



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Marcello Henrique Araujo da Silva

**Avaliação histomorfométrica do corpo cavernoso do rato após o tratamento
com dutasterida ou finasterida em um modelo de hiperplasia prostática
benigna**

Rio de Janeiro

2018

Marcello Henrique Araujo da Silva

Avaliação histomorfométrica do corpo cavernoso do rato após o tratamento com dutasterida ou finasterida em um modelo de hiperplasia prostática benigna

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Diogo Benchimol de Souza

Rio de Janeiro

2018

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

S586 Silva, Marcello Henrique Araujo da.

Avaliação histomorfétrica do corpo cavernoso após o tratamento com a dutasterida e a finasterida em um modelo roedor de hiperplasia prostática benigna. / Marcello Henrique Araujo da Silva. – 2018.
55 f.

Orientador: Diogo Benchimol de Souza

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas.

1. Disfunção erétil – Teses. 2. Pênis - Teses. 3. Próstata – Hiperplasia – Teses..
4. Hiperplasia Prostática. 5. Finasterida. 6. Dutasterida. I. Souza, Diogo Benchimol de. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.65-007.61

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

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

Assinatura

Data

Marcello Henrique Araujo Da Silva

Avaliação histomorfométrica do corpo cavernoso do rato após o tratamento com dutasterida ou finasterida em um modelo de hiperplasia prostática benigna

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2018.

Orientador: Prof. Dr. Diogo Benchimol de Souza

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Waldemar Silva Costa

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof. Dr. Marco Aurélio Pereira Sampaio

Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Bruno Félix Patrício

Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2018

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a Jane da Conceição A. da Silva, Ana Beatriz A. da Silva, Sergio B. dos Santos e Luis Claudio da Silva. Que me proveram inspiração, força e conforto nos momentos mais difíceis e compreenderam o papel desta dissertação, para na comunidade científica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Diogo Benchimol de Souza, meu orientador, pelo tempo dedicado a orientação, pelos ensinamentos durante os anos de convivência no Laboratório de Pesquisa Urogenital. E por me aceitar como seu orientando neste programa.

Agradeço ao Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio, Coordenador do Curso de Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, pela oportunidade de participar do curso de pós-graduação.

Agradeço ao Prof. Dr. Waldemar Silva Costa pelos ensinamentos durante esses últimos 5 anos de convivência. Obrigado pelas aulas de conversação em inglês. Obrigado por contribuir em diversos momentos para a elaboração desta dissertação

Agradeço imensamente aos Prof. Jorge Medeiros Júnior e ao Prof. Bruno Félix Patrício, pela oportunidade de aprender com os senhores, pelos conselhos e pelos “puxões de orelha”.

Agradeço a todos os alunos de iniciação científica que participaram deste projeto de pesquisa desde o desenho experimental do mesmo. Muito obrigado pela oportunidade de passar um pouco do meu conhecimento para cada um de vocês: Raphael Paiva da Silva, Leticia Brito Tambasco, Angelo de Souza Fernandes, João Henrique Duque Reis Estrada, Caio Correa Lima, Antonio Barboza Souza Junior e Carolina Martins Santos.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa durante todo o meu curso do mestrado acadêmico. E agradeço a Universidade do Estado do Rio de Janeiro, pelo espaço cedido para o desenvolvimento deste trabalho.

.... Que a inspiração chegue não depende de mim. A única coisa que posso fazer é garantir que ela me encontre trabalhando ...

Pablo Picasso

RESUMO

SILVA, Marcello Henrique Araujo da. *Avaliação histomorfétrica do corpo cavernoso após o tratamento com a dutasterida e a finasterida em um modelo roedor de hiperplasia prostática benigna*. 2018. 55f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

A disfunção erétil é um efeito adverso comum dos tratamentos com dutasterida e finasterida, para a hiperplasia prostática benigna (HPB). Mas não se sabe o que acontece na morfologia do corpo cavernoso após o tratamento com esses fármacos. O objetivo deste estudo foi investigar mudanças estruturais no pênis de um modelo de HPB tratado com dutasterida ou finasterida. Sessenta ratos machos foram divididos nos seguintes grupos: Ctrl, ratos *Wistar Kyoto* não tratados; Ctrl+D, ratos *Wistar Kyoto* que receberam dutasterida; Ctrl+F, ratos *Wistar Kyoto* que receberam finasterida; HPB, spontaneously hypertensive rats (SHR); HPB+D, SHR tratados com dutasterida; e HPB+F, SHR tratados com finasterida. Todos os tratamentos foram realizados durante 40 dias. Após o tratamento os pênis foram coletados e os corpos cavernosos foram analisados utilizando métodos histomorfométricos. Foram analisados a área transversal do pênis e a densidade superficial (Sv) das fibras musculares lisas, tecido conjuntivo, fibras do sistema elástico e espaços sinusoidais do corpo cavernoso. Os resultados foram comparados pela ANOVA unidirecional com o pós-teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$ como significativo. Os grupos Ctrl+D e Ctrl+F apresentaram reduções significativas na área peniana, mas aumentaram a Sv das fibras do sistema elástico em comparação com o grupo Ctrl. O grupo Ctrl+D apresentou uma redução da Sv do músculo liso. O grupo HPB apresentou uma maior Sv do tecido conjuntivo, mas a Sv do espaço sinusoidal foi inferior em comparação com o grupo Ctrl. Os grupos HPB+D e HPB+F mostraram uma redução no Sv do músculo liso, quando comparados ao grupo de HPB. Além disso, o grupo HPB+D aumentou a Sv do tecido conjuntivo e a Sv das fibras do sistema elástico, em comparação com o grupo HPB. Tanto a dutasterida quanto a finasterida promoveram modificações penianas quando comparados aos grupos controle e ratos com HPB, embora estas fossem mais proeminentes nos animais HPB. Dutasterida foi a droga que mais afetou o corpo cavernoso neste modelo de roedores.

Palavras-chave: Dutasterida. Disfunção erétil. Finasterida. Hiperplasia benigna da prostate.

Rato espontaneamente hipertenso. Pênis.

ABSTRACT

SILVA, Marcello Henrique Araujo da. *Histomorphometric evaluation of the corpus cavernosum after treatment with dutasteride and finasteride in a rodent model of benign prostatic hyperplasia*. 2018. 55f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Erectile dysfunction is a common adverse effect of treatment with finasteride and dutasteride for benign prostatic hyperplasia (BPH). However, it is not known what happens in the morphology of the corpus cavernosum after treatment with these drugs. The aim of this study was to investigate structural changes in the penis of a BPH model treated with dutasteride or finasteride. Sixty adult male rats were divided into the following groups: Ctrl, untreated *Wistar Kyoto* rats; Ctrl+D, *Wistar Kyoto* rats receiving dutasteride; Ctrl+F, *Wistar Kyoto* rats receiving finasteride; HPB, untreated spontaneously hypertensive rats (SHR); HPB+D, dutasteride treated SHR; and HPB+F, SHR treated with finasteride. All treatments were performed for 40 days, after treatment the penises were collected. The cavernous bodies were analyzed using histomorphometric methods to obtain the transverse penile area and the superficial density (Sv) of the smooth muscle fibers, connective tissue, fibers of the elastic system and sinusoidal spaces. The results were compared through one-way ANOVA with the Bonferroni post-test, considering $p < 0.05$ as significant. The Ctrl+D and Ctrl+F groups showed significant reductions in the penile area, but increased the Sv of the elastic system fibers compared to the Ctrl group. The Ctrl+D group showed a reduction of Sv of the smooth muscle. The HPB group had a higher Sv of connective tissue, but the Sv of the sinusoidal space was lower in comparison to the Ctrl group. The HPB+D and HPB+F groups showed a reduction in Sv smooth muscle when compared to the group of BPH. In addition, the HPB+D group increased the Sv of connective tissue and Sv of the fibers of the elastic system compared to the HPB group. Both dutasteride and finasteride promoted penile modifications when compared to control and HPB groups, although these were more prominent in HPB animals. Dutasteride was the drug that most affected the cavernous body in this model of rodents.

Keywords: Benign prostatic hyperplasia. Dutasteride. Erectile dysfunction. Finasteride. Penis. Spontaneously hypertensive rat.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fotomicrografia do pênis de um rato controle antes da dissecação	14
Figura 2 –	Divisão anatômica do pênis do rato.....	14
Figura 3 –	Fotomicrografia do corte transversal do terço médio do pênis de rato....	15
Figura 4 –	Fotomicrografia do corpo cavernoso de um rato controle, com 160 dias de vida, mostrando suas principais estruturas.....	16
Figura 5 –	Procedimento de gavagem.....	19
Figura 6 –	Sala de manipulação em processo de desinfecção.....	20
Figura 7 –	Armazenamento na cabine de segurança biológica TROX technik classe II A1.....	21
Figura 8 –	Organização da cabine.....	21
Figura 9 –	Aferição da pressão arterial cauda por pletismografia de cauda.....	22
Figura 10 –	Mensuração da área do corte transversal do pênis.....	25
Figura 11 –	Mensuração da área do corpo cavernoso com a túnica albugínea.....	25
Figura 12 –	Mensuração da área do corpo cavernoso sem a túnica albugínea.....	26
Figura 13 –	Mensuração da densidade do tecido conjuntivo, músculo liso e sinusóide.....	27
Figura 14 –	Mensuração da densidade das fibras do sistema elástico.....	28
Figura 15 –	Fotomicrografias do epitélio prostático.....	31
Figura 16 –	Fotomicrografias da área do corte transversal do pênis.....	36
Figura 17 –	Fotomicrografia do corpo cavernoso os diferentes grupos.....	39
Figura 18 –	Fotomicrografia do corpo cavernoso demonstrando os componentes do sistema elástico.....	41
Figura 19 –	Fotomicrografia do corpo cavernoso demonstrando o comportamento das fibras colágenas.....	42

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 –	Pressão arterial sistólica inicial.....	29
Gráfico 2 –	Pressão arterial sistólica final.....	30
Gráfico 3 –	Altura do epitélio prostático.....	30
Tabela 1 –	Dados do epitélio prostático e da pressão arterial no início e no final do experimento, confirmando o modelo experimental	32
Gráfico 4 –	Área do corte transversal do pênis.....	33
Gráfico 5 –	Área do corte transversal do corpo cavernoso com a túnica albugínea.....	34
Gráfico 6 –	Área do corte transversal do corpo cavernoso sem a túnica albugínea.....	34
Gráfico 7 –	Área da túnica albugínea.....	35
Gráfico 8 –	Densidade de superfície do espaço sinusoidal do corpo cavernoso.....	37
Gráfico 9 –	Densidade de superfície do tecido conjuntivo no corpo cavernoso.....	38
Gráfico 10 –	Densidade de superfície do músculo liso no corpo cavernoso.....,.....	38
Gráfico 11 -	Densidade de superfície das fibras do sistema elástico no corpo cavernoso.....	40
Tabela 2 –	Dados histomorfométricos dos grupos Ctrl e HPB medicados ou não com finasterida e dutasterida.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α	Alfa
CC	Corpo cavernoso
CEUA	Comissão de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais
Cm	Centímetro
Ctrl	Ratos controle
Ctrl+D	Ratos controle medicados com dutasterida
Ctrl+F	Ratos controle medicados com finasterida
DE	Disfunção erétil
DHT	Dihidrotestosterona
HPB	Hiperplasia prostática benigna
HPB+D	Rato com hiperplasia prostática benigna medicado com dutasterida
HPB+F	Rato com hiperplasia prostática benigna medicado com finasterida
Kg	Quilograma
LUTS	Sintomas do trato urinário inferior
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mm ²	Milímetro quadrado
SHR	Ratos espontaneamente hipertensos
Sv	Densidade de Superfície
TT	Testosterona
μm	Micrômetro
μm^2	Micrômetro quadrado
WKY	Wistar Kyoto

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	12
1	OBJETIVO	17
2	MATERIAL E MÉTODOS	18
2.1	Modelo experimental.....	18
2.2	Confirmação do modelo experimental por pletismografia de cauda.....	22
2.3	Eutanásia e procedimentos histológicos.....	23
2.4	Morfometria.....	23
2.4.1	Áreas do pênis.....	24
2.4.2	Densidade de superfície.....	26
3	RESULTADOS	29
3.1	Pressão arterial.....	29
3.2.	Altura do epitélio prostático.....	30
3.3	Área do corte transversal do pênis.....	33
3.4	Área do corte transversal do corpo cavernoso com a túnica albugínea.....	33
3.5	Área do corte transversal do corpo cavernoso sem a túnica albugínea.....	34
3.6	Área da túnica albugínea.....	35
3.7	Densidades de espaço sinusoidal no corpo cavernoso.....	37
3.8	Densidades de tecido conjuntivo no corpo cavernoso.....	37
3.9	Densidade de músculo liso do corpo cavernoso.....	38
3.10	Densidade das fibras do sistema elásticos.....	40
3.11	Análise qualitativa do colágeno no corpo cavernoso.....	40
4	DISCUSSÃO	44
	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48
	ANEXO A - Comitê de ética em pesquisa.....	53
	ANEXO B – Aceite do artigo científico.....	54
	APENDICE – Artigo científico.....	55

INTRODUÇÃO

A hiperplasia prostática benigna (HPB) e os sintomas do trato urinário inferior (LUTS) são comumente observadas e frequentemente descrita na prática urológica de rotina. Aproximadamente 50% dos homens entre 50 e 60 anos tem HPB, e 90% dos homens terão evidência anatômica de HPB na sua 8ª década de vida (1-2).

O crescimento da próstata é estimulado pela dihidrotestosterona (DHT), o metabólito ativo convertido a partir da testosterona (TT) pela enzima 5-alfa-redutase (3). Uma das principais linhas de tratamentos farmacológicos indicadas pelas diretrizes da Associação Americana de Urologia e da Associação Europeia de Urologia, é a utilização de inibidores da 5-alfa-redutase para o tratamento da HPB (3-8).

A enzima 5-alfa-redutase se apresenta em três isoformas diferentes: a isoforma do tipo I é encontrada em todo corpo e em baixas concentrações nos órgãos do sistema urogenital. A isoforma do tipo II é encontrada em maior concentração em órgãos do sistema urogenital e nos folículos capilares (9-11). A isoforma do tipo III está em maiores concentrações na epiderme e em alguns órgãos como o pâncreas. As isoformas dos tipos I e II são predominantes nas zonas da próstata (12).

Os inibidores da enzima 5-alfa-redutase mais prescritos são a dutasterida e a finasterida. A inibição da conversão de TT em DHT, reduz os níveis séricos de DHT intraprostáticos (9,13) e impedindo o crescimento e aumento do epitélio prostático e reduzindo assim o volume da próstata de 20 a 30% após 12 meses de tratamento (14).

A dutasterida inibe as isoenzimas do tipo I e II; após sua administração via oral a sua biodisponibilidade é de 60%, sua ligação com as proteínas plasmáticas de 99,5%, com pico de concentração sérica de 2-3 horas, sua meia vida de 5 semanas e supressão sérica de DHT de 90%. A finasterida inibe a isoenzima do tipo II, após sua administração via oral a biodisponibilidade deste fármaco é de 63%, a ligação com as proteínas plasmáticas é de 90%, pico de concentração sérica de 1-2 horas, meia vida de 6 horas e supressão sérica de DHT de 70%. Ambos os fármacos são metabolizados no fígado (5, 10, 15-17).

O tratamento com a dutasterida e a finasterida pode causar efeitos adversos como diminuição da libido, desordens ejaculatórias, infertilidade e disfunção erétil (DE) (18-26). O efeito adverso mais comum é a DE, que pode ocorrer em 5 a 16% dos homens que realizam o tratamento com esses fármacos, e a DE pode se tornar persistente após a interrupção do tratamento farmacológico (2, 27).

Além dos efeitos negativos sobre o ponto de vista da reprodução, a DE também traz grandes prejuízos psicológicos para o paciente. No geral, esta condição afeta muito a qualidade de vida do homem e a qualidade de vida da sua parceira ou do seu parceiro sexual (28). A DE associada aos inibidores 5-alfa-redutase é oriunda da redução das concentrações de DHT (2). Alguns estudos experimentais mostraram que o uso de dutasterida diminui a síntese de óxido nítrico no corpo cavernoso, diminuindo o relaxamento do CC (29-30).

Entretanto, esses estudos usaram ratos que não apresentavam HPB ou LUTS como modelo de estudo, o que pode ter influenciado os seus resultados. Assim, os efeitos da dutasterida ou da finasterida na morfologia peniana de um modelo de HPB são ainda mal conhecido.

A linhagem de rato espontaneamente hipertenso (SHR) foi obtida por endogamia de ratos *Wistar Kyoto* com pressão sanguínea elevada (31). Nestes ratos, a pressão arterial aumenta de forma contínua a partir da quinta até a décima quinta semana de vida, quando se estabiliza em valores superiores a 200 mmHg. Os animais SHR são o principal modelo animal usado para estudar a hipertensão arterial sistêmica, a HPB e outras doenças (32). Os SHR desenvolvem espontaneamente uma hiperplasia epitelial na próstata ventral (33-34).

A DE pode ocorrer por diversos motivos tanto fisiológicos como patológicos (35-37). O CC desempenha um papel crucial durante o mecanismo da ereção. Alterações estruturais no CC afetam diretamente o desenvolvimento e a manutenção da ereção (38).

O pênis do rato não é igual ao do homem, porém este modelo continua sendo bastante utilizado no estudo da DE, uma vez que apresenta as mesmas estruturas histológicas (músculo liso, tecido conjuntivo trabecular e espaço sinusoidal) no corpo cavernoso. O pênis do rato é dividido em três porções: proximal, médio e distal. A porção proximal é a região localizada próxima ao bulbo do pênis, com sua inserção nos ramos do ísquio e púbis, onde os CC estão separados. A porção média é limitada distalmente pela flexura do pênis que a separa da porção distal. A porção média do pênis do rato é composta por dois CC, unidos entre si e situados dorsalmente ao corpo esponjoso. Cada estrutura erétil é recoberta por uma túnica fibrosa, denominada túnica albugínea (39).

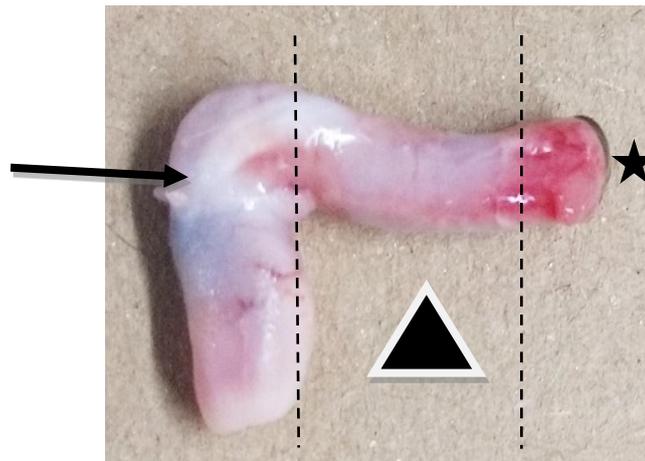
Diferente do pênis humano, os ratos possuem no terço distal uma estrutura osteocartilagínea. Por esta razão, a região peniana que possui as estruturas mais semelhantes ao pênis humano é a porção média, e portanto esta região foi estudada neste modelo experimental (Figura 1 e 2) (40).

Figura 1 – Fotografia do pênis de um rato controle antes da dissecação



Legenda: Imagem do pênis de rato após ser dissecado, rato controle com 4 meses e 11 dias de vida.
Fonte: O autor, 2017.

Figura 2 – Divisão anatômica do pênis do rato

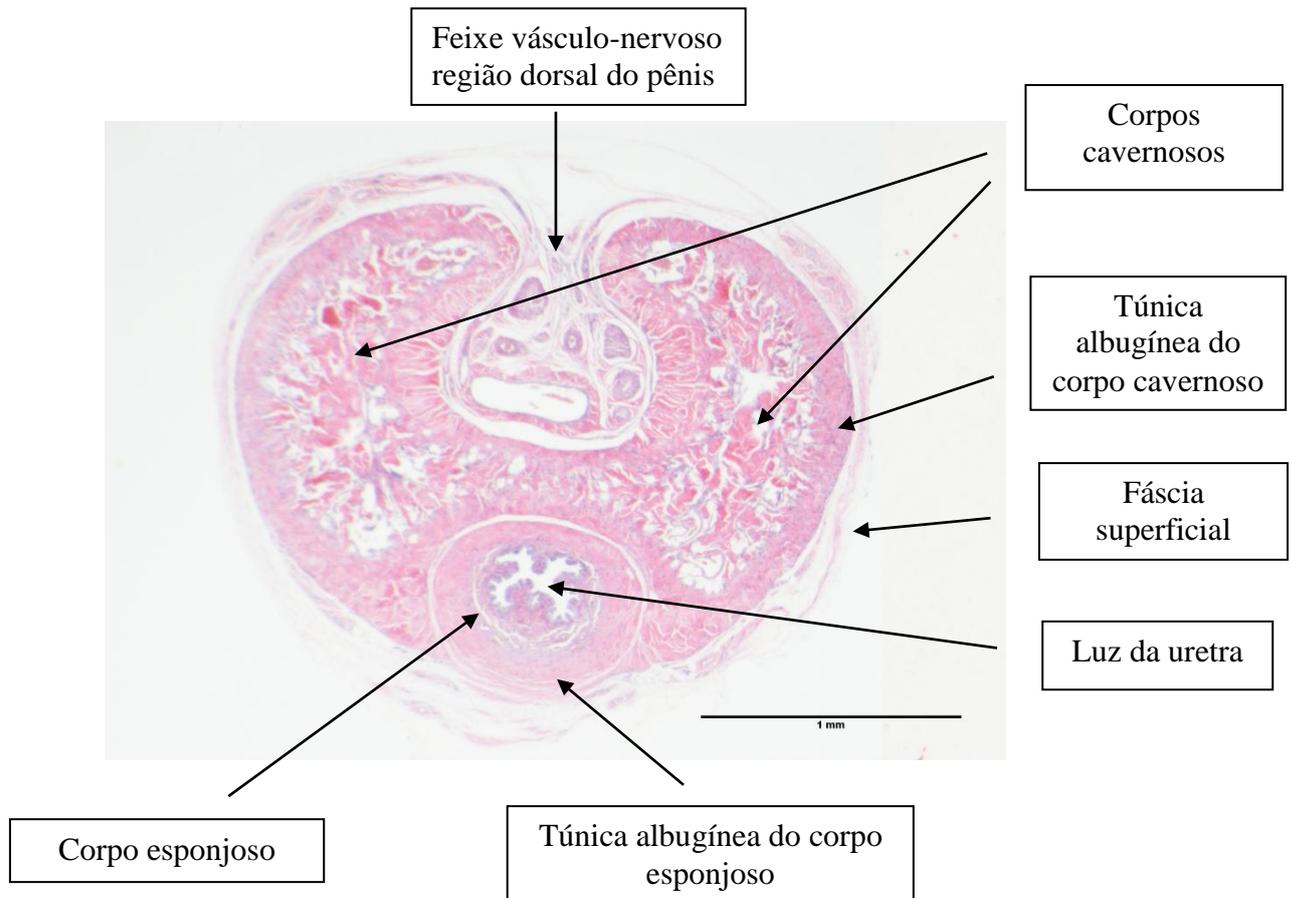


Legenda: Imagem do pênis de rato após ser dissecado, com indicações de sua divisão em três porções: proximal (estrela), porção média (cabeça de seta) e porção distal (seta preta de espessura).
As linhas tracejadas indicam a região aproximada da divisão em terços.
Fonte: O autor, 2017.

As trabéculas do CC são compostas por tecido conjuntivo, e neste tecido conjuntivo existe uma predominância de fibras colágenas e fibras do sistema elástico. E ambas as fibras colágenas e fibras do sistema elástico conferem suporte as células musculares lisas, que circundam os espaços sinusoidais do CC. Espaço esse que é preenchido com sangue durante a ereção peniana.

O músculo liso do pênis do rato localiza-se na região perissinusoidal, enquanto no homem o músculo liso mistura-se ao tecido conjuntivo e elástico para formar as trabéculas do CC. O corpo esponjoso apresenta em seu interior a uretra peniana. Ele também possui sinusóides e trabéculas, porém em proporções menores que as dos CC. A túnica albugínea é uma túnica espessa formada basicamente por tecido conjuntivo fibroso e elástico (Figura 3 e 4) (41).

Figura 3 - Fotomicrografia do corte transversal do terço médio do pênis de rato

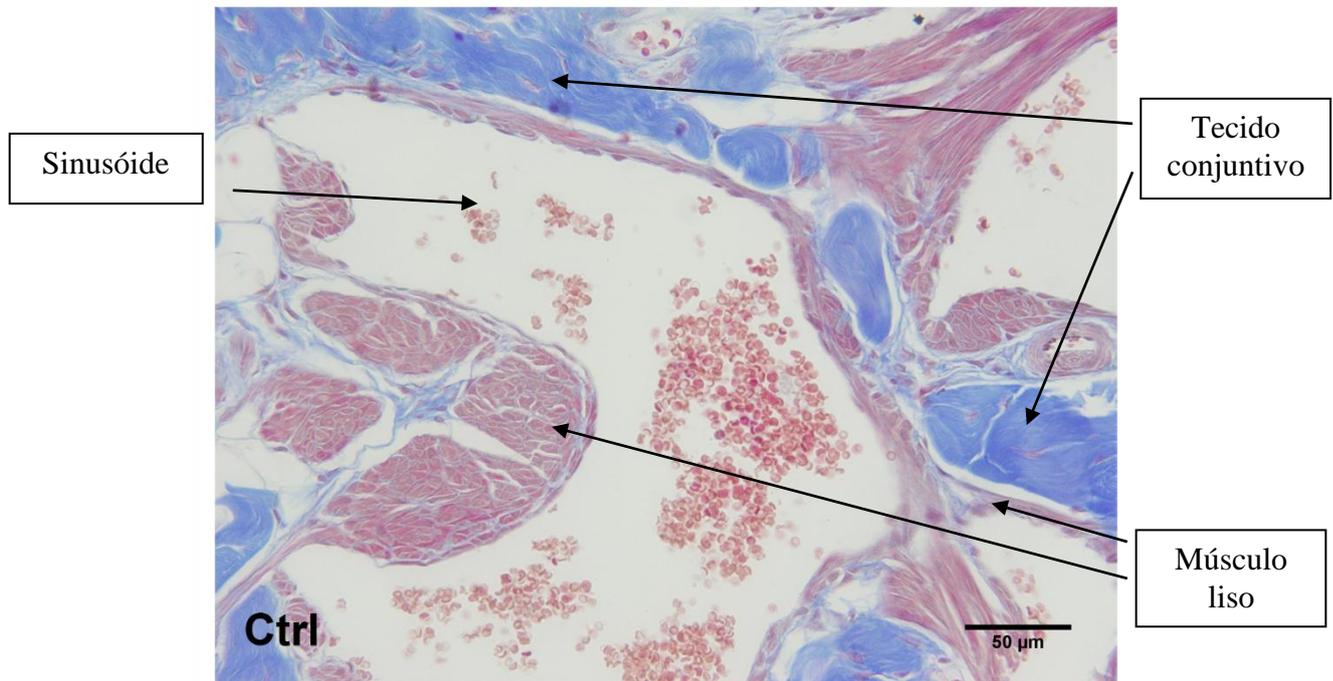


Legenda: Fotomicrografia dos principais componentes no corte transversal do terço médio do pênis de rato.

Fonte: O autor, 2017.

Nota: Hematoxilina e Eosina, objetiva de 2x.

Figura 4 - Fotomicrografia do corpo cavernoso de um rato controle, com 160 dias de vida, mostrando suas principais estruturas



Legenda: Fotomicrografia de parte do corpo cavernoso, mostrando as trabéculas formadas basicamente por tecido conjuntivo (azul) que envolvem os espaços denominados de sinusóides (luz). O músculo liso (vermelho) localizado na região perissinusoidal. As estruturas estão indicadas por setas acompanhadas de sua nomenclatura.

Fonte: O autor, 2017.

Nota: Tricrômico de Masson, objetiva de 40x.

1 OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi verificar as possíveis alterações morfológicas no pênis de um modelo murino de HPB após o tratamento com a finasterida e a dutasterida.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Modelo experimental

Foram utilizados 60 ratos (n=30 SHR e n=30 *Wistar Kyoto*) machos com 120 dias de vida, mantidos em biotério, com temperatura de $21\pm 1^{\circ}\text{C}$, submetidos a controle de ciclo de 12h claro/escuro (luz artificial, 7:00 as 19:00 horas), recebendo ração comercial e água *ad libitum*. Todos os procedimentos foram realizados na Unidade de Pesquisa Urogenital, em conformidade com as orientações convencionais para a experimentação com animais. Os protocolos experimentais utilizados neste estudo foram submetidos e aprovados no Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade Estadual do Rio de Janeiro com protocolo n°CEUA/041/2017.

Os animais foram divididos em seis grupos, cada um com 10 animais: grupo Ctrl, composto por ratos normotensos *Wistar Kyoto*; grupo Ctrl+D, composto por ratos normotensos *Wistar Kyoto* tratados com dutasterida; grupo Ctrl+F, composto por ratos normotensos *Wistar Kyoto* tratados com finasterida; grupo HPB, composto de SHRs; grupo HPB+D, composto por SHR tratados com dutasterida; grupo HPB+F, composto de animais SHR tratados com finasterida.

Todos os animais foram submetidos ao tratamento por via oral durante 40 dias consecutivos a partir de 120 dias de vida. Os grupos Ctrl e HPB foram gavados com água destilada. Os grupos Ctrl+D e HPB+D receberam doses de 0,5 mg/kg/dia de dutasterida (Dastene 0,5 mg, Aché, Indaiatuba, Brasil) (21), e os grupos Ctrl+F e HPB+F receberam doses de 5 mg/kg/dia de finasterida (Finasterida 5 mg, Eurofarma, São Paulo, Brasil) (22). As drogas foram diluídas em água destilada, e os animais eram medicados por gavagem, utilizando sonda metálica (Figura 5).

Figura 5 – Procedimento de gavagem



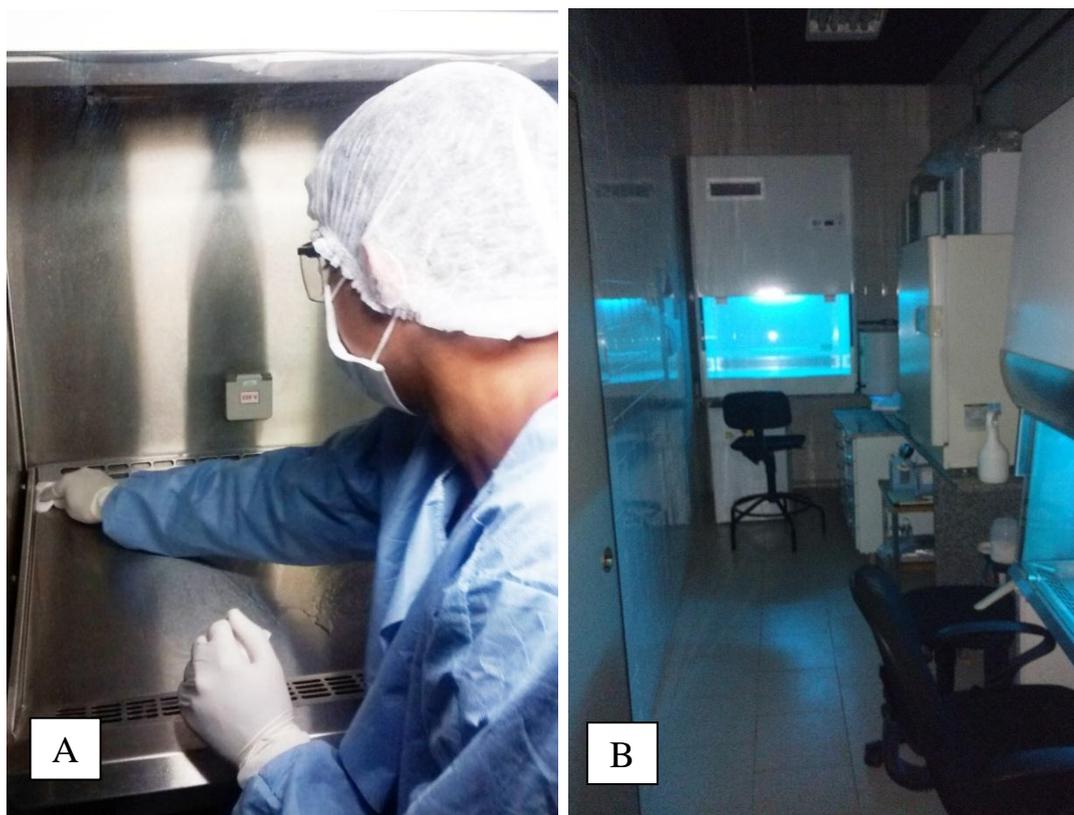
Legenda: A imagem mostra o momento do procedimento da gavagem, por sonda orogástrica, em animal do grupo controle tratado com a Finasterida (Ctrl+F).

Fonte: O autor, 2017.

Os fármacos foram manipulados dentro da Unidade de Pesquisa Urogenital, seguindo as boas práticas de fármacos em território nacional estipulados pela Resolução da Diretoria Colegiada 67 de outubro de 2007. A temperatura da sala de manipulação também era controlada diariamente e ficava entre $20\pm 3^{\circ}\text{C}$, para a manipulação dos fármacos utilizamos os seguintes equipamentos e materiais: cabine de segurança biológica Veco classe II; cabine de segurança biológica TROX technik classe II A1; balança Denver Instrument APX-200; agitador de tubos cônicos Phoenix AP 56; refrigerador compacto (Consul modelo CRC12); um destilador de água pilsen 5L de aço inox modelo AISI 304 polido; dois almofarizes; dois pistilos; um termômetro digital Hanna HI 147-00; três espátulas; um becker de 500ml; dois beckers de 250 ml; cinquenta seringas descartáveis com agulha 5 ml bico slip 25x0,70mm 22G1 (lote SSAL054); cinquenta tubos cônicos falcon com tampa rosca de 50 ml (lote 1009/2015); toca; máscara; luvas estéreis; óculos de proteção e solução desinfetante de amônia quaternária (Kibbutz Beit Haemek 25115/Israel lote 250078 Cat No 1101100).

A sala de manipulação sempre passava por processo de desinfecção 24 horas antes da manipulação dos fármacos (figura 6), e a luz ultravioleta de ambos os fluxos laminares ficavam ligados durante esse processo. Antes da manipulação dos fármacos ambas as cabines eram desinfetadas com solução de amônia quaternária. Ao término do processo de desinfecção os fármacos eram manipulados na cabine de segurança biológica Veco classe II.

Figura 6 –Sala de manipulação em processo de desinfecção



Legenda: A - Desinfecção da cabine de controle biológico; B - Sala usada para manipulação em processo de desinfecção durante 24 horas

Fonte: O autor, 2017.

Os fármacos eram armazenados dentro de um refrigerador compacto (Consul modelo CRC12), onde a temperatura ficava entre $18\pm 1^{\circ}\text{C}$. A temperatura do refrigerador era aferida diariamente. Lembrando que ambos os fármacos (tanto a dutasterida como a finasterida) têm como norma de armazenamento a temperatura de 15°C à 30°C , segundo as normas estipuladas pelos fabricantes dos fármacos.

Os fármacos eram macerados no almofariz e no pistilo, e eram pesados em seguida na balança Denver Instrument APX-200, depois as doses eram diluídas para cada animal de acordo com a sua dose diária. As doses medicamentosas dos animais eram corrigidas diariamente de acordo com a massa corporal dos mesmos. Após a manipulação dos fármacos os mesmos eram armazenados na cabine de segurança biológica TROX technik classe II A1 (Figura 7 e 8).

Figura 7 – Armazenamento na cabine de segurança biológica TROX technik classe II
A1



Legenda: A imagem mostra a organização da cabine, os tubos de tampa amarela armazenavam finasterida e os tubos de tampa laranja armazenavam as doses de dutasterida.
Fonte: O autor, 2017.

Figura 8 – Organização da cabine



Legenda: A imagem mostra o momento antes dos fármacos serem aspirados dos tubos falcon para a gavagem. A dutasterida era aspirada na seringa de agulha rosa e a finasterida na de seringa de agulha verde.
Fonte: O autor, 2017.

2.2 Confirmação do modelo experimental por pletismografia de cauda

A pressão arterial dos animais começou a ser aferida com duas semanas de antecedência, para que no início da administração dos medicamentos (120 dias de vida), e foi aferida semanalmente sempre no final da tarde durante todo o experimento. Os animais já estivessem adaptados ao procedimento e a pressão arterial foi aferida por pletismografia da artéria caudal (Pletismógrafo V.2.11, Insight, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (Figura 9) acoplado a um computador. As aferições foram realizadas sempre na mesma faixa de horário do dia (entre 16 e 18 horas) e durante todo o experimento. Os animais foram mantidos aquecidos em caixa acrílica por 10 minutos a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, para provocar vasodilatação periférica previamente a cada aferição. A média de três aferições da pressão arterial sistólica foi registrada em mmHg e usada para confirmar o modelo de ratos espontaneamente hipertensos.

Figura 9 – Aferição da pressão arterial caudal por pletismografia



Legenda: A imagem mostra a aferição da pressão arterial no animal do grupo controle, por pletismografia da artéria caudal.

Fonte: O autor, 2017.

2.3 Eutanásia e procedimentos histológicos

Os animais dos grupos Ctrl+D, Ctrl+F, HPB+D e HPB+F começaram a ser medicados com 90 dias de idade, e foram medicados durante 40 dias consecutivos. No 131^a dia de vida, todos os animais foram mortos por sobredose anestésica de tiopental sódico (Cristália, São Paulo, Brasil). Os pênis foram retirados, dissecados e o terço médio do pênis foi separado para a realização dos procedimentos histológicos. As amostras do terço médio do pênis dos ratos foram fixadas por imersão em formaldeído a 3,7% por um período de no mínimo de 24 horas. A próstata ventral dos animais foi retirada para corroborar o modelo experimental e a eficácia do tratamento com os inibidores da 5-alfa-redutase.

O material foi submetido às técnicas histológicas de rotina da Unidade de Pesquisa Urogenital: Desidratação em álcool e clarificação em xilol para posterior inclusão em parafina. Após a inclusão, foram realizados cortes histológicos com 5 µm de espessura. Em seguida, os cortes foram corados com as seguintes colorações histológicas: Hematoxilina & Eosina, Picrosirius Red, Resorcina-Fucsina de Weigert com prévia oxidação e Tricrômico de Masson. Os cortes corados em Hematoxilina & Eosina foram usados para verificar a integridade dos tecidos e foram utilizados para mensurar as áreas do pênis, corpo cavernoso com e sem a túnica albugínea, e a área da túnica albugínea, os corados pelo Tricrômico de Masson foram utilizados para mensurar e as densidades de superfície de tecido conjuntivo, músculo liso e o espaço sinusoidal no corpo cavernoso. Os cortes corados com a Resorcina-Fucsina de Weigert com prévia oxidação foram utilizados para quantificar as fibras do sistema elástico, e os cortes corados com Picrosirius Red foram utilizados para a análise qualitativa das fibras colágenas no CC.

2.4 Morfometria

As análises histomorfométricas do corte transversal do pênis foram obtidas na Lupa Zeiss Stereo Discovery V8 Axiocam (Carl Zeiss Microscopy, Jena, Alemanha) acoplada a câmera 506 color. As análises histomorfométricas das densidades foram realizadas por fotomicrografias capturadas com câmera digital (Olympus DP70, Tóquio, Japão) acoplada ao

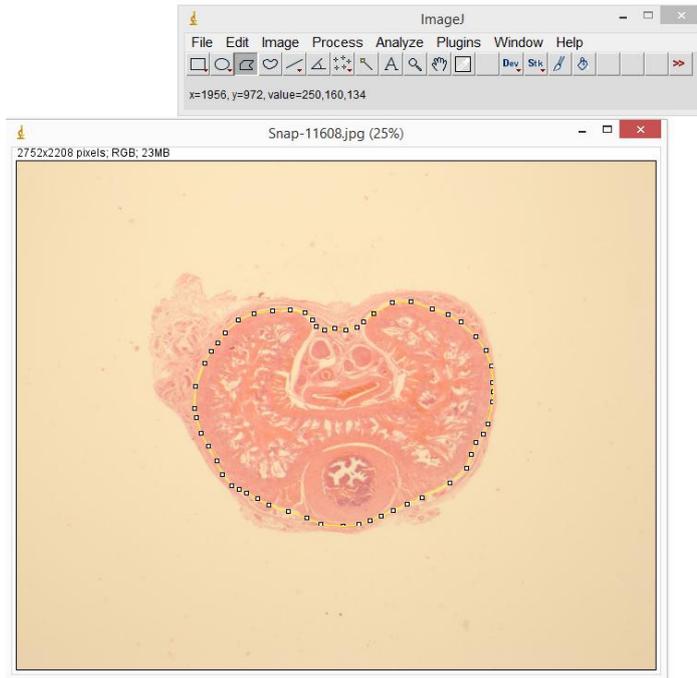
microscópio (OLYMPUS BX51, Tóquio, Japão). Para cada análise, as fotomicrografias foram capturadas e salvas sob as mesmas condições de acordo com o parâmetro analisado.

2.4.1 Áreas do pênis

Para as análises morfométricas das áreas do pênis foram utilizadas fotomicrografias dos cortes corados pela Hematoxilina e Eosina, com objetiva de 2x. Nestas imagens foi possível observar todo o corte transversal do pênis. As áreas foram mensuradas em mm² (Figura 10, 11 e 12). Estas mensurações foram realizadas no *software* ImageJ (versão 1.45s, Instituto Nacional de Saúde, EUA) com a ferramenta “*Polygon*”. Para apresentação dos dados em mm² foi necessário realizar a calibração do software com a fotomicrografia da lâmina histológica com a régua milimetrada. Após a calibração foram quantificadas a área do pênis e em seguida as áreas do corpo cavernoso com e sem a túnica albugínea.

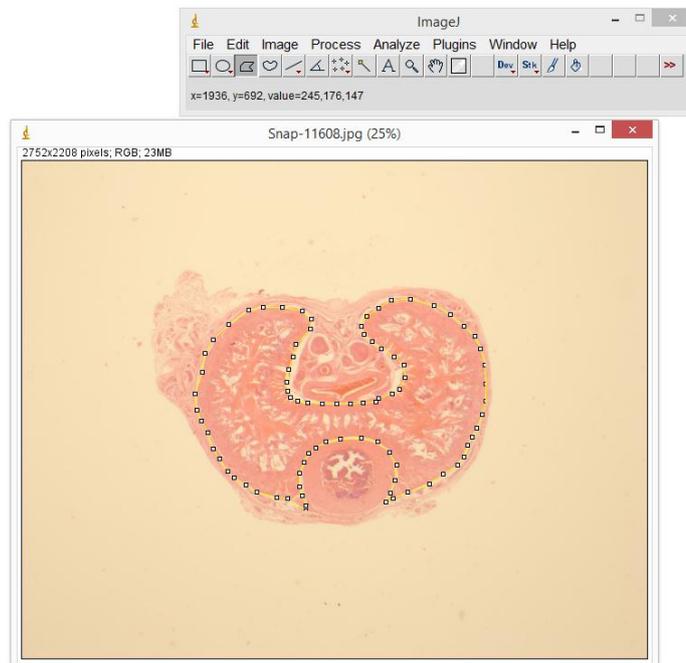
Ao terminar a marcação da área desejada foram selecionadas as opções *analyze*, *measure*. A janela *results* forneceu os valores referentes às áreas envolvidas em mm². O mesmo procedimento foi realizado para analisar todas as áreas dos cortes transversais, com a exceção da área do corte transversal da túnica albugínea. A área da túnica albugínea do corpo cavernoso foi estimada pela subtração da área do corpo cavernoso com e sem sua túnica albugínea. Os resultados numéricos de cada avaliação das áreas foram tabulados em uma planilha para análise.

Figura 10 – Mensuração da área do corte transversal do pênis



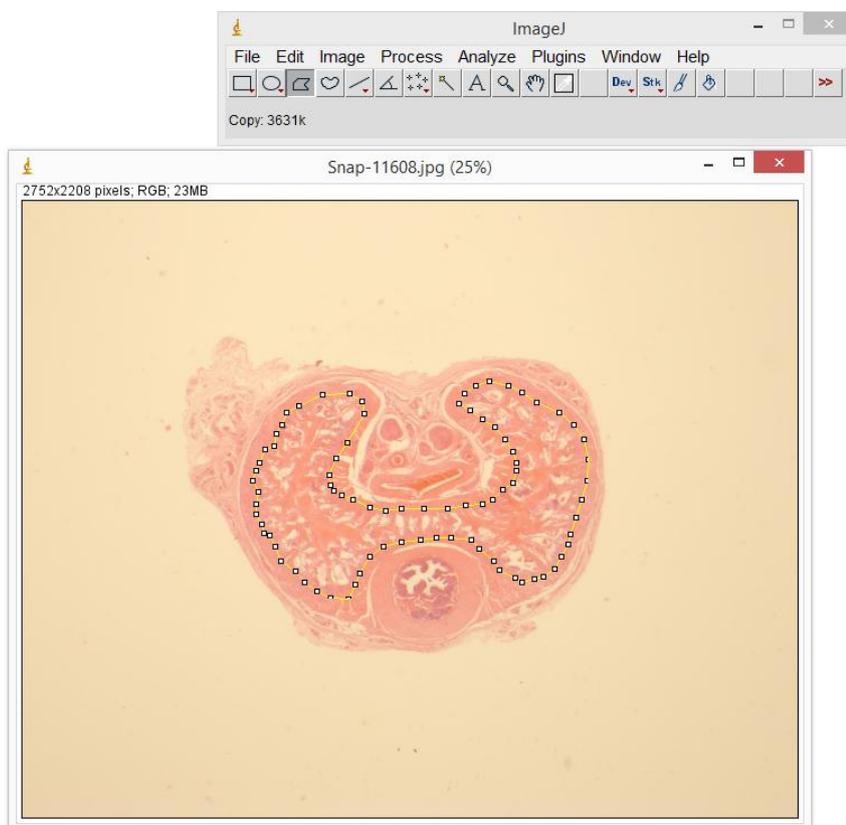
Legenda: Histoquímica de Hematoxilina e Eosina, 20x
Fonte: O autor, 2017.

Figura 11 – Mensuração da área do corpo cavernoso com a túnica albuginea



Legenda: Histoquímica de Hematoxilina e Eosina, 20x
Fonte: O autor, 2017.

Figura 12 – Mensuração da área do corpo cavernoso sem a túnica albugínea



Legenda: Histoquímica de Hematoxilina e Eosina, 20x
Fonte: O autor, 2017.

2.4.2 Densidades de superfície (Sv)

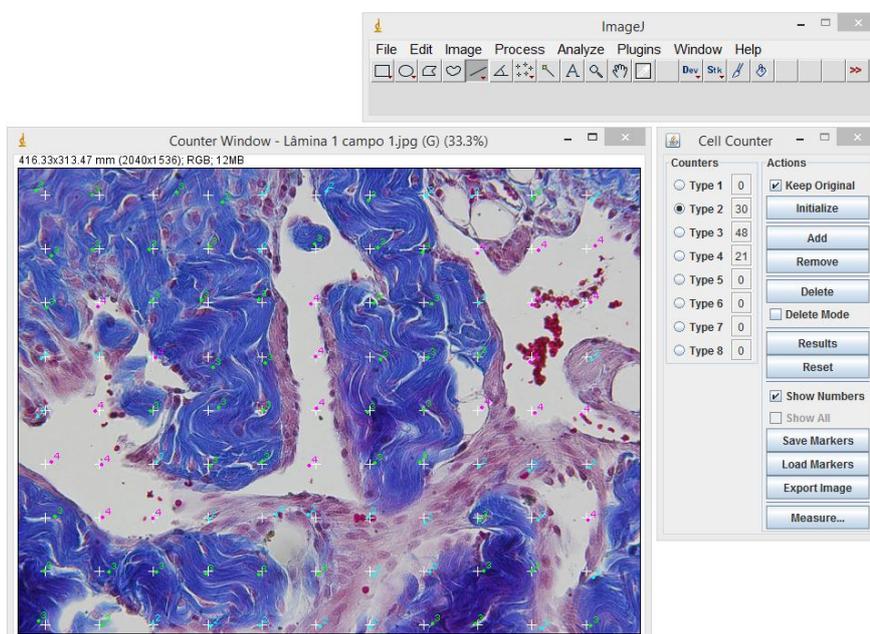
As densidades de superfície (Sv) do tecido conjuntivo, do espaço sinusoidal, e do músculo liso dos corpos cavernosos foram quantificadas por análise dos cortes corados com tricrômico de Masson. Para cada animal, 25 fotomicrografias do corpo cavernoso foram obtidas com magnificação de 400x. A densidade de cada uma dessas estruturas foi expressa em porcentagem, obtida pelo método de contagem de pontos (40, 42).

O método de contagem de pontos é usado para obter a Sv de uma estrutura de interesse. De acordo com este método, o número de pontos que intercepta a estrutura de interesse, dividido pelo número total de pontos sobrepostos para o campo de interesse, representa a densidade da estrutura. O método de contagem de pontos é considerado muito confiável, se suas premissas (randomização, repetição e medições às cegas) forem respeitadas (42).

Para este método, uma grade de 99 pontos foi sobreposta às imagens usando a ferramenta *grid* do *software* Image J. O número de pontos que tocavam as estruturas quantificadas (tecido conjuntivo, músculo liso e espaço sinusoidal) foi multiplicado por 100 e dividido por 99 para corrigir a porcentagem para os 99 pontos utilizados como sistema de teste. Desta forma, estes resultados foram considerados como a Sv de cada uma das estruturas analisadas, expressa em porcentagem.

A ferramenta *cell counter* foi utilizada para quantificar cada uma das estruturas. Esta ferramenta possibilita quantificar mais de uma estrutura na mesma imagem. Para cada estrutura é atribuído um número, apresentado na janela *cell counter*, que deve ser escolhido um para cada estrutura a ser quantificada. Após selecionar o número e iniciar a quantificação, a quantidade de seleções em cada estrutura, que sobrepõem o ponto teste, ficará registrada na janela *cell counter* ao lado do seu número. Os valores encontrados, de cada estrutura em cada imagem, foram tabulados e as médias de cada animal utilizadas para análise estatística (Figura 13).

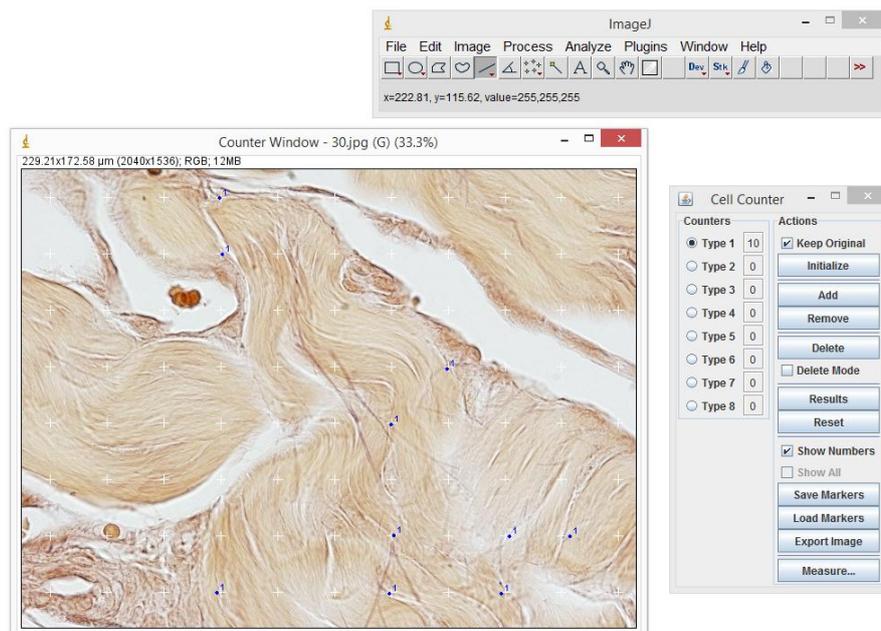
Figura 13 – Mensuração da densidade do tecido conjuntivo, sinusóide e músculo liso



Legenda: Histoquímica de Tricrômico de Masson, 40x
Fonte: O autor, 2017.

A Sv das fibras do sistema elástico foi quantificada por análise dos cortes corados com Resorcina-Fucsina de Weigert. Para cada animal, 25 fotomicrografias do corpo cavernoso foram obtidos com magnificação de 600x. A Sv das fibras do sistema elástico foi obtida pelo método de contagem de pontos (Figura 14).

Figura 14 – Mensuração da densidade de fibras do sistema elástico



Legenda: Histoquímica de Resorcina-Fucsina de Weigert, 60x
Fonte: O autor, 2017.

A análise qualitativa do colágeno foi realizada por análise de cortes corados com Picosirius Red. Para cada animal, 25 fotomicrografias do corpo cavernoso foram obtidas com magnificação de 400x observados em microscopia de polarização.

Todas as análises estatísticas foram realizadas, através do software Graph Pad Prism5, com o teste *one-way* ANOVA e pós teste de *Bonferroni* para comparar as médias dos grupos. Consideramos $p < 0,05$ como resultado significativo.

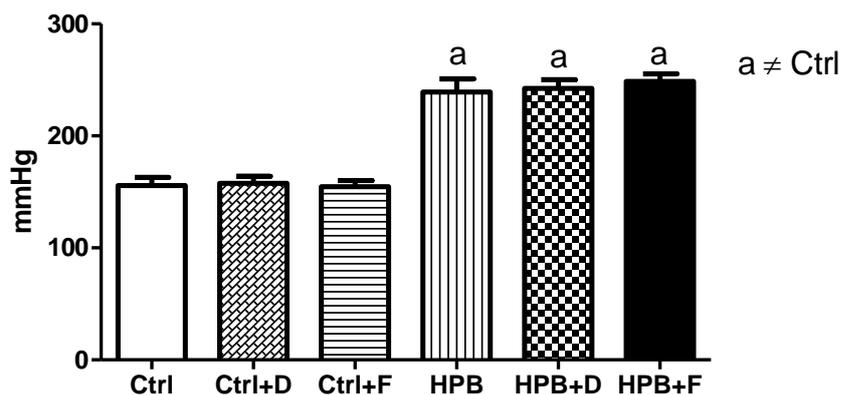
3 RESULTADOS

3.1 Pressão arterial

No início do experimento, todos os animais SHR (grupos HPB, HPB+D e HPB+F) apresentaram pressão arterial acima de 230 mmHg, estatisticamente superior aos animais normotensos (Ctrl, Ctrl+D e Ctrl+F) que apresentaram pressão arterial abaixo de 160 mmHg, confirmando o modelo experimental usado. Os dados se encontram no gráfico 1 e na tabela 1.

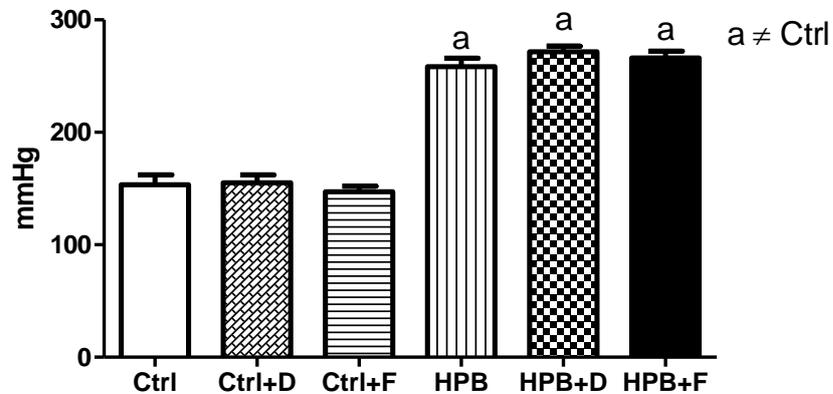
Ao final do estudo, os SHR tratados com inibidores da 5- α -redutase (HPB+D e HPB+F) apresentaram pressão arterial elevada e igual ao grupo HPB, ou seja, mantendo-se hipertenso até o final do experimento. Os animais *Wistar Kyoto* que receberam o tratamento com inibidores da 5- α -redutase (Ctrl+D e Ctrl+F) mantiveram sua pressão arterial semelhante ao grupo Ctrl. Os dados da pressão arterial sistólica no início e no final do experimento encontram-se nos gráficos 1 e 2 e na tabela 1.

Gráfico 1 – Pressão arterial sistólica inicial



Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

Gráfico 2 – Pressão arterial sistólica final

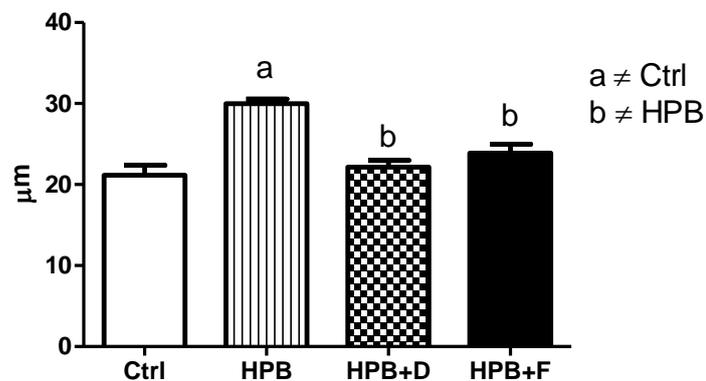


Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

3.2 Altura do epitélio prostático

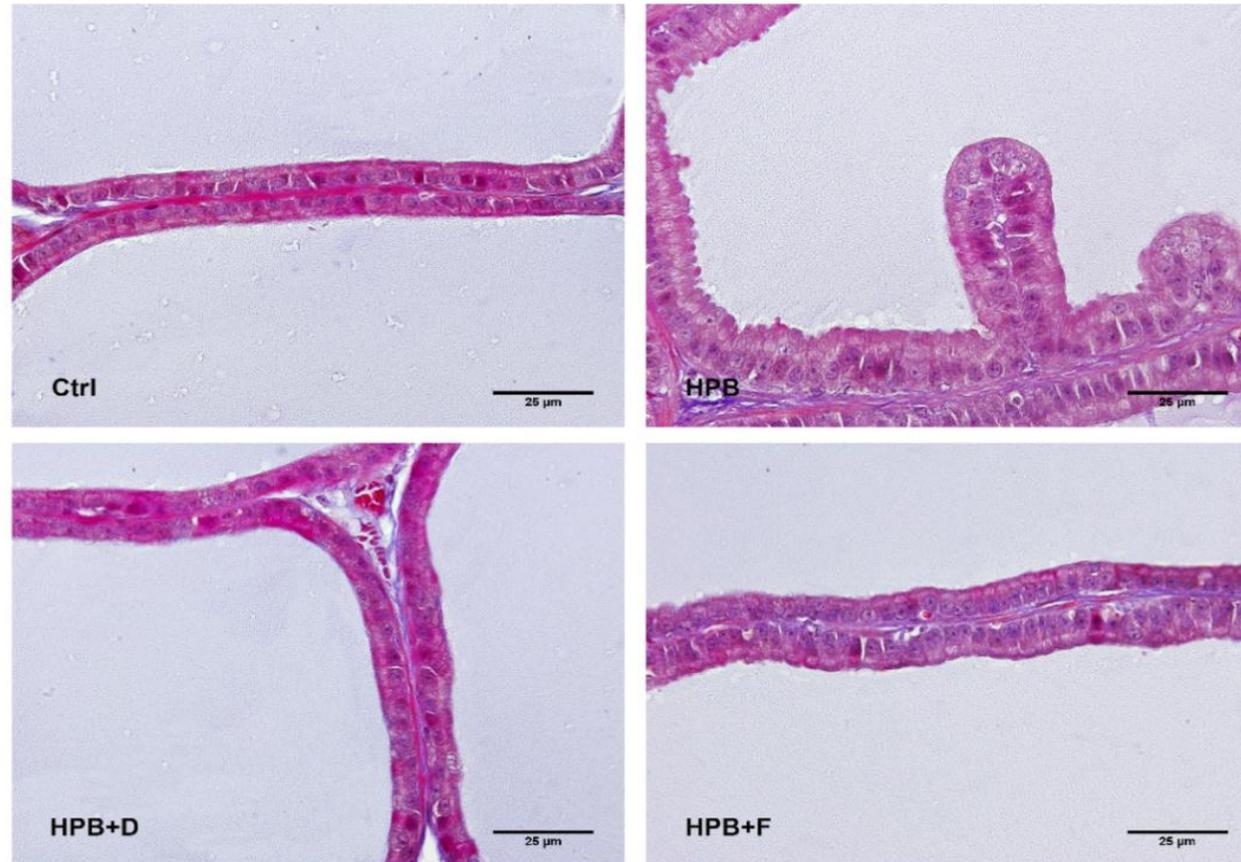
A altura do epitélio prostático apresentou aumento de 41,70% no grupo HPB, quando comparado ao grupo Ctrl. Ocorreu uma redução da altura do epitélio prostático de 26,1% e 20,3% nos grupos HPB+D e HPB+F, respectivamente, quando comparados ao grupo HPB. Resultados estão demonstrados no gráfico 3, na figura 10 e na tabela 1.

Gráfico 3 – Altura do epitélio prostático



Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

Figura 15 – Fotomicrografias do epitélio prostático



Legenda: Ctrl: grupo de controle; HPB - hiperplasia prostática benigna; HPB+D: grupo HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

Fonte: O autor, 2017.

Nota: Tricômico de Masson, 600x.

Tabela 1 – Dados do epitélio prostático e da pressão arterial no início e no final do experimento, confirmando o modelo experimental

	Ctrl	Ctrl+D	Ctrl+F	HPB	HPB+D	HPB+F	pvalue
Altura do epitélio prostático (μm)	21,1 \pm 3,5	15,3 \pm 3,6 ^a	16,2 \pm 2,5 ^a	30,0 \pm 1,7 ^a	22,1 \pm 2,4 ^b	23,9 \pm 3,1 ^b	<0.0001
Pressão arterial sistólica inicial (mmHg)	155,7 \pm 20,1	157,5 \pm 20,4	154,6 \pm 18,0	239,2 \pm 33,1 ^a	242,3 \pm 5,2 ^a	248,7 \pm 1,0 ^a	<0.0001
Pressão arterial sistólica final (mmHg)	153,4 \pm 24,4	155,1 \pm 22,1	147,2 \pm 15,9	258,4 \pm 21,3 ^a	271,5 \pm 16,5 ^a	266,2 \pm 18,8 ^a	<0.0001

Ctrl: grupo controle, composto por ratos *Wistar Kyoto*; Ctrl+D: Animais controle medicados com dutasterida; Ctrl+F: Animais controle medicados com finasterida; HPB: Grupo modelo de Hiperplasia prostática benigna; HPB+D: Grupo modelo de HPB medicado com dutasterida; HPB+F: Grupo modelo de HPB medicado com finasterida.

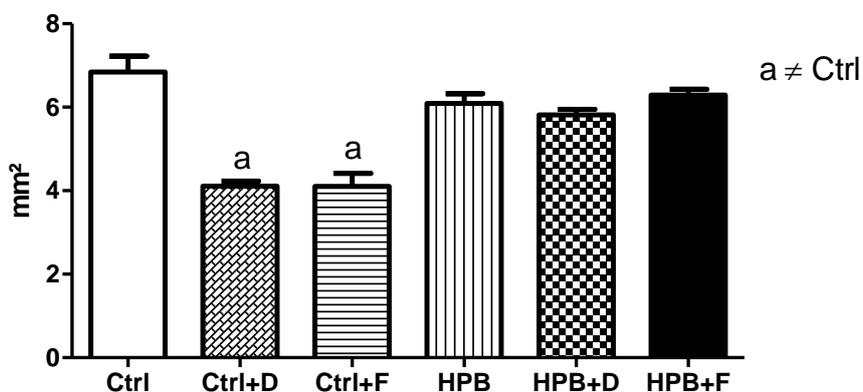
a: diferente de Ctrl; b: diferente de HPB.

Média \pm desvio padrão.

3.3 Área do corte transversal do pênis

Houve redução da área total do pênis de 39,9% e 40,0% nos grupos Ctrl+D e Ctrl+F, quando comparados ao grupo Ctrl. Entre os demais grupos não houve diferença significativa. Estes resultados estão demonstrados no gráfico 4, na figura 16 e na tabela 2.

Gráfico 4 – Área do corte transversal do pênis

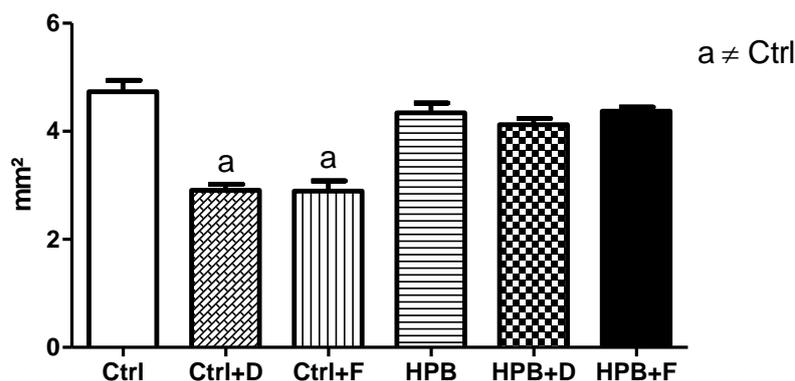


Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

3.4 Área do corte transversal do corpo cavernoso com a túnica albugínea

Ocorreu redução da área do CC com a túnica albugínea de 38,5% e 38,9% nos grupos Ctrl+D e Ctrl+F, quando comparamos ao grupo Ctrl. Respectivamente, entre os demais grupos não houve diferença. Estes resultados estão demonstrados no gráfico 5, na figura 16 e na tabela 2.

Gráfico 5 – Área do corte transversal do corpo cavernoso com a túnica albugínea

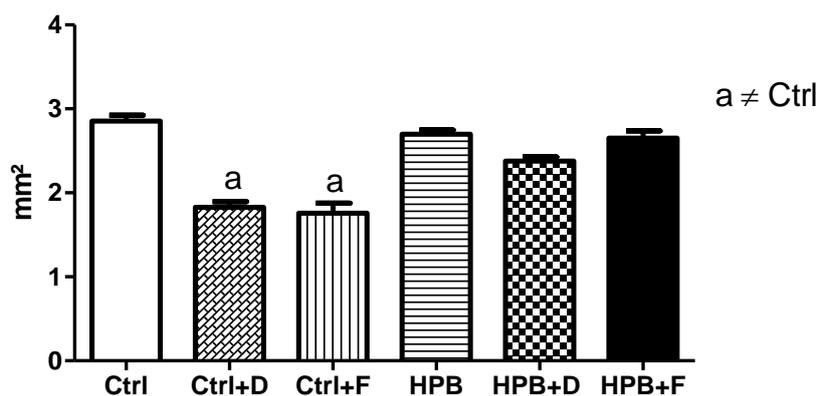


Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

3.5 Área do corte transversal do corpo cavernoso sem a túnica albugínea

Ocorreu redução da área do CC sem a túnica albugínea de 36,0% e 38,5% nos Ctrl+D e Ctrl+F, quando comparamos ao grupo Ctrl. Respectivamente, entre os demais grupos não houve diferença. Estes resultados estão demonstrados no gráfico 6, na figura 16 e na tabela 2.

Gráfico 6 – Área do corte transversal do corpo cavernoso sem a túnica albugínea

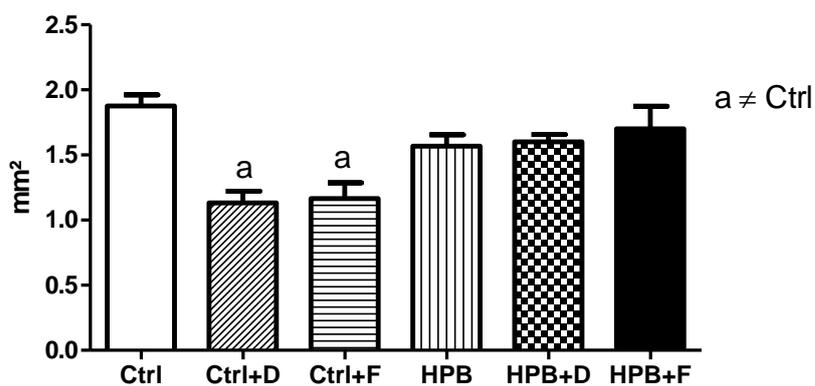


Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

3.6 Área da túnica albugínea

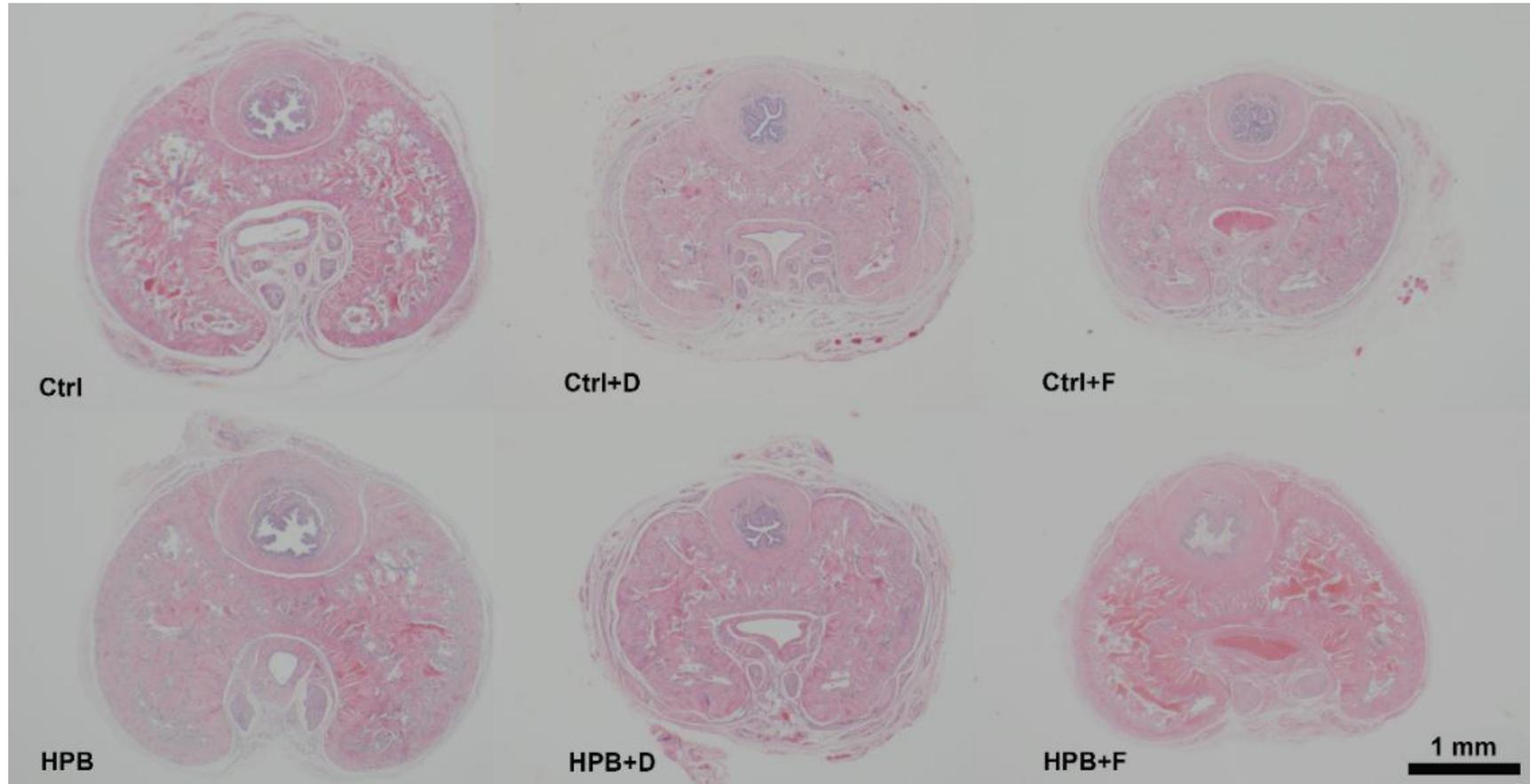
Ocorreu redução da túnica albugínea de 29,8% e 39,5% nos grupos Ctrl+D e Ctrl+F, quando comparamos ao grupo Ctrl. Entre os demais grupos não houve diferença. Estes resultados estão demonstrados no gráfico 7, na figura 16 e na tabela 2.

Gráfico 7 - Área da túnica albugínea



Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

Figura 16 – Fotomicrografias da área do corte transversal do pênis



Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

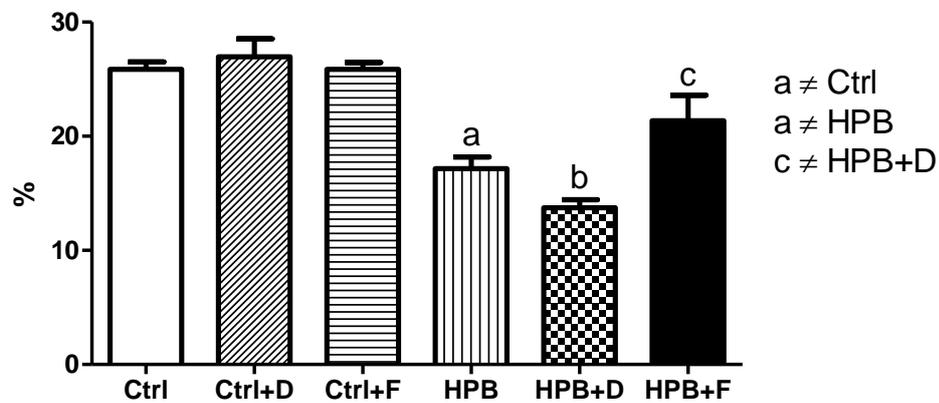
Fonte: O autor, 2017.

Nota: Hematoxilina e Eosina, 20x

3.7 Densidades de superfície do espaço sinusoidal no corpo cavernoso

Houve redução da Sv do sinusóide de 33,7% em HPB, quando comparado ao grupo Ctrl. A Sv do sinusóide diminuiu em 19,9% no grupo HPB+D, quando comparado ao grupo HPB. A Sv do sinusóide aumentou 40,9% no grupo HPB+F, quando comparado ao grupo HPB+D. Entre os demais grupos não houve diferença. Estes resultados estão demonstrados no gráfico 8, na figura 17 e na tabela 2.

Gráfico 8 – Densidade de superfície do espaço sinusoidal do corpo cavernoso

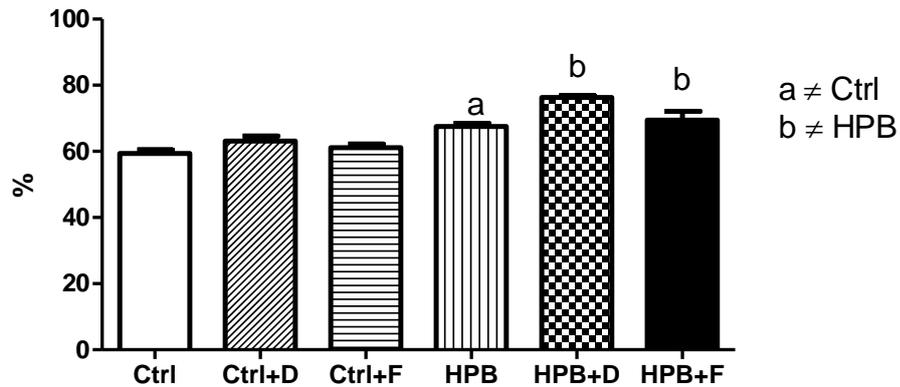


Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

3.8 Densidades de superfície do tecido conjuntivo no corpo cavernoso

Em relação a Sv do tecido conjuntivo, os resultados mostram um aumento no corpo cavernoso do grupo HPB de 13,7%, quando comparados ao grupo Ctrl. Também ocorreu um aumento de 12,8% da Sv do tecido conjuntivo no grupo HPB+D, comparado a HPB. E ocorreu um aumento de 5,6% no grupo HPB+F, quando comparado ao grupo HPB. Entre os demais grupos não houve diferença. Estes resultados estão demonstrados no gráfico 9, na figura 17 e na tabela 2.

Gráfico 9 – Densidade de superfície do tecido conjuntivo no corpo cavernoso

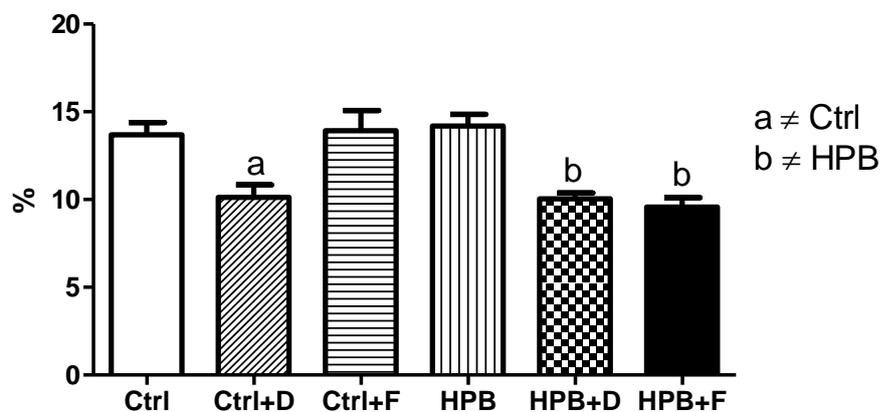


Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

3.9 Densidade de superfície de músculo liso do corpo cavernoso

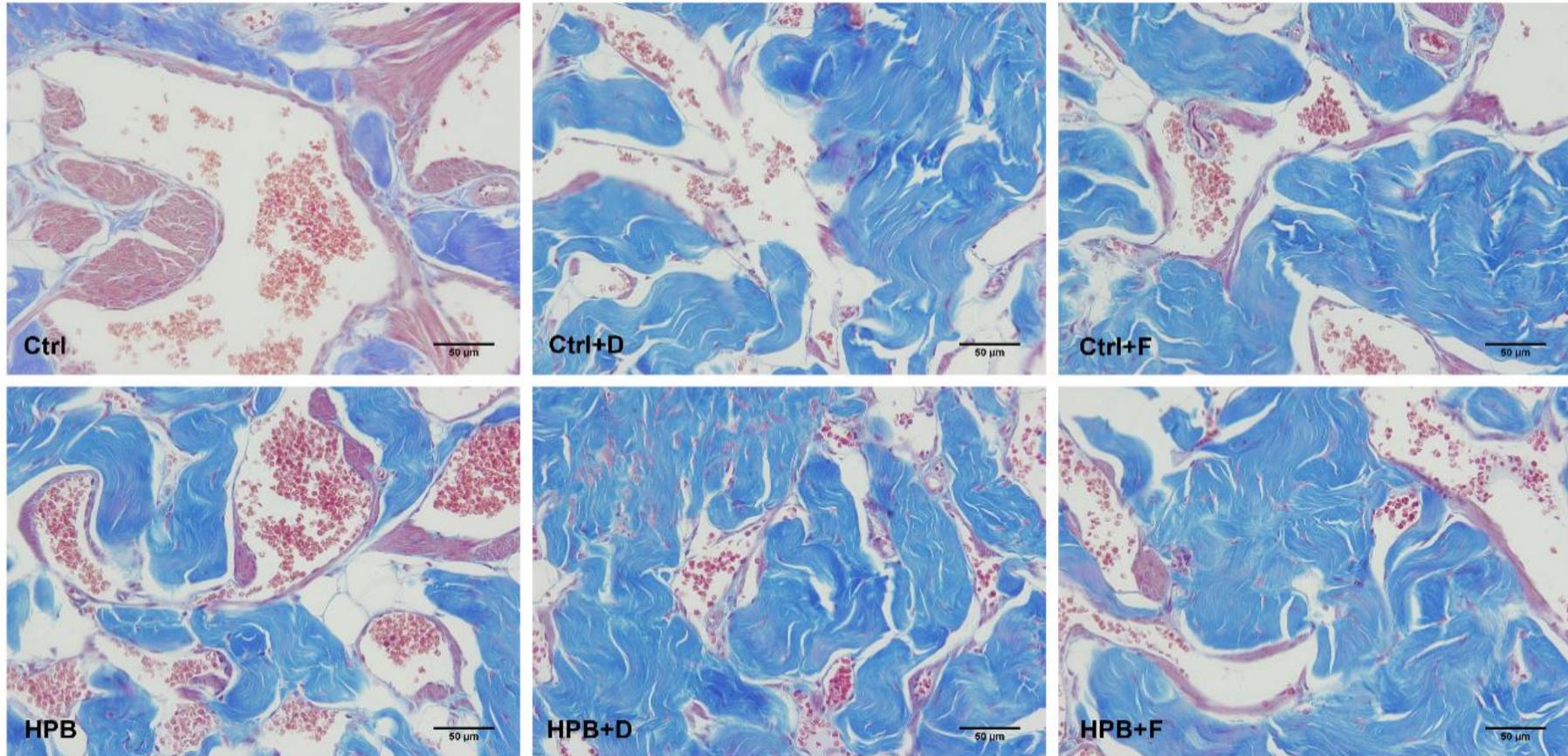
Houve redução de 26,1% da Sv do músculo liso do corpo cavernoso no grupo Ctrl+D, quando comparado ao grupo Ctrl. Ocorreu redução de 29,2% e 32,5% do mesmo parâmetro nos grupos HPB+D e HPB+F, respectivamente, quando comparado com o grupo H. Entre os demais grupos não houve diferença. Estes resultados estão demonstrados no gráfico 10, na figura 17 e na tabela 2.

Gráfico 10 - Densidade de superfície do músculo liso no corpo cavernoso



Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

Figura 17 – Fotomicrografia do corpo cavernoso os diferentes grupos



Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

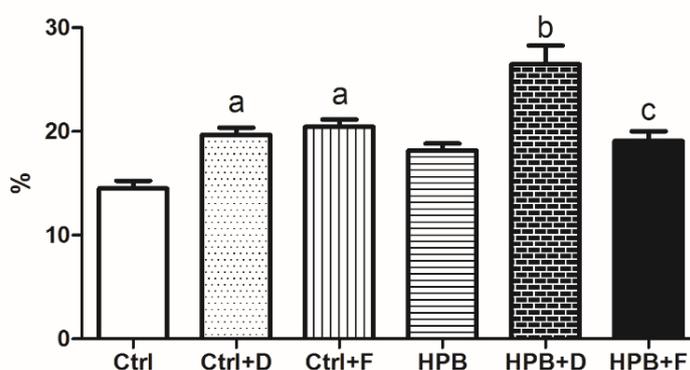
Fonte: O autor, 2017.

Nota: Tricrômico de Masson, 400x.

3.10 Densidade de superfície das fibras do sistema elástico

Em relação a Sv das fibras do sistema elástico do corpo cavernoso, verificamos que houve aumento de 35,7% e 41,1% desse parâmetro nos grupos Ctrl+D e Ctrl+F, respectivamente, quando comparados ao grupo Ctrl. No grupo HPB+D a Sv das fibras do sistema elástico aumentou 45,9%, quando comparamos ao grupo HPB. No grupo HPB+F ocorreu uma redução de 38,8%, quando comparado ao grupo HPB+D. Entre os demais grupos não houve diferença. Estes resultados estão demonstrados no gráfico 11, figura 18 e Tabela 2.

Gráfico 11 - Densidade de superfície das fibras do sistema elástico no corpo cavernoso

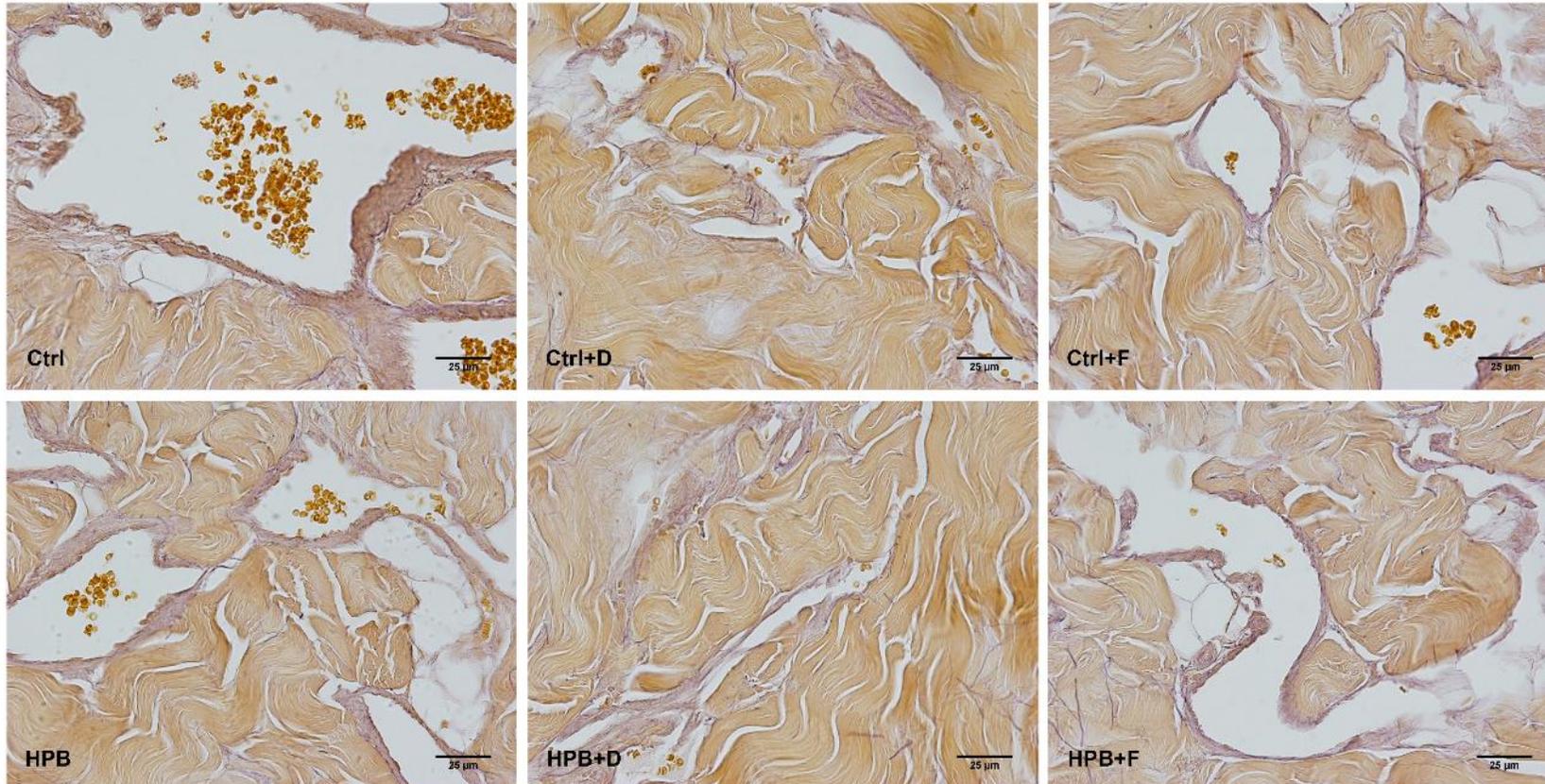


Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).
a: diferente de Ctrl; b: diferente da HPB; c: diferente de HPB+D.

3.11 Análise qualitativa do colágeno no corpo cavernoso

Quando realizamos a análise da predominância das fibras colágenas no corpo cavernoso, observamos na birrefringência que ocorreu uma predominância do colágeno do tipo I em todos os grupos (Figura 19).

Figura 18 – Fotomicrografia do corpo cavernoso demonstrando os componentes do sistema elástico

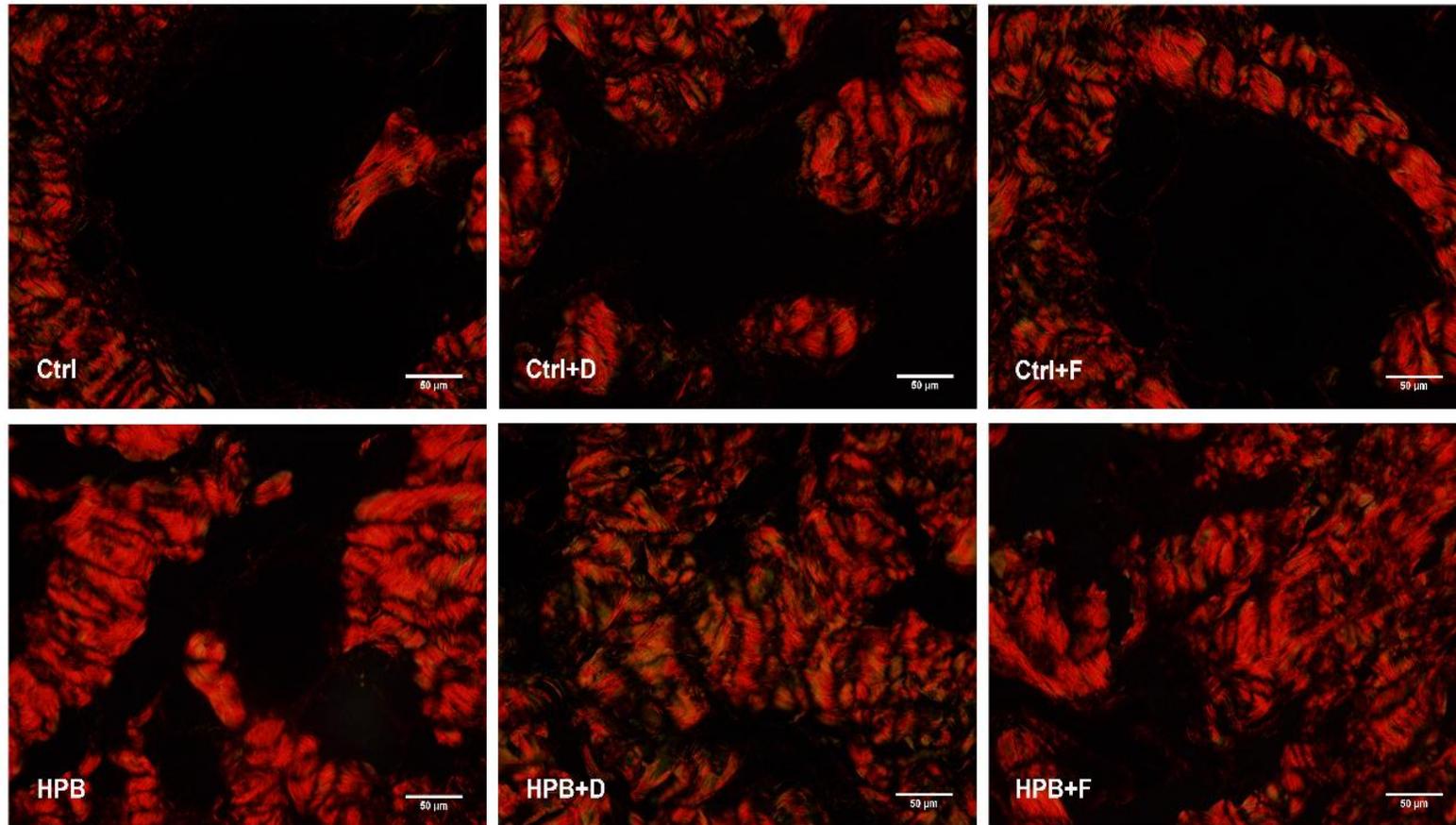


Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

Fonte: O autor, 2017.

Nota: Resorcina-Fucsina de Weigert, 600x.

Figura 19 – Fotomicrografias de Picro Sirius Red



Legenda: Ctrl: ratos normotensos; HPB - Hiperplasia Prostática Benigna; HPB+D: grupo de HPB medicado com dutasterida (0,5 mg/Kg); HPB+F: grupo HPB medicado com finasterida (5 mg/Kg).

Fonte: O autor, 2017.

Nota: Picrosirius Red, 400x

Tabela 2 – Dados histomorfométricos dos grupos Ctrl e HP medicados ou não com finasterida e dutasterida

	Ctrl	Ctrl+D	Ctrl+F	HPB	HPB+D	HPB+F	<i>p</i> value
Área total do pênis (mm ²)	6,8 ± 0,7	4,1 ± 0,2 ^a	4,1 ± 0,5 ^a	6,1 ± 0,4	5,8 ± 0,2	6,3 ± 0,2	<0,0001
Área do corpo cavernoso com a túnica albugínea (mm ²)	4,7 ± 0,4	2,9 ± 0,2 ^a	2,9 ± 0,3 ^a	4,3 ± 0,3	4,1 ± 0,2	4,4 ± 0,1	<0,0001
Área do corpo cavernoso sem a túnica albugínea (mm ²)	2,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1 ^a	1,8 ± 0,2 ^a	2,7 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1	<0,0001
Área da túnica albugínea (mm ²)	1,9 ± 0,3	1,1 ± 0,1 ^a	1,1 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,3	<0,0001
Sv do músculo liso (%)	13,7 ± 2,2	10,1 ± 1,6 ^a	13,9 ± 2,6 ^c	14,2 ± 2,1	10,0 ± 0,9 ^b	9,6 ± 1,6 ^b	<0,0001
Sv do tecido conjuntivo(%)	59,4 ± 3,3	63,1 ± 3,5	61,1 ± 2,4	67,5 ± 2,7 ^a	76,2 ± 1,6 ^b	71,9 ± 3,4 ^b	<0,0001
Svdo sinusóide (%)	25,7 ± 2,0	27,0 ± 3,5	25,8 ± 1,4	17,1 ± 3,3 ^a	13,7 ± 1,9	19,3 ± 2,7 ^d	<0,0001
Sv das fibras do sistema elástico (%)	14,5 ± 1,2	19,7 ± 1,8 ^a	20,4 ± 1,9 ^a	18,1 ± 2,0	26,5 ± 4,7 ^b	19,1 ± 2,5 ^d	<0,0001

Ctrl: grupo controle, composto por ratos *Wistar Kyoto*; Ctrl+D: Animais controle medicados com dutasterida; Ctrl+F: Animais controle medicados com finasterida; HPB: Grupo modelo de Hiperplasia prostática benigna; HPB+D: Grupo modelo de HPB medicado com dutasterida; HPB+F: Grupo modelo de HPB medicado com finasterida.

a: diferente de Ctrl; b: diferente de HPB; c: diferente de Ctrl+D; d: diferente de HPB+D.

Dados expressos com a média ± desvio padrão.

4 DISCUSSÃO

A dutasterida e a finasterida são prescritas rotineiramente para o tratamento da HPB, mas esses fármacos eventualmente causam efeitos adversos como diminuição da libido, distúrbios ejaculatórios, infertilidade e DE (15, 23-24, 43-47). Alguns pacientes que fazem o tratamento com inibidores da 5-alfa-redutase apresentam efeitos adversos persistentes, mesmo após a descontinuação do tratamento (48), o que tem sido motivo de grande atenção e eventualmente acabam levando à processos judiciais.

É sabido que a morfologia peniana (principalmente do corpo cavernoso) está ligada à função erétil. Costa et al. (38) mostrou que homens com DE, apresentaram uma redução de fibras elásticas no corpo cavernoso. No presente estudo, alterações morfológicas penianas foram observadas nos animais tratados com ambos os inibidores da 5-alfa-redutase. Dessa forma, é suposto que algum período após a descontinuação do tratamento seja necessário para que a morfologia peniana volte ao normal. Isto pode explicar, ao menos parcialmente, a persistência dos efeitos colaterais após o término do uso da finasterida e dutasterida em homens. Temos visto que a morfologia do pênis pode ser alterada em diversas situações (49-51).

Na depleção de testosterona por exemplo as alterações morfológicas são drásticas. Contudo, após algum período de reposição deste hormônio, a morfologia pode voltar ao normal (52). Assim podemos supor que após um período de *wash-out*, sem o tratamento com os inibidores da 5-alfa-redutase, e retiradas outras condições que possam alterar a morfologia peniana, esta pode ser recuperada e com ela a função erétil normal. Não sabemos ao certo o que ocorre no corpo cavernoso após a interrupção do tratamento com os inibidores da 5-alfa-redutase, assim futuros estudos que avaliem a morfologia peniana após a descontinuação do tratamento com inibidores da 5-alfa-redutase são necessários.

As alterações morfológicas observadas no presente estudo mostraram-se presentes tanto nos animais SHR, modelos de HPB, quanto nos animais controle. O grupo Ctrl se assemelha a pacientes sem HPB que fazem uso dos inibidores da 5-alfa-redutase, por exemplo, para tratamento de calvície. Nestes pacientes também é descrita a DE associada ao tratamento. Segundo Cauci et al. (2016) 70% dos homens que usaram a finasterida para o tratamento da alopecia desenvolveram DE persistente. Como muitas vezes o tratamento de homens jovens, abaixo de 30 anos, a DE pode ter um impacto social ainda maior nestes

indivíduos. O presente estudo mostra que nos ratos correspondentes a tal grupo, existem também alterações morfológicas que justificam a DE observada em pacientes.

O modelo animal sob o ponto de vista morfológico, utilizado no presente estudo tem sido considerado o mais adequado para o estudo da HPB (53-54). Tal modelo foi confirmado já que estes ratos apresentaram alterações prostáticas compatíveis com tal doença. Contudo, uma ressalva importante deve ser feita. Esta linhagem de ratos apresenta hipertensão arterial sistêmica, e alterações da morfologia peniana e da função erétil têm sido associada a este modelo (33, 40). Assim, não podemos afirmar que as alterações observadas no grupo HPB sejam em função das alterações prostáticas. Por outro lado, isto não diminui o objetivo principal do experimento, de estudar as alterações relacionadas ao uso dos inibidores da 5-alfa-redutase no corpo cavernoso.

O provável mecanismo para as alterações morfológicas vistas é a depleção dos níveis de DHT no tecido peniano. Sabemos que o pênis é um órgão andrógeno-dependente e diminuições dos hormônios masculinos causam alterações na morfologia peniana, bem como na função erétil (44, 55). Ainda, sabe-se que a DHT é um potente ativador da enzima óxido nítrico-sintase, sendo este um dos principais mecanismos para o relaxamento da musculatura lisa cavernosa que resulta na ereção peniana. Assim, a redução dos níveis de DHT pela ação dos inibidores da 5-alfa-redutase diminui a resposta do óxido nítrico, impedindo a ereção (29).

A dutasterida é considerada uma droga mais potente que a finasterida, sendo capaz de inibir as duas isoformas da enzima 5-alfa-redutase, ao contrário da finasterida que só inibe a isoforma do tipo II (15). Tal característica pode explicar os resultados do presente estudo que mostraram que o uso da dutasterida ocasionou alterações penianas mais proeminentes do que as observadas nos animais que usaram a finasterida. Ainda, isto reforça a tese de que as alterações observadas sejam realmente por conta da falta de DHT presente no tecido peniano.

Com base nisto, podemos postular que a finasterida, ao invés da dutasterida, deva ser preferida quando um tratamento com inibidores da 5-alfa-redutase for prescrito para pacientes nos quais a função erétil é uma preocupação importante. Por outro lado, outras classes de drogas aprovadas para o tratamento da HPB (alfa-1-adrenérgicos) podem ser usadas em detrimento dos inibidores da 5-alfa-redutase. Porém, futuros estudos são necessários para verificar se os alfa-1-adrenérgicos também causam alterações penianas.

Ainda, não sabemos se o retorno à morfologia peniana normal é possível após a interrupção do uso destas drogas; e se alguma delas tem retorno mais rápido ou mais completo. Sabemos ainda, que as doses utilizadas, principalmente para o tratamento da

calvície, podem variar, assim, futuros estudos que comparem as alterações penianas com diferentes doses são importantes.

O presente estudo foi realizado usando o rato como modelo animal, assim, como limitações do estudo, temos que destacar que os resultados obtidos podem não refletir o que acontece em outras espécies. Sabemos que o pênis do rato tem morfologia distinta ao pênis do homem (56). Embora este modelo tenha sido largamente utilizado, já que diversos estudos mostram que a morfologia peniana do rato se altera em situações clínicas de forma semelhante ao do homem (29, 40, 52, 56), os resultados neste modelo não devem ser diretamente transpostos ao homem.

CONCLUSÃO

A dutasterida e a finasterida promoveram modificações na morfologia peniana de ratos controle e com HPB, embora estas modificações tenham sido mais proeminentes em animais com HPB. Os animais com HPB não apresentaram alterações na área do pênis, apesar da dutasterida e da finasterida apresentarem redução da área do pênis em ratos sem HPB. A dutasterida foi a droga que mais afetou o corpo cavernoso neste modelo animal de HPB.

REFERÊNCIAS

1. Egan KB. The Epidemiology of Benign Prostatic Hyperplasia Associated with Lower Urinary Tract Symptoms: Prevalence and Incident Rates. *The Urologic clinics of North America*. 2016 Aug;43(3):289-97.
2. Erdemir F, Harbin A, Hellstrom WJ. 5-alpha reductase inhibitors and erectile dysfunction: the connection. *The journal of sexual medicine*. 2008 Dec;5(12):2917-24.
3. Jarvis TR, Chughtai B, Kaplan SA. Testosterone and benign prostatic hyperplasia. *Asian journal of andrology*. 2015 Mar-Apr;17(2):212-6.
4. Madersbacher S, Alivizatos G, Nordling J, Sanz CR, Emberton M, et al. EAU 2004 guidelines on assessment, therapy and follow-up of men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic obstruction (BPH guidelines). *European urology*. 2004 Nov;46(5):547-54.
5. Maeda T, Kikuchi E, Hasegawa M, Ando T, Matsushima M, Yuge K, et al. A prospective longitudinal survey of erectile function status in symptomatic benign prostatic hyperplasia patients treated with dutasteride. *The aging male : the official journal of the International Society for the Study of the Aging Male*. Jun;19(2):111-6.
6. Park T, Choi JY. Efficacy and safety of dutasteride for the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia (BPH): a systematic review and meta-analysis. *World journal of urology*. 2014 Aug;32(4):1093-105.
7. Wienkers LC, Steenwyk RC, Hauer MJ, Fleishaker JC, Pearson PG. Biotransformation of tirilazad in human: 3. tirilazad A-ring reduction by human liver microsomal 5alpha-reductase type 1 and type 2. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1998 Nov;287(2):583-90.
8. McVary KT, Roehrborn CG, Avins AL, Barry MJ, Bruskewitz RC, et al. Update on AUA guideline on the management of benign prostatic hyperplasia. *The Journal of urology*. 2011 May;185(5):1793-803.
9. Andriole G, Bruchovsky N, Chung LW, Matsumoto AM, Rittmaster R, et al. Dihydrotestosterone and the prostate: the scientific rationale for 5alpha-reductase inhibitors in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *The Journal of urology*. 2004 Oct;172(4 Pt 1):1399-403.
10. Canby-Hagino ED, Brand TC, Hernandez J, Thompson IM. Chemoprevention of prostate cancer with finasteride. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2006 May;7(7):899-905.
11. Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. *Annual review of biochemistry*. 1994;63:25-61.

12. Wu C, Kapoor A. Dutasteride for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2013 Jul;14(10):1399-408.
13. Ingimarsson JP, Isaksson HJ, Sigbjarnarson HP, Gudmundsson J, Geirsson G. Increased population use of medications for male lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia correlates with changes in indications for transurethral resection of the prostate. *Scandinavian journal of urology*. 2014 Feb;48(1):73-8.
14. Nickel JC, Gilling P, Tammela TL, Morrill B, Wilson TH, et al. Comparison of dutasteride and finasteride for treating benign prostatic hyperplasia: the Enlarged Prostate International Comparator Study (EPICS). *BJU international*. 2011 Aug;108(3):388-94.
15. Alcantara-Montero A, Brenes-Bermudez FJ. Finasteride or dutasteride for the pharmacological treatment for male lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia? *Actas urologicas espanolas*. 2016 May;40(4):268-9.
16. Goldstein MR, Cook JD, Plante DT. The 5-alpha-reductase inhibitor finasteride is not associated with alterations in sleep spindles in men referred for polysomnography. *Human psychopharmacology*. 2015 Jan;31(1):70-4.
17. Choi YH, Cho SY, Cho IR. The different reduction rate of prostate-specific antigen in dutasteride and finasteride. *Korean journal of urology*. 2010 Oct;51(10):704-8.
18. Kiguradze T, Temps WH, Yarnold PR, Cashy J, Brannigan RE, et al. Persistent erectile dysfunction in men exposed to the 5alpha-reductase inhibitors, finasteride, or dutasteride. *PeerJ*. 2017;5:e3020.
19. Nickel JC, Gilling P, Tammela TL, Morrill B, Wilson TH, et al. Comparison of dutasteride and finasteride for treating benign prostatic hyperplasia: the Enlarged Prostate. *BJU Int*. 2011 Aug;108(3):388-94.
20. Chiba K, Yamaguchi K, Li F, Ando M, Fujisawa M. Finasteride-associated male infertility. *Fertility and sterility*. 2010 Apr;95(5):1786 e9-11.
21. Wang D, Zha X, Nagase K, Akino H, Muramatsu I, et al. Effects of the 5alpha-reductase inhibitor dutasteride on rat prostate alpha1A-adrenergic receptor and its mediated contractility. *Urology* 2015; 85: 704 e9-14.
22. Garcia PV, Barbieri MF, Perobelli JE, Consonni SR, Mesquita S de F et al. Morphometric-stereological and functional epididymal alterations and a decrease in fertility in rats treated with finasteride and after a 30-day post-treatment recovery period. *Fertil Steril* 2012; 97: 1444-51.
23. Tsunemi Y, Irisawa R, Yoshiie H, Brotherton B, Ito H, et al. Long-term safety and efficacy of dutasteride in the treatment of male patients with androgenetic alopecia. *The Journal of dermatology*. 2016 Sep;43(9):1051-8.
24. Roehrborn CG, Manyak MJ, Palacios-Moreno JM, Wilson TH, Roes EPM, et al. A prospective randomised placebo-controlled study of the impact of dutasteride/tamsulosin combination therapy on sexual function domains in sexually active men with lower urinary

tract symptoms (LUTS) secondary to benign prostatic hyperplasia (BPH). *BJU International*. 2017 Oct.

25. Ganzer CA, Jacobs AR, Iqbal F. Persistent sexual, emotional, and cognitive impairment post-finasteride: a survey of men reporting symptoms. *American journal of men's health*. 2014 May;9(3):222-8.
26. Da Silva LM, Montanari CM, Santos OM, Cazedey EC, Angelo ML, et al. Quality evaluation of the Finasteride polymorphic forms I and II in capsules. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2014 Feb;105:24-31.
27. Traish A, Haider KS, Doros G, Haider A. Long-term dutasteride therapy in men with benign prostatic hyperplasia alters glucose and lipid profiles and increases severity of erectile dysfunction. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2017 Jun 21;30(3).
28. Li R, Meng X, Zhang Y, Wang T, Yang J, et al. Testosterone improves erectile function through inhibition of reactive oxygen species generation in castrated rats. *PeerJ*. 2016;4:e2000.
29. Pinsky MR, Gur S, Tracey AJ, Harbin A, Hellstrom WJ. The effects of chronic 5-alpha-reductase inhibitor (dutasteride) treatment on rat erectile function. *The journal of sexual medicine*. 2011 Nov;8(11):3066-74.
30. Zhang MG, Wu W, Zhang CM, Wang XJ, Gao PJ, et al. Effects of oral finasteride on erectile function in a rat model. *The journal of sexual medicine*. 2012 May;9(5):1328-36.
31. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Japanese circulation journal*. 1963 Mar;27:282-93.
32. Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovascular research*. 1998 Jul;39(1):77-88.
33. Oudot A, Oger S, Behr-Roussel D, Caisey S, Bernabe J, et al. A new experimental rat model of erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia: the testosterone-supplemented spontaneously hypertensive rat. *BJU international*. 2012 Nov;110(9):1352-8.
34. Steers WD, Clemow DB, Persson K, Sherer TB, Andersson KE, et al. The spontaneously hypertensive rat: insight into the pathogenesis of irritative symptoms in benign prostatic hyperplasia and young anxious males. *Experimental physiology*. 1999 Jan;84(1):137-47.
35. Mehta AC, Zaki KS, Banga A, Singh J, Gildea TR, et al. Tracheobronchial smooth muscle atrophy and separation. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2015;90(3):256-62.
36. Park MG, Yeo JK, Cho DY, Kim JW, Kim JW, et al. The efficacy of combination treatment with injectable testosterone undecanoate and daily tadalafil for erectile dysfunction with testosterone deficiency syndrome. *The journal of sexual medicine*. 2015 Apr;12(4):966-74.

37. McCullough A. Penile change following radical prostatectomy: size, smooth muscle atrophy, and curve. *Current urology reports*. 2008 Nov;9(6):492-9. PubMed PMID: 18947515. eng.
38. Costa WS, Carrerete FB, Horta WG, Sampaio FJ. Comparative analysis of the penis corpora cavernosa in controls and patients with erectile dysfunction. *BJU international*. 2006 Mar;97(3):567-9.
39. 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. *The Journal of urology*. 2000 Nov;164(5):1802-6.
40. Felix-Patricio B, Medeiros JL, Jr, De Souza DB, Costa WS, Sampaio FJ. Penile histomorphometrical evaluation in hypertensive rats treated with sildenafil or enalapril alone or in combination: a comparison with normotensive and untreated hypertensive rats. *The journal of sexual medicine*. 2015 Jan;12(1):39-47.
41. 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 Sep;20(3):259-66.
42. De Souza DB, Silva D, Cortez CM, Costa WS, Sampaio FJ. Effects of chronic stress on penile corpus cavernosum of rats. *Journal of andrology*. 2012 Jul-Aug;33(4):735-9.
43. Shanshanwal SJ, Adwani G, Dandale AL, Dhurat RS. Case of Unilateral Temporal Triangular Alopecia. *Indian dermatology online journal*. 2017 Mar-Apr;8(2):161.
44. Liu L, Zhao S, Li F, Li E, Kang R, Luo L, et al. Effect of 5alpha-Reductase Inhibitors on Sexual Function: A Meta-Analysis and Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *The journal of sexual medicine*. 2016 Sep;13(9):1297-310.
45. Favilla V, Russo GI, Privitera S, Castelli T, Giardina R, et al. Impact of combination therapy 5-alpha reductase inhibitors (5-ARI) plus alpha-blockers (AB) on erectile dysfunction and decrease of libido in patients with LUTS/BPH: a systematic review with meta-analysis. *The aging male : the official journal of the International Society for the Study of the Aging Male*. 2016 Sep;19(3):175-81.
46. Hirshburg JM, Kelsey PA, Therrien CA, Gavino AC, Reichenberg JS. Adverse Effects and Safety of 5-alpha Reductase Inhibitors (Finasteride, Dutasteride): A Systematic Review. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*. 2016 Jul;9(7):56-62.
47. Boyapati A, Sinclair R. Combination therapy with finasteride and low-dose dutasteride in the treatment of androgenetic alopecia. *The Australasian journal of dermatology*. 2013 Feb;54(1):49-51.
48. Hagberg KW, Divan HA, Persson R, Nickel JC, Jick SS. Risk of erectile dysfunction associated with use of 5-alpha reductase inhibitors for benign prostatic hyperplasia or alopecia: population based studies using the Clinical Practice Research Datalink. *British Medical Journal*. 2016 Sep 22;354:i4823.

49. Pereira VA, Abidu-Figueiredo M, Pereira-Sampaio MA, Chagas MA, Costa WS, et al. Sinusoidal constriction and vascular hypertrophy in the diabetes-induced rabbit penis. *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology*. 2013 May-Jun;39(3):424-31.
50. Abidu-Figueiredo M, Ribeiro IC, Chagas MA, Cardoso LE, Costa WS, et al. The penis in diabetes: structural analysis of connective tissue and smooth muscle alterations in a rabbit model. *BJU international*. 2011 Aug;108(3):400-4.
51. Okabe H, Hale TM, Kumon H, Heaton JP, Adams MA. The penis is not protected--in hypertension there are vascular changes in the penis which are similar to those in other vascular beds. *International journal of impotence research*. 1999 Jun;11(3):133-40.
52. 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. *Journal of andrology*. 2012 Nov-Dec;33(6):1224-32.
53. Shimizu S, Shimizu T, Tsounapi P, Higashi Y, Martin DT, et al. Effect of Silodosin, an Alpha1A-Adrenoceptor Antagonist, on Ventral Prostatic Hyperplasia in the Spontaneously Hypertensive Rat. *PloS one*. 2015;10(8):e0133798.
54. Saito M, Shimizu S, Ohmasa F, Oikawa R, Tsounapi P, et al. Characterization of silodosin and naftopidil in the treatment of bladder dysfunction in the spontaneously hypertensive rat. *Neurourology and urodynamics*. 2013 Apr;32(4):393-8.
55. Hwang I, Lee HS, Yu HS, Kim ME, Lee JS, et al. Testosterone modulates endothelial progenitor cells in rat corpus cavernosum. *BJU international*. 2016 Jun;117(6):976-81.
56. Hannan JL, Blaser MC, Pang JJ, Adams SM, Pang SC, et al. Impact of hypertension, aging, and antihypertensive treatment on the morphology of the pudendal artery. *The journal of sexual medicine*. 2011 Apr;8(4):1027-38.

ANEXO A – Comitê de ética em pesquisa



COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO
DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA)

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação histomorfométricas do corpo cavernoso de ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao tratamento com inibidores da 5- α -redutase", registrada com o nº 041/2017, sob a responsabilidade de **Diogo Benchimol de Souza** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ, em reunião de 25/09/2017.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	25/09/2021
Espécie/linhagem/raça	Rato Wistar-Kyoto / SRH
Nº de animais	60
Peso/idade	350 g / 3 meses
Sexo	Macho
Origem	Biotério setorial

Rio de Janeiro, 26 de Setembro de 2017.

Prof. Dr. Alex C. Manhães
Coordenador
CEUA/IBRAG/UERJ

Profa. Dra. Patricia C. Lisboa
Vice-Coordenadora
CEUA/IBRAG/UERJ

ANEXO B – Aceite do artigo científico

----- Forwarded message -----

From: **Asian Journal of Andrology** <onbehalfof@manuscriptcentral.com>
Date: 2018-01-22 1:23 GMT-02:00
Subject: FW: Asian Journal of Andrology- AJA-6362.R2-Acceptance with minor changes
To: diogobenchimol@gmail.com

21-Jan-2018

Dear Dr de Souza:

Manuscript ID: AJA-6362.R2

Title: The corpus cavernosum after treatment with dutasteride or finasteride: a histomorphometric study in a benign prostatic hyperplasia rodent model

I am pleased to inform you that your manuscript has been accepted IN PRINCIPLE for publication in AJA. Before your manuscript can be formally accepted for publication, you will need to upload final electronic files of your text, figures and supplementary information (if any) in our online manuscript submission system. Furthermore, there is still a little comment listed at the back of this email for your consideration

IMPORTANT: It's obligatory for authors to submit the final, accepted version of their paper. Please strictly follow the specific format and guidelines (attached) therefore increasing the chances of formally acceptance.

To submit all final files, log into <http://mc.manuscriptcentral.com/aja> and enter your Author Center. Your original files are available to you when you upload your final files. Please delete any redundant files before completing the submission.

Please submit the final files within 7 days. If you do not think you will be able to meet this date please let us know immediately.

Once again, thank you for submitting your manuscript to AJA and I look forward to receiving your final file. If you have any questions at all, please do not hesitate to get in touch.

Best regards!

Sincerely,

Miss Wenxiu Pan
Science Editor, Asian Journal of Andrology
Editorial Office, Asian Journal of Andrology
Room 302, Building 16, 294 Tai-yuan Rd, Shanghai 200031, China
E-mail: aja@sibs.ac.cn Phone: 86-21-5492 2824
URL: <http://www.AsiaAndro.com>

Latest SCI impact factor: 2.996

ANEXO C – Artigo científico


 ASIAN JOURNAL OF **Andrology**

**The corpus cavernosum after treatment with dutasteride or finasteride:
a histomorphometric study in a benign prostatic hyperplasia rodent
model**

Journal:	<i>Asian Journal of Andrology</i>
Manuscript ID	AJA-6362.R3
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	22-Jan-2018
Complete List of Authors:	<p>Da Silva, Marcello; State University of Rio de Janeiro, Urogenital Research Unit</p> <p>Costa, Waldemar; State University of Rio de Janeiro, Urogenital Research Unit</p> <p>Sampaio, Francisco J.B.; State University of Rio de Janeiro, Urogenital Research Unit, UERJ, Avenue. 28 de Setembro, no. 87 – fundos – FCM – térreo, 20551-030, Rio de Janeiro, RJ, Brazil</p> <p>de Souza, Diogo; State University of Rio de Janeiro, Urogenital Research Unit</p>
Keywords:	Animal models, benign prostatic hyperplasia, Dutasteride, Erectile disfunction, Finasteride, penis
<p>Note: The following files were submitted by the author for peer review, but marked to be sent in Off-Line.</p> <p align="center">Figure 1</p>	

SCHOLARONE™
Manuscripts