UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL

Efeito inibitório da lidocaína na carcinogênese experimental do cólon

Diogo Akio Kumagai Hashimoto

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia

Ribeirão Preto

2019

Diogo Akio Kumagai Hashimoto

Efeito inibitório da lidocaína na carcinogênese experimental do cólon

Versão Corrigida

*Dissertação apresentada ao
Departamento de Patologia e Medicina
Legal da Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São
Paulo*

Área de concentração: Patologia.

Opção: Patologia Experimental

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia

RIBEIRÃO PRETO

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Hashimoto, Diogo Akio Kumagai

Efeito inibitório da lidocaína na carcinogênese experimental do cólon. 2019.

71p. :il. ; 30 cm.

Orientador: Garcia, Sérgio Britto

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Patologia experimental.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Diogo Akio Kumagai Hashimoto

Efeito inibitório da lidocaína na carcinogênese experimental do cólon.

*Dissertação de Mestrado apresentada ao
Departamento de Patologia e Medicina
Legal da Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre.*

*Área de concentração: Patologia
Experimental.*

Banca Examinadora

1)Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2)Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3)Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Há muitos a quem sou grato, mas inicio meus agradecimentos aos meus falecidos avós. Desde aqueles com os quais convivi por mais tempo, àqueles com os quais pouco convivi ou não cheguei a conhecer, agradeço pelas influências que tiveram em minha vida. Sou parte de seu legado, produto dos reflexos de seus ensinamentos e criações.

*Agradeço aos meus pais, **Kazuhissa Hashimoto** e **Leni Akemi Kumagai**, por todo o carinho, ensinamentos e apoio que me deram. O que me move e motiva é por e para vocês.*

*Aos meus irmãos **Ivo**, **Paula** e **Rui**, por apoiarem esta difícil decisão e por segurarem a barra em São Paulo.*

*Aos meus sobrinhos, **Yuri** e **Vinícius**, por renovarem as esperanças.*

*Ao meu grande amigo **Barbosa (Capi)**, minha irmã **Paula** e minha prima **Érika Kodato** e seu marido, **Phuc Luong**. Poucos fazem o que fizeram e continuam fazendo. Vocês têm minha admiração e gratidão.*

*Ao meu amigo **Everton Félix**, por todas as conversas que tivemos desde a época da Farmácia-USP, mas especialmente as que tivemos em meados de Ago/17. Foi através delas que estou aqui hoje.*

*Às minhas colegas de laboratório: **Stefania Bovo Minto** e **Ana Carolina Alvarenga**, pela paciência, suporte e parceria durante a condução deste mestrado.*

*Em especial, agradeço ao professor **Sérgio Britto Garcia** por todas as conversas, ora tranquilizadoras, ora inquietantes, e por acreditar e me aceitar como seu aluno.*

*E finalmente, à **CAPES** pelo fomento e suporte financeiro, essenciais para condução deste projeto.*

***“Enquanto acreditarmos em nossos sonhos,
nada será por acaso”***

Henfil

RESUMO

Embora existam técnicas avançadas de diagnóstico que possibilitaram o tratamento em seus estágios iniciais, o Câncer Colorretal (CCR) ainda encontra-se entre os mais prevalentes no Brasil e no mundo. O tratamento de CCR ainda depende primariamente da ressecção cirúrgica e, sabe-se que o período perioperatório possui grande influência em casos de recorrência tumoral. A lidocaína, um importante anestésico local amídico, tem sido relacionada a efeitos antineoplásicos, in vitro e in vivo, através de seus efeitos diretos nas células tumorais ou através de regulação dos processos neuroimunoinflamatórios. **Objetivos:** avaliar o potencial antineoplásico da lidocaína intraperitoneal e intrarretal, em dois regimes terapêuticos distintos (iniciação e pós-iniciação) em lesões pré-neoplásicas induzidas por instilações intrarretais do carcinógeno metilnitronitrosoguanidina em camundongos. **Procedimentos:** Para avaliar nossa hipótese, 42 camundongos foram separados em 7 grupos de 6 animais cada, a saber: grupo M (apenas MNNG), C (apenas solução salina), L5-IR (lidocaína por 5 semanas via IR), ML1-IR (MNNG seguido por lidocaína na semana 1 via IR), ML2,5-IR (MNNG seguido por lidocaína nas semanas 2 a 5, via IR), ML1-IP (MNNG seguido por lidocaína na semana 1 via IP) e ML2,5-IP (MNNG seguido por lidocaína nas semanas 2 a 5, via IP). A avaliação da progressão das lesões foi realizada através da contagem de criptas displásicas, índice apoptótico e imunoistoquímicas de PCNA, Akt, Caspase 3 e Survivina. **Conclusões:** A lidocaína mostrou-se eficaz na diminuição das lesões pré-neoplásicas com diferenças significativas entre os grupos experimentais quando comparados ao grupo controle. Não foram identificadas diferenças significativas entre os tratamentos no período inicial e pós-inicial da carcinogênese nem entre os regimes terapêuticos intraperitoneal e intrarretal.

Palavras-chave: Carcinoma Colorretal, Lidocaína, Antineoplásico

HASHIMOTO, D.A.K. **Efeito inibitório da lidocaína na carcinogênese experimental do cólon.** Dissertação de Mestrado Acadêmico. Departamento de Patologia e Medicina Legal – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2019

ABSTRACT

Although there are advanced diagnostic techniques that have enabled treatment in its early stages, Colon Rectal Cancer (CRC) is still among the most prevalent in Brazil and worldwide. The treatment of CRC still depends primarily on surgical resection and it is known that the perioperative period has great influence in cases of tumor recurrence. Lidocaine, an important amidic local anesthetic, has been related to antineoplastic effects in vitro and in vivo through its direct effects on tumor cells or through regulation of neuroimmune inflammatory processes. Objectives: To evaluate the antineoplastic potential of intraperitoneal and intrarectal lidocaine in two distinct therapeutic regimens (initiation and postinitiation) in pre-neoplastic lesions induced by intrarectal instillation of the Methylnitrosoguanidine carcinogen in mice. Procedures: To evaluate our hypothesis, 42 mice were separated into 7 groups of 6 animals each, namely: group M (MNNG only), C (saline solution only), L5-IR (5-week lidocaine via IR), ML1- IR (MNNG followed by lidocaine at week 1 in via IR), ML2,5-IR (MNNG followed by lidocaine at weeks 2 to 5 via IR), ML1-IP (MNNG followed by lidocaine at week 1 via IP) and ML2, 5-IP (MNNG followed by lidocaine at weeks 2 to 5 via IP). The evaluation of lesion progression was performed by counting dysplastic crypts, apoptotic index and immunohistochemistry of PCNA, Akt, Caspase 3 and Survivin. Conclusions: Lidocaine was effective in reducing pre-neoplastic lesions with significant differences between experimental groups when compared to the control group. No significant differences were identified between treatments in the initial and post-initial period of carcinogenesis, nor between intraperitoneal and intrarectal therapeutic regimens.

Key words: Colorrectal carcinoma, Lidocaine, Antineoplastic

HASHIMOTO, D.A.K. **Inhibitory effect of lidocaine on experimental colon carcinogenesis** . Master of Sciences Dissertation. Department of Pathology and Forensic Medicine - Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, 2019.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Akt/PKB	Protein Kinase B
APC	Adenomatous polyposis coli
Bax	BCL2 Associated X
CASP-3	Caspase 3
CCR	Câncer Colorretal
CD	Cluster of Differentiation
CIMP	CgP Island Methylator Phenotype
CIN	Chromosomal Instability
CTC	Células Tumorais Circulantes
DAMP	Damage-Associated Molecular Pattern
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DMP	Diferença de Média Ponderada
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EGF	Epidermal Growth Factor
EPC	Espaços Peri-criptais
HCN	Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide
ICF	Immunodeficiency with centromeric instability and facial anomalies
IFN	Interferon
IL	Interleucina

INCA	Instituto Nacional de Câncer
IV	Intravenoso
IP	Intraperitoneal
LPS	Lipopolysaccharide
MGMT	O6-alkylguanine DNA alkyltransferase
MLH1	MutL homolog 1
MSI	Microsatellite Instability
NK	Natural Killer
NLR	Nod Like Receptor
NNT	Número Necessário para Tratar
PAF	Polipose Adenomatosa Familiar
PAMP	Pathogen-Associated Molecular Pattern
PCR	Polymerase Chain Reaction
PIK3	Fosfatidilinositol 3-quinase
PRR	Receptores de reconhecimento de padrões
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
TC	Tomografia Computadorizada
TGF	Transforming Growth Factor
Th	Linfócitos T helper
TNF	Tumoral Necrose Factor
TNM	Sistema de classificação tumoral
TLR	Toll Like Receptor
UICC	Union Internationale Contre Le Cancer

VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VGSC	Voltage-gated sodium channels

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Delineamento experimental

Figura 2: Criptas displásicas por área. Tratamento

Figura 3: Fotomicrografia da contagem de apoptoses

Figura 4: Índice apoptótico em criptas displásicas

Figura 5: Índice apoptótico em criptas normais

Figura 6: Fotomicrografia da imunomarcação para Akt e PCNA

Figura 7: Imunomarcação de Akt

Figura 8: Imunomarcação de PCNA

Figura 9: Fotomicrografia da imunomarcação para Caspase 3 e Survivina

Figura 10: Imunomarcação de Caspase 3

Figura 11: Imunomarcação de Survivina

SUMÁRIO

1	Introdução	1
1.1	Câncer Colorretal	1
1.1.1	Epidemiologia	1
1.1.2	Fatores de Risco e Preventivos	3
1.1.3	Carcinogênese.....	4
1.1.4	Classificação.....	8
1.1.5	Tratamento	8
1.2	Anestesias.....	11
1.2.1	Lidocaína	12
1.3	Avaliação Imunoistoquímica.....	16
1.3.1	PCNA.....	16
1.3.2	Caspase-3	16
1.3.3	Akt	17
1.3.4	Survivina	17
2	Justificativa.....	18
3	Objetivos	18
3.1	Objetivo Geral	18
3.2	Objetivos Específicos	18
4	Materiais e Métodos	19
4.1	Animais	19
4.2	Delineamento Experimental	19
4.3	Coleta e Processamento das Amostras	20
4.4	Avaliação morfológica em HE.....	21
4.4.1	Avaliação das Criptas Displásicas.....	21
4.4.2	Avaliação do Índice Apoptótico (iAP).....	22
4.5	Imunoistoquímica	22

4.5.1	Critérios para marcação de Akt.....	23
4.5.2	Critérios para marcação de PCNA	23
4.5.3	Critérios para marcação de Caspase-3.....	23
4.5.4	Critérios para marcação de Survivina	24
4.6	Análises Estatísticas	24
5	Resultados	24
5.1	Criptas Displásicas.....	25
5.2	Índices Apoptótico (iAP)	25
5.3	Análise de imunomarcação por Akt.....	27
5.4	Análise de imunomarcação por PCNA.....	28
5.5	Análise de imunomarcação por Caspase-3.....	29
5.6	Análise de imunomarcação por Survivina	30
6	Discussão.....	32
6.1	Possíveis mecanismos de ação da lidocaína.....	41
6.1.1	HIF – Fator Induzido por Hipóxia	41
6.1.2	Migração e Invasão	41
6.1.3	Epigenética	42
6.1.4	Canais iônicos	42
6.1.5	Modulação da imunidade.....	43
6.1.6	Proteína relacionada ao Golgi	45
7	Conclusão	45
8	Referências	46

1 Introdução

1.1 Câncer Colorretal

1.1.1 Epidemiologia

O Câncer colorretal (CCR) é o terceiro tipo de câncer mais comum em incidência e o segundo em cânceres que resultam em morte em todo mundo, acometendo cerca de 1,8 milhões de novos casos e 860.000 de mortes em 2018, correspondendo a 10,2% em incidência e 9,2% em mortalidade, quando comparado a todos os cânceres (BRAY et al., 2018).

Historicamente, sua incidência mostra-se baixa até os 50 anos, mas suas chances de ocorrência aumentam drasticamente com a idade, sendo 70 anos a idade média de diagnóstico em países desenvolvidos (BRENNER; KLOOR; POX, 2013). Entretanto, embora ainda mais prevalente em idades avançadas, a incidência vem aumentando na faixa etária de 20-49 anos, muito provavelmente pelos estilos de vida atuais, enquanto que há diminuição da incidência acima dos 50 anos, provavelmente relacionada às atuais técnicas de *screening* e diagnóstico precoce (WOLF et al., 2018). As taxas de sobrevivência relativa decrescem com a idade, sendo maiores em mulheres em idades jovens, e o estadiamento no momento do diagnóstico é o mais importante fator de prognóstico (SIEGEL et al., 2012).

Sua maior incidência encontra-se em países desenvolvidos. Em 2018, a taxa de incidência padronizada por idade variou de 6,6 casos a cada 100.000 homens na África central para 40,6 a cada 100.000 homens na Austrália e Nova Zelândia. Para mulheres, a variação foi de 6,1 a 30,5 a cada 100.000, respectivamente (BRAY et al., 2018).

De forma geral, a epidemiologia de CCR pode ser um indicador socioeconômico, havendo três padrões relacionados: (1) países que vêm apresentando aumento de incidência e mortalidade, como países bálticos, Rússia, China e Brasil; (2) países com aumento de incidência, mas diminuição de mortalidade, como Canadá, Reino Unido, Dinamarca e Singapura; e (3) países com decréscimo tanto de incidência como de mortalidade, como Estados Unidos, Japão e França. Dentre os países do grupo (1), o Brasil foi o país que apresentou maior

aumento entre homens em uma análise realizada com dados de 2012, com crescimento de 7,2% (FERLAY et al., 2015).

O aumento em países que até pouco tempo atrás figuravam entre os de baixo risco para CCR, como Espanha e diversos países do leste europeu e asiático, podem ser relacionados à incorporação de hábitos de vida e alimentares do ocidente, como consumo de álcool, dietas pobres (com baixo consumo de frutas e legumes e alto consumo de carnes vermelhas e processadas), obesidade, baixa atividade física e cigarro (CENTER; JEMAL; WARD, 2009). Em países de altos índices socioeconômicos, a incidência de CCR tem apresentado diminuição nos últimos anos, provavelmente por conta da introdução de colonoscopia, sigmoidoscopia e polipectomia endoscópica, seguidas por ressecção de pólipos pré-cancerígenos (LEVIN et al., 2008). Da mesma forma, é provável que a introdução de novas tecnologias em detecção e tratamento sejam responsáveis pela diminuição das taxas de mortalidade em países de alto índice socioeconômico, que se iniciaram desde os anos 90 (SCHREUDERS et al., 2015). Em países de baixo índice socioeconômico, entretanto, como países da América Central e do Sul e zonas rurais da China, as taxas de mortalidade vem aumentando continuamente, o que pode ser reflexo de limitada infraestrutura dos sistemas de saúde e menor acesso à detecção precoce e tratamento (ARNOLD et al., 2017).

No Brasil, para cada ano do biênio 2018-2019, são previstos cerca de 36 mil novos casos de CCR. Desses, 17.380 (ou 8,1% do total de cânceres) em homens e 18.980 (9,4%) em mulheres, colocando o CCR como o terceiro mais frequente entre homens brasileiros, e segundo entre as mulheres brasileiras. Em 2015, CCR ocasionou 16.697 mortes, sendo 8,163 (7,6%) entre homens e 8.533 (9%) entre mulheres (INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, [s.d.]).

Dados os padrões temporais da CCR e as projeções demográficas, é esperado um aumento de 60% no impacto mundial da doença, afetando mais de 2,2 milhões de novos casos anuais e 1,1 milhões de mortes em 2030, levando à urgência a compreensão de seus padrões e tendências e como enfrentá-las (ARNOLD et al., 2017).

1.1.2 Fatores de Risco e Preventivos

Diferentemente de outros cânceres, não há nenhum fator único responsável pela maioria dos casos de CCR. Aparte da idade e do sexo masculino, os seguintes fatores de risco têm sido identificados e estabelecidos em estudos epidemiológicos: histórico familiar de CCR, Doença Inflamatória Intestinal (DII), cigarro, consumo excessivo de álcool, alto consumo de carnes vermelhas e processadas, obesidade, diabetes e histórico de radiação abdominal ou pélvica para tratamento de câncer prévio (WOLF et al., 2018).

O histórico familiar de CCR é especialmente importante devido ao seu componente genético. De acordo com um grande estudo avaliando aproximadamente 45 mil pares de gêmeos, 35% dos riscos de se desenvolver CCR esporádico podem ser atribuídos a fatores genéticos hereditários (LICHTENSTEIN et al., 2000), além das bem conhecidas síndromes familiares como a polipose adenomatosa familiar (PAF) e câncer de cólon não poliposo hereditário (síndrome de Lynch), responsáveis por cerca de 5% dos casos de CCR (BURN; MATHERS; BISHOP, 2013).

Quanto aos fatores de risco não totalmente associados, dados sugerem que infecções com *Helicobacter pylori*, *Fusobacterium* spp. e outros agentes infecciosos podem ter relação com aumento de incidência de CCR (KOSTIC et al., 2012; SONNENBERG; GENTA, 2013). Foi demonstrado que a transferência de microbiota de pacientes com CCR em modelos animais induzidos por azoximetano resultou em formação de pólipos, displasia e proliferação significativamente maiores que nos animais controles, com microbiota de pessoas saudáveis (WONG et al., 2017). Ainda, estudos recentes têm demonstrando que a exposição a antibióticos nos estágios iniciais da vida levam a um maior risco para adenoma colorretal aos 60 anos, sugerindo que a microbiota disbiótica é adquirida e sustentada por longos períodos de tempo, impactando na fisiopatologia de neoplasias (TILG et al., 2018).

Fatores preventivos já estabelecidos incluem exercício físico, terapia de reposição hormonal e aspirina com redução na ordem de 20-30% dos casos, e endoscopia com remoção de lesões pré-neoplásicas, responsável pelas maiores reduções de risco (BRENNER; KLOOR; POX, 2013). Além dessas, dietas ricas em grãos, vegetais, frutas e laticínios, e pobres em carnes vermelhas e carnes

processadas (submetidas a salinização, cura, fermentação ou defumação) demonstraram reduzir os riscos para CCR (SCHWINGSHACKL et al., 2018).

1.1.3 Carcinogênese

O CRC pode ocorrer por um ou a combinação de 3 diferentes mecanismos: [1] Instabilidade cromossomal (CIN – *Chromosomal Instability*), [2] fenótipo metilador de ilhas CpG (CIMP – *CgP island methylator phenotype*) e [3] Instabilidade de Microssatélites (MSI – *Microsatellite Instability*) (TARIQ; GHAS, 2016).

A CIN clássica inicia-se com a mutação no gene APC (*Adenomatous Polyposis Coli*), ocasionando em adenomas que podem evoluir a adenocarcinomas devido a mutações subsequentes (múltiplos hits) nos oncogenes KRAS e inativação dos genes supressores de tumores TP53 (FEARON; VOGELSTEIN, 1990). Tais mutações frequentemente geram instabilidade cromossômica, com alterações nos números de cromossomos e profundas alterações estruturais (LENGAUER; KINZLER; VOGELSTEIN, 1997). Aneuploidia e perda de heterozigose são alterações chaves na CIN, representando a maioria dos CCRs esporádicos (85%) e presente na polipose adenomatosa familiar do cólon (PAF-C) associados a mutações germinativas no gene APC (SMITH et al., 2002).

CIMP ocorre em cerca de 15% dos CCRs esporádicos. São caracterizados por fenótipo com metiladores de ilhas CpG, com hipermetilação de genes supressores de tumor, principalmente MGMT e MLH1, e frequentemente são associados a ativação do oncogene BRAF (WEISENBERGER et al., 2006). A maioria desses cânceres apresenta fenótipo de alta instabilidade de microssatélites como consequência do gene promotor MLH1 metilado (HERMAN et al., 1998).

Formas hereditárias contribuem com cerca de 3-5% dos casos de CCR (JASPERSON et al., 2010). Nesses tipos de cânceres, genes supressores ou reparadores de tumores são inativados em mutações monoalélicas nas células germinativas, e um evento somático de mutação (segundo *hit*) compromete a atividade do alelo selvagem remanescente, podendo levar à formação de um tumor (KNUDSON, 1993). As duas formas mais comuns de CCR hereditário são o câncer colorretal não poliposo hereditário (síndrome de Lynch) e a PAF-C. Ambas

síndromes são desordens autossômicas dominantes e seguem a patogênese molecular típica dos CCR, onde cânceres associados à síndrome de Lynch apresentam sinais de deficiência nos sistemas de reparo e consequentemente MSI-H, enquanto cânceres associados a PAF-C seguem a via do adenocarcinoma (BOLAND; GOEL, 2010).

As deficiências nos sistemas de reparo em CCRs são caracterizadas pelo acúmulo de muitas deleções e inserções em regiões de microssatélites espalhados por todo o genoma, que são expressos em localização proximal do cólon, manifestando-se em pessoas abaixo dos 50 anos nas formas hereditárias e em pessoas mais longevas nas formas esporádicas (BOLAND; GOEL, 2010). Podem ocorrer em sincronia com outros tumores, mas são apenas raramente acompanhadas de metástases em outros órgãos (JUNG et al., 2012).

As deficiências nos sistemas de reparo aparentam acelerar o processo de carcinogênese, e não iniciá-lo (GALON et al., 2006). Entretanto, a presença de deficiências nos sistemas de reparo não displásicas em focos de criptas aberrantes na mucosa intestinal de portadores da síndrome de Lynch sugerem que tais deficiências podem iniciar a carcinogênese em ao menos uma parcela dos cânceres por MSI-H (KLOOR et al., 2012). Interessantemente, a compreensão dos fenótipos dos portadores da síndrome de Lynch pode ser útil na separação entre CCRs decorrentes ou não da síndrome. Por exemplo, tumores com mutações no gene BRAF são praticamente exclusivos para o tipo esporádico (PARSONS et al., 2012). Além das análises hereditárias, as análises de instabilidade de microssatélites podem servir como uma valiosa informação do prognóstico e resposta terapêutica. Uma revisão sistemática avaliou 32 estudos, com 7642 pacientes com CCR, estimando uma relação de risco para sobrevida global relacionado a MSI de 0,65 (95% CI 0,59-0,71) (POPAT; HUBNER; HOULSTON, 2005). A alta taxa de infiltrado linfocitário nos tumores MSI-H, ocasionados pela variabilidade antigênica produzida pela deficiência nos sistemas de reparo e consequente ativação do sistema imune (SCHWITALLE et al., 2008), poderiam justificar o melhor prognóstico para esses tipos de cânceres.

A ocorrência de metástase tumoral é um balanço entre o potencial metastático do tumor e a capacidade anti-tumoral do organismo (SHAKHAR; BEN-

ELIYAHU, 2003). Uma das hipóteses aceitas é a chamada semente e solo (FIDLER, 2003), na qual o tumor primário é suprido inicialmente por difusão, mas neovascularização é induzida posteriormente. Em seguida, células tumorais circulantes (CTCs) são liberadas na via hematogênica ou linfática, trafegando por estes vasos via embolia. Muitas dessas células são destruídas pelo sistema imune, mas algumas conseguem escapar e se prender em redes capilares de órgãos distintos. Dependendo das condições do órgão (solo) as células tumorais irão extravasar, proliferar e induzir a neovascularização, estabelecendo micrometástases. Os mediadores desta etapa incluem VEGF e Prostaglandinas E2 (O'RIAIN et al., 2005).

Estudos têm relacionado a presença e quantidade de CTCs com piores prognósticos. Uma revisão sistemática que avaliou os resultados de 14 estudos em pacientes submetidos a excisão cirúrgica de CCR identificou que a presença de CTCs 24 horas após a operação como um fator de prognóstico independente para recorrência e metástase (PEACH et al., 2010).

O sistema imune tem papel fundamental no desenvolvimento tumoral. A resposta imune no processo de desenvolvimento tumoral não é apenas um fator único, uma vez que atua em funções múltiplas afetando a iniciação, crescimento, progressão e outros processos do tumor. O sistema imune, assim, regula e promove a seleção tumoral, em um processo chamado “imunoeedição”. Há três etapas neste processo: eliminação, equilíbrio e escape (DUNN; OLD; SCHREIBER, 2004). Pesquisas indicam que há relação entre imunossupressão e viabilidade tumoral (JINUSHI, 2014), entretanto, outro aspecto deve ser destacado: que a imunocompetência pode resultar em cânceres mais resistentes em indivíduos hígidos (SHANKARAN et al., 2001). Diferentes células imunes atuam em diferentes papéis na carcinogênese: algumas células afetam a patogênese enquanto outras contribuem para sua recorrência.

O sistema imune inato é estabelecido desde o nascimento, sendo ativo contra antígenos exógenos de forma não específica. É caracterizado por sua velocidade, eficiência e estabilidade. Sua ativação se dá por reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos e danos celulares (do inglês, PAMPs e DAMPs, respectivamente), através de receptores de reconhecimento de padrões (do

inglês, PRR), que, então, produzem uma série de citocinas como as interleucinas (ILs) e fatores de necrose tumoral (do inglês, TNF). Tais ações de reconhecimento e ação são importantes no modelamento do microambiente tumoral e regulação da tumorigênese. Os PRRs são expressos em uma variedade de células da imunidade inata do hospedeiro, tais como células dendríticas e células NK. Dentre esses receptores, os receptores semelhantes ao tipo Toll (do inglês, TLR) estão envolvidos na tumorigênese através do reconhecimento da inflamação causada pelos PAMPs, e os receptores do tipo Nod (do inglês, NLRs), que têm demonstrado regular a resposta imune e assim inibir a tumorigênese (FUKATA; ARDITI, 2013). Células NK são células imunes que mantêm o funcionamento das defesas do organismo. São relacionadas às respostas antitumorais e antivirais, além de regular o sistema imune. Modelos murinos e humanos têm demonstrado que células NK contribuem para a prevenção de câncer e no controle dos efeitos do crescimento tumoral e sua disseminação (MALMBERG et al., 2008). Em CCR, a presença de elevados infiltrados de células NK em diversos tipos de tumores pode ser indicativo de melhores prognósticos (COCA et al., 1997). Assim, a atividade das células NK, como importantes fatores da imunidade inata, possui significativa função antitumoral, embora seus mecanismos exatos de funcionamento ainda não sejam claros (SANDEL et al., 2005).

No CCR, os macrófagos aparecem em infiltrados nos tumores. Originados de células mononucleares do sangue periférico, são importantes no processo de infiltração tumoral nas regiões circundantes. São divididos em dois subtipos: M1 e M2 (BISWAS; MANTOVANI, 2010). Tais macrófagos podem diferenciar-se em M1 ou M2, dependendo das circunstâncias, como presença de LPS ou TNF- α , resultando na conversão em M1, e glicocorticoides e IL-10, convertendo em M2. Tais transições são preditivas de prognóstico, uma vez que M1 atua na resposta imune Th1, relacionada à eliminação de patógenos exógenos e células tumorais, enquanto que M2 atua na resposta Th2, relacionada à resposta humoral e à ocorrência e desenvolvimento de tumores (MANTOVANI; LOCATI, 2013).

Células T reguladoras (Tregs) possuem conhecida função na modulação da resposta imune, prevenindo doenças autoimunes e a gestação do feto. Assim, há evidências de que as Tregs CD4+/CD25+/FOX3+ no sangue periférico e sistema

linfático possam diminuir a resposta imune às células cancerosas de CCR, auxiliando em seu estabelecimento e crescimento (CLARKE et al., 2006). A presença de infiltrados de Tregs CD3+ e CD3+/Fox3+ foram consideradas como importante para prognóstico de sobrevida livre de doença (SINICROPE et al., 2009).

1.1.4 Classificação

O diagnóstico de CCR é feito por análises histológicas de biópsias retiradas durante colonoscopias. A realização de colonoscopia completa ou colonografia por tomografia computadorizada (TC) é mandatória para identificação de cânceres sincrônicos, presentes em cerca de 2-4% dos pacientes (PARK et al., 2012). Cerca de 20% dos pacientes com CCR recentemente diagnosticados apresentam metástases distantes (LEUFKENS et al., 2011), sendo o fígado o local mais frequente, demandando exames de imagem para este órgão em todos pacientes com CCR (NIEKEL; BIPAT; STOKER, 2010). O estadiamento do CCR é realizado pelo sistema TNM, o qual avalia o tumor primário (Estágio T), envolvimento de linfonodos (Estágio N) e presença de metástase (Estágio M). Os estágios TNM são, então, arranjados no sistema UICC (*Union Internationale Contre Le Cancer*) para provisão de prognóstico e orientação terapêutica (BRENNER; KLOOR; POX, 2013).

1.1.5 Tratamento

A avaliação multidisciplinar, assim como em outros cânceres, deve ser realizada em casos de CCR. A equipe deve envolver um cirurgião colorretal, um oncologista, um gastroenterologista, um radioterapeuta, um radiologista e um patologista. A avaliação para terapias neoadjuvantes deve ser realizada em casos de metástases, enquanto que terapias adjuvantes após a cirurgia parecem ser suficientes em casos sem metástases (ARAN et al., 2016; BRENNER; KLOOR; POX, 2013).

A cirurgia ainda é uma das principais ferramentas para o combate de tumores sólidos (PÉREZ-HERRERO; FERNÁNDEZ-MEDARDE, 2015). O procedimento cirúrgico padrão para o tratamento de câncer retal envolve a excisão mesorectal total, ou seja, retirada de todo o reto junto ao mesoreto e fáscia mesorectal (HEALD;

RYALL, 1986). A excisão mesorectal total é importante por conter a maioria dos linfonodos e depósitos tumorais. Uma margem de segurança livre, definida como distância maior que 1 mm entre a margem de ressecção e o tumor, tem sido associada a melhores prognósticos (NAGTEGAAL; QUIRKE, 2008), sendo que margens de segurança comprometidas, ou seja, que possuem distância menor que 1 mm entre a excisão e o tumor, apresentaram maior risco de recorrência e desenvolvimento de metástases distantes (WEST et al., 2010). Em cânceres de cólon, o tumor e os vasos linfáticos correspondentes são removidos, mas alguns especialistas têm advogado pela excisão mesocolônica total, em analogia ao câncer de reto, porém mais dados sobre os riscos e benefícios são necessários (WEST et al., 2010). Quanto aos métodos cirúrgicos, laparoscopia tem demonstrado vantagens quanto a laparotomia. Uma recente metanálise demonstrou que ressecções realizadas por laparoscopia em CCR tem alcançando os mesmos resultados a longo prazo que laparotomia, como sobrevida global (Razão de Risco (RC) = 0,83 (0,56; 1,22); P = 0,34), sobrevida livre de doença (p = 0,20), recorrência local (p = 0,81) ou metástase (p = 0,24), mas são associadas a maior tempo de cirurgia (Diferença de Média Ponderada (DMP) = 45,00 (29,48; 60,52); P<0,00001) com reestabelecimento da alimentação oral mais precoce (DMP = -1,68 (-1,84; -1,53); p<0,00001) e tempo de internação mais curto (DMP = -2,94 (-4,27; -1,62); p = 0,0001) (ATHANASIOU et al., 2017).

Novas técnicas cirúrgicas e ferramentas vêm sendo desenvolvidas e implementadas em busca de melhores resultados (BLENCOWE et al., 2014). À parte da técnica, porém, a escolha dos anestésicos durante o período perioperatório tem demonstrado impactos no desfecho clínico (HILLER; BRODNER; GOTTSCHALK, 2013).

Ainda que as cirurgias sejam bem executadas, resíduos mínimos da doença ainda podem estar presentes, sejam depósitos microscópicos nas margens da excisão ou micrometástases prévias (COFFEY et al., 2003). Ainda, de forma direta, estudos demonstraram que as cirurgias podem ser causadoras de metástases por meio da inibição da atividade imune, especialmente das células NK (BEN-ELIYAHU et al., 1999). Quatro mecanismos podem estar envolvidos após intervenções cirúrgicas:

1. Manejo e distúrbio direto ao tumor, liberando CTCs. A presença de CTCs pode ser identificada por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), e estudos têm demonstrado aumento na contagem de CTCs na circulação após intervenções cirúrgicas (YAMAGUCHI et al., 2000);
2. A presença do tumor primário pode ser inibidor de angiogênese, por liberar angiostatina e endostatina. Assim, a excisão do tumor primário pode desencadear processos angiogênicos difusos pelo organismo (BIKI et al., 2008).
3. Aumento da secreção local e sistêmica de fatores de crescimento durante a cirurgia podem promover aumento da taxa de recorrência. VEGF, EGF e TGF- β são aumentados à medida que fatores anti-angiogênicos são diminuídos (BIKI et al., 2008).
4. Imunossupressão durante o período perioperatório, resultados da resposta neuroendócrina e de citocinas ao estresse cirúrgico e medicamentos administrados neste período (BUGGY; SMITH, 1999).

O aumento do estresse cirúrgico em ratos foi relacionado com aumento de metástases (TSUCHIYA et al., 2003). Sabe-se que o estresse reduz a capacidade imune e esta parece ser uma etapa vital ao processo de recorrência após intervenção cirúrgica. Estudos apontam para uma redução da imunidade celular de até 5 dias após o processo cirúrgico, enquanto que a imunidade humoral mantém-se preservada (SHAKHAR; BEN-ELIYAHU, 2003). Citocinas relacionadas à imunidade celular são reduzidas neste período, como IL-2, IL-12 e IFN- γ , concomitante ao aumento de citocinas que inibem a imunidade celular, como a IL-10. Desta forma, há uma redução na circulação de células NK, linfócitos T, células dendríticas e células T-helper (BUGGY; SMITH, 1999). A imunossupressão decorrente do estresse cirúrgico tem seu pico no 3º dia (COFFEY et al., 2003), o que pode configurar como uma janela de oportunidade para o estabelecimento de micrometástases ou recorrência local. Ainda, imunidade celular pode reduzir a probabilidade de recorrência ou metástase mesmo que não tenha sido capaz de impedir o desenvolvimento do tumor primário (HANAHAHAN; WEINBERG, 2000).

As terapias neoadjuvantes, administradas antes da terapia principal, contribuíram ainda mais. Foi demonstrado que a taxa de recorrência de excisão mesorectal total

diminuiu significativamente quando associadas a radioterapia neoadjuvante (19% contra 9% em estágio III, $p < 0,0001$). Entretanto, a escolha terapêutica deve levar em conta o estadiamento do tumor. Tumores estágio I são pouco elegíveis por possuírem baixa taxa de recorrência (cerca de 3%) e pelo seu alto número necessário para tratar (NNT) de 38 pacientes. Pacientes estágio III são beneficiados pelas terapias neoadjuvantes, enquanto que estágio II ainda dependem de mais dados (VAN GIJN et al., 2011).

O prognóstico de pacientes com CCR vem sendo melhorado devagar, mas de forma contínua durante as últimas décadas em muitos países. Em países desenvolvidos como Austrália, Canadá, EUA e muitos países europeus, 5 anos de sobrevivência relativa é atingida por quase 65% dos pacientes, enquanto que em países subdesenvolvidos essa taxa não chega aos 50% (BRENNER; KLOOR; POX, 2013).

O momento perioperatório, no qual o anestesiologista possui papel fundamental, pode ser determinante para o desfecho do tratamento cirúrgico. Não apenas a excisão do tumor em si, mas as medicações administradas, dentre elas as anestésias, podem ter influência no desfecho do tratamento (PIEGELER; BECK-SCHIMMER, 2016). Estudos recentes têm demonstrado que a escolha do anestésico possui forte relação com o desfecho final do tratamento (HILLER; BRODNER; GOTTSCHALK, 2013) e serão tratadas a seguir.

1.2 Anestésias

Anestésicos são componentes chaves no manejo da dor no período perioperatório e têm sido relacionados com alterações do prognóstico pós-cirúrgico no câncer de cólon e em outras doenças. De modo geral, as anestésias podem influenciar o processo de recuperação pós-cirúrgico de 3 formas: [1] afetar o número e a atividade das células imunes envolvidas na imunidade inata e específica, como células NK, linfócitos-B e T, macrófagos, leucócitos e eritrócitos; [2] afetar a secreção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, e citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10; e [3] agindo diretamente nas células tumorais, em eventos como a proliferação, migração e apoptose (DANG et al., 2018).

Os anestésicos opióides, embora tenham contribuído para a diminuição da mortalidade, são associados a taxas altas de recorrência em câncer, provavelmente por inibirem a resposta imune celular e humoral em humanos (BEN-ELIYAHU et al., 1999). Como supracitado, a manutenção da imunidade é essencial para o controle da proliferação e disseminação do câncer.

De forma contrária, anestésicos locais podem reduzir o estresse neuroendócrino por bloquear o sistema nervoso simpático e aferências nociceptivas, aumentar a função de células NK e diminuir a secreção de opióides endógenos (WADA et al., 2007). Estudos apontam que anestésias epidurais, combinadas ou não com anestesia geral, possuem menor supressão da função imune quando comparadas aos opióides (BIKI et al., 2008). Em modelos animais, anestesia local foi associada com a redução do estresse, preservando as funções imunes e contribuindo para melhores prognósticos (SNYDER; GREENBERG, 2010).

Revisões e metanálises, entretanto, têm apresentado dados controversos. Algumas revisões em CCR têm associado o uso de anestésicos locais a melhores prognósticos (CHRISTOPHERSON et al., 2008; GOTTSCHALK et al., 2010; GU et al., 2016), enquanto outros apresentaram dados contrários (CUMMINGS et al., 2012; GUPTA et al., 2011).

Tais revisões consideraram estudos majoritariamente retrospectivos, que são conhecidamente detentores de uma variedade de vieses. Estudos prospectivos estão sendo conduzidos e deverão dar luz à questão clínica de forma mais consistente (NCT00418457 e NCT02089178 em câncer de mama, NCT00684229 e NCT01318161 em CCR, NCT01179308 em câncer de pulmão, NCT01588847 em melanoma, NCT01975064 em câncer de mama e CCR).

1.2.1 Lidocaína

A lidocaína foi primordialmente preparada em 1944, sendo o primeiro anestésico local da família dos amídicos a ser usado clinicamente em 1948 por Lofgren (WILDSMITH; JANSSON, 2015; WRIGHT; DURIEUX; GROVES, 2008). A partir de então, foi rapidamente incorporada em uma diversa variedade de aplicações devido à sua potência, rápida ação e eficácia em infiltrações, bloqueio de

nervos periféricos e anestesia epidural e espinal. Em bloqueio de nervos periféricos, soluções a 1 e 1,5% costumam ser eficazes para o bloqueio motor, enquanto que para bloqueio epidural, 2% parece ser mais eficaz. Para anestesia espinal, soluções de 0,5 a 5% são usadas (RUETSCH; BONI; BERGEAT, 2001). Seu primeiro uso clínico sistêmico para tratamento de dor foi introduzido em 1961, por dois anesthesiologistas que reportaram controle eficaz da dor pós-operatória (BARTLETT; HUTASERANI, 1961). Entretanto, provavelmente devido aos seus efeitos cardíacos e no sistema nervoso central, seu uso sistêmico para controle da dor ficou restrito por 2 décadas (MAO; CHEN, 2000), sendo que em 1982, Boas et al. reportou redução de deafferentação da dor central por lidocaína intravenosa, indicando seu uso para síndromes de dores neuropáticas intratáveis (BOAS; COVINO; SHAHNARIAN, 1982). Desde então, o uso de lidocaína sistêmica vem sendo utilizada de forma crescente, baseando-se nos primeiros estudos clínicos randomizados em neuropatia diabética (BACH et al., 1990) e tratamento de íleo paralítico pós-operatório (RIMBÄCK; CASSUTO; TOLLESSON, 1990).

A partir de então, muitas meta-análises têm indicado a eficácia e segurança da administração de lidocaína intravenosa para controle da dor e melhora da recuperação pós-cirúrgica. Em seus resultados, tais revisões apontam para significativa redução de dor ou necessidade de opióides nas 24 horas pós-operatórias (KRANKE et al., 2015; MARRET et al., 2008; MCCARTHY; MEGALLA; HABIB, 2010; VIGNEAULT et al., 2011; WEIBEL et al., 2016). Curiosamente, subgrupos têm indicado melhor benefício para pacientes submetidos à cirurgia abdominal, seja laparoscópica ou a céu aberto, demonstrando diminuição de íleo pós-operatório, diminuição nos tempos do primeiro flato e primeiro movimento intestinal, diminuição de náusea e vômitos pós-operatórios (KRANKE et al., 2015; WEIBEL et al., 2016). Ainda em cirurgias abdominais, estudos têm demonstrado eficácias similares entre a lidocaína intravenosa e lidocaína epidural (SWENSON et al., 2010), onde pacientes do grupo lidocaína apresentaram menores taxas de náuseas e vômitos, hipotensão, prurido e retenção urinária, além de tempos menores para remoção de cateter urinário e primeiros sinais de função gastrointestinal (TERKAWI et al., 2016).

Referente à farmacocinética, lidocaína é uma base fraca de $pK_a = 7,9$, e fracamente hidrossolúvel. Após administração intravenosa, lidocaína é inicialmente distribuída para tecidos e órgãos altamente vascularizados, como encéfalo, rins e coração, e depois alcança tecidos menos vascularizados, como pele, músculos esqueléticos e tecido adiposo, tendo um volume de distribuição de aproximadamente 91L/Kg (ESTEBE, 2017). Cerca de 60-80% da lidocaína é encontrada em associação com proteínas plasmática, principalmente albumina, sendo que a administração de albumina diminui a distribuição da droga no SNC (PARDRIDGE; SAKIYAMA; FIERER, 1983).

Após administração IV, 40% da lidocaína é temporariamente extraída durante a primeira passagem pelos pulmões, devido principalmente à metabolização pelo citocromo P450 (AOKI et al., 2010). Cerca de 90% da lidocaína restante é submetida ao metabolismo hepático, pelas enzimas CYP3A4, produzindo metabólitos ativos como monoetilglicinaxilidina, N-etilglicina e glicinaxilidida (WERDEHAUSEN et al., 2015).

A eliminação da lidocaína e seus metabólitos é realizada pelos rins, sendo que 10% apresentam-se inalterados na urina. Sua meia vida é de 1,5-2h após administração IV, tendo uma taxa de clearance de aproximadamente 0,85 L/Kg/h (ESTEBE, 2017).

O mecanismo de ação melhor conhecido da lidocaína relaciona-se ao bloqueio de canais de sódio voltagem-dependentes (VGSCs ou Nav) que resultam na inibição da propagação do potencial de ação e diminuição da excitabilidade neuronal. Este mecanismo é estabelecido na anestesia regional, entretanto, os mecanismos de ação da lidocaína administrada na forma de I.V. podem ser mais complexos do que isso. Um dos recentes mecanismos descobertos é a inibição do nucleotídeo cíclico hiperpolarizado ativado (HCN) presente no tálamo, hipocampo, medula e gânglio da raiz dorsal. Tal inibição prolongaria os efeitos anestésicos da lidocaína por realizar downregulation da excitação da medula, podendo explicar os efeitos prolongados deste fármaco não coerentes com sua farmacocinética (HU et al., 2016). A lidocaína também diminui a despolarização pós-sináptica mediada por N-metil-D-aspartato (NMDA), um dos principais canais de neurotransmissão para excitação rápida (HAHNENKAMP et al., 2006; ZHANG et al., 2014). Estudos têm

associado à lidocaína a inibição de receptores associados à proteína G, o que poderia explicar seus efeitos anti-inflamatórios e anti-trombóticos, aparentemente possuindo ação tempo-dependente (HOLLMANN et al., 2001, 2004). A lidocaína ainda interage com diferentes canais de potássio (BRÄU et al., 1995) e de cálcio (DU et al., 2006).

A lidocaína tem demonstrado significativa ação anti-inflamatória, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, diminuindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1b, TNF- α , NF-kB e proteína quimiotática de monócitos tipo 1 (GARUTTI et al., 2014; HOLLMANN; DURIEUX, 2000), o que aparentemente não implica em prejuízos ao processo de cura (WAITE et al., 2010). Além da diminuição do processo inflamatório, a lidocaína tem sido relacionada com aumento da atividade de células NK (RAMIREZ; TRAN; CATA, 2015) e diminuição da inflamação vascular, o que diminui a hiperpermeabilidade (PIEGELER et al., 2014). De forma geral, a lidocaína sistêmica atua de forma protetiva mantendo a imunidade mediada por células, diminuindo complicações infecciosas e progressão e disseminação tumoral no pós-operatório (WANG et al., 2015, 2014).

As doses observadas de lidocaína sistêmica foram de 1-2 mg/kg, com concentrações séricas de 3,5-17,3uM (LIRK et al., 2012), muito abaixo da concentração requerida para bloqueio dos impulsos nervosos de nervos periféricos (300-800uM) (KURABE; FURUE; KOHNO, 2016). As dosagens e concentrações séricas para os outros efeitos da lidocaína ainda estão sob estudo, fornecendo um novo campo investigativo para esta conhecida droga.

Embasando tais hipóteses, há uma extensa gama de estudos pré-clínicos *in vitro* com células de diferentes populações cancerosas do CCR, como HT-29 e SW480 (BUNDSCHERER et al., 2015, 2017), porém até o momento desta pesquisa, não foram identificados trabalhos de experimentação em modelos animais avaliando o impacto da lidocaína na progressão do câncer colorretal.

Diversos estudos têm demonstrado significativa eficácia da lidocaína na regressão de culturas de células cancerosas *in vitro*. Em menor número, há alguns estudos que demonstram a eficácia da lidocaína no tratamento de diferentes cânceres em camundongos e ratos, com variação da administração, seja sistêmica

ou infiltração direta no tumor. Durante este trabalho, o efeito antineoplásico deste anestésico será discutido em maior profundidade.

1.3 Avaliação Imunoistoquímica

1.3.1 PCNA

A PCNA é uma proteína nuclear não histamínica com massa molecular de 36 kDa e é um marcador específico de divisão celular. Sua ação está associada à DNA polimerase δ , sintetizada pouco antes da fase S do ciclo celular. Verificou-se que a expressão de PCNA se correlaciona com o grau de malignidade, infiltração vascular, metástase à distância e sobrevivência. Este antígeno foi descrito como um biomarcador de adenocarcinoma colorretal (GUZIŃSKA-USTYMOWICZ et al., 2009) e como um marcador capaz de identificar adenomas mais agressivos que podem se transformar em cânceres malignos (LAVEZZI et al., 2002).

1.3.2 Caspase-3

Caspases são mediadores cruciais da morte celular programada (apoptose). Entre eles, a caspase-3 é uma protease frequentemente ativada, catalisando a clivagem específica de muitas proteínas celulares chave durante o processo de apoptose. Ainda, a literatura aponta para a participação desta caspase no processo apoptótico induzido por diversos fatores em adenocarcinoma de cólon, como diferentes quimioterápicos, e pode ocorrer retardo ou até inibição da apoptose por mutação ou ação farmacológica inibitória sobre as caspases-3 (GOMES et al., 2008). A caspase-3 é também necessária para algumas características típicas da apoptose e é indispensável para a condensação apoptótica da cromatina e a fragmentação do DNA em todos os tipos de células examinadas. Deste modo, a caspase-3 é essencial para certos processos associados ao desmantelamento da célula e à formação de corpos apoptóticos, mas também pode funcionar antes ou durante a fase em que se efetua o compromisso com a perda de viabilidade celular (PORTER; JÄNICKE, 1999).

Estudos imunoistoquímicos têm demonstrado que a caspase-3 tem sua expressão reduzida em diversos tumores primários, sendo essa redução da expressão associada ao aumento do potencial maligno do tumor e, consequentemente, à diminuição da sobrevida global (Wang et al, 2014).

1.3.3 Akt

Akt/PKB (proteína quinase B) são mediadores de sinalização *downstream* da ativação de tirosinas quinases e fosfatidilinositol 3 fosfato. Quinases Akt regulam uma diversidade de processos celulares incluindo proliferação, sobrevivência e crescimento celular (VIVANCO; SAWYERS, 2002) e resposta a disponibilidade de nutrientes, invasão tecidual e angiogênese (ALTOMARE; TESTA, 2005). Muitas oncoproteínas e supressores tumorais convergem para alterações na atividade desta quinase, estando relacionados a diversos tumores humanos. Nos cânceres intestinais, cerca de 40% apresentam mutações no ICF2, PIK3 ou PTEN, além de mutações na GTPase KRAS em frequências similares (DANIELSEN et al., 2015a), podendo ser considerado um marcador para atividade celular em cânceres colorretais.

1.3.4 Survivina

Survivina é um inibidor apoptótico presente durante o desenvolvimento fetal e não identificável em células quiescentes. É encontrado, porém, em uma série de tumores como o de cólon (AMBROSINI; ADIDA; ALTIERI, 1997). A survivina é expressa durante a fase G2/M de forma ciclicamente regulada. No início da mitose, survivina associa-se com microtúbulos do fuso mitótico, potencialmente inibindo um processo apoptótico constitutivo das células. A dissociação da survivina aos microtúbulos diminui sua capacidade anti-apoptótica, à medida que se elevam os níveis de caspase-3, encaminhando o processo à morte celular. Desta forma, a superexpressão de survivina em células cancerosas pode estar relacionada à proliferação celular aberrante (LI et al., 1998), provavelmente por constante indução da regulação dinâmica do checkpoint do fuso mitótico (ALTIERI, 2003).

2 Justificativa

O CCR é uma das neoplasias mais incidentes no mundo que, caso siga seus atuais ritmos de incidência e mortalidade, poderá afetar mais de 2,2 milhões de novos casos anuais e cerca de 1,1 milhões de mortes em 2030 (ARNOLD et al., 2017). O Brasil está incluído no grupo de países que vêm apresentando aumento tanto de incidência como mortalidade em CCR, e, dentre esses países, o Brasil é o que apresentou maior crescimento de incidência e mortalidade anuais (FERLAY et al., 2015).

Como supracitado, a lidocaína vem apresentando uma série de benefícios pós-cirúrgicos e indícios de mecanismos ainda não explorados que atuem direta ou indiretamente sobre a carcinogênese. Existem alguns trabalhos disponíveis na literatura que avaliaram a lidocaína *in vivo* em diferentes cânceres, porém, até o momento deste trabalho, nenhum estudo foi publicado *in vivo* em CCR.

A lidocaína é uma droga amplamente utilizada e de baixo custo, conferindo-a segurança e alto acesso ao público. Desta forma, investigar os efeitos da lidocaína na carcinogênese colônica *in vivo* atribui valor científico e social a este trabalho.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

A proposta deste estudo é avaliar a ação anti-neoplásica da Lidocaína e seu impacto no desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas de cólon induzido por N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) em camundongos.

3.2 Objetivos Específicos

- I. Analisar a ação anti-neoplásica da lidocaína na carcinogênese colônica através da contagem de criptas displásicas e índices apoptóticos;
- II. Analisar a expressão por imunoistoquímica de PCNA e Akt a fim de identificar a taxa replicativa das lesões pré-neoplásicas e avaliar como a Lidocaína atua nesse processo;

III. Analisar a expressão por imunoistoquímica de CASP-3 e Survivina a fim de identificar as taxas apoptóticas;

IV. Analisar os diferentes desfechos dos regimes de lidocaína intrarretal e intraperitoneal, bem como a atuação da lidocaína na iniciação ou pós-iniciação tumoral.

4 Materiais e Métodos

4.1 Animais

Foram utilizados 42 camundongos machos da linhagem balb-c, com idade de 7 semanas e com 20 g de peso, provenientes do Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos e os procedimentos foram realizados no biotério do Departamento de Patologia Experimental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, onde ficaram alojados em 7 grupos de 6 animais em gaiolas separadas, mantidos em condições de temperatura constante de $21\pm1^{\circ}\text{C}$, ciclo noite-dia de 12:12 horas, umidade relativa de 60-70%. Ração padrão Agromix® e água de torneira foram ofertados *ad libitum*.

4.2 Delineamento Experimental

Os camundongos foram divididos aleatoriamente em 7 grupos de 6 animais, denominados de: **M**; , **C**, **L5-IR**; **ML1-IR**; **ML1-IP**; **ML2,5-IR** e **ML2,5-IP**. As siglas das nomenclaturas dos grupos indicam:

- **M**: instilação intrarretal em dose única de 0,5mL de MNNG 5 mg/mL (0,1 mg/animal; Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany), utilizando-se agulha para gavagem em formato de ponta em lâmpada, conforme protocolo já estabelecido (KANNEN et al., 2012; MAURIN et al., 2007).
- **C**: Grupo controle. Administrada solução salina 0,9% via intrarretal durante 5 semanas.
- **L1**; **L2,5** ou **L5**: Administração diária de 0,1 ml de lidocaína a 0,08%. Os números 1; 2,5 e 5 indicam o regime de aplicação, sendo 1

indicativo de aplicação durante a primeira semana; 2,5 durante as semanas dois a cinco e 5 durante cinco semanas.

- IR – Aplicação intrarretal;
- IP – Aplicação intraperitoneal.

Os regimes de administração de MNNG e lidocaína, bem como o tempo de eutanásia, estão descritos no diagrama abaixo:

Figura 1: Delineamento experimental. Esquema representativo dos grupos experimentais; o tempo é indicado nos quadros acima; “L”= 0,1mL de lidocaína a 0,08%; “M” = 0,1mL de MNNG intrarretal a 5mg/mL; “X” indica a eutanásia.

4.3 Coleta e Processamento das Amostras

Os animais foram sacrificados no dia 42. Não houve a necessidade de sacrifício antecipado por conta de sofrimento animal. Todos os animais sobreviventes foram submetidos à eutanásia em câmara de gás carbônico.

Após a eutanásia, os animais foram submetidos à laparotomia mediana para coleta do material de estudo. Amostras representativas do cólon distal (1,5 cm) foram coletadas de cada animal. Para as análises histológicas, os cólons foram abertos a partir de sua borda mesentérica, limpos com solução salina (NaCl 0,9%) e cuidadosamente estendidos em uma placa de vidro para realização de observações de características macroscópicas dos cortes e posterior armazenamento nos cassetes. Os cólons foram então posicionados entre papéis de filtro dentro de cassetes previamente identificados, que foram imediatamente imersos em solução de formol a 10% para fixação do material em um período de 24h. Após este período, os tecidos foram retirados da formalina, recortados e processados. Já recortadas, as

peças passaram por um processo de desidratação por submersão em alcoóis de concentrações crescentes (70%, 80%, 90%, 100%) durante um período total de aproximadamente 5 horas. Posteriormente, para diafanização do material, as mesmas foram submersas em banhos de xilol 100% por aproximadamente 1 hora e 20 minutos.

Em seguida, as amostras foram submersas em banhos de parafina líquida em uma temperatura de 60°C por um período de 4 horas, seguindo então para inclusão em blocos, onde parte da amostra foi incluída horizontalmente com a mucosa para baixo e verticalmente para obtenção de cortes longitudinais e transversais, respectivamente. Os blocos foram cortados em micrótomo para obtenção de cortes com 5µm de espessura; posteriormente foram montados em lâminas.

As lâminas foram coradas com Hematoxilina de Harris por 3 minutos e contra-coradas com solução de Eosina Floxina alcoólica por 10 segundos. Para posterior desidratação, a lâmina foi submersa em concentrações crescentes de alcoóis e em seguida diafanizadas em xilol para montagem das lâminas.

4.4 Avaliação morfológica em HE

Após coloração com Hematoxilina e Eosina, foram feitas as análises topográficas da mucosa da porção distal do cólon através do exame com lupa adequada, em microscópio Zeiss.

4.4.1 Avaliação das Criptas Displásicas

Criptas displásicas são caracterizadas por:

- Perda de polaridade nuclear;
- Estratificação;
- Pleomorfismo nuclear;
- Diminuição de células caliciformes;
- Distorção da arquitetura histológica

As criptas displásicas foram identificadas e quantificadas em cortes histológicos. Foram avaliados 1 (um) corte histológico de 1cm² por animal. Assim, foi calculada a frequência de criptas aberrantes por unidade de área em cm².

4.4.2 Avaliação do Índice Apoptótico (iAP)

Células apoptóticas são caracterizadas pela presença de:

- Aumento da eosinofilia;
- Picnose/Cariólise/Cariorrexe;
- Corpúsculos heterocromáticos;
- Corpos apoptóticos;
- Contração celular.

As células apoptóticas foram contabilizadas em criptas normais e criptas displásicas, avaliadas em um campo histológico de 1cm² por animal. Os resultados são expressos pela relação entre células apoptóticas encontradas por estrutura (CN ou CD) analisadas.

4.5 Imunoistoquímica

A técnica de imunoistoquímica foi realizada em cortes histológicos colônicos transversais, aquecidos a 60°C durante 75 minutos, e ocorreu através da reação antígeno-anticorpo, seguida da reação com marcador visível ao microscópio. Para a marcação dos cortes histológicos, estes foram aderidos em lâminas salinizadas, desparafinizados em xilol e hidratados em concentrações decrescentes de etanol até água. A recuperação antigênica foi realizada em tampão citrato pH 6,0 (em panela de vapor) por 20 minutos. Para inibir reações com peroxidases teciduais, peróxido de hidrogênio a 3% foi adicionado sobre as lâminas. Para a realização do bloqueio de ligações teciduais inespecíficas – o que poderia causar marcação inespecífica, utilizou-se soro normal de cavalo diluído em solução-tampão de fosfato (PBS) pH 7,4; em uma concentração de 10%. Entre cada etapa as lâminas foram lavadas 3 vezes com PBS para evitar formação de precipitados. As lâminas foram incubadas com seus respectivos anticorpos primários: iPCNA em diluição de 1:100 (Novocastra®, Novocastra Laboratories Ltd,UK, clone PC10); CASP-3 em diluição de 1:200 (Leica Biosystems Newcastle Ltd., monoclonal murino), Survivina em diluição de 1:50 (Santa Cruz Biotechnology Ltd., monoclonal IgG2a) e Akt em diluição de 1:200 (Santa Cruz Biotechnology Ltd., rabbit policlonal IgG), em câmara úmida e escura, durante 2 horas. Após lavagem, as lâminas foram incubadas com

anticorpo secundário biotinilado durante 30 minutos e, após nova lavagem, foram incubadas com polímero conjugado também por 30 minutos. Para revelação, as lâminas receberam solução reagente contendo o cromógeno DAB (3,3'-diaminobenzidina), durante 1 a 3 minutos, até o aparecimento de precipitado de coloração marrom – atribuída à redução do DAB pela reação. Todos os reagentes são disponibilizados com PicTure™ Max PolymerDetection Kit (Invitrogen). As lâminas foram contra-coradas com Hematoxilina de Harris diluída por cerca de 1 minuto e desidratadas e diafanizadas novamente. Para montagem das lâminas, utilizou-se Entelan.

4.5.1 Critérios para marcação de Akt

As células marcadas em Akt foram contabilizadas nos espaços peri-criptais, definidos como zona de células estromais localizadas entre o encontro de 4 criptas, em cortes transversais. As marcações para Akt consideradas foram as colorações no citosol.

Foram avaliados os EPCs em um corte histológico de 1 cm² por animal. Caso o campo histológico avaliado apresentasse número de EPCs inferior a 10, um outro campo histológico foi analisado. Os resultados expressam o número de células marcadas pelo número de EPC's avaliados.

4.5.2 Critérios para marcação de PCNA

As marcações por PCNA foram avaliadas nos núcleos celulares das células epiteliais de criptas normais. Foi realizado o índice de PCNA por cripta normal, avaliado em cortes longitudinais. Os resultados expressam a relação entre células marcadas sobre o total de células das criptas avaliadas.

Foram avaliados as criptas normais presentes por corte histológico por animal. Caso o corte histológico apresentasse número de CN inferior a 50, um outro campo histológico foi analisado.

4.5.3 Critérios para marcação de Caspase-3

Células marcadas com caspase-3 no citosol foram contabilizadas em criptas displásicas e EPCs. Foram avaliados 1 campo histológico de 1 cm² por animal. Caso o campo histológico apresentasse número inferior a 10 de CDs e EPCs, um novo campo histológico foi analisado.

Os resultados expressam o número de marcações por EPCs ou CDs avaliados.

4.5.4 Critérios para marcação de Survivina

Células marcadas por survivina no citosol foram contabilizadas nos EPCs. Foram avaliados 1 campo histológico de 1 cm² por animal. Caso o campo histológico apresentasse número inferior a 10 EPCs, um novo campo histológico foi analisado. Os resultados expressam o número de marcações por EPCs avaliados.

4.6 Análises Estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise estatística utilizando o software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc. San Diego, California, USA). Foi utilizada a análise de variância em uma via (One-way– ANOVA) para avaliar a diferença entre as médias dos grupos. Foi adotado um nível de significância de 0,05 e a média será dada $\pm$ erro padrão da média (EPM). Na presença de diferença entre as médias ($p < 0,05$), o pós-teste estatístico de Tukey foi utilizado, comparando os resultados entre grupos.

5 Resultados

Dos 42 animais iniciados neste trabalho, 2 camundongos pertencentes ao grupo ML1-IR morreram precocemente, enquanto os demais 40 completaram o estudo sem apresentar sinais de clínicos de doença ou alterações comportamentais. A causa mortis dos dois animais não foi identificada, mas ocorreram provavelmente por imperícia durante a aplicação de lidocaína intrarretal. Suas amostras não foram aproveitadas neste estudo. A reposição dos animais não foi realizada por julgar-se desnecessária do ponto de vista estatístico, além de obstruções logísticas na rotina do biotério e ponderações éticas quanto à utilização de amostras excessivas.

Os dados apresentados abaixo são referentes aos 40 animais que finalizaram o estudo.

5.1 Criptas Displásicas

As criptas displásicas foram identificadas a partir da análise morfológica das lâminas coradas em HE. Conforme ilustrado na figura 3.A, criptas displásicas são caracterizadas pela perda de polaridade nuclear, estratificação e pleomorfismo nuclear, diminuição das células caliciformes, resultando na distorção de sua arquitetura histológica. Os valores encontrados estão representados na figura 2, a qual indica clara diminuição das criptas displásicas dos 4 grupos que receberam MNNG seguido por terapia com lidocaína (Pós-teste de Tukey - $p < 0,05$). Embora o grupo ML1-P tenha apresentado a menor média, as comparações entre grupos IR vs IP e L1 vs L2,5 (ou seja, lidocaína na primeira semana versus lidocaína nas semanas 2 a 5) pelo pós-teste de Tukey foram não significantes.

Figura 2: Criptas displásicas por área. Tratamento com lidocaína reduziu o número de criptas displásicas por cm². One-way Anova: $P < 0,001$. Pós-teste de Tukey: $p < 0,05$

5.2 Índices Apoptótico (iAP)

A contagem de apoptoses foi separada em criptas normais e criptas displásicas, conforme representado na figura 3 com setas azuis e vermelhas, respectivamente.

O iAP nas criptas displásicas e normais foi semelhante entre grupos. Os grupos ML1-IR e ML1-IP não tiveram diferenças significativas com o grupo M, enquanto que os grupos ML2,5-IR e ML2,5-IP apresentaram maiores taxas apoptóticas quando comparados ao grupo M (Pós-teste de Tuley - $p < 0,001$). Os resultados estão representados nas figuras 4 e 5.

Figura 3: Fotomicrografia da contagem de apoptoses (setas vermelhas em criptas displásicas; setas azuis em criptas normais), em marcação por HE em aumento de 40x. Grupo M **[A]** apresenta poucas células apoptóticas. Destaque pontilhado indica cripta com elevado pleomorfismo. Grupos ML2,5-IR **[B]** e ML2,5-IP **[C]** indicam altas taxas de apoptose, com destaque de uma célula apoptótico no quadro vermelho.

Figura 4: Índice apoptótico em criptas displásicas. Tratamento com lidocaína induziu a apoptose de forma significativa nos grupos ML2,5-IR e ML2,5-IP. One-way Anova: $P < 0,001$. Pós-teste de Tukey: ns = não significante, *** = $p < 0,001$.

Figura 5: Índice apoptótico em criptas normais. Tratamento com lidocaína induziu a apoptose de forma significativa nos grupos ML2,5-IR e ML2,5-IP. One-way Anova: $P < 0,001$. Pós-teste de Tukey: ns = não significante, * = $p < 0,05$.

5.3 Análise de imunomarcção por Akt

As análises de imunomarcção por Akt possibilitaram leitura e quantificação apenas nos EPCs. Os resultados revelaram aumento significativo de imunomarcção de Akt no grupo M, quando comparado ao grupo controle (Pós-teste de Tukey - $p < 0,01$). Entre o grupo controle e o L5-IR, não houve alterações significativas. Quando comparado com o grupo M, todos os grupos que receberam MNNG seguido por lidocaína apresentaram menores expressões de Akt (Pós-teste de Tukey - $p < 0,001$).

As comparações entre grupos (IR vs. IP, iniciação vs. pós-iniciação) não apresentaram diferenças significativas.

Figura 6: Fotomicrografia da imunomarcção para **[A]** Akt e **[B]** PCNA, em aumento de 40x. Grupo M **[A.1]** com grandes áreas pericriptais imunomarcadas (área pontilhada) e criptas displásicas (círculo). Grupo ML2,5-IR **[A.2]** apresenta menores marcações e regiões com elevada atividade apoptótica (quadro). As marcações em PCNA foram contabilizadas apenas em criptas normais, indicadas pelas setas vermelhas. Grupos M **[B.1]** e ML1-IR **[B.2]** representados.

Figura 7: Imunomarcção de Akt. Contagem de células nos espaços pericriptais. Tratamento com lidocaína diminuiu de forma significativa a imunomarcção de Akt. One-way Anova: $P < 0,001$. Pós-teste de Tukey: *** = $p < 0,001$.

5.4 Análise de imunomarcção por PCNA

As avaliações por imunomarcção de PCNA foram realizadas nas criptas normais, uma vez que se objetivou a mensuração das taxas proliferativas de células que ainda não apresentavam alterações fenotípicas.

Quando comparado ao grupo M, o grupo controle apresentou significativa menor marcação para PCNA (Pós-teste de Tukey - $p < 0,001$), indicando menor atividade proliferativa em condições normais. Não houve alterações significativas entre o grupo controle e o grupo L5-IR, indicando pouca ou nenhuma atividade da lidocaína em condições normais. Nos grupos induzidos por carcinógeno seguidos por terapia com lidocaína, entretanto, houve diminuição significativa em todos os grupos, excetuando-se o grupo ML2,5-IR, conforme pode ser visto na figura 8 (Pós-teste de Tukey. “ML1-IR” vs. “M” e “ML1-IP” vs. “M” - $p < 0,001$; “ML2,5-IP” vs. “M” - $p < 0,01$). As maiores diferenças foram encontradas nos grupos iniciação, ou seja, que receberam lidocaína na primeira semana. Tal fato foi reforçado nas comparações entre os grupos com lidocaína intrarretal ML1-IR vs. ML2,5-IR, com marcações significativamente menores no grupo ML1-IR (Pós-teste de Tukey - $p < 0,01$).

Figura 8: Imunomarcção de PCNA. Contagem de células nas criptas normais. Tratamento com lidocaína diminuiu de forma significativa a imunomarcção de PCNA. One-way Anova: $P < 0,001$. Pós-teste de Tukey: ns = não significante, ** = $p < 0,01$.

5.5 Análise de imunomarcção por Caspase-3

As avaliações por CASP-3 foram quantificáveis em dois sítios distintos: EPCs e Criptas Displásicas.

Nas EPCs, o grupo controle apresentou imunomarcção significativamente menor que o grupo M (Pós-teste de Tukey - $p < 0,01$), enquanto que os grupos L5-IR e controle não apresentaram alterações significativas. Quando comparada a ação isolada de lidocaína por 5 semanas e o grupo M, o grupo lidocaína apresentou aumento da imunomarcção de CASP-3 de forma significativa (Pós-teste de Tukey - $p < 0,01$). Dentre os grupos que receberam MNNG seguido por lidocaína, os grupos que receberam lidocaína por 4 semanas (i.e., lidocaína nas semanas 2 a 5) apresentaram maiores taxas de CASP-3 quando comparadas com o grupo M (Pós-teste de Tukey. “ML2,5-IR” vs. “M” e “ML2,5-IP” vs. “M” - $p < 0,001$) e apresentaram diferenças significativamente maiores quando comparados com os grupos que receberam apenas 1 semana de lidocaína (Pós-teste de Tukey, “ML1-IR” vs. “ML2,5-IR” e “ML1-IP” vs “ML2,5-IP” - $p < 0,001$). Dentre os grupos que receberam lidocaína na fase de iniciação, ou seja, na primeira semana após o carcinógeno, ambos apresentaram médias inferiores ao grupo M, sendo que apenas o grupo ML1-IR apresentou diferença significativa (Pós-teste de Tubey – $p < 0,05$). As comparações entre grupos IR e IP não revelou diferenças significativas.

Nas avaliações de imunomarcacão de CASP-3 nas Criptas Displásicas, os grupos C e L5-IR não foram avaliados, uma vez que não apresentaram tais estruturas. Dentre os grupos que receberam MNNG seguido por administração de lidocaína, todos os grupos apresentaram menor quantidade de CASP-3 quando comparados com o grupo M, sendo que os grupos ML1-IR, ML1-IP e ML2,5-IP apresentaram diferenças significativas (Pós-teste de Tukey - $p < 0,001$). Quando comparadas as vias de administração, apenas os grupos de 4 semanas apresentaram diferenças significativas, sendo que o grupo ML2,5-IR apresentou maiores quantidades de células marcadas em comparação ao grupo ML2,5-IP (Pós-teste de Tukey – $p < 0,001$). Na comparação entre iniciação e pós-iniciação, o grupo ML2,5-IR apresentou maior quantidade de células marcadas em comparação com o grupo ML1-IR (Pós-teste de Tukey – $p < 0,01$).

5.6 Análise de imunomarcacão por Survivina

As marcações com Survivina foram observadas apenas no EPC. Houve aumento significativo no grupo M em relação ao grupo controle (Pós-teste de Tukey – $p < 0,001$), sem diferenças significativas entre os grupos L5-IR e controle. Todos os grupos expostos a carcinógeno e tratados em sequência com lidocaína apresentaram redução na imunomarcacão de survivina quando comparados ao grupo M (Pós-teste de Tukey – $p < 0,001$). Nas comparações entre iniciação e pós-iniciação, ambas as vias de administração apresentaram melhores resultados quando administradas durante a primeira semana, em comparação com os grupos que receberam lidocaína nas semanas 2 a 5 (Pós-teste de Tukey, “ML1-IR” vs. “ML2,5-IR” – $p < 0,001$; “ML1-IP” vs. “ML2,5-IP” – $p < 0,01$). Não houve diferenças significativas entre as vias de administração IP e IR.

Figura 9: Fotomicrografia da imunomarcção para **[A]** Caspase 3 e **[B]** Survivina, em aumento de 40x. Os grupos M **[A.1]** e ML2,5-IP **[A.2]** apresentaram marcações nas criptas displásicas (setas vermelhas) e espaços pericriptais (setas azuis). As marcações de Survivina foram contabilizadas apenas nos espaços pericriptais, indicadas pelas setas vermelhas. Grupos M **[B.1]** e ML1-IR **[B.2]** representados. Destaque no quadro vermelho para a marcação em survivina em B.1. Intenso processo apoptótico indicado pelo destaque pontilhado em B.2

Figura 10: Imunomarcção de Caspase 3. Contagem de células em EPCs (à esquerda) e criptas displásicas (à direita). One-way Anova: $P < 0,001$. Pós-teste de Tukey: ns = não significante.

Figura 11: Imunomarcção de Survivina. Contagem de células nos espaços pericriptais. Tratamento com lidocaína diminuiu de forma significativa a imunomarcção de survivina, especialmente nos grupos tratados na primeira semana (ML1-IR e ML1-IP). One-way Anova: $P < 0,001$. Pós-teste de Tukey: *** = $p < 0,001$.

6 Discussão

A lidocaína aplicada via instilação para anestesia local tem sido usada por mais de 70 anos, desde seus primeiros usos clínicos por Lofgren em 1948. Desde então, teve seu uso largamente implementado em procedimentos cirúrgicos como anestesia epidural ou local, para tratamento da dor pós-operatória ou neuropática via intravenosa (MAO; CHEN, 2000; SOTO; NARANJO GONZÁLEZ; CALERO, 2018). Recentemente, estudos têm apontado para benefícios pós-operatórios mediante o uso de lidocaína, como diminuição da necessidade de opióides (DE OLIVEIRA et al., 2012), menores episódios de hipotensão, náusea, vômitos, prurido e retenção urinária (TERKAWI et al., 2016). Além de seus benefícios clínicos, a lidocaína possui as vantagens de ser segura, tendo raros casos de toxicidade, além de demonstrar sólida eficácia e efetividade em cirurgias abdominais e em diferentes protocolos de *Fast Track Surgery* (SOTO; NARANJO GONZÁLEZ; CALERO, 2018).

Os usos perioperatórios dos anestésicos locais levaram a observações quanto às taxas de recorrência em casos de câncer, demonstrando serem menores quando comparado a outros anestésicos (CHEN; MIAO, 2013; CHRISTOPHERSON et al., 2008; FANG et al., 2015; GOTTSCHALK et al., 2010; GU et al., 2016; KIM, 2018; SNYDER; GREENBERG, 2010).

Muitos estudos têm indicado a atividade citotóxica da lidocaína frente a diversos cânceres em diversos modelos experimentais. Por exemplo, a lidocaína mostrou-se citotóxica às células mioblásticas (C2C12), apresentando IC₅₀ à concentração de 3,37 mM (MAURICE et al., 2010). À concentração de 0,1mM sob culturas de células de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB-231), a lidocaína não foi capaz de diminuir a viabilidade celular por si só, porém, quando associada à cisplatina em doses terapêuticas (0,2uM) houve significativo efeito sinérgico, ampliando o efeito citotóxico deste conhecido agente quimioterápico (LI; YANG; HAN, 2014). Em culturas de células de câncer de mama (MDA-MB-231), câncer de próstata (PC-3) e câncer de ovário (ES-2), a lidocaína apresentou um significativo decréscimo da viabilidade celular de forma dose-dependente, porém, doses menores que 1mM não apresentaram citotoxicidade relevante (JIANG et al., 2016). Células de melanoma (A375 e Hs294T) apresentaram redução significativa de viabilidade a partir de concentrações de 0,75% de lidocaína, ou 32mM, resultados

comparáveis ao melfalano 0,5%, um conhecido quimioterápico comercializado sob o nome de Alkeran® (KANG; ZHAO; WANG, 2016). Em células de adenocarcinoma A549, a lidocaína foi capaz de reduzir a viabilidade celular em doses de 2 e 8mM (ZHANG et al., 2017). Células de carcinoma hepatocelular (HuH7 e HepaRG) foram avaliadas sob lidocaína nas concentrações de 1uM a 10mM, onde se constatou uma redução da proliferação nas concentrações de 0,1 a 5mM, de forma dose dependente. Em um ensaio com redução de dose, com início a 1mM no primeiro dia, 0,1mM no segundo e 0,01 no terceiro, a lidocaína foi capaz de reduzir a viabilidade da linhagem HuH17 a 50% na 72ª hora (LE GAC et al., 2017).

Ainda em carcinoma hepatocelular, porém em células HepG2 e fibroblastos hepáticos normais (LX2), foi observado que concentrações de 0,5-3uM resultaram em significativa redução na proliferação de ambas as culturas. Em comparações intragrupais, em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas, a lidocaína desempenhou atividade anti-proliferativa significativa apenas na concentração de 3uM, indicando ação dose e tempo dependentes (JURJ et al., 2017).

A Lidocaína também apresentou efeito sinérgico com a cisplatina, onde a combinação de 10uM de cisplatina + 5mM de lidocaína apresentou um efeito anti-proliferativo maior quando comparado a estes agentes separadamente. Esta combinação foi testada *in vivo* em camundongos enxertados com células HepG2 subcutânea em um total de 4 grupos de 8 camundongos cada, sendo um controle e três experimentais (aplicações intraperitoneais de: Lidocaína 30mg/kg, 2x na semana; Cisplatina 3mg/kg, uma vez por semana; Combinação de lidocaína e cisplatina). Os braços com lidocaína e cisplatina apresentaram redução do tamanho tumoral de forma similar, sem diferença significativa entre grupos. A combinação destes agentes, entretanto, acarretou em drástica supressão da tumorigênese, condizendo com os resultados observados *in vitro*. É importante ressaltar que nenhum dos braços do estudo apresentou efeitos adversos na saúde geral dos camundongos, tendo como base seu peso corporal (XING et al., 2017).

Em células de câncer de bexiga BIU-87, a lidocaína reduziu a proliferação celular em concentrações de 1,25-5mg/mL, ou 5,3-21,3M, de forma dose dependente e apresentou efeito sinérgico com os quimioterápicos MMC (mitomicina C), Pirarubicina e SFN (Su Fu'ning lotion - um extrato vegetal utilizado na medicina

chinesa), ampliando o efeito desses agentes isolados (YANG et al., 2018). Em 3 diferentes linhagens de câncer de mama (MCF-7, MDA-MB-231 e SKBr3), a lidocaína apresentou efeitos anti-proliferativos a partir de concentrações de 0,5mM, com efeitos crescentes até 10mM (CHAMARAUX-TRAN et al., 2018).

Há, portanto, vasta evidência disponível na literatura quanto ao potencial citotóxico da lidocaína frente a diferentes populações de células cancerosas. Entretanto, algumas questões ainda estão em aberto.

Este trabalho objetivou avaliar a viabilidade das células tumorais sob 4 diferentes regimes terapêuticos, sendo: período de iniciação da carcinogênese com administração de lidocaína via intrarretal (ML1-IR), iniciação com lidocaína via intraperitoneal (ML1-IP), pós-iniciação com lidocaína intrarretal (ML2,5-IR) e pós-iniciação com lidocaína intraperitoneal (ML2,5-IP). O interesse da pesquisa foi identificar quais os efeitos que a lidocaína teria em diferentes períodos da carcinogênese, bem como qual seria o efeito deste fármaco em diferentes biodisponibilidades.

O modelo de iniciação, promoção e progressão do câncer é bastante aceito pela comunidade científica, tendo seu início provável nas propostas teóricas de Spandidos em 1986 (SPANDIDOS, 1986). A iniciação é caracterizada pela mutação ou mutações provenientes do contato de células sadias com carcinógenos. Tais mutações ocorrem em oncongenes que, por si só, não são capazes de viabilizar malignidade. A promoção ocorre com a apresentação de promotores não mutagênicos, como inflamação ou estresse, ocasionando no crescimento de tumores benignos. A malignidade é alcançada durante a progressão tumoral, que implica em uma série de mutações genéticas resultantes de alterações ambientais e metabólicas das células tumorais (HENNINGS et al., 1993).

Neste trabalho, porém, optamos por adotar uma designação específica: “pós-iniciação”. Consideramos como período de iniciação a primeira semana subsequente à aplicação do carcinógeno e, como pós-iniciação, as semanas 2 a 5 subsequentes à primeira semana. Esse termo parece-nos mais adequado uma vez que nenhum promotor não mutagênico foi aplicado aos animais durante a condução do

experimento além dos produtos investigacionais e a manipulação e aplicação dos mesmos.

Quanto às vias de administração e suas implicações, foram aplicadas doses diárias durante os períodos estabelecidos em cada grupo (uma, quatro ou cinco semanas) de 0,1 mL de lidocaína à 0,08%, ou 3,4 mM. Esta dose equivale a 4mg/kg por animal. Como exposto neste trabalho, há a hipótese de que a lidocaína atue diretamente sobre as células tumorais, o que geraria melhores resultados com a lidocaína intrarretal que disporia de lidocaína à 3,4 mM. E há a hipótese de que a lidocaína atue de forma sistêmica via modulação dos processos inflamatórios e imunológicos por diminuir as aferências nociceptivas e a ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenais e sistema nervoso simpático, modulando a resposta neuroimunoendócrina. Essa hipótese seria reforçada pelo uso de lidocaína via intraperitoneal, que aumentaria seus níveis séricos. Estudos indicam que as concentrações séricas plasmáticas de 2mg aplicados via IP em camundongos atinge concentrações de 5,8 ug/mL (0,025 mM) a 15 min após aplicação e < 1,5 ug/mL (0,006 mM) depois de 30 min.

Foram avaliados os níveis de imunomarcção de PCNA nas criptas normais, uma vez que estudos demonstraram que a superexpressão de PCNA está correlacionada com o desenvolvimento de criptas displásicas (QASIM; ALI; HUSSEIN, 2012). Outros estudos demonstraram que a expressão positiva de PCNA é significativamente aumentada durante a transformação do adenoma colorretal para o carcinoma (YUE et al., 2003), sendo que uma recente metanálise concluiu que altos níveis de PCNA estão relacionados a piores prognóstico, sendo sugerido como biomarcador para pacientes com CCR (ZHOU et al., 2018).

Nossos resultados indicam que a lidocaína possui atividade limitada sobre a taxa proliferativa celular em condições normais, não apresentando diferenças significativas entre o grupo L5-IR e o grupo controle. A lidocaína, entretanto, foi capaz de reduzir de forma significativa a imunomarcção de PCNA em todos os grupos que receberam carcinógeno e lidocaína, sendo particularmente mais proeminente durante a fase de iniciação no grupo intrarretal (Pós-teste de Tukey, “ML-1-IR” x “ML-2,5-IR” – $p < 0,01$).

Akt é uma proteína quinase ativada por fosforilação nas terminações treonina 308 e serina 473 em resposta a fatores de crescimento e ou citocinas (ASSELIN; MILLS; TSANG, 2001). Sua ativação está estritamente relacionada com o crescimento e resistência à apoptose do carcinoma colorretal em humanos (DANIELSEN et al., 2015b; ITOH et al., 2002; JOHNSON et al., 2010). Os mecanismos pelos quais os anestésicos locais amídicos influenciam na atividade desta molécula, entretanto, ainda são obscuros. Dois estudos recentes indicam que a lidocaína possa agir através da modulação da proteína Src, uma tirosina quinase intermediária na via de ativação do TNF- α (PIEGELER et al., 2015) ou pela via clássica PI3K/Akt/mTOR (ZHENG; PENG; YU, 2018).

Em nossos experimentos, a imunomarcagem de Akt foi observada de forma quantificável apenas no espaço pericriptal. Todos os grupos apresentaram reduções significativas de Akt quando comparadas com o grupo M (Pós-teste de Tukey - $p < 0,001$). Esses achados reforçam o potencial quimioprotetivo da lidocaína frente à carcinogênese do CCR, porém não nos deram luz quanto ao melhor momento desta intervenção, tampouco sobre a melhor via de administração. As comparações entre os grupos IR e IP não demonstraram diferenças significativas. O mesmo ocorreu quando comparados os grupos iniciação e pós-iniciação (i.e., lidocaína administrada na primeira semana vs. segunda a quinta semana).

Além de atuar na viabilidade celular, sendo um agente anti-proliferativo, a Lidocaína também desempenhou papéis sobre a apoptose. Em uma concentração de 0,1mM, esse anestésico em conjunto com cisplatina foi capaz de aumentar o número de células apoptóticas e expressão de caspase-3 em células de câncer de mama (MCF-7), quando comparado à cisplatina isolada (LI; YANG; HAN, 2014). Ainda, células de adenocarcinoma A549, quando tratadas com lidocaína a 2-8mM, apresentaram um aumento da taxa de apoptose (ZHANG et al., 2017). Em células de carcinoma hepatocelular (HuH17 e HepaRG), a lidocaína foi capaz de aumentar a atividade da caspase 3 em até 393% sob concentração de 0,1mM, além de aumentar a expressão de proteínas conhecidas relacionadas à regulação da apoptose, como APC e Harakiri (LE GAC et al., 2017).

O mesmo efeito foi identificado em células HepG2 de carcinoma hepatocelular, onde doses de 5mM de lidocaína durante 24 horas foram capazes de

aumentar a taxa de apoptose e de atividade da caspase 3, com diminuição de Bcl-2, inibidor de apoptose, e aumento de Bax, indutor de apoptose. Os marcadores ERK1/2, p38 MAPK e JNK foram avaliados na carcinogênese de células de carcinoma hepatocelular (HepG2), sob a dose de 1 e 5mM, onde constatou-se aumento significativo de fosforilação de ERK1/2 e p38 de forma dose dependente sem, contudo, alterar os níveis de JNK ativo. O uso simultâneo de lidocaína com bloqueadores específicos de ERK e p38 anularam os efeitos da lidocaína, sugerindo que a indução da apoptose pela lidocaína ocorra através da via intrínseca, com subsequente ativação de caspase 3 por hiperexpressão de Bax (XING et al., 2017).

Em nossos experimentos, analisamos a imunomarcação de caspase-3 e survivina. Ambas as moléculas foram quantificadas nos espaços pericriptais, sendo que caspase-3 também foi avaliada nas criptas displásicas. Em relação à survivina, um inibidor apoptótico, os resultados demonstraram uma significativa diminuição de sua imunomarcação em todos os grupos tratados com lidocaína quando comparados ao grupo M. As avaliações quanto à via de administração não resultaram em diferenças significativas, porém, a administração de lidocaína no início da carcinogênese parece ser benéfica para a diminuição da imunomarcação de survivina, uma vez que os grupos ML1-IP e ML1-IR apresentaram menor imunomarcação quando comparados aos grupos ML2,5-IP e ML2,5-IR, respectivamente ($p < 0,001$).

Os resultados em imunomarcação da caspase, ao contrário da survivina, não são tão claros e provavelmente indicam a presença outros fatores moduladores de sua expressão. Nos EPCs, a caspase-3 foi mais expressa nos grupos ML2,5-IR e ML2,5-IP, quando comparados aos grupos ML1-IR e ML1-IP ($p < 0,001$). Ademais, as terapias de lidocaína realizadas na primeira semana, ou seja, grupos ML1-IP e ML1-IR, apresentaram níveis de imunomarcação de caspase-3 inferiores ao grupo M. Duas hipóteses parecem ser razoáveis quanto a esta questão: [1] a lidocaína exerceu função protetiva nestas células, inibindo processos apoptóticos, ou [2] a lidocaína administrada na primeira semana implicou na desaceleração, diminuição ou interrupção precoce do processo carcinogênico em grande porção da mucosa colônica, a qual apresentava menores índices apoptóticos na semana 6. Ao avaliarmos os níveis de criptas displásicas de nossas análises topográficas em

lâminas coradas com HE, nos parece mais provável que a hipótese 2 seja válida, uma vez que os animais tratados com lidocaína na primeira semana após aplicação de MNNG possuíam níveis de criptas displásicas semelhantes aos grupos tratados com lidocaína por 4 semanas (semanas 2-5).

Os níveis de caspase-3 expressos nas criptas displásicas foram menores nos grupos ML1-IR, ML1-IP e ML2,5-IP, quando comparados ao grupo M ($p < 0,001$). Além disso, o grupo ML2,5-IR apresentou maiores índices de caspase-3 quando comparados com o grupo ML2,5-IP no modelo pós-iniciação ($p < 0,001$), indicando uma possível maior atividade da lidocaína quando aplicada diretamente sobre as células da mucosa colônica. Uma diminuição significativa ocorreu nesta mesma via de administração, quando realizadas em tempos e por períodos distintos. O grupo ML1-IR apresentou menores índices de imunomarcagem de caspase 3 quando comparados ao grupo ML2,5-IR ($p < 0,01$). Vale ressaltar que o grupo ML2,5-IR apresentou índices bastante altos em relação aos demais grupos. Especialmente na comparação entre ML2,5-IR e ML2,5-IP, que tiveram valores próximos em todos os outros parâmetros analisados.

De forma geral, a lidocaína aplicada na primeira semana demonstrou melhores resultados quando comparada com o regime terapêutico na pós-iniciação (semanas 2-5). As vias de administração não demonstraram diferenças significativas. Entretanto, embora os marcadores PCNA, Akt e Survivina indiquem ação quimioprotetiva da lidocaína perante carcinogênese estimulada por MNNG em modelo animal, os dados obtidos na imunomarcagem de Caspase 3 podem induzir a dúvidas quanto a ação pró-apoptótica da lidocaína, uma vez que muitos grupos apresentaram níveis de inferiores de Caspase-3 aos encontrados no grupo M.

A análise do número de criptas displásicas e iAP, no entanto, encerram esta dúvida em relação ao resultado prático da lidocaína. O iAP indicou que os grupos tratados com lidocaína nas semanas 2 a 5 após estimulação com MNNG apresentaram maiores índices apoptóticos quando comparados ao grupo M, tanto nas criptas displásicas quanto nas criptas normais. Já os grupos tratados com lidocaína na semana 1 após a indução com MNNG apresentaram iAPs similares ao grupo M, não possuindo diferenças significativas. Entretanto, esses mesmos grupos (ML1-IR e ML1-IP) apresentaram índices de criptas displásicas similares aos grupos

ML2,5-IR e ML2,5-IP, todos muito inferiores ao índice de criptas displásicas do grupo M, indicando que a lidocaína logo após a administração do agente mutagênico pode reduzir, desacelerar ou inibir o processo carcinogênico de forma semelhante à administração de lidocaína nas semanas 2 a 5. Ainda, devido à alta atividade apoptótica apresentadas nos grupos ML2,5-IR e ML2,5-IP, pode-se deduzir que o processo carcinogênico estava mais ativo nesses grupos, levando à hipótese de que, dado mais tempo para seu desenvolvimento, poderiam apresentar mais criptas displásicas que o grupo que recebeu a lidocaína na primeira semana, o que evidenciaria grande vantagem para regimes terapêuticos mais precoces em relação ao início do processo carcinogênico.

Curiosamente, em células de câncer de cólon SW480, a lidocaína apresentou uma significativa diminuição da apoptose e um aumento de células viáveis em um intervalo de 3-24h, nas doses de 100-1000uM (BUNDSCHERER et al., 2015). O mesmo achado foi observado em outro estudo desses pesquisadores em 2017, no qual a lidocaína mostrou-se protetiva à mesma população SW480 em concentrações de 10-100uM (BUNDSCHERER et al., 2017). Tais discrepâncias dos resultados encontrados por Bundscherer com os demais citados e com os obtidos neste trabalho indicam as limitações dos modelos experimentais apoiando a necessidade de maiores investigações quanto aos reais mecanismos de ação da lidocaína durante o processo de carcinogênese, e não apenas frente às células já desdiferenciadas em modelos *in vitro*. Durante a revisão literária, não foi encontrado estudo prévio *in vivo* com CCR e lidocaína na literatura, mas foram encontrados três estudos xenográficos para câncer de mama, bexiga e carcinoma hepatocelular, nos quais todos apresentaram diminuição do volume e tamanho tumoral (CHAMARAUX-TRAN et al., 2018; XING et al., 2017; YANG et al., 2018).

Em relação às vias de administração, apenas um parâmetro demonstrou diferenças significativa: a imunomarcagem de caspase-3 foi maior no grupo ML2,5-IR quando comparado ao ML2,5-IP. Como foi discorrido acima, os níveis de caspase-3 devem ser melhor investigados, o que fragiliza tal informação. Ademais, não houve diferenças significativas nas análises morfofuncionais de criptas displásicas ou no iAP, indicando que de fato não há diferenças na administração por via intrarretal ou intraperitoneal. Tais resultados indicam que a principal via de ação da lidocaína em

relação à carcinogênese seja pela via sistêmica, com provável absorção intestinal nos animais tratados com lidocaína IR. De toda forma, é importante considerar os impactos que a lidocaína IR pode ter na microbiota e no sistema imune da mucosa intestinal. Em relação à microbiota, foi demonstrado que a transferência de microbiota de pacientes com CCR em modelos animais induzidos por azoximetano resultou em formação de pólipos, displasia e proliferação significativamente maiores que nos animais controles, com microbiota de pessoas saudáveis (WONG et al., 2017).

Ainda, estudos recentes têm demonstrando que a exposição a antibióticos nos estágios iniciais da vida levam a um maior risco para adenoma coloretal aos 60 anos, sugerindo que a microbiota disbiótica é adquirida e sustentada por longos períodos de tempo, impactando na fisiopatologia de neoplasias (TILG et al., 2018). Quanto ao sistema imune da mucosa intestinal, um estudo indicou que a lidocaína cause alterações nas funções imunes dos GALTs (*Guts Associated Lymphoid Tissues*), sendo capaz de suprimir a atividade de células T das placas de Peyer e induzir à translocação bacteriana (KAWASAKI et al., 2011), e concentrações elevadas de lidocaína no lúmen intestinal poderia amplificar tal supressão.

Há que se pontuar que os experimentos realizados neste estudo não consideraram, ou não objetivaram considerar, as implicações da dor e estresse pós-cirúrgico, tão relacionado ao uso prático da lidocaína na clínica médica. Os experimentos não aplicaram medidas estressoras nos animais após a aplicação do MNNG, e outros modelos experimentais como simulação cirúrgica possam melhor avaliar estes aspectos da lidocaína. Tais estímulos nociceptivos, como uma laparotomia, ativam o sistema simpático e eixo HPA, induzindo a alterações neuroimunológicas. As evidências na literatura quanto à ação da lidocaína nestes processos serão apresentadas abaixo.

A lidocaína tem demonstrado grande potencial para novas aplicações e, ainda que não presentes no escopo experimental deste projeto, vale ressaltar que ela tem sido investigada em outras frentes, propondo variados mecanismos de ação para sua atividade antineoplásica. A seguir, expomos uma breve revisão literária desses diversos campos investigativos.

6.1 Possíveis mecanismos de ação da lidocaína

6.1.1 HIF – Fator Induzido por Hipóxia

Em condições de hipóxia, genes de regulação da homeostase são ativados, como o HIF (*Hypoxia-Inducible Factor*). Esse gene, uma vez ativado, atua como mecanismo adaptativo à falta de O₂, induzindo processos extracelulares, como a angiogênese, e intracelulares, como adequação do metabolismo energético e consumo de O₂. O microambiente no qual o câncer se desenvolve apresenta hipóxia extrema, indicando grande importância da expressão de HIF para a progressão tumoral (ARANY et al., 2008).

Um estudo em células de carcinoma renal (RCC4) e células nervosas (SH-SY5Y), indicou que a ação citotóxica da lidocaína, à concentração de 4mM, é dependente da inibição de HIF-1 α . A inibição de HIF-1 α diminui a atividade da PDK-1, aumentando o consumo de O₂ e Acetil-CoA pela fosforilação oxidativa, aumentando a produção de ROS. PDK-1, ou *pyruvate dehydrogenase kinases*, é uma enzima envolvida na diminuição do consumo de piruvato pelo ciclo de Krebs nas mitocôndrias. Assim, por inibir HIF-1 α , lidocaína inibe a adequação metabólica das células, mantendo o consumo de O₂ e produção de ROS, levando a morte celular (OKAMOTO et al., 2017).

6.1.2 Migração e Invasão

Um estudo reportou uma diminuição da capacidade de invasão de células de fibrossarcoma (HT1080) quando expostas a lidocaína sob concentrações de 01-20mM, inferiores às comumente utilizadas em aplicações locais por infiltração (40mM, ou 1%), sendo que em 1mM houve redução de 50% e em 20mM, 100%. Neste mesmo estudo, células de osteossarcoma (LM8) também se mostraram sensíveis à lidocaína, nas doses de 1-10mM (MAMMOTO et al., 2002).

Em culturas de células de câncer de mama (MDA-MB-231), câncer de próstata (PC-3) e câncer de ovário (ES-2), a lidocaína apresentou um efeito significativo na redução de migração pelo teste de *Wound Assay* em doses de 100uM a 1mM (JIANG et al., 2016). Em outro estudo, células de linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231, MCF-7, Sk-Br3), além de células mamárias não

tumorigênicas MCF-10, foram submetidas a tratamento com lidocaína a 0,1mM por 24h, onde as células de MCF-7 não apresentaram nenhum potencial migratório e houve significativa redução na migração das culturas de MDA-MB-231 e Sk-Br3. Células normais MCF-10 não foram afetadas (CHAMARAUX-TRAN et al., 2018).

6.1.3 Epigenética

O estudo do câncer tem demonstrado que a tumorigênese ocorre não somente por anormalidades genéticas, mas também por alterações epigenéticas, seja por metilação ou demetilação de regiões promotoras assim como alterações nos padrões das histonas (TILMAN et al., 2012).

O silenciamento de genes supressores de via metilação de suas regiões promotoras, um mecanismo epigenético, tem sido associado à carcinogênese e ao desenvolvimento tumoral. Uma estimativa indica que, em média, células cancerosas possuem cerca de 600 regiões ricas em ilhas CpG com alterações nos padrões de metilação, quando comparadas às células normais (LEWANDOWSKA; BARTOSZEK, 2011).

A Lidocaína apresentou uma significativa diminuição de metilação das ilhas CpG à concentração de 0,1mM em células de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB-231). Tal efeito foi avaliado em outras concentrações, apresentando padrão dose-dependente (LI; YANG; HAN, 2014).

6.1.4 Canais iônicos

O bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependentes (*Voltage Gated Sodium Channel* – VGSC) pelos anestésicos locais amídicos é o mecanismo farmacológico envolvido com a analgesia, uma vez que impede a condução nervosa aferente dos estímulos dolorosos. Estes canais estão hiperexpressos em uma série de neoplasias, como mama, cólon e próstata, com associação, inclusive, com processo metastático (BUNDSCHERER et al., 2015).

O Cálcio é um cátion conhecidamente envolvido na migração celular por atuar como um segundo mensageiro intracelular, sendo que sua atuação tem sido relacionada à migração celular de células cancerosas. Os canais de cálcio, dessa

forma, são responsáveis pelas alterações das sinalizações intracelulares decorrentes das concentrações deste íon, sendo conhecidos os canais *Store-Operated Calcium* (SOC), *Calcium Release-Activated Calcium Channel Protein 1* (ORAI1) e numerosos *Transient Receptor Potential* (TRPs) (JIANG et al., 2016).

Em um estudo com culturas de células cancerosas portadoras de TRPV6 (MDA-MB-231, PC-3 e ES-2), o tratamento com lidocaína à 100uM foi capaz de reduzir as concentrações de cálcio intracelular nas três linhagens. Nesta mesma dosagem, a lidocaína foi capaz de reduzir a expressão de TRPV6 nas três linhagens de forma significativa ($81.54 \pm 5.47\%$ ($P < 0.01$), $56.63 \pm 5.65\%$ ($P = 0.002$) e $78.82 \pm 5.75\%$ ($P < 0.01$), respectivamente), mediante redução de mRNA e dos níveis da proteína, indicando um dos mecanismos de modulação da carcinogênese pela lidocaína (JIANG et al., 2016).

Outro canal TRP, o *melastatin-like* TRPM7, controla o influxo de Cálcio e Magnésio. Uma alta expressão destes canais foi relacionada com uma série de cânceres, como cabeça e pescoço, mama, ovário, próstata e pâncreas. A Lidocaína apresentou um bloqueio reversível e dose-dependente das correntes de TRPM7 e consequente diminuição da proliferação em células de glioma de ratos (C6) e em glioblastoma humano (A172) em doses de 1mM a 3mM, sendo que as células humanas foram sensíveis a partir de 0,3mM (LENG et al., 2017).

6.1.5 Modulação da imunidade

A imunidade é fator chave para o combate às células tumorais, tendo como arsenal primário a resposta Th1 celular e por imunidade inata, mediada por células NK. Em seus estudos, Wang e colaboradores identificaram que a lidocaína preservou a proliferação e atenuou a apoptose de linfócitos circulantes no sangue periférico, importantes para as respostas imunológicas, além de preservar os níveis de IFN- γ e IL-4, importantes para a manutenção da resposta Th1. A lidocaína ainda diminuiu os níveis de HMGB1 (*High Mobility Group Protein 1*), importante mediador para complicações pós-cirúrgicas como sepse e metástase (WANG et al., 2015). A lidocaína também exerce efeitos diretamente na atividade das células NK, aumentando sua atividade in vitro através de liberação de grânulos líticos em

concentrações nanomolares (0,01-50uM) (RAMIREZ; TRAN; CATA, 2015). Lidocaína também mostrou-se eficaz no bloqueio da sinalização inflamatória mediada por TNF- α , diminuindo a via Akt, óxido nítrico endotelial sintetase e fosforilação de Src, reduzindo a adesão neutrofílica e hiperpermeabilidade endotelial, relacionados ao processo de extravasamento e metástase (PIEGELER et al., 2014), e reduzem a secreção de MMP-9, também por reduzir a resposta Src-dependente (PIEGELER et al., 2015). Em contrapartida, um estudo identificou padrão modulador da lidocaína na diferenciação das células T helper, com possível inibição da diferenciação para Th1 por meio da inibição de expressão de citocinas IL-6, IL-12 e TNF- α , e aumento da expressão de IL-10 pelas células dendríticas (JEON et al., 2015), o que reforça a necessidade de futuras investigações nesta área.

Entretanto, ressalvas devem ser feitas quanto ao uso de lidocaína e anestésicos locais em quadros inflamatórios sépticos. Lidocaína apresentou diminuição da atividade de PMNs e, embora estudos tenham indicado que a redução não afete o controle de crescimento bacteriano (PECK; JOHNSTON; HORWITZ, 1985), modelos animais demonstraram que a lidocaína implicou em maior mortalidade de ratos inoculados com *S.aureus* (MACGREGOR; THORNER; WRIGHT, 1980).

Anestésicos locais ainda estão relacionados à inibição de citocinas pró-inflamatórias como leucotrienos B₄, interleucina-1 α e histamina. Sobre esta questão, uma metanálise avaliando 39 artigos, dos quais 4 estudos em humanos, averiguou que apenas um estudo de categoria C (não randomizado, sem análises cegas e pobre controle de variáveis) não identificou anestésicos locais como supressores da inflamação e redutores de lesão tecidual (CARACAS et al., 2009). Em humanos, o resultado de uma metanálise abordando 21 estudos aponta para a relação entre o uso de anestesia neuroaxial e melhora na sobrevida global especialmente em cirurgias de câncer de cólon, reforçando a hipótese de diminuição da imunossupressão causada pela cirurgia via controle central da dor (WENG et al., 2016).

6.1.6 Proteína relacionada ao Golgi

Estudos recentes têm demonstrado relação entre genes relacionados ao complexo de Golgi e a tumorigênese. Proteínas relacionadas ao Golgi, *Golgi Phosphoprotein 2* e 3 (GOLPH2 e GOLPH3), têm sido relacionadas a doenças como câncer de próstata, renal, retal, pulmão, sendo nesse indicativo de mau prognóstico em câncer de não pequenas células. GOLT1A, um transportador desta organela, está relacionado com sensibilidade de câncer de mama a tamoxifeno e foi relacionado à piores prognósticos. Lidocaína reduziu significativamente a proliferação em células A549 e H1299 de adenocarcinoma de pulmão em doses de 2 e 8mM, por meio de aumento de Cdkn1a e Cdkn1b, e diminuição de ciclina E1 e D1. Tais eventos foram observados também com o silenciamento de GOLT1A via siRNA. Quando as populações tratadas com cDNA de GOLT1A, ocasionando em hiperexpressão deste gene, a subsequente exposição a lidocaína não apresentou seus efeitos anti-proliferativos, indicando que GOLT1A esteja envolvido no mecanismo de ação deste anestésico local (ZHANG et al., 2017).

7 Conclusão

Este trabalho contribuiu de forma inédita às investigações com lidocaína, sugerindo que ela pode ser melhor efetiva *in vivo* nos momentos iniciais aos estímulos mutagênicos. Tais resultados poderão sustentar novas hipóteses terapêuticas, como a aplicação da lidocaína em regime de prevenção de metástases ou durante os estágios iniciais de desenvolvimento de adenomas, por exemplo.

Quanto à via de administração IR ou IP, nossos resultados indicaram possuir a mesma eficácia ao analisarmos o número de criptas displásicas. Ou seja, as altas concentrações locais propiciadas pela aplicação via intrarretal não obtiveram melhores resultados que a aplicação via intraperitoneal. Tal fato nos leva a crer que a ação antineoplásica da lidocaína seja efetuada pela sua biodisponibilidade sistêmica, tendo sua ação citotóxica local pouca ou nenhuma relevância clínica.

A lidocaína possui potenciais que vão além de sua ação anestésica e tais esclarecimentos possibilitarão melhores escolhas de anestésicos nos períodos perioperatórios e, possivelmente, novas reflexões quanto às terapias oncológicas atuais.

8 Referências

ALTIERI, D. C. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. **Oncogene**, [s. l.], v. 22, n. 53, p. 8581–8589, 2003. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/1207113>>. Acesso em: 14 jul. 2019.

ALTOMARE, D. A.; TESTA, J. R. Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. **Oncogene** 2005 **24**:50, [s. l.], v. 24, n. 50, p. 7455, 2005. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/1209085>>. Acesso em: 14 jul. 2019.

AMBROSINI, G.; ADIDA, C.; ALTIERI, D. C. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 3, n. 8, p. 917–921, 1997. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nm0897-917>>. Acesso em: 14 jul. 2019.

AOKI, M.; OKUDAIRA, K.; HAGA, M.; NISHIGAKI, R.; HAYASHI, M. Contribution of Rat Pulmonary Metabolism to the Elimination of Lidocaine, Midazolam, and Nifedipine. **Drug Metabolism and Disposition**, [s. l.], v. 38, n. 7, p. 1183–1188, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20371639>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

ARAN, V.; PAULA VICTORINO, A.; CLAUDIO THULER, L.; GIL FERREIRA, C.; VICTORINO, A. P.; THULER, L. C.; FERREIRA, C. G. Colorectal Cancer: Epidemiology, Disease Mechanisms and Interventions to Reduce Onset and Mortality. **Clinical Colorectal Cancer**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 195–203, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.clcc.2016.02.008>>. Acesso em: 25 out. 2018.

ARANY, Z.; FOO, S. Y.; MA, Y.; RUAS, J. L.; BOMMI-REDDY, A.; GIRNUN, G.; COOPER, M.; LAZNIK, D.; CHINSOMBOON, J.; RANGWALA, S. M.; BAEK, K. H.; ROSENZWEIG, A.; SPIEGELMAN, B. M. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 α . **Nature**, [s. l.], v. 451, n. 7181, p. 1008–1012, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2140184/pdf/yjbm_80_2_51.pdf>. Acesso em: 8 out. 2018.

ARNOLD, M.; SIERRA, M. S.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. **Gut**, [s. l.], v. 66, n. 4, p. 683–691, 2017. Disponível em: <<http://gut.bmj.com/>>. Acesso em: 18 fev. 2019.

ASSELIN, E.; MILLS, G. B.; TSANG, B. K. XIAP regulates Akt activity and caspase-3-dependent cleavage during cisplatin-induced apoptosis in human ovarian epithelial cancer cells. **Cancer Research**, [s. l.], v. 61, n. 5, p. 1862–1868, 2001.

ATHANASIOU, C. D.; ROBINSON, J.; YIASEMIDOU, M.; LOCKWOOD, S.; MARKIDES, G. A. Laparoscopic vs open approach for transverse colon cancer. A systematic review and meta-analysis of short and long term outcomes. **International Journal of Surgery**, [s. l.], v. 41, p. 78–85, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1743919117302704>>. Acesso em: 2 fev. 2019.

BACH, F. W.; JENSEN, T. S.; KASTRUP, J.; STIGSBY, B.; DEJGÅRD, A. The effect of intravenous lidocaine on nociceptive processing in diabetic neuropathy. **Pain**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 29–34, 1990. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2339012>>. Acesso em: 22 mar. 2019.

BARTLETT, E. E.; HUTASERANI, O. Xylocaine for the Relief of Postoperative Pain. **Anesthesia & Analgesia**, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 296–304, 1961.

BEN-ELIYAHU, S.; PAGE, G. G.; YIRMIYA, R.; SHAKHAR, G. Evidence that stress and surgical interventions promote tumor development by suppressing natural killer cell activity. **International journal of cancer**, [s. l.], v. 80, n. 6, p. 880–8, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10074922>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

BIKI, B.; MASCHA, E.; MORIARTY, D. C.; FITZPATRICK, J. M.; SESSLER, D. I.; BUGGY, D. J. Anesthetic Technique for Radical Prostatectomy Surgery Affects Cancer Recurrence. **Anesthesiology**, [s. l.], v. 109, n. 2, p. 180–187, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18648226>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

BISWAS, S. K.; MANTOVANI, A. Macrophage plasticity and interaction with

lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. **Nature Immunology**, [s. l.], v. 11, n. 10, p. 889–896, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20856220>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

BLENCOWE, N. S.; CHANA, P.; WHISTANCE, R. N.; STEVENS, D.; WONG, N. A. C. S.; FALK, S. J.; BLAZEBY, J. M. Outcome Reporting in Neoadjuvant Surgical Trials: A Systematic Review of the Literature and Proposals for New Standards. **JNCI Journal of the National Cancer Institute**, [s. l.], v. 106, n. 9, p. dju217–dju217, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25106656>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

BOAS, R. A.; COVINO, B. G.; SHAHNARIAN, A. Analgesic responses to i.v. lignocaine. **British journal of anaesthesia**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 501–5, 1982. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7073919>>. Acesso em: 22 mar. 2019.

BOLAND, C. R.; GOEL, A. Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 138, n. 6, p. 2073–2087.e3, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20420947>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

BRÄU, M. E.; NAU, C.; HEMPELMANN, G.; VOGEL, W. Local anesthetics potently block a potential insensitive potassium channel in myelinated nerve. **The Journal of general physiology**, [s. l.], v. 105, n. 4, p. 485–505, 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7608655>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L.; TORRE, L. A.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30207593>>. Acesso em: 25 jan. 2019.

BRENNER, H.; KLOOR, M.; POX, C. P. Colorectal Cancer. **Lancet**, [s. l.], v. 383, n. 9927, p. 1490–1502, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/>>. Acesso em: 25 out. 2018.

BUGGY, D. J.; SMITH, G. Epidural anaesthesia and analgesia: better outcome after major surgery?. Growing evidence suggests so. **BMJ (Clinical research ed.)**, [s. l.],

v. 319, n. 7209, p. 530–1, 1999. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10463878>. Acesso em: 3 mar. 2019.

BUNDSCHERER, A. C.; MALSY, M.; BITZINGER, D. I.; WIESE, C. H. R.; GRUBER, M. A.; GRAF, B. M. Effects of Lidocaine on HT-29 and SW480 Colon Cancer Cells In Vitro. **Anticancer Research**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 1941–1945, 2017. Disponível em: <http://ar.iiarjournals.org/content/37/4/1941.abstract>

BUNDSCHERER, A.; MALSY, M.; GEBHARDT, K.; METTERLEIN, T.; PLANK, C.; WIESE, C. H.; GRUBER, M.; GRAF, B. M. Effects of ropivacaine, bupivacaine and sufentanil in colon and pancreatic cancer cells in vitro. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 95–96, p. 126–131, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2015.03.017>

BURN, J.; MATHERS, J.; BISHOP, D. T. Genetics, Inheritance and Strategies for Prevention in Populations at High Risk of Colorectal Cancer (CRC). In: **Recent results in cancer research. Fortschritte der Krebsforschung. Progres dans les recherches sur le cancer**. [s.l: s.n.]. v. 191p. 157–183.

CARACAS, H. C. P. M.; MACIEL, J. V. B.; MARTINS, P. M. R. e S.; DE SOUZA, M. M. G.; MAIA, L. C. The use of lidocaine as an anti-inflammatory substance: A systematic review. **Journal of Dentistry**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 93–97, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300571208002820?via%3Dihub> >. Acesso em: 2 abr. 2019.

CENTER, M. M.; JEMAL, A.; WARD, E. International Trends in Colorectal Cancer Incidence Rates. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, [s. l.], v. 18, n. 6, p. 1688–1694, 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19505900>. Acesso em: 4 mar. 2019.

CHAMARAUX-TRAN, T.-N.; MATHELIN, C.; APRAHAMIAN, M.; JOSHI, G. P.; TOMASETTO, C.; DIEMUNSCH, P.; AKLADIOS, C. Antitumor Effects of Lidocaine on Human Breast Cancer Cells: An In Vitro and In Vivo Experimental Trial. **Anticancer Research**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 95–105, 2018. Disponível em: <http://ar.iiarjournals.org/content/38/1/95.abstract>

CHEN, W. K.; MIAO, C. H. The Effect of Anesthetic Technique on Survival in Human Cancers: A Meta-Analysis of Retrospective and Prospective Studies. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 56540, 2013. Disponível em: <www.plosone.org>. Acesso em: 7 jul. 2018.

CHRISTOPHERSON, R.; JAMES, K. E.; TABLEMAN, M.; MARSHALL, P.; JOHNSON, F. E. Long-Term Survival After Colon Cancer Surgery: A Variation Associated with Choice of Anesthesia. **Anesthesia & Analgesia**, [s. l.], v. 107, n. 1, p. 325–332, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18635504>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

CLARKE, S. L.; BETTS, G. J.; PLANT, A.; WRIGHT, K. L.; EL-SHANAWANY, T. M.; HARROP, R.; TORKINGTON, J.; REES, B. I.; WILLIAMS, G. T.; GALLIMORE, A. M.; GODKIN, A. J. CD4+CD25+FOXP3+regulatory T cells suppress anti-tumor immune responses in patients with colorectal cancer. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 1, n. 1, 2006. Disponível em: <www.plosone.org>. Acesso em: 2 fev. 2019.

COCA, S.; PEREZ-PIQUERAS, J.; MARTINEZ, D.; COLMENAREJO, A.; SAEZ, M. A.; VALLEJO, C.; MARTOS, J. A.; MORENO, M. The prognostic significance of intratumoral natural killer cells in patients with colorectal carcinoma. **Cancer**, [s. l.], v. 79, n. 12, p. 2320–8, 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9191519>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

COFFEY, J. C.; WANG, J. H.; SMITH, M. J. F.; BOUCHIER-HAYES, D.; COTTER, T. G.; REDMOND, H. P. Excisional surgery for cancer cure: therapy at a cost. **The Lancet. Oncology**, [s. l.], v. 4, n. 12, p. 760–8, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14662433>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

CUMMINGS, K. C.; XU, F.; CUMMINGS, L. C.; COOPER, G. S. A Comparison of Epidural Analgesia and Traditional Pain Management Effects on Survival and Cancer Recurrence after Colectomy. **Anesthesiology**, [s. l.], v. 116, n. 4, p. 797–806, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22273991>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

DANG, Y.; SHI, X.; XU, W.; ZUO, M. The effect of anesthesia on the immune system in colorectal cancer patients. **Canadian Journal of Gastroenterology and**

Hepatology, [s. l.], v. 2018, 2018.

DANIELSEN, S. A.; EIDE, P. W.; NESBAKKEN, A.; GUREN, T.; LEITHE, E.; LOTHE, R. A. Portrait of the PI3K/AKT pathway in colorectal cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, [s. l.], v. 1855, n. 1, p. 104–121, 2015. a. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304419X14000961>>.

Acesso em: 14 jul. 2019.

DANIELSEN, S. A.; EIDE, P. W.; NESBAKKEN, A.; GUREN, T.; LEITHE, E.; LOTHE, R. A. Portrait of the PI3K/AKT pathway in colorectal cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, [s. l.], v. 1855, n. 1, p. 104–121, 2015. b. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304419X14000961>>. Acesso

em: 14 jul. 2019.

DE OLIVEIRA, G. S.; FITZGERALD, P.; STREICHER, L. F.; MARCUS, R. J.; MCCARTHY, R. J. Systemic lidocaine to improve postoperative quality of recovery after ambulatory laparoscopic surgery. **Anesthesia and Analgesia**, [s. l.], v. 115, n. 2, p. 262–267, 2012.

DU, C.; YU, M.; VOLKOW, N. D.; KORETSKY, A. P.; FOWLER, J. S.; BENVENISTE, H. Cocaine Increases the Intracellular Calcium Concentration in Brain Independently of Its Cerebrovascular Effects. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 26, n. 45, p. 11522–11531, 2006. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17093073>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

DUNN, G. P.; OLD, L. J.; SCHREIBER, R. D. THE THREE ES OF CANCER IMMUNOEDITING. **Annu. Rev. Immunol**, [s. l.], v. 22, p. 329–60, 2004. Disponível em:

<<https://pdfs.semanticscholar.org/5092/d36b8a05d815e9a5b144859dab2076395ead.pdf>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

ESTEBE, J.-P. Intravenous lidocaine. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 513–521, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521689617300228?via%3Dihub>

>. Acesso em: 9 mar. 2019.

FANG, C.; JIAN, Z. Y.; SHEN, X. F.; WEI, X. M.; YU, G. Z.; ZENG, X. T. Promoter methylation of the retinoic acid receptor beta2 (RAR β 2) is associated with increased risk of breast cancer: A prisma compliant meta-analysis. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 10, 2015.

FEARON, E. R.; VOGELSTEIN, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. **Cell**, [s. l.], v. 61, n. 5, p. 759–67, 1990. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2188735>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; DIKSHIT, R.; ESER, S.; MATHERS, C.; REBELO, M.; PARKIN, D. M.; FORMAN, D.; BRAY, F. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 136, n. 5, p. E359–E386, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25220842>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

FIDLER, I. J. The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 3, n. 6, p. 453–458, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12778135>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

FUKATA, M.; ARDITI, M. The role of pattern recognition receptors in intestinal inflammation. **Mucosal Immunology**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 451–463, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23515136>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

GALON, J.; COSTES, A.; SANCHEZ-CABO, F.; KIRILOVSKY, A.; MLECNIK, B.; LAGORCE-PAGÈS, C.; TOSOLINI, M.; CAMUS, M.; BERGER, A.; WIND, P.; ZINZINDOHOUE, F.; BRUNEVAL, P.; CUGNENC, P.-H.; TRAJANOSKI, Z.; FRIDMAN, W.-H.; PAGÈS, F. Type, Density, and Location of Immune Cells Within Human Colorectal Tumors Predict Clinical Outcome. **Science**, [s. l.], v. 313, n. 5795, p. 1960–1964, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17008531>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

GARUTTI, I.; RANCAN, L.; SIMÓN, C.; CUSATI, G.; SANCHEZ-PEDROSA, G.; MORAGA, F.; OLMEDILLA, L.; LOPEZ-GIL, M. T.; VARA, E. Intravenous lidocaine decreases tumor necrosis factor alpha expression both locally and systemically in

pigs undergoing lung resection surgery. **Anesthesia and analgesia**, [s. l.], v. 119, n. 4, p. 815–28, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25036372>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

GOMES, M. J.; RIBAS-FILHO, J. M.; MALAFAIA, O.; CZECHKO, N. G.; RIBAS, C. A. P. M.; NASSIF, P. A. N.; BITTENCOURT, L. P. M. Avaliação da expressão da caspase-3 no adenocarcinoma colorretal através de um sistema computadorizado de análise de imagem. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 33–37, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-67202008000100007&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 5 ago. 2019.

GOTTSCHALK, A.; FORD, J. G.; REGELIN, C. C.; YOU, J.; MASCHA, E. J.; SESSLER, D. I.; DURIEUX, M. E.; NEMERGUT, E. C. Association between Epidural Analgesia and Cancer Recurrence after Colorectal Cancer Surgery. **Anesthesiology**, [s. l.], v. 113, n. 1, p. 27–34, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20508494>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

GU, Q.; QIN, M.; WANG, B.; YU, Q.; MA, Y.; QIN, S. The influence of anesthetic techniques on long-terms survival of colorectal cancer patients undergoing surgery: a meta-analysis. **Int J Clin Exp Med**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 13291–13297, 2016. Disponível em: <www.ijcem.com/>. Acesso em: 26 out. 2018.

GUPTA, A.; BJÖRNSSON, A.; FREDRIKSSON, M.; HALLBÖÖK, O.; EINTREI, C. Reduction in mortality after epidural anaesthesia and analgesia in patients undergoing rectal but not colonic cancer surgery: a retrospective analysis of data from 655 patients in Central Sweden. **British Journal of Anaesthesia**, [s. l.], v. 107, n. 2, p. 164–170, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21586443>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

GUZIŃSKA-USTYMOWICZ, K.; PRYCYNICZ, A.; KEMONA, A.; CZYZEWSKA, J. Correlation between proliferation markers: PCNA, Ki-67, MCM-2 and antiapoptotic protein Bcl-2 in colorectal cancer. **Anticancer research**, [s. l.], v. 29, n. 8, p. 3049–52, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19661314>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

HAHNENKAMP, K.; DURIEUX, M. E.; HAHNENKAMP, A.; SCHAUERTE, S. K.; HOENEMANN, C. W.; VEGH, V.; THEILMEIER, G.; HOLLMANN, M. W. Local anaesthetics inhibit signalling of human NMDA receptors recombinantly expressed in *Xenopus laevis* oocytes: role of protein kinase C. **British Journal of Anaesthesia**, [s. l.], v. 96, n. 1, p. 77–87, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16299047>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. a. The hallmarks of cancer. **Cell**, [s. l.], v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10647931>>

HEALD, R. J.; RYALL, R. D. Recurrence and survival after total mesorectal excision for rectal cancer. **Lancet (London, England)**, [s. l.], v. 1, n. 8496, p. 1479–82, 1986. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2425199>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

HENNINGS, H.; GLICK, A. B.; GREENHALGH, D. A.; MORGAN, D. L.; STRICKLAND, J. E.; TENNENBAUM, T.; YUSPA, S. H. Critical aspects of initiation, promotion, and progression in multistage epidermal carcinogenesis. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 202, n. 1, p. 1–8, 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8424089>>. Acesso em: 21 jul. 2019.

HERMAN, J. G.; UMAR, A.; POLYAK, K.; GRAFF, J. R.; AHUJA, N.; ISSA, J. P.; MARKOWITZ, S.; WILLSON, J. K.; HAMILTON, S. R.; KINZLER, K. W.; KANE, M. F.; KOLODNER, R. D.; VOGELSTEIN, B.; KUNKEL, T. A.; BAYLIN, S. B. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 95, n. 12, p. 6870–5, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9618505>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

HILLER, J.; BRODNER, G.; GOTTSCHALK, A. Understanding clinical strategies that may impact tumour growth and metastatic spread at the time of cancer surgery. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 427–439, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24267549>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

HOLLMANN, M. W.; DURIEUX, M. E. Local anesthetics and the inflammatory response: a new therapeutic indication? **Anesthesiology**, [s. l.], v. 93, n. 3, p. 858–75, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10969322>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

HOLLMANN, M. W.; GROSS, A.; JELACIN, N.; DURIEUX, M. E. **Local Anesthetic Effects on Priming and Activation of Human Neutrophils** **Anesthesiology**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.anesthesiology.org>. Acesso em: 15 abr. 2019.

HOLLMANN, M. W.; HERROEDER, S.; KURZ, K. S.; HOENEMANN, C. W.; STRUEMPER, D.; HAHNENKAMP, K.; DURIEUX, M. E. **Time-dependent Inhibition of G Protein-coupled Receptor Signaling by Local Anesthetics** **Anesthesiology**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.anesthesiology.org>. Acesso em: 15 abr. 2019.

HU, T.; LIU, N.; LV, M.; MA, L.; PENG, H.; PENG, S.; LIU, T. Lidocaine Inhibits HCN Currents in Rat Spinal Substantia Gelatinosa Neurons. **Anesthesia & Analgesia**, [s. l.], v. 122, n. 4, p. 1048–1059, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26756913>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estatísticas de câncer**. [s.d.]. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

ITOH, N.; SEMBA, S.; ITO, M.; TAKEDA, H.; KAWATA, S.; YAMAKAWA, M. Phosphorylation of Akt/PKB is required for suppression of cancer cell apoptosis and tumor progression in human colorectal carcinoma. **Cancer**, [s. l.], v. 94, n. 12, p. 3127–3134, 2002. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.10591>>. Acesso em: 21 jul. 2019.

JASPERSON, K. W.; TUOHY, T. M.; NEKLASON, D. W.; BURT, R. W. Hereditary and Familial Colon Cancer. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 138, n. 6, p. 2044–2058, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20420945>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

JEON, Y. T.; NA, H.; RYU, H.; CHUNG, Y. Modulation of dendritic cell activation and subsequent Th1 cell polarization by lidocaine. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 10, 2015. Disponível em:

<<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0139845&type=printable>>. Acesso em: 8 out. 2018.

JIANG, Y.; GOU, H.; ZHU, J.; TIAN, S.; YU, L. Lidocaine inhibits the invasion and migration of TRPV6-expressing cancer cells by TRPV6 downregulation. **Oncology Letters**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 1164–1170, 2016.

JINUSHI, M. Yin and yang of tumor inflammation: How innate immune suppressors shape the tumor microenvironments. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 135, n. 6, p. 1277–1285, 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.28626>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

JOHNSON, S. M.; GULHATI, P.; RAMPY, B. A.; HAN, Y.; RYCHAHOU, P. G.; DOAN, H. Q.; WEISS, H. L.; EVERS, B. M. Novel Expression Patterns of PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway Components in Colorectal Cancer. **Journal of the American College of Surgeons**, [s. l.], v. 210, n. 5, p. 767–776, 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S107275150901624X>>. Acesso em: 21 jul. 2019.

JUNG, S.-B.; LEE, H.-I.; OH, H.-K.; SHIN, I.-H.; JEON, C.-H. Clinico-pathologic Parameters for Prediction of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. **Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 44, n. 3, p. 179–186, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23091444>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

JURJ, A.; TOMULEASA, C.; TAT, T. T.; BERINDAN-NEAGOE, I.; VESA, S. V.; IONESCU, D. C. Antiproliferative and Apoptotic Effects of Lidocaine on Human Hepatocarcinoma Cells. A preliminary study. **Journal of gastrointestinal and liver diseases : JGLD**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 45–50, 2017.

KANG, D.; ZHAO, L.; WANG, H. Efeitos citotóxicos de anestesia local com lidocaína/ropivacaína em linhagens celulares de melanoma humano. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, [s. l.], v. 66, n. 6, p. 594–602, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034709416301118>>

KANNEN, V.; HINTZSCHE, H.; ZANETTE, D. L.; SILVA, W. A.; GARCIA, S. B.; WAAGA-GASSER, A. M.; STOPPER, H.; STOPPER, H. Antiproliferative effects of

fluoxetine on colon cancer cells and in a colonic carcinogen mouse model. **PloS one**, [s. l.], v. 7, n. 11, p. e50043, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23209640>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

KAWASAKI, T.; KAWASAKI, C.; SATA, T.; CHAUDRY, I. H. Lidocaine suppresses mouse Peyer's Patch T cell functions and induces bacterial translocation. **Surgery**, [s. l.], v. 149, n. 1, p. 106–13, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20466400>>. Acesso em: 9 mar. 2019.

KIM, R. Effects of surgery and anesthetic choice on immunosuppression and cancer recurrence. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 1, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12967-018-1389-7>>. Acesso em: 29 maio. 2018.

KLOOR, M.; HUTH, C.; VOIGT, A. Y.; BENNER, A.; SCHIRMACHER, P.; VON KNEBEL DOEBERITZ, M.; BLÄKER, H. Prevalence of mismatch repair-deficient crypt foci in Lynch syndrome: a pathological study. **The Lancet Oncology**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 598–606, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22552011>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

KNUDSON, A. G. Antioncogenes and human cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 90, n. 23, p. 10914–21, 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7902574>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

KOSTIC, A. D.; GEVERS, D.; PEDAMALLU, C. S.; MICHAUD, M.; DUKE, F.; EARL, A. M.; OJESINA, A. I.; JUNG, J.; BASS, A. J.; TABERNERO, J.; BASELGA, J.; LIU, C.; SHIVDASANI, R. A.; OGINO, S.; BIRREN, B. W.; HUTTENHOWER, C.; GARRETT, W. S.; MEYERSON, M. Genomic analysis identifies association of Fusobacterium with colorectal carcinoma. **Genome research**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 292–8, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22009990>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

KRANKE, P.; JOKINEN, J.; PACE, N. L.; SCHNABEL, A.; HOLLMANN, M. W.; HAHNENKAMP, K.; EBERHART, L. H.; POEPPING, D. M.; WEIBEL, S. Continuous intravenous perioperative lidocaine infusion for postoperative pain and recovery. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, [s. l.], n. 7, p. CD009642, 2015.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26184397>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

KURABE, M.; FURUE, H.; KOHNO, T. Intravenous administration of lidocaine directly acts on spinal dorsal horn and produces analgesic effect: An in vivo patch-clamp analysis. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 26253, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27188335>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

LAVEZZI, A. M.; OTTAVIANI, G.; DE RUBERTO, F.; FICHERA, G.; MATTURRI, L. Prognostic significance of different biomarkers (DNA content, PCNA, karyotype) in colorectal adenomas. **Anticancer research**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 2077–81, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12174886>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

LE GAC, G.; ANGENARD, G.; CLÉMENT, B.; LAVIOLLE, B.; COULOUARN, C.; BELOEIL, H. Local Anesthetics Inhibit the Growth of Human Hepatocellular Carcinoma Cells. **Anesthesia and Analgesia**, [s. l.], v. 125, n. 5, p. 1600–1609, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28857796>><http://insights.ovid.com/crossref?an=00000539-9000000000-97254>>

LENG, T.; LIN, S.; XIONG, Z.; LIN, J. Lidocaine suppresses glioma cell proliferation by inhibiting TRPM7 channels. **International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 8–15, 2017.

LENGAUER, C.; KINZLER, K. W.; VOGELSTEIN, B. Genetic instability in colorectal cancers. **Nature**, [s. l.], v. 386, n. 6625, p. 623–627, 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9121588>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

LEUFKENS, A. M.; VAN DEN BOSCH, M. A. A. J.; VAN LEEUWEN, M. S.; SIERSEMA, P. D. Diagnostic accuracy of computed tomography for colon cancer staging: A systematic review. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, [s. l.], v. 46, n. 7–8, p. 887–894, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21504379>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

LEVIN, B.; LIEBERMAN, D. A.; MCFARLAND, B.; ANDREWS, K. S.; BROOKS, D.; BOND, J.; DASH, C.; GIARDIELLO, F. M.; GLICK, S.; JOHNSON, D.; JOHNSON, C.

D.; LEVIN, T. R.; PICKHARDT, P. J.; REX, D. K.; SMITH, R. A.; THORSON, A.; WINAWER, S. J. Screening and Surveillance for the Early Detection of Colorectal Cancer and Adenomatous Polyps, 2008: A Joint Guideline From the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 134, n. 5, p. 1570–1595, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18322143>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

LEWANDOWSKA, J.; BARTOSZEK, A. DNA methylation in cancer development, diagnosis and therapy - Multiple opportunities for genotoxic agents to act as methylome disruptors or remediators. **Mutagenesis**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 475–487, 2011.

LI, F.; AMBROSINI, G.; CHU, E. Y.; PLESCIA, J.; TOGNIN, S.; MARCHISIO, P. C.; ALTIERI, D. C. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. **Nature**, [s. l.], v. 396, n. 6711, p. 580–584, 1998. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/25141>>. Acesso em: 14 jul. 2019.

LI, K.; YANG, J.; HAN, X. Lidocaine sensitizes the cytotoxicity of cisplatin in breast cancer cells via up-regulation of RAR β 2 and RASSF1A demethylation. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 23519–23536, 2014.

LICHTENSTEIN, P.; HOLM, N. V.; VERKASALO, P. K.; ILIADOU, A.; KAPRIO, J.; KOSKENVUO, M.; PUKKALA, E.; SKYTTE, A.; HEMMINKI, K. Environmental and Heritable Factors in the Causation of Cancer — Analyses of Cohorts of Twins from Sweden, Denmark, and Finland. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 343, n. 2, p. 78–85, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10891514>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

LIRK, P.; BERGER, R.; HOLLMANN, M. W.; FIEGL, H. Lidocaine time- and dose-dependently demethylates deoxyribonucleic acid in breast cancer cell lines in vitro. **British Journal of Anaesthesia**, [s. l.], v. 109, n. 2, p. 200–207, 2012.

MACGREGOR, R. R.; THORNER, R. E.; WRIGHT, D. M. Lidocaine inhibits granulocyte adherence and prevents granulocyte delivery to inflammatory sites. **Blood**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 203–9, 1980. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7397378>>. Acesso em: 21 abr. 2019.

MALMBERG, K.-J.; BRYCESON, Y. T.; CARLSTEN, M.; ANDERSSON, S.; BJÖRKLUND, A.; BJÖRKSTRÖM, N. K.; BAUMANN, B. C.; FAURIAT, C.; ALICI, E.; DILBER, M. S.; LJUNGGREN, H.-G. NK cell-mediated targeting of human cancer and possibilities for new means of immunotherapy. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, [s. l.], v. 57, n. 10, p. 1541–1552, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18317755>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

MAMMOTO, T.; HIGASHIYAMA, S.; MUKAI, M.; MAMMOTO, A.; AYAKI, M.; MASHIMO, T.; HAYASHI, Y.; KISHI, Y.; NAKAMURA, H.; AKEDO, H. Infiltration anesthetic lidocaine inhibits cancer cell invasion by modulating ectodomain shedding of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF). **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], v. 192, n. 3, p. 351–358, 2002.

MANTOVANI, A.; LOCATI, M. Tumor-Associated Macrophages as a Paradigm of Macrophage Plasticity, Diversity, and Polarization. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [s. l.], v. 33, n. 7, p. 1478–1483, 2013. Disponível em: <<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/ATVBAHA.113.300168>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

MAO, J.; CHEN, L. L. Systemic lidocaine for neuropathic pain relief. **Pain**, [s. l.], v. 87, n. 1, p. 7–17, 2000.

MARRET, E.; ROLIN, M.; BEAUSSIER, M.; BONNET, F. Meta-analysis of intravenous lidocaine and postoperative recovery after abdominal surgery. **British Journal of Surgery**, [s. l.], v. 95, n. 11, p. 1331–1338, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18844267>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

MAURICE, J. M.; GAN, Y.; MA, F. X.; CHANG, Y. C.; HIBNER, M.; HUANG, Y. Bupivacaine causes cytotoxicity in mouse C2C12 myoblast cells: Involvement of ERK and Akt signaling pathways. **Acta Pharmacologica Sinica**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 493–500, 2010.

MAURIN, N.; FORGUE-LAFITTE, M.-E.; LEVY, P.; ZIMBER, A.; BARA, J. Progression of tumors arising from large ACF is associated with the MUC5AC expression during rat colon MNNG carcinogenesis. **International Journal of Cancer**,

[s. l.], v. 120, n. 3, p. 477–483, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17066439>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

MCCARTHY, G. C.; MEGALLA, S. A.; HABIB, A. S. Impact of Intravenous Lidocaine Infusion on Postoperative Analgesia and Recovery from Surgery. **Drugs**, [s. l.], v. 70, n. 9, p. 1149–1163, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20518581>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

NAGTEGAAL, I. D.; QUIRKE, P. What Is the Role for the Circumferential Margin in the Modern Treatment of Rectal Cancer? **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 303–312, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18182672>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

NIEKEL, M. C.; BIPAT, S.; STOKER, J. Diagnostic Imaging of Colorectal Liver Metastases with CT, MR Imaging, FDG PET, and/or FDG PET/CT: A Meta-Analysis of Prospective Studies Including Patients Who Have Not Previously Undergone Treatment. **Radiology**, [s. l.], v. 257, n. 3, p. 674–684, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20829538>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

O'RIAIN, S. C.; BUGGY, D. J.; KERIN, M. J.; WATSON, R. W. G.; MORIARTY, D. C. Inhibition of the stress response to breast cancer surgery by regional anesthesia and analgesia does not affect vascular endothelial growth factor and prostaglandin E2. **Anesthesia and analgesia**, [s. l.], v. 100, n. 1, p. 244–9, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15616085>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

OKAMOTO, A.; SUMI, C.; TANAKA, H.; KUSUNOKI, M.; IWAI, T.; NISHI, K.; MATSUO, Y.; HARADA, H.; TAKENAGA, K.; BONO, H.; HIROTA, K. HIF-1-mediated suppression of mitochondria electron transport chain function confers resistance to lidocaine-induced cell death. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-017-03980-7.pdf>>. Acesso em: 29 maio. 2018.

PARDRIDGE, W. M.; SAKIYAMA, R.; FIERER, G. Transport of propranolol and lidocaine through the rat blood-brain barrier. Primary role of globulin-bound drug. **The Journal of clinical investigation**, [s. l.], v. 71, n. 4, p. 900–8, 1983. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6833493>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

PARK, S. H.; LEE, J. H.; LEE, S. S.; KIM, J. C.; YU, C. S.; KIM, H. C.; YE, B. D.; KIM, M.-J.; KIM, A. Y.; HA, H. K. CT colonography for detection and characterisation of synchronous proximal colonic lesions in patients with stenosing colorectal cancer. **Gut**, [s. l.], v. 61, n. 12, p. 1716–1722, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22115824>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

PARSONS, M. T.; BUCHANAN, D. D.; THOMPSON, B.; YOUNG, J. P.; SPURDLE, A. B. Correlation of tumour BRAF mutations and *MLH1* methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. **Journal of Medical Genetics**, [s. l.], v. 49, n. 3, p. 151–157, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22368298>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

PEACH, G.; KIM, C.; ZACHARAKIS, E.; PURKAYASTHA, S.; ZIPRIN, P. Prognostic significance of circulating tumour cells following surgical resection of colorectal cancers: a systematic review. **British Journal of Cancer**, [s. l.], v. 102, n. 9, p. 1327–1334, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20389297>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

PECK, S. L.; JOHNSTON, R. B.; HORWITZ, L. D. Reduced neutrophil superoxide anion release after prolonged infusions of lidocaine. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, [s. l.], v. 235, n. 2, p. 418–22, 1985. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2997433>>. Acesso em: 21 abr. 2019.

PÉREZ-HERRERO, E.; FERNÁNDEZ-MEDARDE, A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 93, p. 52–79, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25813885>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

PIEGELER, T.; BECK-SCHIMMER, B. Anesthesia and colorectal cancer – The perioperative period as a window of opportunity? **European Journal of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 42, n. 9, p. 1286–1295, 2016. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0748798316301548/1-s2.0-S0748798316301548-main.pdf?_tid=25102b9b-5fe9-4d63-8a80-e1f962a8d2ce&acdnt=1527645211_f43d4d4bb2830eedc630c08769eb7538>. Acesso em: 29 maio. 2018.

PIEGELER, T.; SCHLÄPFER, M.; DULL, R. O.; SCHWARTZ, D. E.; BORGEAT, A.; MINSHALL, R. D.; BECK-SCHIMMER, B. Clinically relevant concentrations of lidocaine and ropivacaine inhibit TNF α -induced invasion of lung adenocarcinoma cells in vitro by blocking the activation of Akt and focal adhesion kinase. **British Journal of Anaesthesia**, [s. l.], v. 115, n. 5, p. 784–791, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007091217310814?via%3Dihub>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

PIEGELER, T.; VOTTA-VELIS, E. G.; BAKHSHI, F. R.; MAO, M.; CARNEGIE, G.; BONINI, M. G.; SCHWARTZ, D. E.; BORGEAT, A.; BECK-SCHIMMER, B.; MINSHALL, R. D. Endothelial Barrier Protection by Local Anesthetics. **Anesthesiology**, [s. l.], v. 120, n. 6, p. 1414–1428, 2014. Disponível em: <<http://anesthesiology.pubs.asahq.org/Article.aspx?doi=10.1097/ALN.0000000000000174>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

POPAT, S.; HUBNER, R.; HOULSTON, R. S. Systematic Review of Microsatellite Instability and Colorectal Cancer Prognosis. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 609–618, 2005. Disponível em: <<http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2005.01.086>>. Acesso em: 26 jan. 2019.

PORTER, A. G.; JÄNICKE, R. U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. **Cell Death & Differentiation**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 99–104, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10200555>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

QASIM, B. J.; ALI, H. H.; HUSSEIN, A. G. Immunohistochemical expression of PCNA and CD34 in colorectal adenomas and carcinomas using specified automated cellular image analysis system: a clinicopathologic study. **Saudi journal of gastroenterology : official journal of the Saudi Gastroenterology Association**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 268–76, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22824771>>. Acesso em: 20 abr. 2019.

RAMIREZ, M. F.; TRAN, P.; CATA, J. P. The Effect of Clinically Therapeutic Plasma Concentrations of Lidocaine on Natural Killer Cell Cytotoxicity. **Regional anesthesia and pain medicine**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 43–48, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25469757>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

RIMBÄCK, G.; CASSUTO, J.; TOLLESON, P. O. Treatment of postoperative paralytic ileus by intravenous lidocaine infusion. **Anesthesia and analgesia**, [s. l.], v. 70, n. 4, p. 414–9, 1990. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2316883>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

RUETSCH, Y.; BONI, T.; BERGEAT, A. From Cocaine to Ropivacaine: The History of Local Anesthetic Drugs. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 175–182, 2001. Disponível em: <<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1568-0266&volume=1&issue=3&spage=175>>

SANDEL, M. H.; SPEETJENS, F. M.; MENON, A. G.; ALBERTSSON, P. A.; BASSE, P. H.; HOKLAND, M.; NAGELKERKE, J. F.; TOLLENAAR, R. A. E. M.; VELDE, C. J. H. Van de; KUPPEN, P. J. K. Natural killer cells infiltrating colorectal cancer and MHC class I expression. **Molecular Immunology**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 541–546, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15607811>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

SCHREUDERS, E. H.; RUCO, A.; RABENECK, L.; SCHOEN, R. E.; SUNG, J. J. Y.; YOUNG, G. P.; KUIPERS, E. J. Colorectal cancer screening: a global overview of existing programmes. **Gut**, [s. l.], v. 64, n. 10, p. 1637–1649, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26041752>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

SCHWINGSHACKL, L.; SCHWEDHELM, C.; HOFFMANN, G.; KNÜPPEL, S.; LAURE PRETERRE, A.; IQBAL, K.; BECHTHOLD, A.; DE HENAUW, S.; MICHELS, N.; DEVLEESSCHAUWER, B.; BOEING, H.; SCHLESINGER, S. Food groups and risk of colorectal cancer. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 142, n. 9, p. 1748–1758, 2018.

SCHWITALLE, Y.; KLOOR, M.; EIERMANN, S.; LINNEBACHER, M.; KIENLE, P.; KNAEBEL, H. P.; TARIVERDIAN, M.; BENNER, A.; VON KNEBEL DOEBERITZ, M. Immune Response Against Frameshift-Induced Neopeptides in HNPCC Patients and Healthy HNPCC Mutation Carriers. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 134, n. 4, p. 988–997, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18395080>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

SHAKHAR, G.; BEN-ELIYAHU, S. Potential prophylactic measures against postoperative immunosuppression: could they reduce recurrence rates in oncological patients? **Annals of surgical oncology**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 972–92, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14527919>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

SHANKARAN, V.; IKEDA, H.; BRUCE, A. T.; WHITE, J. M.; SWANSON, P. E.; OLD, L. J.; SCHREIBER, R. D. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. **Nature**, [s. l.], v. 410, n. 6832, p. 1107–1111, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11323675>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

SIEGEL, R.; DESANTIS, C.; VIRGO, K.; STEIN, K.; MARIOTTO, A.; SMITH, T.; COOPER, D.; GANSLER, T.; LERRO, C.; FEDEWA, S.; LIN, C.; LEACH, C.; CANNADY, R. S.; CHO, H.; SCOPPA, S.; HACHEY, M.; KIRCH, R.; JEMAL, A.; WARD, E. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 62, n. 4, p. 220–241, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22700443>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

SINICROPE, F. A.; REGO, R. L.; ANSELL, S. M.; KNUTSON, K. L.; FOSTER, N. R.; SARGENT, D. J. Intraepithelial Effector (CD3⁺)/Regulatory (FoxP3⁺) T-Cell Ratio Predicts a Clinical Outcome of Human Colon Carcinoma. **YGAST**, [s. l.], v. 137, p. 1270–1279, 2009. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S001650850901138X/1-s2.0-S001650850901138X-main.pdf?_tid=7603abf3-7ed9-4702-87af-30eb6ff6ad5e&acdnat=1549134689_5fd43a45a551f7eae6c2abca6414fe2b>. Acesso em: 2 fev. 2019.

SMITH, G.; CAREY, F. A.; BEATTIE, J.; WILKIE, M. J. V.; LIGHTFOOT, T. J.; COXHEAD, J.; GARNER, R. C.; STEELE, R. J. C.; WOLF, C. R. Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53--alternative genetic pathways to colorectal cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 99, n. 14, p. 9433–9438, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12093899>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

SNYDER, G. L.; GREENBERG, S. Effect of anaesthetic technique and other perioperative factors on cancer recurrence. **British Journal of Anaesthesia**, [s. l.], v.

105, n. 2, p. 106–115, 2010. Disponível em: <[https://bjanaesthesia.org/article/S0007-0912\(17\)33528-6/pdf](https://bjanaesthesia.org/article/S0007-0912(17)33528-6/pdf)>. Acesso em: 15 jul. 2018.

SONNENBERG, A.; GENTA, R. M. Helicobacter pylori is a Risk Factor for Colonic Neoplasms. **The American Journal of Gastroenterology**, [s. l.], v. 108, n. 2, p. 208–215, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23208272>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

SOTO, G.; NARANJO GONZÁLEZ, M.; CALERO, F. Intravenous lidocaine infusion. **Revista Española de Anestesiología y Reanimación (English Edition)**, [s. l.], v. 65, n. 5, p. 269–274, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2341192918300519>>. Acesso em: 11 mar. 2019.

SPANDIDOS, D. A. A unified theory for the development of cancer. **Bioscience reports**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. 691–708, 1986. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3545313>>. Acesso em: 21 jul. 2019.

SWENSON, B. R.; GOTTSCHALK, A.; WELLS, L. T.; ROWLINGSON, J. C.; THOMPSON, P. W.; BARCLAY, M.; SAWYER, R. G.; FRIEL, C. M.; FOLEY, E.; DURIEUX, M. E. Intravenous Lidocaine Is as Effective as Epidural Bupivacaine in Reducing Ileus Duration, Hospital Stay, and Pain After Open Colon Resection. **Regional Anesthesia and Pain Medicine**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 370–376, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20588151>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

TARIQ, K.; GHIAS, K. Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. **Cancer biology & medicine**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 120–35, 2016. Disponível em: <www.cancerbiomed.org>. Acesso em: 3 mar. 2019.

TERKAWI, A. S.; TSANG, S.; KAZEMI, A.; MORTON, S.; LUO, R.; SANDERS, D. T.; REGALI, L. A.; COLUMBANO, H.; KURTZEBORN, N. Y.; DURIEUX, M. E. A Clinical Comparison of Intravenous and Epidural Local Anesthetic for Major Abdominal Surgery. **Regional anesthesia and pain medicine**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 28–36, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26650426>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

TILG, H.; ADOLPH, T. E.; GERNER, R. R.; MOSCHEN, A. R. The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer. **Cancer Cell**, [s. l.], v. 33, n. 6, p. 954–964, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1535610818300722>>. Acesso em: 24 jan. 2019.

TILMAN, G.; ARNOULT, N.; LENGLEZ, S.; VAN BENEDEN, A.; LORIOT, A.; DE SMET, C.; DECOTTIGNIES, A. Cancer-linked satellite 2 DNA hypomethylation does not regulate Sat2 non-coding RNA expression and is initiated by heat shock pathway activation. **Epigenetics**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 903–913, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4161/epi.21107>>. Acesso em: 24 set. 2018.

TSUCHIYA, Y.; SAWADA, S.; YOSHIOKA, I.; OHASHI, Y.; MATSUO, M.; HARIMAYA, Y.; TSUKADA, K.; SAIKI, I. Increased surgical stress promotes tumor metastasis. **Surgery**, [s. l.], v. 133, n. 5, p. 547–555, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12773983>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

VAN GIJN, W.; MARIJNEN, C. A.; NAGTEGAAL, I. D.; KRANENBARG, E. M.-K.; PUTTER, H.; WIGGERS, T.; RUTTEN, H. J.; PÅHLMAN, L.; GLIMELIUS, B.; VAN DE VELDE, C. J.; DUTCH COLORECTAL CANCER GROUP. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer: 12-year follow-up of the multicentre, randomised controlled TME trial. **The Lancet Oncology**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 575–582, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21596621>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

VIGNEAULT, L.; TURGEON, A. F.; CÔTÉ, D.; LAUZIER, F.; ZARYCHANSKI, R.; MOORE, L.; MCINTYRE, L. A.; NICOLE, P. C.; FERGUSON, D. A. Perioperative intravenous lidocaine infusion for postoperative pain control: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie**, [s. l.], v. 58, n. 1, p. 22–37, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21061107>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

VIVANCO, I.; SAWYERS, C. L. The phosphatidylinositol 3-Kinase–AKT pathway in human cancer. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 2, n. 7, p. 489–501, 2002. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrc839>>. Acesso em: 14 jul. 2019.

WADA, H.; SEKI, S.; TAKAHASHI, T.; KAWARABAYASHI, N.; HIGUCHI, H.; HABU,

Y.; SUGAHARA, S.; KAZAMA, T. Combined spinal and general anesthesia attenuates liver metastasis by preserving TH1/TH2 cytokine balance. **Anesthesiology**, [s. l.], v. 106, n. 3, p. 499–506, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17325508>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

WAITE, A.; GILLIVER, S. C.; MASTERSON, G. R.; HARDMAN, M. J.; ASHCROFT, G. S. Clinically relevant doses of lidocaine and bupivacaine do not impair cutaneous wound healing in mice. **British Journal of Anaesthesia**, [s. l.], v. 104, n. 6, p. 768–773, 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007091217335985>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

WANG, H.-L.; YAN, H.-D.; LIU, Y.-Y.; SUN, B.-Z.; HUANG, R.; WANG, X.-S.; LEI, W.-F. Intraoperative intravenous lidocaine exerts a protective effect on cell-mediated immunity in patients undergoing radical hysterectomy. **Molecular Medicine Reports**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 7039–7044, 2015. Disponível em: <<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2015.4235>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

WANG, H. L.; LIU, Y. Y.; YAN, H. D.; WANG, X. S.; HUANG, R.; LEI, W. F. Intraoperative systemic lidocaine inhibits the expression of HMGB1 in patients undergoing radical hysterectomy. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, [s. l.], v. 7, n. 10, p. 3398–3403, 2014.

WEIBEL, S.; JOKINEN, J.; PACE, N. L.; SCHNABEL, A.; HOLLMANN, M. W.; HAHNENKAMP, K.; EBERHART, L. H. J.; POEPPING, D. M.; AFSHARI, A.; KRANKE, P. Efficacy and safety of intravenous lidocaine for postoperative analgesia and recovery after surgery: a systematic review with trial sequential analysis. **British Journal of Anaesthesia**, [s. l.], v. 116, n. 6, p. 770–783, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27199310>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

WEISENBERGER, D. J.; SIEGMUND, K. D.; CAMPAN, M.; YOUNG, J.; LONG, T. I.; FAASSE, M. A.; KANG, G. H.; WIDSCHWENDTER, M.; WEENER, D.; BUCHANAN, D.; KOH, H.; SIMMS, L.; BARKER, M.; LEGGETT, B.; LEVINE, J.; KIM, M.; FRENCH, A. J.; THIBODEAU, S. N.; JASS, J.; HAILE, R.; LAIRD, P. W. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 38, n.

7, p. 787–793, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16804544>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

WENG, M.; CHEN, W.; HOU, W.; LI, L.; DING, M.; MIAO, C. The effect of neuraxial anesthesia on cancer recurrence and survival after cancer surgery: an updated meta-analysis. **Oncotarget**, [s. l.], v. 7, n. 12, 2016. Disponível em: <www.impactjournals.com/oncotarget>. Acesso em: 13 out. 2018.

WERDEHAUSEN, R.; MITTNACHT, S.; BEE, L. A.; MINETT, M. S.; ARMBRUSTER, A.; BAUER, I.; WOOD, J. N.; HERMANN, H.; EULENBURG, V. The lidocaine metabolite N-ethylglycine has antinociceptive effects in experimental inflammatory and neuropathic pain. **Pain**, [s. l.], v. 156, n. 9, p. 1647–59, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25932687>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

WEST, N. P.; HOHENBERGER, W.; WEBER, K.; PERRAKIS, A.; FINAN, P. J.; QUIRKE, P. Complete Mesocolic Excision With Central Vascular Ligation Produces an Oncologically Superior Specimen Compared With Standard Surgery for Carcinoma of the Colon. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 272–278, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19949013>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

WILDSMITH, J. A. W.; JANSSON, J. R. From cocaine to lidocaine: Great progress with a tragic ending. **European Journal of Anaesthesiology**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 143–146, 2015.

WOLF, A. M. D.; FONTHAM, E. T. H.; CHURCH, T. R.; FLOWERS, C. R.; GUERRA, C. E.; LAMONTE, S. J.; ETZIONI, R.; MCKENNA, M. T.; OEFFINGER, K. C.; SHIH, Y.-C. T.; WALTER, L. C.; ANDREWS, K. S.; BRAWLEY, O. W.; BROOKS, D.; FEDEWA, S. A.; MANASSARAM-BAPTISTE, D.; SIEGEL, R. L.; WENDER, R. C.; SMITH, R. A. Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 68, n. 4, p. 250–281, 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.3322/caac.21457>>

WONG, S. H.; ZHAO, L.; ZHANG, X.; NAKATSU, G.; HAN, J.; XU, W.; XIAO, X.; KWONG, T. N. Y.; TSOI, H.; WU, W. K. K.; ZENG, B.; CHAN, F. K. L.; SUNG, J. J.

Y.; WEI, H.; YU, J. Gavage of Fecal Samples From Patients With Colorectal Cancer Promotes Intestinal Carcinogenesis in Germ-Free and Conventional Mice. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 153, n. 6, p. 1621- 1633.e6, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28823860>>. Acesso em: 2 mar. 2019.

WRIGHT, J. L.; DURIEUX, M. E.; GROVES, D. S. A brief review of innovative uses for local anesthetics. **Current Opinion in Anaesthesiology**, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 651–656, 2008. Disponível em: <<https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=18784494>>. Acesso em: 3 jun. 2018.

XING, W.; CHEN, D.-T.; PAN, J.-H.; CHEN, Y.-H.; YAN, Y.; LI, Q.; XUE, R.; YUAN, Y.; ZENG, W. Lidocaine Induces Apoptosis and Suppresses Tumor Growth in Human Hepatocellular Carcinoma Cells In Vitro and in a Xenograft Model In Vivo. **Anesthesiology**, [s. l.], v. 126, n. 5, p. 868–881, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28121635>>

YAMAGUCHI, K.; TAKAGI, Y.; AOKI, S.; FUTAMURA, M.; SAJI, S. Significant detection of circulating cancer cells in the blood by reverse transcriptase-polymerase chain reaction during colorectal cancer resection. **Annals of surgery**, [s. l.], v. 232, n. 1, p. 58–65, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10862196>>. Acesso em: 3 mar. 2019.

YANG, X.; ZHAO, L.; LI, M.; YAN, L.; ZHANG, S.; MI, Z.; REN, L.; XU, J. Lidocaine enhances the effects of chemotherapeutic drugs against bladder cancer. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1–7, 2018. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-017-19026-x.pdf>>. Acesso em: 29 maio. 2018.

YUE, S.-Q.; YANG, Y.-L.; DOU, K.-F.; LI, K.-Z. Expression of PCNA and CD44mRNA in colorectal cancer with venous invasion and its relationship to liver metastasis. **World journal of gastroenterology**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 2863–5, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14669354>>. Acesso em: 20 abr. 2019.

ZHANG, L.; HU, R.; CHENG, Y.; WU, X.; XI, S.; SUN, Y.; JIANG, H. Lidocaine inhibits the proliferation of lung cancer by regulating the expression of GOLT1A. **Cell Proliferation**, [s. l.], v. 50, n. 5, p. 1–8, 2017.

ZHANG, L.; TANABE, K.; YANAGIDATE, F.; KAWASAKI, Y.; CHEN, G.; DOHI, S.; IIDA, H. Different effects of local anesthetics on extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in rat dorsal horn neurons. **European journal of pharmacology**, [s. l.], v. 734, p. 132–6, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24726558>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

ZHENG, Q.; PENG, X.; YU, H. Local Anesthetic Drug Inhibits Growth and Survival in Chronic Myeloid Leukemia Through Suppressing PI3K/Akt/mTOR. **The American Journal of the Medical Sciences**, [s. l.], v. 355, n. 3, p. 266–273, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0002962917306134>>. Acesso em: 20 jul. 2019.

ZHOU, H.; HUANG, T.; XIONG, Y.; PENG, L.; WANG, R.; ZHANG, G. J. The prognostic value of proliferating cell nuclear antigen expression in colorectal cancer: A meta-analysis. **Medicine**, [s. l.], v. 97, n. 50, p. e13752, 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30558098>>. Acesso em: 20 abr. 2019.