



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Carla Braga Mano Gallo

**Desenvolvimento do Pênis durante o Período
Fetal Humano (13 a 36 Semanas Pós-Concepção)**

Rio de Janeiro

2013

Carla Braga Mano Gallo

**Desenvolvimento do Pênis durante o Período
Fetal Humano (13 a 36 Semanas Pós-Concepção)**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Sistema Urogenital.

Orientador : Prof. Dr. Waldemar Silva Costa

Coorientador: Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio

Rio de Janeiro

2013

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

G172 Gallo, Carla Braga Mano.
Desenvolvimento do pênis durante o período fetal humano (13 a 36 semanas pós-
concepção) / Carla Braga Mano Gallo.- 2013.
93 f.

Orientador: Waldemar Silva Costa.

Coorientador: Francisco José Barcellos Sampaio.

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de
Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas.

1. Pênis – Teses. 2. Pênis – Embriologia. 3. Fetos – Teses. 4. Fibras – Teses. I. Costa,
Waldemar Silva. II. Sampaio, Francisco José Barcellos. III. Universidade do Estado do

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

Assinatura

Data

Carla Braga Mano Gallo

**Desenvolvimento do Pênis durante o Período
Fetal Humano (13 a 36 Semanas Pós-Concepção)**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Sistema Urogenital.

Aprovada em 13 de março de 2013.

Orientador:

Prof. Dr. Waldemar Silva Costa
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof. Dr. Marco A. Pereira-Sampaio
Universidade Federal Fluminense - UFF

Prof. Dr. Valter Javaroni
Hospital de Federal de Bonsucesso - Rio de Janeiro

Prof. Dr. Marcelo Abidu-Figueiredo
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ

Prof. Dr. João Paulo de Carvalho
Hospital Federal Cardoso Fontes - RJ

Rio de Janeiro

2013

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Waldemar Silva Costa, meu orientador, pela competência científica e acompanhamento do trabalho, pela disponibilidade e generosidade reveladas ao longo destes anos de trabalho, assim como pelas críticas, correções e sugestões feitas durante a orientação.

Ao Professor Doutor Francisco José Barcellos Sampaio, meu co-orientador, e Coordenador do Curso de Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, por me dar a honra de poder participar do curso de pós-graduação e de seus ensinamentos com incalculável competência científica, por me incentivar, orientar, pelo precioso apoio na preparação e elaboração desta tese, bem como pela disponibilidade e amizade então demonstradas.

A aluna de mestrado Angélica Furriel pela dedicação e participação no preparo do material a ser estudado, e técnicas histológicas.

As alunas de Iniciação Científica, Bruna Aparecida Santos e Elisangela Franco da Silva pelo auxílio no preparo das técnicas histológicas.

RESUMO

GALLO, Carla Braga Mano. *Desenvolvimento do pênis durante o período fetal humano (13 a 36 semanas pós-concepção)*. 2013. 93f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) – Faculdade de Ciência Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

Objetivo: Analisar, em fetos humanos, o crescimento da área do pênis, da túnica albugínea e das estruturas eréteis (corpos cavernosos e corpo esponjoso), bem como o aparecimento e modificações das principais estruturas que compõem estes tecidos (colágeno, músculo liso e fibra elástica) durante o período fetal (13 a 36 semanas pós-concepção), fornecendo padrões normativos de crescimento. **Material e Métodos:** Foram utilizados 56 fetos humanos do sexo masculino com idade gestacional compreendida entre 13 e 36 semanas pós-concepção (SPC). Foram utilizadas técnicas histoquímicas, imunohistoquímicas, e análises morfométricas, e analisados os seguintes parâmetros: área total do pênis, área do corpo cavernoso, área do corpo esponjoso e a espessura da túnica albugínea na região dorsal e ventral do corpo cavernoso. No corpo cavernoso e no corpo esponjoso, as fibras musculares, o colágeno e as fibras do sistema elástico, foram identificados e quantificados por percentagem, no programa Image J (NIH, Bethesda, EUA). **Resultados:** Da 13^a à 36^a semana pós-concepção, a área do pênis variou de 0,95mm² a 24,25mm². No mesmo período a área do corpo cavernoso variou de 0,28mm² a 9,12mm² e a área do corpo esponjoso de 0,14mm² a 3,99mm². No corpo cavernoso a percentagem de fibras colágenas, fibras musculares e fibras do sistema elástico variaram, respectivamente, de 19,88% a 36,60%, de 4,39 % a 29,76 % e de 1,91% a 8,92%. No corpo esponjoso a percentagem de fibras colágenas, fibras musculares e fibras do sistema elástico variaram, respectivamente de 34,65% a 45,89%, de 0,60% a 11,90% e de 3,22% a 11,93%. A espessura da túnica albugínea variou de 0,029 a 0,296 na região dorsal e de 0,014 a 0,113 na região ventral do corpo cavernoso. **Conclusão:** Existe correlação fortemente positiva entre o crescimento da área total, da área do corpo cavernoso e da área do corpo esponjoso, com a idade gestacional, assim como existe correlação entre o crescimento dos elementos constituintes do tecido erétil do pênis (colágeno, fibras musculares lisas e fibras elásticas) com a idade gestacional no período fetal estudado. O ritmo de crescimento do pênis é mais intenso no IIo. trimestre gestacional (13 a 24 SPC). O crescimento da espessura da túnica albugínea também foi diretamente proporcional e apresentou correlação fortemente positiva com a idade gestacional, sendo maior na região dorsal em relação à região ventral do corpo cavernoso.

Palavras-chave: Pênis. Feto. Crescimento. Corpo Cavernoso. Corpo Esponjoso. Túnica Albugínea. Colágeno. Fibra Muscular. Fibra Elástica.

ABSTRACT

Objective: To analyze the development of penile area, tunica albuginea thickness and the main components of the erectile tissue, such as collagen, smooth muscle and elastic system fibers, in human fetuses, in order to provide normative parameters of development.

Material and Methods: We studied 56 male human fetuses aged 13 to 36 weeks postconception (WPC). We used histochemical, immunohistochemical and morphometric techniques to analyze the following parameters: total penile area, area of the corpora cavernosa, area of the corpus spongiosum and thickness of tunica albuginea in the dorsal and ventral region. In the corpora cavernosa and in the corpus spongiosum, the collagen, smooth muscle fibers and elastic system fibers were identified and quantified as percentage by using the Image J software (NIH, Bethesda, USA).

Results: From 13 to 36 WPC, the area of the penis varied from 0.95 mm² to 24.25 mm². Also, the area of the corpora cavernosa varied from 0.28 mm² to 9.12 mm² and the area of the corpus spongiosum from 0.14 mm² to 3.99 mm². In the corpora cavernosa, the amount of collagen, smooth muscle fibers and elastic system fibers varied from 19.88% to 36.60%, from 4.39 % to 29.76 % and from 1.91% to 8.92%, respectively. In the corpus spongiosum, the amount of collagen, smooth muscle fibers and elastic system fibers varied from 34.65% to 45.89%, from 0.60% to 11.90% and from 3.22% to 11.93%, respectively. The thickness of the tunica albuginea varied from 0.029 to 0.296 in the dorsal region and from 0.014 to 0.113 in the ventral region of the corpora cavernosa.

Conclusion: We found strong correlation between the total area, the corpora cavernosa and the corpus spongiosum penile area, with the fetal age in WPC, as well as between collagen, smooth muscle and elastic fibers with fetal age in WPC. The growth rate was more intense during the 2nd trimester (13 to 24 WPC) of gestation when compared to the 3rd trimester (25 to 36 WPC). The thickness of the tunica albuginea also presented strong correlation with the fetal age and was thicker in the dorsal region, when compared to the ventral region.

Key words: Fetus. Penis. Growth. Corpus Cavernosum. Corpus Spongiosum. Tunica Albuginea. Collagen. Smooth Muscle. Elastic System Fibers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Feto humano do sexo masculino com 19 semanas pós-concepção ..	21
Figura 2 –	Bloco urogenital dissecado	22
Figura 3 –	Esquema de um corte transversal do corpo do pênis	25
Figura 4 –	Corte transversal demonstrando a aferição da área do pênis.	26
Figura 5 –	Corte transversal do pênis, demonstrando a marcação do corpo cavernoso para aferição.....	27
Figura 6 –	Corte transversal do pênis demonstrando como foi aferida a espessura da túnica albugínea	28
Figura 7 –	Quantificação do colágeno no corpo cavernoso.....	30
Figura 8 –	Quantificação do músculo liso no corpo cavernoso.	31
Figura 9 –	Quantificação de fibras do sistema elástico no corpo cavernoso.....	32
Figura 10 –	Quantificação da área do corpo esponjoso	33
Figura 11 –	Quantificação do colágeno corpo esponjoso	34
Figura 12 –	Quantificação do músculo liso do corpo esponjoso	35
Figura 13 –	Quantificação de fibras do sistema elástico no corpo esponjoso	36
Figura 14 –	Fotomicrografias mostrando o pênis fetal em diferentes idades	37
Figura 15 –	Área do pênis em mm ² (13 a 36 SPC)	39
Figura 16 –	Área do pênis em mm ² (13 a 24 SPC)	40
Figura 17 –	Área do pênis em mm ² (25 a 36 SPC)	40
Figura 18 –	Área do corpo cavernoso em mm ² (13 a 36 SPC)	41
Figura 19 –	Área do corpo cavernoso em mm ² (13 a 24 SPC)	42
Figura 20 –	Área do corpo cavernoso em mm ² (25 a 36 SPC)	42
Figura 21 –	Área do corpo esponjoso em mm ² (13 a 36 SPC)	43
Figura 22 –	Área do corpo esponjoso em mm ² (13 a 24 SPC)	44
Figura 23 –	Área do corpo esponjoso em mm ² (25 a 36 SPC)	44

Figura 24 – Colágeno no corpo cavernoso (13 a 36 SPC)	47
Figura 25 – Colágeno no corpo cavernoso (13 a 24 SPC)	48
Figura 26 – Colágeno no corpo cavernoso (25 a 36 SPC)	48
Figura 27 – Colágeno no corpo esponjoso (13 a 36 SPC)	49
Figura 28 – Colágeno no corpo esponjoso (13 a 24 SPC)	50
Figura 29 – Colágeno no corpo esponjoso (24 a 36 SPC)	50
Figura 30 – Fotomicrografias do pênis fetal evidenciando a distribuição de colágeno no corpo cavernoso e no corpo esponjoso	51
Figura 31 – Fotomicrografias do pênis fetal evidenciando a distribuição de colágeno no corpo cavernoso	52
Figura 32 – Fotomicrografias do pênis fetal evidenciando distribuição de colágeno no corpo esponjoso	53
Figura 33 – Porcentagem de fibras musculares no corpo cavernoso (13 a 36 SPC)	54
Figura 34 – Porcentagem de fibras musculares no corpo cavernoso (13 a 24 SPC).....	55
Figura 35 – Porcentagem de fibras musculares no corpo cavernoso (25 a 36 SPC).....	55
Figura 36 – Porcentagem de fibras musculares no corpo esponjoso (13 a 36 SPC).....	56
Figura 37 – Porcentagem de fibras musculares no corpo esponjoso (13 a 24 SPC).....	57
Figura 38 – Porcentagem de fibras musculares no corpo esponjoso (25 a 36 SPC)..	57
Figura 39 – Fotomicrografias do pênis fetal evidenciando a distribuição de fibras musculares lisas no corpo cavernoso e no corpo esponjoso ...	58
Figura 40 – Fotomicrografias do pênis fetal evidenciando a distribuição de fibras musculares lisas no corpo cavernoso	59
Figura 41 – Fotomicrografias do pênis fetal evidenciando a distribuição de fibras musculares lisas no corpo esponjoso	60
Figura 42 – Porcentagem de fibras elásticas no corpo cavernoso (13 a 36 SPC)	61

Figura 43 –	Porcentagem de fibras elásticas no corpo cavernoso (13 a 24 SPC)	62
Figura 44 –	Porcentagem de fibras elásticas no corpo cavernoso (25 a 36 SPC)	62
Figura 45 –	Porcentagem de fibras elásticas no corpo esponjoso (13 a 36 SPC)	65
Figura 46 –	Porcentagem de fibras elásticas no corpo esponjoso (13 a 24 SPC)	64
Figura 47 –	Porcentagem de fibras elásticas no corpo esponjoso (25 a 36 SPC)	64
Figura 48 –	Fotomicrografias do pênis fetal com a distribuição de fibras elásticas no corpo cavernoso e no corpo esponjoso	65
Figura 49 –	Fotomicrografias do pênis fetal com a distribuição de fibras elásticas no corpo cavernoso	66
Figura 50 –	Fotomicrografias do pênis fetal com a distribuição de fibras elásticas no corpo esponjoso	67
Figura 51 –	Espessura da túnica albugínea na região dorsal e ventral do corpo cavernoso	69
Figura 52 –	A) Área do corpo cavernoso e área do corpo esponjoso, correlacionadas com a área do pênis, B) Área do corpo esponjoso correlacionada com a área corpo cavernoso	70
Figura 53 –	Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, no corpo cavernoso (13 a 36 SPC)	71
Figura 54 –	Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, no corpo cavernoso (13 a 24 SPC)	72
Figura 55 –	Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, no corpo cavernoso (25 a 36 SPC)	72
Figura 56 –	Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, no corpo esponjoso (13 a 36 SPC)	73
Figura 57 –	Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, no corpo esponjoso (13 a 24 SPC)	74
Figura 58 –	Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, no corpo esponjoso (25 a 36 SPC)	74
Figura 59 –	Comparação dos resultados obtidos para colágeno corpo cavernoso e no corpo esponjoso (13 a 36 SPC)	75
Figura 60 –	Comparação dos resultados obtidos para colágeno corpo cavernoso e no corpo esponjoso (13 a 24 SPC)	76

Figura 61 –	Comparação dos resultados obtidos para colágeno corpo cavernoso e no corpo esponjoso (25 a 36 SPC)	76
Figura 62 –	Comparação dos resultados obtidos para fibras musculares no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (13 a 36 SPC)	77
Figura 63 –	Comparação dos resultados obtidos para fibras musculares no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (13 a 24 SPC)	78
Figura 64 –	Comparação dos resultados obtidos para fibras musculares no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (25 a 36 SPC)	78
Figura 65 –	Comparação dos resultados obtidos para fibras elásticas no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (13 a 36 SPC)	79
Figura 66 –	Comparação dos resultados obtidos para fibras elásticas no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (13 a 24 SPC)	80
Figura 67 –	Comparação dos resultados obtidos para fibras elásticas no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (25 a 36 SPC)	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC) e valores médios, mínimos e máximos da Área do Pênis, do Corpo Cavernoso e do Corpo Esponjoso em mm ²	38
Tabela 2 –	Tabela 2 - Idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC) e quantificações por porcentagem de colágeno, músculo liso e fibras do sistema elástico no corpo cavernoso.	45
Tabela 3 –	Idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC) e quantificações por porcentagem de colágeno, músculo liso e fibras do sistema elástico no corpo esponjoso.	46
Tabela 4 –	Idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC) e média referente à aferição da espessura da túnica albugínea na região dorsal e na região ventral do corpo cavernoso, em mm	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CC –	Corpo cavernoso
CE –	Corpo esponjoso
µm –	Micrómetro
mm –	Milímetro
mm ² –	Milímetro quadrado
No. –	Número
TIFF –	Tagged Image File Format
RGB –	Red (Vermelho), Green (Verde), e Blue (Azul)
Ilo. –	Segundo
SPC –	Semana Pós-Concepção
IIIo. –	Terceiro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	14
1	OBJETIVO	20
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.1	Comitê de Ética	21
2.2	Descrição da Amostra	21
2.3	Determinação da Idade Gestacional.....	22
2.4	Obtenção do Material Para Análise.....	22
2.5	Coleta Do Pênis.....	23
2.6	Técnicas Utilizadas Para Análise Das Amostras.....	23
2.6.1	<u>Microscopia de Luz</u>	23
2.6.2	<u>Análise Imunohistoquímica</u>	24
2.6.3	<u>Análise Quantitativa</u>	24
2.6.4	<u>Análise Estatística</u>	24
2.7	Métodos Quantitativos Em Microscopia De Luz	25
2.7.1	<u>Captura e Análise das Imagens</u>	25
2.7.2	<u>Morfometria do Pênis</u>	26
2.7.2.1	Quantificação da Área do Pênis	26
2.7.3	<u>Análises Realizadas no Corpo Cavernoso</u>	27
2.7.3.1	Quantificação da Área do Corpo Cavernoso	27
2.7.3.2	Quantificação da Espessura da Túnica Albugínea do Corpo Cavernoso.....	28
2.7.3.3	Quantificação do Colágeno no Corpo Cavernoso	29
2.7.3.4	Quantificação do Músculo Liso no Corpo Cavernoso	31
2.7.3.5	Quantificação de Fibras do Sistema Elástico no Corpo Cavernoso	32
2.7.4	<u>Análises Realizadas no Corpo Esponjoso</u>	33
2.7.4.1	Quantificação da Área do Corpo Esponjoso	33
2.7.4.2	Quantificação do Colágeno no Corpo Esponjoso	34
2.7.4.3	Quantificação do Músculo Liso do Corpo Esponjoso	35
2.7.4.4	Quantificação de Fibras do Sistema Elástico no Corpo Esponjoso	36
3	RESULTADOS	37
4	DISCUSSÃO	81
5	CONCLUSÃO	88
	REFERENCIAS	90
	ANEXO (Termo de Cooperação Instituto Fernandes Figueira / UERJ)	96

INTRODUÇÃO

O plano geral do desenvolvimento dos vertebrados é muito semelhante e foi demonstrado desde o século XIX por diferentes autores. Entretanto dados precisos do desenvolvimento genital, especialmente do pênis, ainda são relativamente escassos. (Bastos et al., 2004; Bastos et al., 2005; Ostrer et al., 2006; Favorito et al., 2012). Apesar dos componentes estruturais teciduais do pênis apresentarem um importante papel na ereção existem poucos estudos sobre seu desenvolvimento em fetos humanos.

A ultrassonografia para determinação dos padrões da genitália externa vem sendo usada, não somente como instrumento para determinar o sexo fetal, como também para caracterizar os padrões normais do desenvolvimento (Odeh et al. 2009). Os diferentes padrões morfométricos obtidos por análise de imagens como a tomografia, ressonância magnética, e outros, poderiam ser complementados com dados microscópicos que caracterizariam também histologicamente as diferentes estruturas analisadas (Nemec et al., 2011).

A análise do presente trabalho começa no período fetal a partir da 13ª semana pós-concepção (SPC) quando os principais elementos do pênis, como corpo cavernoso, corpo esponjoso e túnica albugínea já se encontram formados, conforme evidenciado no presente trabalho.

O sistema urinário e genital tem a mesma origem embriológica e ambos derivam do mesoderma intermediário através da parede posterior da cavidade abdominal. O sistema urogenital tem seu início por volta da 4ª SPC. A aparência da genitália externa é semelhante para embriões de ambos os sexos até a 7ª semana de gestação. A partir da 13ª semana de gestação os efeitos da diidrotestosterona nos embriões masculinos tornam-se mais evidentes, manifestando-se por um aumento da separação do seio urogenital do canal anorretal. As pregas labioescrotais fundem-se medialmente pra formar o escroto, e as pregas uretrais fundem-se para dar origem à uretra peniana, que se encontra completamente formada na 14ª semana gestacional. A uretra distal peniana é formada por uma combinação da fusão das placas uretrais e da interiorização das células ectodérmicas localizadas no segmento distal da glândula peniana. No homem

adulto esta distinção embriológica manifesta-se pela diferença dos epitélios encontrados na uretra peniana em seu 1/3 médio e posterior como sendo um padrão do epitélio pseudoestratificado, enquanto que na uretra glandar manifesta-se por um epitélio escamoso de revestimento. Especula-se assim que é necessário um intenso mecanismo de interatividade entre o mesênquima uretral, hormônios e neurotransmissores, mediados pela ação diidrotestosterona (Moore & Persaud, 2012).

Na ausência de diidrotestosterona o períneo primitivo não se alonga e as pregas lábio escrotais não se fundem na linha média. O falo desloca-se inferiormente formando o clitóris e o seio urogenital definitivo torna-se o vestíbulo vaginal. As pregas uretrais irão formar os pequenos lábios e os folhetos lábio escrotais formarão os grandes lábios (Ravasi et al., 2012).

Desenvolvimento fenotípico semelhante pode suceder em embriões com fenótipos masculinos em que ocorra ausência da enzima cinco alfa redutase ou naqueles com alterações do metabolismo da testosterona e diidrotestosterona. Também se sabe atualmente do papel determinante do gene HOX4 para a diferenciação fenotípica do sistema urogenital masculino onde, na sua ausência podem ocorrer estágios de intersexo (Ravasi et al., 2012).

Em humanos, o crescimento do pênis ocorre em quatro fases: precocemente na gestação, resultando num comprimento médio no recém-nascido de 3,5cm; do nascimento até os dois anos, quando ocorre um acréscimo de 1,5 cm; dos dois aos 11 anos, novo acréscimo de 1,5 cm; e na puberdade, quando atinge o tamanho adulto (Park, 2002). O mecanismo de cessação do crescimento não está claro (Sthephens et al., 2002).

O desenvolvimento do pênis começa na 8ª semana gestacional. O desenvolvimento completo da uretra ocorre na 14ª semana e o prepúcio envolve a glândula na 21ª semana (de Carvalho et al., 2012; Moore & Persaud, 2012). O comprimento do pênis fetal aumenta significativamente com a idade gestacional, a partir de um valor de aproximadamente 6,0 mm com 16 semanas a 26,4 mm com 38 semanas (Favorito et al., 2004; Perlitz et al., 2011, Sharony et al., 2012).

As trabéculas do corpo cavernoso e a túnica albugínea são as principais estruturas envolvidas na fisiologia peniana. Elas são feitas de células endoteliais, células

musculares e matriz extracelular, a qual tem como principais componentes o colágeno, fibras do sistema elástico e proteoglicanos e glicosaminoglicanos (Bastos et al., 2005).

Estudos prévios do pênis fetal mostraram que a concentração de colágeno aumenta de forma constante e praticamente dobra entre as idades de 17 e 33 semanas sugerindo que importantes mudanças no desenvolvimento do pênis relativo a matriz extracelular ocorrem nesse período (Bastos et al., 2005).

Anatomia Macroscópica do Pênis

O pênis é um órgão que faz parte de dois sistemas: sistema urinário e sistema reprodutor. É o órgão de cópula masculino. É composto por três corpos cilíndricos de estrutura erétil: um par de corpos cavernosos, situados dorsalmente e um corpo esponjoso, situado ventralmente além de fâscias, nervos e vasos, todos recobertos pela pele. A maior parte do pênis é formada pelos corpos cavernosos, os quais se originam na sínfise púbica. Correm lado a lado separados por um septo incompleto e estão envolvidos pela túnica albugínea. Ventralmente aos corpos cavernosos está localizado o corpo esponjoso, que abriga no seu interior a uretra e possui duas dilatações: uma proximal, o bulbo esponjoso e outra distal, a glândula do pênis. Os três corpos de estrutura erétil estão envoltos por uma camada de tecido fibroso, a túnica albugínea, que varia em espessura tornando-se mais delgada ao envolver o corpo esponjoso. Além da túnica albugínea as três estruturas apresentam duas fâscias: a fâscia Buck ou profunda e a fâscia Dartos, também conhecida como túnica Dartos ou superficial. A derme e a epiderme recobrem estas estruturas (Gray et al., 1988; Latarjet et al., 1993). As artérias que suprem os corpos eréteis são as artérias do bulbo do pênis e artéria dorsal do pênis, ambas provenientes das artérias pudendas internas (ramos das artérias ilíacas internas). Formam uma importante rede vascular cujas artérias de maior diâmetro são as artérias profundas do pênis (Gray et al., 1988; Goldstein et al., 1982).

Histologia

Embora, formado apenas por dois tipos de células não estromais, células musculares lisas, e células endoteliais, o corpo cavernoso tem uma complexa anatomia microscópica formando uma rede esponja de espaços sinusoidais. Esta estrutura é suportada por um tecido conjuntivo e ligado a um sistema vascular e neuronal para facilitar e controlar o fluxo de sangue que propicia a ereção. O tecido erétil do pênis humano (corpo cavernoso) é composto de fibras elásticas, fibras colágenas, músculo liso, artérias e veias, que são envolvidas pela túnica albugínea formada, principalmente de colágeno e tecido elástico. Estas estruturas penianas possuem funções importantes no mecanismo da ereção (Goldstein et al., 1982; Wespes et al., 1991).

O interior do corpo cavernoso e corpo esponjoso estão divididos por trabéculas que formam numerosos espaços vasculares, denominados sinusóides. As trabéculas são formadas por matriz extracelular e fibras musculares lisas. Estes elementos dão sustentação aos nervos, sinusóides, endotélio e artérias (Iacono et al., 1994).

Matriz Extracelular

A matriz extracelular é a uma rede estrutural complexa formada por macromoléculas que circundam e sustentam as células dentro do tecido conjuntivo. É formada por diferentes moléculas que são produzidas e exportadas pelas células modulando a estrutura, fisiologia e biomecânica dos tecidos. A matriz extracelular é dividida nos seguintes componentes principais: Componentes fibrilares - colágeno e sistema elástico fibrilar; Componentes não fibrilares – proteoglicanos e glicoproteínas não colagênicas (Gartner et al., 2007).

Colágeno

As fibras colágenas são as proteínas fibrosas mais abundantes no reino animal, representando cerca de 1/3 do total das proteínas encontradas nos tecidos e resistentes a tensão (van der Rest et al., 1991). As fibras colágenas são constituídas por três cadeias protéicas longas organizadas em alfa-hélice. Uma característica do colágeno é que 30% dos aminoácidos correspondem à glicina. A estrutura primária das cadeias é formada por uma sequência de três aminoácidos: Gly-X-Y (domínios colagênicos), que se repetem por grandes extensões. Os aminoácidos colocados nas posições x e y são frequentemente prolina e hidroxiprolina, respectivamente. Cada cadeia de colágeno tem suas próprias características quanto à composição de aminoácidos, que são utilizados para identificar o tipo de colágeno (Kadler et al., 1996). O tamanho e a forma das fibras colágenas variam dependendo do tecido e do órgão, mesmo dentro da mesma espécie. Seu diâmetro pode variar de 1 a 20 µm e apresentam um curso ondulado, mesmo quando formam fibras densas de tecido conjuntivo como, por exemplo, nos tendões. A forma ondulada aumenta a resistência dessas fibras, suportando melhor as tensões (Ushiki et al., 2002).

Sistema Elástico Fibrilar

No tecido conjuntivo, as fibras do sistema elástico distinguem-se facilmente das colágenas por serem mais delgadas e não apresentarem estriação transversal. Essas fibras cedem facilmente mesmo a trações mínimas e retomam sua forma inicial após o término das forças deformantes (Junqueira & Carneiro, 2004). As fibras do sistema elástico apresentam uma cor amarelada quando observadas a fresco e são caracterizadas pelo alto grau de extensibilidade que apresentam. São encontradas em tecidos que são constantemente submetidos a grandes forças de estiramento (Cotta-Pereira et al., 1984). A fibra elástica é uma estrutura complexa formada por elastina, proteína microfibrilar, lisil-oxidase e proteoglicanos (Mecham et al., 1991).

Sabe-se que durante o processo de formação de uma fibra elástica, o componente microfibrilar é o primeiro que aparece. Em seguida a elastina é depositada provavelmente devido a uma interação iônica entre a elastina e a superfície microfibrilar como consequência de suas cargas opostas (Rosenbloom et al., 1993). De acordo com o

grau de associação entre esses componentes as fibras do sistema elástico são divididas em 3 tipos: 1- Fibras elásticas: constituídas em sua maior parte de elastina, em posição central, e um número reduzido de microfibrilas em posição periférica; 2- Fibras elaunínicas: com pouca elastina e grande número de microfibrilas organizadas em feixes; 3- Fibras oxitalânicas: compostas somente por microfibrilas (Gartner et al., 2007)

Fibras Musculares Lisas

A musculatura lisa dos corpos cavernosos do pênis apresenta-se geralmente como feixes ou folhetos de células fusiformes alongadas, com extremidades finas e gradativamente afiladas. As células variam quanto ao comprimento: de 20 μm nas paredes de pequenos vasos sanguíneos a cerca de 200 μm . Os núcleos das células musculares lisas estão localizados no centro da célula e, com frequência aparecem nos cortes transversais com a forma de saca rolhas. Essa característica é o resultado da contração celular durante a fixação, muito útil para se distinguir as células musculares lisas dos miofibroblastos nos cortes histológicos de rotina. Na célula não contraída, o núcleo aparece como uma estrutura alongada com extremidades afiladas gradativamente, situada no eixo central da célula. Quando em corte transversal, o núcleo de uma fibra muscular lisa aparece com um perfil arredondado ou circular, dependendo se a célula estiver contraída ou relaxada (Gartner et al., 2007). A célula muscular lisa é o principal componente de contração e relaxamento do corpo cavernoso. Para se alcançar a tumescência e manter a rigidez peniana, é preciso uma determinada percentagem de células musculares lisas (Wespes et al., 1991).

Sabendo que tais estruturas são importantes para a fisiologia do pênis adulto normal e comumente estão alteradas em diferentes situações clínicas ou experimentais (Abidu-Figueiredo et al.; 2011, Costa et al., 2006; Costa et al. 2009; Costa et al. 2010; Miranda et al. 2012; de Souza et al., 2012), torna-se interessante conhecer as modificações destas estruturas durante o desenvolvimento peniano intrauterino.

1 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi analisar, em fetos humanos, o crescimento da área do pênis, da túnica albugínea e das estruturas eréteis (corpos cavernosos e corpo esponjoso), bem como o aparecimento e modificações das principais estruturas que compõem estes tecidos (colágeno, músculo liso e fibra elástica) durante o período fetal (13 a 36 semanas pós-concepção), fornecendo padrões normativos de crescimento.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Comitê de Ética

O projeto de pesquisa bem como todos os documentos pertinentes foram submetidos à Plataforma Brasil (www.saude.gov.br/plataformabrasil) e avaliados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Pedro Ernesto (CEP/HUPE), em conformidade com o termo de cooperação / doação de fetos, entre a Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Fernandes Figueira e a Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). (Anexo)

Todo o trabalho foi realizado na Unidade de Pesquisa Urogenital do Centro Biomédico da UERJ.

2.2 Descrição da Amostra

Os fetos provenientes de doação foram alocados em grupo do sexo masculino dentro do segundo e terceiro trimestre de gestação. Nenhum dos fetos estudados apresentou morte relacionada ao aparelho urogenital. Todos estavam em bom estado de conservação e não apresentavam malformações congênitas aparentes (Figura 1).



Figura 1 - Feto humano do sexo masculino com 19 semanas pós-concepção, em bom estado de conservação e sem anormalidades aparentes.

2.3 Determinação da Idade Gestacional

A idade gestacional dos fetos foi determinada em semanas pós-concepção (SPC), de acordo com o critério do comprimento do maior pé (desde o calcanhar até a extremidade do dedo mais proeminente, 1o ou 2o dedo). Foram feitas 3 medidas de cada um dos pés, direito e esquerdo. Em seguida foi realizada a média entre as 3 medidas de cada um dos pés. Aquele que apresentasse a maior média seria utilizado para a determinação da idade gestacional. Atualmente, esse critério é o parâmetro mais aceito para o cálculo da idade gestacional (Hern, 1984; Mercer et al.; 1987; Platt et al. 1988; Sampaio, 1989; Sampaio & Ambrosio, 1990; Sampaio & Aragão 1990). Todas as medidas foram feitas pelo mesmo examinador.

2.4 Obtenção do Material Para Análise

Após diversas mensurações antropométricas usadas em outros projetos de pesquisa do laboratório, os fetos foram dissecados com uma lupa de magnificação com lentes de 16/25X. O bloco urogenital foi então removido em uma única peça que incluía genitália (pênis e testículos), bexiga, próstata, ureteres e rins (Figura 2).

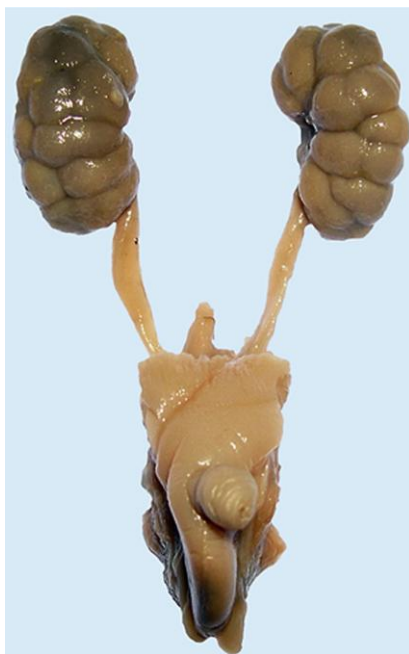


Figura 2 - Bloco urogenital dissecado, com visualização do pênis em sua integridade, bexiga, próstata, úraco, ureteres e rins.

2.5 Coleta do Pênis

Foram utilizados 56 fetos humanos do sexo masculino, com idades gestacionais compreendidas entre 13 e 36 semanas pós-concepção (SPC). Nenhum dos fetos estudados apresentou morte relacionada ao aparelho urogenital e todos apresentavam bom estado de preservação. O pênis foi separado do restante do bloco genital e fixado em formalina tamponada a 10%.

O número de fetos utilizados em cada idade gestacional variou de um a cinco (Tabela 1). A diferença de idade entre os fetos analisados foi de aproximadamente sete dias.

2.6 Técnicas Utilizadas Para Análise das Amostras

2.6.1 Microscopia de Luz

No Laboratório de Estrutura e Ultraestrutura da Unidade de Pesquisa Urogenital da UERJ foi realizado todo procedimento de preparo do material e obtenção dos resultados referentes à microscopia de luz.

O material utilizado para a microscopia de luz foi processado para inclusão em parafina. Os cortes histológicos foram feitos com 5- μ m de espessura com intervalo de 200- μ m entre cada corte e corados por diferentes técnicas histológicas.

Utilizando-se métodos histoquímicos e imunohistoquímicos foram analisados os seguintes elementos: corpo cavernoso, corpo esponjoso, túnica albugínea do corpo cavernoso, e ainda o colágeno, as fibras musculares lisas e as fibras elásticas no corpo cavernoso e no corpo esponjoso. As análises histológicas e morfométricas foram feitas em cortes transversais da porção media do corpo do pênis (Figura 3).

Foram utilizadas as seguintes técnicas:

- Hematoxilina & Eosina para caracterizar a integridade tecidual, e para medir a espessura da túnica albugínea,
- Tricrômico de Masson utilizado na maioria dos procedimentos morfométricos e quantificação do colágeno,
- Anti-alpha actina para identificação e quantificação das fibras musculares lisas,
- Anti-elastina para a identificação e quantificação das fibras do sistema elástico.

2.6.2 Análise Imunohistoquímica

Para a análise por imunohistoquímica foram utilizadas lâminas silanizadas para melhor fixar o tecido ao substrato. Foram utilizados anticorpos monoclonais para Anti-elastina (SIGMA E 4013, Saint Louis, Missouri, USA), Anti-alpha actina (Invitrogen, Camarillo, CA, USA). A etapa de reativação antigênica foi realizada em banho de tampão TRIS-EDTA (pH 9.0) overnight a 60°C. Os cortes foram submetidos ao bloqueio da peroxidase endógena e incubados em câmara úmida com reagente A (Invitrogen®) para o bloqueio dos sítios antigênicos. Após o bloqueio, foi colocado o anticorpo primário, permanecendo em câmara úmida. Em seguida foram incubados nos reagentes B (anticorpo secundário) e C (streptavidina). Os cortes foram revelados ao abrigo da luz com o uso do diaminobenzidina (DAB).

2.6.3 Análise Quantitativa

Toda análise quantitativa foi realizada utilizando-se o software Image J versão 1.46r (National Institutes of Health, NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://www.imagej.nih.gov/ij>).

2.6.4 Análise Estatística

Para análise estatística foi realizada regressão linear simples, na correlação de densidade de área tecidual *versus* idade gestacional (SPC), utilizando-se o Software Graphpad Prism 5.0, a partir da média dos valores encontrados em cada uma das idades analisadas. O valor de $p \leq 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo.

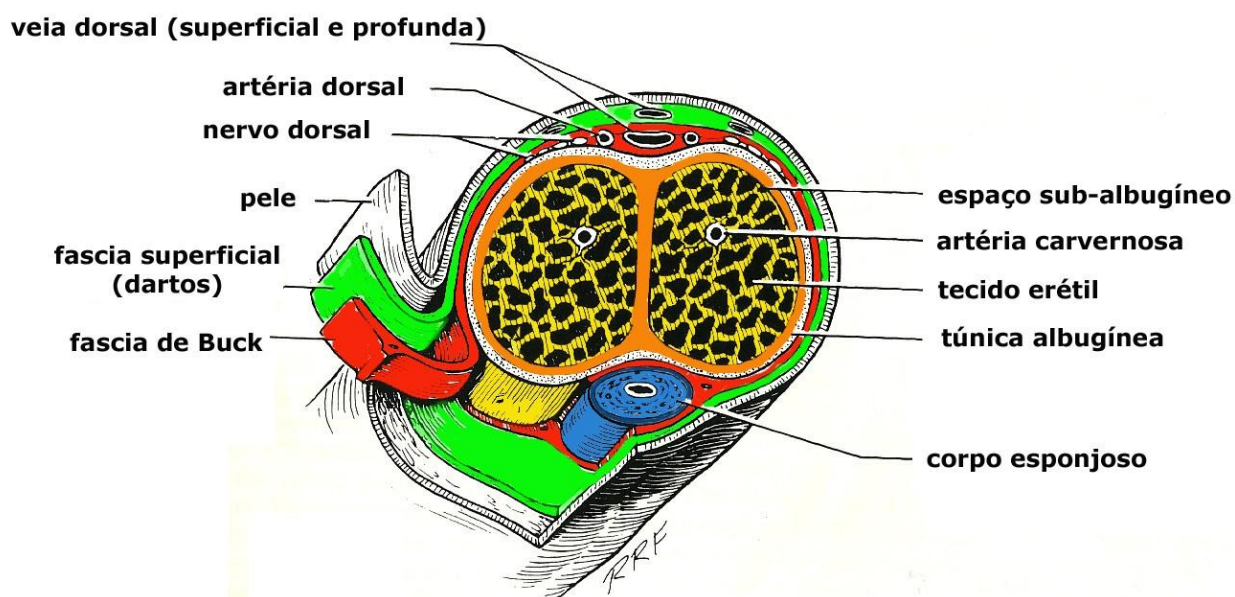


Figura 3 – Esquema de um corte transversal da porção média do corpo do pênis, demonstrando as estruturas analisadas. Modificado de Campbell Walsh - Urology - 10th Edition.

2.7 Métodos Quantitativos em Microscopia de Luz

2.7.1 Captura e Análise das Imagens

Todos os cortes dos tecidos foram fotografados sob as mesmas condições e com uma resolução de 2040 x 1536 pixels, com uma câmera digital (Olympus DP70, Tokyo, Japan) diretamente acoplada a um microscópio (Olympus BX51, Tokyo, Japan) e armazenada no formato de arquivo TIFF.

2.7.2 Morfometria do Pênis

2.7.2.1 Quantificação da Área do Pênis

Foram obtidos 5 cortes histológicos do pênis de cada feto, sendo analisados 1 campo para cada corte e aferidas 3 medidas em cada campo. Foi então realizada a média destas 3 medidas, determinando-se assim a área total do pênis, tomando-se como limite externo a fâscia de Buck.

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferição do tamanho do pênis (Figura 4).

Com as médias obtidas em cada feto, foi realizado o tratamento estatístico por análise de regressão linear simples.

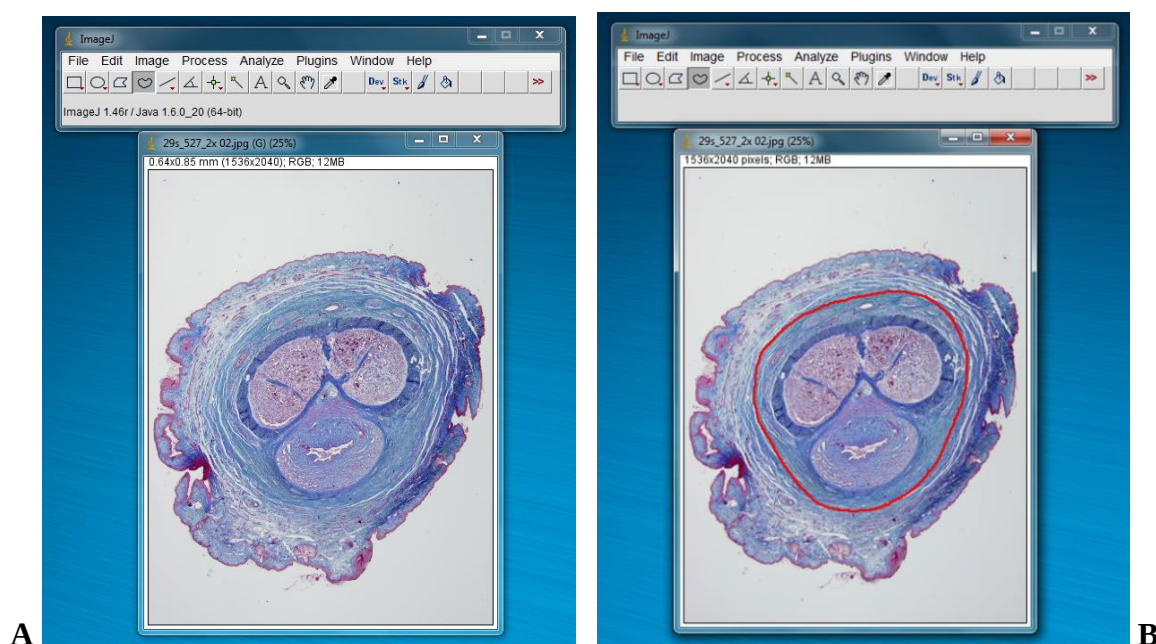


Figura 4 - Corte transversal demonstrando a aferição da área do pênis. A) Utilização do software Image J, devidamente calibrado para o aumento utilizado, para visualização da fotomicrografia. B) Marcação da área do pênis a ser aferida, para posterior utilização da ferramenta “Measure” para obtenção do valor da área do pênis.

2.7.3 Análises Realizadas no Corpo Cavernoso

2.7.3.1 Quantificação da Área do Corpo Cavernoso

Com a mesma imagem utilizada para aferir o tamanho do pênis, foram realizadas as aferições para a quantificação da área do corpo cavernoso, sendo analisados 1 campo para cada corte e aferidas 3 medidas em cada campo. Foi realizada a média destas 3 medidas, determinando-se assim o tamanho do corpo cavernoso.

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferição do tamanho do corpo cavernoso (Figura-5).

Com as médias obtidas de cada feto foram realizados o tratamento estatístico da análise de regressão linear simples e o teste para coeficiente de correlação.



Figura 5 - Corte transversal do pênis, demonstrando a marcação do corpo cavernoso para aferição, e posterior utilização da ferramenta “Measure” para obtenção do valor da área do corpo cavernoso.

2.7.3.2 Quantificação da Espessura da Túnica Albugínea do Corpo Cavernoso

Foram obtidos 5 cortes histológicos do pênis de cada feto, sendo analisados 1 campo para cada corte e aferidas 4 medidas na região dorsal (2 a cada lado) e 4 medidas na região ventral (2 a cada lado), em cada campo. Foi então realizada a média das medidas da região dorsal e a média das medidas da região ventral, determinando-se assim a espessura da túnica albugínea do corpo cavernoso, nas regiões dorsal e ventral.

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferição do tamanho da túnica albugínea (Figura 6).

Com as médias obtidas por feto foi realizado o tratamento estatístico para análise de regressão linear simples.

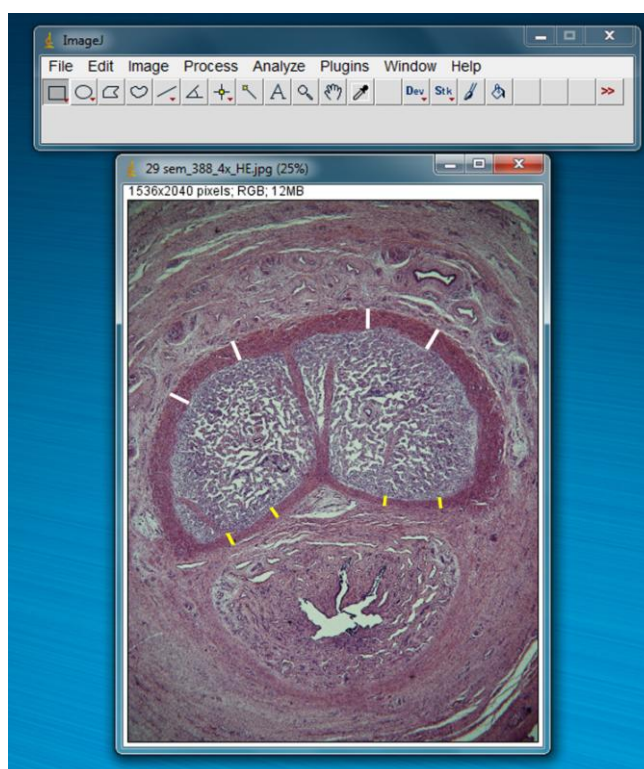


Figura 6 – Corte transversal do pênis demonstrando como foi realizada a marcação da espessura da túnica albugínea na região dorsal (branco) e na região ventral (amarelo). Foram realizadas 8 medidas para cada campo e aferida a espessura da túnica nas duas regiões.

2.7.3.3 Quantificação do Colágeno no Corpo Cavernoso

Nos cortes corados pelo método de Masson e capturados com objetiva de 100X, foi quantificada a porcentagem de colágeno na área do corpo cavernoso.

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferir a porcentagem de colágeno utilizando uma técnica computacional baseada em segmentação de cores. Com o "plugin" "Color Segmentation", estas áreas foram determinadas em porcentagem de acordo com a gama de cores selecionadas. Para cada imagem a relação entre as cores selecionadas foi calculada a porcentagem. Foram analisados 5 cortes histológicos do pênis de cada feto, 5 campos em cada corte, e foram feitas 3 aferições para cada campo e o resultado foi dado pela média das porcentagens obtidas para cada gama de cor (Figura 7).

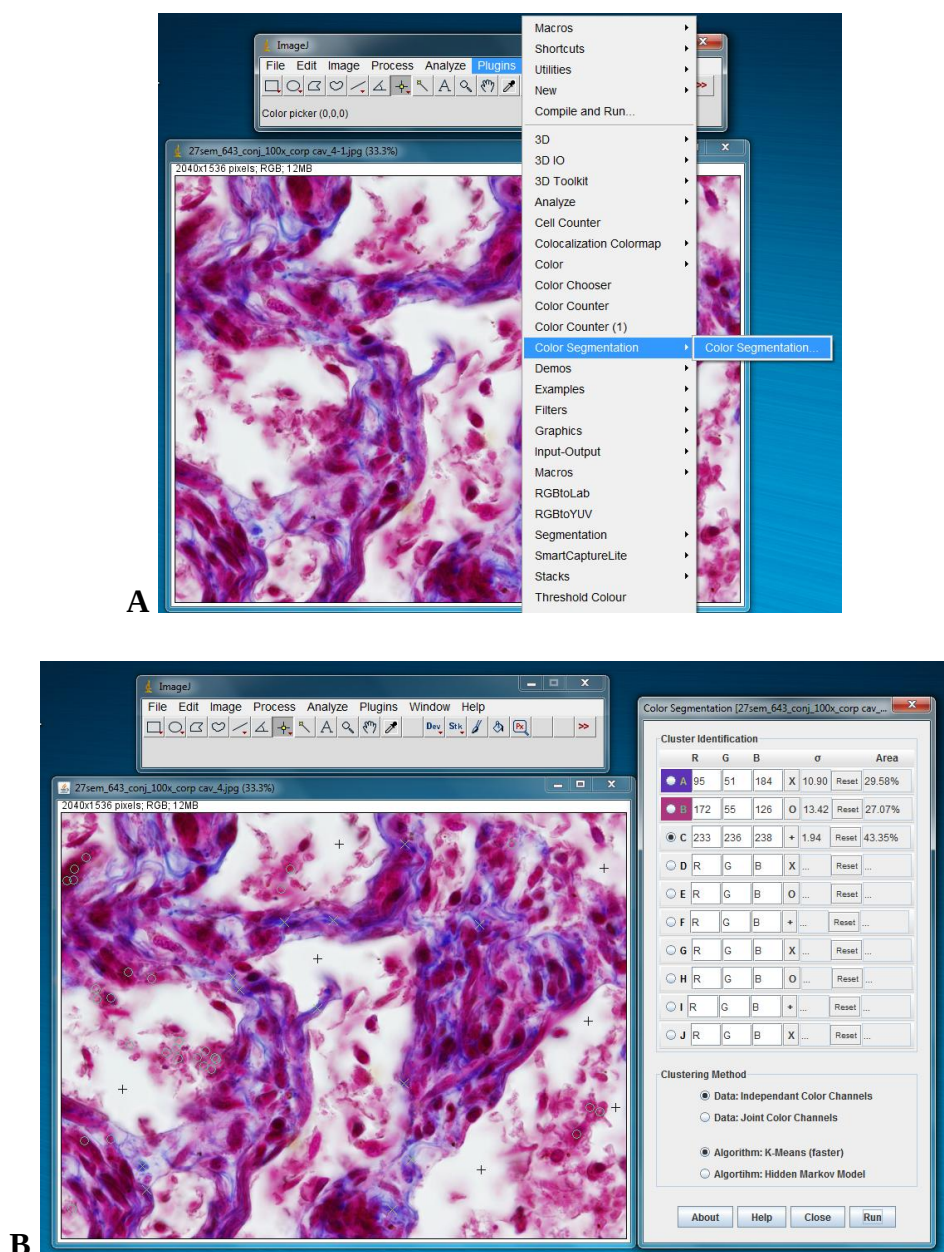


Figura 7 - Quantificação do colágeno. A) Utilização do “plugin” “Color Segmentation” para realização da quantificação percentual do colágeno no corpo cavernoso. B) Utilizando-se a ferramenta “pointcross” da barra de ferramentas, é realizada a seleção por gamas de cores RGB, podendo ser controlado o desvio padrão. Com a seleção de cores realizadas, a porcentagem referente a cada cor é mensurada, e consequentemente, a quantidade percentual aferida. Para o cálculo de quantificação do colágeno no corpo cavernoso, somente a porcentagem de área da cor “azul”, do “cluster identification” do “plugin” “Color Segmentation”, foi utilizada.

2.7.3.4 Quantificação do Músculo Liso no Corpo Cavernoso

Nos cortes marcados pelo método de imunohistoquímica para alpha actina e capturados com objetiva de 100X, foi quantificado a porcentagem de músculo liso na área do corpo cavernoso.

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferir a porcentagem de músculo utilizando a técnica computacional baseada em segmentação de cores. Com o "plugin" "Color Segmentation", estas áreas foram determinadas em porcentagem de acordo com a gama de cores selecionadas. Para cada imagem, em relação às cores selecionadas, foi calculada a porcentagem. Foram analisados 5 cortes histológicos de cada pênis, 5 campos em cada corte, e foram feitas 3 aferições para cada campo, e o resultado foi dado pela média das porcentagens obtidas para cada gama de cor (Figura 8).

Para o cálculo de quantificação do músculo no corpo cavernoso, somente a porcentagem de área da cor “acastanhada” do "cluster identification" do "plugin" "Color Segmentation" foi utilizada.

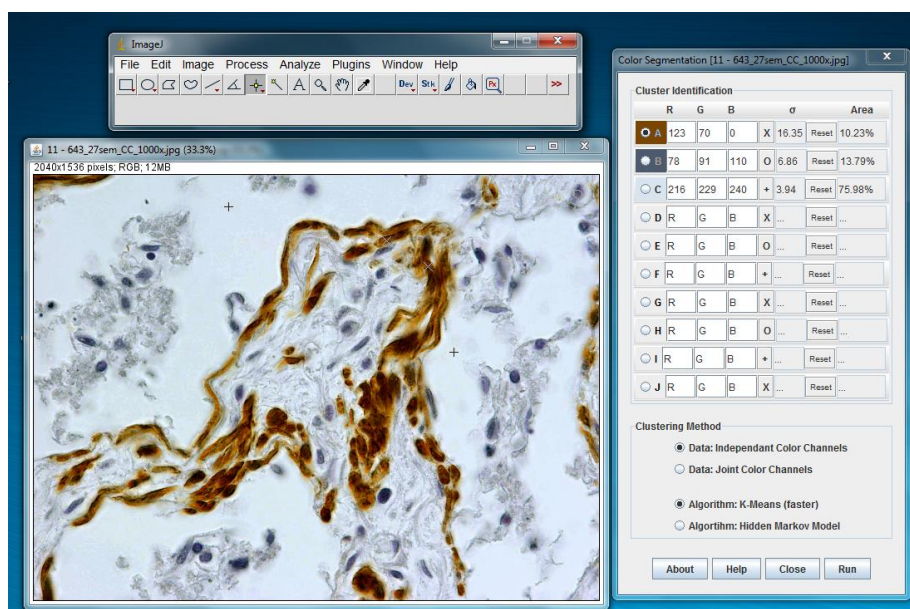


Figura 8 – Quantificação do músculo liso no corpo cavernoso. Com a seleção de cores realizada, a porcentagem referente a cada cor é mensurada, e consequentemente, a quantidade percentual aferida. Para o cálculo de quantificação do músculo liso no corpo cavernoso, somente a porcentagem de área da cor "acastanhada" do "cluster identification" do plugin Color Segmentation foi utilizada.

2.7.3.5 Quantificação de Fibras do Sistema Elástico no Corpo Cavernoso

Nos cortes marcados pela técnica de Imunohistoquímica para elastina e capturados com objetiva de 100X, foi quantificado a porcentagem de fibras elásticas, na área do corpo cavernoso (Figura 9).

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferir a porcentagem de músculo utilizando a técnica computacional baseada em segmentação de cores. Com o "plugin" "Color Segmentation", estas áreas foram determinadas em porcentagem de acordo com a gama de cores selecionadas. Para cada imagem, em relação às cores selecionadas, foi calculada a porcentagem. Foram analisados 5 cortes histológicos de cada pênis, 5 campos em cada corte e foram feitas 3 aferições para cada campo, e o resultado foi dado pela média das porcentagens obtidas para cada gama de cor.

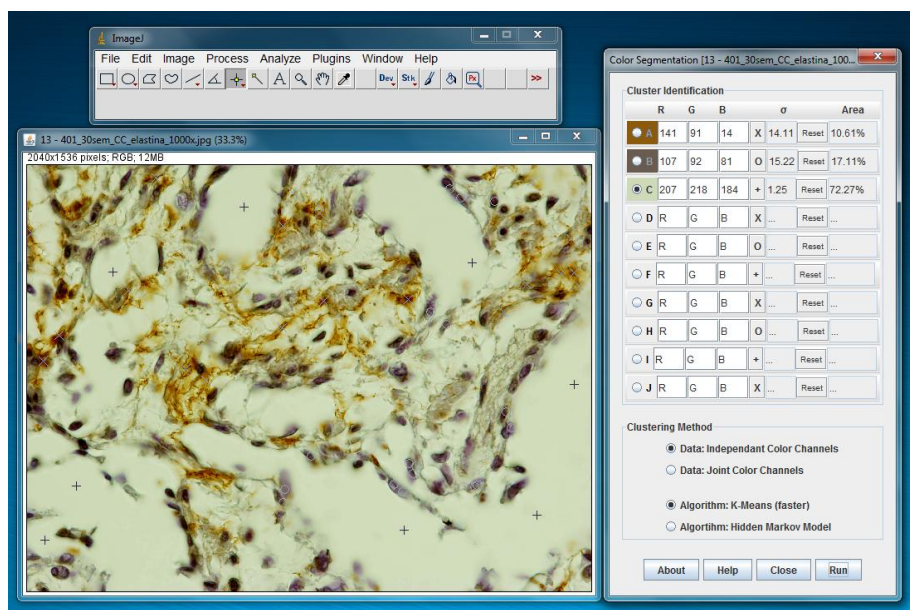


Figura 9 – Quantificação de fibras do sistema elástico no corpo cavernoso. Com a seleção de cores realizadas, a porcentagem referente a cada cor é mensurada, e consequentemente, a quantidade percentual aferida. Para o cálculo de quantificação de fibras elástica no corpo cavernoso, somente a porcentagem de área da cor "castanho claro", do "cluster identification" do "plugin" "Color Segmentation", foi utilizada.

2.7.4 Análises Realizadas no Corpo Esponjoso

2.7.4.1 Quantificação da Área do Corpo Esponjoso

Com imagem semelhante àquela utilizada para aferir o tamanho do pênis, foram realizadas as aferições para a quantificação da área do corpo esponjoso, sendo analisados 1 campo para cada corte e aferidas 3 medidas em cada campo. Foi realizada a média das 3 medidas, determinando-se assim a área do corpo esponjoso (Figura 10).

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferição do tamanho do corpo esponjoso (Figura 10). Com as médias obtidas por feto foi realizado o tratamento estatístico com análise de regressão linear simples.



Figura 10 - Quantificação da área do corpo esponjoso. Marcação do corpo esponjoso para aferição e utilização da ferramenta "Measure" para obtenção do valor da área do corpo esponjoso.

2.7.4.2 Quantificação do Colágeno no Corpo Esponjoso

Nos cortes corados pela técnica de tricrômico de Masson e capturados com objetiva de 100X, foi quantificada a porcentagem de colágeno na área do corpo esponjoso (Figura 11).

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio "plugin" (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferir a porcentagem de colágeno utilizando uma técnica computacional baseada em segmentação de cores. Com o "plugin" "Color Segmentation", estas áreas foram determinadas em porcentagem de acordo com a gama de cores selecionadas (Figura 11). Para cada imagem, em relação às cores selecionadas, foi calculada a porcentagem. Foram analisados 5 cortes histológicos de cada pênis, 5 campos em cada corte, e foram feitas 3 aferições para cada campo e o resultado foi dado pela média das porcentagens obtidas para cada gama de cor.

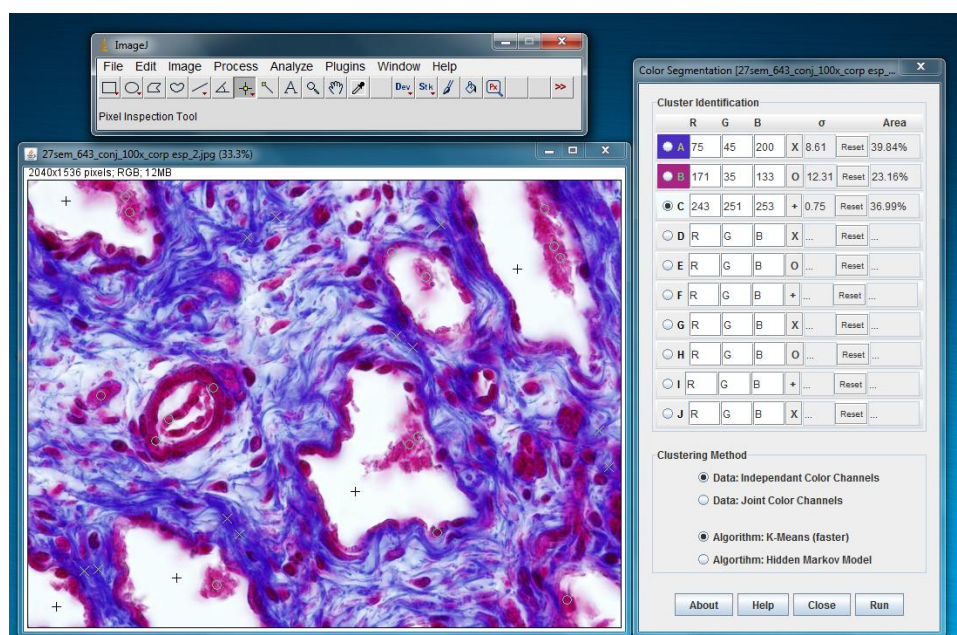


Figura 11 – Quantificação do colágeno corpo esponjoso. Com a seleção de cores realizada, a porcentagem referente a cada cor é mensurada, e consequentemente a quantidade percentual de área é aferida. Para o cálculo de quantificação do colágeno no corpo esponjoso, somente a porcentagem de área da cor "azul" do "cluster identification" do "plugin" "Color Segmentation" foi utilizada.

2.7.4.3 Quantificação do Músculo Liso do Corpo Esponjoso

Nos cortes marcado por imunohistoquímica para alpha actina e capturados com objetiva de 100X, foi realizada a mensuração da área do corpo esponjoso ocupada pelo músculo liso (Figura 12).

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, MD, USA), carregado com seu próprio "plugin" (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferir a percentagem de músculo utilizando a técnica computacional baseada em segmentação de cores. Com o "plugin" "Color Segmentation", estas áreas foram determinadas em porcentagem de acordo com a gama de cores selecionadas (Figura 12). Para cada imagem, em relação às cores selecionadas, foi calculada a percentagem. Foram analisados 5 cortes histológicos de cada pênis, 5 campos em cada corte, e foram feitas 3 aferições para cada corte, e o resultado foi dado pela média das porcentagens obtidas para cada gama de cor.

Para o cálculo de quantificação do músculo liso no corpo esponjoso, somente a porcentagem de área da cor "acastanhada" do "cluster identification" do "plugin" "Color Segmentation" foi utilizada (Figura-12).

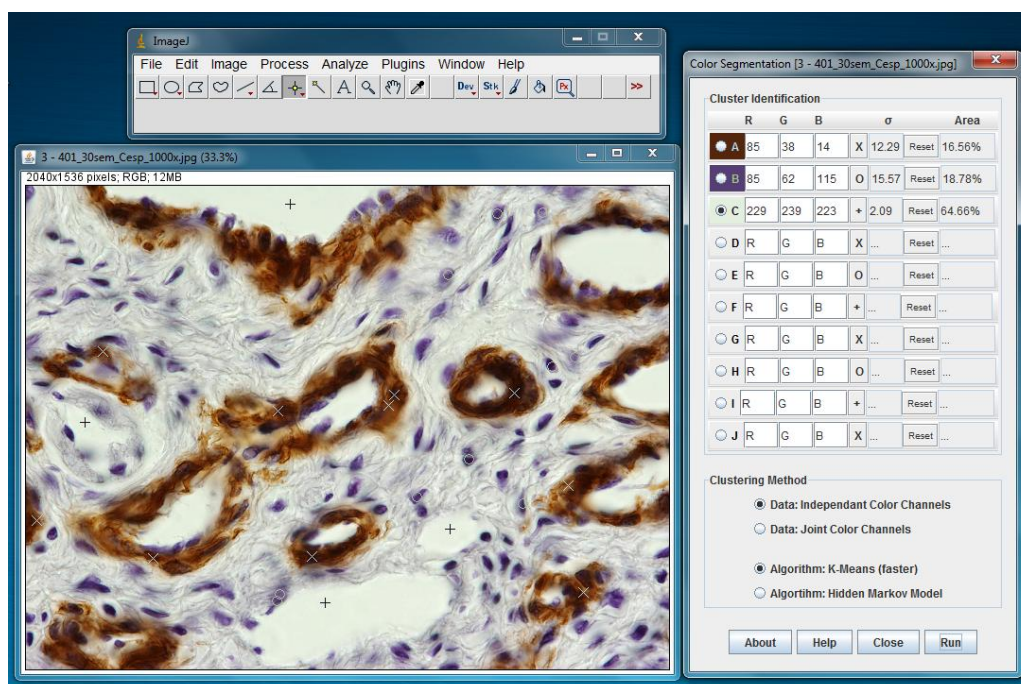


Figura 12 – Quantificação do músculo liso do corpo esponjoso. Para a quantificação somente a porcentagem de área da cor "acastanhada" do "cluster identification" do "plugin" "Color Segmentation" foi utilizada.

2.7.4.4 Quantificação de Fibras do Sistema Elástico no Corpo Esponjoso

Nos cortes marcados por imunohistoquímica elastina e capturados com objetiva de 100X, foi quantificado por porcentagem a área do corpo esponjoso ocupada pelas fibras do sistema elástico (Figura 13).

O software Image J versão 1.46r (NIH, Bethesda, USA), carregado com seu próprio "plugin" (<http://www.imagej.nih.gov/ij>) foi usado para aferir a porcentagem de fibras do sistema elástico utilizando a técnica computacional baseada em segmentação de cores. Com o "plugin" "Color Segmentation", estas áreas foram determinadas em porcentagem de acordo com a gama de cores selecionadas (Figura 13). Para cada imagem, em relação às cores selecionadas, foi calculada a porcentagem. Foram analisados 5 cortes histológicos de cada pênis, 5 campos em cada corte e foram feitas 3 aferições para cada corte, e o resultado foi dado pela média das porcentagens obtidas para cada gama de cor.

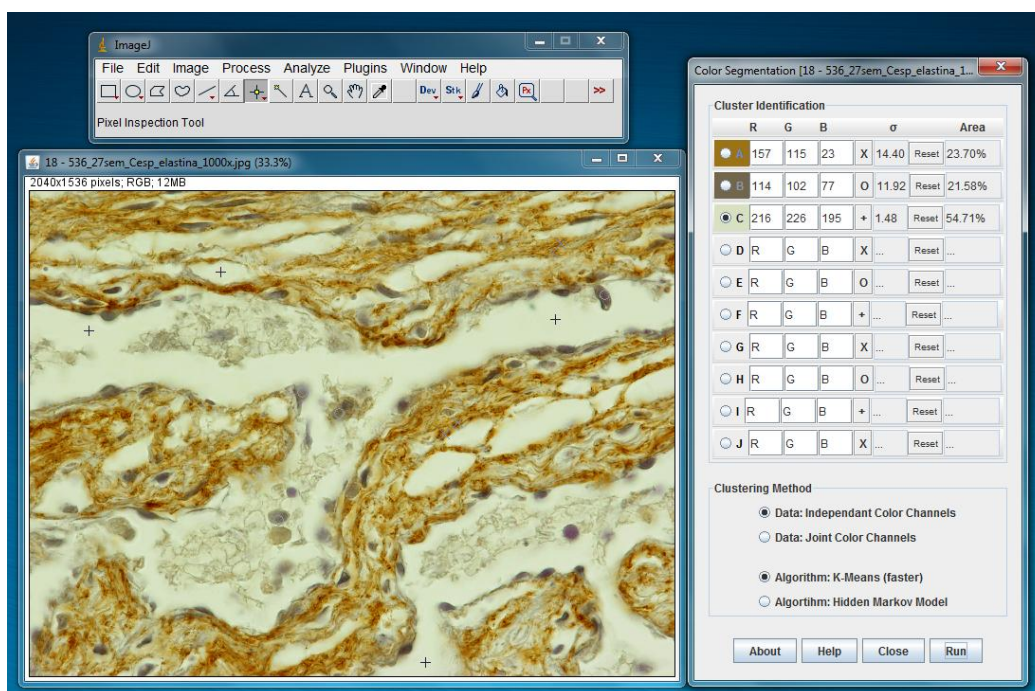


Figura 13 – Quantificação de fibras do sistema elástico no corpo esponjoso. Para o cálculo de quantificação percentual de fibras, somente a porcentagem de área da cor "castanho claro" do "cluster identification" do "plugin" "Color Segmentation" foi utilizada.

3 RESULTADOS

Na 13a. semana pós-concepção os corpos cavernosos, o corpo esponjoso e a túnica albugínea já são estruturas anatômicas bem individualizadas. Todas as análises deste trabalhos foram realizadas em cortes transversais da região média do corpo do pênis (Figura 14).

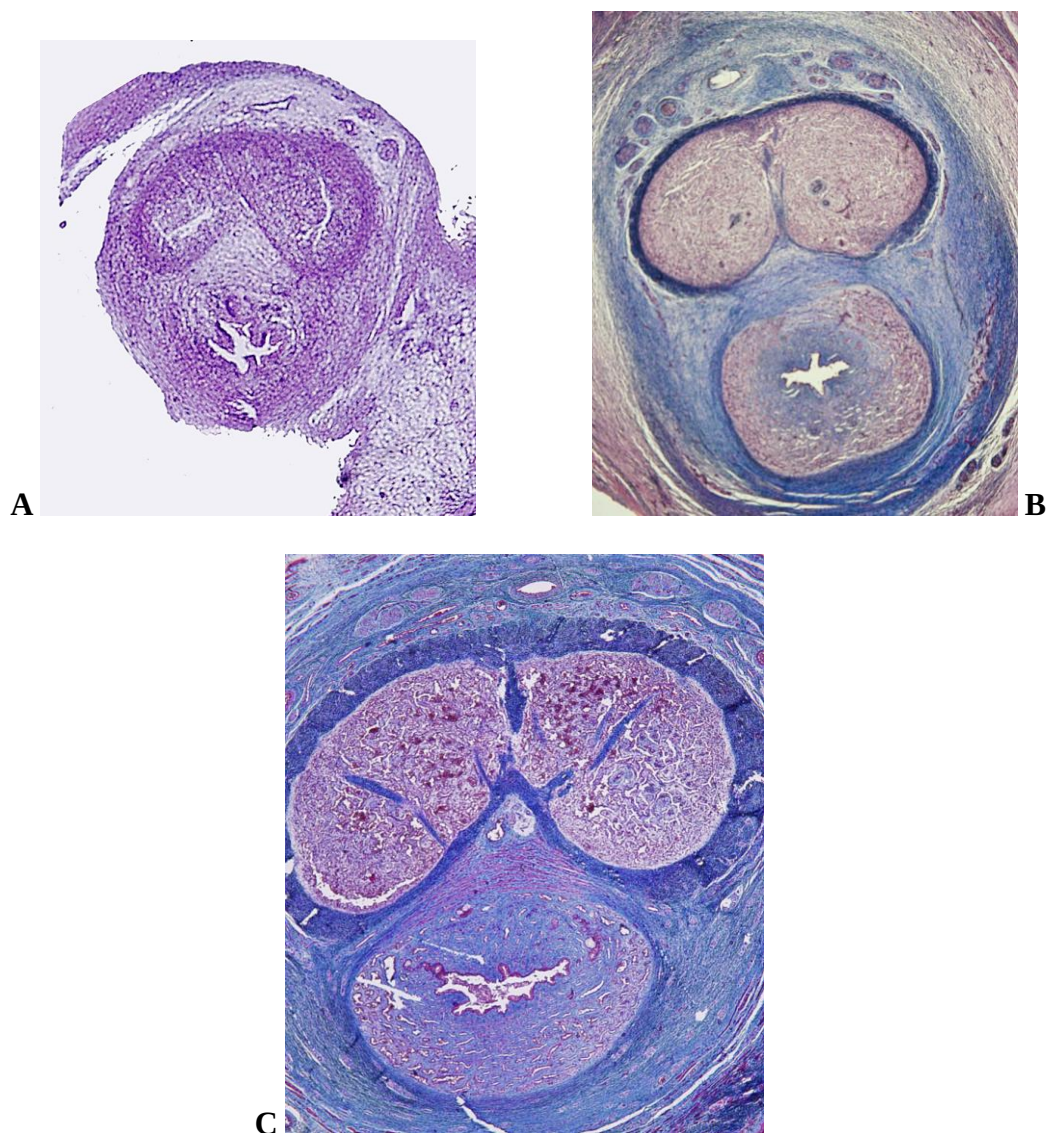


Figura 14 - Fotomicrografias de cortes transversais da porção média do corpo do pênis fetal em diferentes idades gestacionais, em semanas pós-concepção (SPC), mostrando os corpos cavernosos, túnica albugínea e corpo esponjoso como estruturas bem individualizadas. A) Feto com 13 SPC; B) Feto com 20 SPC; C) Feto com 29 SPC. Tricrômico de Masson, X40.

Os resultados apresentados nas tabelas e gráficos são referentes à média dos valores encontrados em cada uma das idades gestacionais analisadas.

Tabela 1 - Idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC) e valores médios, mínimos e máximos da Área do Pênis, do Corpo Cavernoso e do Corpo Esponjoso em mm².

SPC	No. de Fetos	Área do Pênis (mm²)	Área do Corpo Cavernoso (mm²)	Área do Corpo Esponjoso (mm²)
13	1	0,956 (0,956 – 0,956)	0,280 (0,280 – 0,280)	0,140 (0,140 – 0,140)
14	5	1,733 (1,414 – 1,812)	0,393 (0,277 – 0,531)	0,268 (0,231– 0,458)
15	4	1,470 (1,383 – 1,557)	0,492 (0,415 – 0,569)	0,264 (0,202 – 0,295)
16	2	3,969 (2,506 – 5,431)	1,202 (0,913 – 1,492)	0,624 (0,509 – 0,738)
17	4	3,780 (2,934 – 5,088)	1,642 (1,404 – 1,936)	0,636 (0,569 – 0,742)
18	5	4,607 (4,087 – 5,127)	1,425 (1,228 – 1,622)	0,892 (0,808 – 0,981)
20	5	10,350 (9,260 – 10,864)	2,716 (2,534 – 2,915)	1,019 (0,976 – 1,784)
21	4	11,791 (8,304 – 11,232)	4,903 (3,231 – 5,371)	1,915 (1,825 – 2,546)
22	4	9,727 (9,260 – 11,731)	3,260 (2,546 – 4,095)	1,441 (1,245 – 1,867)
23	3	10,894 (9,396 – 12,392)	2,672 (2,654 – 2,724)	1,435 (1,203 – 1,668)
24	4	11,232 (8,290 – 14,174)	3,050 (1,867 – 4,233)	1,847 (1,142 – 2,552)
25	4	11,731 (10,192 – 15,158)	4,869 (3,364 – 5,371)	1,894 (1,207 – 2,581)
27	4	17,513 (16,288 – 18,938)	8,678 (8,348 – 9,007)	3,469 (3,213 – 3,725)
28	1	21,104 (21,104 – 21,104)	9,866 (9,866 – 9,866)	3,717 (3,717 – 3,717)
29	2	18,956 (13,279 – 24,633)	5,450 (4,095 – 6,805)	3,031 (2,482 – 3,580)
30	1	19,319 (19,319 – 19,319)	5,817 (5,817 – 5,817)	2,578 (2,578 – 2,578)
32	1	16,692 (16,692 – 16,692)	5,013 (5,013 – 5,013)	3,175 (3,175 – 3,175)
33	1	20,770 (20,770– 20,770)	8,832 (8,832 – 8,832)	3,243 (3,243 – 3,243)
36	1	24,250 (24,250– 24,250)	9,120 (9,120 – 9,120)	3,990 (3,990 – 3,990)

Da 13ª SPC até a 36ª SPC o valor da **Área do Pênis** medida a partir da fásia de Buck, variou de 0,95 mm² a 24,25 mm² (Tabela 1 e Figuras 15 a 17).

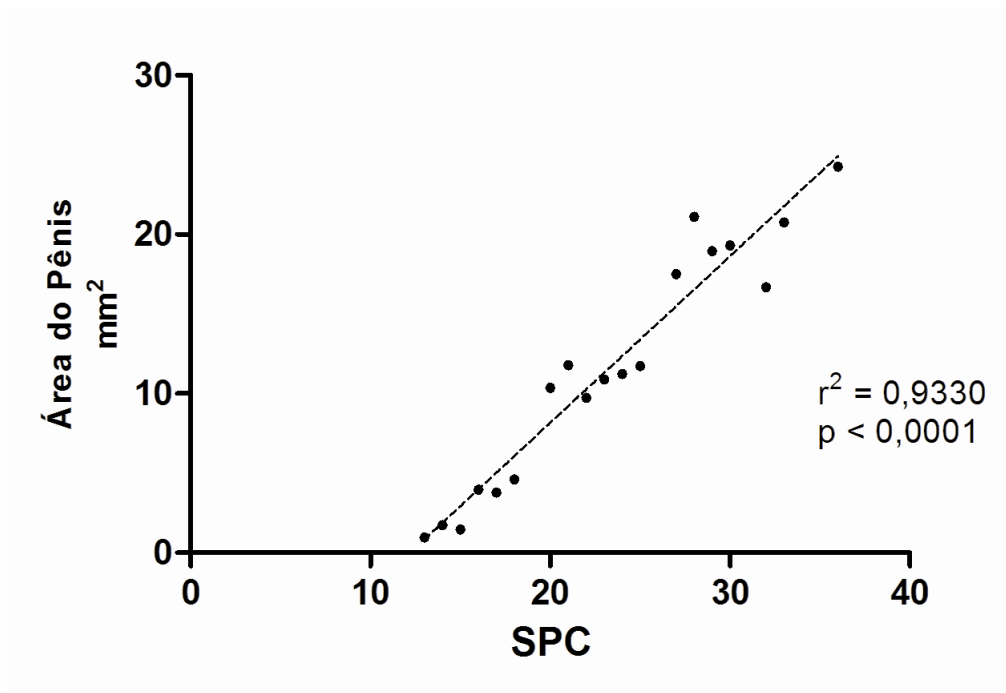


Figura 15 – Regressão Linear Simples - Área do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

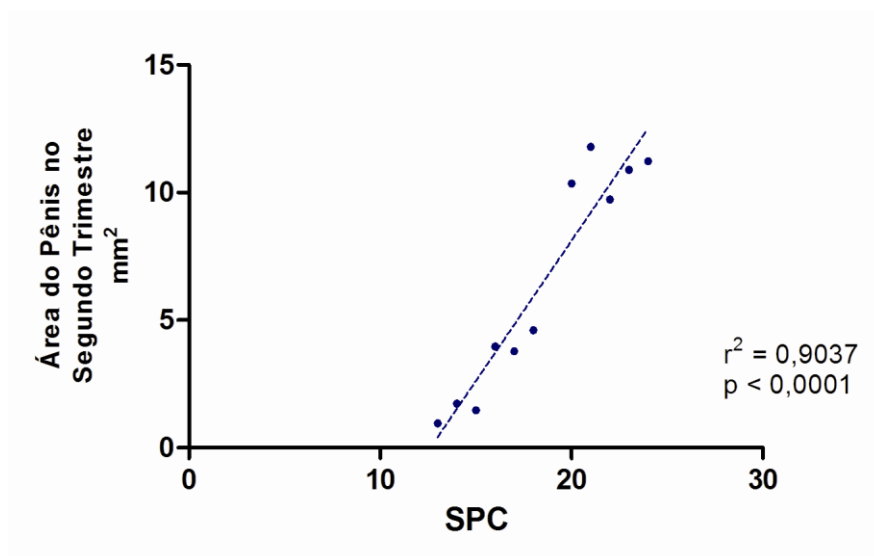


Figura 16 – Regressão Linear Simples - Área do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais, no **IIo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 semanas pós-concepção - SPC). Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

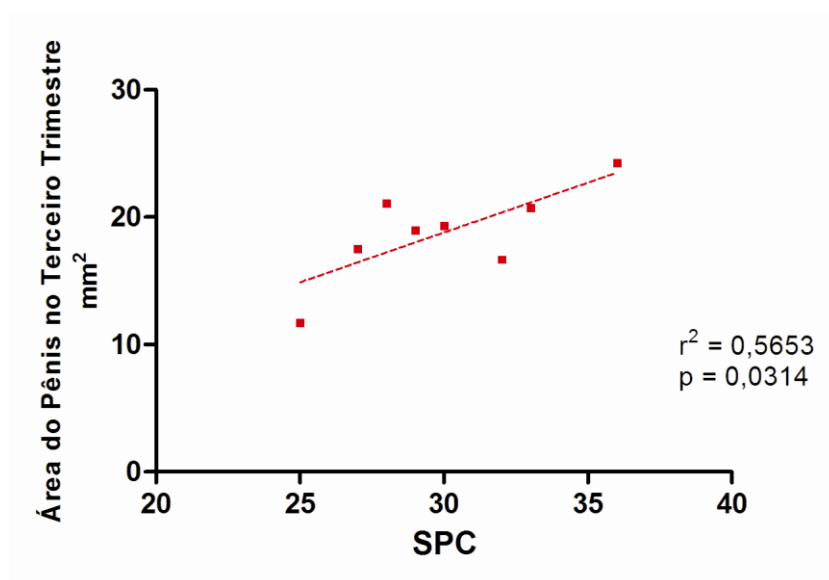


Figura 17 – Regressão Linear Simples - Área do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais, no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 semanas pós-concepção - SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

Da 13ª SPC até a 36ª SPC a **Área do Corpo Cavernoso** variou de 0,28mm² a 9,12mm² (Tabela 1, Figuras 18 a 20).

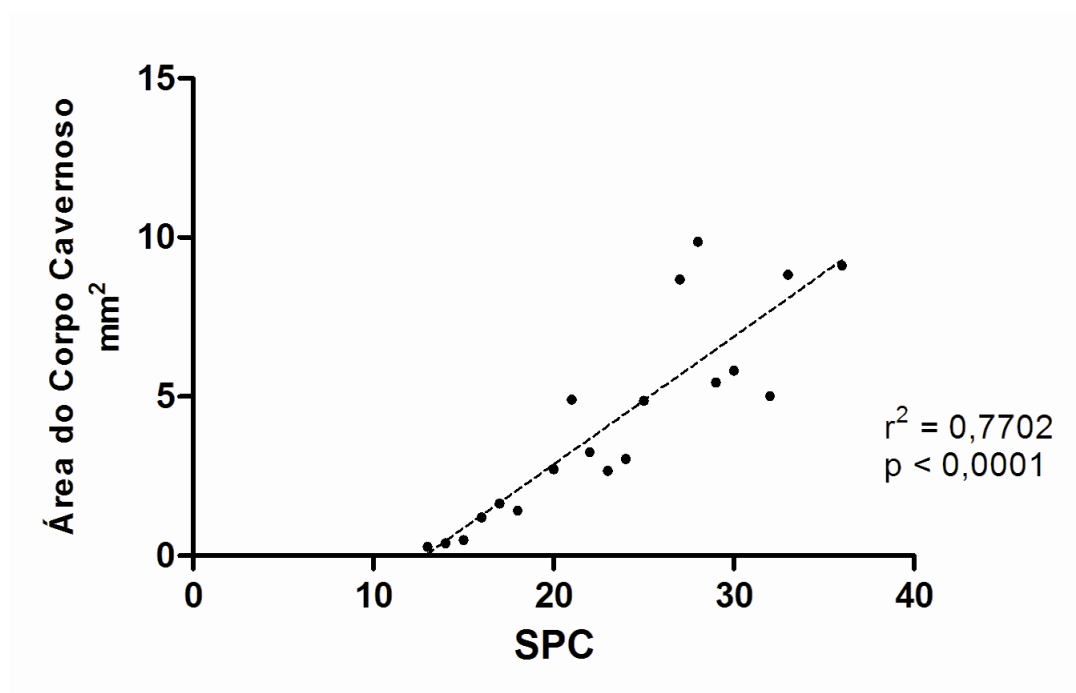


Figura 18 - Regressão Linear Simples - Área do corpo cavernoso do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

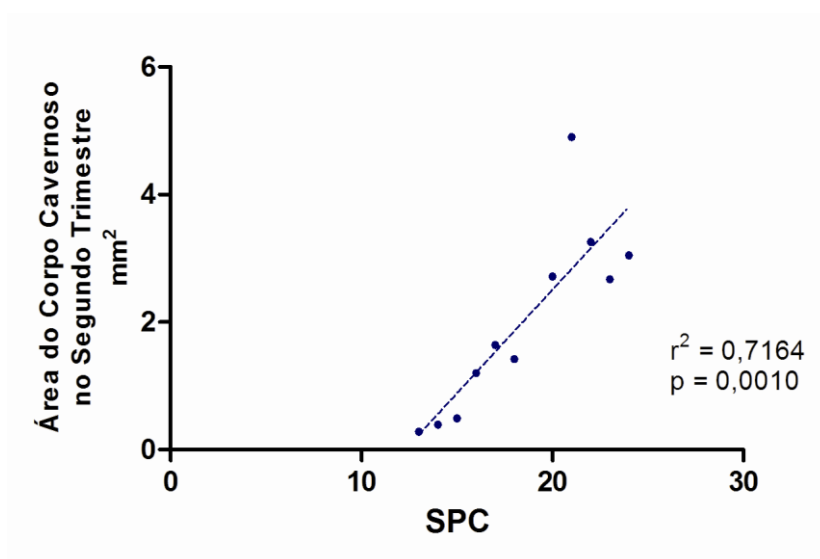


Figura 19 - Regressão Linear Simples - Área do corpo cavernoso do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais, no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram um crescimento correlacionado com a idade gestacional.

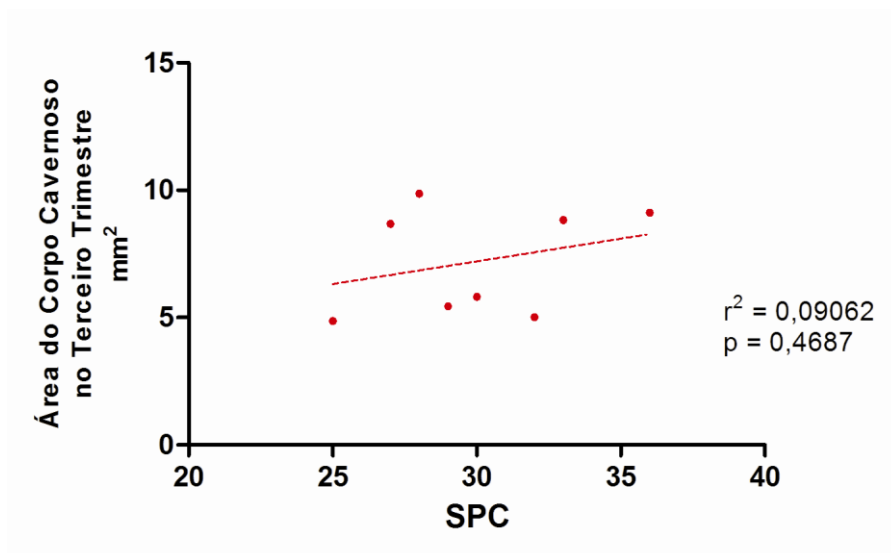


Figura 20 - Regressão Linear Simples - Área do corpo cavernoso do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais, no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 semanas pós-concepção – SPC). Não significativo.

Da 13ª SPC até a 36ª SPC a **Área do Corpo Esponjoso** variou de 0,14 mm² a 3,99 mm² (Tabela 1, Figuras 21 a 23).

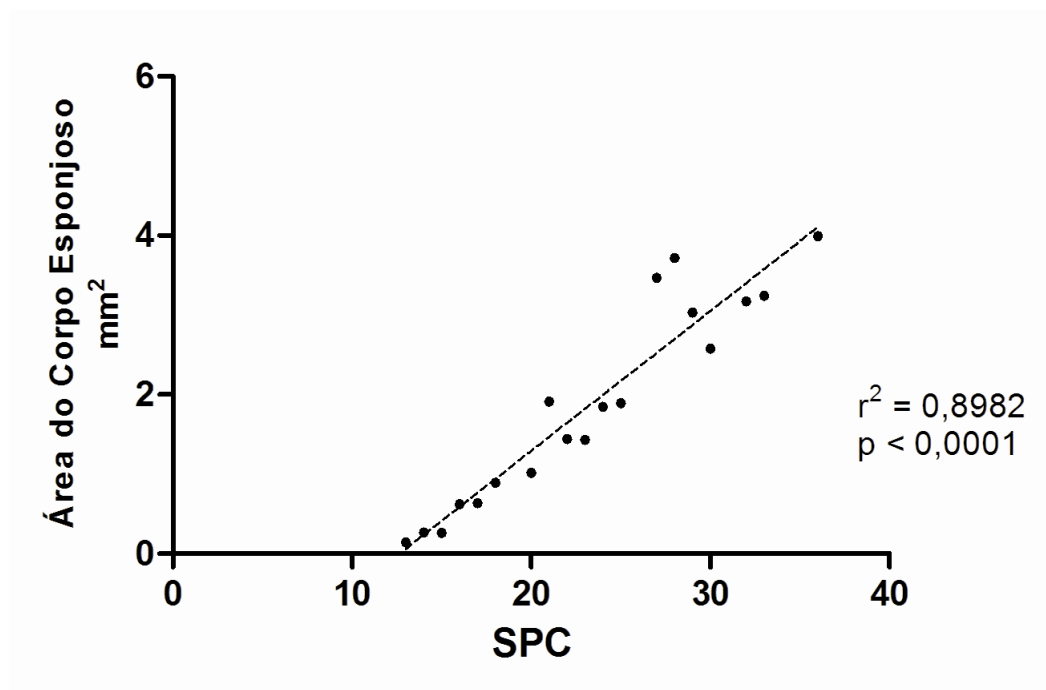


Figura 21 - Regressão Linear Simples - Área do corpo esponjoso do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

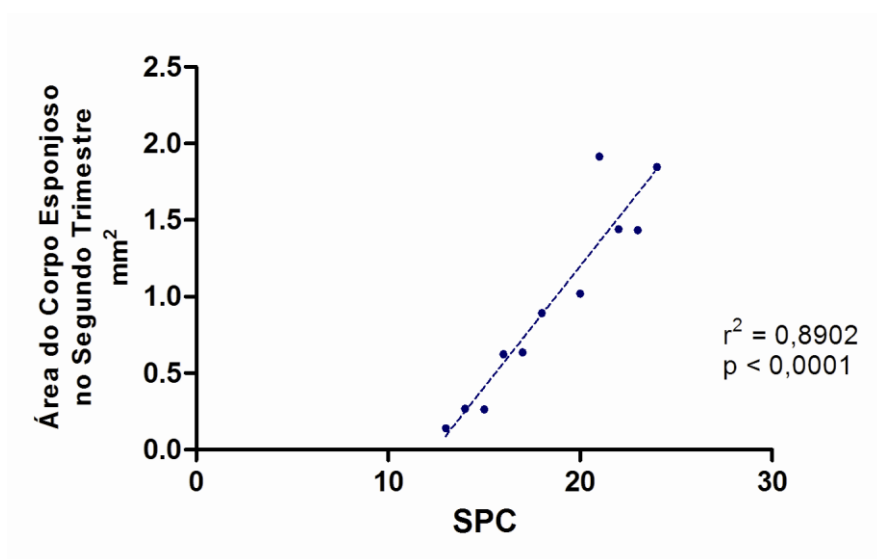


Figura 22 - Regressão Linear Simples - Área do corpo esponjoso do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais analisadas, no **IIo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram um crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

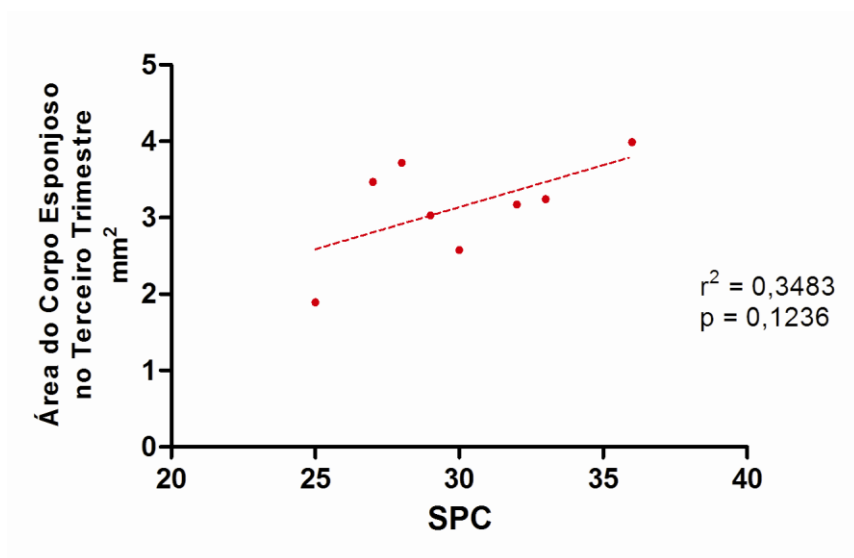


Figura 23 - Regressão Linear Simples - Área do corpo esponjoso do pênis em mm² nas diferentes idades gestacionais analisadas, no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 semanas pós-concepção – SPC). Não significativo.

Tabela 2 - Idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC) e quantificações por porcentagem de colágeno, músculo liso e fibras do sistema elástico no corpo cavernoso. Os resultados estão expressos em média, mínimo e máximo.

SPC	Colágeno no Corpo Cavernoso (%)	Músculo Liso no Corpo Cavernoso(%)	Fibras Elásticas no Corpo Cavernoso (%)
13	19,88 (13,50 – 26,98)	4,39(3,46 – 4,75)	1,91 (1,69 – 2,10)
14	23,74 (19,77 – 27,15)	6,27 (3,71 – 9,09)	1,92 (1,76 – 2,54)
15	26,00 (18,68 – 30,76)	8,91 (6,51 – 11,68)	3,30 (2,44 – 4,17)
16	29,79 (26,18 – 32,92)	10,48 (7,10 – 12,54)	*
17	30,21 (23,89 – 33,88)	10,79 (9,83 – 11,49)	3,18 (2,98 – 3,72)
18	30,62 (28,82 – 34,05)	13,97 (9,11 – 17,81)	3,36 (3,03 – 4,32)
20	30,96 (23,89 – 33,88)	14,00 (13,50 - 16,92)	3,99 (2,36 – 4,38)
21	31,51 (28,38 – 33,21)	16,38 (14,84 – 18,76)	4,05 (2,99 – 5,35)
22	31,58 (22,09 – 35,09)	16,37 (11,03 – 19,01)	4,10 (3,97 – 4,72)
23	31,36 (29,38 – 34,21)	17,50 (13,87 – 19,84)	4,66 (4,33 – 4,85)
24	31,68 (28,87 – 34,98)	19,43 (16,77 – 21,58)	4,57 (4,59 – 4,71)
25	31,79 (29,74 – 35,14)	20,15 (16,19 – 22,85)	4,93 (4,76 – 5,03)
27	32,16 (30,56 – 35,76)	20,33 (19,84 – 24,42)	5,50 (5,41 – 5,59)
28	34,83 (30,87 – 36,61)	24,63 (20,96 – 26,89)	*
29	35,05 (31,99 – 37,49)	25,49 (17,50 – 27,04)	*
30	34,46 (30,94 – 36,91)	27,00 (24,63 – 31,19)	6,56 (5,99 – 7,33)
32	34,38 (32,14 – 36,67)	28,42 (27,04 – 34,00)	7,39 (6,98 – 8,23)
33	35,76 (33,21 – 36,11)	29,11 (27,23 – 36,42)	8,04 (7,72 – 9,33)
36	36,60 (34,66 – 37,99)_	29,76 (28,46 – 33,09)	8,92 (8,78 – 10,92)

* Alguns cortes marcados por imunohistoquímica para anti-elastina apresentaram problemas e não foram passíveis de quantificação.

Tabela 3 - Idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC) e quantificações por porcentagem de colágeno, músculo liso e fibras do sistema elástico no corpo esponjoso. Os resultados estão expressos em média, mínimo e máximo.

SPC	Colágeno no Corpo Esponjoso (%)	Músculo Liso no Corpo Esponjoso (%)	Fibras do Sistema Elástico no Corpo Esponjoso (%)
13	34,65 (33,09 – 36,84)	0,60 (0,49 – 0,62)	3,22 (3,12 – 3,67)
14	35,21 (34,54 – 37,00)	1,50 (1,84 – 1,06)	4,20 (4,12 – 4,28)
15	36,84 (36,09 – 38,27)	3,00 (2,22 – 3,68)	7,31 (6,30 – 7,63)
16	36,55 (32,17 – 37,12)	4,50 (3,12 – 6,09)	*
17	37,24(36,03 – 39,89)	5,30 (2,45 – 5,57)	7,85 (6,85 – 8,96)
18	38,85 (36,03 – 41,10)	6,40 (5,61 – 7,36)	8,32 (7,50 – 8,64)
20	39,89 (39,55 – 40,22)	7,10 (6,41 – 7,20)	8,54 (6,68 – 9,04)
21	39,34 (38,95 – 39,75)	7,30 (7,15 – 8,93)	*
22	39,75 (33,27 – 46,78)	7,99 (6,72 – 8,93)	8,69 (8,35 – 9,35)
23	39,89(32,89 – 40,02)	8,10 (5,01 – 8,84)	8,75 (6,75 – 9,04)
24	39,31 (38,50 – 42,11)	8,90 (7,67 – 9,97)	9,02 (8,69 – 9,41)
25	39,97 (37,51 – 42,38)	9,00 (7,79 – 10,80)	9,15 (7,55 – 10,02)
27	40,33 (39,94 – 44,71)	9,60 (9,18 – 10,04)	9,61 (7,85 – 11,30)
28	42,05 (39,88 – 47,88)	10,20 (7,27 – 12,45)	*
29	43,07(38,74 – 48,47)	11,10 (9,35 – 12,10)	*
30	43,11(39,11 – 49,11)	11,60 (9,36 – 12,54)	10,15 (9,48 - 10,61)
32	45,18 (39,12 – 53,12)	11,90 (9,32 – 13,67)	11,25 (10,11 - 12,25)
33	45,22 (40,63 – 49,12)	11,70 (9,91 – 14,89)	11,62 (10,76 - 12,62)
36	45,89 (43,26 – 56,59)	11,90(8,78 - 16,55)	11,93 (10,98 - 13,93)

* Alguns cortes marcados por imunohistoquímica para anti-elastina apresentaram problemas e não foram passíveis de quantificação.

O **Colágeno** representou de 19,88% a 36,60% no **Corpo Cavernoso do Pênis**, da 13ª SPC à 36ª SPC (Tabela 2, Figuras 24 a 26).

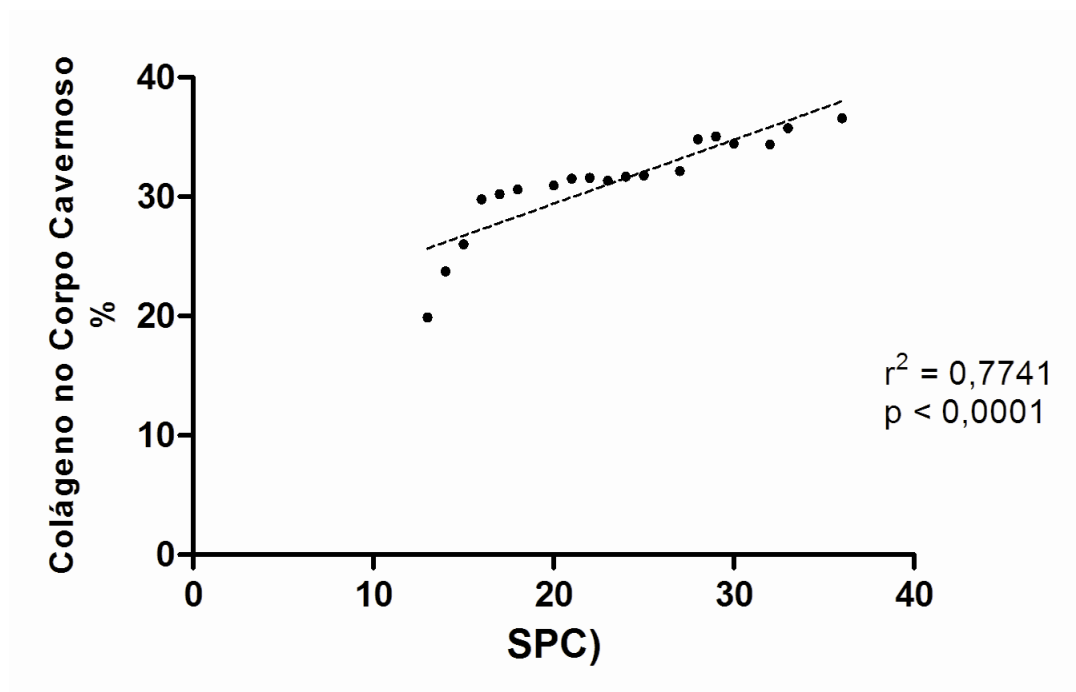


Figura 24 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de colágeno no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

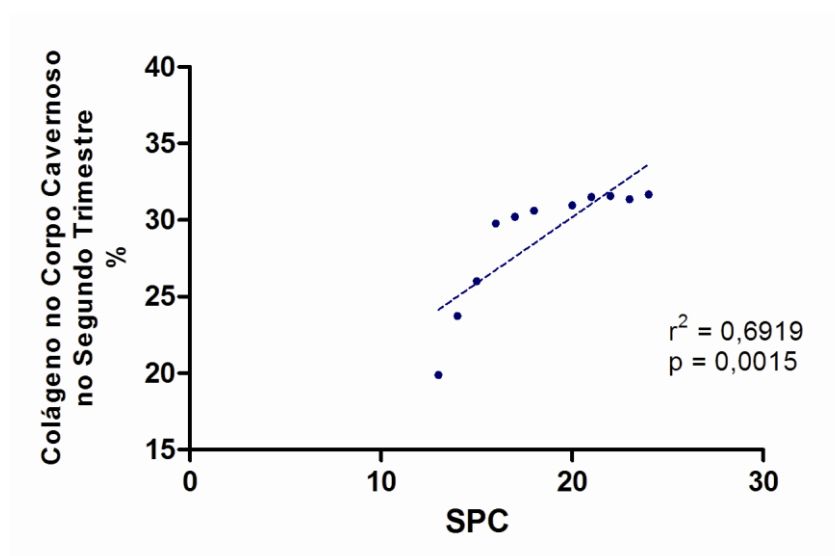


Figura 25 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de colágeno no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

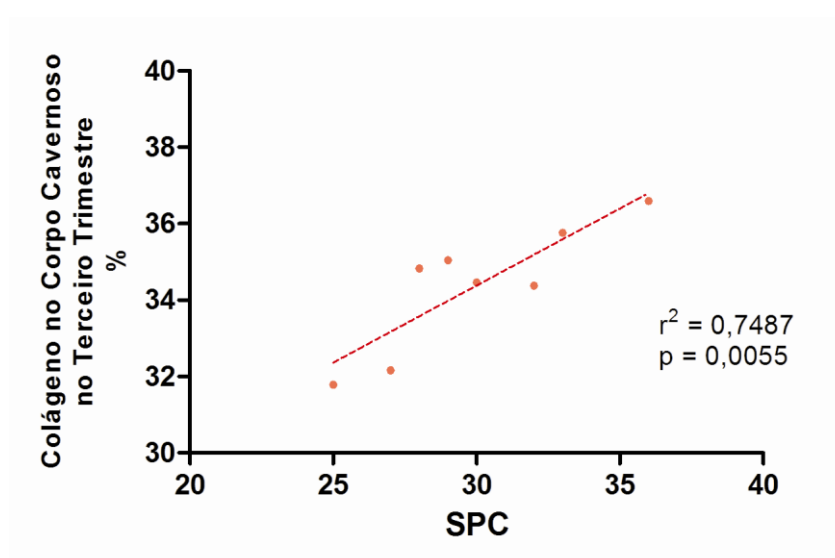


Figura 26 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de colágeno no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, no **IIlo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

O **Colágeno** representou de 34,65 a 45,89% no **Corpo Esponjoso do Pênis**, da 13ª SPC à 36ª SPC (Tabela 3, Figuras 27 a 29).

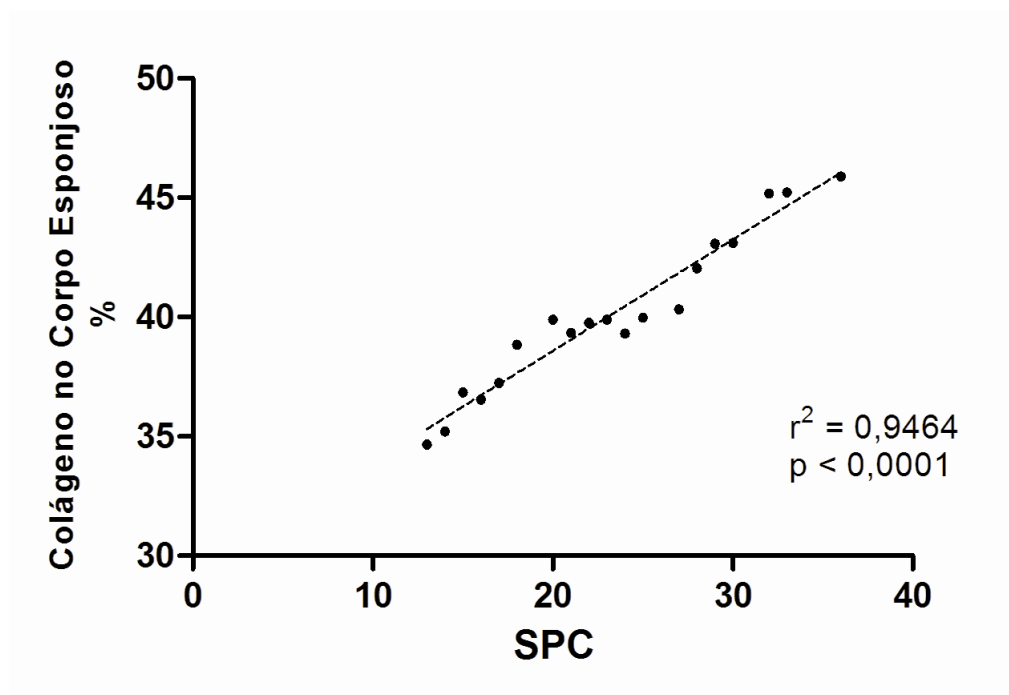


Figura 27 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de colágeno no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

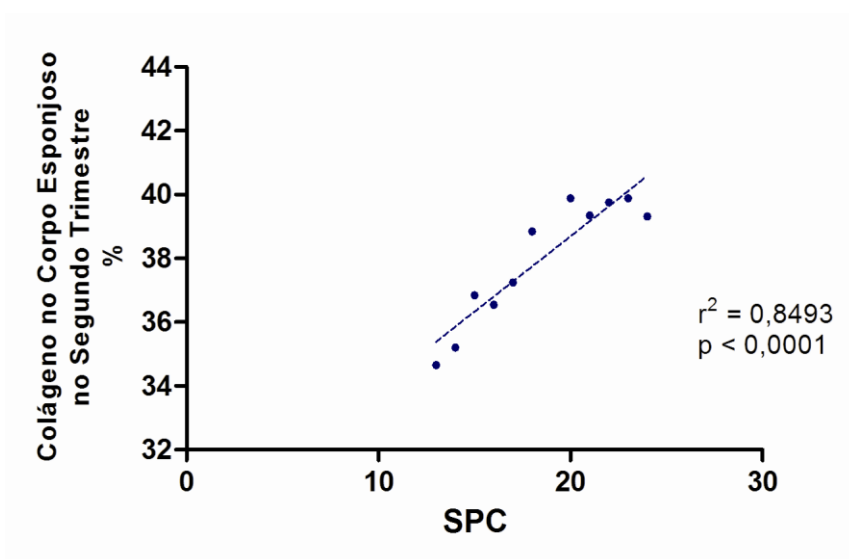


Figura 28 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de colágeno no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), no **IIo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram um crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

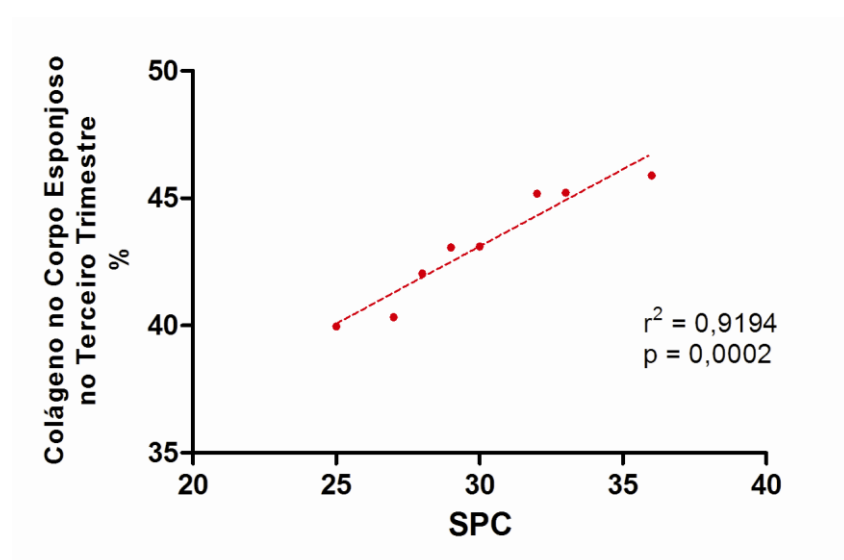


Figura 29 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de colágeno no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram um crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

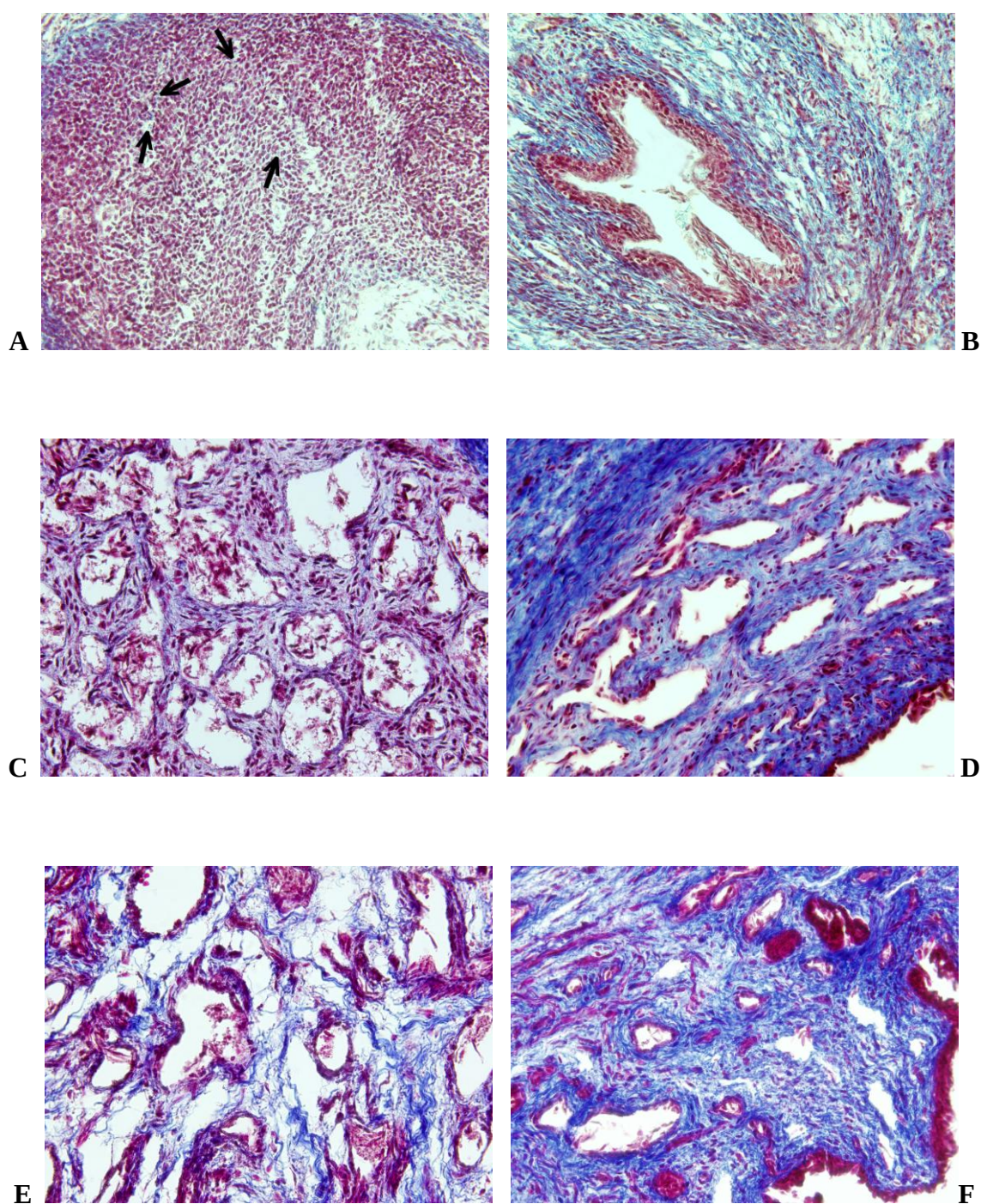


Figura 30 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), evidenciando a distribuição de colágeno no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (tonalidade azul). A) Corpo cavernoso, feto de 13 SPC – as setas indicam pequena quantidade de colágeno; B) Corpo esponjoso, feto de 13 SPC; C) Corpo cavernoso, feto de 22 SPC; D) Corpo esponjoso, feto de 22 SPC; E) Corpo cavernoso, feto de 32 SPC; F) Corpo esponjoso, feto de 32 SPC. Tricrômico de Masson, X400.

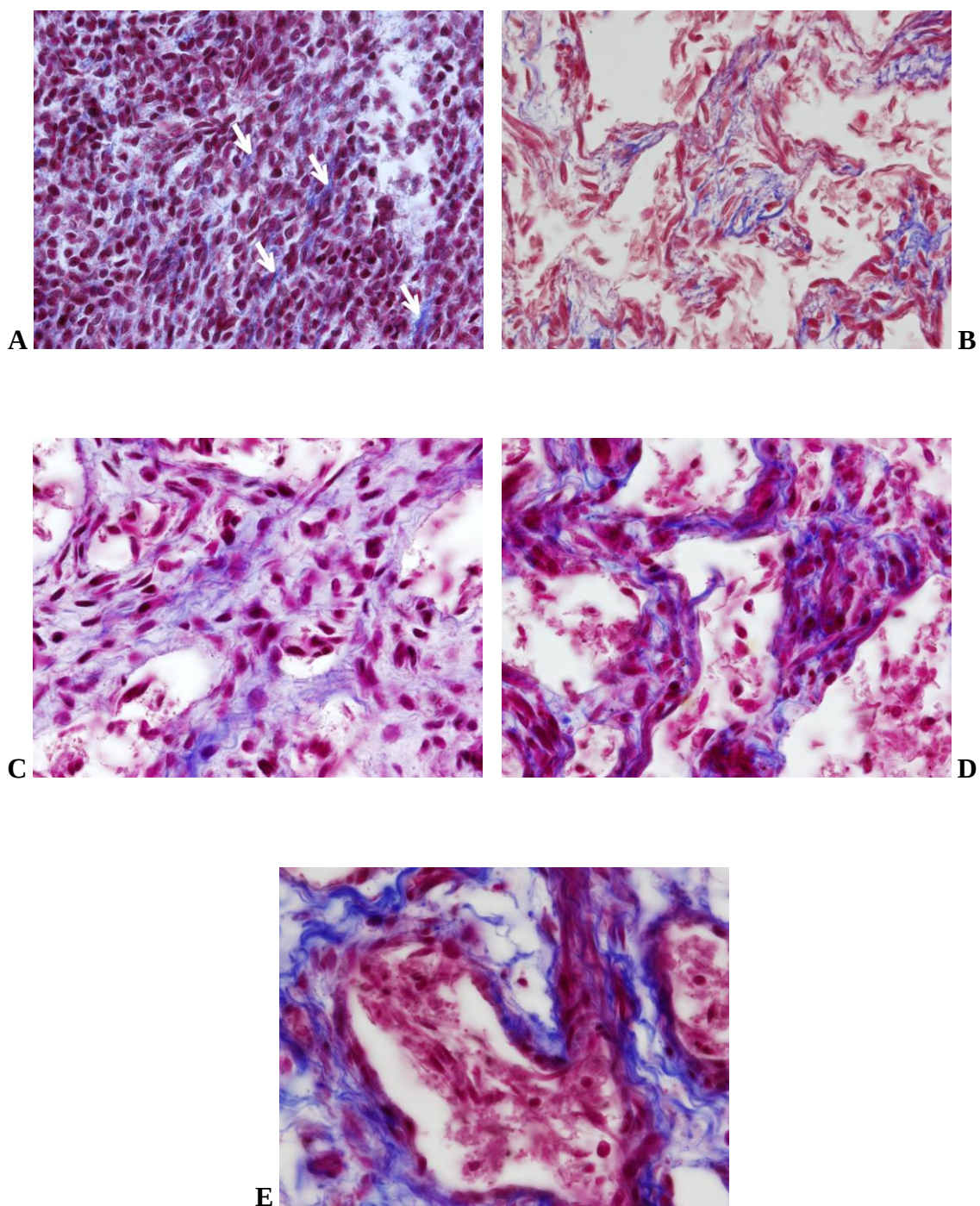


Figura 31 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), evidenciando a distribuição de colágeno no corpo cavernoso (tonalidade azul). A) Corpo cavernoso, feto de 13 SPC – as setas indicam pequena quantidade de colágeno em meio a predominância de tecido mesenquimal e abundância de núcleos; B) Feto de 17 SPC; C) Feto de 22 SPC; D) Feto de 27 SPC; E) Feto de 32 SPC. Tricrômico de Masson, X1000.

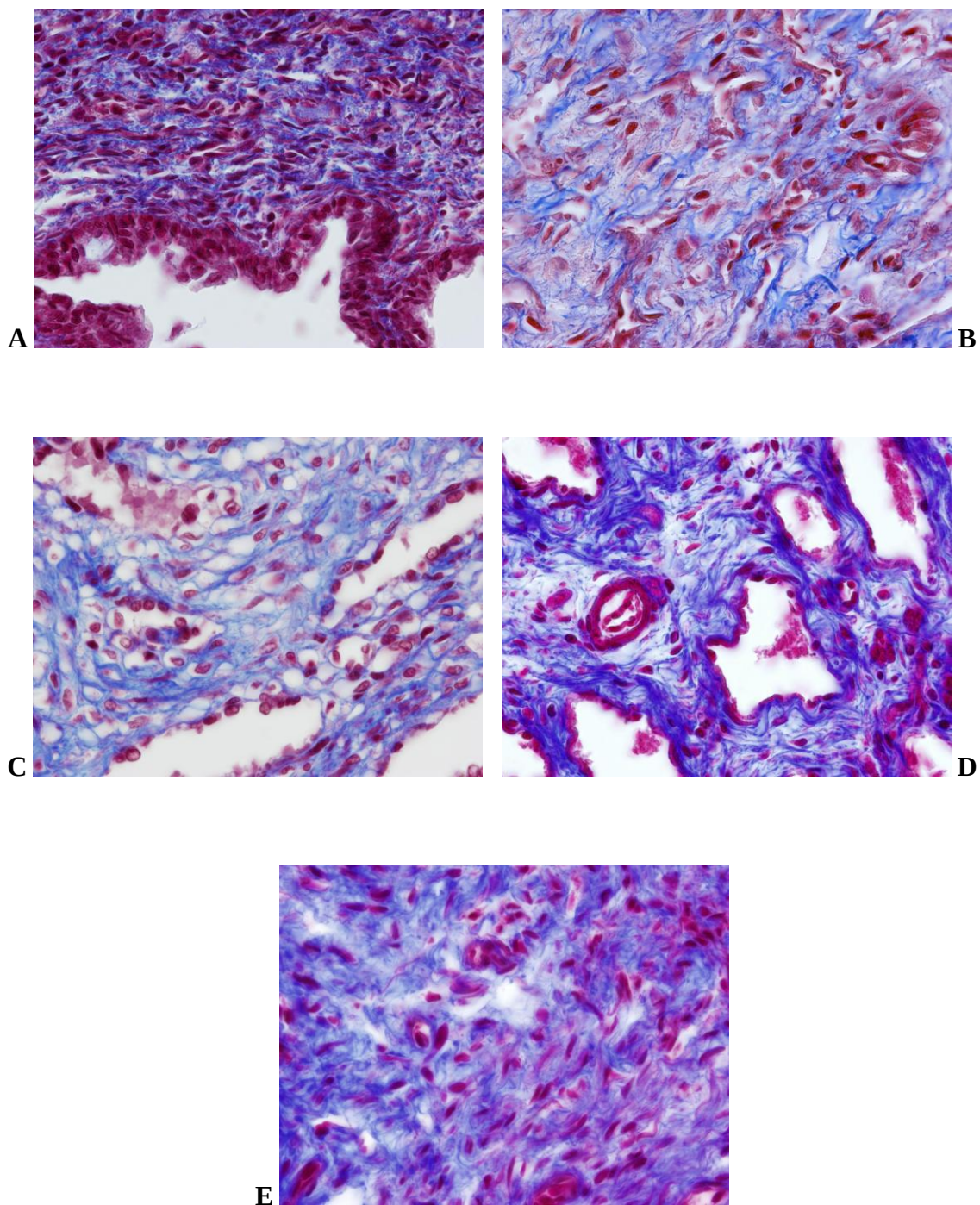


Figura 32 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), mostrando a distribuição de colágeno no corpo esponjoso (tonalidade azul). A) Feto de 13 SPC, apresentando predominância de colágeno; B) Feto de 17 SPC; C) Feto de 21 SPC; D) Feto de 27 SPC; E) Feto de 32 SPC. Tricrômico de Masson, X1000.

As **Fibras Musculares Lisas** representaram de 4,39% a 29,76% no **Corpo Cavernoso** do pênis, da 13ª SPC à 36ª SPC (Tabela 2, Figuras 33 a 35).

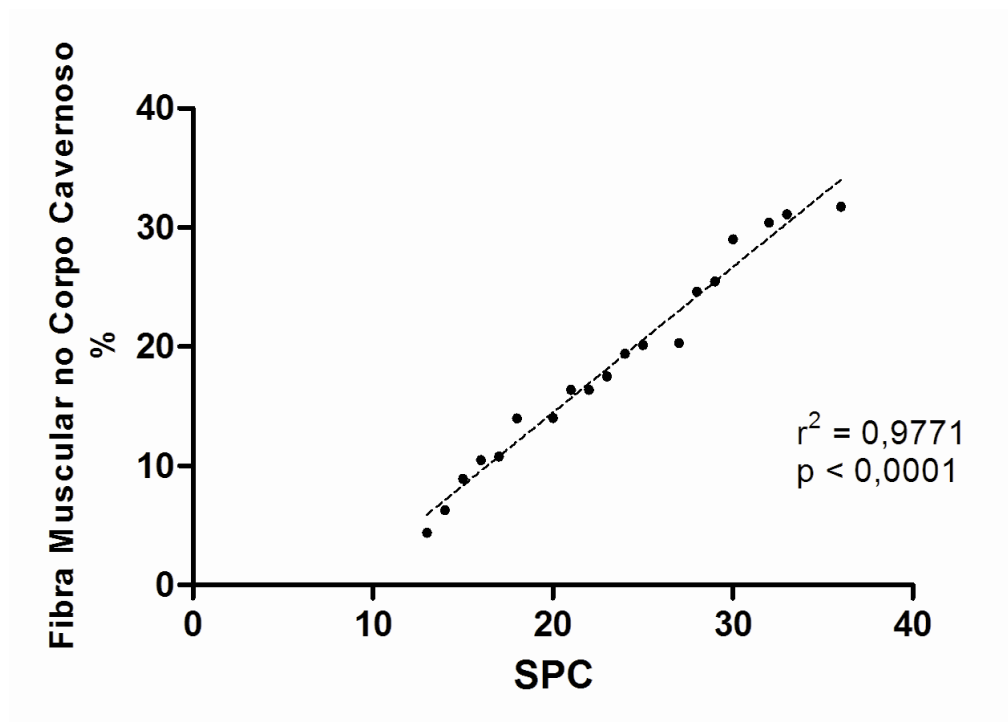


Figura 33 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras musculares no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram um crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

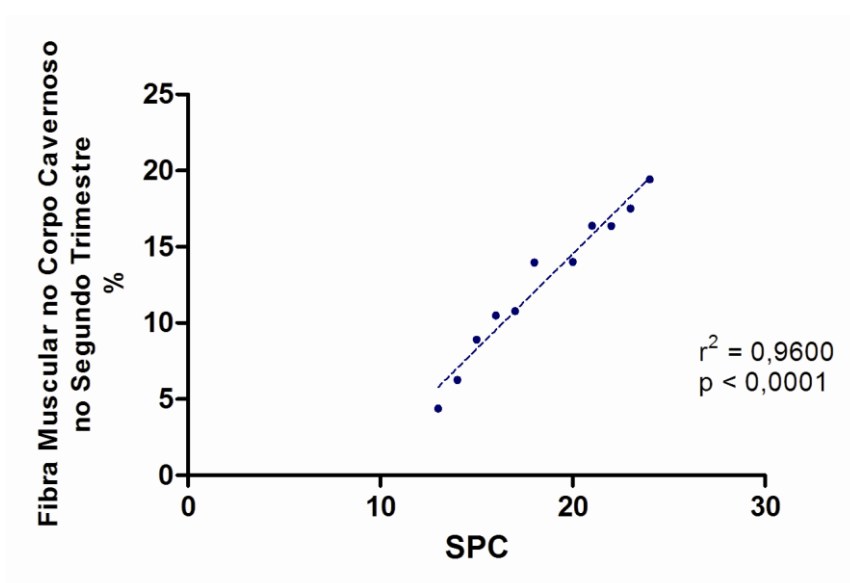


Figura 34 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras musculares no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

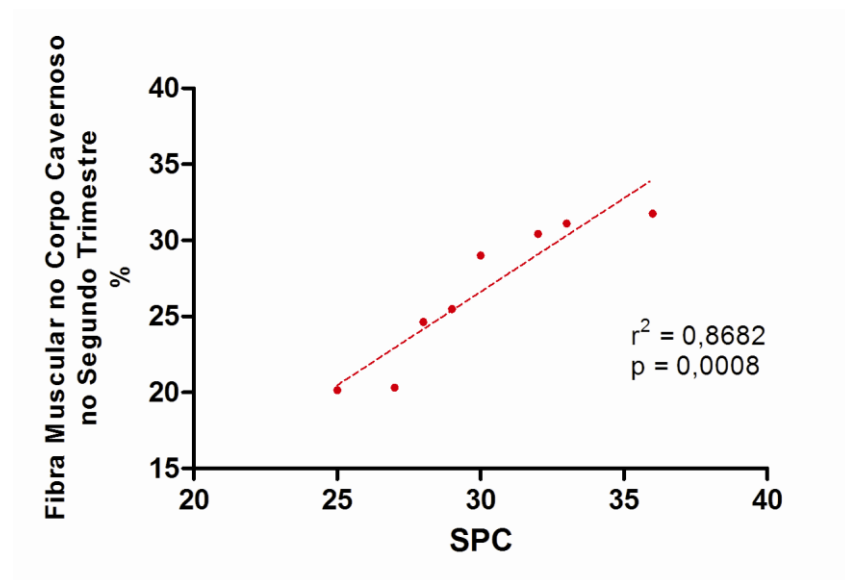


Figura 35 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras musculares no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram um crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

As **Fibras Musculares Lisas** representaram de 0,60% a 11,90% no **Corpo Esponjoso** do pênis, da 13ª SPC à 36ª SPC (Tabela 3, Figuras 36 a 38).

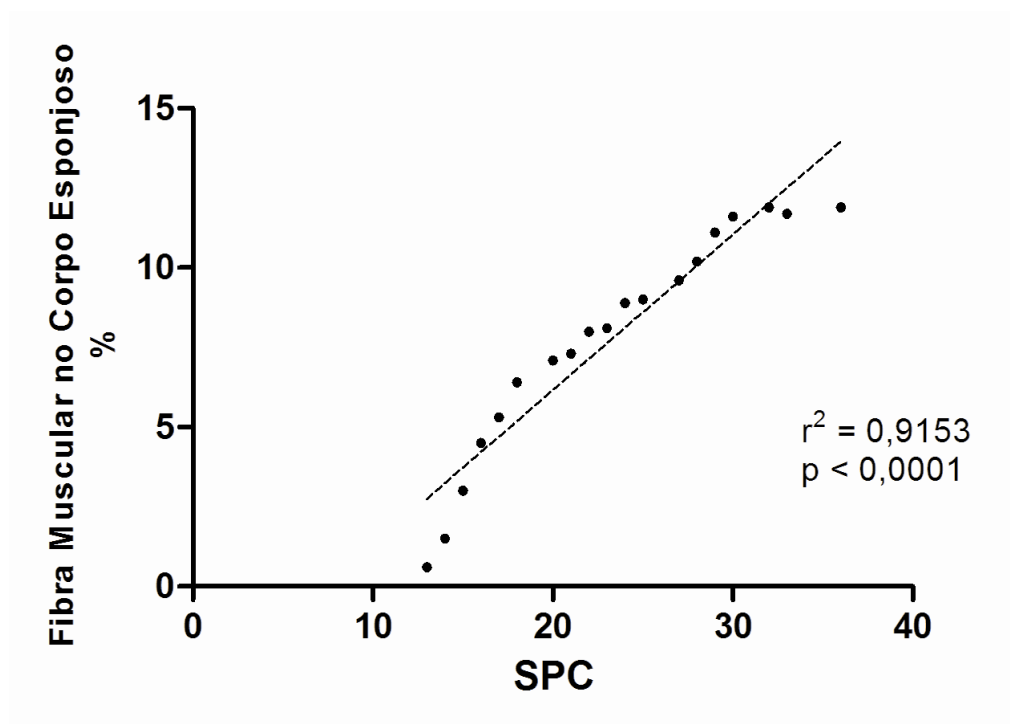


Figura 36 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras musculares no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram um crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

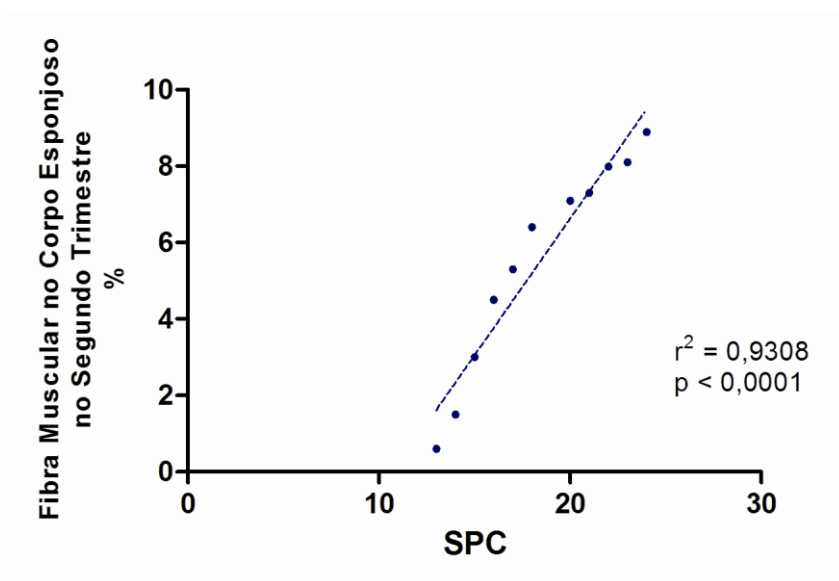


Figura 37 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras musculares no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

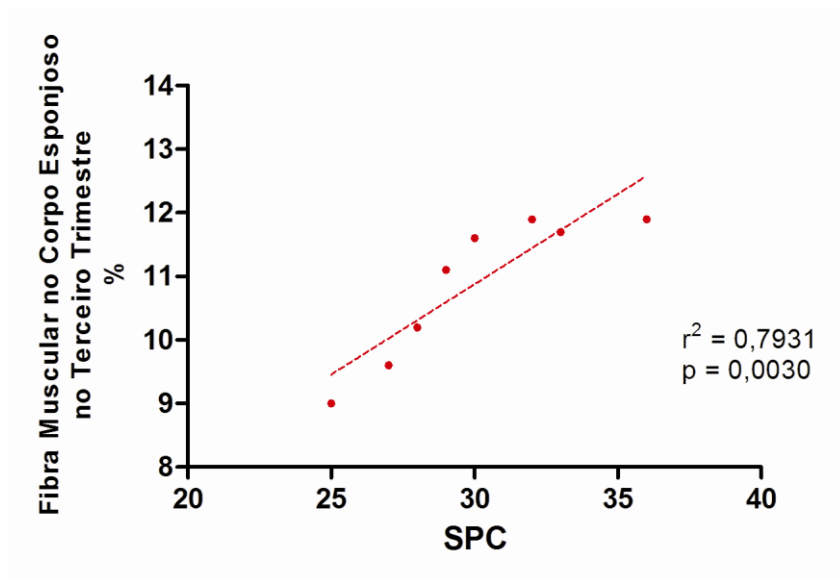


Figura 38 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras musculares no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

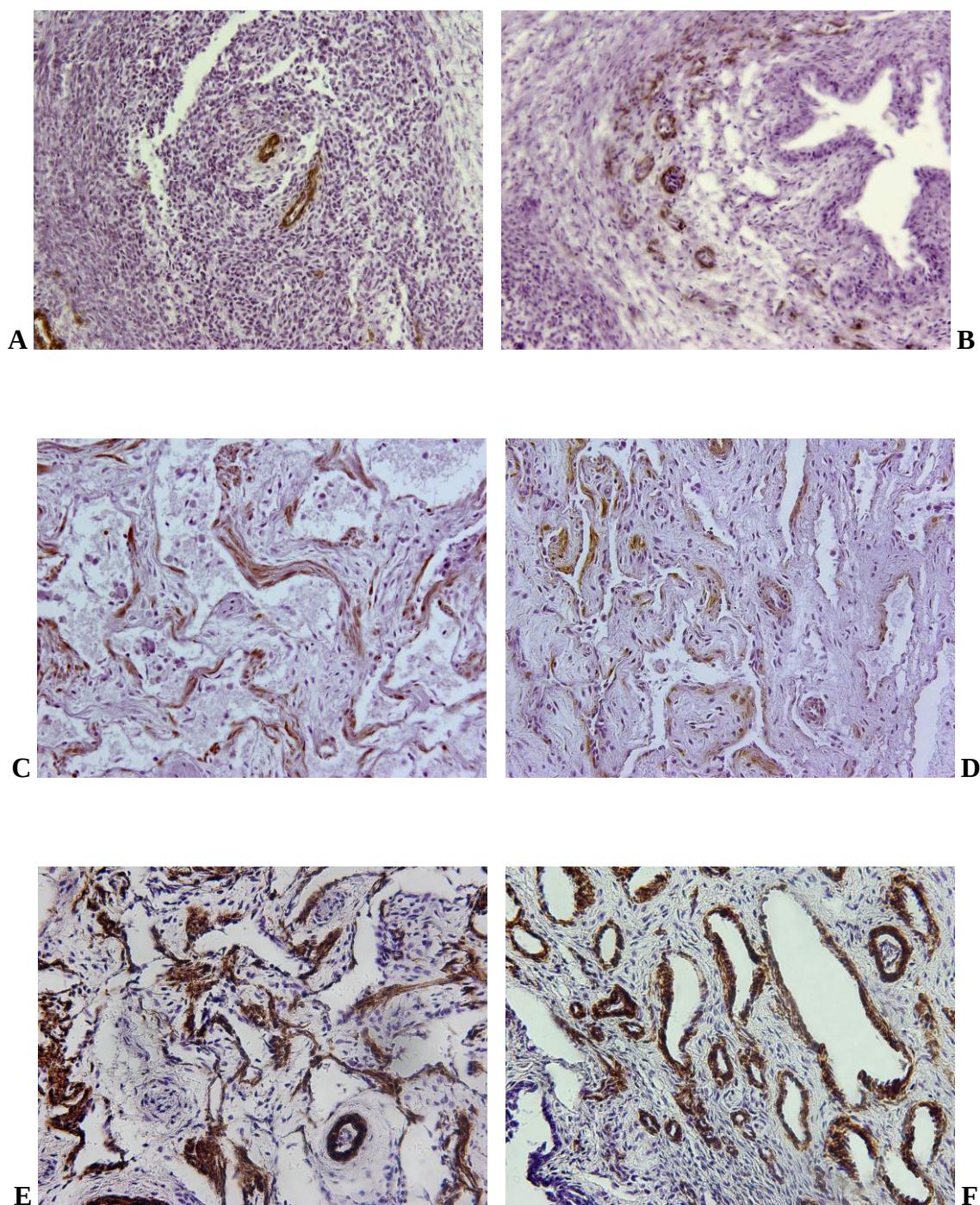


Figura 39 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), evidenciando a distribuição de fibras musculares lisas no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (cor acastanhada). A) Corpo cavernoso, feto de 13 SPC; B) Corpo esponjoso, feto de 13 SPC; C) Corpo cavernoso, feto de 25 SPC, D) Corpo esponjoso, feto de 25 SPC; E) Corpo cavernoso, feto com 30 SPC; F) Corpo esponjoso, feto de 30 SPC. Imunomarcação para alpha actina, X400.

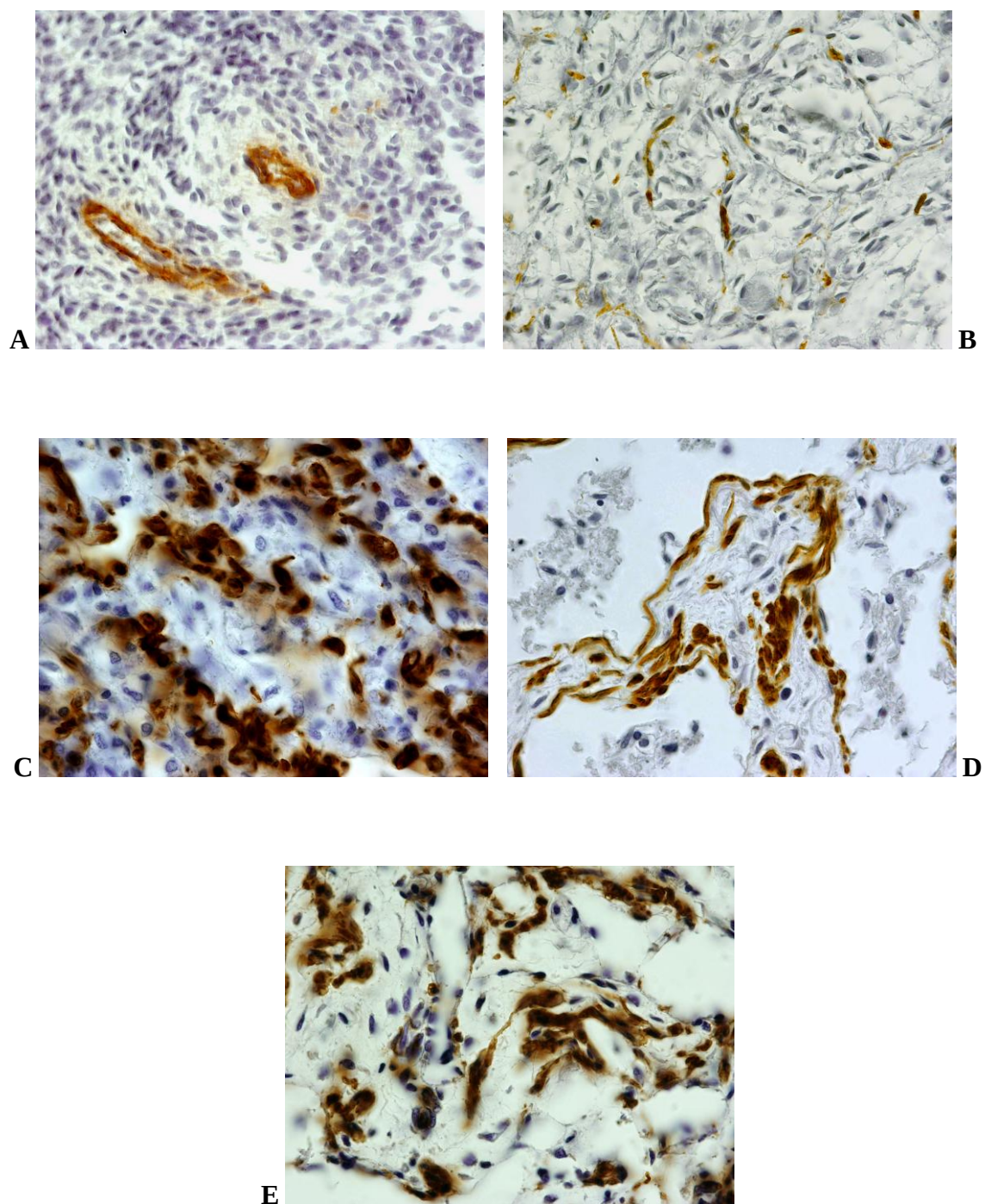


Figura 40 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), evidenciando a distribuição de fibras musculares lisas no corpo cavernoso (cor acastanhada). A) Feto de 13 SPC; B) Feto de 17 SPC; C) Feto de 21 SPC, D) Feto de 27 SPC; E) Feto de 30 SPC. Imunomarcção para alpha actina, X1000.

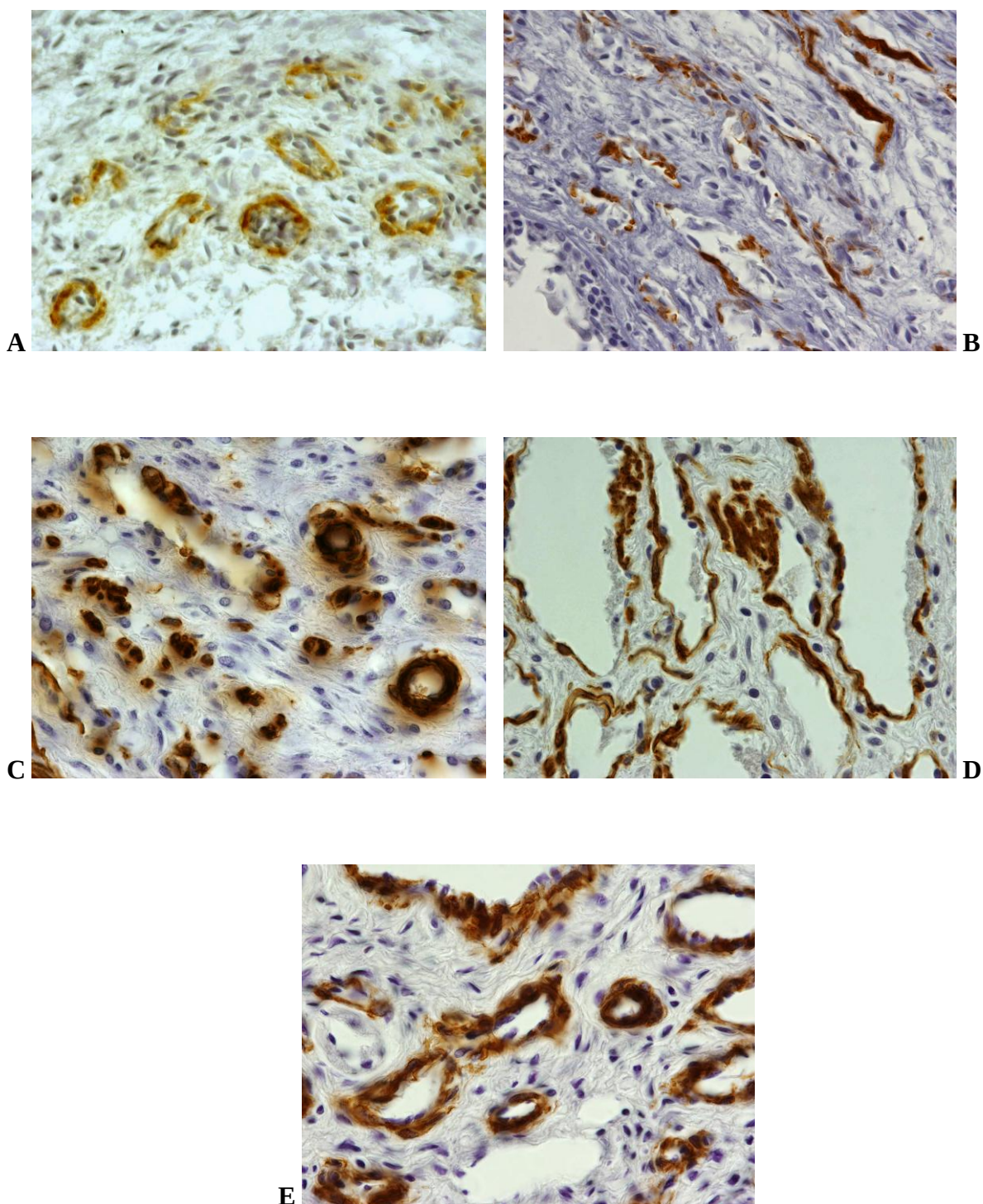


Figura 41 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), evidenciando a distribuição de fibras musculares lisas no corpo esponjoso (cor acastanhada). A) Feto de 13 SPC; B) Feto de 17 SPC; C) Feto de 21 SPC, D) Feto de 27 SPC; E) Feto com 30 SPC. Imunomarcação para alpha actina, X1000.

As **Fibras do Sistema Elástico** representaram de 1,91% a 8,92% no **Corpo Cavernoso do Pênis** da 13^a SPC à 36^a SPC (Tabela 2, Figuras 42 a 44).

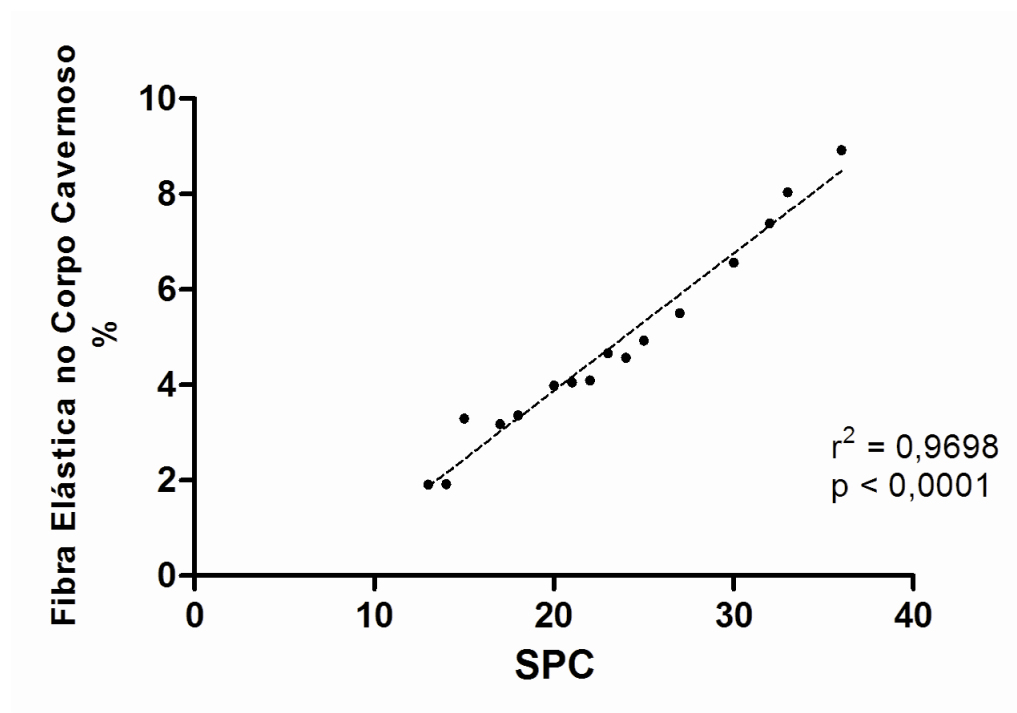


Figura 42 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras do sistema elástico no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

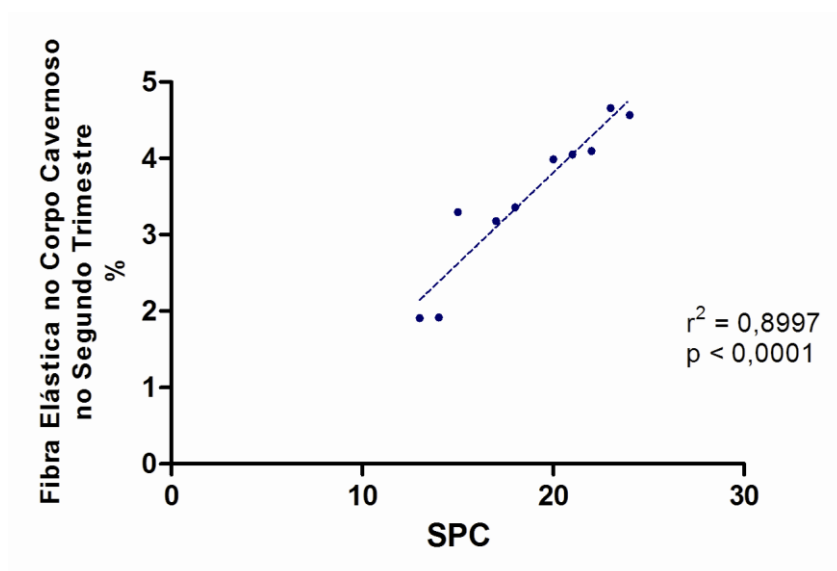


Figura 43 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras do sistema elástico no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

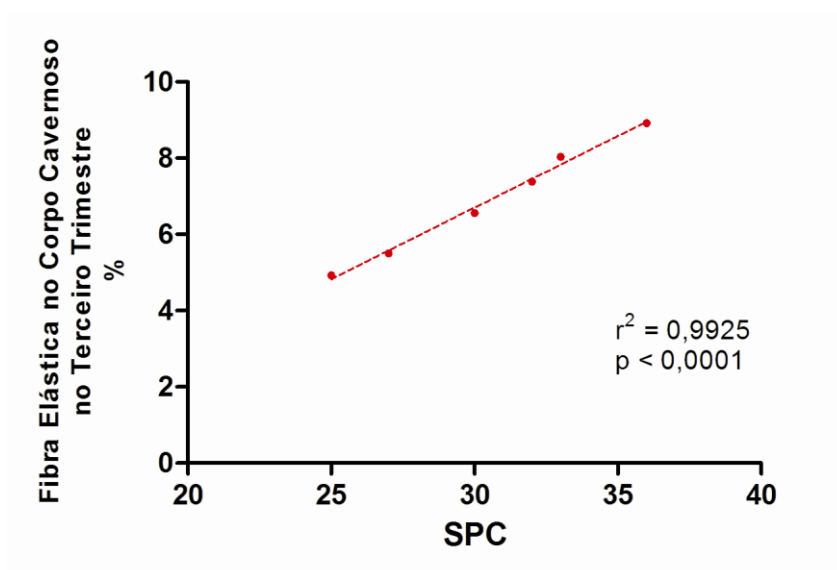


Figura 44 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras do sistema elástico no corpo cavernoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 semanas pós-concepção – SPC). Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

As **Fibras do Sistema Elástico** representaram de 3,22% a 11,93% no **Corpo Esponjoso do Pênis**, da 13ª SPC à 36ª SPC (Tabela 3, Figuras 45 a 47).

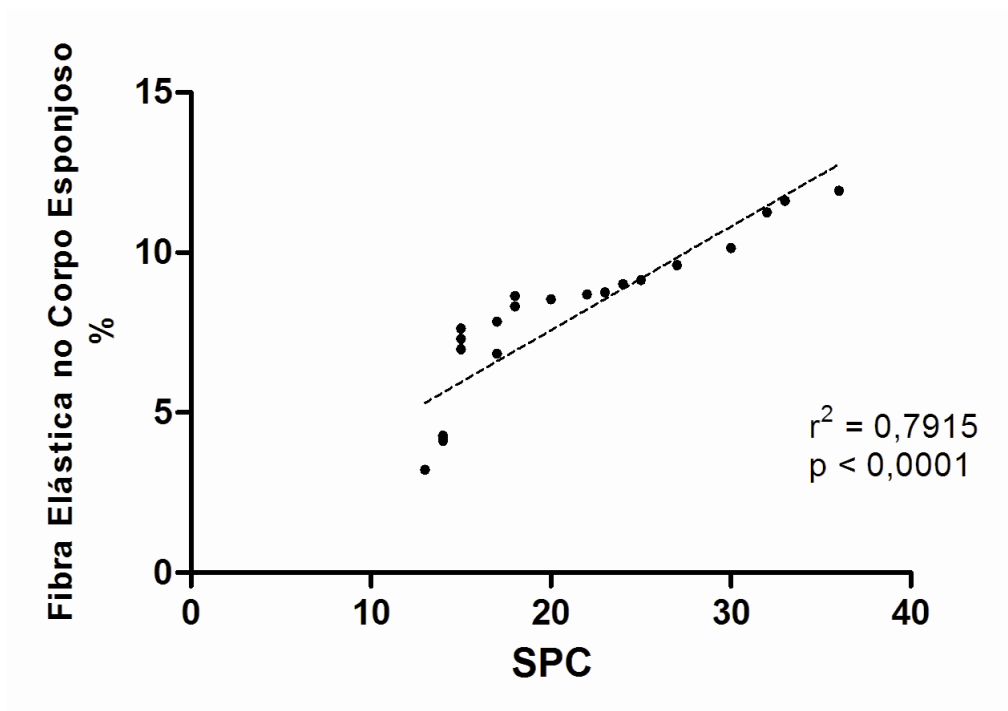


Figura 45 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras do sistema elástico no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

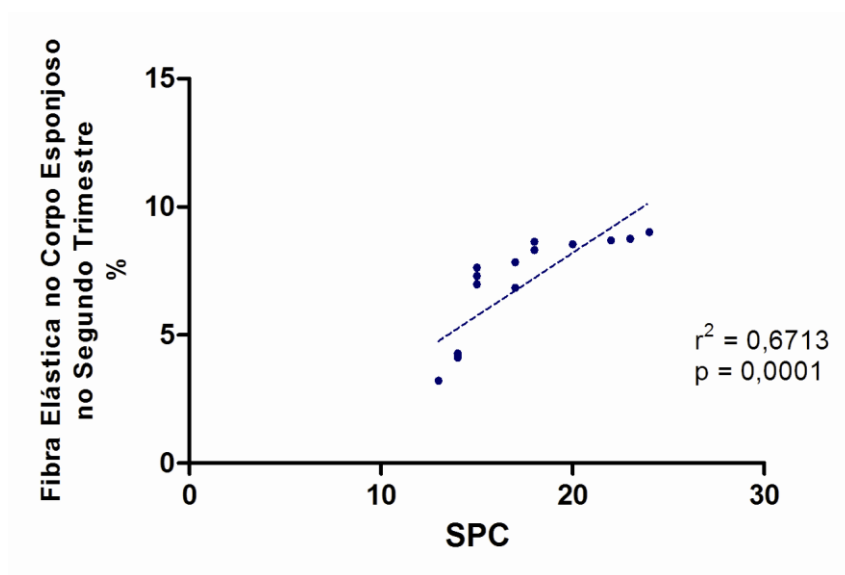


Figura 46 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras do sistema elástico no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

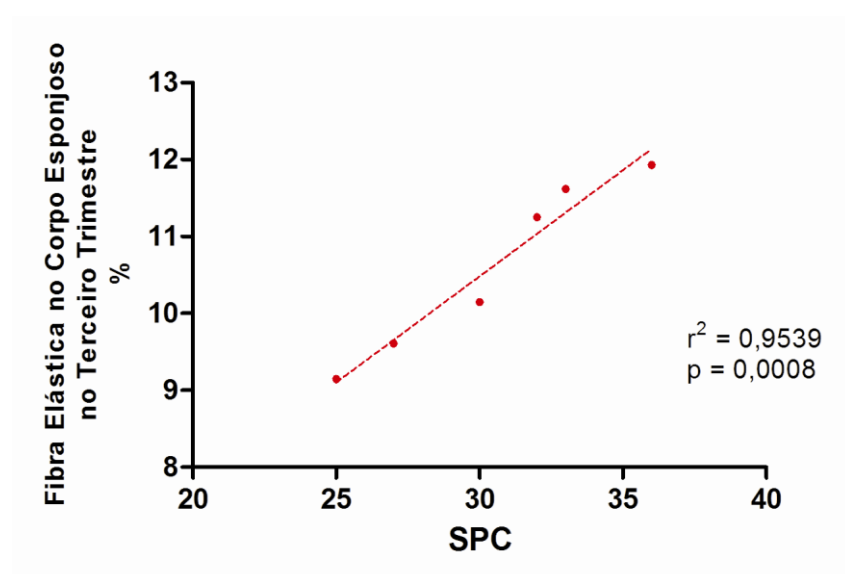


Figura 47 - Regressão Linear Simples – Porcentagem de fibras do sistema elástico no corpo esponjoso do pênis nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 SPC). Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

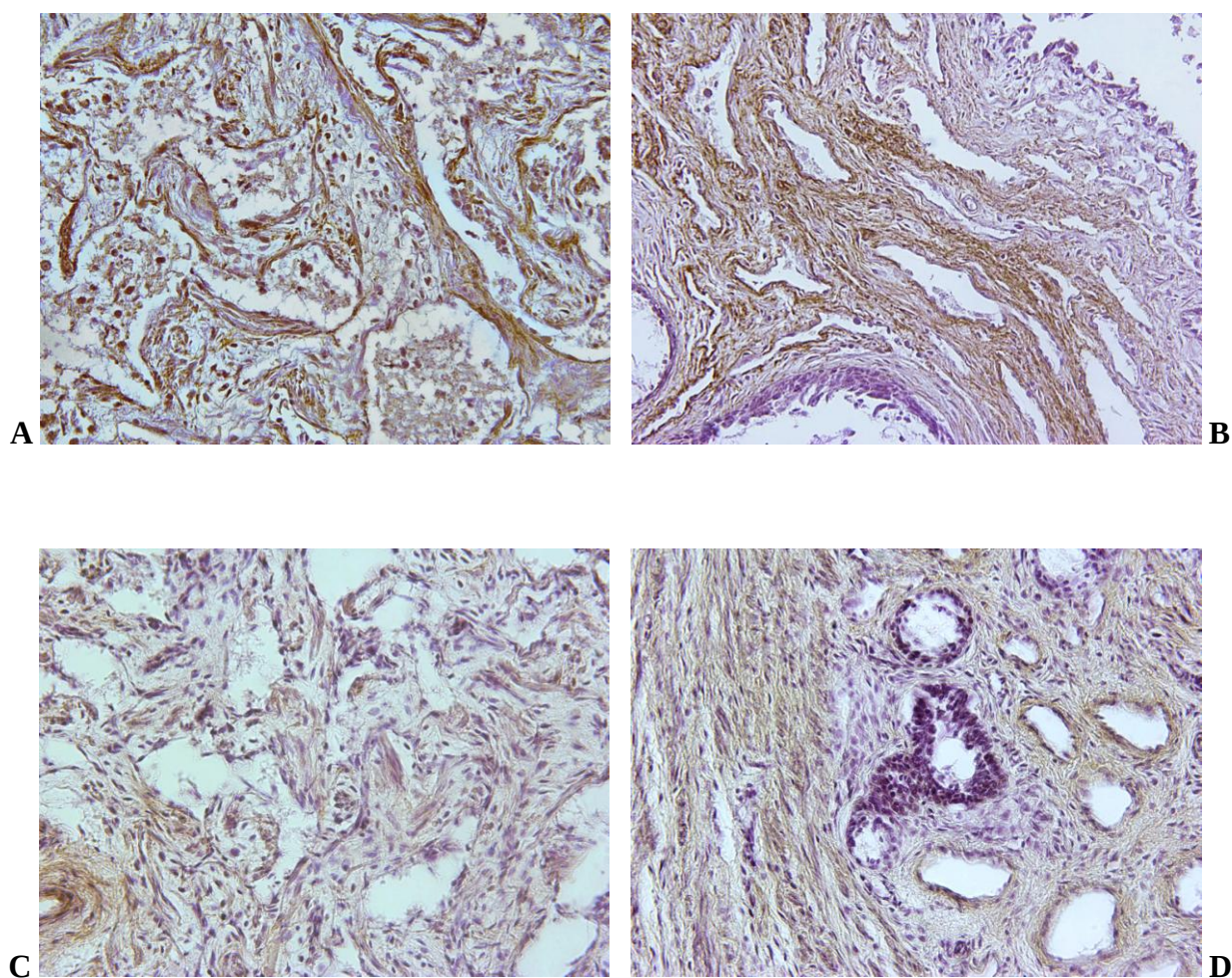


Figura 48 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), evidenciando a distribuição de fibras do sistema elástico no corpo cavernoso e no corpo esponjoso (tonalidade castanho claro). A) Corpo cavernoso, feto de 27 SPC; B) Corpo esponjoso, feto de 27 SPC; C) Corpo cavernoso, feto de 33 SPC; D) Corpo esponjoso, feto de 33 SPC. Imunomarcação para elastina, X400.

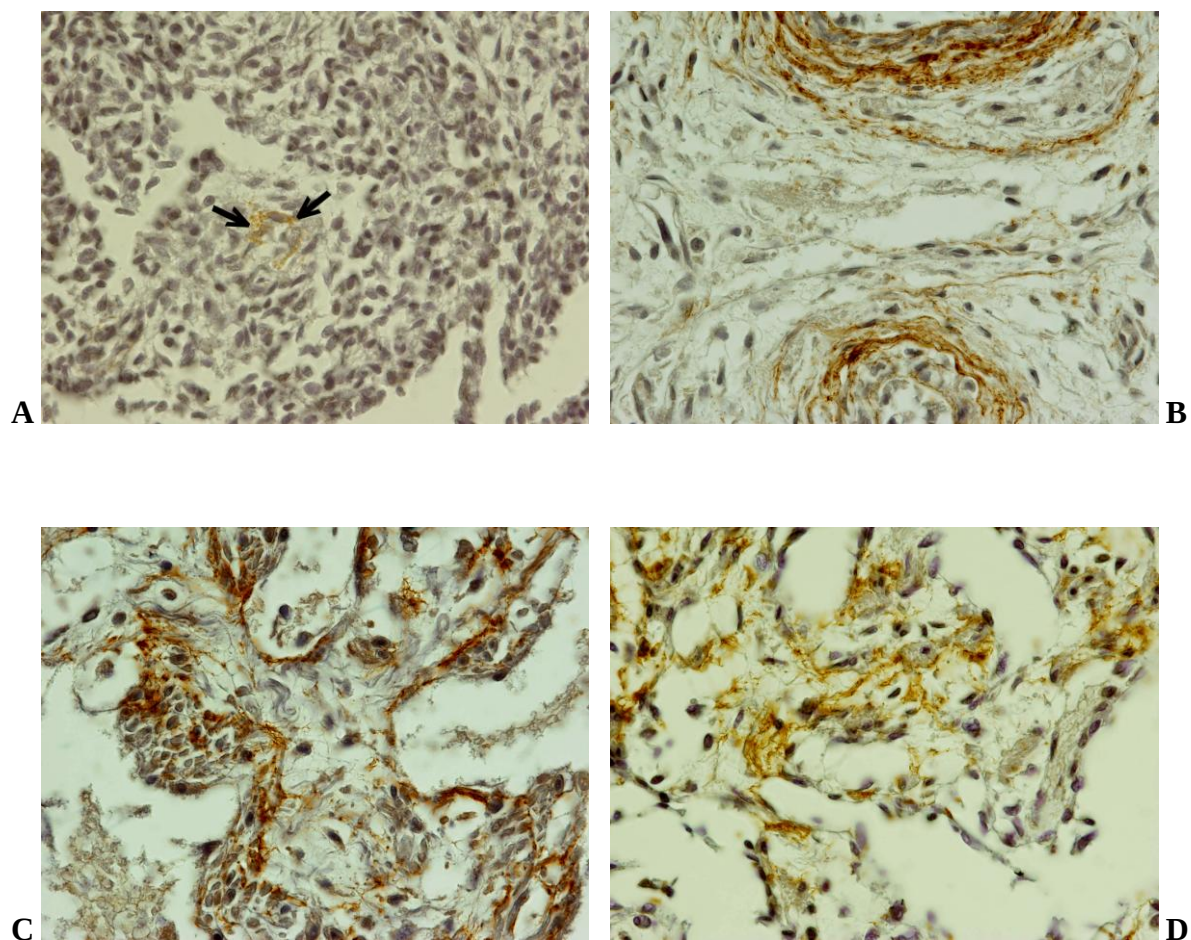


Figura 49 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), evidenciando a distribuição de fibras do sistema elástico no corpo cavernoso (tonalidade castanho claro). A) Feto de 13 SPC – as setas indicam pequena quantidade de fibras elásticas; B) Feto de 20 SPC; C) Feto de 27 SPC, D) Feto de 30 SPC. Imunomarcção para elastina, X1000.

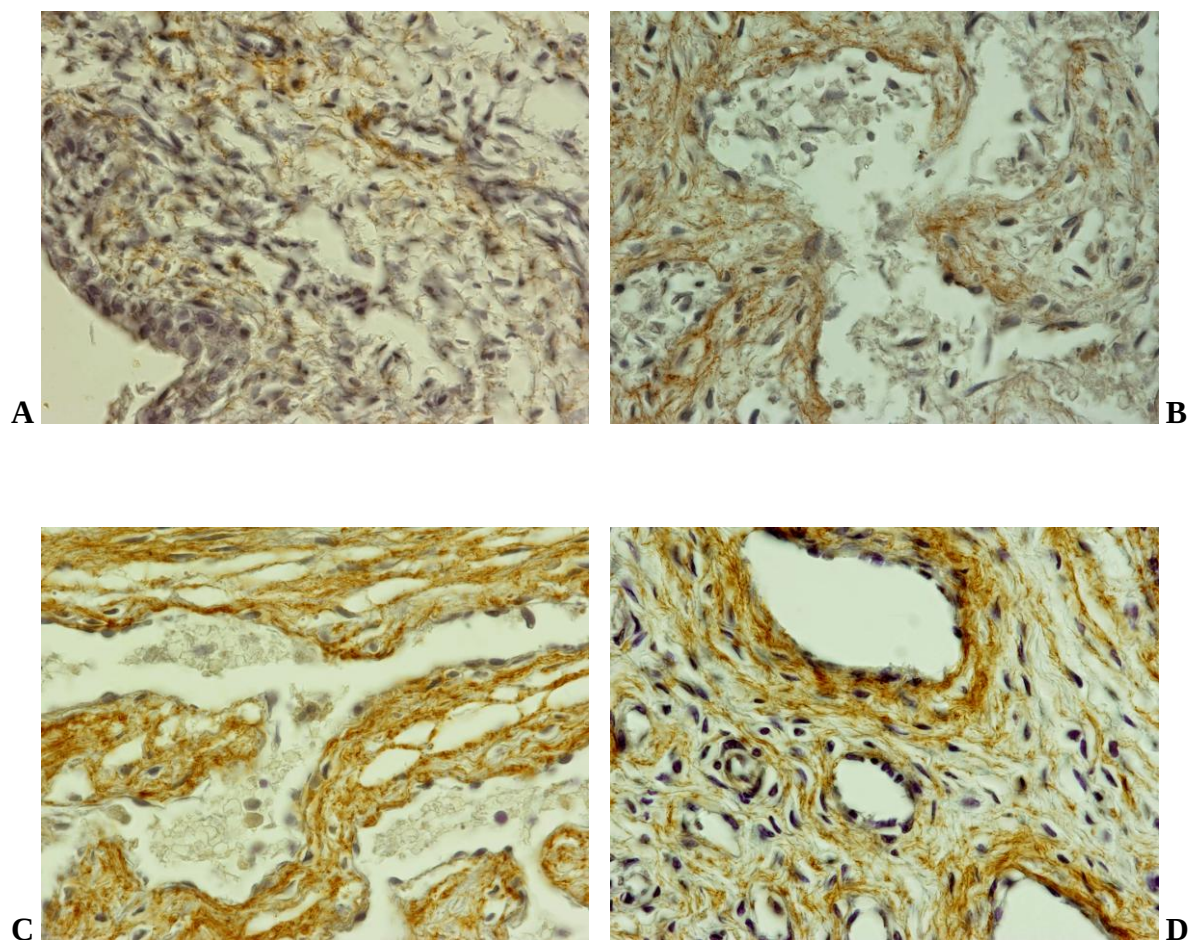


Figura 50 - Fotomicrografias do pênis fetal em diferentes idades, em semanas pós-concepção (SPC), evidenciando a distribuição de fibras do sistema elástico no corpo esponjoso (tonalidade castanho claro). A) Feto de 13 SPC; B) Feto de 20 SPC; C) Feto de 27 SPC, D) Feto de 30 SPC. Imunomarcção para elastina, X1000.

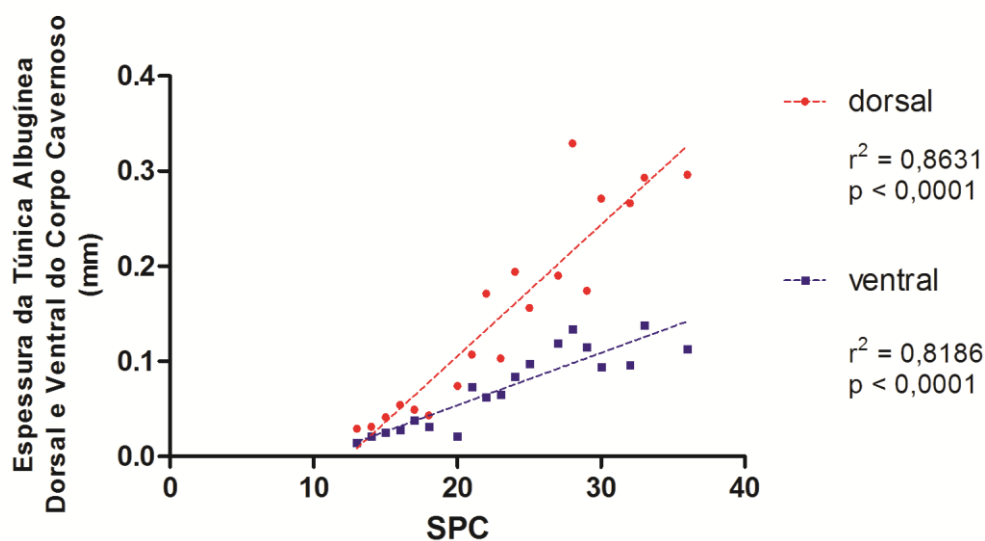
A média da **Espessura da Túnica Albugínea** variou de 0,029 a 0,296 mm na região dorsal do corpo cavernoso e de 0,014 mm a 0,113 mm na região ventral (tabela 4, Figura 51).

Tabela 4 – Idade gestacional em semanas pós-concepção (SPC) e aferição da espessura da túnica albugínea do corpo cavernoso, em mm, nas regiões dorsal e ventral do corpo cavernoso.

Valores da média, máximo e mínimo para cada idade gestacional.

SPC	Espessura da Túnica Albugínea do Corpo Cavernoso	Espessura da Túnica Albugínea do Corpo Cavernoso
	Região Dorsal (mm)	Região Ventral (mm)
13	0,029 (0,025 - 0,058)	0,014 (0,013 - 0,021)
14	0,031 (0,024 - 0,053)	0,021 (0,010 - 0,025)
15	0,041 (0,034 - 0,048)	0,025 (0,012 - 0,030)
16	0,054 (0,045 - 0,066)	0,028 (0,031 - 0,020)
17	0,049 (0,045 - 0,059)	0,038 (0,026 - 0,044)
18	0,043 (0,039 - 0,061)	0,031 (0,016 - 0,038)
20	0,074 (0,071 - 0,077)	0,021 (0,021 - 0,022)
21	0,107 (0,106 - 0,108)	0,073 (0,056 - 0,083)
22	0,171 (0,143 - 0,219)	0,062 (0,052 - 0,109)
23	0,103 (0,098 - 0,114)	0,065 (0,049 - 0,067)
24	0,194 (0,164 - 0,227)	0,084 (0,050 - 0,109)
25	0,156 (0,144 - 0,168)	0,097 (0,078 - 0,117)
27	0,190 (0,168 - 0,220)	0,119 (0,092 - 0,129)
28	0,329 (0,300 - 0,347)	0,134 (0,102 - 0,144)
29	0,174 (0,116 - 0,206)	0,115 (0,088 - 0,125)
30	0,271 (0,213 - 0,288)	0,094 (0,084 - 0,134)
32	0,266 (0,236 - 0,314)	0,096 (0,075 - 0,108)
33	0,293 (0,252 - 0,319)	0,138 (0,099 - 0,143)
36	0,296 (0,226 - 0,338)	0,113 (0,098 - 0,153)

A



B

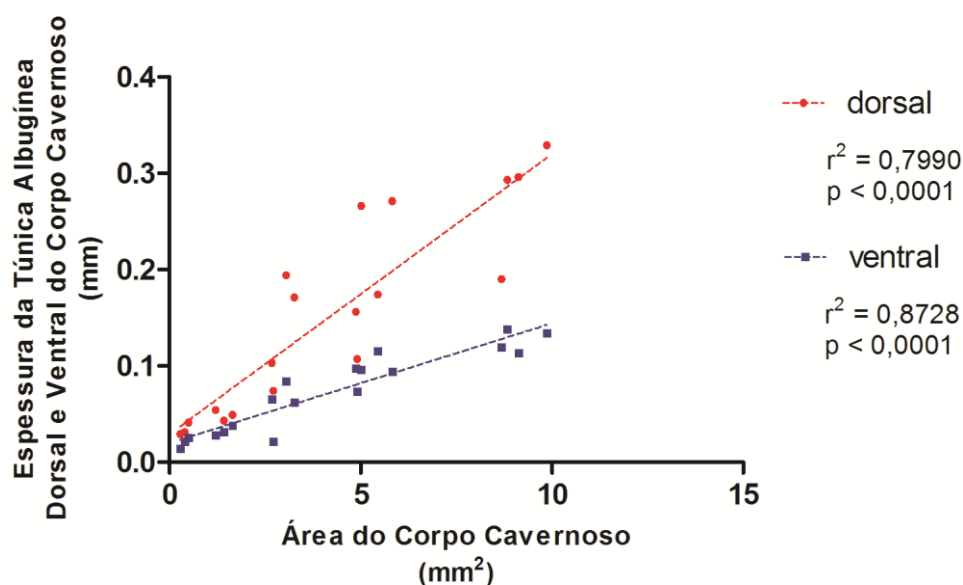
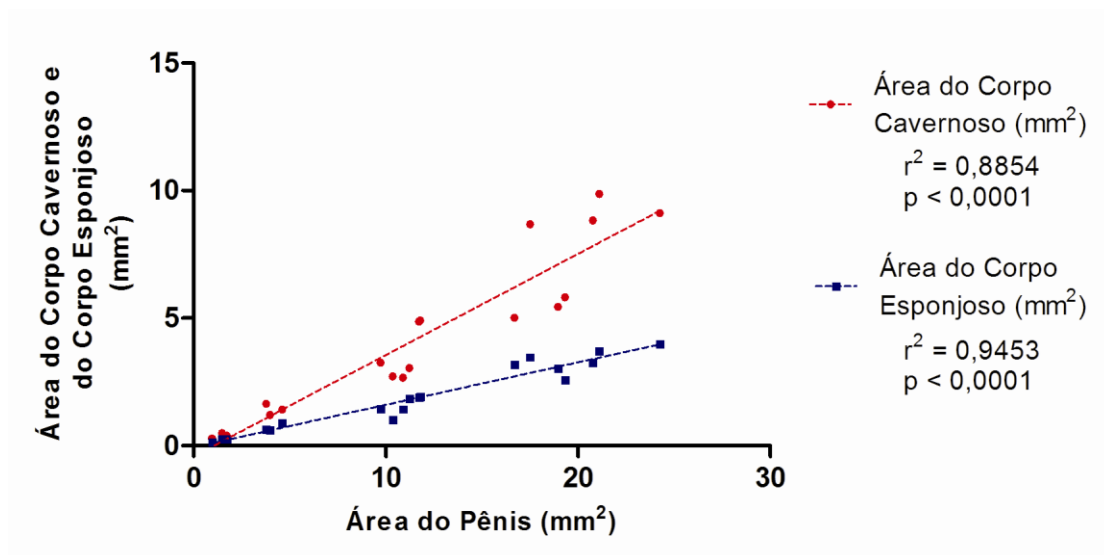


Figura 51 - Regressão Linear Simples – Espessura da túnica albugínea na região dorsal e na região ventral do corpo cavernoso do pênis, em milímetros. A) Espessura da túnica albugínea correlacionada com a idade gestacional ao longo do período fetal. B) espessura da túnica albugínea correlacionada com a área do corpo cavernoso ao longo do período fetal estudado (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional.

A **Correlação dos Diferentes Elementos Analisados** neste trabalho é mostrada nas figuras 52 a 67.

A



B

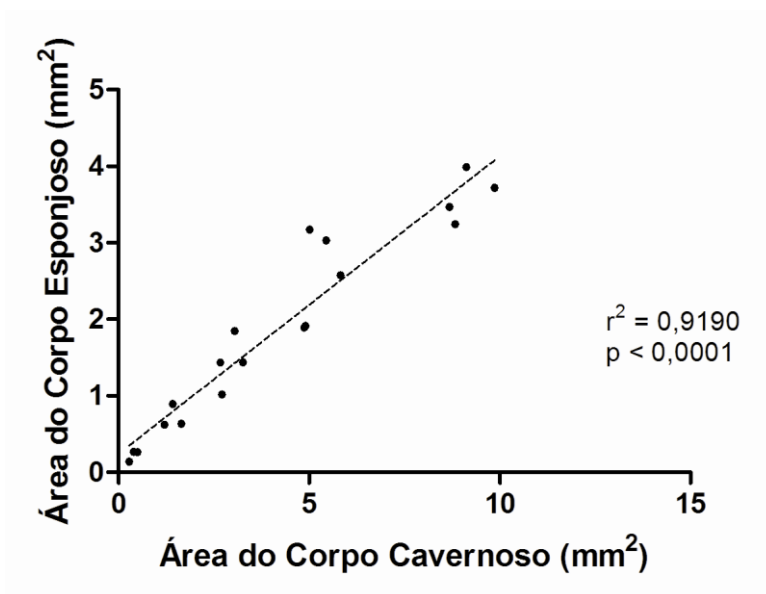


Figura 52 - Regressão Linear Simples – A) Área do corpo cavernoso e área do corpo esponjoso, correlacionadas com a área do pênis, em mm², durante todo o período fetal estudado (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. B) Área do corpo esponjoso correlacionada com a área corpo cavernoso, em mm², durante todo o período fetal estudado (13 a 36 SPC).

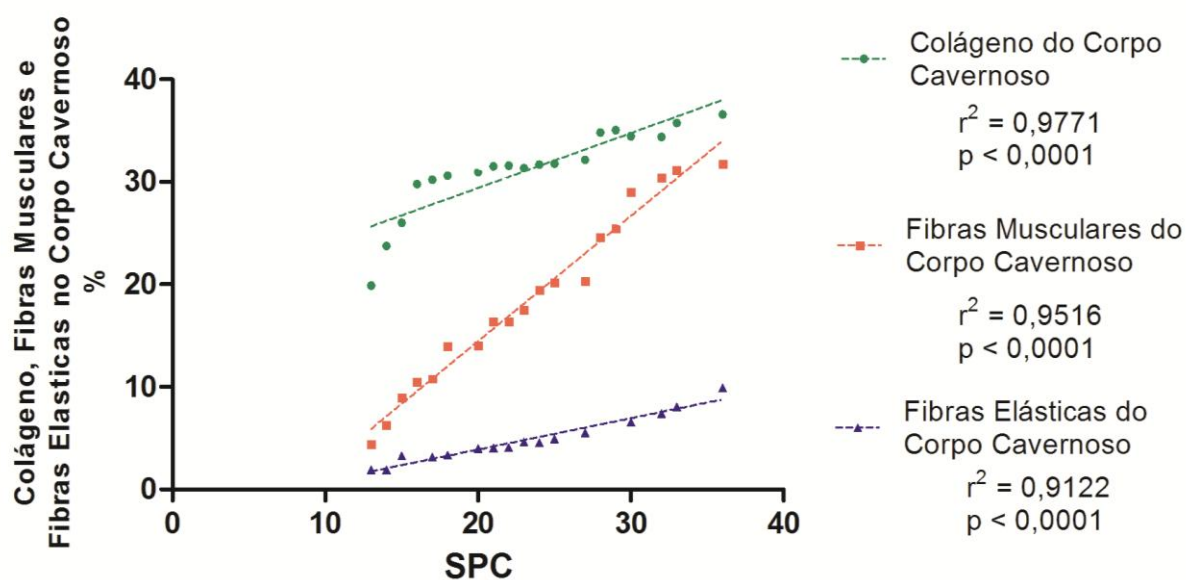


Figura 53 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, em porcentagem, no corpo cavernoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

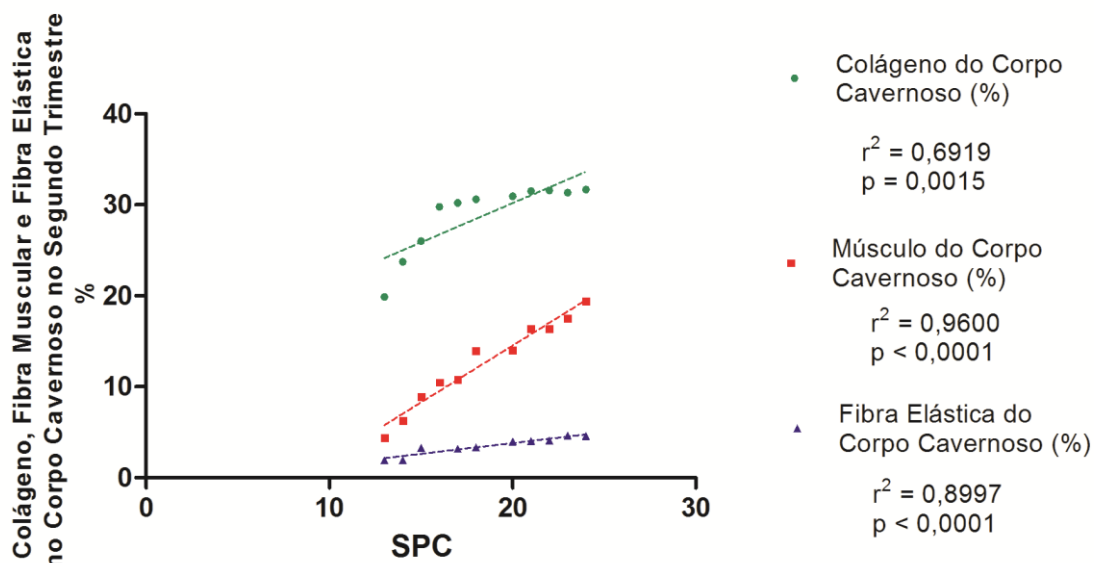


Figura 54 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, em porcentagem, no corpo cavernoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

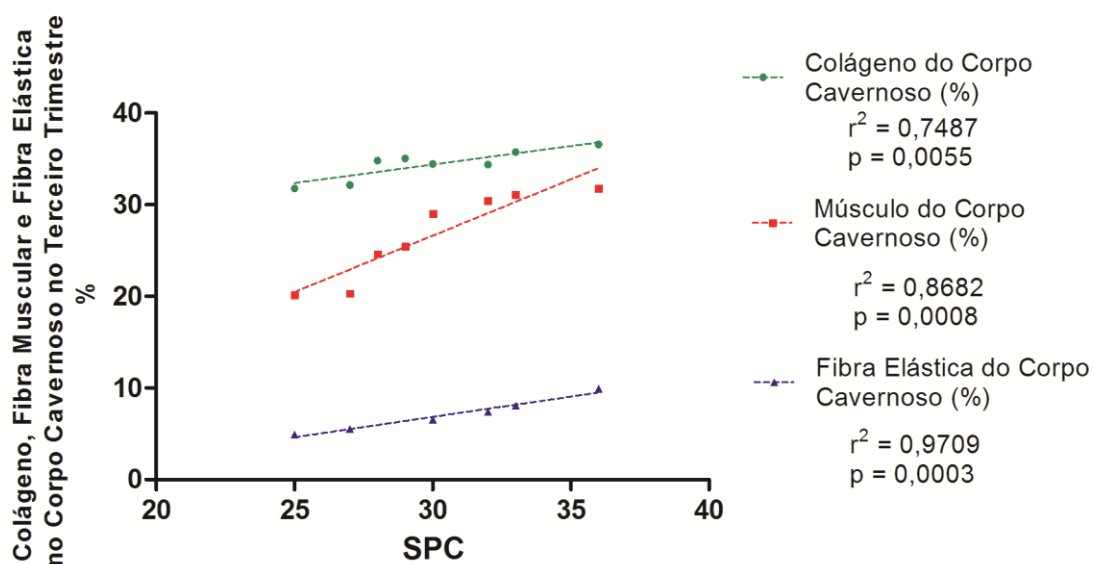


Figura 55 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, em porcentagem, no corpo cavernoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

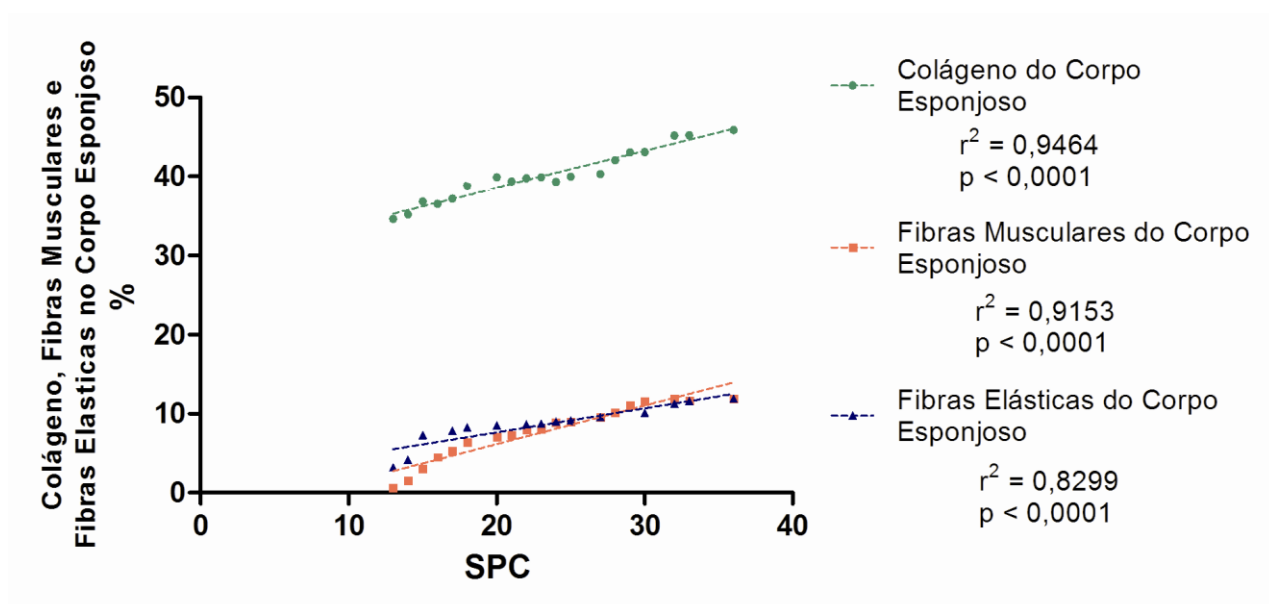


Figura 56 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, em porcentagem, no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

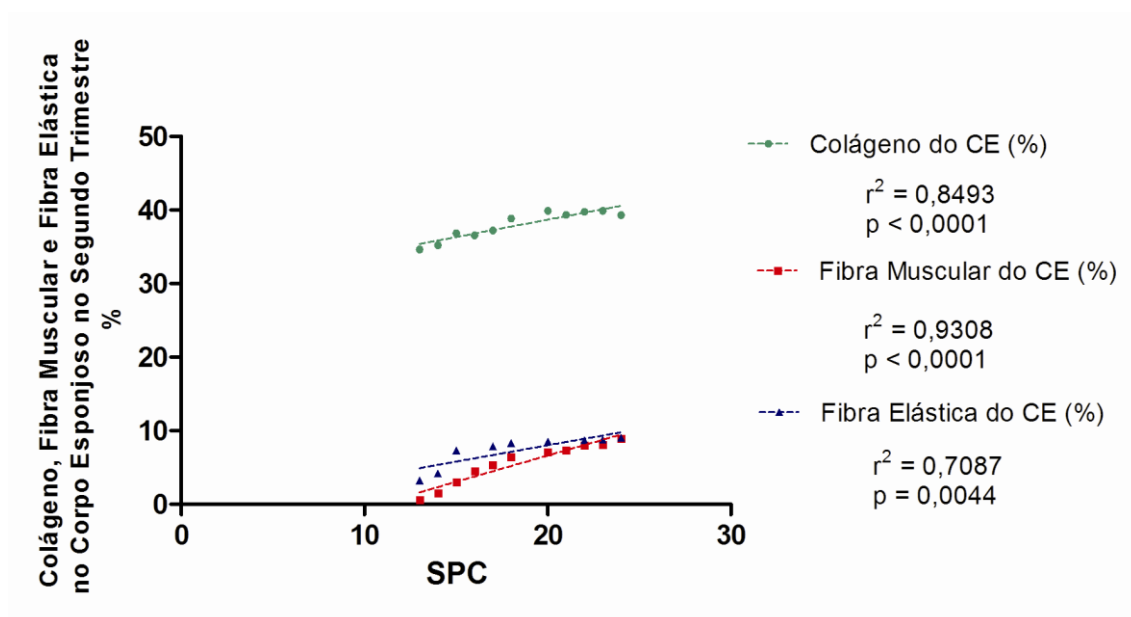


Figura 57 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, em porcentagem, no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

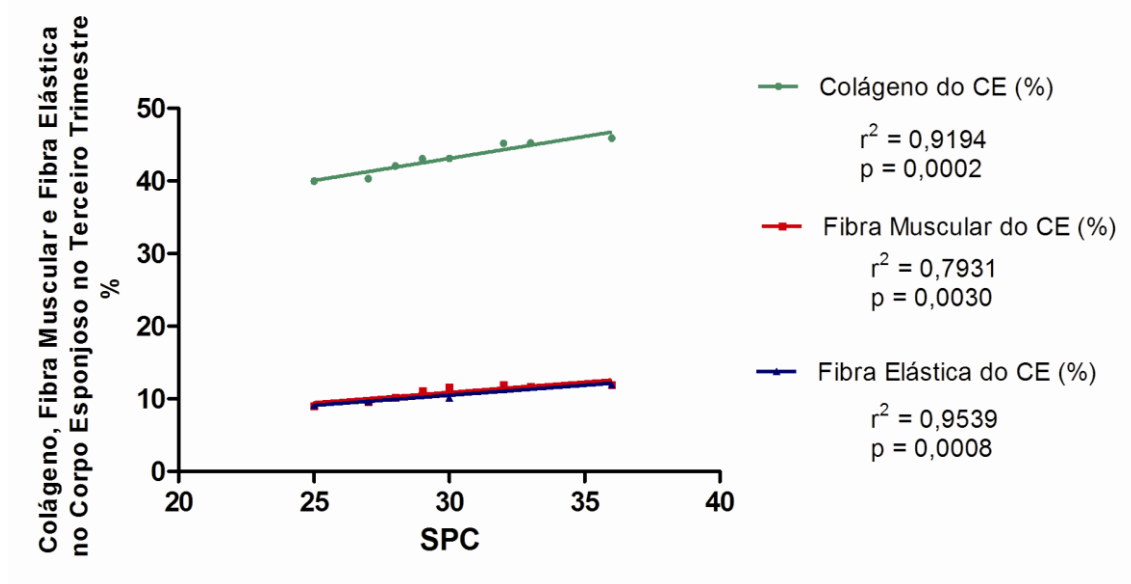


Figura 58 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas, em porcentagem, no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

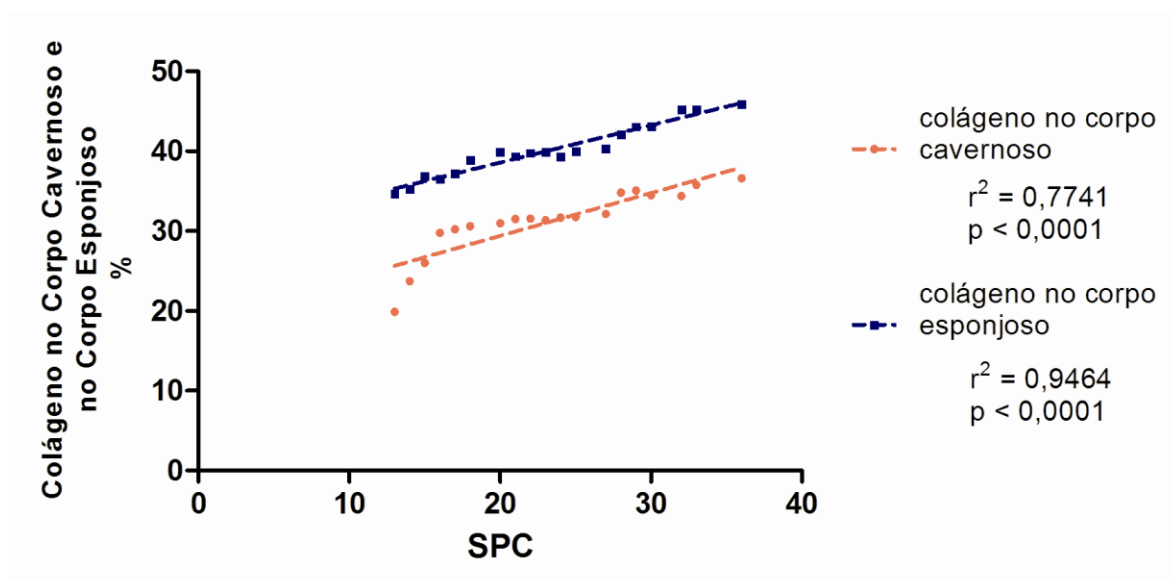


Figura 59 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos para colágeno, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

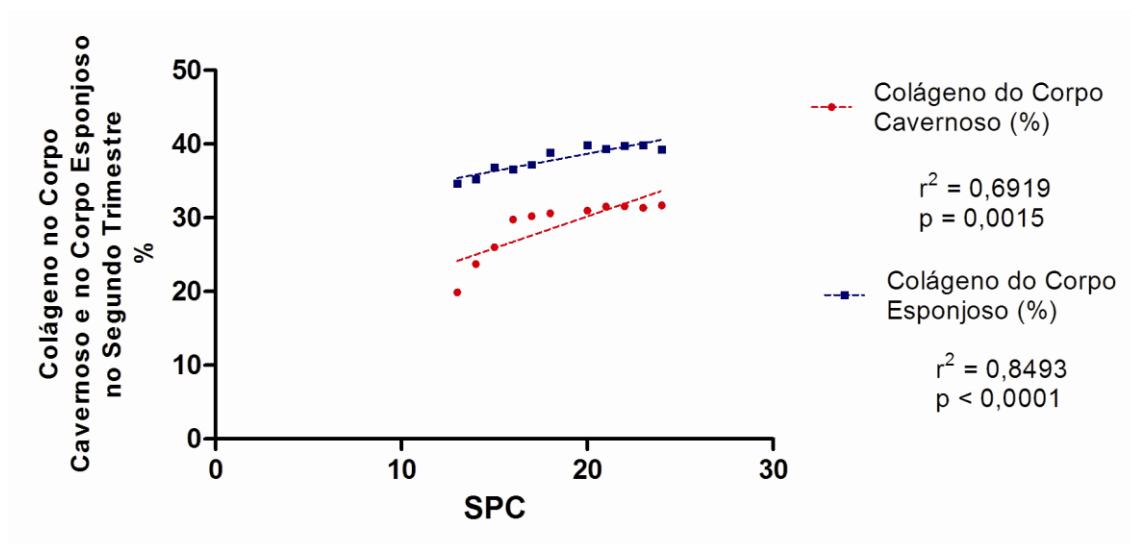


Figura 60 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos para colágeno, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

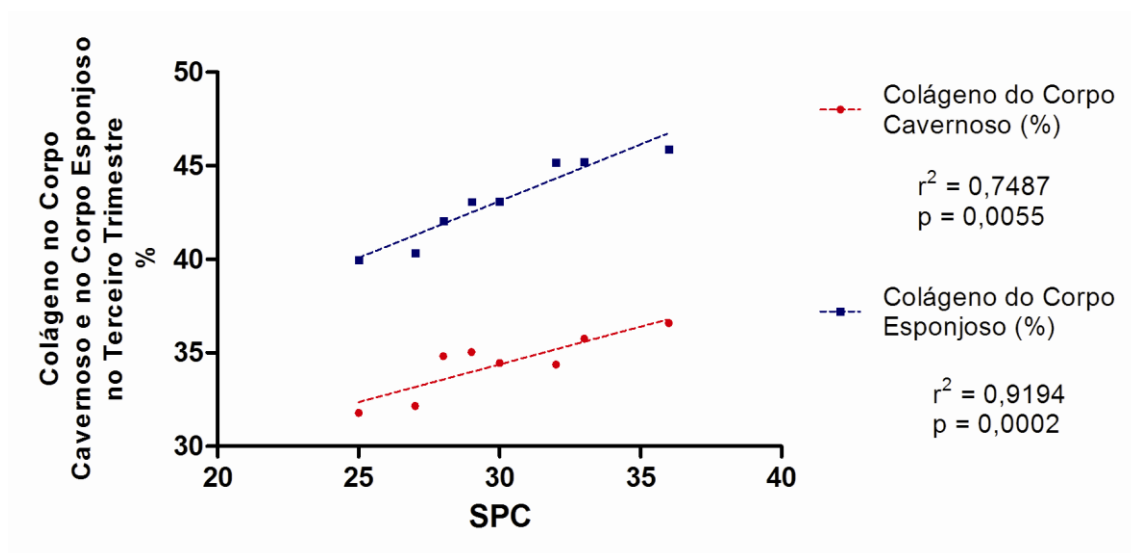


Figura 61 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos para colágeno, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

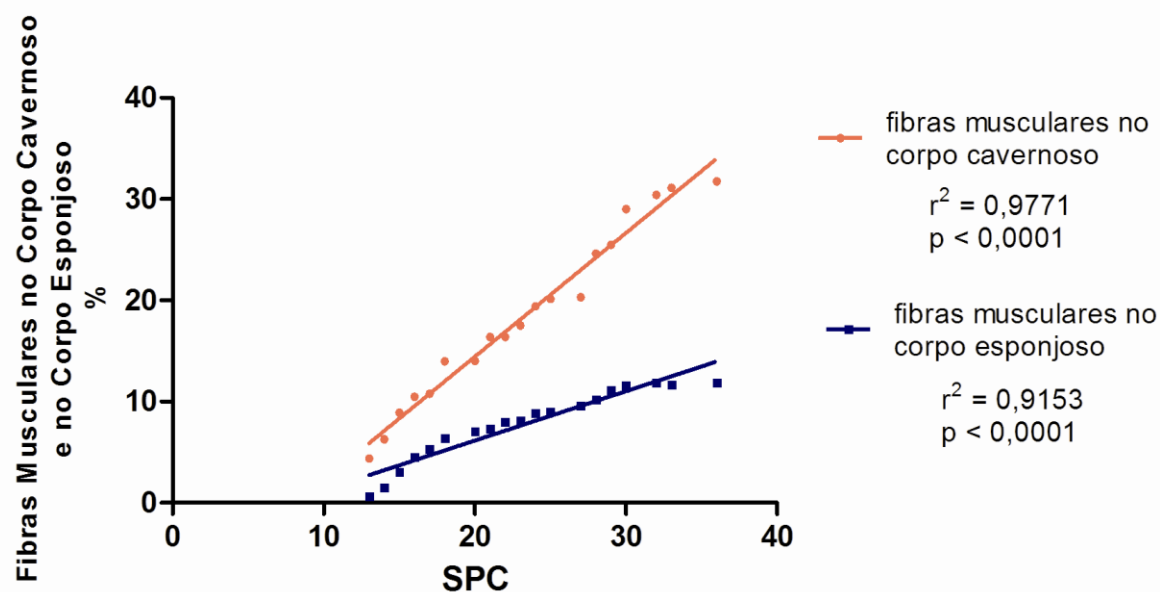


Figura 62 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de músculo, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

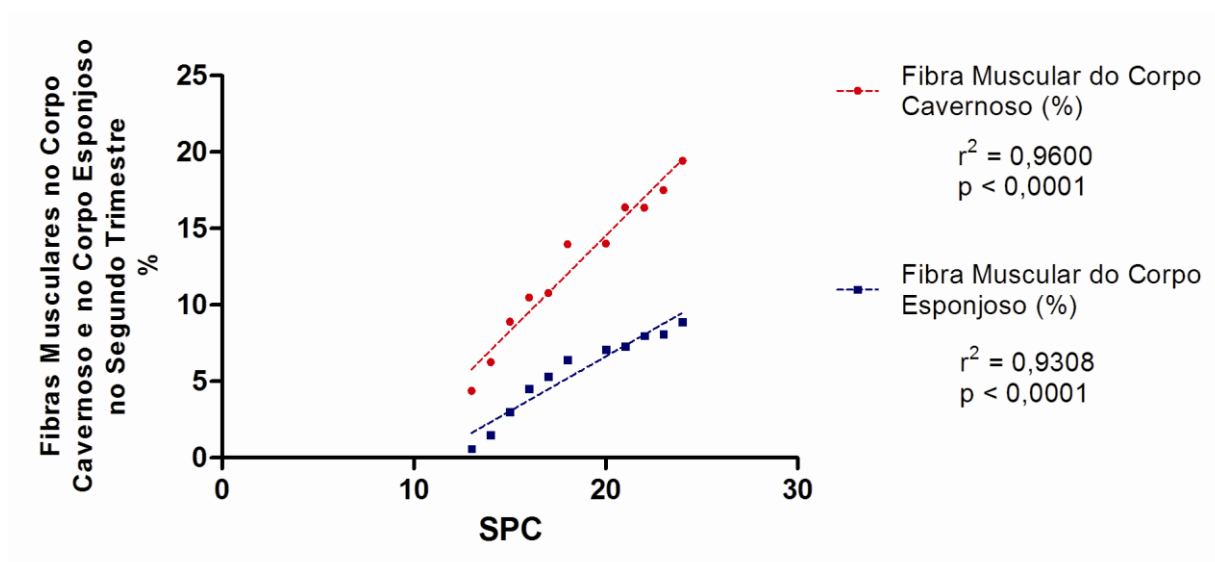


Figura 63 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de músculo, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

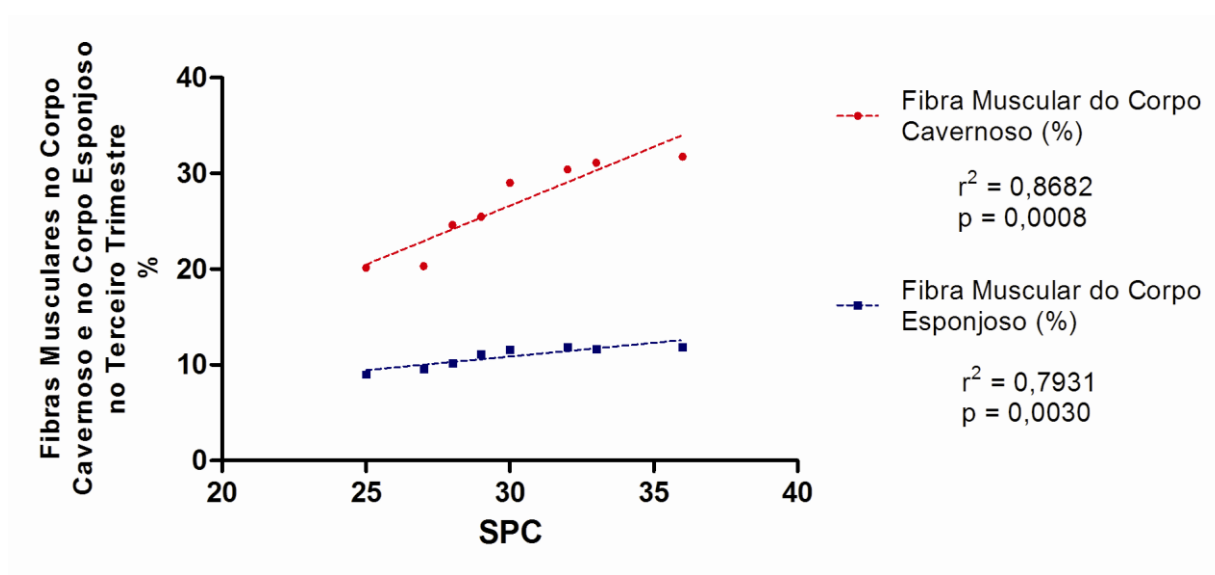


Figura 64 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de músculo, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

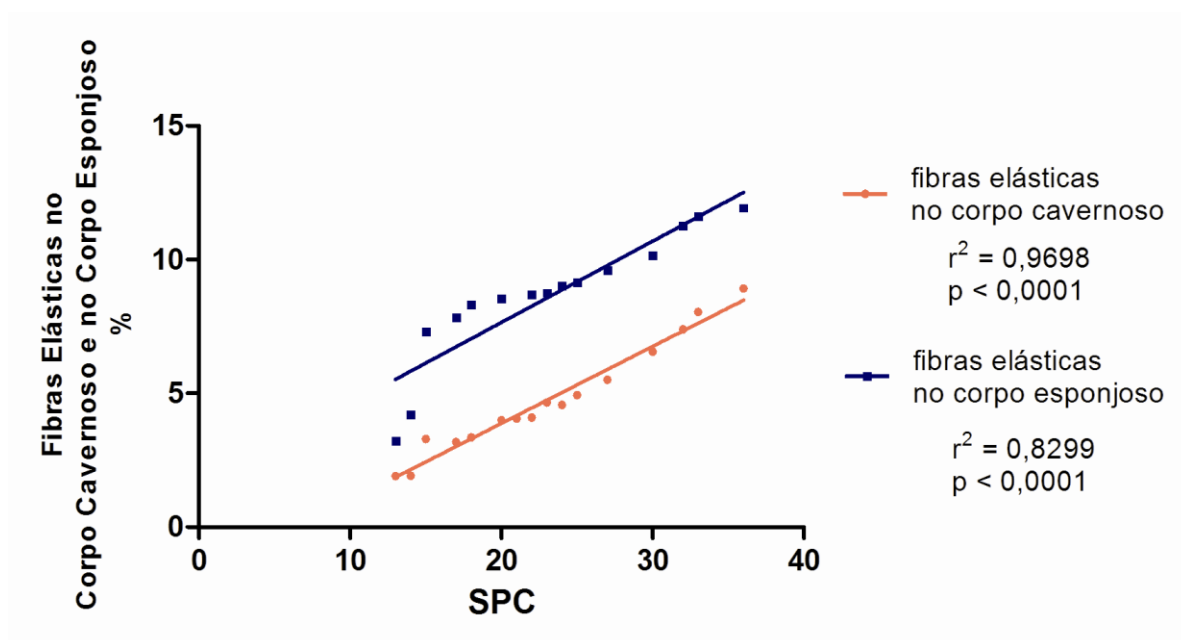


Figura 65 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de fibra elástica, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), **durante todo o período fetal estudado** (13 a 36 SPC). Os pontos representam a média dos valores obtidos em cada semana estudada. Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

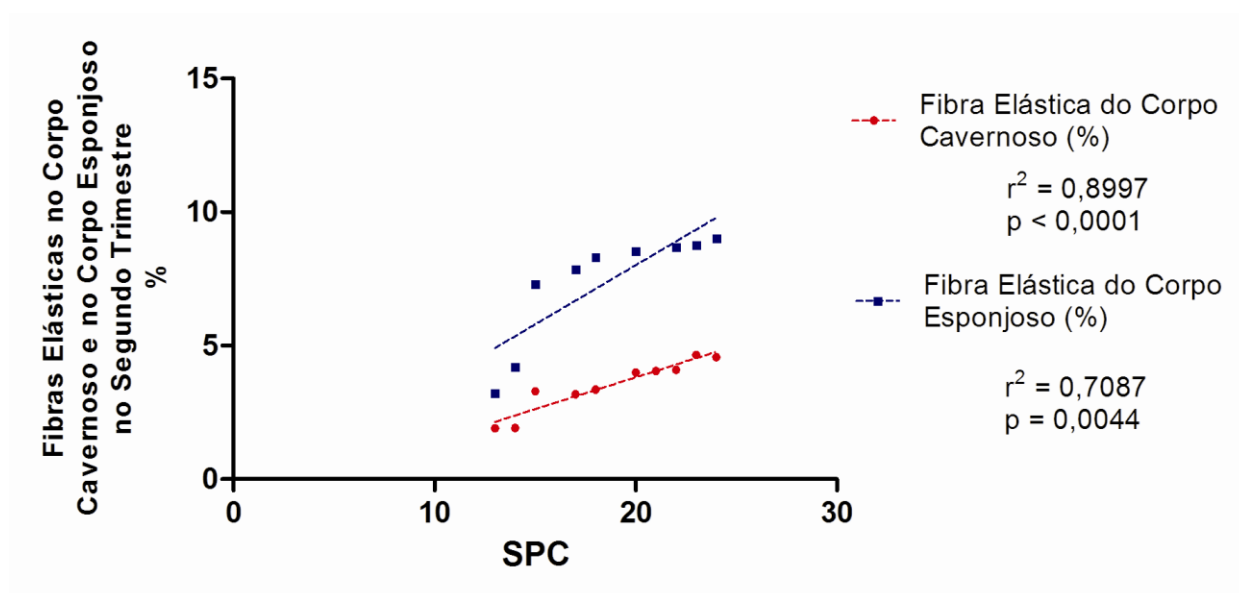


Figura 66 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de fibra elástica, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **Ilo. Trimestre Gestacional** (13 a 24 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

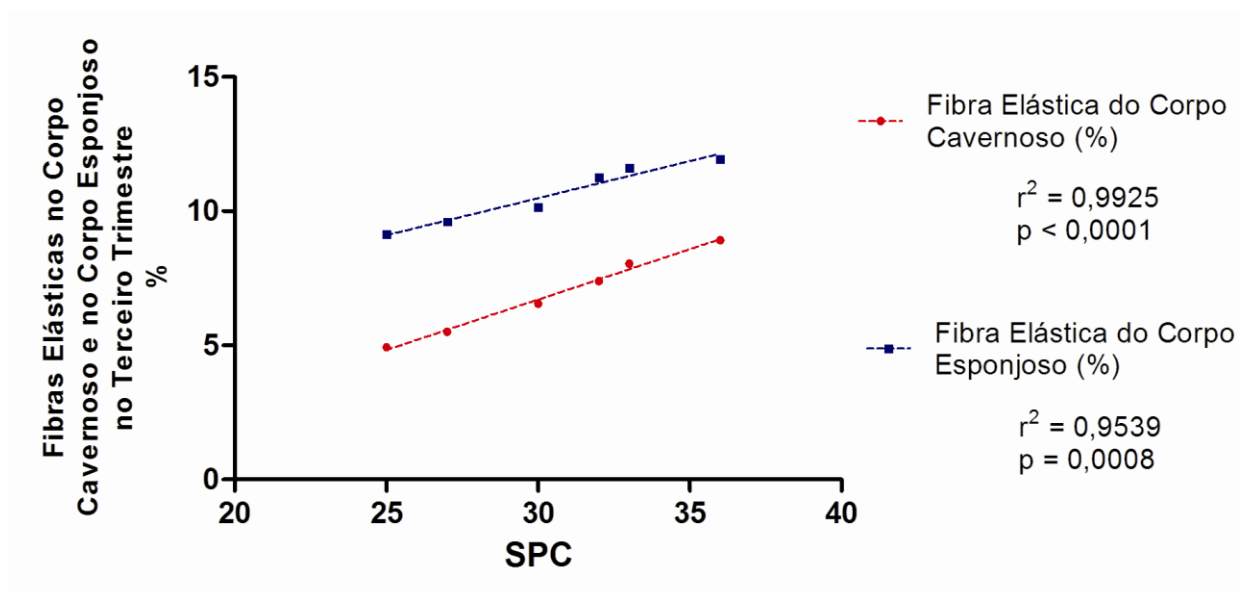


Figura 67 - Regressão Linear Simples – Comparação dos resultados obtidos de fibra elástica, em porcentagem, no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, nas diferentes idades gestacionais analisadas, em semanas pós-concepção (SPC), no **IIIo. Trimestre Gestacional** (25 a 36 SPC). Os resultados mostram crescimento correlacionado com a idade gestacional.

4 DISCUSSÃO

Os animais mais frequentemente utilizados em laboratório para diferentes experimentos, incluindo os estudos ligados ao desenvolvimento, são o rato e o camundongo. Com relação ao sistema genital, o coelho também tem sido utilizado como um bom modelo (Abidu-Figueiredo, 2011). No entanto, estes animais apresentam algumas peculiaridades. No que se refere ao rato, por exemplo, o pênis apresenta um tecido erétil predominantemente fibroso, enquanto que em humanos é basicamente muscular, além disso, o rato possui o osso peniano (Pinheiro et al. 2000). No coelho, apesar de um bom modelo, existe uma abundância de tecido elástico, quando comparado a humanos, tanto no corpo cavernoso quanto no esponjoso, com quantidades equivalentes (Maia et al., 2006). Por este motivo é importante se ter um padrão em humanos.

Durante o período embrionário e fetal, as transformações sofridas pelos diferentes componentes teciduais são muito rápidas. Órgãos e tecidos sofrem modificações importantes, macro e microscopicamente, em um curto espaço de tempo (Moore & Persaud, 2012). Por isso, existe a necessidade de se abreviar o mais possível o intervalo das observações, que no presente trabalho, foi definido em cerca de sete dias, na maioria dos casos. As nossas análises foram concentradas no corpo cavernoso, no corpo esponjoso e na túnica albugínea, que constituem os principais elementos envolvidos no processo de ereção peniana.

Trabalhos do nosso grupo, em diversos órgãos do sistema urogenital, incluindo o pênis, ao longo dos últimos 25 anos, mostraram a importância de se estabelecer um padrão morfológico e de crescimento em fetos normais (Sampaio, 1989; Sampaio FJ et al., 1998; Sampaio & Ambrósio, 1990; Sampaio FJ & Aragão, 1990; Bastos et al., 1999; Bastos et al. 2004; Favorito et al., 2012). Também, estudamos o sistema urogenital em fetos com anomalias congênitas, como síndrome de “prune-belly” e anencefalia, e comparamos estes resultados com fetos normais, com vistas também à possível utilização de anencéfalos, por exemplo, como potenciais doadores de tecidos e órgãos (Favorito et al., 2004. Pazos et al., 2011; de Carvalho et al., 2012).

Em relação ao crescimento do pênis no período fetal, os únicos estudos disponíveis na literatura, além dos do nosso grupo (Sampaio FJ et al., 1998; Bastos et al., 1999; Bastos et al. 2004; Favorito et al., 2004; Bastos et al. 2005; Pazos et al., 2011; de Carvalho et

al., 2012; Favorito et al., 2012), foram realizados por meio de ultrassonografia ou outros métodos de imagem intra-útero, e dizem respeito apenas ao comprimento do pênis (Johnson & Maxwell, 2000; Zalet et al., 2001; Perlitz et al., 2011; Danon et al., 2012; Nemec et al., 2012).

Johnson & Maxwell (2000) estudaram o comprimento do pênis em 95 fetos normais, entre 16 e 38 semanas gestacionais (o que corresponde entre 14 e 36 semanas pós-concepção - SPC). Foi observado que o comprimento do pênis fetal aumenta com a idade gestacional, de um valor médio de 6 mm na 16ª semana até 26,4 mm na 38ª semana gestacional. Os estudos em ultrassonografia têm sido algumas vezes criticados, porque alguns examinadores podem não levar em conta no momento da medida, se o feto está em ereção, fato que já foi constatado há várias décadas (Hitchcock, 1980). De fato, o artigo de Johnson & Maxwell (2000) foi criticado por Jakobovits (2001) que identificou em uma imagem, que um feto estava em ereção. Desta forma, Jakobovits (2001) colocou em dúvida a acurácia dos resultados, pois os autores podem ter obtido medidas em ereção e em estado flácido.

Em estudo semelhante, Zalet et al. (2001) estabeleceram um nomograma do comprimento do pênis entre 14 e 38 semanas gestacionais, estudando 419 fetos, e observaram um crescimento fortemente relacionado com a idade gestacional, sendo que o comprimento peniano variou de 3,88 mm na 14ª semana até 23,77 na 38ª semana gestacional.

Perlitz et al. (2011), em um trabalho mais preciso, avaliaram o comprimento do pênis em 242 fetos com idades compreendidas entre 14 e 35 semanas gestacionais. O comprimento peniano foi medido da borda proximal do corpo cavernoso até a extremidade da glândula. Encontraram que o comprimento do pênis aumenta correlacionado com a idade gestacional, de 7 mm na 14ª semana gestacional até 50 mm na 35ª semana. Encontraram também que as medidas do comprimento do pênis fetal foram fortemente correlacionadas com as medidas da biometria fetal.

Danon et al. (2012) estudaram também por ultrassom intra-útero, 100 fetos entre a 22ª e 36ª semanas gestacionais e encontraram valores de comprimento do pênis compreendidos entre 8,6mm e 19,3 mm. O autor discutiu ainda que uma das limitações do estudo é a possibilidade do feto estar em ereção plena, ereção média ou em estado flácido no momento das medidas.

Com o uso de ressonância magnética nuclear, Nemec et al. (2012) estudaram o crescimento peniano em 194 fetos entre 18 e 34 semanas gestacionais. O comprimento

do pênis foi avaliado como comprimento externo (da extremidade da glândula até a margem escrotal) e também da extremidade da glândula até a margem da sínfise púbica (comprimento total). A medida do comprimento externo do pênis por ressonância magnética nuclear foi similar àquela obtida por ultrassonografia em trabalhos prévios.

No presente trabalho, confirmou-se que na 13ª semana pós-concepção (SPC), os corpos cavernosos e o corpo esponjoso, bem como a túnica albugínea e os septos intracavernosos, já se apresentam como estruturas anatômicas bem individualizadas e são os elementos que foram analisados no presente trabalho (Figura 14).

Avaliamos pela primeira vez o desenvolvimento da área peniana, dos corpos cavernosos e do corpo esponjoso, durante o período fetal humano (13 a 36 SPC), e fracionado em IIo. trimestre (13 a 24 SPC) e em IIIo. trimestre (25 a 36 SPC).

Com relação à área total do pênis, observamos uma correlação fortemente positiva entre o crescimento da área total e a idade gestacional, cuja média variou de 0,956 mm² na 13ª SPC até 24,250 mm² na 36ª SPC (Figura 15). Foi observado um crescimento em ritmo mais intenso no IIo. trimestre gestacional (13 a 24 SPC) quando comparado ao IIIo. trimestre (25 a 36 SPC), Figuras 16 e 17.

A área do corpo cavernoso também apresentou um crescimento correlacionado com a idade gestacional e variou de 0,28 mm² a 9,12 mm² da 13ª à 36ª SPC. Foi observado um crescimento mais intenso no IIo. trimestre gestacional (Figuras 18 a 20).

A área do corpo esponjoso também apresentou um crescimento correlacionado com a idade gestacional e variou de 0,14 mm² a 3,99 mm² da 13ª à 36ª SPC. Também, foi observado um crescimento mais intenso no IIo. trimestre gestacional (Figuras 21 a 23).

A análise quantitativa e as correlações lineares obtidas demonstraram que o crescimento da área do corpo cavernoso e da área do corpo esponjoso é proporcional ao crescimento da área total do pênis (Figura 52-A) e que também o crescimento da área do corpo cavernoso e do corpo esponjoso é proporcional entre eles (Figura 52-B).

Os achados em relação ao ritmo de crescimento do pênis, de acordo com o trimestre gestacional, mostrando um crescimento mais intenso no IIo. trimestre, são exatamente os mesmos encontrados anteriormente para o crescimento do rim. Em estudos prévios de nosso laboratório, avaliando 240 rins humanos, foi constatado que o rim apresenta um ritmo de crescimento muito mais intenso no IIo. trimestre gestacional em fetos masculinos (Sampaio, 1989; Sampaio & Ambrosio, 1990; Sampaio & Aragão, 1990).

Na avaliação das estruturas que compõem o tecido erétil do pênis, com relação ao colágeno, foi possível constatar que na 13ª SPC, no corpo cavernoso, existe uma predominância de tecido mesenquimal e abundância de núcleos com pequena quantidade de colágeno incipiente (Figuras 30-A e 31-A), diferentemente do corpo esponjoso, que já na 13ª SPC apresenta uma quantidade apreciável de colágeno (Figuras 30-B, 32-A). A análise quantitativa confirma de modo inequívoco estas observações (Figuras 59 a 61). É interessante observar, que de maneira consistente, existe maior quantidade proporcional de colágeno no corpo esponjoso em relação ao corpo cavernoso, e esta diferença é expressivamente maior no IIIo. trimestre (Figura 61).

À medida que aumenta a idade gestacional, o colágeno no corpo cavernoso vai se tornando mais evidente e aumentando em quantidade (Figuras 30-C, 30-E, Figura 31). A análise quantitativa demonstra objetivamente e confirma estes resultados (Figura 24). Em termos de ritmo de crescimento, comparando-se o crescimento do colágeno no corpo cavernoso entre o IIo. e o IIIo. trimestre, observamos um crescimento mais acentuado no IIo. trimestre (Figuras 25 e 26).

Quanto ao corpo esponjoso, verificou-se também, que à medida que aumenta a idade gestacional, o colágeno vai aumentando em quantidade (Figuras 30-B, 30-D, 30-F, Figura 32) e a análise quantitativa confirma esses achados (Figura 27). Quanto ao ritmo de crescimento do colágeno no corpo esponjoso, nota-se que também é mais intenso no IIo. trimestre gestacional (Figura 28) quando comparada ao IIIo. trimestre (Figura 29).

Estudo prévio em nosso laboratório (Bastos et al. 1999) estudando 5 fetos normais com 28 SPC já havia demonstrado que o colágeno é um componente importante e bem diferenciado no corpo cavernoso no IIIo. trimestre gestacional. Outro estudo anterior prévio de nosso laboratório (Bastos et al. 2005), em fetos humanos normais, lactentes, crianças e adultos, usando métodos bioquímicos, mostrou que a concentração de colágeno na área total do pênis de fetos aumentou progressivamente, e quase dobrou entre a 17ª e a 33ª SPC, sugerindo que mudanças importantes da matriz extracelular peniana ocorrem neste período gestacional. Entretanto, este trabalho não pode ser correlacionado diretamente ao presente estudo, pois incluiu a túnica albugínea na quantificação total do colágeno (Bastos et al, 2005). De certo modo, o presente trabalho é mais preciso, visto que com a metodologia utilizada, de quantificação por diferenciação de gama de cores (Image J, “plugin color segmentation”) foi possível quantificar separadamente o colágeno no corpo cavernoso e no corpo esponjoso,

excluindo-se a túnica albugínea. Também, em estudo prévio de nosso laboratório, Costa et al. (1996) mostraram que a percentagem de colágeno no corpo cavernoso é da ordem de 40% em adultos normais, o que é pouco mais de 3% acima da média de 36,6% que encontramos para fetos no final da gestação (36^a SPC, Tabela 2), o que demonstra que a quantidade de colágeno aumenta pouco após o nascimento.

A partir da 22^a SPC, na análise qualitativa, começa-se a observar no corpo cavernoso, uma relação entre músculo liso e colágeno, sendo evidenciado o aumento proporcional do músculo, diferentemente do que ocorre no corpo esponjoso, que permanece com o colágeno em maior quantidade (Figuras 30, 31, 32, 39, 40, 41). Na análise quantitativa, comparando-se a quantidade proporcional de colágeno e músculo liso no corpo cavernoso e no corpo esponjoso, confirma-se objetivamente essas observações, notando-se ainda que esta diferença é mais pronunciada no IIIo. trimestre (Figuras 59 a 64).

Ainda no corpo cavernoso, à medida que o feto cresce, nota-se que o colágeno aumenta progressivamente, e paralelamente, ocorre um aumento das fibras musculares e do sistema elástico (Figura 30-A, 30-C, 30-E, Figura 31, Figura 39-A, 39-C, 39-E, Figura 40, Figura 48-A, 48-C, Figura 49). A análise quantitativa mostra objetivamente, no entanto, que o aumento das fibras musculares lisas é proporcionalmente maior, considerando-se a área do corpo cavernoso em todo o período fetal e também no IIo. e no IIIo. trimestres gestacionais (Figuras 53 a 55).

A análise quantitativa do desenvolvimento das fibras musculares lisas, no corpo cavernoso, também mostra um crescimento fortemente correlacionado com a idade gestacional (Figura 33) e também mais acentuado no IIo. trimestre (Figura 34) quando comparado ao IIIo. trimestre (Figura 35). A análise qualitativa mostra um crescimento com predominância do tecido muscular nas trabéculas e uma diminuição proporcional do colágeno, caracterizando um corpo cavernoso predominantemente muscular (Figuras 39-A, 39-C, 39-E, Figura 40).

Estudo prévio do nosso laboratório (Sampaio et al. 1998), analisando 7 fetos na 24^a SPC encontrou uma distribuição de fibras musculares lisas no corpo cavernoso variando de 17.52% a 27.76% com uma média 22.72%, o que está de acordo com o presente trabalho. Também, em estudo prévio de nosso laboratório (Costa et al. 1996), foi demonstrado que a percentagem de fibras musculares lisas no corpo cavernoso é da ordem de 40% em adultos normais, cerca de 10% maior do que a média de 29,76% que

encontramos para fetos no final da gestação (36 SPC, Tabela 2), mostrando que o crescimento proporcional das fibras musculares lisas continua após o nascimento.

Estes achados, em relação ao músculo liso no corpo cavernoso, são contrários ao que ocorre em outros mamíferos, como o rato, no qual o corpo cavernoso se apresenta predominantemente formado por fibras colágenas (Pinheiro et al., 2000), ou no coelho, onde há abundância de fibras elásticas (Maia et al. 2006), ou ainda no javali, onde existe escassez de fibras musculares lisas no corpo cavernoso (Babinski et al. 2005).

Com relação ao corpo esponjoso, as fibras musculares também crescem em ritmo mais acelerado no IIo. trimestre gestacional quando comparado ao IIIo. trimestre (Figuras 36 a 38).

Ainda no corpo esponjoso, à medida que o feto cresce, nota-se que o colágeno aumenta progressivamente, e paralelamente, ocorre um aumento das fibras musculares e do sistema elástico, embora em menor quantidade e em menor intensidade (Figura 30-B, 30-D, 30-F, Figura 32, Figura 39-B, 39-D, 39-F, Figura 41, Figura 48-B, 48-D, Figura 50). A análise quantitativa mostra objetivamente, no entanto, que o aumento do colágeno é proporcionalmente maior, considerando-se a área do corpo esponjoso em todo o período fetal e também no IIo. e no IIIo. trimestres gestacionais (Figuras 56 a 58). A análise quantitativa demonstrou também que existe cerca de 4 vezes mais colágeno do que fibras musculares e fibras elásticas no corpo esponjoso ao longo de todo o período fetal. Ainda no corpo esponjoso, observa-se que a quantidade de fibras musculares e fibras elásticas se equivalem (Figuras 56 a 58).

Com relação às fibras do sistema elástico, verifica-se que à medida que aumenta a idade gestacional, as fibras vão se tornando mais evidentes e aumentando em quantidade, tanto no corpo cavernoso quanto no corpo esponjoso (Figuras 48 a 50). A análise quantitativa (Figuras 42 a 47) confirma objetivamente esses achados. A regressão linear da análise quantitativa mostra ainda que o crescimento das fibras do sistema elástico no corpo cavernoso ocorre em ritmo mais intenso no IIo. trimestre gestacional ao passo que no corpo esponjoso o ritmo de crescimento das fibras do sistema elástico é semelhante ao longo do período fetal estudado (Figuras 45 a 47). Ao longo de todo o período fetal, a quantidade percentual de fibras do sistema elástico é maior no corpo esponjoso quando comparado ao corpo cavernoso (Figuras 48 a 50). A análise quantitativa confirma objetivamente essa diferença (Figuras 65 a 67).

Estudo prévio de nosso grupo (Bastos et al. 2004) com 10 fetos entre 15 e 36 SPC mostrou a concentração de fibras elásticas na uretra esponjosa aumenta de modo

significativo com a idade do feto e a concentração variou de 5 a 14%, o que está de acordo com os resultados do presente estudo. Também, em estudo prévio de nosso laboratório, Costa et al. (1996) mostraram que a percentagem de fibras do sistema elástico é da 13% em adultos normais, o que é muito semelhante à média de 11,93% que encontramos para fetos no final da gestação (36ª SPC, Tabela 2), o que demonstra que a quantidade de fibras elásticas aumenta pouco após o nascimento.

Com relação à espessura da túnica albugínea, verifica-se que sua espessura variou de 0,029 a 0,296 na região dorsal e de 0,014 a 0,113 na região ventral do pênis, ao longo do período fetal (Tabela 4). O aumento da espessura foi diretamente proporcional e apresentou correlação fortemente positiva com a idade gestacional e com a área do pênis (Figura 51). Foi ainda observado, e quantificado pela primeira vez na literatura, que a espessura da túnica albugínea é consistente e significativamente maior na região dorsal, onde se apresenta espessa, em comparação com a região ventral, onde é fina e tênue (Figuras 6 e Figura 14). Ao longo de todo período fetal, a espessura da região dorsal é maior, variando de cerca de 2 vezes até 3 vezes mais espessa, sendo que a diferença se torna mais evidente ao final da gestação. Esses achados têm implicação clínica importante, uma vez que se observa extrusão de próteses penianas e perfurações durante colocação das mesmas, com mais frequência na região ventral do pênis.

6 CONCLUSÕES

Existe correlação fortemente positiva entre o crescimento da área total, da área do corpo cavernoso e da área do corpo esponjoso, com a idade gestacional, durante o período fetal estudado (13 a 36 semanas pós-concepção - SPC).

O crescimento dos elementos constituintes do tecido erétil do pênis (colágeno, fibras musculares lisas e fibras elásticas) é fortemente correlacionado de forma positiva com a idade gestacional no período fetal estudado (13 a 36 SPC).

O ritmo de crescimento da área do pênis, do corpo cavernoso e do corpo esponjoso ocorre de forma mais intensa no IIo. trimestre gestacional (13 a 24 SPC).

O ritmo de crescimento dos elementos constituintes do tecido erétil do pênis (colágeno, fibras musculares lisas e fibras elásticas) ocorre de forma mais intensa no IIo. trimestre gestacional (13 a 24 SPC), tanto em relação ao corpo cavernoso quanto ao corpo esponjoso.

Existe maior quantidade proporcional de colágeno no corpo esponjoso em relação ao corpo cavernoso, e esta diferença é expressivamente maior no IIIo. trimestre.

Com o aumento da idade gestacional, no corpo cavernoso ocorre um crescimento de fibras musculares com predominância nas trabéculas e uma diminuição proporcional do colágeno.

As fibras do sistema elástico são os elementos constituintes em menor quantidade no tecido erétil do corpo cavernoso ao longo de todo o período fetal.

No corpo esponjoso, ao longo do período fetal, existe cerca de 4 vezes mais colágeno do que fibras musculares e fibras elásticas.

No corpo esponjoso, ao longo do período fetal, a quantidade de fibras musculares e fibras elásticas se equivalem.

O crescimento da espessura da túnica albugínea foi diretamente proporcional e apresentou correlação fortemente positiva com a idade gestacional.

A espessura da túnica albugínea é maior na região dorsal em relação à região ventral do pênis e a diferença é mais evidente ao final da gestação.

REFERÊNCIAS

- Abidu-Figueiredo M, Ribeiro IC, Chagas MA, Cardoso LE, Costa WS, Sampaio FJ. The penis in diabetes: structural analysis of connective tissue and smooth muscle alterations in a rabbit model. *BJU Int.* 2011; 108: 400-4.
- Babinski MA, deBrito-Gitirana L, Chagas MA, Abidú-Figueiredo M, Costa WS, Sampaio FJ. Immunohistochemical analysis of smooth muscle cells and volumetric density of the elastic system fibers of wild boar (*Sus scrofa*) penis. *Anim Reprod Sci.* 2005; 86: 317-28.
- Bastos AL, Costa WS, Cardoso LE, Sampaio FJ. Collagen and elastic fibers in the penis of human fetuses at 28 weeks postconception. *Eur Urol.* 1999; 36: 158-63.
- Bastos AL, Sampaio FJ, Cardoso LE. Compositional changes of collagen and glycosaminoglycans in the tunica albuginea and corpus cavernosum from the human penis during the fetal and postnatal periods. *J Urol.* 2005; 173: 1039-43.
- Bastos AL, Silva EA, Silva Costa W, Sampaio FJ. The concentration of elastic fibres in the male urethra during human fetal development. *BJU Int.* 2004; 94: 620-3.
- Bergman I, Loxley R. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal Biochem.* 1963; 35: 1961-5.
- Cabral CA, Sampaio FJ, Cardoso LE. Analysis of the modifications in the composition of bladder glycosaminoglycan and collagen as a consequence of changes in sex hormones associated with puberty or oophorectomy in female rats. *J Urol.* 2003; 170: 2512-6.
- Costa WS, Carrerete FB, Horta WG, Sampaio FJ. Comparative analysis of the penis corpora cavernosa in controls and patients with erectile dysfunction. *BJU Int.* 2006; 97: 567-9.
- Cotta-Pereira G, Del-Caro LM, Montes GS. Distribution of elastic system fibers in hyaline and fibrous cartilages of the rat. *Acta Anat (Basel).* 1984; 119: 80-5.
- Danon D, Ben-Shitrit G, Bardin R, Machiach R, Vardimon D, Meizner I. Reference values for fetal penile length and width from 22 to 36 gestational weeks. *Prenat Diagn.* 2012; 32: 829-32.
- de Carvalho JP, Costa WS, Sampaio FJ, Favorito LA. Anencephaly does not cause structural alterations in the fetal penis. *J Sex Med.* 2012; 9: 735-42.
- de Souza DB, Silva D, Cortez CM, Costa WS, Sampaio FJ. Effects of chronic stress on penile corpus cavernosum of rats. *J Androl.* 2012; 33: 735-9.
- Favorito LA, Balassiano CM, Costa WS, Sampaio FJ. Development of the human foreskin during the fetal period. *Histol Histopathol.* 2012; 27: 1041-5.
- Favorito LA, Cardinot TM, Morais AR, Sampaio FJ. Urogenital anomalies in human male fetuses. *Early Hum Dev.* 2004; 79: 41-7.
- Gartner LP, Hiatt JL. *Tratado de Histologia.* 3 edn. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.

Goldstein AM, Meehan JP, Zakhary R, Buckley PA, Rogers FA. New observations on microarchitecture of corpora cavernosa in man and possible relationship to mechanism of erection. *Urology*. 1982; 20: 259-66.

Gray H, Gross GF. *Anatomia*. 29 edn. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1988.

Hern WM. Correlation of fetal age and measurements between 10 and 26 weeks of gestation. *Obstet Gynecol*. 1984; 63: 26-32.

Hitchcock DA, Sutphen JH, Scholly TA. Demonstration of fetal penile erection in utero. *Perinat/Neonat*. 1980; 4: 59-60.

Iacono F, Barra S, de Rosa G, Boscaino A, Lotti T. Microstructural disorders of tunica albuginea in patients affected by impotence. *Eur Urol*. 1994; 26: 233-9.

Jakobovits AA. Fetal penile erection. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001; 18: 405.

Johnson P, Maxwell D. Fetal penile length. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2000; 15: 308-10.

Junqueira L, Carneiro J. *Histologia Básica*. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Kadler KE, Holmes DF, Trotter JA, Chapman JA. Collagen fibril formation. *Biochem J*. 1996; 316: 1-11.

Latarjet M, Ruiz-Liard A. *Anatomia Humana*. 2 edn. São Paulo: Panamericana; 1993.

Maia RS, Babinski MA, Figueiredo MA, Chagas MA, Costa WS, Sampaio FJ. Concentration of elastic system fibers in the corpus cavernosum, corpus spongiosum, and tunica albuginea in the rabbit penis. *Int J Impot Res*. 2006; 18: 121-5.

Mecham RP. Receptors for laminin on mammalian cells. *Faseb J*. 1991; 5: 2538-46.

Mercer BM, Sklar S, Shariatmadar A, Gillieson MS, D'Alton ME. Fetal foot length as a predictor of gestational age. *Am J Obstet Gynecol*. 1987; 156: 350-5.

Miranda AF, Gallo CB, De Souza DB, Costa WS, Sampaio FJ. Effects of castration and late hormonal replacement in the structure of rat corpora cavernosa. *J Androl*. 2012; 33: 1224-32.

Moore KL, Persaud TVN. *Before We Are Born: essentials of embryology and birth defects*. 8 ed. Philadelphia: Saunders; 2012.

Nemec SF, Kasprian G, Brugger PC, Bettelheim D, Nemec U, Krestan CR, Rotmensch S, Rimoin DL, Graham JM Jr, Prayer D. Abnormalities of the penis in utero--hypospadias on fetal MRI. *J Perinat Med*. 2011; 39: 451-6.

Nemec SF, Nemec U, Weber M, Brugger PC, Bettelheim D, Rotmensch S, Krestan CR, Rimoin DL, Graham JM Jr, Prayer D. Penile biometry on prenatal magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012; 39: 330-5.

- Odeh M, Granin V, Kais M, Ophir E, Bornstein J. Sonographic fetal sex determination. *Obstet Gynecol Surv.* 2009; 64: 50-7.
- Ostrer H, Wilson DI, Hanley NA. Human embryo and early fetus research. *Clin Genet*, 2006; 70: 98-107.
- Park JM. Normal and anomalous development of the urogenital system. In: *Campbell's Urology*. 8 edn. New York: Saunders; 2002. p. 1737-64.
- Pazos HM, Lobo ML, Costa WS, Sampaio FJ, Cardoso LE, Favorito LA. Do neural tube defects lead to structural alterations in the human bladder? *Histol Histopathol.* 2011; 26: 581-8.
- Perlitz Y, Keselman L, Haddad S, Mukary M, Izhaki I, Ben-Ami M. Prenatal sonographic evaluation of the penile length. *Prenat Diagn.* 2011; 31: 1283-85.
- Pinheiro AC, Costa WS, Cardoso LE, Sampaio FJ. Organization and relative content of smooth muscle cells, collagen and elastic fibers in the corpus cavernosum of rat penis. *J Urol.* 2000; 164: 1802-6.
- Platt LD, Medearis AL, DeVore GR, Horenstein JM, Carlson DE, Brar HS. Fetal foot length: relationship to menstrual age and fetal measurements in the second trimester. *Obstet Gynecol.* 1988; 71: 526-31.
- Ravasi T, Suzuki H, Cannistraci CV, et al. An atlas of combinatorial transcriptional regulation in mouse and man. *Cell.* 2012; 140: 744-52.
- Rosenbloom J, Abrams WR, Mecham R. Extracellular matrix 4: the elastic fiber. *Faseb J.* 1993; 7: 1208-18.
- Sampaio FJ. Estudo do Crescimento do Rim Humano durante o Período Fetal. [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1989.
- Sampaio FJ, Ambrósio JD. Longueur du rein et longueur du pied. Analyse corrélative au cours de la période foetale. *Journal d'Urologie.* 1990; 96: 129-31.
- Sampaio FJ, Aragão AH. Study of the fetal kidney length growth during the second and third trimesters of gestation. *European Urology.* 1990; 17: 62-5.
- Sampaio FJ, Pinto JL, Silva-Costa W, Pereira MJ. Quantitative analysis of smooth muscle fibers in corpus cavernosum of human fetuses. *J Urol.* 1998; 159: 2226-8.
- Sharony R, Bental YA, Eyal O, Biron-Shental T, Weisbrod M, Shiff Y, et al. Correlation between prenatal and postnatal penile and clitoral measurements. *J Clin Ultrasound.* 2012; 40: 394-98.
- Shirozu H, Koyanagi T, Takashima T, Horimoto N, Akazawa K, Nakano H. Penile tumescence in the human fetus at term--a preliminary report. *Early Hum Dev.* 1995; 41: 159-66.
- Stephens FD, Smith ED, Hutson JM. Normal Embryology of the Upper Urinary Tract and Kidneys. In: *Congenital Anomalies of the Kidney, Urinary and Genital Tracts*. Martin Dunitz, London; 2002. pp. 283-92.

Ushiki T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. *Arch Histol Cytol*. 2002; 65: 109-26.

van der Rest M, Garrone R. Collagen family of proteins. *Faseb J*. 1991; 5: 2814-23.

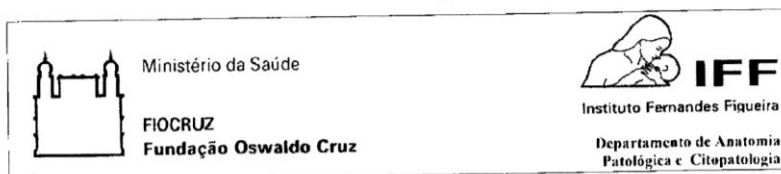
Wein AJ., Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. *Campbell's Urology*: 10th edition. Philadelphia, WB Saunders; 2011.

Wespes E, Goes PM, Schiffmann S, Depierreux M, Vanderhaeghen JJ, Schulman CC. Computerized analysis of smooth muscle fibers in potent and impotent patients. *J Urol*. 1991; 146: 1015-7.

Zalel Y, Pinhas-Hamiel O, Lipitz S, Mashiach S, Achiron R. The development of the fetal penis--an in utero sonographic evaluation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001; 17: 129-31.

ANEXO –

TERMO DE COOPERAÇÃO INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA / UERJ



Rio de Janeiro 5 de outubro de 2010

Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Ilmo Chefe do Departamento de Anatomia Humana

Em conformidade com a legislação Lei nº 8.501, de 30 de novembro de 1992 em seu artigo quarto, efetivamos a doação de fetos, relacionados em anexo, à Universidade Estadual do Rio de Janeiro – UERJ – para fins de pesquisa e estudos.


Dra. Elide Almeida
Chefe do Departamento