

1- INTRODUÇÃO

A hiperplasia de próstata (HP) é a alteração proliferativa benigna mais frequente no homem, existindo evidências histológicas da doença em cerca de 50% na faixa etária de 50 anos e de quase 90% aos 80 anos ¹. A idade e a presença de função testicular normal são os dois fatores mais importantes para o crescimento volumétrico da próstata².

Além da hiperplasia, a próstata pode ser acometida por outras doenças como neoplasia maligna, que pode levar a morte e processos inflamatórios, infecciosos ou não, os quais podem levar ao simples desconforto ao urinar à obstrução do fluxo urinário, que exige descompressão imediata ou eletiva. É uma doença de caráter progressivo. Vem daí, a preocupação que essa enfermidade desperta nos pacientes e médicos.

O primeiro relato sobre a próstata se deve a Herophilus (335-280 a.C.). As bases da fisiopatologia da obstrução urinária secundária ao crescimento prostático são atribuídas a Galeno que viveu em Roma nos anos 131 a 210. Em 1536, a descrição anatômica precisa da próstata foi feita pela primeira vez por Niccolò Massa e a primeira descrição científica da fisiopatologia da HP se atribui a Jean Riolanus. O trabalho de Jean Riolanus sobre os efeitos da obstrução prostática na bexiga e no trato urinário superior foi publicado na Ópera Anatômica em 1649. A exata descrição anatomopatológica da HP foi realizada por Rudolf Virchow no final do século 19 ³.

No ano de 1786, John Hunter descreveu a hiperplasia dos lobos laterais e médio da próstata, as infecções originadas na glândula, a trabeculação da bexiga e as mudanças no trato urinário superior associadas à presença da obstrução prostática³. Descobriu o papel hormonal na patogênese do crescimento prostático, realizando castração em ratos pré-púberes. Em 1895, Rand e White descreveram a orquiectomia como tratamento da obstrução urinária devida ao aumento volumétrico da próstata ³.

As referências empregadas nesta Tese, f. 52-60, tiveram seu fundamento no *International Committee of Medical Journal Editors ICM JE*, Vancouver, outubro de 2004. (Nota do autor).

O papel relevante dos andrógenos no crescimento e manutenção da função do epitélio prostático se deve a Walsh e Wilson por seus trabalhos feitos em próstatas de cães em 1976 e estabeleceu esse animal como modelo primário para o estudo da HP⁴.

A importância da diidrotestosterona na manutenção das células epiteliais prostáticas conduziu ao desenvolvimento de um inibidor da 5 α R para o tratamento dessa afecção⁵.

A finasterida foi um dos primeiros medicamentos inibidores da 5 α R a ser utilizado para o tratamento da HP⁶ e suas propriedades já foram consideradas clinicamente⁷. Apesar de ter proporcionado um avanço na estratégia terapêutica dessa afecção, a sua ação ainda desperta dúvidas entre os especialistas, havendo alguns que, ainda, não a consideram eficiente⁸ e as intervenções cirúrgicas continuam representando a modalidade mais eficiente de tratamento para a HP obstrutiva⁹.

A cirurgia só aparece, no campo terapêutico, como uma solução precária, muitas vezes, de uma incapacidade resolutive do tratamento clínico. A busca pela medicação que controle ou retarde a repercussão causada pelo crescimento prostático, data de longo tempo.

No passado, existiram recursos empíricos ou mezinhas sempre com o objetivo de descomprimir a obstrução prostática, até o surgimento da finasterida.

A avaliação da efetividade da finasterida se faz, de modo subjetivo, através dos sintomas referidos pelos pacientes (*I-PSS*)¹⁰, pelo exame digital da próstata e pelo ultrassom, que avalia o volume da glândula. Um dos meios usados também é a fluxometria para estimar o efeito dessa medicação no fluxo urinário¹¹.

As manifestações clínicas da HP são oscilantes e, no passar dos anos, evoluem com período de exacerbação e acalmia^{12,13}. Aproximadamente 2/3 dos pacientes sintomáticos portadores de HP, se acompanhados de forma expectante, irão estabilizar ou melhorar de sua sintomatologia, não necessitando de tratamento¹⁴.

Os sintomas clínicos da HP, medidos por parâmetros objetivos e subjetivos, variam consideravelmente em um período de tempo¹⁵ e de paciente para paciente. Com a administração de placebo também pode ser observada melhora clínica no tratamento da HP^{12,16}. Há trabalho¹² que mostra que, globalmente, as respostas terapêuticas com o uso da finasterida são pouco satisfatórias, oscilando entre 25% e 30%, segundo estudos populacionais.

Vários problemas surgiram, depois de alguns anos de experiência com o uso da finasterida, principalmente quanto à sua ineficácia clínica imediata⁸. Já seu real benefício só é percebido por alguns pacientes, após um intervalo de tempo de três a seis meses de tratamento. A eficácia do uso da finasterida também depende do volume da próstata, sendo pouco eficiente em próstatas menores de 40g⁸.

Estudos clínicos^{17,18} têm mostrado bons resultados na sintomatologia, diminuição do volume da próstata e melhora do fluxo urinário em pacientes portadores de HP, quando medicados com a finasterida por um período de sete a oito anos. Outros pacientes têm os seus sintomas agravados e precisam ser cateterizados nos serviços de emergência por retenção urinária e serem operados posteriormente.

Com a liberação da finasterida pelo *FDA* em 1992 para o tratamento da HP houve um grande entusiasmo na sua prescrição. Com o passar do tempo, não era mais prescrita como no início devido aos resultados duvidosos de sua eficácia no tratamento dessa doença. Muitos pacientes abandonavam e abandonam o tratamento clínico com a finasterida e são operados. Foi observado nos pacientes em uso de finasterida para tratamento de HP, expressivo crescimento de pelos nas áreas calvas¹⁹. Dessas observações, surgiram estudos mais aprofundados sobre a influência dos androgênios na calvície e nos folículos pilosos, localizados em certas áreas da pele²⁰. Tomou importância no tratamento da alopecia androgênica em 1997, quando foi aprovada para uso nessa afecção pelo *FDA*.

A finasterida voltou a ter importância no tratamento da próstata, a partir dos trabalhos apresentados no encontro anual da *AUA* de 2008, quando foi mostrado o efeito protetor dessa medicação no câncer de próstata²¹.

Os resultados do uso da finasterida e sua efetividade sobre a próstata estão estribados, em sua maioria, em levantamentos clínicos. Estudo²² tem mostrado que homens tratados com finasterida não apresentaram nenhum efeito permanente em expressão da 5 α R tipo 2 em epitélio da próstata, comparado com tratamento placebo. Os trabalhos apresentados na literatura não são consistentes. Mais pesquisas serão necessárias para maximizar a eficácia da finasterida no tratamento da HP.

São de grande valor, estudos experimentais da finasterida na célula prostática em animais, acrescentando os já existentes, com o objetivo de melhorar o esclarecimento da ação dessa medicação na próstata, impedindo uma cascata sequencial de tratamentos ineficazes, onerosos, sujeitos a efeitos colaterais^{23, 24,25} e sem resultados, terminando por culminar em cirurgias ou em algum outro recurso.

A anatomia, a histologia, e a fisiologia da próstata do *hMa* foram descritas por Toma JG *et al.*²⁶, (Fig. 1), e propiciam realizar, na próstata desses animais, experimentos com medicações que atuem nessa glândula.

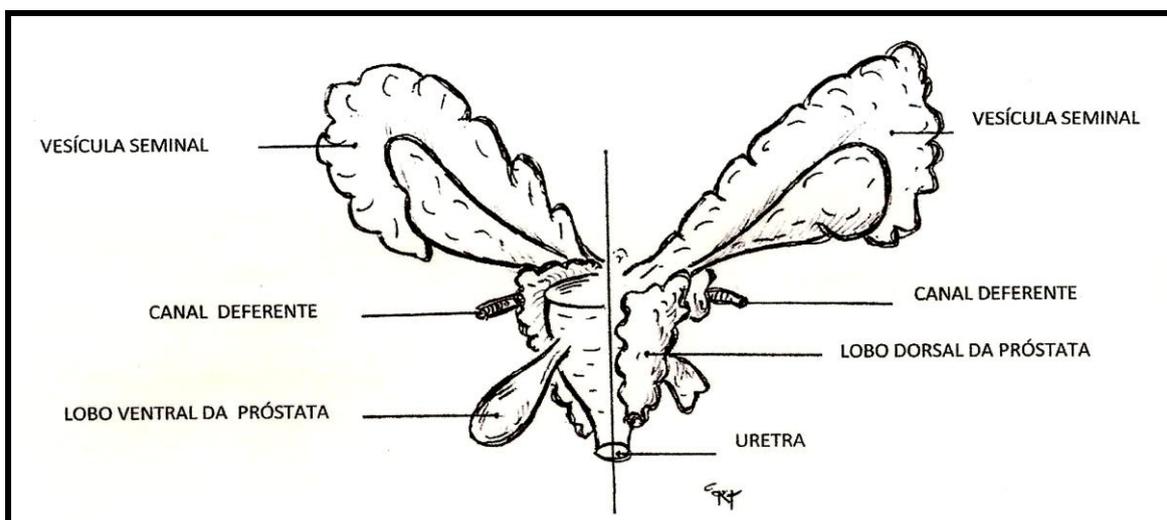


FIGURA 1- Anexos genitais do *hMa*. Retirado e modificado de Toma JG, Buzell GR²⁶. (Desenho de Ruy Carlos Paolucci).

O autor em trabalho de Dissertação de Mestrado estudou as próstatas do *hMa* quando teve a oportunidade de conhecer a anatomia e histologia dessa glândula. Associando a teoria com a prática, viu serem esses roedores pertinentes para o desenvolvimento dessa pesquisa como animais de experimento.

2- OBJETIVO

O objetivo desta pesquisa é avaliar o efeito da finasterida no Antígeno Prostático Específico (*PSA*) sérico e nas áreas dos ácinos e do epitélio acinar, na expressão de *AgNORS*, na apoptose e na celularidade da próstata do *hMa*.

3- LITERATURA

3.1- FINASTERIDA

A finasterida N-(1,1-dimethylethyl)-3-oxo-(5 α ,17 β)-4-azaandrost-1-ene-17-carboxamide), fórmula molecular C₂₃H₃₆N₂O₂, (Fig.2), massa molar 372.549g/mol^{27,28}, foi a primeira medicação a ser utilizada para o tratamento da HP⁶. Bloqueia a enzima 5 α R que transforma a T em DHT^{27,28,29}.

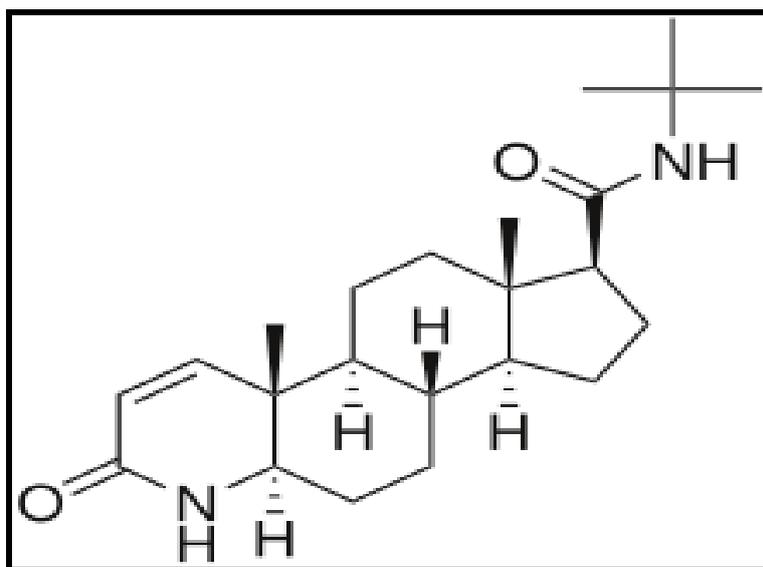


FIGURA 2- Estrutura química da finasterida. Retirado e modificado de Lepor H, Lawson RK. Inibidores de La 5 α -reductasa. In: Enfermedades de la próstata. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A. ; 1994. p.233. (Desenho de Ruy Carlos Paolucci).

Depois de secretada pelos testículos e adrenais, a T circula no sangue por aproximadamente 30 minutos. Após esse período, é fixada nos tecidos alvos, ou degradada em produtos inativos que são em seguida excretados nas fezes e urina²⁷.

A T secretada pelos testículos, corresponde a cerca de 7mg por dia³, equivalente a 95% da T endógena, sendo que 5% advêm das glândulas adrenais²⁸.

A DHT é o metabolito ativo da T na célula³. Liga-se ao receptor citoplasmático de androgênio e o complexo entra no núcleo celular, onde ativa a transcrição de genes androgênicos-dependentes³⁰. No núcleo celular a DHT condiciona aumento da

atividade do ARN-polimerase e, por conseguinte, aumento na síntese de ARN e proteínas específicas²⁸ (Fig.3).

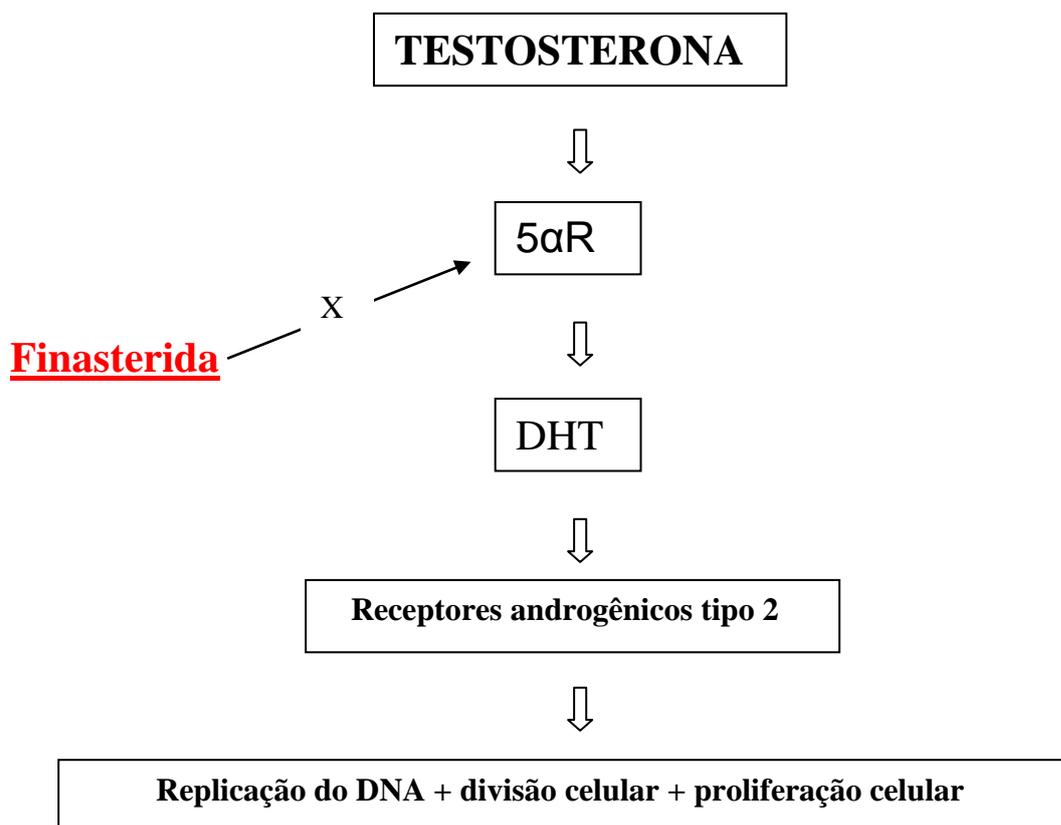


FIGURA 3- Relação testosterona *versus* finasterida. (Diagrama do autor).

Diferentes experimentos foram feitos em ratos para demonstrar que a DHT media a ação intracelular dos androgênios na próstata^{31,32}.

O uso dos inibidores da 5αR no tratamento da HP partiu da observação feita em 1975³ que os pacientes com deficiência congênita de 5αR teria escasso tecido prostático³³, sugerindo que a depressão da DHT poderia ser eficaz no tratamento e prevenção da HP, interferindo seletivamente no crescimento prostático³⁴.

Com os resultados dessas observações, foram experimentados diferentes inibidores da enzima 5αR, embora, muito deles se mostraram tóxicos para o fígado³⁴. A finasterida

mostrou-se efetiva no cão, diminuindo o volume prostático em 64%, com redução importante dos níveis séricos de DHT intracelular, sem causar efeitos tóxicos³⁵, quando então, passou a ser usada em seres humanos.

Existem dois subtipos de enzimas 5 α R: a do tipo 1 encontrada na pele e no fígado e a do tipo 2 encontrada na próstata, couro cabeludo e ao redor dos genitais^{36, 37,38}. Tem-se mostrado também pequena participação da enzima 5 α R tipo 1 na próstata³⁶. A finasterida atua seletivamente na 5 α R tipo 2³⁷.

A finasterida foi aprovada para o tratamento da HP, alopecia androgênica e câncer de próstata^{3,9}. Na alopecia androgênica a dose orientada é de 1mg ao dia e para o tratamento da HP é de 5mg ao dia por via oral⁹. Tem biodisponibilidade de 63%. É metabolizada no fígado. Tem meia-vida no sangue em torno de seis a sete horas⁹. Sua excreção se faz pelas fezes (57%) e urina (39%)³⁹.

Tem que ser armazenada em temperatura inferior a 30⁰C, em recipiente firmemente fechado protegido da luz³⁹. Após seis meses de tratamento com a finasterida na dosagem de 5mg/dia no homem, os níveis de DHT são reduzidos aos níveis de castração, sem todavia interferir nos de testosterona sérica⁴⁰.

São necessários no mínimo seis meses de terapia com a finasterida para se obter alguma resposta ao tratamento⁴⁰.

A DHT é suprimida após o quarto dia de uso de finasterida na dosagem de 5mg/dia⁴⁰. Seus níveis persistem por cinco a sete dias e retorna ao nível basal, após 14 dias com a descontinuidade da medicação⁴⁰.

A concentração máxima da finasterida no plasma ocorre de duas a seis horas, após ter sido administrada por via oral. Não ocorre acúmulo do medicamento no plasma, após sete dias de uso⁴¹. A alimentação pode diminuir sua taxa de absorção, embora sem interferir em sua biodisponibilidade⁴¹.

A finasterida na dose de 5mg ao dia é factível de apresentar efeitos colaterais^{7,23}. A redução da libido é o principal efeito colateral do uso da finasterida, seguida da redução

do volume do ejaculado e DE⁷, embora estudos tenham demonstrado efeitos colaterais advindos do uso da finasterida, semelhantes aos dos pacientes que fizeram uso de placebo⁷. Trabalho tem demonstrado malformação congênita em filhos de mulheres que tiveram contato com a finasterida²⁴. Trabalho experimental em ratos demonstra más formações congênitas importantes no aparelho genital desses animais (genitália ambígua) que fizeram uso de finasterida⁴². A finasterida reduz os níveis plasmáticos de *PSA*, pacientes em uso dessa medicação que estão em estudo para detecção de câncer de próstata os valores encontrados desse antígeno deverão ser ajustados para evitar interpretações incorretas nos resultados encontrados⁴³. O autor observou em *hMa*, em uso de finasterida, atrofia tubulares testiculares significativas e diminuição da espermatogênese²⁵. Trabalho tem relatado mialgia e elevação do nível sérico da *CPK* em homens que fizeram uso de finasterida⁴⁴. Também existem relatos de que o uso de finasterida pode induzir à depressão⁴⁵.

3.2- Prostate Specific Antigen (PSA)

A sigla *PSA* advém do inglês: *Prostate Specific Antigen*, que em português é conhecido como Antígeno Prostático Específico. É sintetizado pelos canais excretores da próstata (ácinos e dutos prostático)⁴⁶. É uma protease glicoprotéica secretada pelo epitélio dos ácinos prostáticos⁴⁷. A maioria do *PSA* produzido, alcança o ejaculado onde apresenta a função de liquefação do sêmen⁴⁸. No entanto, cerca 0,1% do volume total do *PSA* é absorvido através da membrana basal para alcançar a corrente sanguínea, onde se ligará principalmente a ACT ou alfa2-MG⁴⁸, (Fig. 4 e 5).

O *PSA* sérico no homem é encontrado sob duas formas moleculares: *fPSA* e *cPSA*⁴⁹, (Fig. 4). A maior parte do *PSA* circulante encontra-se conjugado a inibidores de serinas proteases, principalmente à alfa2-MG e à alfa-1-ACT.

O *PSA* livre circula em uma pequena fração, correspondendo cerca de 5% a 40% do *PSA* total, e o *PSA* conjugado à ACT compreende entre 60% a 95% do *PSA* imunodetectável no plasma⁵⁰.

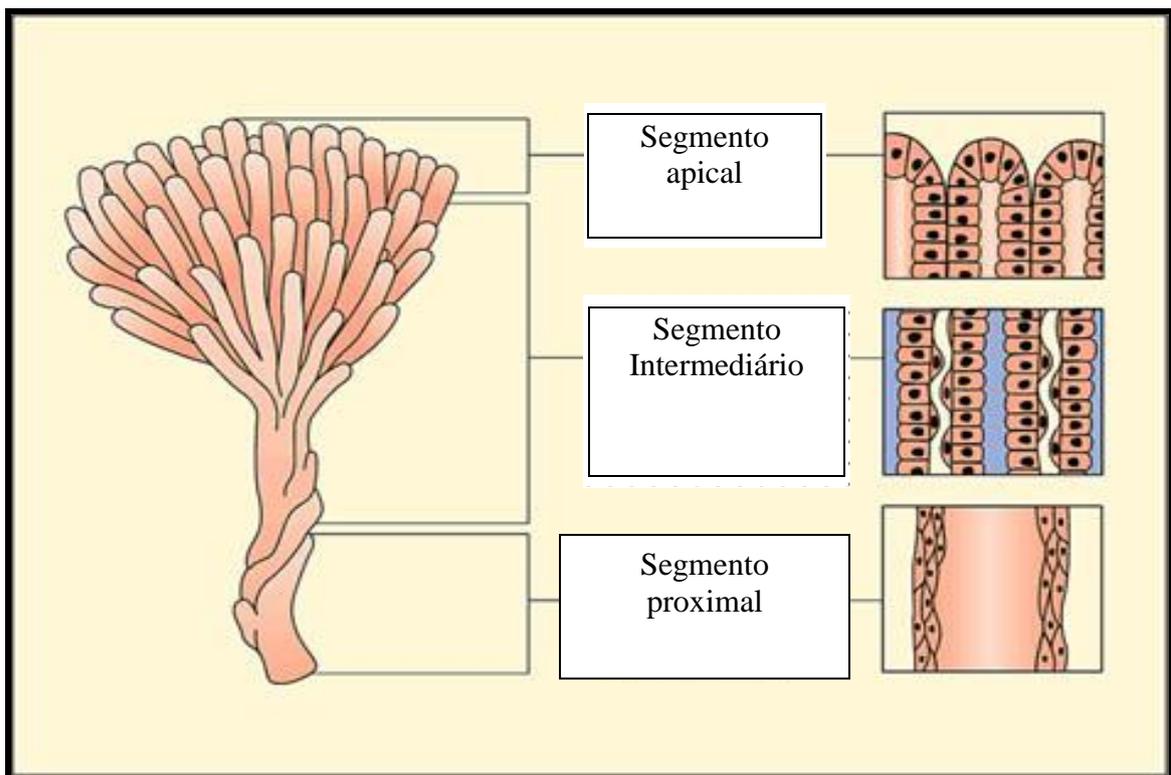


FIGURA 4- Estrutura morfofuncional dos dutos prostáticos. Retirado e modificado de Kirby RS. *Molecular mechanisms underlying prostate*. In: *Prostate Diseases on CD-Rom*. New York: The Parthenon Publishing Group LTD; 2000. O segmento apical (epitélio colunar) caracteriza por proliferação ativa, o segmento intermediário (epitélio colunar) é responsável pela atividade secretória da glândula e o segmento proximal (epitélio cubóide) localizado junto à luz da uretra destaca-se por apresentar constante processo de apoptose.

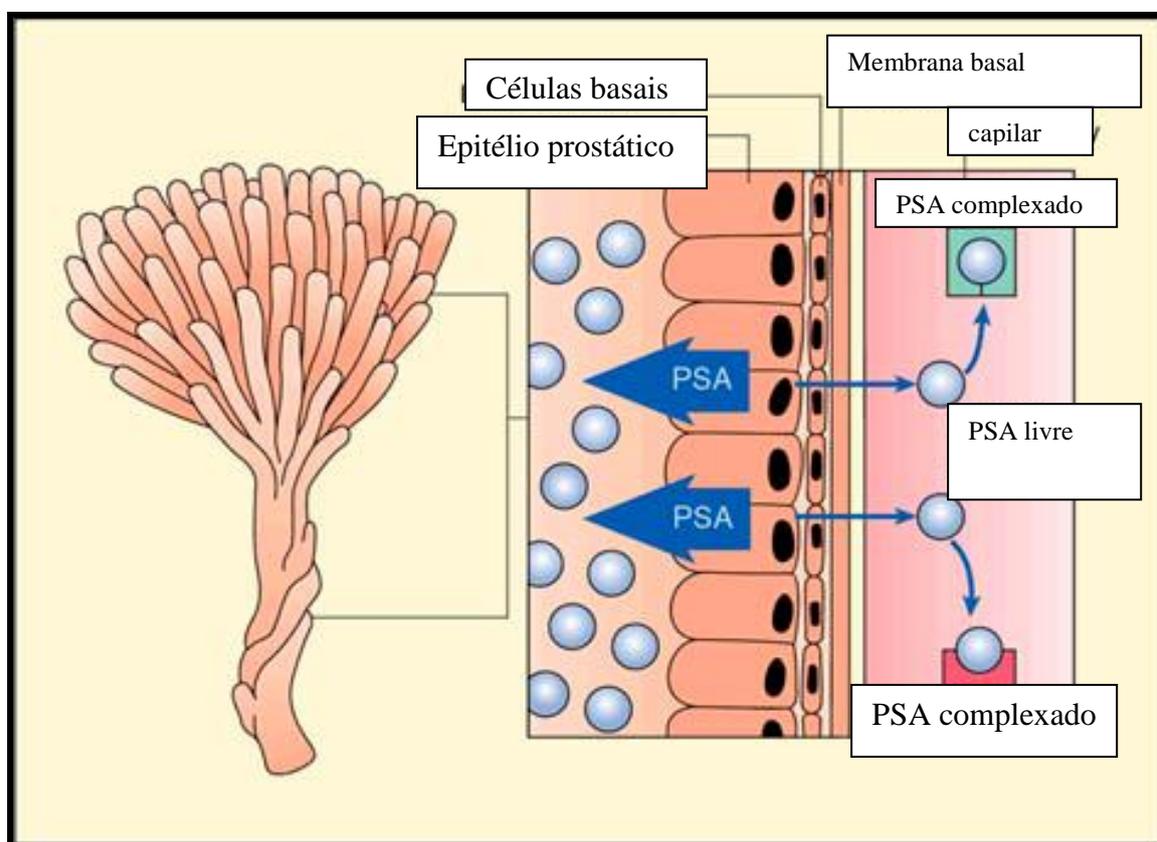


FIGURA 5- Estrutura morfofuncional dos dutos prostáticos (PSA). Retirado e modificado de Kirby RS. *Molecular mechanisms underlying prostate*. In: *Prostate Diseases on CD-Rom*. New York: The Parthenon Publishing Group LTD; 2000.

Eleva-se no sangue por diferentes afecções e agressões à próstata⁵¹, e tem-se mostrado de grande ajuda na detecção precoce do câncer dessa glândula. O PSA possibilitou fazer maior diagnóstico de câncer de próstata e promoveu a queda da taxa de mortalidade por essa neoplasia. É sensível para as doenças da próstata, mas não é específico⁵¹.

Em humanos, consiste em uma enzima do grupo das serinoproteases, parecida com a calicreína, com peso molecular entre 30KDa a 34KDa. É constituído por uma cadeia glicoprotéica única, contendo 237 aminoácidos e quatro cadeias laterais de carbono⁵².

Graças à titulação do *PSA* no sangue, pode-se diagnosticar, na maioria das vezes, precocemente, o câncer de próstata em estágio inicial, confinado à glândula e beneficiar inúmeros doentes⁵³.

A introdução do *PSA*, em 1986, nos Estados Unidos, revolucionou o tratamento de pacientes com câncer de próstata⁴⁶. Em menos de dez anos, tornou-se um dos principais testes oncológicos, sendo, atualmente, mais eficaz para o diagnóstico, estadiamento e controle do câncer de próstata⁵³.

Foi identificado por Hara *et al.* no líquido seminal contido no cérvix uterino, em 1971, no Japão, quando estudavam um marcador que poderia melhorar as evidências médico-legais do estupro⁵⁴. Hara, deu-lhe o nome de gama-seminoproteína.

Essa proteína foi posteriormente isolada e purificada por Li e Beling⁵⁵. Em 1978, Sensabaugh⁵⁶ designou-o como p“30”, porque tinha um peso molecular aproximadamente de 30KDa. Graves *et al.*⁵⁷ aplicou o p“30” clinicamente como marcador para identificar vítimas de estupro. Foi usado na Itália, inicialmente em medicina forense, como principal marcador para identificar vítimas de abuso sexual⁵⁷.

Em 1979, Wang *et al.*, no *Roswell Park Memorial Institute* (Buffalo, Nova York), isolaram no tecido prostático uma proteína referida como *Prostate Specific*⁵⁸, que, em trabalhos subsequentes, se revelou idêntica à gama-seminoproteína do líquido seminal descrita por Hara *et al.*⁵⁴.

Posteriormente, em 1980, no mesmo laboratório, Lawrence D. Papsidero *et al.* encontrou o *PSA* aumentado no sangue de pacientes portadores de câncer de próstata e desenvolveram testes sorológicos para sua dosagem no soro humano⁵⁹.

Começou a ser usado em clínica como marcador de câncer de próstata em 1986, nos Estados Unidos, quando foi aprovado pelo *FDA* para detecção precoce do câncer de próstata.

Pensava-se que esse antígeno era originário somente da próstata, sendo, portanto, ausente nas mulheres. No entanto, com métodos altamente sensíveis, o *PSA* foi detectado no genótipo feminino⁶⁰ e em diversos tecidos, como mamas, ovários, endométrio e até mesmo, nos líquidos biológicos, como no líquido amniótico, leite, saliva, sangue, urina⁶¹.

Foi também isolado em glândulas perianais, glândulas periuretrais, colo intestinal, reto, neoplasias malignas cutâneas, tumores de glândula salivares, rins, ovários, pulmões, leucemia mieloide, linfoma não Hodgkin, entre outros^{61, 62}.

A primeira descrição do *PSA* no genótipo feminino foi relacionada ao equivalente embrionário da próstata na mulher, ou seja, as glândulas de Skène⁶³. Isso é explicado, porque na fase não diferenciada do desenvolvimento genital, cada segmento do seio urogenital primitivo tem um destino diferente, dependendo do genótipo⁶³.

A correspondência observada entre os órgãos masculinos e femininos que derivaram do mesmo segmento desse seio pode ser estendida para as glândulas anexas⁶³.

Em razão de se originarem do segmento uretral, as glândulas periuretrais supramontanais que formam a próstata e as periuretrais femininas-*prostate femelée* de Testut-Latarjet, podem ser consideradas correspondentes⁶³.

Esse fato permite supor que o antígeno não seria específico da próstata e sim das matrizes das glândulas que se posicionaram ao nível do segmento uretral do seio urogenital primitivo⁶³.

No *hMa* o desenvolvimento das glândulas sexuais anexas pode ser dividido em dois grupos. A saber: a)- Complexo prostático, que compreende as glândulas coaguladoras, próstata ventral e dorsal que são derivadas do seio urogenital. b)-As vesículas seminais e glândulas ampulares que são derivadas do ducto de Wolff⁶⁴.

No ano de 2007, iniciaram-se novos estudos com novos marcadores para detecção do câncer de próstata com maior sensibilidade e especificidade que o *PSA*, dentre eles, encontra-se o *EPCA-2 e 3*^{65,66}. À luz dos conhecimentos atuais o *PSA* ainda é o melhor marcador existente para diagnosticar e monitorar o câncer de próstata.

3.3- *Argyrophilic Nuclear Organizer Regions (AgNORs)*

Argyrophilic Nuclear Organizer Regions que no idioma português significa Regiões Argirofílicas Organizadoras do Nucléolo, são regiões constituídas de fragmentos de cromossomos em torno dos quais se formam os nucléolos no final da mitose e que possuem reatividade com a prata.

Foi descrita primeiramente por Heintz em 1931 e por McClintock em 1934 e Derenzini em 2000, como sendo as regiões marcadas de cromatina em torno da qual, no fim da telófase, o nucléolo é reformado após seu desaparecimento durante a fase mitótica da célula⁶⁷. Essas regiões correspondem aos constituintes secundários de cromossomos da metáfase. Portanto, as regiões organizadoras do nucléolo (*NORs*) são fitas de *DNA*, presentes no núcleo da célula e que possuem genes de ARN ribossômico⁶⁸.

As *NORs* podem ser facilmente identificadas em microscópio óptico de luz mediante a impregnação por prata coloidal. Ploton *et al.* (1986) descreveram uma técnica modificada para a demonstração das *NORs* que foi aplicada em histologia⁶⁹.

Tal modificação permitiu que essas regiões fossem vistas em cortes de tecidos fixados em formalina tanto em células em metáfase como em interfase. Essa técnica ficou conhecida como *AgNORs*, onde é possível ver *NORs*, na microscopia de luz, como estruturas redondas intranucleares de cor marrom-café⁷⁰. As estruturas coradas pela prata são chamadas proteínas *AgNORs*⁶⁹ e representam regiões do núcleo celular de ativa transcrição.

Estudo tem sugerido que as *AgNORs* estejam associadas principalmente à proliferação celular⁷¹. A quantidade de proteínas *AgNORs* está relacionada com a rapidez dessa proliferação⁷².

3.4- APOPTOSE

Apoptose ou morte celular programada é um tipo de autodestruição celular que requer energia e síntese protéica para sua execução⁷³. Tem como estímulos centrais uma família de proteases chamada *caspases*, que são mediadores-chave do processo de apoptose⁷³.

Essas enzimas participam de uma cascata de eventos, que é disparada em resposta a sinais proapoptóticos e levam à clivagem de várias proteínas, resultando no desmantelamento celular⁷⁴. Em 1972, a expressão apoptose (do grego, *αποπτωσις*), foi adotada pela primeira vez por Kerr *et al.*⁷⁵ a partir de observações em timócitos e em células do carcinoma de células basais da epiderme.

Em tecidos normais, a apoptose regula as populações celulares, uma vez que várias células, continuamente, morrem para manter o equilíbrio com a proliferação celular⁷⁶. É um mecanismo geneticamente controlado e bem conservado na escala biológica⁷⁶ responsável pela renovação celular (*turnover*).

Dependendo das alterações exibidas pelas células quando elas morrem, foram descritos dois mecanismos de destruição celular: a apoptose e a necrose⁷⁷. A apoptose é caracterizada pela retração celular, fragmentação citoplasmática e nuclear, como também, compactação da cromatina. Faz parte da homeóstase. A necrose é consequência de uma agressão celular ou uma resposta às mudanças extremas das condições fisiológicas, não fazendo parte da estabilidade do meio interno do organismo, podendo lesar extensamente o tecido^{73,78} induzindo a reação inflamatória.

Ao contrário da necrose, a apoptose não é um acontecimento patológico na vida de uma célula, mas sim, um mecanismo benéfico, através do qual a célula elimina a si mesma para prevenir doenças, ou para permitir o equilíbrio normal das condições fisiológicas⁷⁸. É um processo necessário à vida que ocorre todo o tempo nos organismos, de forma ativa e fisiológica.

As células, em resposta a estímulos externos ou inerentes às mesmas, perdem a aderência ao tecido adjacente. Formam-se bolhas citoplasmáticas e a cromatina nuclear condensa e fragmenta-se de forma regular, sendo envolta pela membrana nuclear⁷⁶.

A célula desidrata-se e divide-se em segmentos chamados corpos apoptóticos que também são envolvidos pela membrana celular⁷⁶.

Todo o processo é mediado por vias intracelulares complexas, exigindo a produção de proteínas a partir do material gênico. Os corpos apoptóticos são fagocitados por macrófagos adjacentes sem sinais de inflamação local^{76, 77, 78}, (Fig. 6).

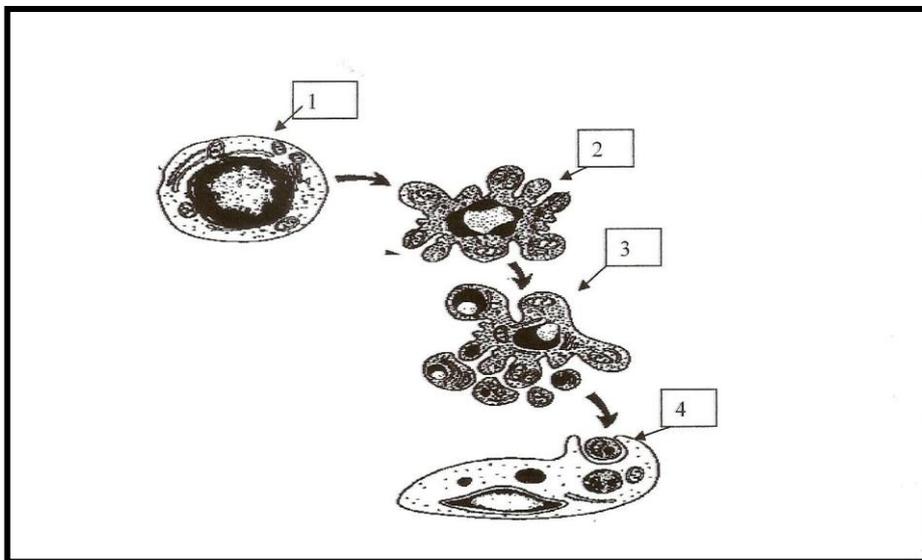


FIGURA 6- Sequências de eventos que ocorrem na apoptose: seta 1- Compactação da cromatina, fragmentação do *DNA*, condensação do citosol e organelas. Setas 2 - Fragmentação do núcleo que se reparte no citoplasma, e na superfície da membrana celular aparecem protrusões, cada uma das quais formada por um setor do citoplasma. Setas 3 - Formação das vesículas apoptóticas. Setas 4- Vesículas apoptóticas são fagocitadas por macrófagos e outras células vizinhas. Retirado e modificada de De Robertis (Jr); Hib-Ponzio. *Biologia Celular e Molecular*. São Paulo: Guanabara Koogan; 2003. p. 383.

A apoptose é um processo rápido, que se completa em aproximadamente três horas e não é sincronizado por todo o órgão, portanto, diferentes estágios de apoptose coexistem em diversas seções dos tecidos⁷³.

Pode ser induzida por uma variedade de estímulos: inanição, fatores de crescimento, *DNA* danificado, infecção viral, linfócitos citotóxicos (*CLT*), medicações anticâncer, irradiação ultravioleta, fatores mortais (uma família das citocinas), privação de fatores de sobrevivência e ligações de indutores químicos a determinados receptores de morte, presentes na superfície celular⁷³

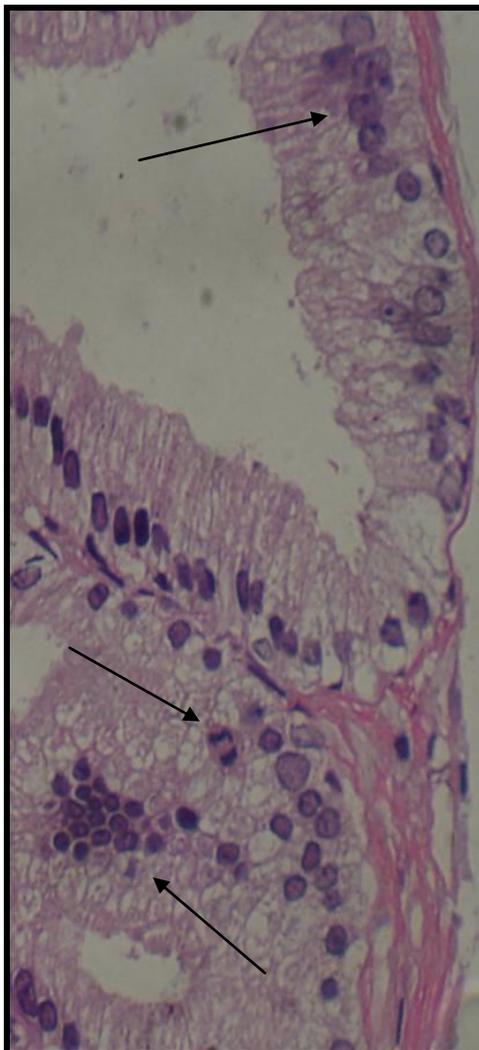


FIGURA 7- Fotomicrografia digital do epitélio acinar da próstata de um hMa adulto deste experimento. A seta do meio mostra um núcleo celular em processo de divisão. A seta abaixo mostra núcleos celulares retraídos com cromatina condensada, sugerindo apoptose. A seta acima mostra núcleo irregular em processo inicial de apoptose, observa-se condensação periférica da cromatina nuclear. (HE, objetiva de 40x). (Foto: Vasconcelos AC, 2006; ICB-UFMG).

Danos não reparáveis no *DNA*, por mutações ou infecções virais, aparentemente iniciam o processo de apoptose^{73, 79, 80}.

É importante salientar que muitos dos genes que fazem o controle da qualidade do ciclo chamado de genes-supressores-de-tumores, estão também envolvidos na iniciação do processo de apoptose, e que a inibição, por si só, do processo fisiológico da apoptose leva à sobrevivência prolongada das células, favorecendo o acúmulo de mutações e a transformação maligna. Assim, a apoptose representa um mecanismo de eliminação seletiva de células, cuja sobrevivência poderia prejudicar o bem-estar do organismo⁷⁸.

Como o processo apoptótico possui um importante significado biológico, disfunções nos mecanismos de controle do sistema (apoptose excessiva) participam da gênese de uma variedade de condições de doenças, tais como as imunodeficiências e as doenças degenerativas (doença de Alzheimer, mal de Parkinson, entre outras). Já a deficiência de apoptose está associada ao câncer e a infecções virais.

A indução de apoptose, seja através de mecanismos imunológicos, seja por outros mecanismos homeostáticos específicos, parece ser extremamente importante no processo de eliminação de células⁸¹. Estudo⁸² tem demonstrado que a homeostasia prostática no homem é controlada por fatores mitogênicos responsáveis (*GF*) pela proliferação celular (mitose) e por fatores inibidores que modulam a morte celular ativa (apoptose). Os dois processos, acima referidos, em equilíbrio levam à renovação (*turnover*) epitelial e são intermediados pelas células do estroma prostático e controlados indiretamente pela DHT⁸³. A morte celular programada, quando balanceada com a proliferação celular, contribui com a homeostasia na regulação fisiológica dos tecidos⁷⁵. O envelhecimento altera o desempenho da apoptose⁷⁴.

3.5- hamster - *Mesocricetus auratus* (hMa)

O hMa é um hamster da classe dos roedores da família *Cricetidae*^{84,85,86}. O nome hamster, origina-se da palavra alemã *hamstern*, que significa esconder, ajuntar, amontoar. Nome que lhe foi dado, devido ao fato de os hamsteres terem o hábito de encherem de alimento suas bolsas situadas na região jugal⁸⁴. Originam-se da Síria e vivem de 18 a 24 meses⁸⁷.

A Tabela 1 mostra as principais características gerais do *hMa*:

TABELA 1: Características Gerais do *hMa*.

Temperatura ambiente	Umidade	Luz
Ideal 21° Celsius (°C)	45%-55%	10-12 horas/dia
Batimentos cardíacos	Frequência respiratória	Temperatura corporal
Minuto: 450(300-600)	Minuto: 74(33-127)	38 °C
Peso adulto (macho)	Peso adulto (fêmea)	Peso ao nascer
Média: 85-110g	Média: (95-120g)	Média: 2g
Maturidade sexual (fêmea)	Maturidade sexual (macho)	Ciclo estral
6-8 semanas	6-8 semanas	4 dias, um cio pós parto
Cobertura pós-parto	Vida reprodutiva	Vida reprodutiva
4 dias	Fêmea: 1 ano	Macho: permanente
	Tempo de gestação 16 (+/-1) dias	(Alguns autores: 1 ano)
Consumo diário de água	Consumo diário de alimento	Início do consumo de alimentos
<i>Ad libitum</i>	Macho adulto= 8-12g	7-9 dias
	Fêmea grávida=10-15g	
	Fêmea em gestação= 10-15g	
	Jovens em crescimento= 8-18g	
Classe	Gênero	Espécie
Roedor	<i>Mesocricetus</i>	Auratus

Dados retirados de Barrie A. Hamsters. Lisboa, Portugal: Editorial Presença; Original Inglês; 1993. p. 8, 9, 38, 71 ; Sanchis FS; Silbiger HLN. Purina Manual de Laboratório para Biotério. [s.d]. p.11 .

4- MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo não teve financiamento e nem conflito de interesse. Os gastos envolvidos na sua realização restringiram-se a cuidados e alimentação dos animais em estudo e medicação (finasterida) usada no grupo-finasterida, como também, a realização da dosagem do *PSA*-sérico, material para laparotomia dos animais (luvas, seringas, agulhas, anestésicos, material cirúrgico descartável), maravalhas próprias para hamsteres, fixadores (hematoxilina e eosina), lâminas e lamínulas. Todo o experimento relacionado aos cuidados com os animais, aplicação do medicamento, colheita do sangue para análise do *PSA* e laparotomia foi feito nas dependências do biotério do Instituto de Biociências, *Campus Magnus*, da Universidade *Presidente Antônio Carlos* (UNIPAC), em Barbacena. A preparação das lâminas para estudo em microscopia óptica de luz foi realizada nas dependências do laboratório de histologia da Faculdade de Medicina de Barbacena (FAME-FUNJOB). O estudo morfométrico foi realizado no laboratório de morfometria e apoptose do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG).

4.1-DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram estudados 20 *hMa* adultos selecionados casualmente entre os disponíveis no biotério, com idade superior a um ano, distribuídos em dois grupos: grupo-controle com dez animais (n=10) e grupo-finasterida com dez animais (n=10).

Os hamsteres foram adquiridos no biotério do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade *Presidente Antônio Carlos* (UNIPAC), Barbacena, Minas Gerais, Brasil.

Os animais ficaram alojados em gaiolas de plástico com 40cmx60cmx20cm (dois animais por unidade) forradas com maravalhas próprias para instalações dos *hMa*. Alimentação *ad libitum*: ração preparada para hamsteres, semente de girassol, amendoim e milho. Foi oferecida aos animais, água potável em bebedouros de sucção. Esses ficaram expostos à luz indireta das 6h às 18h e a escuridão por doze horas, à temperatura de 21^oC.

O grupo-finasterida recebeu por via subcutânea, no dorso do animal (Fig. 8) 0,5mL de solução injetável contendo 7,14ng de solução de finasterida, preparada na concentração de 14,28ng/mL pelo laboratório da Citopharma Manipulação de Medicamentos Especiais Ltda. Rua Padre Rolim, nº 531 - Santa Efigênia, Belo Horizonte, MG.



FIGURA 8- Fotografia digital mostrando a aplicação da finasterida subcutâneo no dorso de um dos hMa deste experimento (Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Presidente Antônio Carlos (Inbio-Unipac). (Foto do autor).

4.2-TÉCNICA DE PREPARAÇÃO DA FINASTERIDA

Inicialmente preparou-se uma solução-mãe, solubilizando-se previamente em q.s.p. de álcool etílico, **7,14mg** de finasterida e complementando-se com água destilada para 500 mL. Obteve-se, então, uma solução final de **0,01428mg/mL**. Tomou-se **0,5mL** desta solução, ou seja, **0,00714mg** de finasterida, que foi transferida para um balão volumétrico e completado para **500mL** de água destilada. Finalizando uma solução de **0,00001428mg/mL** ou ainda, **0,01428mcg/mL**, ou seja, **14,28ng/mL**. Já que as

ampolas foram envasadas com **volume de 0,5mL** temos então: **1mL= 14,28ng, 0,5 mL=7,14ng.**

O medicamento foi administrado ao grupo-finasterida três vezes por semana, durante 90 dias. Os animais que fizeram uso da finasterida, a dose administrada do medicamento foi manipulada para corresponder a um tratamento de HP em um homem com estimativa de 70Kg, utilizando-se 5mcg. Portanto, o experimento foi realizado testando-se uma concentração mil vezes menor, ou seja, um tratamento em microdose. A dose usual recomendada é de 5mg uma vez ao dia no homem.

Após decorrer os 90 dias de uso da finasterida três vezes por semana, os *hMa* em estudo (grupo-controle e grupo-finasterida) foram anestesiados com cloridrato de cetamina, para uso veterinário na dosagem de 200mg/kg e diazepam na dosagem de 2,5mg/kg, pela via intraperitoneal, em seringas diferentes (Fig. 9). Após serem anestesiados, foram mortos por hipovolemia (ex-sanguinação), puncionando a veia cava em abdome superior, no momento em que foi colhido sangue para dosagem do Antígeno Prostático Específico - *PSA* total, (Fig. 10).



FIGURA 9- Fotografia digital do *hMa* anestesiado com cloridrato de cetamina na dosagem de 200mg/kg e diazepam na dosagem de 2,5mg/kg. (Foto do autor).



FIGURA 10- Fotografia digital mostrando a colheita de sangue para dosagem do *PSA* sérico. (Foto do autor).

O sangue foi colocado em tubo de vidro liso, sem aditivos ou anticoagulantes, como recomendado pelo fabricante do reagente (fabricado por BTI - Bio Tecnologia Industrial Ltda., Lote 06141).

Dosou-se o *PSA* sérico total pela técnica *ELISA*. O teste *ELISA* utilizado neste trabalho tem sensibilidade para o *PSA* a partir de 0,01ng/mL.

Por laparotomia, as próstatas foram retiradas em monobloco juntamente com todo aparelho geniturinário (Fig. 11, 12). Foram dissecadas, fixadas em formalina neutra tamponada a 10% e processadas para histologia. Foi usado como corante a hematoxilina e eosina (HE).

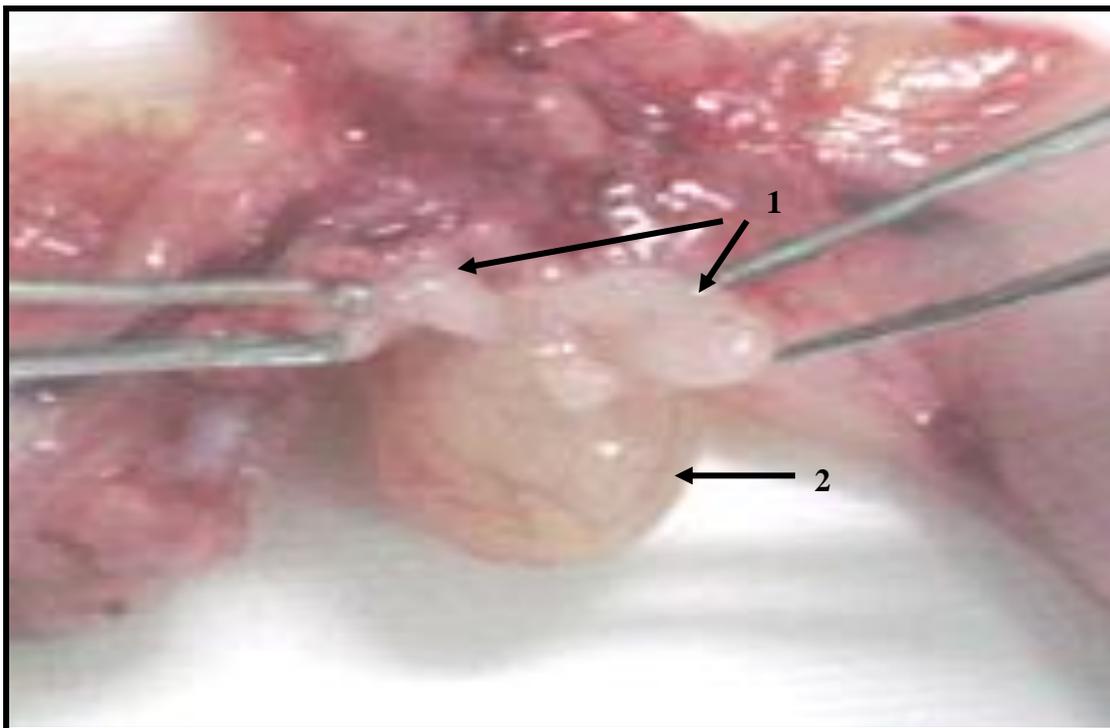


FIGURA 11- Fotografia digital dos lobos dorsais da próstata (seta 1) de um *hMa* adulto. A próstata encontra-se sobre a bexiga (seta 2) e esta apreendida pelas pinças. (Foto do autor).

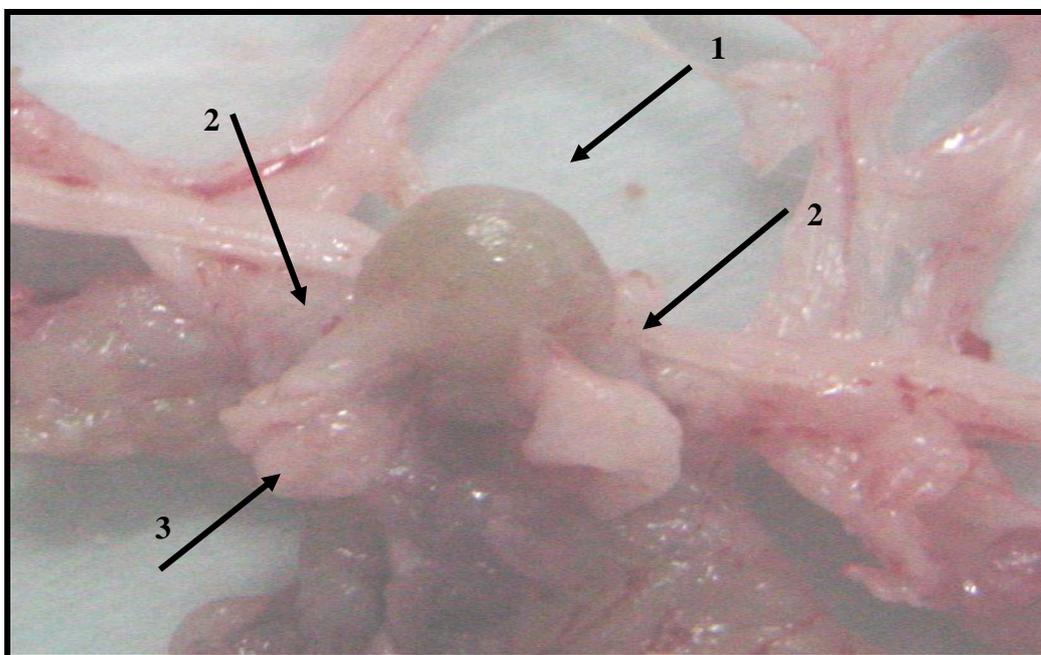


FIGURA 12- Fotografia digital da próstata de um *hMa*. A seta 1 identifica a bexiga, as setas 2 os lobos ventrais e a seta 3 mostra parte dos lobos dorsais da próstata. (Foto do autor).

As próstatas (ventrais e dorsais) foram escolhidas para estudo ao acaso. Foram submetidas primeiramente a estudo histológico em microscópio óptico de luz no laboratório de Histologia da Faculdade de Medicina de Barbacena (FAME- FUNJOB) e em seguida a estudo morfométrico no Laboratório de Apoptose, departamento de Patologia Geral (ICB-UFMG).

4.3- PARÂMETROS E ESTRATÉGIA MORFOMÉTRICA

De cada uma das lâminas estudadas, analisou-se a área média dos ácinos, a área média do epitélio acinar, o número de células (celularidade) dos ácinos, a expressão das *AgNORs* como marcador de ativação e proliferação celular e, por fim, a identificação *in situ* da fragmentação do genoma como marcador de apoptose (reação de TUNEL).

A técnica de *TUNEL* combina princípios histoquímicos e imuno-histoquímicos para identificar o *DNA* fragmentado de células apoptóticas *in situ*. Tal técnica é aplicada a secções de parafina em cortes histológicos de 4mm de espessura.

As etapas do método empregado são descritas a seguir: desparafinação dos cortes em solução xilol (2 banhos de 5 minutos); lavagem em álcool absoluto (2 banhos de 5 minutos); lavagem em álcool a 95% e a 70% (1 banho por 3 minutos); lavagem em PBS (5 minutos); incubação em solução de proteínas k (20µg/ml) por 15 minutos à temperatura ambiente; lavagem em água destilada (4 banhos de 2 minutos). incubação em peróxido de hidrogênio a 2%, diluído em PBS (5 minutos); Lavagem em PBS (2 banhos de 5 minutos); incubação em solução tampão de equilíbrio *ApopTag Plus* utilizando lamínula de plástico (1 minuto); incubação em enzima TdT à 37°, em câmara úmida (1 hora); incubação em solução tampão *Stop/Wash apopTag Plus* a temperatura ambiente (10 minutos); incubação com Anti-Digoxigenina-Peroxidase em câmara úmida à temperatura ambiente (30 minutos); lavagem em PBS (4 banhos de 5 minutos); Incubação com DAB (Diamino Benzidina). à temperatura ambiente (5 minutos); contra coloração com hematoxilina de Harris (5 minutos); lavagem em água destilada (3 banhos por 30 segundos); lavagem em butanol 100% (3 banhos de 30 segundos). A quantificação da apoptose foi expressa em porcentagem de células

apoptóticas presentes em campos microscópicos obtidas com objetivas de maior aumento (40x), sem imersão.

A presença da apoptose pela reação de *TUNEL* foi avaliada por microscopia óptica. Foi considerada a marcação nuclear específica a de coloração marrom revelada pela DAB.

Em cada campo microscópico estudado, a abordagem morfométrica utilizada referiu-se à porcentagem de células quantificadas (conforme o tipo celular ou a marcação) em relação às células totais. Além disso, em cada campo microscópico quantificou-se a área do ácino e do epitélio acinar, obtendo-se também a área média desses. A quantificação do número de células dos ácinos, área dos ácinos, área do epitélio acinar, *AgNORs* e *TUNEL*, de cada campo, foi feita a partir de imagens digitalizadas obtidas de amostras dos campos histológicos, em microscópio de luz, com objetiva planocromática de 40 vezes.

A medida da espessura do epitélio foi feita subtraindo a medida total do ácino pela medida do lúmen acinar (Fig. 13).

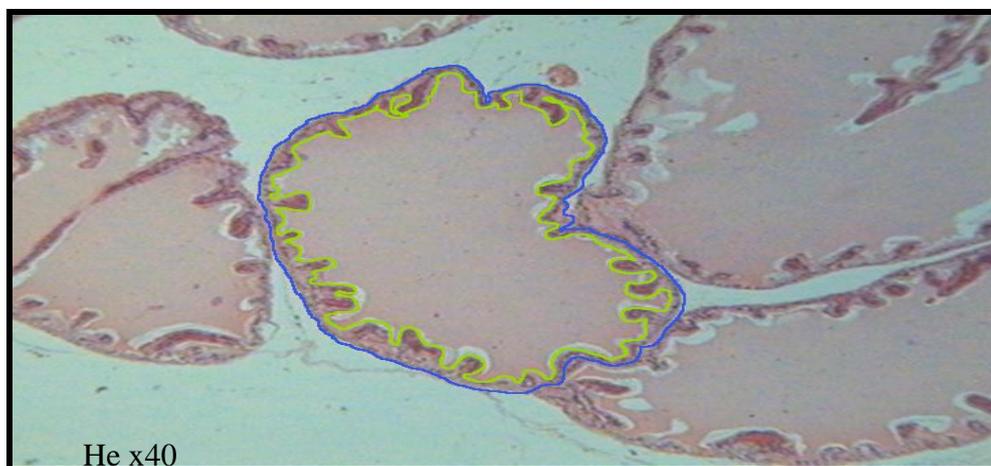


FIGURA 13- Fotomicrografia digital de um hMa deste experimento, mostrando a demarcação do lúmen do ácino em verde e do ácino total em azul. A espessura do epitélio acinar encontrada correspondeu à subtração da medida total do ácino pela medida do lúmen acinar (Foto: Santana NG. dez; 2008. ICB- UFMG).

Os parâmetros morfométricos foram quantificados em imagens digitalizadas em microcâmara *JVC, TK-1270/JGB* e transferidas para os analisadores de imagens

Kontron Electronics, Carl Zeiss - KS300 versão 2.0⁸⁸ e *Media Cybernetics Image Pro Plus* versão 4.5.0.29.

O número de células dos ácinos estudados e os núcleos obtidos na reação de *TUNEL* foram contados manualmente.

O *PSA* foi medido em nanogramas por mililitro (ng/mL), a área dos ácinos e epitélio acinar em micrômetros ao quadrado (μm^2) e a *AgNORs* em número de grumos (*clusters*) argirófilos encontrados em núcleos acinares por μm^2 .

Foram avaliados 500 núcleos acinares para a contagem de grumos argirófilos para cada lâmina examinada. Cada animal teve uma lâmina examinada e a quantidade de grumos argirófilos encontrados por lâmina representou a expressão de *AgNORs* para o animal.

O Protocolo de *AgNORs* de maneira a permitir o estudo de sua quantificação a partir da microscopia óptica e análise digitalizada de imagens é descrito a seguir.

Desparafinização dos cortes em xilol I por 5 minutos, xilol II por 5 minutos e xilol III por 10 minutos; reidratação dos cortes em álcool absoluto por 10 minutos, álcool à 70% por 5 minutos, álcool à 50% por 5 minutos, e água deionizada por 10 minutos; coloração dos cortes com a mistura da solução aquosa de nitrato de prata à 50% com a solução de ácido fórmico à 1% contendo 2% de gelatina incolor dissolvida, na proporção de 2:1, no momento da incubação dos cortes; incubação em câmara úmida e escura em estufa a 37⁰C por 30 minutos; lavagem em água deionizada por 15 minutos; desidratação em álcool à 70% por 3 minutos, álcool absoluto por 3 minutos; passagem em xilol I por 2 minutos e xilol II por 2 minutos, seguidos da montagem das lâminas em bálsamo do Canadá⁸⁹.

Após tais procedimentos, foi iniciada a análise estatística dos dados encontrados.

4.4-TRATAMENTO ESTATÍSTICO

A análise dos dados foi efetuada em computador do tipo *PC*, utilizando-se os programas “Stata 9.2” (licenciado para FAME-FUNJOB) e também o *GraphPad Prism* versão 3.0 (licenciado para o ICB-UFMG).

Foram construídas as distribuições de frequências e calculadas os valores das médias, medianas, desvios padrão (dp) e as proporções relativas às variáveis do estudo: *PSA* sérico, área dos ácinos, área média do epitélio acinar, *AgNORs*, apoptose e a celularidade exibidas pelo grupo-controle e grupo-finasterida.

Os grupos foram comparados em tabelas de contingência tipo *RxC*, para análise de frequências, e em tabela de ANOVA, para efeito de médias.

O significado estatístico das diferenças entre as proporções foi aferido pelo teste exato de Fisher (para as duas extremidades de distribuição) e pelo teste “t” de Student, na comparação das médias.

Quando as variâncias das médias comparadas não eram semelhantes ($p < 0,05$) no teste de Bartlett, o significado das diferenças entre os grupos foi aferido pelo teste de Kruskal-Wallis (H)⁹⁰, ou Mann-Whitney, no qual se juntou os resultados repetidos, também conhecidos como *with ties* e pelo teste de Wilcoxon,

A variável *PSA* foi aferida pelo teste de Kruskal-Wallis (H) e a *AgNORs* pelo teste de Mann-Whitney. As variáveis, apoptose e celularidade pelo teste de Wilcoxon.

O nível de significância estatística utilizado na análise foi de 5%.

5- RESULTADOS

A tabela 2 mostra a distribuição de frequências das variáveis idade, peso e *PSA* do grupo-controle e grupo-finasterida.

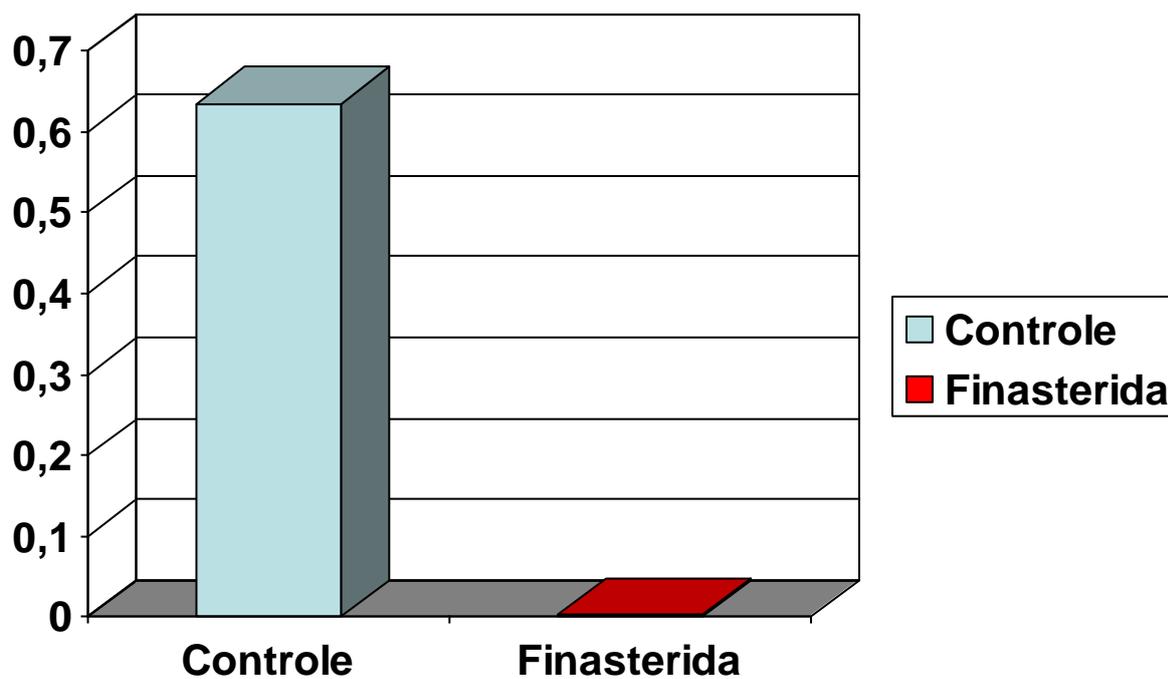
TABELA 2- Distribuição de frequências das variáveis idade, peso e *PSA* do grupo-controle versus grupo-finasterida.

Características Comparadas	Experimento		Controle		*F
	N	%	N	%	
Idade (meses)					
12 - 16	1	10,0	10	100,0	<0,001
17 - 18	9	90,0	0	0,0	
Peso (gramas)					
100 - 140	3	30,0	9	90,0	0,020
141 - 180	7	70,0	1	10,0	
PSA (ng/mL)					
0,00 - 0,01	10	100,0	3	30,0	0,003
0,02 - 2,10	0	0,0	7	70,0	

* Teste Exato de Fischer (Nota do autor).

Tanto o grupo-finasterida quanto o grupo-controle apresentaram idade superior a um ano. Quando foram mortos os *hMa* do grupo-finasterida apresentou idade média de $17,7 \pm 0,67$ meses e o grupo-controle apresentou idade média de $15,2 \pm 1,13$ meses. O valor de “t” na comparação das idades entre os dois grupos foi 5,98 e $p= 0,001$. A média de peso do grupo-finasterida foi de $145 \pm 15,27$ g e o grupo-controle apresentou média de peso de $129 \pm 18,82$ g. A comparação das médias entre os dois grupos, quanto ao peso, apresentou “t” = 2,08 e $p= 0,0514$.

O grupo-finasterida apresentou valor máximo de *PSA* de 0,01 ng/mL e mínimo de 0 ng/mL, mediana de 0,003, média de $0,003 \pm 0,0048$. O grupo-controle apresentou valor máximo de *PSA* de 2,1 ng/mL, valor mínimo de 0 ng/mL, mediana de 0,634 ng/mL e média de *PSA* de $0,634 \pm 0,763$ ng/mL. A comparação das médias de *PSA* do grupo-finasterida versus grupo-controle apresentou “t”= 2,61 e $p= 0,0176$, com p de Bartlett < 0,05. O valor do teste de Mann-Whitney ou do teste H para as duas amostras foi de 7,982 e $p= 0,0047$, (Gráfico 1).



$H= 7,982$ e $p=0,0047$

GRÁFICO 1- Resultado do *PSA*-sérico do grupo-controle *versus* grupo-finasterida.

Os Gráficos 2, 3, 4, 5 e 6 mostram, os achados da área dos ácinos e epitélio acinares, a expressão de *AgNORs* e o número de células marcadas na reação de TUNEL indicadoras de apoptose, como também, a celularidade acinar:

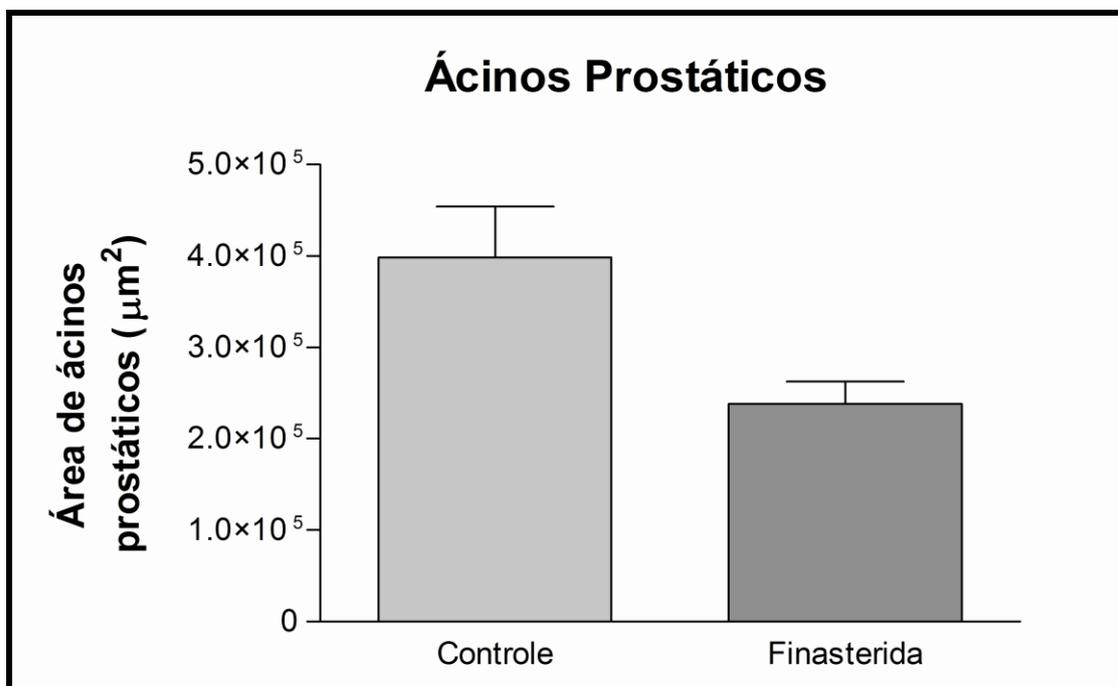


GRÁFICO 2- Valores da área média dos ácidos da próstata do *hMa* do grupo-controle *versus* grupo-finasterida.

Observa-se no Gráfico 2 redução da área dos ácidos nos animais que fizeram uso da finasterida. A comparação dos dois grupos apresentou “t”= 2,653; p= 0,0122. Os valores apresentados por eles são: média= 398,6± 55,32 x 10³ µm² para o grupo-controle e média de 238 ± 24,6 x 10³ µm² para o grupo-finasterida.

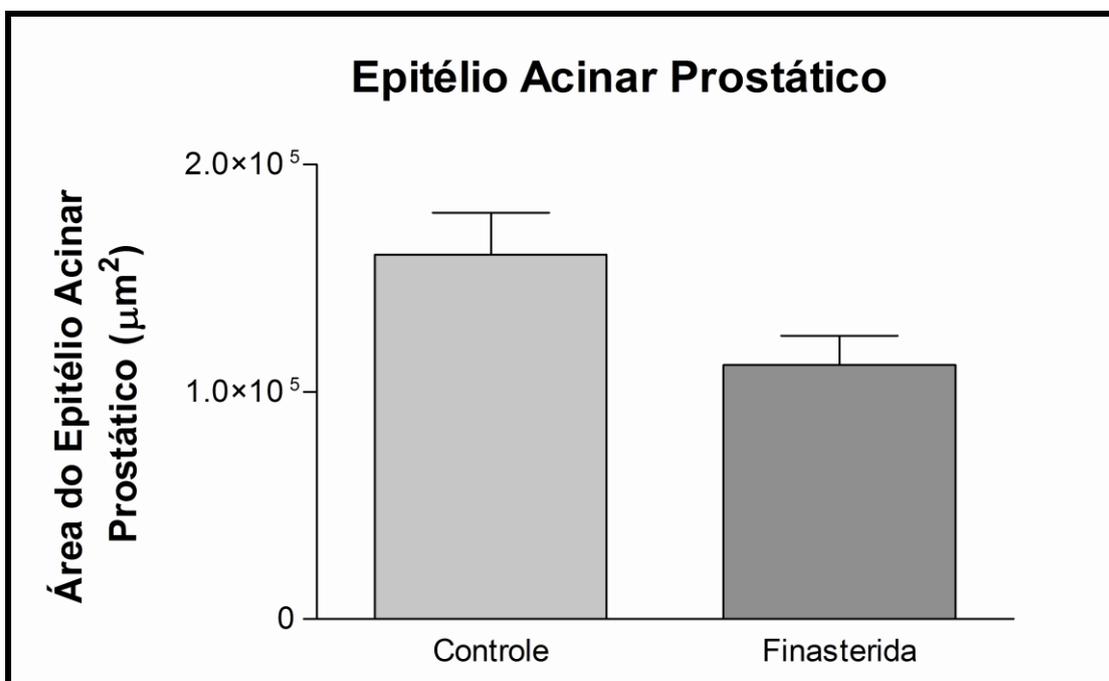


GRÁFICO 3- Valores da média do epitélio acinar da próstata do grupo-controle *versus* grupo-finasterida.

O Gráfico 3 mostra a área média do epitélio acinar dos animais-controle e dos animais que fizeram uso da finasterida. Observa-se, também, significativa redução da área do epitélio acinar nos animais que fizeram uso da finasterida. A comparação dos dois grupos apresentou “t”= 2,162; p= 0,0361. Os valores apresentados por eles são: média de $160,4 \pm 18,43 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ para o grupo-controle e média de $111,9 \pm 12,82 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ para os animais-finasterida.

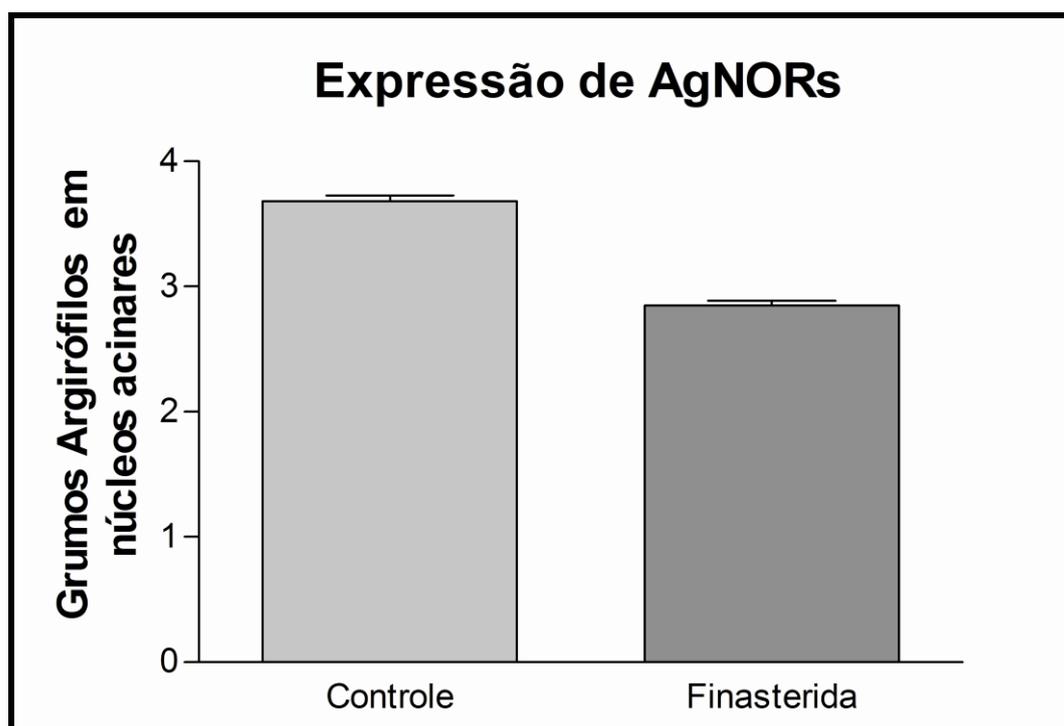


GRÁFICO 4- Valores da expressão de *AgNORs*, grupo-controle *versus* grupo-experimento.

O Gráfico 4 mostra a expressão de *AgNORs*. Os animais-controle apresentaram média de $3,68 \pm 1,07$ grupos de argirófilos/ μm^2 e mediana (MED)= 4 e os animais do grupo finasterida apresentaram média de $2,846 \pm 0,87$ grupos argirófilos/ μm^2 e MED= 3, a diferença entre as medianas pelo teste de Mann Whitney apresentou $p < 0,0001$.

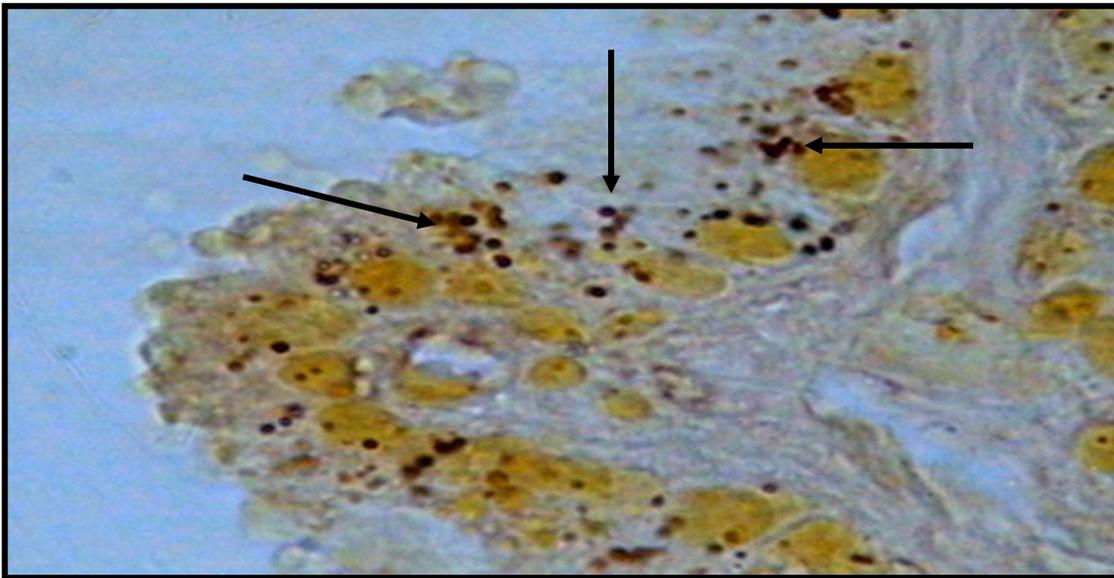


FIGURA 14- Fotomicrografia digital (técnica de *AgNORs*) do epitélio acinar da próstata de um *hMa* que não fez uso da finasterida. As setas mostram inúmeros grumos argirófilos (pontos de cor marrom). 40x. (Foto: Santana NG. Out; 2008. ICB-UFMG).

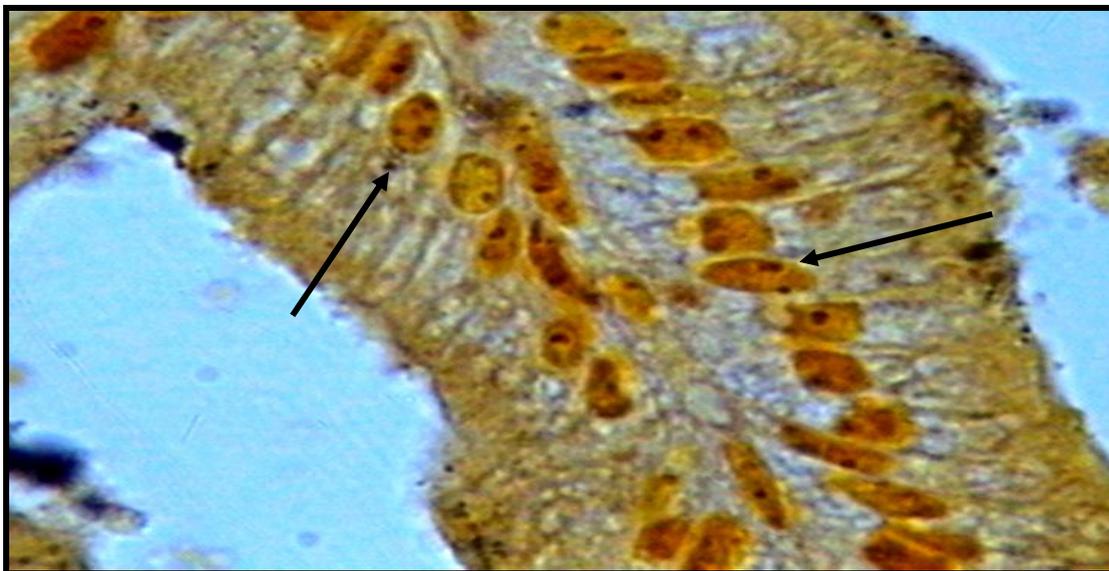


FIGURA 15- Fotomicrografia digital (técnica de *AgNORs*) do epitélio acinar da próstata de um *hMa* que fez uso da finasterida. As setas mostram os grumos argirófilos em menor proporção que a figura anterior. 40x. (Foto: Santana NG. Out; 2008. ICB-UFMG).

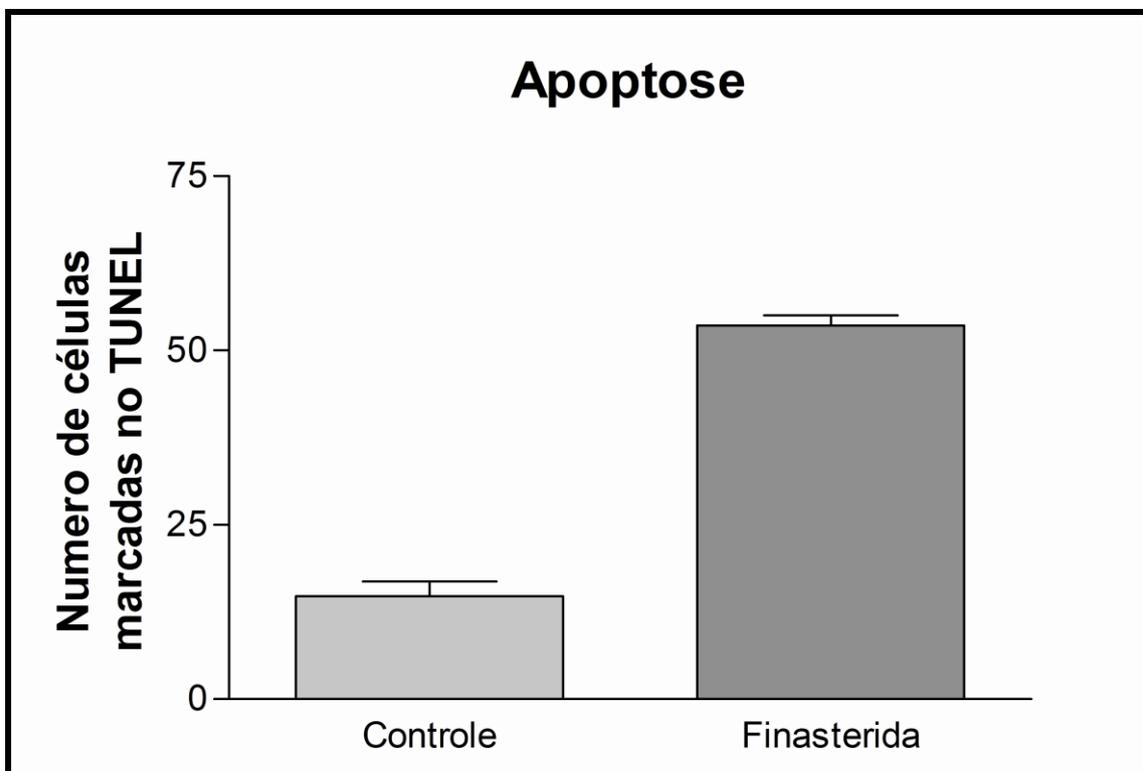


GRÁFICO 5- Resultado da apoptose do grupo-controle *versus* grupo-finasterida.

O Gráfico 5 mostra o resultado da apoptose entre o grupo-controle e o grupo-finasterida. O grupo-controle apresentou média de apoptose (número de células marcadas no TUNEL) de $14,76 \pm 2,137$, MED de 12,50, o grupo-finasterida apresentou média de apoptose de $53,62 \pm 1,389$ e MED de 54,34, $p = 0,0408$. A apoptose foi mais evidente nos animais que fizeram uso da finasterida.

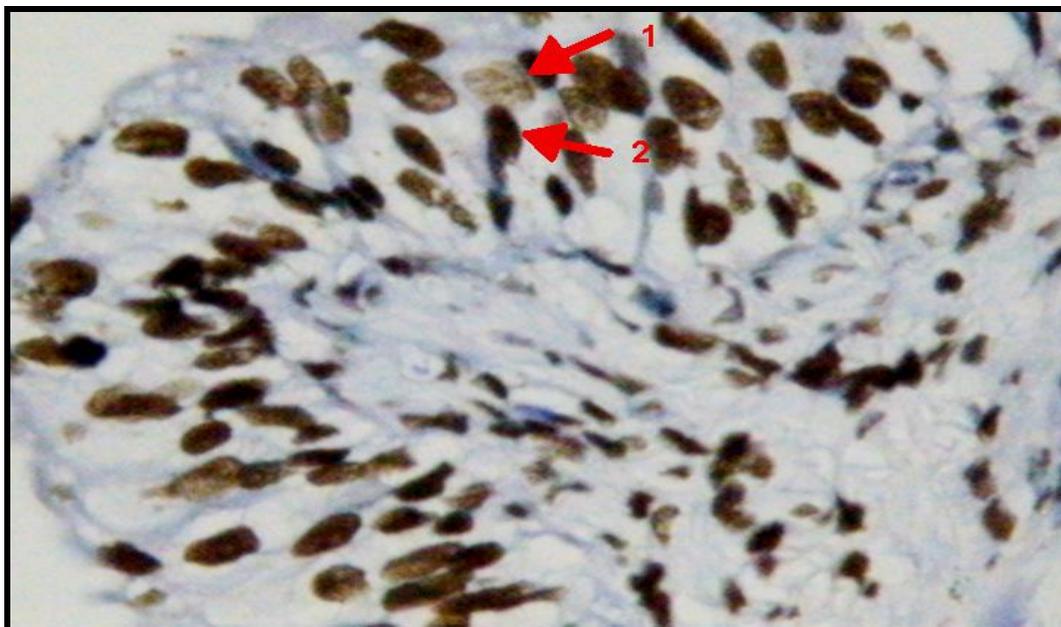


FIGURA 16- Fotomicrografia digital de um ácino da próstata de um hMa deste trabalho, que fez uso da finasterida, técnica de *TUNEL*. Objetiva de 40x. O núcleo indicado com a seta 1 é exemplo de núcleo normal e o núcleo indicado com a seta 2 é um núcleo em processo de apoptose. Observa-se intensa atividade apoptótica (Foto: Santana NG. dez; 2008. ICB- UFMG).

Não houve diferença quanto ao número de células entre os dois grupos de animais. O grupo-controle apresentou média de $74,75 \pm 5,5 \mu\text{m}^2$ e MED de 79,20. Já o grupo-finasterida apresentou média de $65,07 \pm 13,24 \mu\text{m}^2$ e MED de 49,6 e $p= 0,5105$. O Gráfico 6 mostra tal relação.

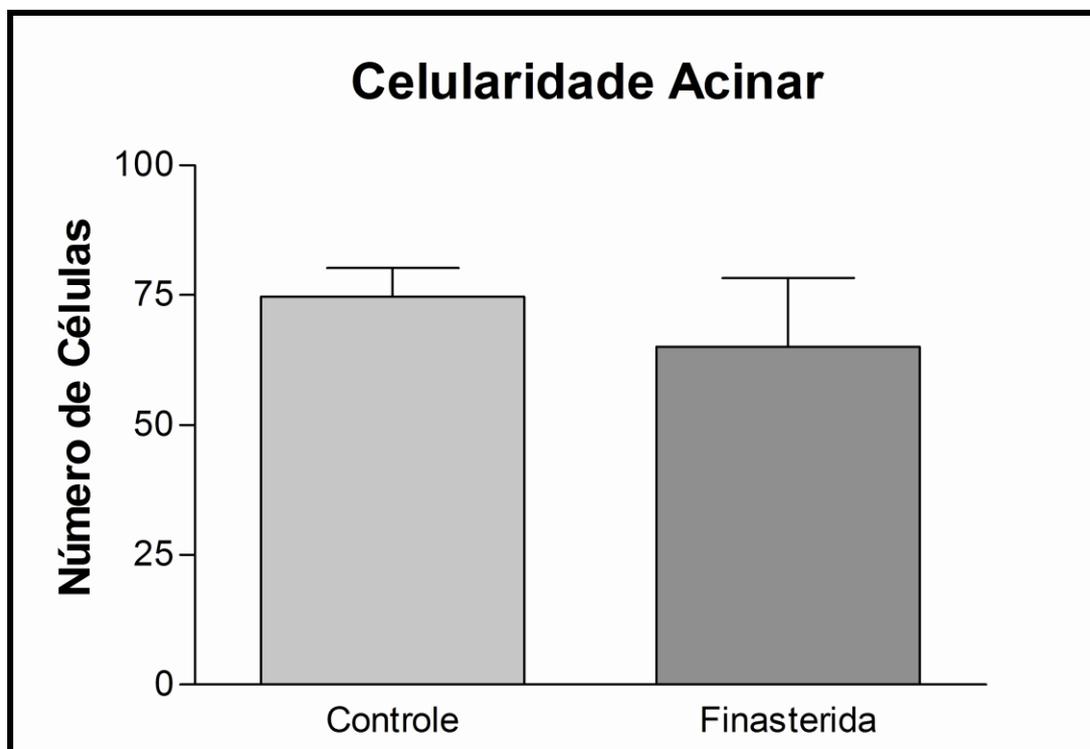


GRÁFICO 6- Resultado da contagem do número de células (celularidade) dos ácinos da próstata dos hMa do grupo-controle *versus* grupo-finasterida.

6- DISCUSSÃO

A idéia da realização desta Tese de Doutorado partiu da Dissertação de Mestrado do autor, quando já conhecia a próstata do *hMa*, animal usado neste experimento. Tornou-se possível estudar esse roedor, seus hábitos, alimentação e principalmente o seu aparelho urogenital^{91,92}. Viu-se nesse animal a oportunidade de se verificar e de se avaliar o efeito da finasterida na célula prostática. Com a linha de pesquisa sugerida, houve a identificação de um modelo experimental que possibilitou este estudo.

Como Urologista não se conseguia ver resultados do uso da finasterida nos pacientes portadores de HP sintomáticos, na clínica. Embora trabalhos populacionais mostrassem melhora clínica dos pacientes, o autor questionava a eficácia dessa medicação.

O mecanismo celular da ação desse fármaco na próstata ainda não é bem compreendido. Tem-se demonstrado a ação da finasterida em receptores androgênicos para 5 α R tipo 2 na próstata de homens^{36,93}. O presente estudo sugere que os receptores androgênicos da próstata do *hMa* também são do tipo 2 e que o *PSA* sérico desse roedor também é sujeito à ação androgênica.

Trabalho experimental⁹⁴ mostra ação da finasterida em próstata ventral de rato. Não foram encontrados na literatura estudos que mostrem a ação da finasterida no *PSA* desses roedores e no *hMa*.

Os animais do grupo-controle apresentaram níveis de *PSA* mais elevados que o grupo-finasterida. Já sua administração em homens, em tratamento de HP, promove a queda de 50% da concentração do *PSA* sérico, após seis a doze meses do início do tratamento em relação a sua titulação inicial⁹⁵.

Os grupos de animais estudados no presente trabalho quando foram mortos apresentavam idade média de $17,7 \pm 0,67$ meses para o grupo-finasterida e $15,2 \pm 1,13$ meses para os animais do grupo-controle. A média do peso dos animais do grupo-finasterida foi de $145 \pm 15,27$ g e do grupo-controle de $129 \pm 18,82$ g. As comparações entre os dois grupos, nesses dois aspectos, mostraram que eles eram diferentes quanto

à idade e que a diferença entre o peso esteve no limite da significância estatística. Testes foram efetuados para determinar a influência desses dois fatores nos efeitos da finasterida no *PSA* sérico e sobre as demais variáveis estudadas e mostraram que a diferença entre idade e o peso dos animais não comprometeu a comparabilidade dos dois grupos quanto aos efeitos da finasterida sobre o *PSA* sérico, área dos ácinos e epitélio acinares, *AgNORs*, apoptose e celularidade.

O grupo-controle não foi submetido a qualquer tratamento, nem mesmo a administração de placebo, evitando-se assim o efeito do estresse com a manipulação, tendo o objetivo de fornecer informações que poderiam servir de comparação com os resultados obtidos no grupo-finasterida.

Como o medicamento em clínica é usado de forma contínua, para o tratamento da HP, com base no raciocínio anterior, não haveria necessidade de se acrescentar novos grupos, porque o objetivo era saber se no animal a exemplo do homem, a finasterida tem ação medicamentosa.

No presente estudo, observou-se queda do *PSA* sérico ($p=0,0047$), após três meses de tratamento nos animais do grupo-finasterida em relação ao grupo-controle. Esse fato sugere a existência nesses animais de um epitopo correspondente ao *PSA* humano. Em humanos, a produção de *PSA* na próstata é regulada por um gene, cuja expressão é influenciada pela testosterona e por outros androgênios. Todas as medidas terapêuticas que causam ablação androgênica deprimem a produção de *PSA*⁹⁶ fato esse ocorrido nos animais do grupo-finasterida desta pesquisa .

Os resultados apresentados no estudo mostram que os animais tratados com a finasterida exibem os níveis de *PSA* menores e mais homogêneos que os do grupo controle, sendo a diferença significativa.

Não existe em humanos um padrão homogêneo nos níveis do *PSA* sérico. Existem diferentes fatores que poderiam interferir em seus níveis, como tamanho da próstata, afecções na glândula prostática, entre outros⁹⁷. Observa-se em clínica, quando esses homens são submetidos a algum tratamento anti-androgênico, que a média dos resultados dos níveis de *PSA* torna-se mais homogênea.

Os animais que não fizeram uso da finasterida apresentavam diferentes resultados nos níveis de *PSA* e esses resultados tornaram-se mais homogêneos no grupo-finasterida, sugerindo-se assim, como no homem, que os níveis de *PSA* no *hMa* também está influenciado por fatores intrínsecos a cada animal.

O autor, em estudo experimental, encontrou 65% de *hMa* com idade superior a um ano com alguma alteração em suas próstatas⁹¹. Tal fato, possivelmente poderia justificar as variações encontradas nos resultados dos *PSA* dos *hMa* deste levantamento, embora no presente estudo, não foram estudadas alterações histopatológicas nas próstatas dos animais, tanto do grupo-finasterida quanto do grupo-controle.

Para colheita do sangue para dosagem do *PSA* sérico, teve-se o cuidado de puncionar por via transdérmica diretamente a veia cava em abdome superior, com o objetivo de não haver manipulações prévia da cavidade abdominal, que supostamente poderia interferir no resultado do *PSA*. O hamster apresenta o aparelho genital muito desenvolvido. Durante a laparotomia as primeiras estruturas que se exteriorizam espontaneamente são os órgãos genitais, como as vesículas seminais e a próstata, juntamente com a bexiga⁹², e nesse momento, no nosso pensar, as próstatas poderiam ser manipuladas e interferir nos níveis de *PSA*.

Foram administrados nos animais que fizeram uso da finasterida deste estudo, uma dose mil vezes menor de finasterida que a indicada para o tratamento da HP em um homem adulto de 70Kg, em intervalos de três vezes por semana, mostrando impacto na próstata desses animais.

A princípio foi nossa intenção administrar uma dose da finasterida correspondente à 5mg que é administrada usualmente no homem⁹⁸. Por um equívoco do laboratório foi manipulada uma dose mil vezes menor.

Por dificuldades técnicas não foi possível administrar a finasterida todos os dias nos animais que dela fizeram uso, optamos por administrar a medicação três vezes por semana.

Se os achados aqui encontrados puderem ser transpostos para o homem, seria pertinente o uso dessa medicação no mesmo, em doses menores e em intervalos maiores, atenuando efeitos colaterais e custos na aquisição do medicamento⁹⁹.

Pôde-se demonstrar que houve diminuição da área dos ácinos ($p= 0,0122$), área do epitélio acinar ($p= 0,0361$) e promoção da apoptose ($p= 0,0408$) nos animais que fizeram uso da finasterida em relação ao grupo-controle.

Em trabalho experimental¹⁰⁰, usando o Gerbil-*Meriones unguiculatus* administrou-se a esses animais, finasterida na dosagem de 10mg/Kg ao dia, associada ao letrozole (um inibidor da aromatase) 1mg/Kg ao dia em um prazo de 21 dias. No final do tratamento, foram observadas importantes alterações nas células prostáticas, sugestivas de apoptose.

Estudos feitos em ratos, com dose elevada de finasterida, mostraram atrofia da glândula prostática desses animais^{101, 102, 103}. Autores têm demonstrado que a atrofia glandular prostática com uso de finasterida é secundária a apoptose promovida pelo bloqueio da 5 α R³⁶. Esses achados e os aqui apresentados mostram que o bloqueio da formação da DHT intracelular leva a atrofia da próstata por apoptose.

Disfunções nos mecanismos apoptóticos estão envolvidas no desenvolvimento e progressão nos processos proliferativos da próstata¹⁰⁴. Tem-se também demonstrado que a finasterida leva a indução da apoptose e efeito anti-angiogênese na próstata¹⁰⁵.

No homem alterações da homeostase entre GF e apoptose estão envolvidos na gênese da HP⁸².

Verificou-se também neste estudo diminuição das *AgNORs*, nos animais tratados com a finasterida em relação ao grupo-controle. As *AgNORs* são importantes marcadores de proliferação celular^{71,72}.

Os achados em literatura^{38, 106, 107} e também aqui, evidenciam que a finasterida protege a próstata de eventos proliferativos tanto hiperplásicos como neoplásicos, colocando-a como um medicamento promissor no tratamento e prevenção dessas doenças.

Neste trabalho, notou-se que não houve diferença significativa quanto ao número de células entre os dois grupos de animais em estudo, $p= 0,510$. Esse achado sugere que o tempo de 90 dias de uso da finasterida pelo grupo-finasterida não foi suficiente para que houvesse impacto no número de células nos ácinos desses animais, embora houvesse diminuição da área dos ácinos, epitélio acinar, *AgNORs* e indução da apoptose. Possivelmente com a continuidade da administração do medicamento por mais tempo no grupo-finasterida poderia ser constatada diferença no número de células acinares nesse grupo de animais. Estudo⁴⁰ mostra que é necessário no mínimo seis meses de terapia com a finasterida para que haja resposta clínica ao tratamento, embora, exista trabalho¹⁰⁸ que mostre o efeito da finasterida na próstata humana com duas semanas de uso da medicação.

Possivelmente a dose pequena do medicamento fornecida ao grupo-finasterida deste estudo pode ter interferido na quantificação da celularidade. Por comprovação experimental¹⁰⁹, demonstrou-se a existência em próstata de rato, resposta à finasterida dose-dependente.

A isoenzima 1 em pequena quantidade também tem ação na próstata³ e mantém o volume prostático em homens³⁶. Se a próstata do *hMa* também apresentar receptores $5\alpha R$ tipo 1, o fato também pode justificar o resultado aqui encontrado, quanto à celularidade.

Com relação ainda à contagem de células, houve certa dificuldade para que isso fosse feito, devido à heterogeneidade nos cortes analisados. Como a próstata dos animais foi fixada em bloco, os cortes histológicos dos ácinos prostáticos foram feitos em planos distintos, nem sempre padronizados. Esse fato incorporou mais uma fonte de variação não controlada, o que pode ter contribuído para diminuir o poder do teste e não lograr distinção entre os valores obtidos para contagem entre os dois grupos estudados quanto à celularidade.

Técnicas estereológicas, assim como outras, poderiam ser acrescentadas ao método deste estudo, em trabalhos futuros, com o objetivo de esclarecer melhor os resultados encontrados quanto à contagem de células.

Novos estudos deverão ser feitos no sentido de melhor esclarecimento em relação ao uso da finasterida no tocante a determinação do número de células.

O presente estudo, contrariamente do que pensava o autor, mostrou ser a finasterida um fármaco com ação benéfica nos ácinos da próstata do *hMa*, embora não se possa ainda afirmar que os achados aqui apresentados tenham o mesmo efeito na próstata do homem, devido as peculiaridades genéticas entre o *Homo sapiens* e o *Mesocricetus auratus*, mas seguramente passou-se a ter um referencial com fundamento científico.

Se os achados acima referidos puderem ter aplicabilidade também para o homem, algumas questões, entre outras, precisarão de respostas, *v.g.*: Que paciente se beneficiará do uso da finasterida? Por quanto tempo deverá ser tal medicação tomada? Iniciar o tratamento em que idade? Qual a dose ideal? Como amenizar seus efeitos colaterais?

Um biomarcador com nome de *JM-27*¹¹⁰ em desenvolvimento para uso clínico, quando aumentado no sangue prediz o aparecimento de HP. Possivelmente homens com esse biomarcador sérico aumentado poderiam beneficiar com o uso da finasterida.

Em linhas gerais, o autor procurou elaborar seu estudo comparando sua pesquisa com outras observações e análises existentes, fato que lhe deu substância e relevo ao se associar a prática com o cabedal teórico existente.

7- CONCLUSÃO

Fundamentando-se nos resultados desta pesquisa, chegou-se à seguinte conclusão:

- O uso da finasterida diminuiu o *PSA* sérico, as áreas dos ácinos e do epitélio acinar e a expressão de *AgNORs*, como também, promoveu a apoptose nos ácinos da próstata dos *hMa* que fizeram uso desse medicamento. Não houve diferença significativa na celularidade acinar entre os grupos de animais deste estudo.

8-REFERÊNCIAS

- 1.Srougi M, Cury J. Hiperplasia benigna de próstata. In: Borges DR, Rothschild HA. Atualização terapêutica. 20^a ed. São Paulo: Artes médicas; 2001. p. 1457.
- 2.Untergasser G, Madersbacher S, Berger P. Benign prostatic hyperplasia: age-related tissue-remodeling. *Exp Gerontol.* 2005; 40(3): 121-8.
- 3.Programa de Actualizacion Continua para Urologia. Hiperplasia Prostática Obstrutiva. Navarro FG, Contreras SZ. México, DF: Intersistemas; 2005. Disponível: <http://www.drscope.com/pac/urologia/a3/index.htm> .
- 4.Walsh PC, Wilson JD. The induction of prostatic hypertrophy in the dog with androstanediol. *J Clin Invest.* 1976; 57: 1093.
- 5.McConnell J. Androgen ablation and blockade in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am.* 1990; 17: 661.
- 6.Suddath SL, Koronkowski MJ. Finasteride: The first 5 α -reductase inhibitor. *Pharmacotherapy.* 1993; 13: 209-25.
- 7.Finasteride Study Group. Finasteride (MK-906) in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Prostate.* 1993; 22: 291-9.
- 8.Melo EA, Rios LS, Nardoza Jr A, Cury J, Claro JC, Ortiz V, Srougi M. Hiperplasia prostática benigna na terceira idade In: *Sinopse Urológica.* 2008; ano 12 (3): 83.
- 9.Rang e Dale. *Farmacologia.* 6^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007. p.453.
- 10.Barry MJ, Fowler FJ, O'Leary MP, Bruskewitz RC, Holtgrewe HL, Mebust WK. Correlation of the American Urological Association Symptom index with self-administered versions of the Madsen-Iversen, Boyarsky and Maine Medical Assessment program Symptom indexes. *J Urol.* 1992; 148: 1558-3.
- 11.Tammela T, Konttury M. Urodynamic effects of finasteride in the treatment of bladder outlet obstruction due to prostatic hyperplasia. *J Urol.* 1993; 149: 342-4.
- 12.Hiperplasia prostática benigna, história natural e epidemiologia. In: Sociedade Brasileira de Urologia, tumores prostáticos, 1^o Consenso Brasileiro: câncer de próstata. 2^o encontro de consenso nacional: HPB- Hiperplasia Prostática Benigna. São Paulo: BG Cultural; 1998. p. 2, 54.
- 13.Roberts GR. BPH: new guidelines based on symptoms and patient preference. The Agency for Health Care Policy and Research. *Geriatrics.* 1994; 49: 24-1.
- 14.Zderic SA, Wein AJ, Monson FC, Levin RM. The effects of infravesical obstruction on the bladder. *Probl Urol.* 1991; 5(3): 357-68.
- 15.Barry MJ. Epidemiology and natural history of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am.* 1990; 17: 495-507.

- 16.Srougi M. Tratamento médico da hiperplasia benigna da Próstata. In: Rev Bras Med. 1995; 52: 31.
- 17.Vaughan D, Imperato-McGinley J, McConnell J, Matsumoto AM, Bracken B, Roy J, Sullivan M, Pappas F, Cook T, Daurio C, Meehan A, Stoner E, Waldstreicher. Long-term (7 to 8-year) experience with finasteride in men with benign prostatic hyperplasia. 2002; 60: 1040-4.
- 18.Lowe FC, McConnell JD, Hudson PB, Romas NA, Boake R, Lieber M, Elhilali M, Geller J, Imperato-McGinley J, Andriole GL, Bruskewitz RC, Walsh PC, Bartsch G, Nacey JN, Shah S, Pappas F, Ko A, Cook T, Stoner E, Waldstreicher J. Long-term 6-year experience with finasteride in patients with benign prostatic hyperplasia. 2003 Apr; 61: 791-6.
- 19.Yoo HG, Kim JS, Lee SR, Pyo HK, Moon HI, Lee JH, Kwon OS, Chung JH, Kim KH, Eun HC, Cho KH. Perifollicular Fibrosis: Pathogenetic Role in Androgenetic Alopecia. Biol Pharma Bull. 2006; 29(6): 1246-50.
- 20.Steiner D, Bedin V. Calvície: a importância das influências androgênicas na queda dos cabelos. Rev Bras Derm & Imunol. 1997; 5(1): 21-6.
- 21.Kramer BS, Hagerty KL, Justman S, Somerfield MR, Albertsen PC, Blot WJ, Carter HB, Costantino JP, Epstein JI, Godley PA, Harris RP, Wittes J, Zon R, Schellhammer P. Use of 5-alpha-reductase inhibitors for prostate cancer chemoprevention: American Society of Clinical Oncology/ American Urological Association. 2008; Clinical Practice Guideline. J Urol. 2009 apr; 181(4): 1530-1.
- 22.Vaarala MH, Lukkarinen O, Marttila T, Kyllönen AP, Porvari KS, Vihko PT. Prostatic expression of human 5alpha-reductase type 2 during finasteride therapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. World J Urol. 2000; 18(6): 406-10.
- 23.Gormley GJ, Stoner E, Bruskewitz RC. The effect of finasteride in men with benign prostatic hyperplasia. N Engl J Med. 1992; 92: 903-10.
- 24.Lechuga SAM, Hernández SR, González CI, Gracia BR. Newborn with bladder extrophy associated with finasteride exposure. An Pediatr (Barc). 2004 nov; 61(5): 451-3.
- 25.Vidigal DJA; Lázaro da Silva A; Fonseca LMA; Vasconcelos AC; Resende DF. Vidigal FEC. The Effect of Finasteride on Spermatogenesis of Adult Syrian Hamster *Mesocricetus auratus*. Acta Cir Bras. 2008; May/june; 23(3): p.282-6.
- 26.Toma JG, Buzell GR. Fine structure of the ventral and dorsal lobes of the prostate in the young adult Syrian Hamster, *Mesocricetus auratus*. Am J Anat. 1988; 181(2): 132-40.
- 27.Guyton AC. Funções reprodutoras e hormonais masculina. Tratado de Fisiologia Médica. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p. 863.

28. Neiva A. Andrógenos, In: Silva P. Farmacologia. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994. p. 861-7.
29. Snyder PJ. Androgênios. In: Goodman e Gilman. As bases Farmacológicas da Terapêutica. 10^a ed. Rio de Janeiro: editora Macgnhill; 2003. p. 1230-40.
30. Geller J. Pathogenesis and medical treatment of benign prostatic hyperplasia. Prostate (suppl). 1989; 2: 95-104.
31. Bruchovsky N, Wilson JD. The conversion of testosterone to 5 α -androstane-17 β -ol-3-one by rat prostate in vivo and in vitro. J Biol Chem. 1968; 243: 2012-21.
32. Bruchovsky N, Wilson JD. The intranuclear binding of testosterone and 5 α -androstane-17 β -ol-3-one by rat prostate. J Biol Chem. 1968; 243: 5953-60.
33. Metcalf BW, Levy MA, Holt DA. Inhibitors of steroid 5 α -reductase in benign prostatic hyperplasia, male pattern baldness and acne. Trends Pharmacol Sci. 1989; 10: 491-495.
34. Lepor H, Lawson RK. Inibidores de La 5 α -reductasa. In: Enfermedades de La próstata. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A; 1994. p. 232.
35. Decklerk DP, Coffey DS, Ewing LL. Comparison of spontaneous and experimentally induced canine prostatic hyperplasia. J Clin Invest. 1979; 64: 842-9.
36. Steers WD. 5 α -reductase activity in the prostate. Urology. 2001 Dec; 58 (6 Suppl 1): 17-24.
37. Thigpen AE, Silver RI, Guileyardo JM. Tissue distribution and ontogeny of steroid 5 α -reductase isozyme expression. J Clin Invest. 1993; 92: 903-10.
38. Thomas LN, Douglas RC, Lazier CB, Too CK, Rittmaster RS, Tindall DJ. Type 1 and type 2 5 α -reductase expression in the development and progression of prostate cancer. Eur Urol. 2008 Feb; 53(2): 244-2. Epub 2007 Nov; 5. Review.
39. Martindale. Complete drug reference. 36th ed. London: Pharmaceutical Press; 2009. p. 1477-78.
40. Stoner E. The clinical development of a 5 α -reductase inhibitor finasteride. J Steroid Biochem Mol Biol. 1990 Nov 20; 37(3): 375-8.
41. Ohtawa M, Morikawa H, Shimazaki J. Pharmacokinetics and biochemical efficacy after single and multiple oral administration of N-(2-methyl-2-propyl)-3-oxo-4-aza-5 α -androst-1-ene-17 β -carboxamide, a new type of specific competitive inhibitor of testosterone 5 α -reductase, in volunteers. Eur J Drug Metab Pharmacokin. 1991 Jan-Mar; 16(1): 15-21.

42. Bowman CJ, Barlow NJ, Turner KJ, Wallace DG, Foster PM. Effects of in utero exposure to finasteride on androgen-dependent reproductive development in the male rat. *Toxicol Sci.* 2003 Aug; 74(2):393-406.
43. Viller A. Practical follow-up of a patient treated with finasteride in screening for prostate cancer. *Prog Urol.* 2008 Apr; 18 Suppl 3: 58-62.
44. Al-Harbi TM, Kagan J, Tarnoplosky MA. Finasteride induced myalgia and Hiperckemia. *J Clin Neuromuscul Dis.* 2008 Dec; 10: 76-8.
45. Rahimi-Ardabili B, Pourandarjani R, Habibollahi P, Mualeki A. Finasteride induced depression: a prospective study. *BMC Clin Pharmacol.* 2006 Oct; 6: 7.
46. Prostate-specific antigen (PSA) best practice policy. American Urological Association (AUA). *Oncology (Williston Park).* 2000; Feb; 14(2): 267-72, 77-8, 80 passim.
47. Weiss RE, Fair WR. Manejo das Doenças prostáticas. 2ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas LTDA; 1998. p. 88.
48. Kirby RS. Molecular mechanisms underlying prostate. In: A slide atlas of Prostate Diseases on CD-Rom. New York: The Parthenon Publishing Group ; 2000.
49. Lilja H. Significance of different molecular forms of serum PSA. The free, non complexed forms of PSA versus that complexed to alpha 1-antichymotrypsin. *Urol Clin North Am.* 1993; 20: 681-6.
50. Srougi M, PSA, in: Srougi M. Hiperplasia Prostática. São Paulo: Record; 1995. p. 92.
51. Kiehl R, Lemos LAD, Stavale JN, Ortiz V. Correlation between chronic prostatitis and prostate specific antigen values. *Braz J Urol.* 2001, Jan-Feb; 27(1): 42-45. 42-45.
52. Stamey TA. Second Stanford Conference on International Standardization of prostate-Specific Antigen immunoassays: september 1 and 2, 1994. *Urology.* 1995 Feb; 45: 173-4.
53. Osterling JE. PSA leads the Way for detecting and following prostate cancer. *Contemp Urol.* 1993; 5: 60-81.
54. Hara M, Inorre T, Fukuyama T. Some physicochemical characteristics of gamma-seminoprotein, an antigenic component specific for human seminal plasma. *Jpn J Legal Med.* 1971; 25: 322-4.
55. Li TS, Beling CG. Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma. *Fertil Steril.* 1973; 24:134.

- 56.Sensabaugh GF. Isolation and Characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J Forensic Sci.*1978; 23: 106.
- 57.Graves HC, Sensabaugh GF, Blake ET. Postcoital investigation of rape. *N Engl J Med* 1985 Fev 7; 312(6): 338-3.
- 58.Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Cher TIM. Purification of a human prostate specific antigen. *J Urol.* 2002 Mar; 167(3): 1226-30.
- 59.Papsidero LD, Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. A prostate antigen in sera of prostatic cancer patients. *Cancer Res.* 1980 Jul; 40(7): 2428-2.
- 60.Ortiz V. Valor da determinação dos níveis do antígeno prostático específico, in: hiperplasia de próstata. *J Bras Urol.* 1993 dez; 19(5): 320.
- 61.Souto CAV. Marcadores em câncer de próstata. *J B Urol.* 1999; 25(1).16-17.
- 62.Seabra DDG. *PSA livre e Total, Vantagens e limitações. Sinopse de Urologia.*1997; 2: 3-6.
- 63.De Queiroz e Silva FA. Organogênese Urogenital, In: Barata HS, Carvalhal GF. *Urologia Princípios e Prática.* São Paulo: Artes Médicas; 1999. p. 80.
- 64.Chow PH, Pang SF. Ultrastructure of secretory cells of male accessory sex glands of Golden Hamster *Mesocricetus auratus* and effect of Melatonin. *Acta Anat. (Basel)* 1989; 134 (4): 327-40.
- 65.Leman ES, Cannon GW, Trock BJ, Sokoll LJ, Chan DW, Mangold L, Mangold L, Partin AW, Getzenberg RH. EPCA-2: a highly specific serum marker for prostate cancer. *Urology.* 2007 apr; 69(4): 710-20. Comment in: *Eur Urol.* 2008 jan; 53 (1): 210.
- 66.Leman ES, Cannon GW, Trock BJ, Sokoll LJ, Chan DW, Mangold L, Partin AW, Getzenberg RH. EPCA-2: a highly specific serum marker for prostate cancer. *Eur Urol.* 2008 Jan; 53(1): 210.
- 67.Derenzini M. The AgNORS. *Micron.* 2000; 31: 117.20.
- 68.Jiménez-García LF, Rothblum LI, Busch H, Ochs RL. Nucleologenesis: use of non-isotopic in situ hybridization and immunocytochemistry to compare the localization of rDNA and nucleolar proteins during mitosis. *Biol Cell.* 1989;65(3):239-46.
- 69 Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himber G, Piglon F, Adnett JJ. Improvement in staining and in the visualization of argyrophilic proteins of nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J.* 1986; 18: 5-4.

70. Ploton D. Structure and molecular organization of the nucleolus. *Zentralbl Pathol.* 1994 mar; 140: 3-6.
71. Underwood JC, Giri DD. Nucleolar organizer regions as diagnostic discriminants for malignancy. *J Pathology.* 1988 jun: 95-6.
72. Derenzini M, Trerè D. AgNORs proteins as a parameter of the rapidity of cell proliferation. *Zentralblat für Pathologie.* 1994; 140 (1): 7-10.
73. Vasconcelos AC, Moro L, Silva PM. Apoptose ou morte celular programada e sua importância em patologia veterinária. *Rev Port Cienc Vet.* 1996; 520(91): 182-3.
74. Junqueira LC, Carneiro J. *Biologia Celular e Molecular. Apoptose.* 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p.191.
75. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972; 26: 18.
76. Cotter TG, Lennon SV, Glynn JG, Martin SJ. Cell Death via Apoptosis and its Relationship to Growth, Development and Differentiation of Both tumor and normal cells. *Anticancer Res.* 1990; 10: 1153-60.
77. Majno G, Joris I. Apoptosis, Oncosis and Necrosis. An Overview of Cell Death. *Am J Pathol.* 1995 jan; 146(1): 3-15.
78. Gerscherson LE, Rotello RJ. Apoptosis: A different Type of cell Death. *Faseb J.* 1992; 6: 2450-5.
79. Flora-filho R, Zilberstein B. Apoptosis: programmed cell death. *Arq Bras Cir Dig* 1996, 11:72-7.
80. Kuan N, Passaro Jr E. Apoptosis: programmed cell death. *Arch Surg* 1998, 133: 773-5.
81. Cox G, Austin RC. Dexamethasone-induced suppression of apoptosis in human neutrophils requires continuous stimulation of new protein synthesis. *J Leukoc Biol* 1997; 61: 224-30.
82. Steiner MS. Review of peptide growth factors in benign prostatic hyperplasia and urological malignancy. *J urol.* 1995; 153: 1085-6.
83. Srougi M. Etiopatogenia da hiperplasia de próstata; in: Srougi M. *Hiperplasia Prostática.* São Paulo: Record; 1995. p. 41, 42.
84. Vieira MI. *Hamster Criação e Treinamento.* 4ed. São Paulo: INFOTEC; 1992. p. 31-54.

85. Barrie A. Hamsters. Lisboa, Portugal: Editorial Presença; Original Inglês; 1993. p. 8, 9, 38, 71.
86. Sanchis FS, Silbiger HLN. Purina Manual de Laboratório para biotério. [s.d].
87. Harkness JE, Wagner JE. Biologia e clínica de coelhos e roedores. 3ed. São Paulo: Roca; 1993. p. 57-85.
88. Caliari MV. Princípios de morfometria digital: KS300 para iniciantes. Belo Horizonte: UFMG, 1997. p. 149.
89. Aubele M; Biesterfeld S; Derenzini M. Guidelines of AgNOR quantitation Zentrabl Pathol. 1994; V. 140. p. 107-8.
90. Zar JH. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Inc- Englewood Cliffs. N.J. 1984. p. 141 (Mann Whitney), 176 (Kruskal-Wallis).
91. Vidigal DJA, Silva AL, Fonseca LMA, Rezende DF. Dosagem e correlação do Antígeno Prostático Específico com as alterações histológicas dos anexos sexuais do hamster Sírio. Rev do Col Bra de Cir. 2005; 32(3): 147-2.
92. Vidigal DJA, Silva AL, Fonseca LMA, Resende DF. Técnica para obtenção do aparelho genitourinário e dosagem do PSA (Prostate Specific Antigen) no hamster sírio, *Mesocricetua auratus*. Acta Cir Bra. 2004 Nov-Dez; 19(6): 603-8.
93. Makridakis N, Reichardt JK. Pharmacogenetic analysis of human steroid 5 alpha reductase type II: comparison of finasteride and dutasteride. J Mol Endocrinol. 2005 Jun;34(3):617-23.
94. Huynh H, Seyam RM, Brock GB. Reduction of ventral prostate weight by finasteride is associated with suppression of insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-I receptor genes and with an increase in IGF binding protein 3. Cancer Res. 1998 Jan 15; 58(2): 215-8.
95. Handel LN, Agarwal S, Schiff SF, Kelty PJ, Cohen SI. Can effect of finasteride on prostate-specific antigen be used to decrease repeat prostate biopsy? Urology. 2006 Dec; 68(6): 1220-3.
96. Murphy GP. The Second Stanford Conference on International Standardization of Prostate Specific Antigen Assays. Cancer. 1995 Jan 1; 75(1): 122-8.
97. Nadler RB, Humphrey PA, Smith DS, Catalona WJ, Ratliff TL. Effect of inflammation and benign prostatic hyperplasia on elevated serum prostate specific antigen levels. Urology. 2006 Feb; 67(2): 337-42.
98. Machado MF. Tratamento medicamentoso com inibidor da 5 alfa-redutase-finasterida (Proscar). In: Hiperplasia benigna da próstata. J Bras Urol. 1993; 19(5): 326-7.

- 99.Nickel JC. BPN: Costs and treatment outcomes. *Am J Manage Care*. 2006 apr; 12 (5 suppl): 541-8.
- 100.Corradi LS, Goés RM, Vilamaior PSL, Taboga SR. Increased androgen receptor and remodeling in the prostatic stroma after the inhibition of 5-alpha reductase and aromatase in gerbil ventral prostate. *Microsc Res Tech*. 2009 Dec; 72(12): 939-50.
- 101.Prahalada SR, Keenan KP, Hertzog PR, Gordon LR, Peter CP, Soper KA, Van Zwieten MJ, Bokelman DL. Qualitative and quantitative evaluation of prostatic histomorphology in rats following chronic treatment with finasteride, a 5-alpha reductase inhibitor. *Urology*. 1994; 43 (5): 680-5.
- 102.Huynh H. Induction of apoptosis in rat ventral prostate by finasteride is associated with alteration in MAP kinase pathways and Bcl-2 related family of proteins. *Int J Oncol*. 2002 Jun; 20(6): 1297-303.
- 103.Rittmaster RS, Manning AP, Wright AS, Thomas LN, Whitefield S, Norman RW, Lazier CB, Rowden G. Evidence for atrophy and apoptosis in the ventral prostate of rats given the 5 alpha-reductase inhibitor finasteride. *Endocrinology*. 1995; 136(2): 741-8.
- 104.Bruckheimer EM, Kyprianou N. Apoptosis in prostate carcinogenesis. A growth regulator and therapeutic target. *Cell Tissue Res*. 2000; 301(1): 153-2.
- 105.Sutton MT, Vingling M, Vyas A, Atiemo H, Borkowski A, Jacobs SC, Kyprianou N. Finasteride targets prostate vascularity by inducing apoptosis and inhibiting cell adhesion of benign and malignant prostate cells. *Prostate*. 2006; 66: 1194-202.
- 106.Vickers AJ, Savage CJ, Lilja H. Finasteride to Prevent Prostate Cancer: Should All Men or Only a High-Risk Subgroup Be Treated? *J Clin Oncol*. 2010 Feb; 1: 9.
- 107.Zhu YS, Imperato-McGinley JL. 5alpha-reductase isozymes and androgen actions in the prostate. *Ann N Y Acad Sci*. 2009 Feb; 1155: 43-56.
- 108.Donohue JF, Hayne D, Karnik U, Thomas DR, Foster MC. Randomized, placebo-controlled trial showing that finasteride reduces prostatic vascularity rapidly within 2 weeks. *BJU Int*. 2005 Dec; 96(9): 1319-22.
- 109.Cayatte C, Pons C, Guignon JM, Pizzol J, Elies L, Kennel P, Rouquié D, Bars R, Rossi B, Samson M. Protein profiling of rat ventral prostate following chronic finasteride administration: identification and localization of a novel putative androgen-regulated protein. 2006; 5: 2031-43.
- 110.Cannon GW, Mullins C, Lucia MS, Hayward SW, Lin V, Liu BC, Slawin K, Rubin MA, Getzenberg RH. A preliminary study of JM-27: a serum marker that can specifically identify men with symptomatic benign prostatic hyperplasia. *J Urol*. 2007 Feb; 177(2): 610-4; discussion 614.