

DIMAS JOSÉ ARAÚJO VIDIGAL

**Efeito da Finasterida no Antígeno
Prostático Específico (*PSA*) sérico e na
próstata do hamster - *Mesocricetus*
auratus (hMa).**

**Faculdade de Medicina
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG
Belo Horizonte - Minas Gerais
2010**

DIMAS JOSÉ ARAÚJO VIDIGAL

Efeito da Finasterida no Antígeno Prostático Específico (*PSA*) sérico e na próstata do hamster - *Mesocricetus auratus* (hMa).

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Medicina.

Área de concentração: Anatomofisiopatologia cirúrgica.

Linha de pesquisa: Bases moleculares das neoplasias: farmacogenética e farmacogenômica.

Orientador: Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Anilton César Vasconcelos.

**Faculdade de Medicina
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte - Minas Gerais
2010**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Prof. Dr. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora

Prof.^a. Dr.^a Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Dr. Renato de Lima dos Santos

Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Dr. Francisco José Pena

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha

Sub-Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof.^a Dr.^a Tereza Cristina de Abreu Ferrari

Chefe do Departamento de Cirurgia

Prof. Dr. Marcelo Erller Miranda

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Sub-Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia

Prof.^a Ivana Duval de Araújo

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo

Prof.^a Dr.^a Ivana Duval de Araújo

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Prof. Dr. Marco Aurélio Lana Peixoto

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Representante discente: Juliano Alves Figueredo

**FOLHA DE AVALIAÇÃO E ATA DA
DEFESA DA TESE**



**FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

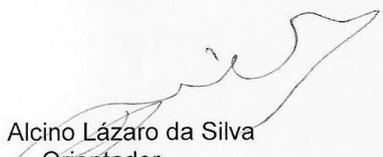
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640

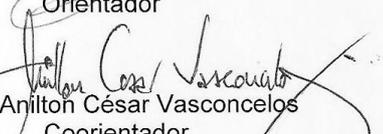


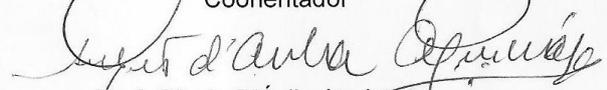
UFMG

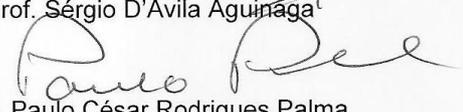
DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores: Alcino Lázaro da Silva, Anilton César Vasconcelos, Sérgio D'Ávila Aguinaga, Paulo César Rodrigues Palma, Tarcizo Afonso Nunes e Cirênio de Almeida Barbosa, aprovou a defesa da tese intitulada: **“EFEITO DA FINASTERIDA NO ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO (PSA) SÉRICO E NA PRÓSTATA DO HAMSTER-MESOCRICETUS AURATUS (hMa)”**, apresentada pelo doutorando **DIMAS JOSÉ ARAÚJO VIDIGAL** para obtenção do título de Doutor em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 12 de julho de 2010.

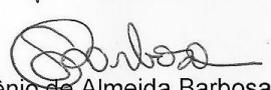

Prof. Alcino Lázaro da Silva
Orientador


Prof. Anilton César Vasconcelos
Coorientador


Prof. Sérgio D'Ávila Aguinaga


Prof. Paulo César Rodrigues Palma


Prof. Tarcizo Afonso Nunes


Prof. Cirênio de Almeida Barbosa



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte – MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



UFMG

ATA DA CENTESIMA SEXTA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO, DIMAS JOSÉ ARAÚJO VIDIGAL, nº de registro 2008670559. Às quatorze horas do dia doze de julho de dois mil e dez, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG a Comissão Examinadora de tese indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **“EFEITO DA FINASTERIDA NO ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO (PSA) SÉRICO E NA PRÓSTATA DO HAMSTER-MESOCRICETUS AURATUS (hMa)”**, requisito final para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e a Oftalmologia. Abrindo a sessão, o presidente da comissão, Prof. Alcino Lázaro da Silva, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença do candidato e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Alcino Lázaro da Silva /Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovado</u>
Prof. Anilton César Vasconcelos/Coorientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. Sérgio D'Ávila Aguinaga	Instituição: UERJ	Indicação: <u>Aprovado</u>
Prof. Paulo César Rodrigues Palma	Instituição: UNICAMP	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. Tarcizo Afonso Nunes	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovado</u>
Prof. Cirênio de Almeida Barbosa	Instituição: FCMMG	Indicação: <u>APROVADO</u>

Pelas indicações, o candidato foi considerado Aprovado.

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo presidente da comissão. Nada mais havendo a tratar o presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da comissão examinadora. Belo Horizonte, 12 de julho de 2010.

Prof. Alcino Lázaro da Silva /Orientador _____
 Prof. Anilton César Vasconcelos/Coorientador _____
 Prof. Sérgio D'Ávila Aguinaga _____
 Prof. Paulo César Rodrigues Palma _____
 Prof. Tarcizo Afonso Nunes _____
 Prof. Cirênio de Almeida Barbosa _____
 Prof. Marcelo Dias Sanches/Coordenador _____

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.

Prof. Marcelo Dias Sanches
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia
Faculdade de Medicina/UFMG

CONFERE COM O ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação

ΕΠÍΓΡΑΦΕ

“A procura da Verdade é, por um lado, difícil e, por outro, fácil, já que nenhum de nós poderá desvendá-la por completo ou ignorá-la inteiramente. Contudo, cada um de nós poderá acrescentar um pouco do nosso conhecimento sobre a natureza, e disto uma certa grandeza emergirá”.

Aristóteles, 350 a.C.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai José Carlos e a minha mãe Geralda.
A minha família, Wania, Felipe Eduardo e Fernanda.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à direção, professores e funcionários da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e do Instituto de Ciências Biológicas (ICB-UFMG) pela oportunidade, formação e conhecimentos que têm me proporcionado adquirir.

Ao ilustre Anatomopatologista, Professor Luiz Mauro Andrade da Fonseca, pelo estudo histológico das próstatas dos hamsteres usado neste trabalho.

Ao Professor Dilermando Fazito de Rezende, pelas lições e ajuda na análise estatística.

Ao Professor Mário Celso Rios, amigo e incentivador, homem brilhante, exemplo a ser seguido.

Ao Professor Ruy Carlos Paolucci, pelas ilustrações e às professoras Júnia Lessa França e Ana Cristina de Vasconcellos pela ajuda metodológica através de seu manual.

Ao Professor Dr. Anilton César Vasconcelos, Professor Titular e Coordenador do Laboratório de Apoptose do ICB-UFMG, meu coorientador, pela acolhida e pelo subsídio do estudo morfométrico dos ácinos das próstatas dos hamsteres aqui usados.

À graduanda Nathália Gonçalves Santana do Curso de Veterinária da UFMG e a Mestranda de Veterinária Bárbara Lanice Araújo Verçosa da mesma Universidade, pela cooperação na análise morfométrica dos ácinos das próstatas dos animais usados neste experimento, sob a orientação do Professor Dr. Anilton César Vasconcelos.

Ao Professor Ronaldo Martins Ferreira diretor do Instituto de Biociências da Universidade *Presidente Antônio Carlos* (INBIO-UNIPAC), pela acolhida em sua Instituição, na qual foi possível a feitura do experimento. Também ao Comitê de Ética em Pesquisa da mesma, pela análise e aprovação do projeto desta Tese.

Ao Sr. Manoel Carlos Afonso, funcionário do Biotério do ICB-UFMG, a Sra. Aparecida Viol do Biotério do INBIO-UNIPAC e ao Sr. José Uilton Ribeiro do laboratório de técnica de histologia da Faculdade de Medicina de Barbacena (FAME-FUNJOB).

À secretária Srta. Inez Andrade Tostes, à técnica em Análises Patológicas Srta. Heucimari Elizabeth do Carmo e à todas pessoas que contribuíram direta e indiretamente para execução desta Tese.

Agradecimento Especial



Agradeço de modo especial ao meu orientador Professor Dr. **ALCINO LÁZARO DA SILVA**, homem desprendido, promotor do bem, do saber e da liberdade social pelo conhecimento. Homem com capacidade de usar o cinzel da paciência, da compreensão, da simplicidade e do amor, polindo a pedra bruta da ignorância, permitindo a formação de um novo ser e tornando possível a premissa de um novo homem.

LISTAS DE ABREVIATURAS

μm^2 -	micrômetro quadrado
a.C. -	antes de Cristo
ACT -	antiquimotripsina
<i>AgNORs</i> -	<i>Argyrophilic Nuclear Organizer Regions</i> - Regiões Argirofílicas Organizadoras do Nucléolo
alfa1-ACT-	alfa1-antiquimotripsina
alfa2-MG -	alfa2-macroglobulina
ARN -	Ácido Ribonucleico
<i>AUA</i> -	<i>American Urological Association</i>
<i>Caspases</i> -	<i>Cysteine-Aspartic-Acid-Proteases</i>
<i>CLT</i> -	<i>Citolytic T Lymphocyte</i>
CPK -	Creatine phosphokinase
<i>cPSA</i> -	<i>complex Prostate Specific Antigen</i>
DAB -	Diamino Benzidina
DE -	Distúrbio de Ereção
dp -	desvio padrão
DHT -	diidrotestosterona
<i>DNA</i> -	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
<i>ELISA</i> -	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent assay</i>
<i>EPCA</i> -	<i>Early Prostate Cancer Antigen</i>
<i>FDA</i> -	<i>Food and Drug Administration</i>
<i>fPSA</i> -	<i>free Prostate Specific Antigen</i>
g -	grama
° C -	graus Celsius
<i>GF</i> -	<i>Growth Factor</i>
H -	Kruskal-Wallis, teste de
HE -	Hematoxilina e Eosina
<i>hMa</i> -	hamster- <i>Mesocricetus auratus</i>
HP -	Hiperplasia de Próstata
<i>I-PSS</i> -	<i>International Prostate Symptom Score</i>
KDa -	quilodauton
Kg -	quilograma
mg -	miligrama
n -	número de animais

- ng/mL - nanograma por mililitro
- NORs*- *Nuclear Organizer Regions* – Regiões Organizadoras do Nucléolo
- p - significância estatística
- q.s.p.- em quantidade suficiente para
- PC - *Personal Computer*
- PBS* - *Phosphate Bufferid Saline*
- PSA* - *Prostate Specific Antigen*
- RxC - *Rows x Columns*
- sc - subcutâneo
- t- teste “t” de Student
- T - testosterona
- 5 α R - alfa-5-redutase
- TUNEL* - *Terminal deoxinucleotidil transferase Uracil-biotin Nick End Labeling*
- TdT - Transferasa Terminal de deoxinucleótidos
- v.g. - *verbi gratia* = por exemplo

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	Anexos genitais do <i>hMa</i>	5
FIGURA 2-	Estrutura química da finasterida.....	9
FIGURA 3-	Relação da testosoterona <i>versus</i> finasterida.....	10
FIGURA 4-	Estrutura morfofuncional dos dutos prostáticos	13
FIGURA 5-	Estrutura morfofuncional dos dutos prostáticos (<i>PSA</i>).....	14
FIGURA 6-	Sequências de eventos que ocorrem na apoptose.....	19
FIGURA 7-	Fotomicrografia digital do epitélio acinar da próstata de um <i>hMa</i> adulto.....	20
FIGURA 8-	Fotografia digital mostrando a aplicação da finasterida subcutâneo(SC) no dorso do <i>hMa</i> adulto usados no experimento.....	25
FIGURA 9-	Fotografia digital do <i>hMa</i> anestesiado com Cloridrato de cetamina na dosagem de 200mg/Kg e diazepam na dosagem 2,5mg/Kg.....	26
FIGURA 10-	Fotografia digital mostrando a colheita de sangue para dosagem do <i>PSA</i> sérico.....	27
FIGURA 11-	Fotografia digital dos lobos dorsais da próstata de um <i>hMa</i> adulto.....	28
FIGURA 12-	Fotografia digital da próstata de um <i>hMa</i>	28
FIGURA 13-	Fotomicrografia digital de um <i>hMa</i> deste experimento, mostrando a demarcação do lúmen do ácino e do ácino total para medida do epitélio acinar.....	30
FIGURA 14-	Fotomicrografia digital (técnica de <i>AgNORs</i>) do epitélio acinar da próstata de um <i>hMa</i> do grupo de animais que não fez uso da finasterida.....	39
FIGURA 15-	Fotomicrografia digital (técnica de <i>AgNORs</i>) do epitélio acinar da próstata de um <i>hMa</i> que fez uso da finasterida.....	39
FIGURA 16-	Fotomicrografia digital de um ácino da próstata de um <i>hMa</i> deste trabalho, que fez uso da finasterida, técnica de <i>TUNEL</i>	41

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Características Gerais do hMa.....	22
TABELA 2- Distribuição de frequências das variáveis idade, peso e <i>PSA</i> do grupo-controle <i>versus</i> grupo-finasterida.....	34

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1- Resultado do <i>PSA</i> -sérico do grupo-controle versus grupo-finasterida.....	35
GRÁFICO 2- Valores da área média dos ácinos da próstata dos <i>hMa</i> do grupo-controle versus grupo-finasterida.....	36
GRÁFICO 3- Valores da média do epitélio acinar da próstata dos <i>hMa</i> grupo-controle versus grupo-finasterida.....	37
GRÁFICO 4- Valores da expressão de <i>AgNORs</i> , grupo-controle versus grupo-finasterida.....	38
GRÁFICO 5- Resultado da apoptose do grupo-controle versus grupo-finasterida.....	40
GRÁFICO 6- Resultado da contagem do número de células (celularidade) dos ácinos da próstata dos <i>hMa</i> do grupo-controle versus grupo-finasterida.....	42

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito da finasterida no *PSA* sérico e na próstata hMa. **Métodos:** Vinte hMa adultos, machos, foram divididos em grupos de dez animais: dez animais para o grupo-finasterida e dez animais para o grupo-controle. No grupo-finasterida foram administrados 7,14 ng/mL de finasterida, subcutâneo (SC), no dorso, dose equivalente a 1.000 vezes menor a que é administrada a um homem adulto de 70Kg por noventa dias. Após serem mortos por hipovolemia no momento da colheita do sangue para dosagem do *PSA* sérico pela técnica *ELISA*, os animais foram submetidos à laparotomia, e as próstatas foram retiradas em monobloco, dissecadas e fixadas em formalina a 10% e submetidas a estudo por microscopia óptica de luz e estudo morfométrico. Foi avaliado o diâmetro dos ácinos e do epitélio acinar prostático, a apoptose, a expressão *AgNORs* e a celularidade. **Resultados:** Ao final da pesquisa, o grupo-finasterida apresentou idade média de $17,7 \pm 0,67$ meses. O grupo-controle apresentou idade média de $15,2 \pm 1,13$ meses. O valor de “t” na comparação das médias das idades entre os dois grupos foi de 5,98 e $p= 0,001$. O grupo-controle pesou em média $129 \pm 18,82$ g e o grupo-finasterida $145,0 \pm 15,27$ g; “t” = 2,08 e $p= 0,0514$. O grupo-finasterida apresentou média de *PSA* de $0,003 \text{ ng/mL} \pm 0,0048$, mediana de 0,003 e o grupo-controle apresentou média de $0,633 \text{ ng/mL} \pm 0,763$, mediana de 0,634, $H= 7,98$ e $p= 0,0047$. A área dos ácinos do grupo-controle foi de $398,6 \pm 55,32 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ e $238 \pm 24,6 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ para o grupo-finasterida; “t”= 2,653; $p= 0,0122$. A área do epitélio acinar foi de $160,4 \pm 18,43 \mu\text{m}^2 \times 10^3$ para o grupo-controle *versus* $111,9 \pm 12,82 \mu\text{m}^2 \times 10^3$ para o grupo-finasterida; $t= 2,162$; $p= 0,0361$. A expressão de *AgNORs* foi menor no grupo-finasterida. Os animais do grupo-controle apresentaram média de $3,68 \pm 1,07$ grumos de argirófilos/ μm^2 , mediana= 4 e os animais do grupo-finasterida apresentaram média de $2,846 \pm 0,877$ grumos argirófilos/ μm^2 e mediana= 3, $p= < 0,0001$. A apoptose foi mais frequente no grupo-finasterida, $53,62 \pm 1,389$ *versus* grupo-controle, $14,76 \pm 2,137$, $p= 0,0408$. Não houve diferença na celularidade entre os grupos de animais, $74,75 \pm 5,5$ células no grupo-controle *versus* $65,07 \pm 13,24$, no grupo-finasterida, $p= 0,5105$. **Conclusão:** O uso da finasterida, diminuiu o *PSA* sérico, as áreas dos ácinos e do epitélio acinar a expressão de *AgNORs* e promoveu a apoptose nos ácinos da próstata dos hMa que fizeram uso desse medicamento. Não houve diferença significativa na celularidade acinar entre os dois grupos de animais estudados.

Descritores: Finasterida; próstata; *PSA*; hamster; citotóxica.

ABSTRACT

Objectives: To assess the effects of finasteride on serum PSA levels and prostate of *hMa*.
Methods: Twenty adults *hMa*, males, were divided in groups of ten animals: ten animals for the finasteride-group and ten animals for the control-group. In the finasteride-group, they were administered 7.14 ng/mL of finasteride, subcutaneous, in the back, equivalent dose to 1,000 times smaller than it is administered an adult man of 70Kg by ninety days. After they were killed by hypovolemia at the moment of the crop of the blood for dosage of the serum PSA for the ELISA method. Prostate was removed alongwith the whole genitourinary system via laparotomy and dissected and fixed with 10% formic aldehyd and submitted to study by light microscope and then underwent for morphometric analysis. The diameter of the acinous and epithelium acinous was evaluated, the apoptose, the expression AgNORs and the cellularity. **Results:** At the end of the study, the finasteride-group had a mean age of 17.7 ± 0.67 months. The control group had a mean age of 15.2 ± 1.13 months. The value of "t" in comparable averages in age between the two groups was 5.98 and $p = 0.001$. The control-group weighed on average $129g \pm 18.82g$ and the finasteride-group $145 \pm 15.27g$, $t = 2.08$ and $p = .0514$. At the end of the research, the finasteride-group presented a mean age of $17.7 \pm .67$ months. The finasteride-group presented a mean PSA serum level of $.003 \text{ ng/mL} \pm .0048$, a median value of .003 and the control-group presented a mean of $.633 \text{ ng/mL} \pm .763$ and a median value of .634, $H = 7.98$ and $p = .0047$. The acinous area in the finasteride-group was of $238 \pm 24.6 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ versus $398.6 \pm 55.32 \times 10^3 \mu\text{m}^2$; "t"= 2.653; $p = .0122$. The acinous area of the epithelium in the finasteride-group was of $111.9 \pm 12.82 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ versus $160.4 \pm 18.43 \times 10^3 \mu\text{m}^2$; $t = 2.162$; $p = .0361$. The expression of AgNORs was smaller in the finasteride-group. The control animals presented a mean of 3.68 ± 1.07 clusters of argyrophillic cells/ μm^2 , median= 4 and the finasteride-group presented a mean of $2.846 \pm .877$ clusters of argyrophillic cells/ μm^2 and a median= 3; $p < .0001$. Apoptosis was more frequent in the finasteride-group, 53.62 ± 1.389 versus control-group, 14.76 ± 2.137 , $p = .0408$. There was no difference in the cellularity between the two groups of animals, 74.75 ± 5.5 cells in the control-group versus 65.07 ± 13.24 in the finasteride-group, $p = .5105$. **Conclusion:** The use of finasteride reduced the serum PSA levels, the areas of acinous and acinous epithelium and the expression of AgNORs and promoted apoptosis in the acinous of the prostate of finasteride-group. There was no significant difference in the acinous cellularity between the two groups of animals that were studied.

Keywords: Finasteride; prostate; PSA; hamster; cytochemistry.

Índice

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVO.....	6
3	LITERATURA.....	8
3.1	Finasterida.....	9
3.2	<i>Prostate Specific Antigen (PSA)</i>	12
3.3	<i>Argyrophilic Nuclear Organizer Regions (AgNORs)</i>	17
3.4	Apoptose.....	18
3.5	hamster - <i>Mesocricetus auratus (hMa)</i>	21
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1	Delineamento experimental.....	24
4.2	Técnica de preparação da finasterida.....	25
4.3	Parâmetros e estratégia morfométrica.....	29
4.4	Tratamento Estatístico.....	32
5	RESULTADOS.....	33
6	DISCUSSÃO.....	43
7	CONCLUSÃO.....	50
8	REFERÊNCIAS.....	52