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ
Centro Biomédico - Faculdade de Ciências Médicas
Programa de Pós - Graduação em Fisiopatologia
e Ciências Cirúrgicas PG - FISIOCIRURGIA

ESTUDO ESTRUTURAL E ONTOGENÉTICO DO ÚRACO E DA
BEXIGA DE FETOS HUMANOS NORMAIS E COM
ANENCEFALIA NO SEGUNDO TRIMESTRE GESTACIONAL

Helena Maria Figueiredo Pazos

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, PG-Fisiocirurgia, UERJ, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Alves Favorito

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

2010

Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ
Centro Biomédico - Faculdade de Ciências Médicas
Programa de Pós - Graduação em Fisiopatologia
e Ciências Cirúrgicas PG - FISIOCIRURGIA

Helena Maria Figueiredo Pazos

ESTUDO ESTRUTURAL E ONTOGENÉTICO DO ÚRACO E DA
BEXIGA DE FETOS HUMANOS NORMAIS E COM
ANENCEFALIA NO SEGUNDO TRIMESTRE GESTACIONAL

Rio de Janeiro

2010

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

P348 Pazos, Helena Maria Figueiredo.
Estudo estrutural e ontogenético do úraco e da bexiga de fetos humanos normais e com anencefalia no segundo trimestre gestacional / Helena Maria Figueiredo Pazos - 2010.
66f. : il.

Orientador : Luciano Alves Favorito.
Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas.
Bibliografia: f. 49-53.

1. Úraco - Teses. 2. Bexiga - Teses. 3. Feto - Teses.
4. Anencefalia - Teses. I. Favorito, Luciano Alves. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 611.622

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

Assinatura

Data

O presente trabalho foi realizado na Unidade de Pesquisa Urogenital, Centro Biomédico, Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Recebeu apoio financeiro, direta ou indiretamente, de CNPq, FAPERJ e CAPES.

AGRADECIMENTOS TÉCNICOS

Ao Professor Doutor Francisco José Barcellos Sampaio, chefe da Unidade de Pesquisa Urogenital,

Ao Professor Doutor Waldemar Silva Costa, chefe do Laboratório de Estrutura e Ultraestrutura,

Ao Professor Doutor Luiz Eduardo Macedo Cardoso chefe do Laboratório de Bioquímica,

Ao Professor Marcio Luis de Paula Lobo, pela dissecação dos fetos estudados neste trabalho,

Ao Instituto Fernandes Figueira pela doação dos fetos utilizados no trabalho.

À FAPERJ, pela bolsa de estudos (E-26/101.670/2008) que me foi concedida durante todo o Doutorado.

CONFLITO DE INTERESSES

Não há conflito de interesses.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 – O úraco	2
1.2 – A bexiga urinária	3
1.3 – Anencefalia	4
2. OBJETIVO	6
3. MATERIAL E MÉTODO	8
3.1 – Análise estereológica	10
3.2 – Análise imunohistoquímica	13
3.3 – Análise bioquímica	13
3.4 – Análise estatística	13
4. RESULTADOS	14
4.1 – Úraco – área da luz e epitélio	19
4.2 – Úraco – Tecido conjuntivo	23
4.3 – Úraco – tecido muscular	25
4.4 – Úraco – sistema elástico	28
4.5 – Úraco – colágeno	29
4.6 – Bexiga – Tecido conjuntivo	32
4.7 – Bexiga – tecido muscular	34
4.8 – Bexiga – Sistema elástico	37
4.10 – Bexiga – colágeno	38
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÃO	48
7 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
8 – ANEXOS	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cm = centímetros

mm = milímetros

HPB = hiperplasia prostática benigna

UERJ = Universidade do Estado do Rio de Janeiro

CEP = Comitê de Ética em Pesquisa

HUPE = Hospital Universitário Pedro Ernesto

SPC = semanas pós-concepção

μm = micrômetros

VV = densidade volumétrica

mg = miligramas

HCl = ácido clorídrico

g = gramas

r = índice de correlação

IC = intervalo de confiança

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste trabalho é apresentar um estudo estrutural e ontogenético do úraco em fetos humanos normais e da bexiga de fetos humanos normais e anencéfalos durante o segundo trimestre gestacional.

Materiais e Métodos: Cinquenta e nove fetos foram utilizados, 47 normais (22 do sexo masculino e 25 do sexo feminino) e 12 anencéfalos (5 do sexo masculino e 7 de sexo feminino) com idade variando entre 13 e 23 SPC. Os componentes fibrosos da matriz extracelular, o tecido muscular e a luz do úraco foram analisados através de métodos estereológicos e bioquímicos.

Resultados: A luz do úraco encontrava-se fechada na 18^a SPC nos sexos masculino e feminino. O epitélio de transição no úraco foi facilmente identificado em fetos com idade inferior a 17 SPC, nos quais a luz encontrava-se aberta. Nos fetos com idade ≥ 18 SPC, não foram visualizados o epitélio porque a luz encontrava-se fechada. Ocorreu um aumento estatisticamente significativo de tecido conjuntivo nas bexigas de fetos anencéfalos e uma redução também significativa do tecido muscular na bexiga dos fetos anencéfalos em comparação com os normais. A análise bioquímica mostrou um aumento na concentração de colágeno total nas bexigas dos fetos anencéfalos em comparação com os fetos normais.

Conclusões: O fechamento da luz do úraco ocorre na 17^a SPC. Após o fechamento, observa-se a ausência de epitélio de transição em seu interior, uma diminuição de tecido musculae e um aumento de colágeno tipo I, o que pode indicar uma remodelagem na formação do tecido fibroso. Os dados obtidos podem ser utilizados no estudo do desenvolvimento do úraco e da drenagem do tracto urinário embrionário. As alterações estruturais observadas na bexiga podem sugerir a existência de alterações funcionais na bexiga dos fetos anencéfalos.

Palavras-chave: úraco, bexiga, feto, anencefalia

ABSTRACT

Objective: The objective of this work is to present an ontogenetic and structural study of the urachus in normal human fetuses and of the bladder in normal and anencephalic fetuses during the second gestational trimester.

Material and Methods: Fifty nine fetuses were used, 47 normal (22 male and 25 female) and 12 anencephalic (5 male and 7 female) with ages between 13 and 23 weeks post conception (WPC). Stereological and biochemical methods were used to analyse the extracellular matrix fibrous components, smooth muscle and the urachal lumen.

Results: The urachal lumen was closed at the 18th WPC in both males and females. The transitional epithelium in the urachus was clearly identified in fetuses until the 17th WPC, in which the urachal lumen was open. In fetuses aged ≥ 18 WPC, the urachal epithelium was not visualized because the urachal lumen was closed. We observed a significant increase in the Vv of connective tissue in the bladders of anencephalic fetuses and a significant decrease in the Vv of smooth muscle cells in the bladders of anencephalic fetuses when compared to normal fetuses. The biochemical analyses showed a higher concentration of total collagen in the bladders of anencephalic fetuses when compared to normal fetuses.

Conclusion: Urachal lumen closing occurs in the 17th WPC. After the lumen closing, we notice an absence of the transitional epithelium in its interior, a decrease in the amount of smooth muscle and an increase in type I collagen, which indicates a characteristic remodeling in fibrous tissue formation. The data obtained in the present study can be used as basic knowledge related to the development of the urachus and embryonic urinary tract drainage. The structural alterations of the bladder found in this study can suggest the existence of functional alterations in the bladder of anencephalic human fetuses.

Key-words: urachus, bladder, fetuses, anencephaly

1 – INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Úraco

O úraco é uma estrutura tubular localizada entre a bexiga urinária e o umbigo, derivada da obliteração do alantóide [1]. Após o nascimento, o úraco varia de 3 a 10 cm de comprimento por 8 a 10 mm de diâmetro [2]. O úraco é constituído por três camadas, a mais interna formada por epitélio de transição, a intermediária formada por tecido conjuntivo e a mais externa formada por tecido muscular que se continua com o detrusor da bexiga [3].

Entre a 4^a e a 5^a semana do desenvolvimento fetal, a bexiga, localizada próxima a região umbilical, migra para a região pélvica e posiciona-se próxima ao púbis [1]. Durante a migração da bexiga, a luz do úraco estreita-se e progressivamente fecha-se, tornando-se um cordão fibroso que conecta a cúpula da bexiga ao umbigo [1]. Após o nascimento, essa estrutura vestigial recebe o nome de ligamento umbilical mediano [4]. O momento do fechamento do úraco e as suas dimensões ainda são desconhecidos.

As anomalias do úraco são raras, com uma incidência de 1:5000 nascimentos, sendo mais encontradas no sexo masculino, e detectadas comumente ao nascimento [5,6]. As anomalias de úraco podem estar associadas a outras anomalias genitourinárias incluindo refluxo vesicoureteral, ectopia renal cruzada e hipospádia. As anomalias de úraco mais comuns são úraco totalmente desobstruído (patente), dilatação cística e divertículo uracal [1,6]. Na população adulta, tumores malignos de úraco são raros e surgem predominantemente a partir do epitélio, sendo o adenocarcinoma o mais freqüente [7]. O sexo masculino é afetado por câncer de úraco duas vezes mais que o sexo feminino e aproximadamente 33% dos casos ocorrem em pacientes com menos de 55 anos de idade [4].

Os conhecimentos da estrutura do úracó e do seu desenvolvimento são importantes para o entendimento da drenagem do tracto urinário embrionário. Antes da ruptura da membrana cloacal, o ducto mesonéfrico abre-se na cloaca e provavelmente transporta a urina produzida pelos ductos mesonéfricos no início da 5ª semana gestacional. [8]. Durante esse período, o úracó patente pode servir como saída temporária de urina. Estudos específicos sobre o desenvolvimento do úracó em fetos humanos são escassos.

Bexiga urinária

A bexiga urinária é um órgão muscular oco que recolhe a urina produzida pelos rins e funciona como um reservatório temporário [1]. É constituída por mucosa (revestida por epitélio de transição), camada muscular e adventícia [9].

A bexiga fetal normal é visualizada aproximadamente na décima semana gestacional devido ao início da produção de urina nesse momento, mas as opiniões sobre o início da produção de urina variam da 11ª até a 16ª semanas de gestação baseado em ultrasonografias [10,11,12].

Newman et al (1989) descreveu que a bexiga fetal humana passa por uma série de transformações em seu desenvolvimento da 13ª até a 21ª semanas gestacionais finalmente adquirindo um urotélio típico e uma camada muscular bem desenvolvida. Até a 11ª semana gestacional a parede da bexiga é formada por mesenquima e este gradualmente amadurece em tecido conjuntivo frouxo. O colágeno torna-se aparente por volta da décima terceira semana gestacional.

O colágeno e a elastina são componentes importantes da parede da bexiga que participam do seu funcionamento. O colágeno proporciona resistência de tensão, porém, um acúmulo excessivo pode inibir a

contratilidade da bexiga e a condução dos impulsos elétricos através da parede. A elastina proporciona ao tecido elasticidade e pode ajudar na complacência. [14].

No tecido muscular o seu papel é proporcionar sustentação, da mesma forma que os tendões no tecido esquelético. Desta maneira, como o músculo liso não apresenta tendões, necessita de uma maior quantidade de colágeno [14].

O músculo detrusor da bexiga é um dos que apresenta a camada mais espessa de músculo liso. Ele é responsável pela principal função da bexiga, armazenamento e eliminação da urina. Em algumas condições patológicas, como a HPB, válvulas posteriores de uretra, espinha bífida e danos no cordão espinhal, a organização e a função do músculo detrusor são profundamente alteradas. Essas alterações levam a complacência anormal de bexiga e subsequente pressão intravesical elevada, a qual não sendo tratada ocasiona danos renais [15].

Anencefalia

Os defeitos de tubo neural são uma das más-formações mais comuns do sistema nervoso central, com uma prevalência ao nascimento de 1:1000 [16].

A anencefalia é a má-formação de tubo neural mais agressiva, resultante do não fechamento do tubo neural na base do crânio que ocorre entre a terceira e quarta semanas (do dia 26 ao 28) após a concepção, deixando os ossos que formam a cabeça pouco desenvolvidos. O cérebro fica incompleto e o tecido cerebral remanescente permanece exposto. O encéfalo se apresenta sem parte ou sem todo o cérebro e o tecido encefálico remanescente é freqüentemente lesado pela exposição ao líquido amniótico. O nascimento de crianças mortas é uma conseqüência comum da

anencefalia fetal, mas alguns fetos anencéfalos nascem vivos com cérebro rudimentar. Porém, a ausência de um cérebro funcional os deixa incapazes de ter consciência e de sentir dor, embora os reflexos do tronco cerebral possam ocasionar ações como respirar e ocasionalmente respostas ao som e ao toque. Anencéfalos recém-nascidos não são viáveis ou tratáveis e a sua sobrevivência é medida em horas ou dias. [17,18].

A patogenia da anencefalia ainda é controversa. Tanto uma falha no fechamento do tubo neural quanto uma reabertura após o fechamento podem ser hipóteses. [19,20,21]. Alguns estudos sugerem que a anencefalia se origina da exencefalia, na qual o tecido cerebral não coberto pelas meninges, pelo crânio e pela pele é progressivamente destruído no útero [22].

Apesar dos conflitos éticos, a literatura apresenta alguns artigos sobre o uso de órgãos de fetos com anencefalia para transplante [23, 21, 24,25].

A estrutura da bexiga de fetos humanos anencéfalos é desconhecida até o momento.

2 – OBJETIVOS

OBJETIVOS

Os objetivos desta tese são realizar um estudo estrutural e ontogenético do úraco de fetos humanos normais, observando a cronologia do fechamento da sua luz e analisando possíveis diferenças estruturais entre os sexos masculino e feminino; e realizar um estudo estrutural da bexiga de fetos humanos normais e anencéfalos do segundo trimestre gestacional.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

O Projeto foi realizado na Unidade de Pesquisa Urogenital, e foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) com o protocolo número 1918-CEP/HUPE (Anexo 1).

Foram utilizados 59 fetos humanos sendo 47 normais e 12 anencéfalos. Dos 47 fetos normais, 25 eram do sexo feminino e 22 eram do sexo masculino. Dos 12 fetos anencéfalos, 5 eram do sexo masculino e 7 eram do sexo feminino. Nenhum dos fetos estudados apresentou morte relacionada ao aparelho urogenital. Todos apresentavam bom estado de preservação. Os fetos utilizados neste estudo foram doados pelo Instituto Fernandes Figueira.

A idade gestacional dos fetos foi determinada em semanas pós-concepção (SPC), de acordo com o critério do comprimento do maior pé (Figura 1). Eram feitas 3 medidas de cada um dos pés, direito e esquerdo. Em seguida era feita a média entre as 3 medidas de cada um dos pés. Aquele que apresentasse a maior média seria utilizado para a determinação da idade gestacional. Atualmente, esse critério é o parâmetro mais aceito para o cálculo da idade gestacional [26, 27, 19; 28, 20]. Também foram determinados o comprimento cervix-coccix dos fetos e o seu peso corporal imediatamente antes da dissecação, sendo que todas as medidas foram feitas pelo mesmo examinador.

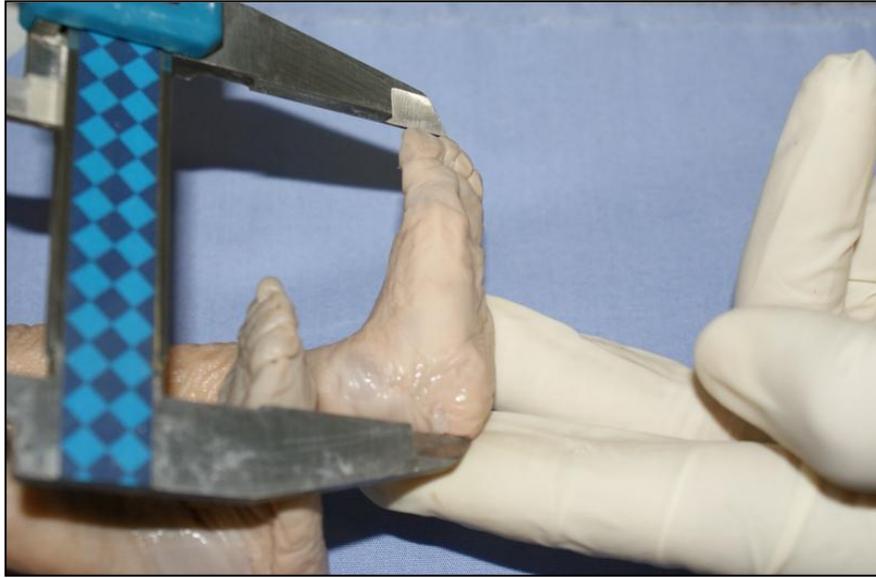


Figura 1: Determinação da idade gestacional através da medida do maior pé com um paquímetro de precisão.

Após as medidas, os fetos foram cuidadosamente dissecados com o auxílio de um microscópio esteroscópio com aumento de 16/25X. O úraco e a bexiga foram removidos, juntamente com o bloco urogenital.

Análise estereológica

A bexiga e o úraco foram separados das outras estruturas e fixados em formalina tamponada 10%. Realizou-se processamento histológico de rotina para inclusão em parafina e, em seguida, foram feitos cortes de 5 μm de espessura com intervalo de 200 μm entre cada um deles. Foram estudados a área da luz do úraco, o tecido muscular, o tecido conjuntivo, as fibras do sistema elástico e o colágeno através de métodos histoquímicos, imunohistoquímicos e bioquímicos.

Os cortes eram corados com hematoxilina-eosina para verificar a integridade do material. Foi utilizado o Tricrômico de Masson para quantificar o tecido conjuntivo e o tecido muscular e para determinar a área

da luz do úraco; Resorcina Fucsina de Weigert com prévia oxidação para observação das fibras do sistema elástico; e Vermelho de Picro Sirius com polarização para observação dos diferentes tipos de colágeno. O tecido muscular, o tecido conjuntivo e as fibras do sistema elástico foram quantificadas por método estereológico [29].

Cinco cortes foram corados, e cinco campos foram selecionados em cada corte. Assim, de cada feto eram analisados 25 diferentes campos de cada um dos fetos estudados. Todos os campos selecionados foram fotografados em aumento de 400x e as imagens capturadas com a utilização do microscópio Olympus BX51 e da câmera Olympus DP70. As imagens, em seguida eram transferidas para o software Image Pro. As fibras foram quantificadas com a utilização do software Image J (versão 1.34s; National Institute of Health, Bethesda, MD) para a determinação da densidade volumétrica (V_v) de cada componente.

Era sobreposta uma grade de 100 pontos a área do tecido selecionada. Com relação aos cortes corados pelo Tricrômico de Masson, os pontos que se encontravam sobre a coloração azul eram colocados como tecido conjuntivo e os pontos que se encontravam sobre a coloração vermelha eram colocados como tecido muscular (Figura 2). Era determinada a média dos dados obtidos em cada feto para que fosse realizada a análise estatística. Já para a determinação da área da luz do úraco era realizado o contorno do epitélio. As imagens no aumento de 400x, eram capturadas e digitalizadas da mesma forma que na análise descrita anteriormente (Figura 3).

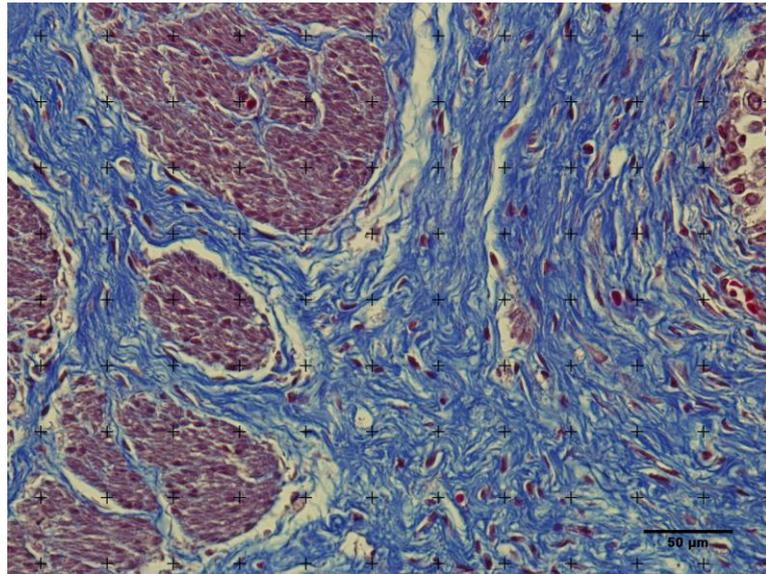


Figura 2: Fotomicrografia da bexiga com a grade de 100 pontos do software Image J sobreposta ao tecido para quantificação. Feto do sexo feminino com 15 SPC. Coloração Tricromico de Masson. 400x.

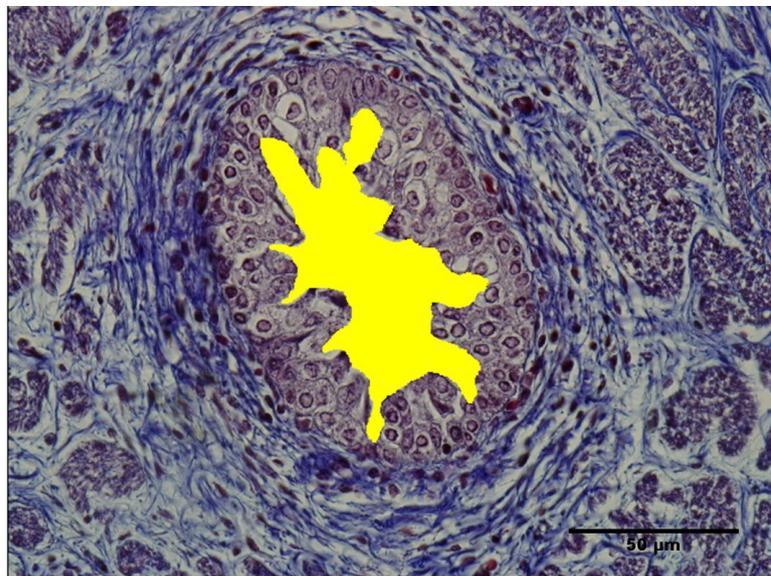


Figura 3: Fotomicrografia do úraco mostrando a região selecionada para a determinação da área da luz. Feto do sexo masculino com 14,5 SPC. de Coloração Tricrômico de Masson. 400x.

Análise imunohistoquímica

Para a análise por imunohistoquímica, foram utilizadas lâminas silanizadas para melhor fixação do tecido, e os anti-corpos utilizados foram colágeno tipos I e III (ABCAM ab6308-100® e ABCAM ab6310-100®). A etapa de reativação antigênica foi realizada em banho de tampão TRIS-EDTA (pH 9.0) overnight à 60°C. Os cortes também foram submetidos ao bloqueio da peroxidase endógena e incubados em câmara úmida com reagente A (Invitrogen®) para o bloqueio dos sítios antigênicos. Após o bloqueio, foi colocado o anticorpo primário, permanecendo em câmara úmida. Em seguida foram incubados nos reagentes B (anticorpo secundário) e C (streptavidina). Os cortes foram revelados ao abrigo da luz com o uso do diaminobenzidina (DAB).

Análise bioquímica

Para as análises bioquímicas do colágeno, as amostras foram fixadas em acetona. A concentração de colágeno total no tecido foi determinada por método colorimétrico de dosagem de hidroxiprolina. Em seguida, 5 à 14 mg de tecido seco, foi hidrolizado em HCL 6N por 18 horas a 118°C, como previamente descrito [30]. O ensaio foi realizado em seguida utilizando o método da cloramina T [31]. Os resultados eram expressos em micrograma de hidroxiprolina por miligrama de tecido seco.

Análise estatística

As médias eram comparadas estatisticamente através do Teste – T não pareado utilizando o software Graph Pad Prism. As diferenças eram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0.05$.

4 – RESULTADOS

RESULTADOS

Os fetos estudados apresentavam idade entre 13 e 23 SPC, peso corporal entre 60 e 950g e comprimento cervix-coccix entre 9.5 e 20.5 cm.

A tabela 1 evidencia os dados dos fetos utilizados para a análise do úraco.

A tabela 2 evidencia os dados dos fetos normais utilizados para análise estrutural da bexiga.

A tabela 3 evidencia os dados dos fetos com anencefalia.

Tabela 1: A tabela evidencia os dados referentes aos fetos cujos úracos foram utilizados nesse trabalho: M: masculino; F: feminino, idade gestacional em semanas pós concepção (SPC), peso corporal em gramas (g) e comprimento cervix-coccix em centímetros (cm).

FETOS NORMAIS – ANÁLISES ÚRACO			
SEXO	IDADE (SPC)	PESO (g)	COMPRIMENTO (cm)
M	17	300	7.3
F	20.4	455	19.3
M	16.4	245	16.5
M	15.3	125	13.3
F	13.7	120	12.2
F	13	60	9.5
M	20	400	18.5
F	19.5	285	18.5
M	18	365	18.5
F	17.4	280	16
M	18	280	16
M	17.3	280	17
F	16.4	155	14
M	16.2	230	15.5
F	16.5	220	16
M	18.2	300	15
F	17	295	16.4
F	16.2	215	16.1
M	17.8	350	17.7
F	19.3	300	18.9
F	18	300	16.5
F	16.1	200	16
F	16.6	225	16
F	14.5	105	12.5
F	18.6	335	16.5
F	17.8	280	15.5
M	14.7	165	13
M	15.5	190	13
M	17.5	245	15
M	16.6	150	14.5
F	17.4	290	16
F	18.4	350	17
M	16.6	185	15
M	15.9	185	14.5
F	18.2	405	18
M	18.5	145	15.5
M	17.6	190	16
M	14.5	90	12
F	19.4	400	18
M	16.4	220	15

Tabela 2: A tabela evidencia os dados referentes aos fetos cujas bexigas foram utilizadas nesse trabalho: M: masculino; F: feminino, idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC), peso corporal em gramas (g) e comprimento cervix-coccix em centímetros (cm).

FETOS NORMAIS – ANÁLISES BEXIGA			
SEXO	IDADE (SPC)	PESO (g)	COMPRIMENTO (cm)
M	14.2	125	13
M	14.7	165	13
M	15.5	190	20
F	15.7	260	15.5
M	15.9	185	14.5
M	16.3	195	15
F	16.5	300	16.2
M	16.6	150	14.5
F	16.6	225	16
F	17.3	140	14
F	17.4	290	16
M	17.5	245	15
M	17.6	190	16
F	17.8	285	15.5
F	17.8	280	15.5
F	18.2	405	18
F	18.2	285	15.3
F	19.4	400	18
M	21	580	20.5
F	23	950	24

Tabela 3: A tabela evidencia os dados referentes aos fetos anencéfalos cujas bexigas foram utilizadas nesse trabalho: M: masculino; F: feminino, idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC), peso corporal em gramas (g) e comprimento cervix-coccix em centímetros (cm).

FETOS ANENCÉFALOS – ANÁLISES BEXIGA			
SEXO	IDADE (SPC)	PESO (g)	COMPRIMENTO (cm)
F	18	265	13
F	18.8	170	14
F	18.9	230	14
M	19	230	14
F	19.3	245	14
F	19.6	330	14.5
M	19.6	280	14
F	20.1	280	14.5
M	20.2	340	16.5
M	21.2	420	15.5
F	21.2	320	14.5
M	21.9	340	16.5

Úraco

Área da luz e epitélio

Ao comparar a idade gestacional com a área da luz do úraco, observou-se uma correlação negativa, tanto no sexo masculino ($r = -0.9666$; 95% IC - 0.9923 à - 0.8611) quanto no sexo feminino ($r = -0.9462$; 95% IC - 0.9875 à - 0.7832) (Figura 4). Quanto maior a idade gestacional, menor a área da luz do úraco. A área variou de 1.676 (17 SPC) a 16.301 (13 SPC). O seu fechamento ocorreu na 18^a SPC em ambos os sexos. O epitélio de transição no úraco foi identificado nos fetos que apresentavam luz aberta (Figura 5). Nos fetos com idade gestacional maior ou igual a 18 SPC o epitélio não foi visualizado porque a luz encontrava-se fechada (Figura 6).

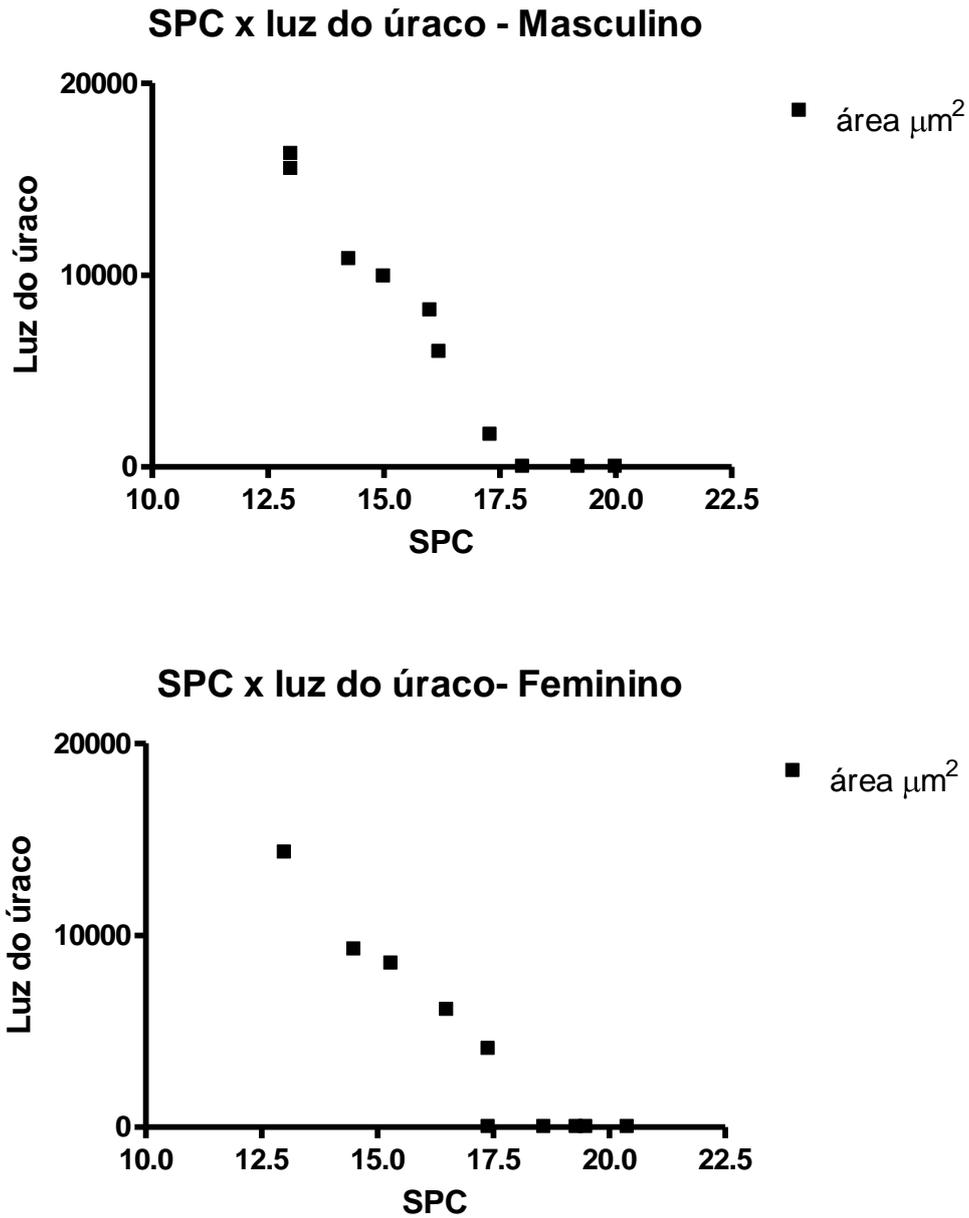


Figura 4: Os gráficos evidenciam a correlação negativa ou inversa entre a idade gestacional e a área da luz do útero nos sexos masculino e feminino. Quanto maior a idade gestacional, menor a área da luz do útero que oblitera-se a partir da 17ª SPC.

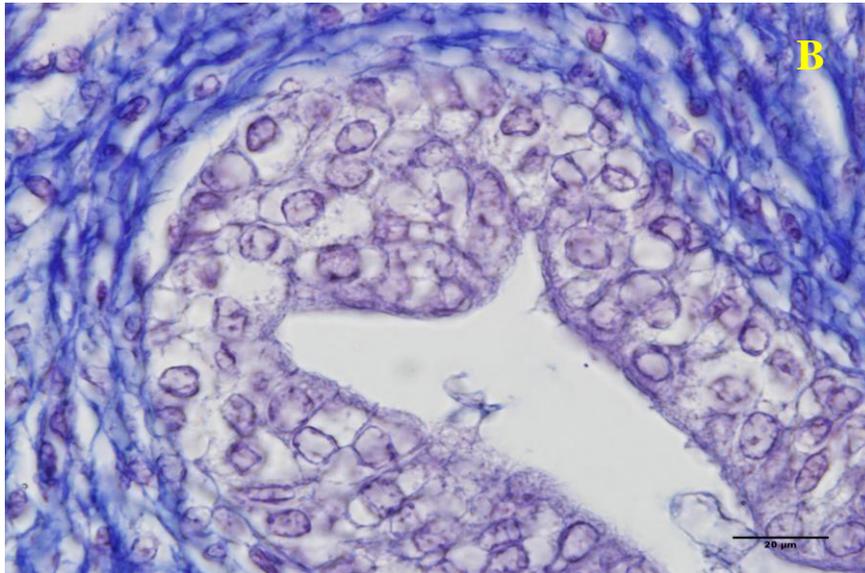
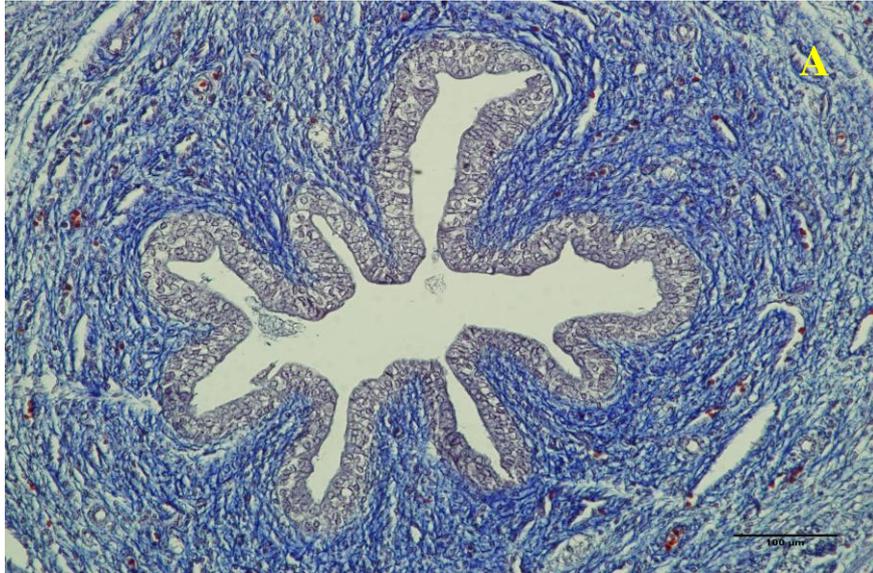


Figura 5: Fotomicrografias da luz do úraco fetal e do seu epitélio em corte transversal. Feto do sexo masculino com 14 SPC em diferentes aumentos. A) Visão geral do úraco. Epitélio e tecido conjuntivo. Coloração Tricrômico de Masson. 40x. B) Luz do úraco fetal e do seu epitélio em corte transversal. Feto do sexo masculino com 14 SPC. Coloração: Tricrômico de Masson 1000x.

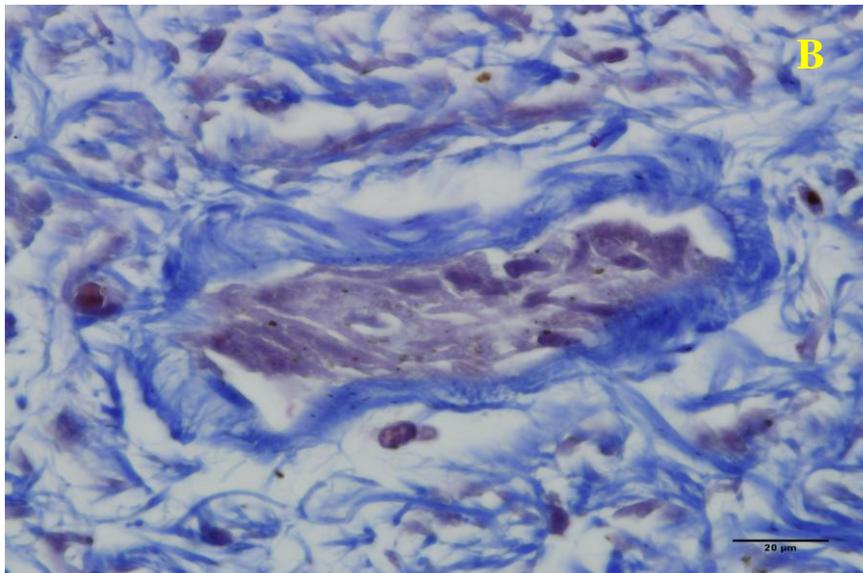
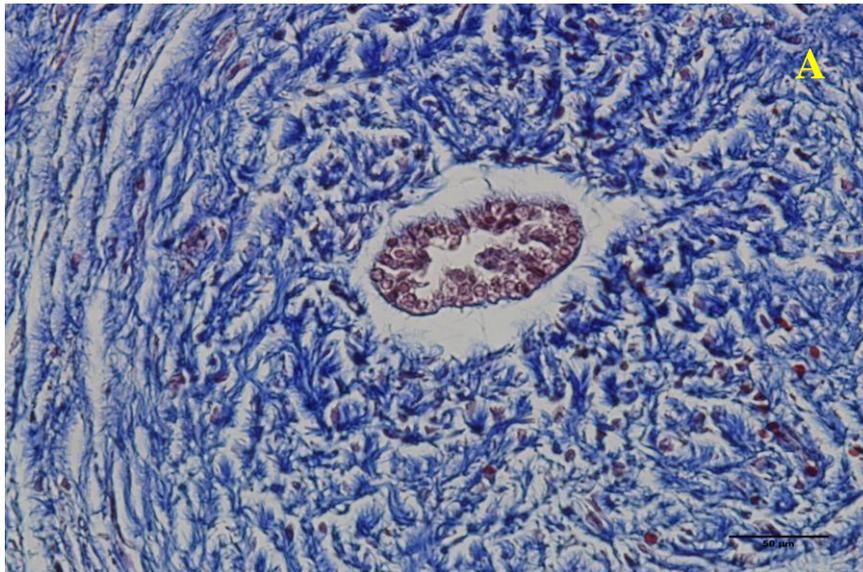


Figura 6: Fotomicrografias da luz do úraco fetal e do seu epitélio em corte transversal. A) Observa-se a luz se fechando. Feto do sexo masculino com 17 SPC. Coloração: Tricrômico de Masson Aumento: 200x. B) Luz do úraco fetal completamente obliterada. Não se observa mais a presença do epitélio. Feto do sexo masculino com 20 SPC. Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento:1000x.

Tecido Conjuntivo

O úraco apresentou uma quantidade maior de tecido conjuntivo em relação ao tecido muscular, em ambos os sexos, masculino e feminino. As análises quantitativas (Figura 7) mostraram um aumento estatisticamente significativo ($p = 0.0439$) na densidade volumétrica de tecido conjuntivo no úraco dos fetos do sexo feminino (67.64%; 95% IC 55.64 – 79.63) quando comparado aos fetos do sexo masculino (58.38%; 95% IC 34.97 – 61.81). Ao comparar a idade gestacional com a quantidade de tecido conjuntivo foi observada uma correlação positiva apenas no sexo feminino ($r = 0.9368$; 95% IC 0.8442 – 0.9751) (Figura 8).

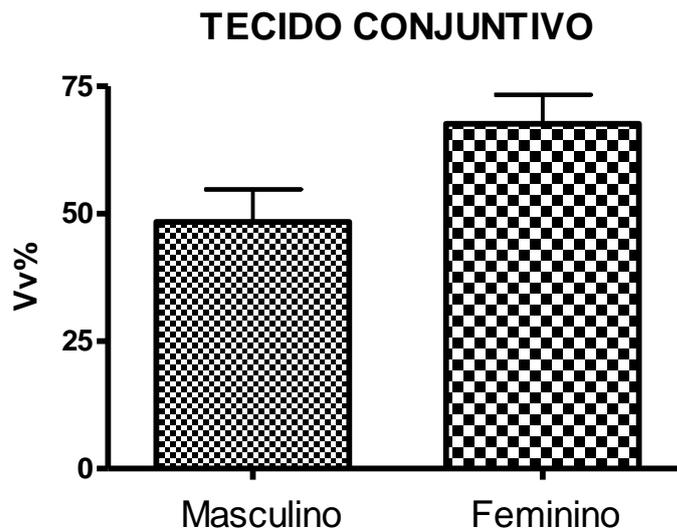
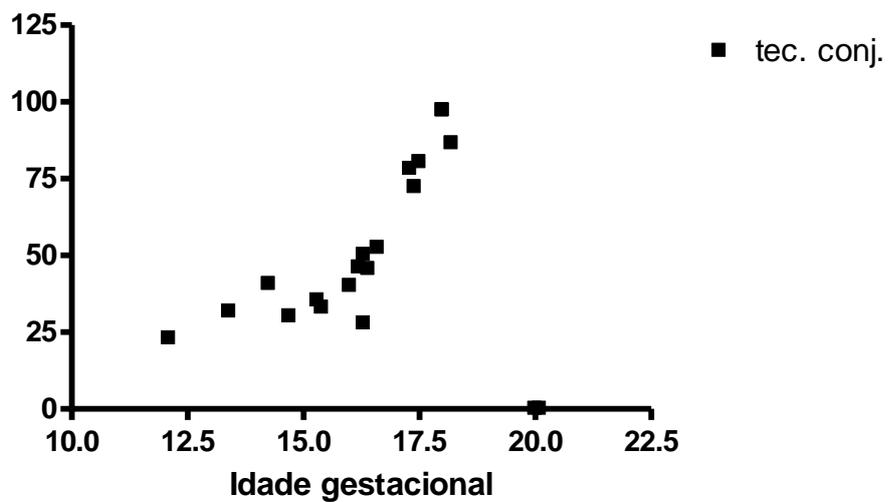


Figura 7: Gráfico comparativo da quantidade de tecido conjuntivo no úraco entre o sexo masculino e feminino. Existe uma maior quantidade de tecido conjuntivo no sexo feminino em relação ao sexo masculino e essa diferença é estatisticamente significativa ($p = 0.0439$).

IG x Tecido conjuntivo - Masculino



IG x Tecido conjuntivo - Feminino

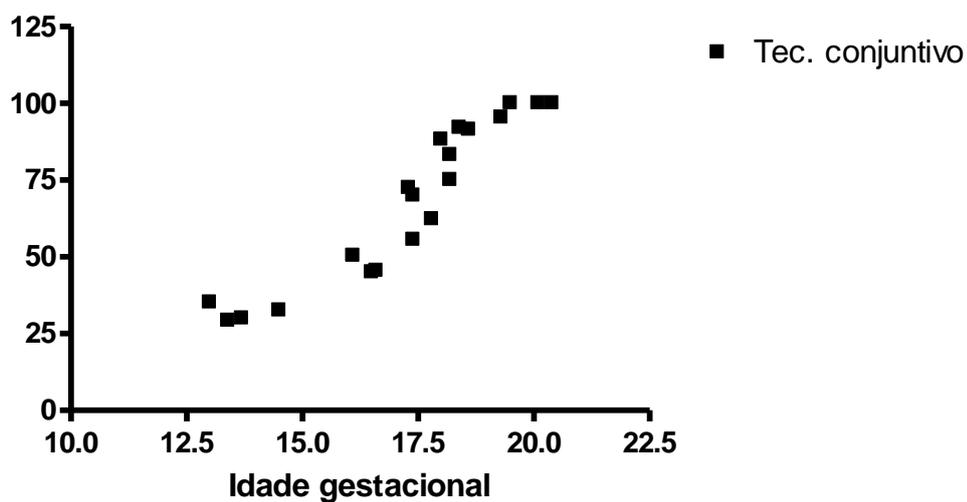


Figura 8: Os gráficos evidenciam a correlação positiva entre a quantidade de tecido conjuntivo no úraco e a idade gestacional apenas no sexo feminino.

Tecido Muscular

As análises quantitativas demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa do tecido muscular do útero entre os sexos masculino (23.02%; 95% IC 15.58 – 30.48) e feminino (18.43%; 95% IC 9.61 – 23.32). Ao comparar a idade gestacional com a quantidade de tecido muscular, observou-se uma diminuição estatisticamente significativa deste tecido nos fetos com maior idade gestacional (feminino: $r = - 0.8280$, 95% IC - 0.9298 à -0.6083; masculino: $r = - 0.6324$, 95% IC - 0.8399 à - 0.2635). Porém apenas no sexo feminino foi observada uma correlação inversa ou negativa, indicando que quanto maior a idade gestacional dos fetos do sexo feminino, menor a quantidade de tecido muscular no útero dos mesmos (Figuras 9, 10 e 11).

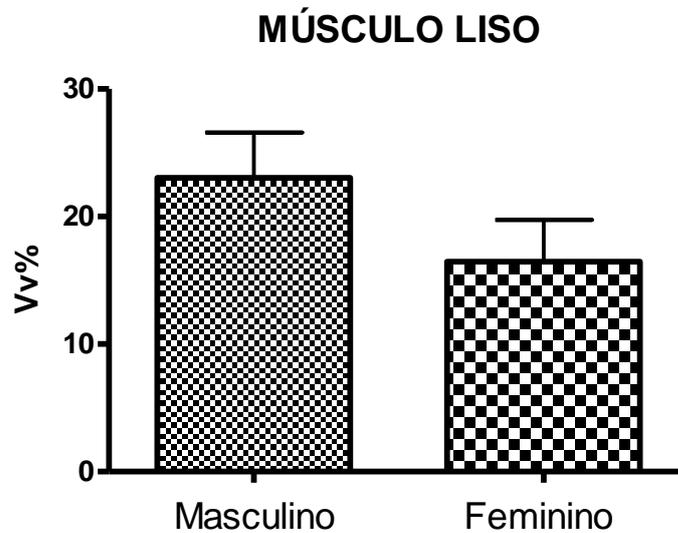


Figura 9: Gráfico comparativo da quantidade de tecido muscular no útero entre os sexos masculino e feminino. Não existe diferença significativa entre os grupos ($p = 0.1475$).

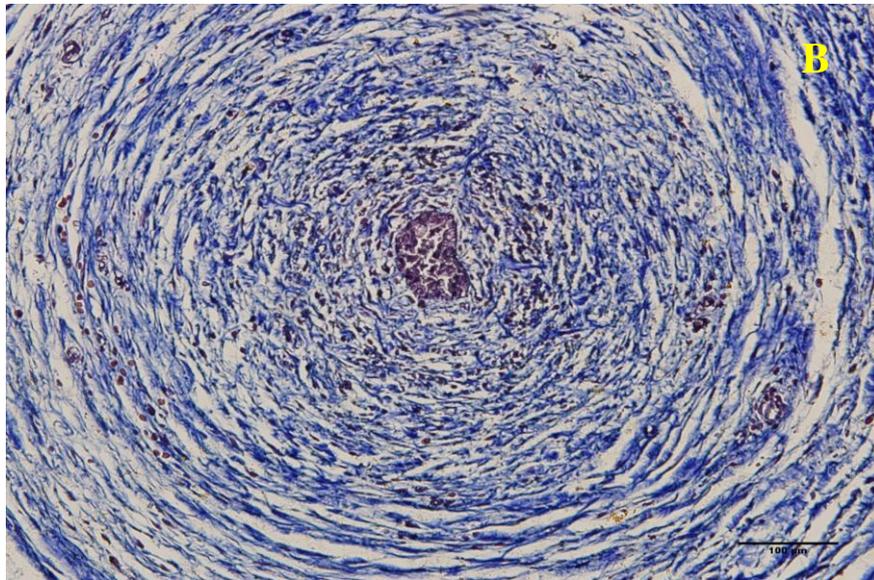
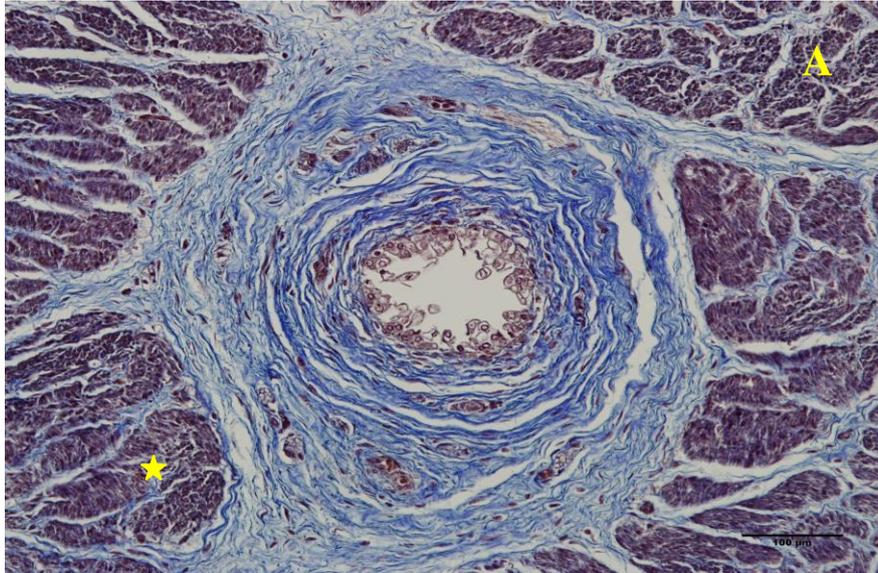


Figura 10: Fotomicrografias do úraco fetal mostrando o tecido muscular em corte transversal. A) Grande quantidade de tecido muscular (vermelho) em feto do sexo feminino com 15 SPC. Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento: 200x. B) Redução de tecido muscular em um feto do sexo feminino com 20 SPC. Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento: 200x.

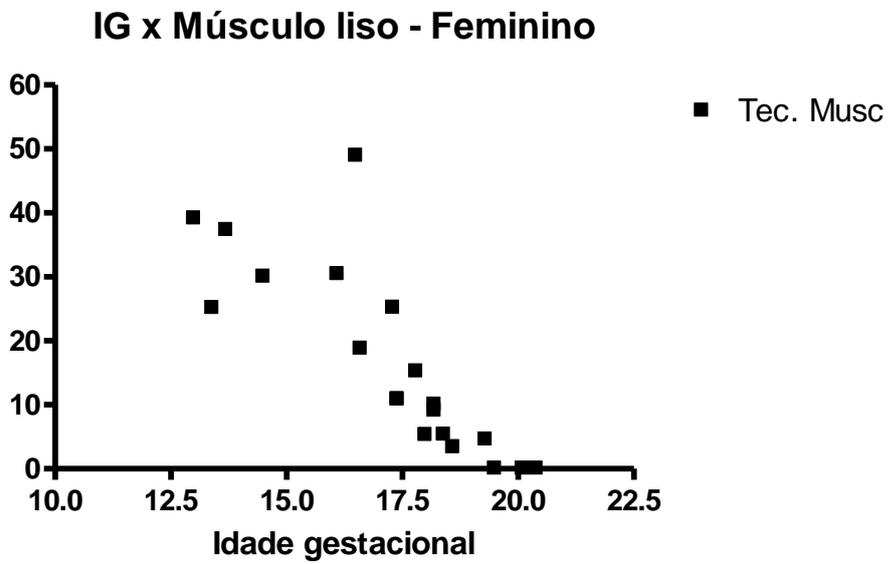
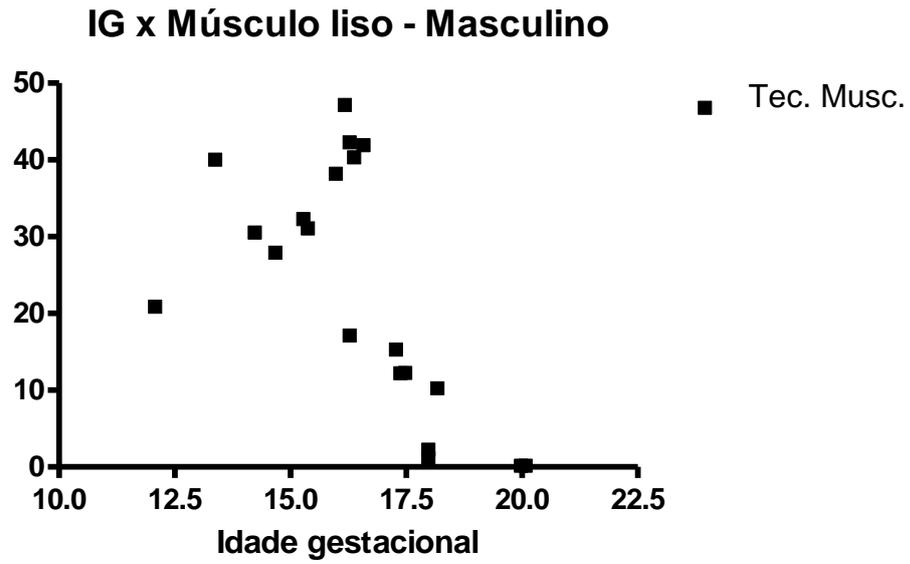


Figura 11: Os gráficos evidenciam a correlação inversa ou negativa entre a quantidade de tecido muscular no úraco e a idade gestacional apenas no sexo feminino.

Sistema elástico

Não foram observadas fibras do sistema elástico em nenhum dos úracos analisados. Elas foram observadas apenas nas artérias umbilicais e demais vasos sanguíneos do úraco (Figura 12).

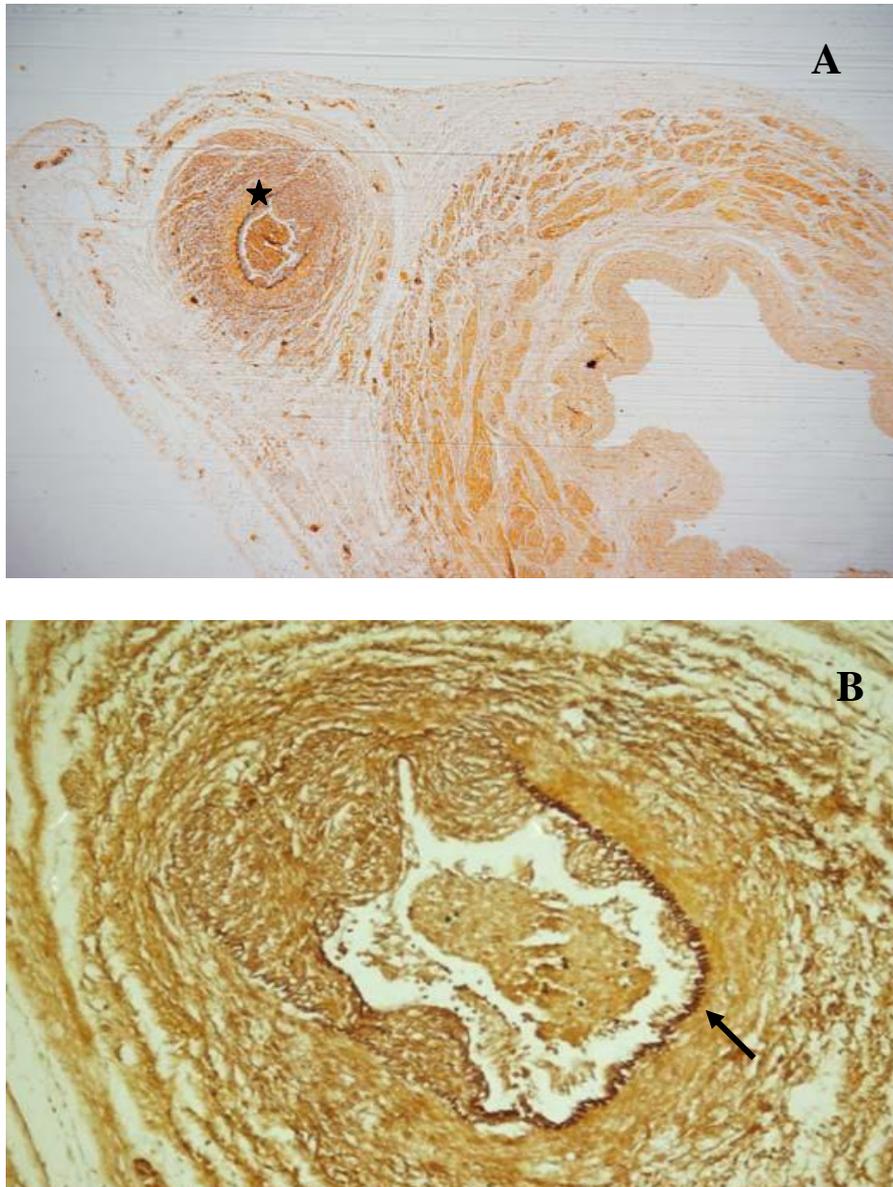


Figura 12: Fotomicrografias do úraco fetal mostrando a presença das fibras do sistema elástico apenas nos vasos, A) Aspecto geral do úraco mostrando a ausência de fibras do sistema elástico no tecido conjuntivo. Feto do sexo masculino com 14 SPC. Coloração: Resorcina Fucsina de Weigert com prévia oxidação. Aumento: 40x. B) Artéria umbilical com a presença das fibras do sistema elástico. Resorcina Fucsina de Weigert com prévia oxidação. Aumento: 400x.

Colágeno

Através da imunohistoquímica foi observada uma predominância de colágeno tipo III em fetos mais jovens (Figura 13). Já através da observação das fibras de colágeno através da polarização observou-se nos fetos mais jovens uma predominância da cor verde e nos mais velhos uma predominância da cor vermelha (Figura 14). Isso pode sugerir uma predominância de colágeno tipo I nos fetos mais jovens e do colágeno tipo III nos fetos de maior idade.

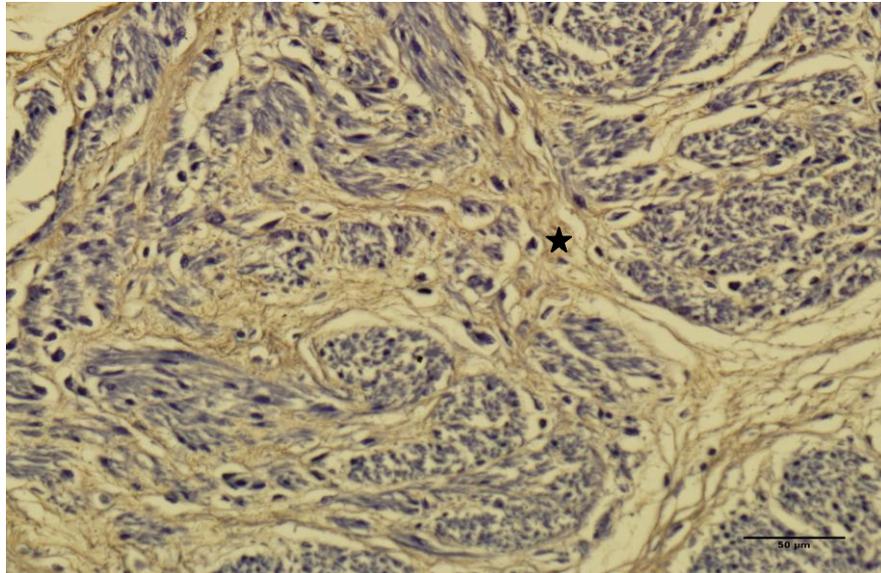


Figura 13: Fotomicrografia do úraco fetal mostrando através da marcação por imunohistoquímica a distribuição das fibras de colágeno tipo III. Feto com 15 SPC. Anti-colágeno tipo III. Aumento: 400x.

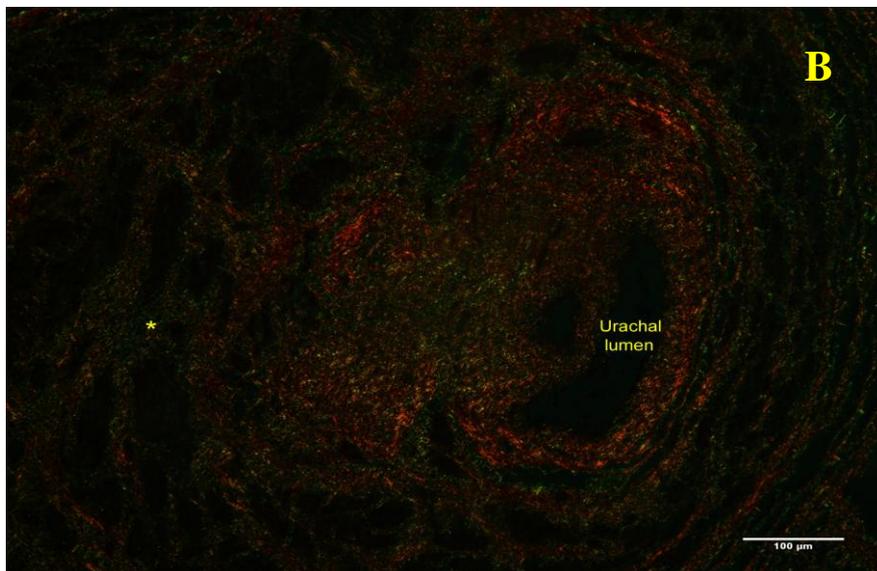
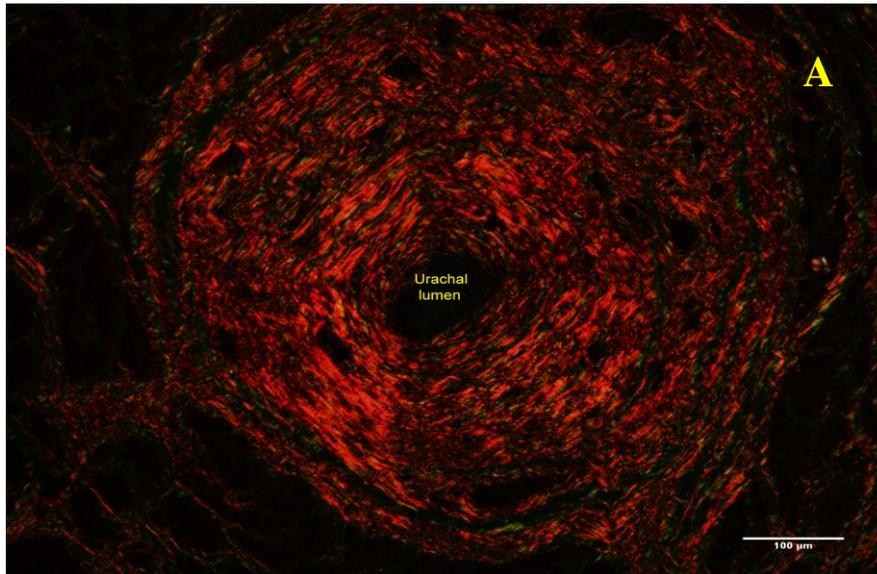


Figura 14: Fotomicrografias do úracó fetal mostrando a distribuição das fibras de colágeno. A) Feto com 18 SPC predominando a coloração vermelha. B) Feto com 13 SPC predominando a coloração verde. Coloração: Vermelho de Picro Sirius com polarização. Aumento: 200x.

A concentração de colágeno total no úraco dos fetos do sexo masculino (45,656 $\mu\text{g-OHpro/mg}$; 95% IC 35.46 – 55.86) e do sexo feminino (42,308 $\mu\text{g-OHpro/mg}$; 95% IC 35.50 – 49.11) avaliada por métodos bioquímicos não apresentou diferenças entre os grupos ($p = 0.5912$). Nos fetos do sexo feminino, a concentração de colágeno total aumentou com a idade, porém, nos fetos do sexo masculino não foi observada nenhuma correlação com a idade (feminino: $r = 0.9022$, 95% CI 0.009715 – 0.9936; masculino: $r = 0.1906$, 95% IC - 0.7347 à 0.8680).

Bexiga Urinária

Tecido conjuntivo

As análises estereológicas mostraram um aumento estatisticamente significativo ($p < 0.0001$) na quantidade de tecido conjuntivo na bexiga dos fetos anencéfalos (69.71 %; 95% IC: 68.02 ± 71.39) quando comparados aos normais (52.74 %; 95% IC: 48.90 ± 56.57) (Figura 15). Ao comparar a idade gestacional dos fetos com a quantidade de tecido conjuntivo (Figura 16), não foi observada nenhum tipo de correlação nem no grupo de fetos normais ($r = -0.5520$; 95% IC: -35.48 ± 39.58) e nem no grupo de fetos anencéfalos ($r = 0.5125$; 95% IC: 21.11 ± 26.80).

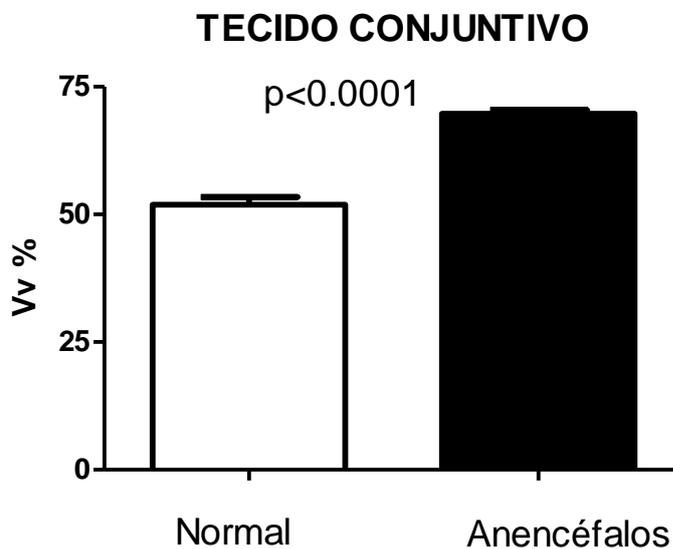


Figura 15: Gráfico comparativo da quantidade de tecido conjuntivo na bexiga dos fetos normais e dos fetos anencéfalos. Observa-se um aumento significativo de tecido conjuntivo na bexiga dos fetos anencéfalos.

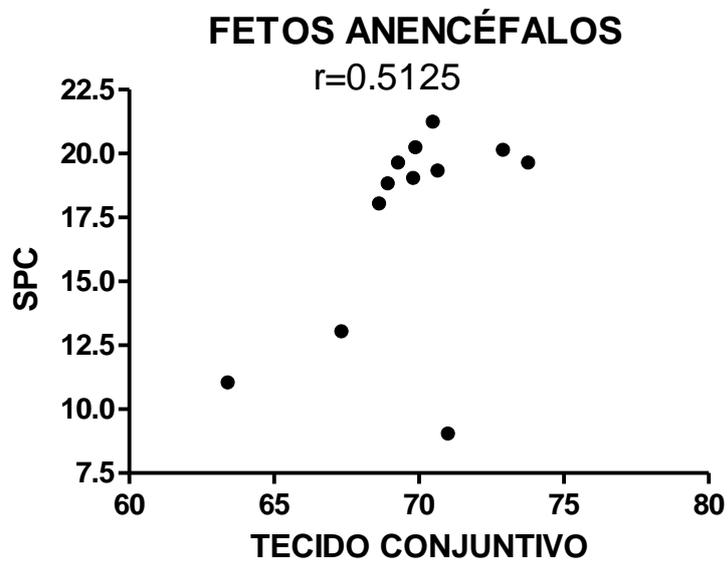
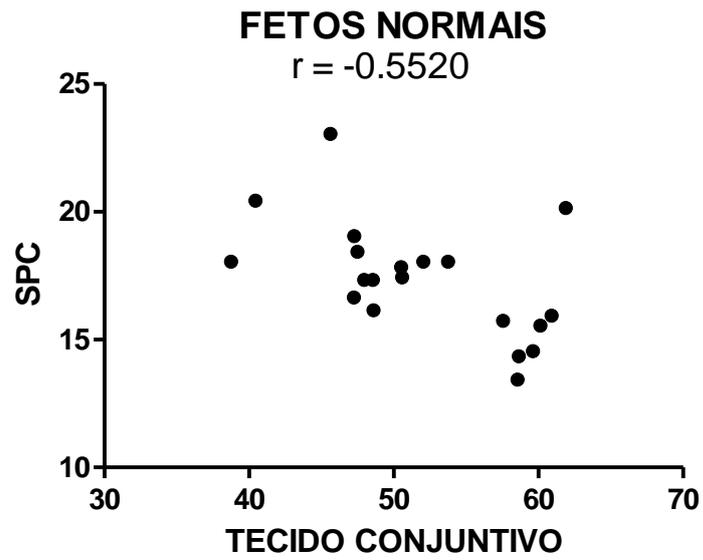


Figura 16: Ausência de correlação entre a quantidade de tecido conjuntivo na bexiga e a idade gestacional nos grupos normal e anencéfalo.

Tecido muscular

As bexigas dos fetos anencéfalos (23.96%; 95% IC: 21.11 ± 26.80) apresentaram uma diminuição significativa estatisticamente ($p < 0.0001$) na quantidade de tecido muscular em relação aos fetos normais (38.35%; 95% IC: 35.96 ± 40.75). Não foi observada nenhuma correlação entre a idade gestacional e a quantidade de tecido muscular nas bexigas dos grupos normal ($r = 0.3211$ 95% IC: -0.1416 ± 0.6687) e anencéfalo ($r = -0.17724$; 95% IC: -0.6818 ± 0.4418) (Figuras 17, 18 e 19).

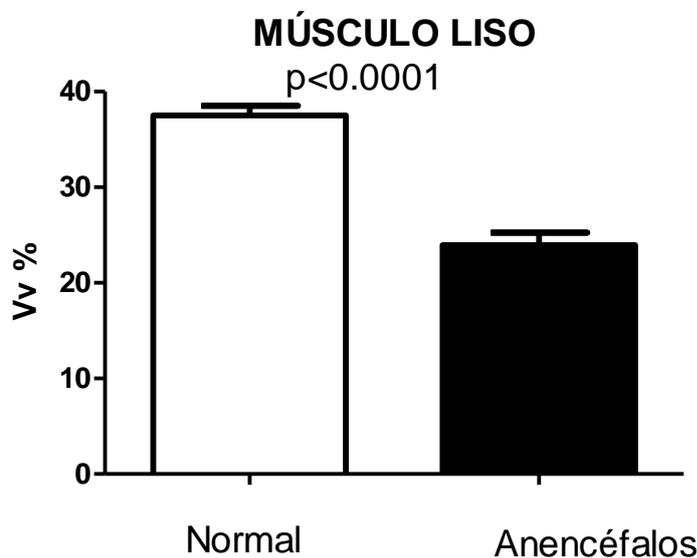


Figura 17: Gráfico comparativo da quantidade de tecido muscular na bexiga dos fetos normais e dos fetos anencéfalos. Observa-se uma redução significativa de tecido muscular na bexiga dos fetos anencéfalos.

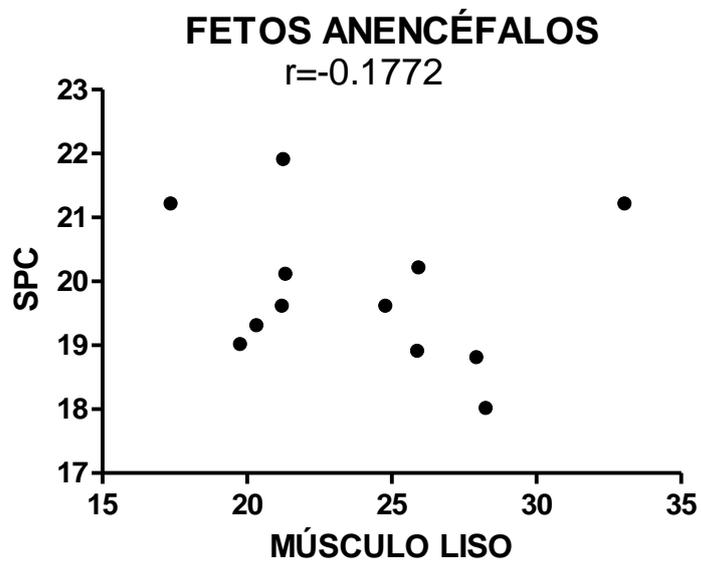
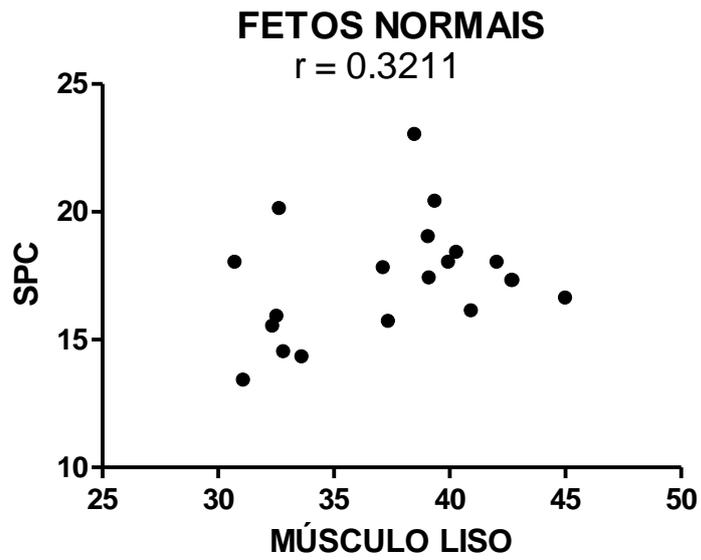


Figura 18: Ausência de correlação entre a quantidade de tecido muscular na bexiga e a idade gestacional nos grupos normal e anencéfalo.

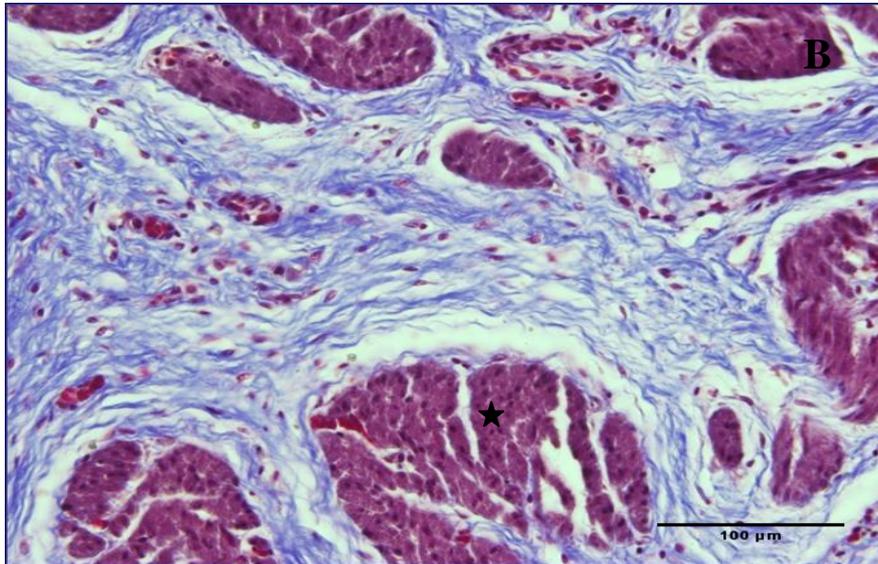
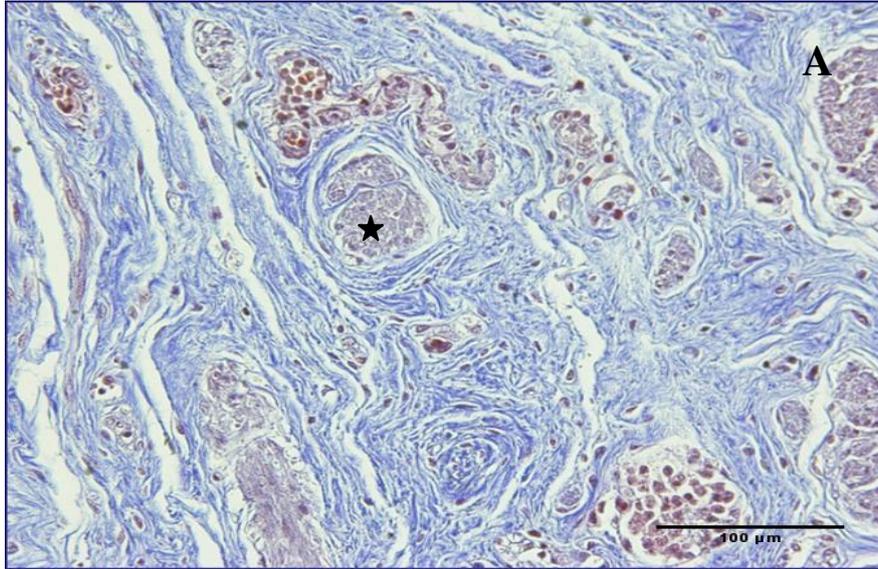


Figura 19: Fotomicrografias de bexigas de fetos mostrando a presença do tecido muscular ns grupos. A) Bexiga de feto anencéfalo com 18 SPC. B) Bexiga de feto normal com 18 SPC. Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento: 400X.

Sistema elástico

Não foi observada a presença de fibras do sistema elástico em nenhum dos fetos analisados. Como mostram as imagens, as fibras do sistema elástico foram observadas apenas nos vasos sanguíneos.

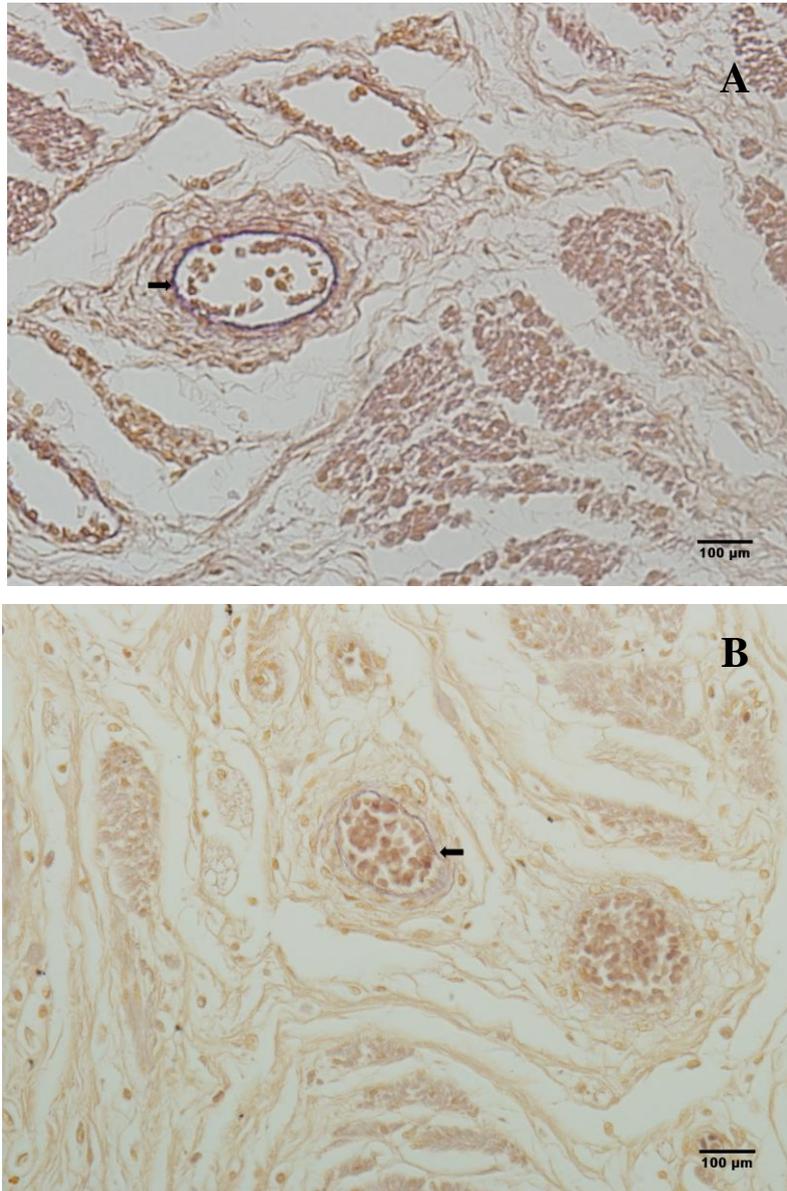


Figura 20: Fotomicrografias de bexigas de fetos mostrando as fibras do sistema elástico presentes apenas nos vasos sanguíneos. (system fibers. A) Feto normal com 13 SPC. B) Feto anencéfalo com 20 SPC. Coloração: Resorcina Fucsina de Weigert com prévia oxidação pela oxona. Aumento: 100x.

Colágeno

A análise bioquímica apresentou um aumento estatisticamente significativo ($p < 0.02$) na concentração de colágeno total nas bexigas dos fetos anencéfalos ($48117 \mu\text{g-OHpro/mg}$; 95% IC: 32.38 ± 42.33) em comparação as bexigas dos fetos normais ($37354 \mu\text{g-OHpro/mg}$; 95% IC: 39.71 ± 56.52).

A análise qualitativa (imunohistoquímica) demonstrou a presença de colágeno tipo III em ambos os grupos, entretanto as bexigas do grupo anencéfalo apresentaram uma marcação mais intensa deste.

Com relação ao colágeno tipo I, este foi observado em pequena quantidade em ambos os grupos. As fotomicrografias de cortes corados com Vermelho de Picro Sirius com polarização apresentaram uma grande diferença de cores entre os grupos. Essa diferença de cores, como já foi descrito anteriormente pode sugerir alterações na organização das fibras de colágeno nas bexigas dos fetos anencéfalos.

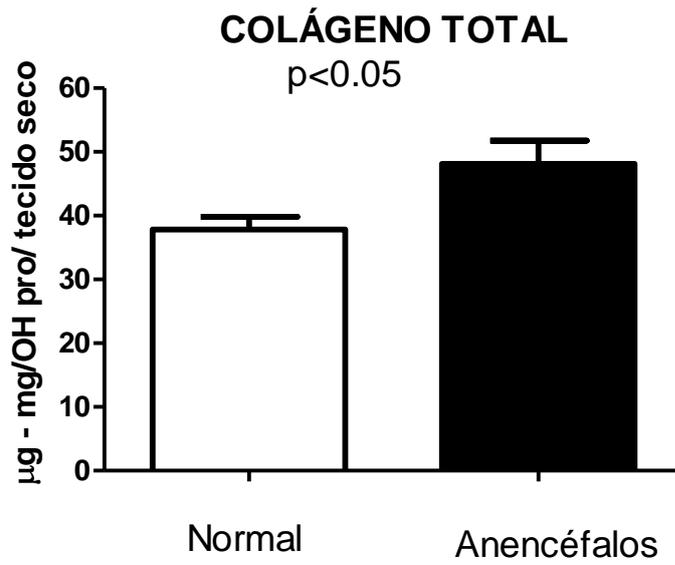


Figura 21: Gráfico comparativo da concentração de colágeno total entre as bexigas dos grupos normal e anencéfalo. O grupo anencéfalo apresentou um aumento significativo em comparação ao grupo normal.

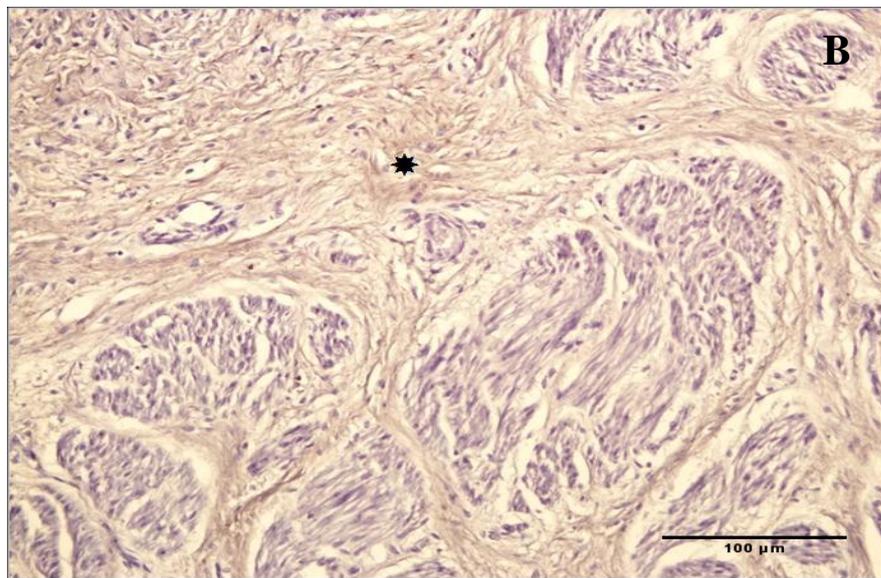
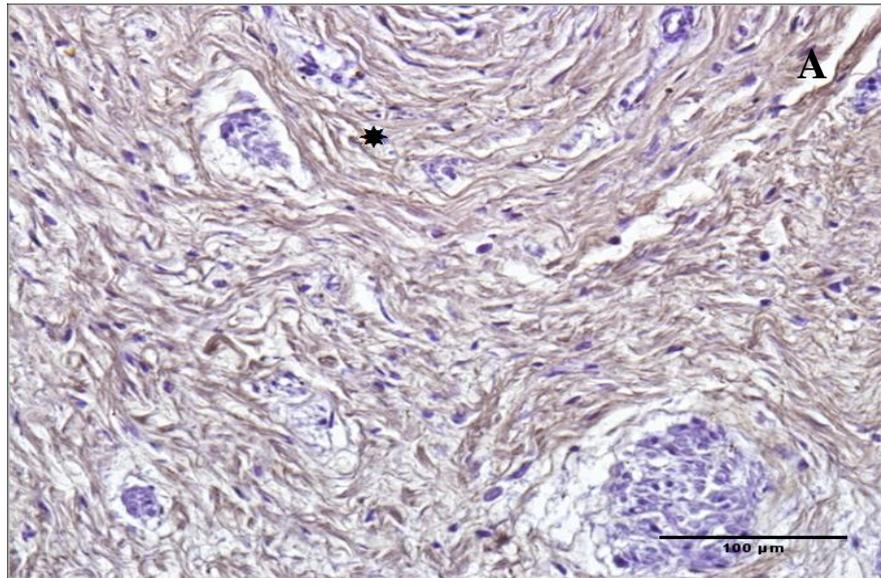


Figura 22: Fotomicrografias de imunohistoquímica de bexiga de fetos normais e anencéfalos mostrando a distribuição das fibras de colágeno tipo III. A) Feto anencéfalo. B) Feto normal. Imunohistoquímica anti-colágeno tipo III. Aumento: 400x.

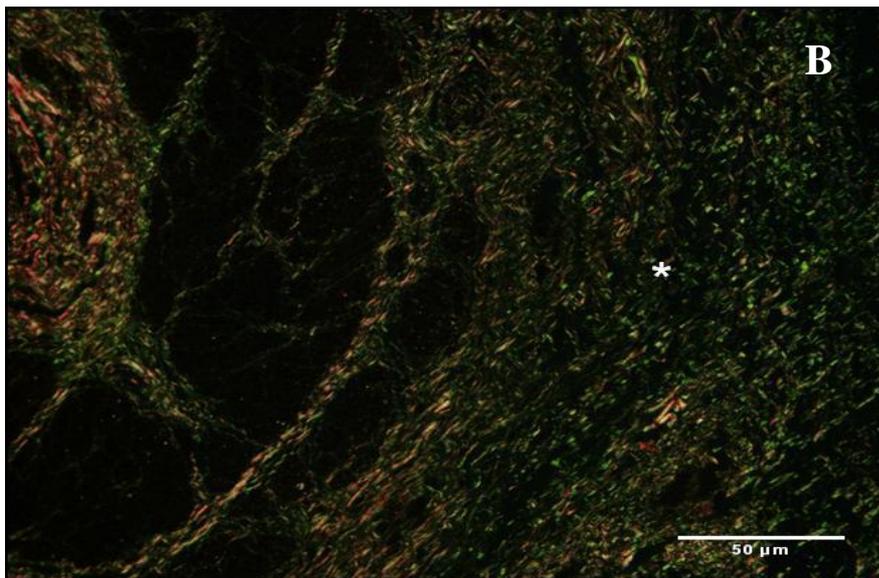
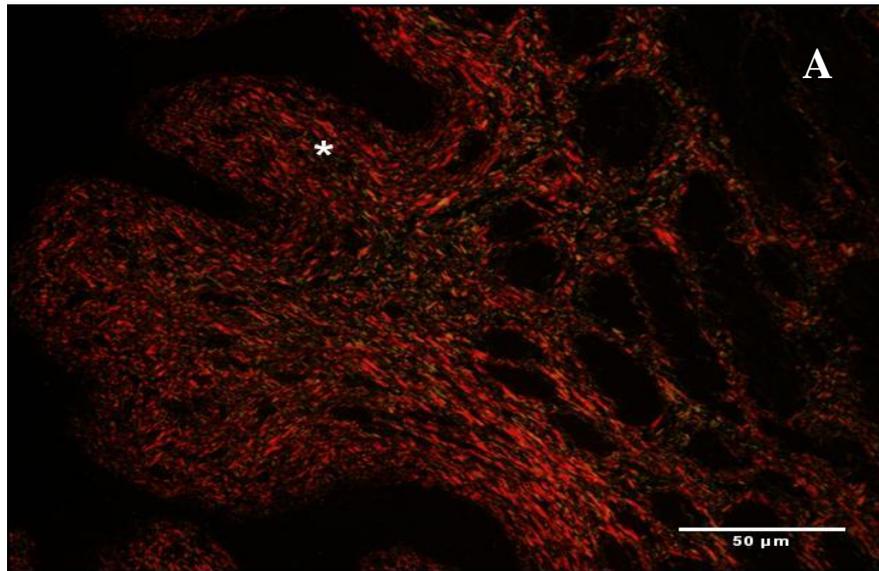


Figura 23: Fotomicrografias de bexiga de fetos normais e anencéfalos mostrando a distribuição das fibras de colágeno. A) Feto anencéfalo 20SPC. (B) Feto normal 19 SPC. Coloração: Vermelho de Picro Sirius com polarização. Aumento: 400x.

5 – DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O alantóide surge no décimo sexto dia do período embrionário como uma estrutura tubular fina derivada do saco vitelino. O alantóide é contínuo com a parede ventral da cloaca de um lado e com a parede abdominal (umbigo) do outro. A porção ventral da cloaca origina a bexiga depois da divisão da cloaca pelo seio urogenital, portanto, inicialmente, a bexiga se estende até o umbigo [1]. Com o crescimento da bexiga e sua posterior descida até a pelve, sua conexão apical ao alantóide permanece, originando o úraco, uma estrutura que progressivamente se oblitera com o desenvolvimento da bexiga. Existem controvérsias sobre a exata contribuição do alantóide e da porção ventral da cloaca na formação do úraco [7, 32].

O momento preciso do fechamento do úraco é controverso, sendo relatado entre a décima quinta e a vigésima semanas pós-concepção [33, 4, 5]. No entanto nenhum trabalho cita com exatidão a partir de qual semana gestacional a luz do úraco encontra-se obliterada. Em nossa amostra nos fetos com menos de 16 SPC, o úraco apresentava sua luz patente e com área maior do que $8000 \mu\text{m}^2$. Todos os fetos estudados com mais de dezessete SPC tinham a luz do úraco obliterada, tanto no sexo masculino quanto no sexo feminino.

A partir da 17^a SPC, quando a luz do úraco encontrava-se fechada observamos uma diminuição do tecido muscular do úraco em ambos os sexos e uma maior quantidade de colágeno tipo I no úraco a partir desta idade. Outra modificação que ficou evidenciada foi em relação ao epitélio de transição. Todos os fetos com mais de 17SPC e que já tinham a luz do úraco fechada, não apresentavam o epitélio de transição. Nos fetos com menor idade gestacional o epitélio de transição era bem evidenciado em

toda a extensão do úraco. Essas alterações estruturais são sugestivas de uma modificação tecidual que originará um tecido fibroso.

Em nossa amostra observamos que ocorreu uma predominância de colágeno tipo III no úraco dos fetos mais jovens e uma predominância de colágeno tipo I nos fetos que já apresentavam a luz do úraco fechada. Esse achado confirma que ocorre uma grande modificação tecidual na bexiga fetal antes do fechamento do úraco. Através da quantificação bioquímica observamos um aumento nas concentrações de colágeno total nos fetos femininos com maior idade gestacional. Já nos fetos do sexo masculino não observamos uma correlação positiva entre a concentração de colágeno total e a idade.

As alterações do sistema elástico estão envolvidas na formação de tecidos fibrosos, no entanto não foi observado em nenhum dos casos estudados em nosso trabalho a presença de fibras do sistema elástico no úraco. Isso pode indicar que este componente da matriz extracelular forma-se apenas a partir do terceiro trimestre gestacional na bexiga fetal. Estudos prévios evidenciaram a presença de fibras do sistema elástico em outros órgãos do sistema genito-urinário em fetos humanos [34].

Bastos (2004) observou um sistema elástico fino e escasso no tecido do corpo esponjoso de um feto com 15 semanas de gestação e em um feto com 36 semanas de gestação observou a trabécula do corpo esponjoso delimitando extensos espaços vasculares. As fibras do sistema elástico são abundantes e organizadas em fetos mais velhos [34]. Esse estudo indica que as fibras do sistema elástico no sistema urogenital fetal são mais evidentes e desenvolvidas no terceiro trimestre gestacional. Nossa amostra era composta de fetos do segundo trimestre gestacional, período onde provavelmente as fibras do sistema elástico ainda estão se formando na bexiga fetal.

As anomalias do úraco mesmo sendo raras acometem mais indivíduos do sexo masculino que do feminino [7, 1, 6,35]. Em nosso trabalho observamos que existem algumas diferenças estruturais no úraco fetal entre os sexos em uma mesma idade gestacional. A mais relevante diferença estrutural é que a quantidade de tecido conjuntivo é significativamente maior nos fetos do sexo feminino quando comparados aos do sexo masculino. Além disso foi observado apenas no sexo feminino uma correlação positiva entre a quantidade de tecido conjuntivo e a idade gestacional. Isso significa que com o aumento da idade gestacional ocorria também o aumento da quantidade do tecido conjuntivo no sexo feminino, o que não ocorria nos fetos do sexo masculino.

É difícil especular se a menor quantidade de tecido conjuntivo presente nos fetos do sexo masculino poderia explicar a maior incidência de anomalias uracais em pacientes do sexo masculino. Seriam necessários estudos estruturais em pacientes portadores de patologias uracais de ambos os sexos, com a quantificação do tecido conjuntivo nesses pacientes para confirmar essa hipótese.

O conhecimento da estrutura da bexiga em fetos anencéfalos é de grande importância, pois existem relatos de transplante de fetos anencéfalos para doadores com insuficiência renal crônica onde a bexiga foi utilizada para a derivação urinária [36].

A bexiga fetal é visualizada aproximadamente na décima semana gestacional devido ao início da produção de urina nesse momento, mas as opiniões sobre o início da produção de urina variam da 11^a até a 16^a semanas de gestação baseado em ultrasonografias [10, 11,12]. A bexiga é formada a partir de células mesenquimais e do endoderma. A maior parte da bexiga urinária se origina da parte vesical do seio urogenital enquanto que a área do trígono é derivada da absorção da região caudal do ducto mesonéfrico na bexiga em desenvolvimento [37].

A bexiga fetal humana passa por uma série de transformações em seu desenvolvimento da décima terceira até a vigésima primeira semanas gestacionais finalmente adquirindo um urotélio típico e uma camada muscular bem desenvolvida. Até a decima primeira semana gestacional a parede da bexiga é formada por mesenquima e este gradualmente amadurece em tecido conjuntivo frouxo. O colágeno torna-se aparente por volta da décima terceira semana gestacional [13].

O colágeno e a elastina são componentes importantes da parede da bexiga que participam do seu funcionamento. O colágeno proporciona resistência de tensão, porém, um acúmulo excessivo pode inibir a contratilidade da bexiga e a condução dos impulsos elétricos através da parede. A elastina proporciona ao tecido elasticidade e pode ajudar na complacência [14], no tecido muscular o seu papel é proporcionar sustentação, da mesma forma que os tendões no tecido esquelético. Desta maneira, como o músculo liso não apresenta tendões, necessita de uma maior quantidade de colágeno [14].

O colágeno é responsável por proporcionar tensão de resistência aos tecidos. A quantidade de colágeno é aumentada na obstrução crônica de bexiga nos adultos humanos. Porém, um estudo sobre a obstrução de bexiga fetal humana mostrou que embora a quantidade total de colágeno tenha aumentado ele é proporcional a quantidade de músculo, o qual aumenta também em resposta a obstrução. Se todo o colágeno for removido do tecido muscular liso sua força de ativação será reduzida. De maneira interessante, o acúmulo anormal de colágeno encontrado em bexigas obstruídas pode diminuir a contratilidade muscular além de afetar a complacência da bexiga [14]. Observamos um aumento significativo na quantidade de colágeno total nas bexigas de fetos anencéfalos com predominância do colágeno tipo III.

O músculo detrusor da bexiga é um dos que apresenta as camadas

mais espessas de músculo liso. Ele é responsável pela principal função da bexiga, armazenamento e eliminação da urina. Em algumas condições patológicas, como a hiperplasia prostática benigna (HPB), válvulas posteriores de uretra, espinha bífida e danos no cordão espinhal, a organização e a função do músculo detrusor são profundamente alteradas. Essas alterações levam a complacência anormal de bexiga e subsequente pressão intravesical elevada, a qual não sendo tratada ocasiona danos renais [15]. Nos fetos com anencefalia observamos uma diminuição significativa da musculatura lisa.

Análises histológicas do desenvolvimento da bexiga revelam que o músculo liso desenvolve-se inicialmente na periferia da bexiga, adjacente a superfície da serosa. O sinal do epitélio deve estar apto para cruzar todo o mesênquima da submucosa até atingir a sua região mais externa. Outra explicação é que o mesênquima embrionário da submucosa que eventualmente se tornará a lâmina própria da bexiga age como um mecanismo intermediário de sinalização. Em outras palavras, a submucosa está apta a transmitir o sinal epitelial para a periferia da bexiga sem sofrer diferenciação em músculo liso. O tecido conjuntivo e/ou a membrana basal podem agir como canais de sinalização ou mediadores da diferenciação. [38]. Mesmo que a bexiga amadureça e a camada de músculo liso aumente em tamanho, uma submucosa bem definida separa o urotélio da camada muscular. O desenvolvimento da arquitetura da bexiga implica que o sinal deve atravessar a submucosa. [38]. Na bexiga dos fetos anencéfalos observamos uma quantidade maior de tecido conjuntivo do que nas bexigas de fetos sem anomalia o que pode sugerir uma alteração no desenvolvimento completo da camada muscular da bexiga.

6 – CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

O fechamento da luz do úraco ocorre na 17^a semana pós-concepção. Após o fechamento de sua luz notamos a ausência do epitélio de transição no seu interior, a diminuição na quantidade de tecido muscular e um aumento de colágeno tipo I, o que indica um remodelamento característico na formação de tecidos fibrosos. Não foram encontradas fibras do sistema elástico em nenhum dos fetos estudados. O úraco dos fetos femininos apresentou uma quantidade de tecido conjuntivo significativamente maior quando comparados com os fetos masculinos.

A bexiga dos fetos anencéfalos apresentou alterações estruturais significativas em relação aos fetos sem anomalia. Os fetos anencéfalos apresentaram uma maior quantidade de tecido conjuntivo, uma menor quantidade de músculo liso e uma maior quantidade de colágeno total e colágeno do tipo III. Essas diferenças podem indicar que a bexiga de fetos anencéfalos apresenta alterações funcionais.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Stephens FD, Smith ED, Hutson JM: Morphology and embryology of the bladder. In Congenital anomalies of the kidney, urinary and genital tracts. London, Martin Dunitz. 2002; p. 141-144.
- 2 - Sulak O, Cankara N, Malas MA, Cetin E, Desdicioglu K: Anatomical development of the normal urachus during the fetal period. Saudi Med J. 2008; 29(1):30-5.
- 3 - Choi YJ, Kim JM, Ahn SY, Oh J, Han SW, Lee JS: Urachal anomalies in children: a single center experience. Yonsei Med J. 2006; 47(6): 782-786
- 4 - Ashley R, Inman BA, Sebo TJ, Leibovich BC, Blute ML, Know ED, Zincke H: Urachal carcinoma: clinicopathologic features and long-term outcomes of an aggressive malignancy. Cancer 2006; 107: 712-720.
- 5 - Okegawa T, Odagane A, Nutahara K, Higashihara E: Laparoscopic management of urachal remnants in adulthood. Int J Urol. 2006; 13:1466-9.
- 6 - McCrystal DJ, Ewing MJ, Lambrianides AL: Acquired urachal pathology: presentation of five cases and a review of the literature. ANZ J Surg. 2001; 71: 774-776.
- 7 - Nascimento AF, Cin PD, Cilento BG, Perez-Atayde A R, Kozakewich HPW, Nose V: Urachal inflammatory myofibroblastic tumor with *alk* gene rearrangement: a study of urachal remnants. Urology. 2004; 64 (1): 140-143.
- 8 – Gobet R, Bleakley J, Peters CA: Premature urachal closure induces hydroureteronephrosis in male fetuses. J Urol. 1998; 160(4): 1463-7.

- 9 - Chancellor MB, Yashimura N: Physiology and pharmacology of the bladder and urethra. Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED. Campbell's Urology. Philadelphia, WB Saunders. 2002; vol. 2, p.831-886.
- 10 – Wilcox DT, Chitty LS: Non-visualisations of the fetal bladder: aetiology and management. Prenat Diagn. 2001; 21(11): 977-83.
- 11 - Bronshtein M, Bar-Hava I, Blumenfeld Z: Differential diagnosis of the nonvisualized fetal urinary bladder by transvaginal sonography in the early second trimester. Obstet Gynecol. 1993; 82:490-93.
- 12 - Patten RM, Mack LA, Wang KY, Cyr DR: The fetal genitourinary tract. Radiol Clin North Am. 1990; 28(1):115-30.
- 13 - Newman J, Antonakopoulos GN: The fine structure of the human fetal urinary bladder. Development and maturation. A light, transmission and scanning electron microscopic study. J Anat. 1989; 166:135-50.
- 14 - Kim KM, Kogan BA, Massad CA: Huang Collagen and elastin in the normal fetal bladder. J Urol. 1991; 146:524-27.
- 15 - Baskin L, DiSandro M, Li Y, Li W, Hayward S, Cunha G: Mesenchymal-epithelial interactions in bladder smooth muscle development: effects of the local tissue environment. J Urol. 2001; 165:1283-88.
- 16 - Blatter BM, Star M, Roeleveld N Review of neural tube defects: risk factors in parental occupation and the environment. Environmental Health Perspectives. 1994; 102(2):140-45.
- 17 - Cook RJ, Erdman JN, Hevia M, Dickens BM: Prenatal management of anencephaly. International Journal of Gynecology and Obstetrics. 2008; 102: 304-8.
- 18 - Müller L, Abrahamsson K, Sillén U, Jacobsson B, Hellström OM Ultrasound assessment of detrusor thickness in children and young adults with myelomeningocele. The Journal of Urology. 2006; 175:704-8.
- 19 - Hern WM: Correlation of fetal age and measurements between 10 and

- 26 weeks of gestation. *Obst Gynecol.* 1984; 63: 26-32.
- 20 - Mercer BM, Sklar S, Shariatmadar A, Gillieson MS, D'Alton MK: Fetal foot length as a predictor of gestational age. *Am J Obst Gynecol.* 1987; 156: 350-56.
- 21 - Byrne P: Use of anencephalic newborns as organ donors. *Paediatr Child health.* 2005;10(6):335-37.
- 22 - Calzolari F, Gambi B, Ganari G, Tamisari L: Anencephaly: MRI findings and pathogenetic theories. *Pediatr Radiol.* 2004; 34:1012-16.
- 23 - Milliez J: Anencephaly and organ transplantation. *International Journal of Gynecology and Obstetrics.* 2008; 102: 99.
- 24 - Salaman J R: Anencephalic organ donors. *BMJ.* 1989; 298:622-23.
- 25 - Davis A: The status of anencephalic babies: should their bodies be used as donor banks? *Journal of Medical Ethics* 1988;14:150-53.
- 26 - Favorito LA, Cardinot TM, Morais ARM, Sampaio FJB: Urogenital anomalies in human male fetuses. *Early Human Development.* 2004;79: 41-47.
- 27 - Costa WS, Sampaio FJB, Favorito LA, Cardoso LE: Testicular migration: remodeling of connective tissue and muscle cells in human gubernaculum testis. *Journal of Urology.* 2002; 167(5):2171-6
- 28 - Platt LD, Medearis AL, DeVore GR, Horenstein JM, Carlson DE, Brar HS: Fetal foot length: Relationship to menstrual age and fetal measurements in the second trimester. *Obstet Gynecol.* 1988; 71: 526-31.
- 29 - Cavalcanti AG, Costa WS, Baskim LS, McAninch JA, Sampaio FJB: A morphometric analysis of bulbar urethral strictures. *BJU Int.* 2007; 100: 397-402.
- 30 - Cabral CAP, Sampaio FJB, Cardoso LEM: Analysis of the modifications in the composition of bladder glycosaminoglycan and collagen as a consequence of changes in sex hormones associated with puberty or oophorectomy in female rats. *J Urol.* 2003;170: 2512- 16.

- 31 - Bergman I, Loxley R: Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal Biochem.* 1963; 35: 1961- 65.
- 32 - Homsy YL: Bladder and Urachus. In *Pediatric Urology.* O'donnell B And Koff AS; 3a ed, Oxford, Butterworth-Heineman, 1997; p. 482-494.
- 33 - Yapo BR, Gerges B, Holland AJ: Investigation and management of suspected urachal anomalies in children. *Pediatr Surg Int.* 2008 ;24: 589-592.
- 34 - Bastos AL, Silva EA, Costa WS, Sampaio FB: The concentration of elastic fibres in the male urethra during human fetal development. *BJU Int.* 2004; 94:620-3
- 35 - Cilento BG, Bauer SB, Retik AB, Peters CA, Atala A: Urachal anomalies: defining the best diagnostic modality. *Urology* 1998; 52: 120-122.
- 36 – Kerman RH, Flechner SM, Van Buren CT, Lorber MI, Dawson G, Falk L, Gutierrez R, Hollinger JB, Kahan BD: Investigation of HTLV-3 serology in a renal transplnt population. *Transplantation.* 1987; Feb 43(2) :244-8
- 37 - Ersoy Y, Ercan F, Cetinel S: A comparative study of urinary bladder : impact of the epithelial differentiation in embryonic and newborns rats. *Anat Histol Embryol.* 2005; 35(6):365-74.
- 38 - Liu W, Li Y, Hayward S, Cunha G, Baskin L: Diffisable growth factors induce bladder smooth muscle differentiation. *In Vitro Cell Dev Biol.* 2000; 36: 476-84.

8 – ANEXOS



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



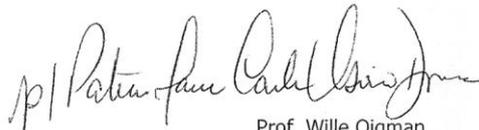
Rio de Janeiro, 26 de novembro de 2008

Do: Comitê de Ética em Pesquisa
Prof.: Wille Oigman
Para: Aut. Helena Maria F. Pazos
Orient. Prof. Luciano Alves Favorito

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto (1918-CEP/HUPE) "ESTUDO HISTOLÓGICO DO ÚRACO DE FETOS HUMANOS EM DIFERENTES IDADES" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º 196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o consentimento livre e esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. S^ª., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.


Prof. Wille Oigman
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

Enc: A manuscript number has been assigned to NEURAL TUBE DEFECTS LEAD A STRUCTURAL ALTERATION IN THE HUMAN BLADDER? STRUCTURAL ANALYSIS IN 12 ANENCEPHALIC HUMAN FETUSES Entrada | X

★ Luciano favorito para mim

[mostrar detalhes](#) 22 abr

[Responder](#)

--- Em qua, 24/3/10, Journal of Spinal Cord Medicine <jscm@kesslerfoundation.org> escreveu:

De: Journal of Spinal Cord Medicine <jscm@kesslerfoundation.org>

Assunto: A manuscript number has been assigned to NEURAL TUBE DEFECTS LEAD A STRUCTURAL ALTERATION IN THE HUMAN BLADDER? STRUCTURAL ANALYSIS IN 12 ANENCEPHALIC HUMAN FETUSES

Para: lufavorito@yahoo.com.br

Data: Quarta-feira, 24 de Março de 2010, 22:39

Dear DR. favorito,

Your submission entitled "NEURAL TUBE DEFECTS LEAD A STRUCTURAL ALTERATION IN THE HUMAN BLADDER? STRUCTURAL ANALYSIS IN 12 ANENCEPHALIC HUMAN FETUSES" has been assigned the following manuscript number: JSCM-D-10-00026.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author.

The URL is <http://jscm.edmgr.com/>.

Please bear in mind that American Paraplegia Society offers the annual Bors Award for Scientific Development. Candidates for the award must be primary authors who are students, residents or post-doctoral fellows. Manuscripts accepted by October 31 are eligible for the following year's award. Applications, which are available from the managing editor, are due by November 15.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Carolann Murphy, PA
Managing Editor
The Journal of Spinal Cord Medicine

[Responder](#)

[Encaminhar](#)

