

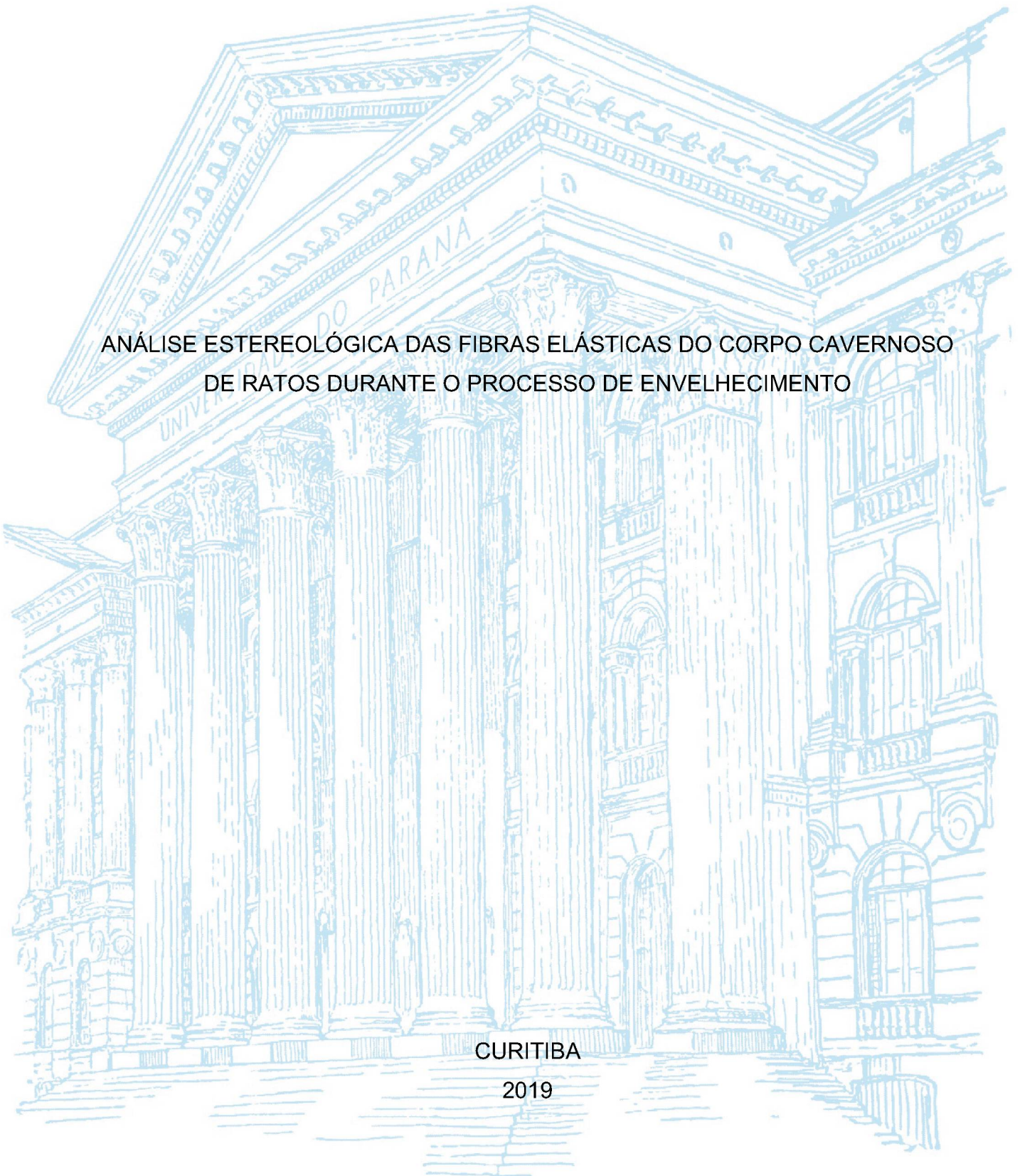
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THIAGO HOTA

ANÁLISE ESTEREOLÓGICA DAS FIBRAS ELÁSTICAS DO CORPO CAVERNOSO
DE RATOS DURANTE O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

CURITIBA

2019



THIAGO HOTA

ANÁLISE ESTEREOLÓGICA DAS FIBRAS ELÁSTICAS DO CORPO CAVERNOSO
DE RATOS DURANTE O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica no Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Fraga

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Lorenzini

CURITIBA

2019

H832 Hota, Thiago

Análise estereológica das fibras elásticas do corpo cavernoso de ratos durante o processo de envelhecimento [recurso eletrônico] / Thiago Hota. – Curitiba, 2019.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Fraga

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Lorenzini

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Disfunção erétil. 2. Envelhecimento. 3. Ratos de Wistar.
4. Corpo cavernoso. 5. Tecido elástico. I. Fraga, Rogério de.
II. Fernando, Lorenzini. III. Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica. Setor de Ciências da Saúde da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

NLMC: WJ790

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA
JORDÃO CRB 9/991



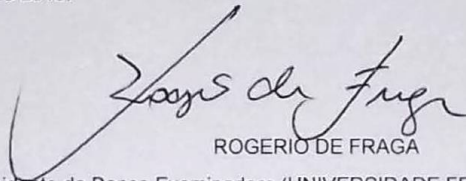
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA (CLÍNICA
CIRÚRGICA) - 40001016018P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA (CLÍNICA CIRÚRGICA) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **THIAGO HOTA** intitulada: **ANÁLISE ESTEREOLÓGICA DAS FIBRAS ELÁSTICAS DO CORPO CAVERNOSO DE RATOS DURANTE O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO**, sob orientação do Prof. Dr. ROGERIO DE FRAGA, que após ter inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

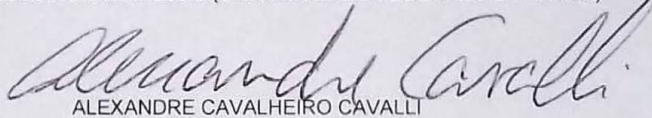
A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 10 de Outubro de 2019.



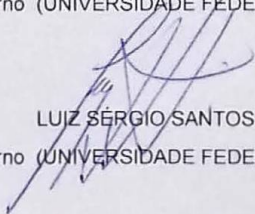
ROGERIO DE FRAGA

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



ALEXANDRE CAVALHEIRO CAVALLI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



LUIZ SÉRGIO SANTOS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me permitir alcançar os objetivos traçados continuamente, pela consciência de que nada se consegue sem trabalho árduo e dedicação.

Aos meus pais, Silvia A. Spagnollo e Alberto Hota Neto que foram meus primeiros mestres, ensinando-me a necessidade do conhecimento, a importância da dúvida e a resiliência que acompanha a busca do mérito.

À minha esposa, Cristina Gerhardt Hota, companheira de todas as horas, minha razão, minha paixão, minha fortaleza.

Ao Professor Rogério de Fraga, amigo e orientador, que tem o ensino por dom, e o amor à ciência que contagia aqueles que tem o privilégio de sua convivência.

Ao Professor Fernando Lorenzini, coorientador, que tem a facilidade de fazer ciência e inteligência única para elevar o valor de uma dissertação.

À professora Djanira Veronez, pelo auxílio no experimento.

Aos amigos que permitiram compartilhar de seu experimento e de sua inteligência: Eduardo F. Melchiorretto, Marcelo Zeni, Bruno Vinicius Duarte Neves, Eduardo Pereira de Miranda e Gustavo Lenci Marques.

Aos companheiros de residência, Roberto Kinchescki, Bruno Oliveira Toninello, Gino Pigatto Filho, Christian Artner e Matheus Belote.

Agradeço à CAPES, que contribui com a bolsa que auxiliou nos gastos do projeto.

Ao professor Dr Jorge Fouto Matias, coordenador do Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica.

Aos professores, funcionários e colegas da disciplina de Urologia do Hospital de Clínicas da UFPR, pela formação acadêmica ímpar e coleguismo.

“Podemos ver mais longe do que nossos predecessores, não porque temos visão mais aguçada ou maior altura, mas porque somos levantados e carregados sobre sua estatura gigantesca”

(João de Salisbury, 1159)

RESUMO

Proposta: Analisar as alterações quantitativas das fibras elásticas no corpo cavernoso de ratos Wistar durante o processo de envelhecimento, utilizando a análise estereológica para determinar as densidades volumétricas (Vv) em diferentes idades. **Métodos:** 48 ratos submetidos a condições semelhantes foram divididos em 4 grupos, baseados em suas idades no momento da eutanásia sendo G1 (6 meses), G2 (9 meses), G3 (12 meses) e G4 (24 meses), foram submetidos à penectomia e selecionado fragmento médio do corpo peniano para análise dos corpos cavernosos. Os cortes foram corados com Resorcina Fucsina de Weigert e analisados através da técnica estereológica do sistema teste grid M42, de modo a determinar as (Vv) das fibras elásticas. **Resultados:** As densidades volumétricas médias não mostraram diferenças significativamente estatísticas nos grupos 1,2 e 3, demonstrando Vv média de 16%. No grupo 4 a Vv: 11%, representou redução estatisticamente significativa quando comparado aos demais grupos. **Conclusão:** O envelhecimento natural em ratos Wistar determinou redução na Vv de fibras elásticas do corpo cavernoso (aproximadamente 30% de decréscimo), durante a senescência.

Palavras-chave: Tecido elástico. Envelhecimento. Disfunção erétil. Ratos de Wistar. Corpo cavernoso.

ABSTRACT

Purpose: The aim of this study was to evaluate changes in the quantity of elastic fibers in the corpora cavernosa of rats during the natural aging process, and to assess the degree of this change by determining volumetric density (Vv) at different ages via stereological analysis. **Methods:** Forty-eight rats, raised under similar conditions, were subjected to the natural aging process and divided into four groups (G1 to G4), according to age at the time of penectomy (6, 9, 12, and 24 months, respectively). Histological sections of the middle segment of the penis were stained with Weigert's resorcin-fuchsin (grid M42), and the Vv of elastic fibers of the corpora cavernosa were determined via stereological analysis. **Results:** There were no statistically significant differences in Vv among groups G1, G2, and G3. These three groups were therefore considered as a single group. The mean Vv of group G4 showed a statistically significant reduction compared to that of G1, G2 and G3 as a single group (0.16 versus 0.11, $p < 0.05$). **Conclusion:** Natural aging in rats was responsible for a reduction in the Vv of elastic fibers of the corpora cavernosa (approximately 30% decrease) during senescence.

Key words: Elastic tissue. Aging. Erectile dysfunction. Rats, Wistar. Corpus Cavernosum.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – MECANISMO DE COMPRESSÃO VENOSA SUBTUNICAL.....	12
FIGURA 2 – LÂMINA COMPOSTA POR 10 SECÇÕES CONSECUTIVAS DE CORPOS CAVERNOSOS.	
FIGURA 3 – FIBRAS ELÁSTICAS CORADAS COM RESORCINA-FUCSINA DE WEIGERT.....	20
FIGURA 4 – SECÇÃO DE CORPO CAVERNOSO CORADO COM RESORCINA- FUCSINA DE WEIGERT.....	21
FIGURA 5 – GRID M42 SOBRE IMAGEM DE CORPO CAVERNOSO	22
FIGURA 6 – GRID M42 PARA ANÁLISE ESTEREOLÓGICA.....	23

LISTA DE ABREVIATURAS

DAEM	-	Distúrbio androgênico do envelhecimento masculino
DE	-	Disfunção erétil
IUA	-	Isotrópicos, uniformes e aleatório
G1	-	Grupo 1
G2	-	Grupo 2
G3	-	Grupo 3
G4	-	Grupo 4
Vv	-	Densidade volumétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	FISIOPATOLOGIA DA DISFUNÇÃO ERÉTIL	11
1.2	ARQUITETURA DO TECIDO INTRACAVERNOSO.....	12
1.3	CORPO CAVERNOSO E O ENVELHECIMENTO.....	14
1.4.	ESTEREOLOGIA	15
1.5	OBJETIVO.....	16
2	MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1	GRUPOS.....	17
2.2	EXPERIMENTAÇÃO.....	18
2.2.1	Método de coloração resorcina fucsina de Weigert	19
2.3	ESCOLHA DO MÉTODO ESTEREOLÓGICO	21
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	23
3	ARTIGO - STEREOLOGICAL ANALYSIS OF ELASTIC FIBERS	
	THE CORPUS CAVERNOSUM OF RATS DURING AGING PROCESS ..	24
4	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39
	APÊNDICE 1 - DADOS DA ESTEREOLOGIA	41
	ANEXO 1 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	
	DO SETOR DE CIÊNCIAS DA BIOLÓGICAS/UFPR	67
	ANEXO 2 - PROTOCOLO DE SUBMISSÃO DO ARTIGO NO JORNAL	
	CIENTÍFICO ACTA CIRÚRGICA BRASILEIRA	68

1 INTRODUÇÃO

Uma das características do século 21 será a mudança em direção ao envelhecimento populacional em quase todos os países. Os benefícios e desafios desta mudança terão implicações econômicas, na dinâmica das famílias e no manejo em saúde, devido à criação de novas demandas

Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) apontam para uma população de 228,3 milhões de brasileiros em 2047, sendo que um quarto deste todo será composto por pessoas com idade superior a 65 anos. Atualmente alguns estados brasileiros já apresentam esperança de vida ao nascer tão elevados como países de primeiro mundo, Santa Catarina tem uma taxa para ambos os sexos de 79,7 anos (IBGE, 2018).

Interessante notar que o envelhecimento populacional vem acompanhado de um forte desenvolvimento dos cuidados em saúde, portanto teremos cada vez mais pessoas que chegam aos 65 anos gozando de boa saúde, com demandas antes inerentes a populações mais novas. A vida sexual é um exemplo de um vasto campo a ser explorado.

Ainda há muitos mitos que relacionam a senilidade com o término da vida sexual, entretanto em estudo recente do Global Study of Sexual Attitudes and Behaviors, onde 27.500 pessoas entre 40-80 anos foram avaliados, 80% dos homens referiram 1 intercurso sexual no último ano, 28% destes referiram alguma disfunção sexual neste período. Logo se torna mister aprofundarmos o conhecimento do envelhecimento peniano fisiológico, assim como os estados patológicos que podem comprometer o seu funcionamento adequado.

A disfunção erétil (DE) é definida como a incapacidade de iniciar ou manter uma ereção satisfatória para o intercurso sexual, o manual de diagnósticos e estatísticas de distúrbios mentais-4 especifica uma duração de ao menos 6 meses para o diagnóstico definitivo Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2003). Aproximadamente 152 milhões de homens são afetados pela disfunção erétil ao redor do mundo. Projeções preveem que em 2025 esse número deva chegar a 322 milhões. Estima-se que 20% dos homens entre os 50-59 anos apresentem certo grau de disfunção (GREIBLING, 2014). O Processo fisiopatológico da disfunção erétil é multifatorial, englobando desde

fatores hormonais como a queda da testosterona associada a disfunção androgênica do envelhecimento masculino (DAEM) até mesmo fatores anatômicos e funcionais causados pelo processo de envelhecimento natural ou acelerado por outras doenças. As alterações na ultraestrutura peniana são foco de inúmeros estudos que buscam determinar os elementos que se alteram com a idade e o motivo destas alterações.

1.1 FISIOPATOLOGIA DA DISFUNÇÃO ERÉTIL

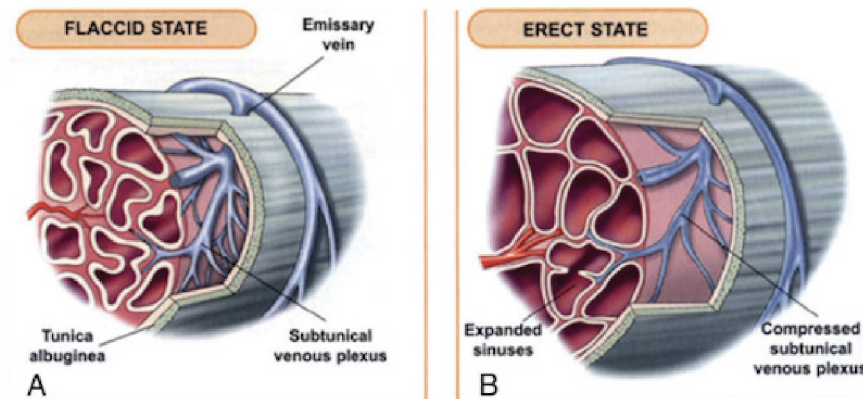
A DE é geralmente multifatorial, sendo 2 grupos de causas os mais comuns, que acabam colaborando em maior ou menor grau com o seu desenvolvimento, são eles o grupo de causas orgânicas e o de causas psicogênicas (GOLDSTEIN et al., 1999). O fator psicogênico é composto basicamente por 2 mecanismos, primeiramente a inibição direta do centro sacral da ereção pelo cérebro, inibição suprassacral exagerada, e a segunda possibilidade é o estímulo simpático excessivo ou elevação periférica dos níveis de catecolaminas, os quais determinam uma elevação no tônus da musculatura lisa e impede seu relaxamento adequado (DIEDERICHS et al., 1991).

Dentre as causas orgânicas podemos elencar os subgrupos principais em vasculogênicos, neurogênicos, anatômicos e endocrinológicos, cabendo destaque nestes subgrupos às causas vasculogênicas. As causas arteriais causadas comumente por aterosclerose e trauma arterial oclusivo, determinam queda na pressão de perfusão e do fluxo arterial aos espaços sinusoidais, causando ereções menos rígidas e com demora para se atingir ereção satisfatória (FELDMAN, 1994). No plano microestrutural a atividade exacerbada da RhoA/Rho-kinase leva à hipercontratibilidade da musculatura lisa do corpo cavernoso, associando-se à disfunção erétil em animais diabéticos, hipertensos e com hipercolesterolemia. A disfunção endotelial foi proposta como ligação comum entre as doenças cardiovasculares e a disfunção erétil (PARK et al., 2006).

A disfunção venogênica é outra causa de DE vasculogênica, sendo resultado de vários processos patológicos, como a degeneração da túnica albugínea, alterações estruturais fibroelásticas, relaxamento insuficiente da musculatura lisa e shunts venosos. Alterações nos componentes fibroelásticos das trabéculas, no músculo liso dos corpos cavernosos, e na função endotelial podem resultar em fuga venosa

(FIGURA 1). Relaxamento muscular liso insuficiente, causa expansão sinusoidal inadequada e compressão insuficiente das vênulas subtunicais (CHRIST et al., 1990).

FIGURA 1 – MECANISMO DE COMPRESSÃO VENOSA SUBTUNICAL



FONTE: WEIN A.J. et al. **Campbell-Walsh urology**. 11 th ed. Philadelphia: Elsevier, 2016.

1.2 ARQUITETURA DO TECIDO INTRACAVERNOSO

As trabéculas do corpo cavernoso promovem um suporte arquitetural e mecanismo regulatório para os espaços sinusoidais cobertos por endotélio, assim como um conduto para vasos sanguíneos e nervos. O relaxamento das trabéculas permite a expansão e enchimento dos sinusóides pela chegada de sangue, enquanto a contração das trabéculas expulsa o sangue pelas veias emissária e devolve o pênis ao status de flacidez.

O corpo cavernoso é basicamente composto por células musculares lisas repousadas sobre um complexo sistema formado por fibras elásticas e colágenas. O papel das fibras musculares lisas é o de manter a ereção aumentando a pressão intracavernosa durante a ereção, a qual não tem a capacidade ser mantida por mecanismos vasculares isoladamente. As células musculares por serem os principais componentes dinâmicos do corpo cavernoso apresentam inúmeros filamentos contráteis intracitoplasmáticos, portanto para se iniciar a tumescência peniana e manter a rigidez obtida uma adequada proporção de células musculares lisas deve ser mantida (GOLDSTEIN et al., 1982).

Realizando estudo em corpos cavernosos de ratos através da análise estereológica das fibras elementares da matriz extracelular, Pinheiro et al. (2000)

demonstraram que o colágeno é o elemento mais abundante, com densidade volumétrica de 62,7%, sendo o colágeno tipo I e III a fibrilas mais extensamente produzidas pelo corpo cavernoso. As fibras colágenas são proteínas com função elementar na sustentação de tecidos sujeitos à força de estiramento, a trama subendotelial de fibrilas finas é responsável por distribuir a força de têsil durante a ereção, prevenindo a hiperdistensão das células musculares lisas e da membrana basal evitando desta forma a distorção da anatomia original das trabéculas do corpo cavernoso.

A caracterização e quantificação de fibras elásticas mostrou-se de importância fundamental na análise de condições patológicas que acometem o pênis, principalmente a obstrução arterial crônica e o diabetes mellitus. Essas fibras chegam a representar 9,4% da composição do corpo cavernoso no homem adulto com orientação irregular, nos estudos envolvendo ratos sua proporção se mostra ligeiramente inferior com orientação específica, sendo as fibras da porção interna das trabéculas orientadas transversalmente e da porção externa dirigidas paralelamente ao eixo mais longo do pênis. As fibras elásticas nas trabéculas formam uma trama frouxa em direções distintas às das fibras colágenas, possivelmente refletindo a multiplicidade de direções das forças que ocorrem durante a ereção.

O sistema de fibras elásticas é composto por 3 tipos de fibras: oxitalânicas, eulanínicas e elásticas. As oxitalânicas são formadas exclusivamente por miofibrilas, as eulanínicas por microfibrilas e por um material amorfo denominado elastina e as elásticas por uma grande quantidade de elastina e fibrilas, sendo caracterizadas por sua capacidade de extensão e recolhimento (AKKUS et al., 1997).

As fibras elásticas e colágenas cumprem um papel único em manter a estrutura peniana durante a ereção e permitir a resistência adequada durante o retorno ao estado de flacidez.

1.3 CORPO CAVERNOSO E O ENVELHECIMENTO

Há um marcante declínio na função sexual masculina com o envelhecimento

e este processo ocorre independentemente de outros fatores que acometem a capacidade de ereção. Dentre os sinais e sintomas observados encontram-se um maior tempo de latência entre as ereções, menor turgidez, perda da força de ejaculação, assim como redução e menor frequência das ereções noturnas em homens idosos. A disfunção endotelial é considerada uma expressão fenotípica primária no processo natural de envelhecimento humano. Esta desordem causada pelo processo de senescência é provavelmente o culpado pelas doenças cardiovasculares e metabólicas associadas ao envelhecimento (TOM, 2016).

Vários estudos em animais e humanos demonstram alterações estruturais e funcionais que ocorrem com o envelhecimento. O tecido peniano é composto por células musculares lisas repousando sobre uma complexa trama de fibras colágenas e elásticas, mudanças nas quantidades de células musculares, fibras colágenas ou elásticas são responsáveis por alterações estruturais penianas com redução na elasticidade e complacência.

Shen et al. (2001) estudando as alterações penianas durante o envelhecimento em ratos Wistar, avaliaram os componentes das trabéculas do corpo cavernoso nas idades de 9 (grupo A), 14 (grupo B) e 62 (grupo C) semanas de idade, demonstrando uma queda na quantidade de células musculares lisas no grupo C, as fibras elásticas e colágenas tiveram comportamento antagônico a partir do grupo B, com estas aumentando quantitativamente e aquelas com regressão progressiva com a idade. Estes achados são semelhantes ao encontrados quando comparamos homens com e sem disfunção erétil, permitindo inferir que o envelhecimento de ratos por si só, causam alterações estruturais semelhantes às de animais com disfunção erétil.

Abidu-Figueiredo et al. (2011) estudando o papel das fibras elásticas no envelhecimento peniano de coelhos, puderam demonstrar um aumento progressivo na quantidade destas fibras entre 30 dias de idade e 240 dias (puberdade), proporção que se manteve em animais em fase de senescência, dados contrários aos encontrados em ratos e humanos.

O papel funcional das fibras elásticas no corpo cavernoso peniano ainda pode ser apreciado no trabalho de Costa et al. (2006), avaliando pacientes submetidos a cirurgia por DE e os comparando a controles de mesma idade, desta forma retirando o viés das diferenças de idade, concluíram que não havia diferenças entre a quantidade de fibras colágenas e fibras musculares lisas entre os grupos, todavia na

análise específica de fibras elásticas houve uma redução quantitativa significativa no grupo com disfunção erétil, corroborando dados encontrados na literatura, deduzem que esta redução quantitativa deva ser responsável por alterar a capacidade de relaxamento do tecido cavernoso e teria papel importante na etiologia da disfunção erétil

1.4 ESTEREOLOGIA

A estereologia é uma ciência que tenta determinar o arranjo tridimensional interno de uma estrutura, se baseando em fatias desta estrutura, que apenas fornecem dados bidimensionais, para esta análise a estereologia se baseia em um sistema-teste composto por pontos-teste.

A estereologia pode ainda ser definida como um conjunto de procedimentos baseados em geometria e probabilidade que, a partir de medições ou contagem de elementos estereológicos de uma imagem plana de uma estrutura tridimensional, produz informações sobre características da estrutura original (SILVA, 2007).

As características estruturais que podem ser determinadas pela estereologia são: volumes de certos elementos estruturais (o que pode representar a determinação de composição de materiais ou frações de fases presentes), áreas de elementos superficiais planos ou não, comprimentos de elementos lineares, nível de vizinhança entre fases presentes em uma estrutura (denominada contigüidade) e tamanhos de elementos volumétricos (como grãos), entre outras (SILVA, 2007).

A acurácia do método é baseada em princípios estatísticos (tamanho da amostra, randomização e isotropia) e seus benefícios técnicos são vários:

- 1- Seus resultados são numéricos e objetivos, reproduzíveis e fáceis de serem analisados por outros cientistas em outros momentos;
- 2- A comparação entre diferentes grupos pode ser dividida mais facilmente;
- 3- O auxílio de computadores está reduzindo o tempo de análise e facilitando a análise de dados;
- 4- Vasta literatura que serve como suporte para o uso desta técnica;
- 5- Facilidade em treinar novos cientistas.

1.5 OBJETIVO

- a) Determinar o comportamento quantitativo das fibras elásticas no corpo cavernoso de ratos Wistar durante o processo de envelhecimento, por meio de análise estereológica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento realizado seguiu rigorosamente todos os princípios éticos da experimentação animal estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação

Animal (COBEA) e as exigências do *Canadian Concil on Animal Care* (1993).

Este trabalho derivou de um projeto previamente aprovado pela Comissão de ética em experimentação animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), intitulado: “Avaliação anátomo-fisiológica do envelhecimento urogenital masculino”. Seguindo as normas e rotinas foi apreciado e aprovado sob o processo de e 23075.032620/2010-10 (ANEXO 1).

2.1 GRUPOS

Para realização do presente estudo foram utilizados 48 ratos albinos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia*, *Mammalia*), do sexo masculino. Estes animais foram mantidos em gaiolas de polietileno com medidas de 60 x 50 x 22 cm e distribuídos em grupos de três animais por gaiola. As gaiolas foram devidamente identificadas com o nome do experimento e data de nascimento dos animais. A umidade e temperatura do ar (22 graus Celsius) foram controladas, realizado ciclo claro/escuro de doze horas. Os roedores foram mantidos livres de ruídos externos, receberam água filtrada e ração comercial padrão específica para a espécie (Nuvilab – Nuvital – Colombo, Paraná, Brasil), *ad libitum* durante todo o período do experimento.

Os ratos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos de doze animais cada, sendo sacrificados conforme os diferentes tempos de vida de cada grupo:

Grupo 1 (G1)	Grupo 2 (G2)	Grupo 3 (G3)	Grupo 4 (G4)
6 meses	9 meses	12 meses	24 meses

2.2 EXPERIMENTAÇÃO

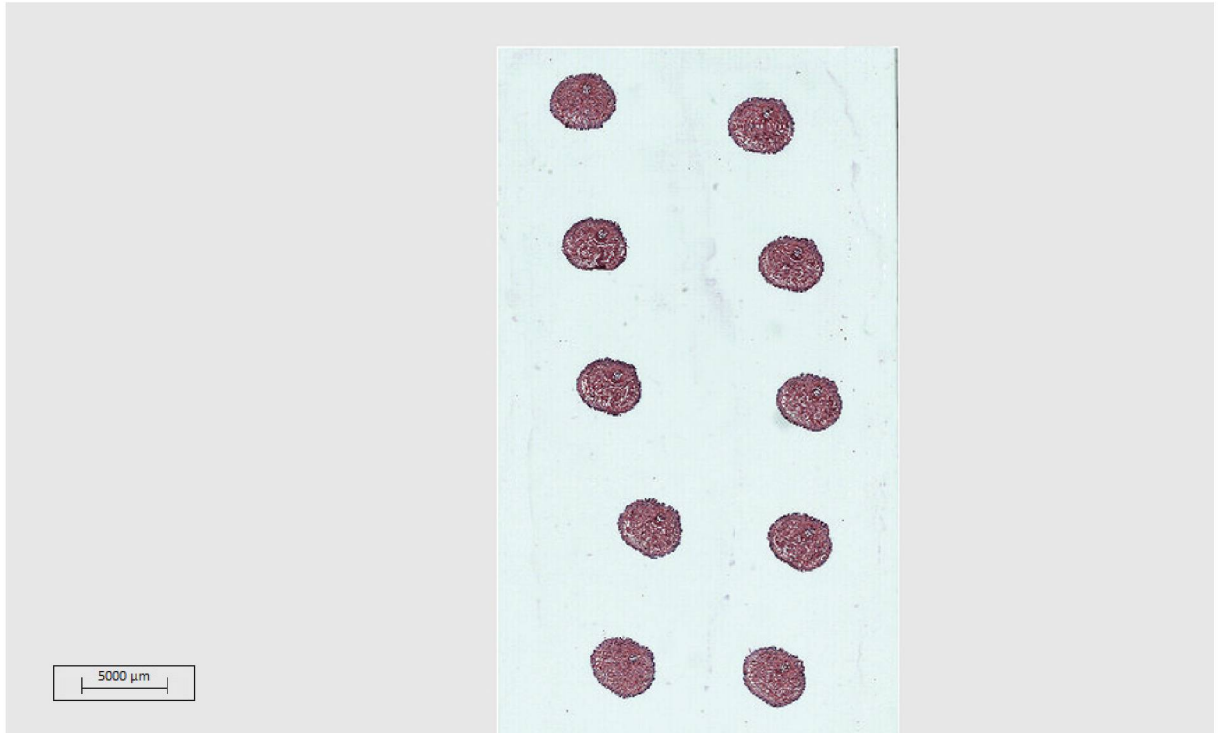
A execução do experimento ocorreu no Departamento de Anatomia do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (Curitiba, PR) em dias pré-determinados. Os animais, divididos em grupos por suas respectivas idades, foram separados em gaiolas individuais até o laboratório para sua morte e coleta de

materiais.

Os animais foram anestesiados com solução de cloridrato de Cetamina (57,67mg/ml) associado a 2% de Cloridrato de Xilazina (0,2g/10 L). Com aplicação de 1ml/1000g de peso vivo, via intraperitoneal. Após o procedimento anestésico, os roedores foram fixados com fita adesiva em prancha cirúrgica e submetidos a incisão mediana toraco-abdominal. Com acesso ao coração, os ventrículos foram puncionados e coletados 5-10 ml de sangue para análise bioquímica. Na sequência, realizado incisão dos ventrículos causando exsanguinação e indução de parada cardiorrespiratória. O ato operatório prosseguiu com a realização da penectomia e retirada de demais órgãos. O pênis foi retirado e posteriormente retirada sua pele, baseado na tese de Baddeley, Gundersen e Cruz-Orive (1986), optamos por utilizar o método de secções verticais em busca de cortes isotrópico, uniformes e aleatório (IUA), haja vista a conformação cilíndrica dos corpos cavernoso e sua composição isotrópica. O pênis foi apoiado sobre superfície horizontal e selecionado um segmento de seu terço médio, conforme a técnica descrita por Abidu-Figueiredo et al. (2011). Subsequentemente, o órgão foi submerso e fixado em ALFAC (85 partes de álcool etílico 80%, 10 partes de formaldeído 40% e 5 partes de ácido acético glacial, preparado no momento do uso) por 16 horas.

Após a fixação as peças foram mantidas em álcool 70% e em seguida o material foi desidratado em uma série decrescente de xilol e álcoois para serem incluídos em parafina e emblocados. Os materiais selecionados foram submetidos a cortes sucessivos do micrótomo com 5 µm de espessura (American Optical, Spencer AO 820). A amostragem foi montada com 10 cortes consecutivos (FIGURA 2) e montados em lâminas e corados pelo método de resorcina fucsina de Weigert.

FIGURA 2 – LÂMINA COMPOSTA POR 10 SECÇÕES CONSECUTIVAS DE CORPOS CAVERNOSOS



FONTE: O autor (2019).

NOTA: Secções de corpos cavernosos corados por resorcina fucsina de Weigert.

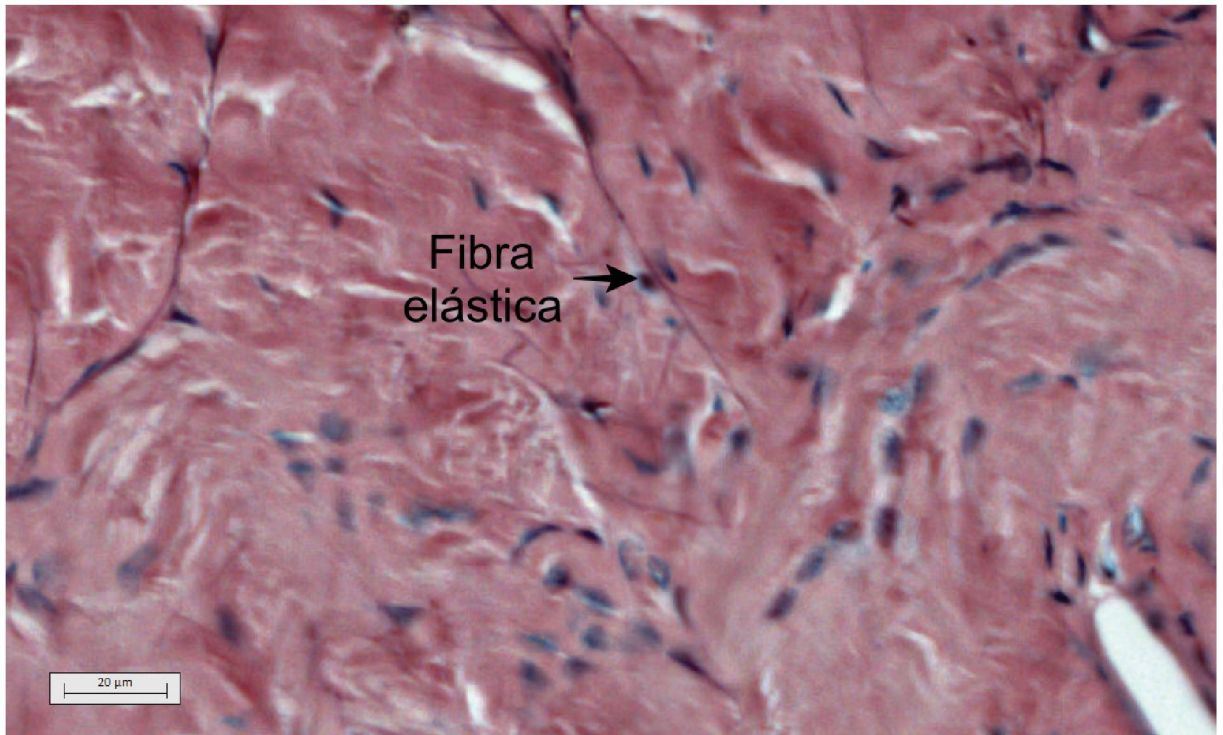
2.2.1 Método de coloração resorcina fucsina de Weigert

Os cortes foram desparafinados em xilol, hidratados em mudas de etanol absoluto e etanol a 90% e corados durante 60 minutos em solução de Weigert (2 g de fucsina básica, 4 g de resorcina dissolvidos em 200 ml de água em ebulição, após o que adicionou-se 25 ml de solução aquosa a 30% de cloreto férrico e deixou-se ferver durante dois a cinco minutos, filtrando-se e dissolvendo-se o precipitado, sem lavar, em 200 ml de etanol a 90% aquecido; após o resfriamento, juntaram-se 4 ml de ácido clorídrico concentrado). Os cortes foram lavados em álcool a 90%, em água, e mergulhados em solução de orange G a 0,5% por 20 segundos, para a coloração de Funda foram desidratados em etanol, clarificados em xilol e montados com lamínula em bálsamo-do-canadá.

O reativo de Weigert é formado pela deposição da resorcina básica-resorcina pelo cloreto de ferro demonstrando as fibras elásticas e elaunínicas (FIGURA 3). Um tratamento inicial com o permanganato de potássio acidificada e ácido oxálico promove um clareamento profundo, ressaltando as fibras elásticas coradas em violeta escuro (FIGURA 3). Optamos pela não utilização da oxidação com a oxona baseados nos achados de Pinheiro et al. (2000), que relata não haver diferenças nos padrões

de coloração nas lâminas tratadas ou não com oxidação, o que indica que as fibras consistem de componentes microfibrilares e quantidades variáveis de elastina e não apenas o primeiro.

FIGURA 3 – FIBRAS ELÁSTICAS CORADAS COM RESORCINA-FUCSINA DE WEIGERT



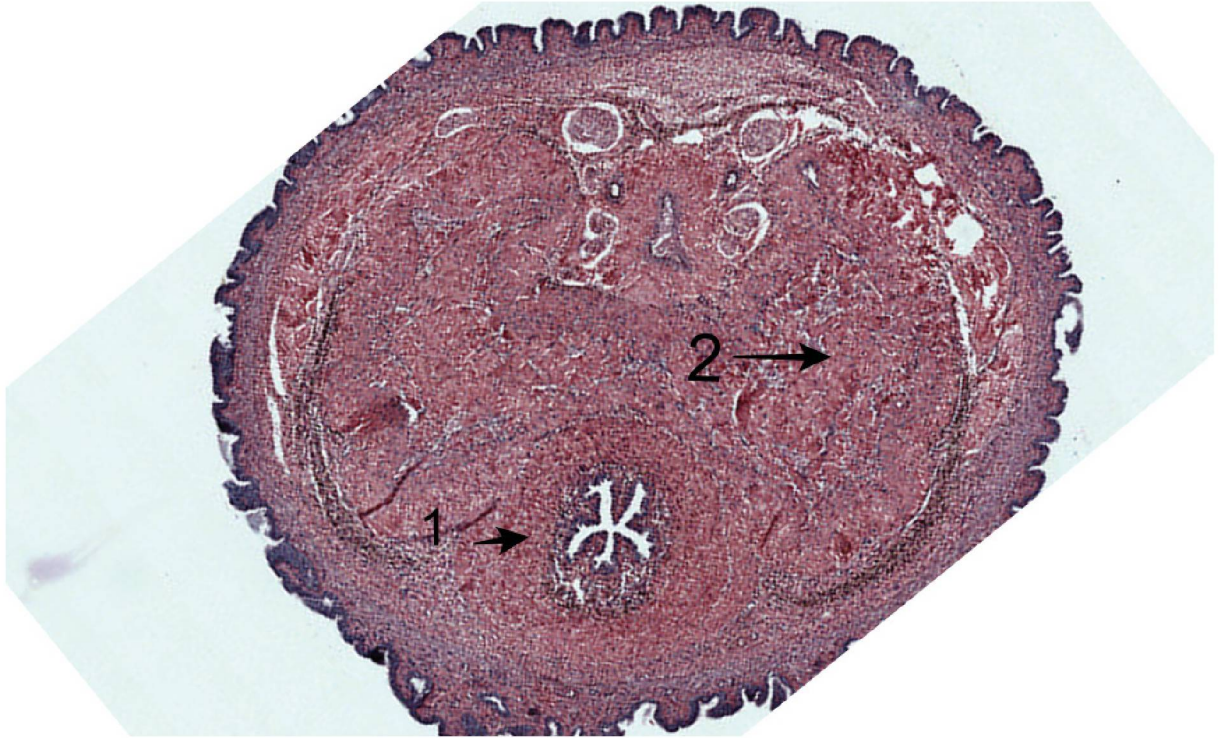
FONTE: O autor (2019).

NOTA: Microscopia de corpo cavernoso evidenciando as fibras elásticas coradas em violeta escuro, com formato de fibras alongadas.

As lâminas tiveram suas imagens digitalizadas (FIGURA 4) com aumento de 400 vezes, utilizando uma vídeo-câmera Olympus acoplada ao microscópio de luz, as imagens obtidas foram analisadas no computador com o auxílio do programa VSVviewer.

Para reduzir o viés presente nas análises estereológicas avaliamos 5 secções consecutivas, avaliando 5 campos aleatórios nos corpos cavernosos em cada uma das secções, determinando 25 campos-teste para cada rato, totalizando 1200 campos de análise.

FIGURA 4 – SECÇÃO DE CORPO CAVERNOSO CORADO COM RESORCINA-FUCSINA DE WEIGERT



FONTE: O autor (2019).

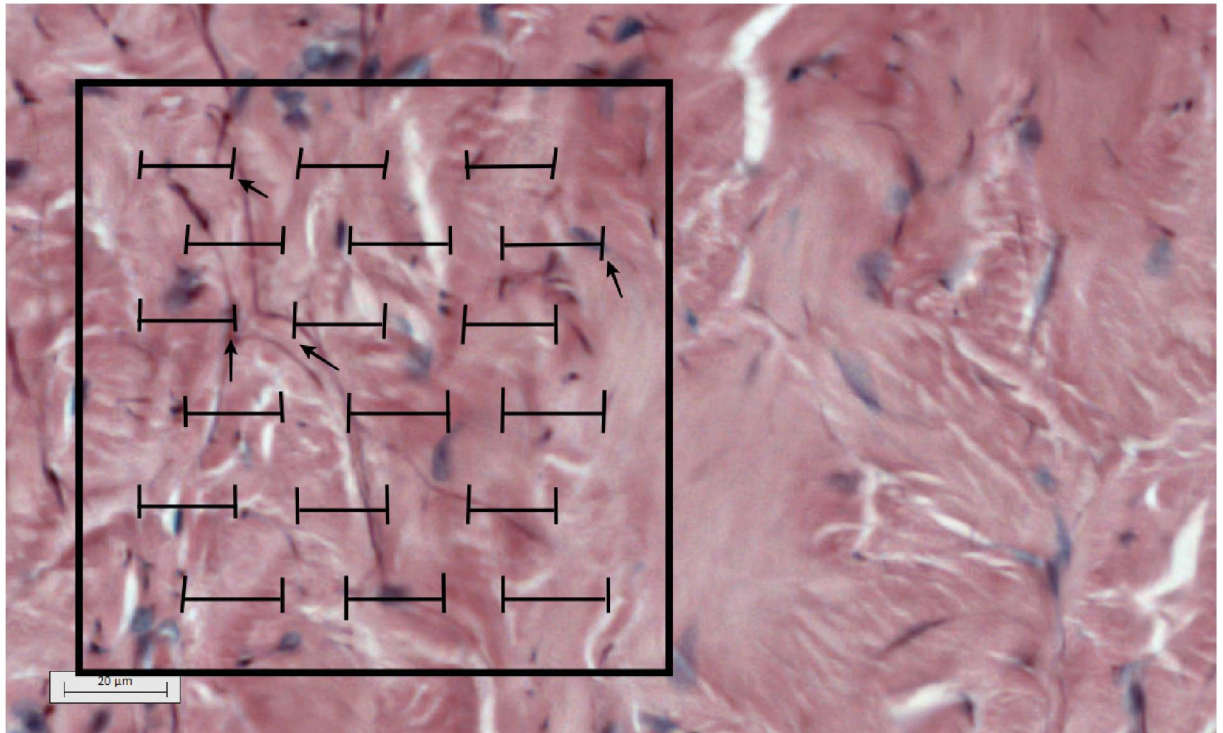
NOTA: Secção vertical de corpo peniano: Seta 1= Uretra / Seta 2: Corpo cavernoso.

2.3 ESCOLHA DO MÉTODO ESTEREOLÓGICO

Nos baseamos no princípio de *Delesse*, segundo o qual em uma rocha composta por vários minerais a área representada por determinado mineral na superfície de uma secção homogênea a aleatória, é proporcional ao volume deste mineral na rocha. Considerando o corpo cavernoso isotrópico com secções isotrópicas, uniformes e aleatórias, podemos determinar a quantidade de pontos parciais que tocam áreas de interesse pré-determinadas e a razão destes pontos pelo total de pontos no sistema teste configura a densidade volumétrica (V_v) uma poderosa ferramenta estereológica (MANDARIM-DE-LACERDA, 2003).

Estudos estereológicos necessitam linhas-teste, pontos-teste e área-teste, juntos compõem o sistema teste, este sistema é superposto à imagem a ser avaliada (FIGURA 5), e a cada vez que uma fibra elástica entrar em contato com um ponto teste este ponto é registrado.

FIGURA 5 – GRID M42 SOBRE IMAGEM DE CORPO CAVERNOSO

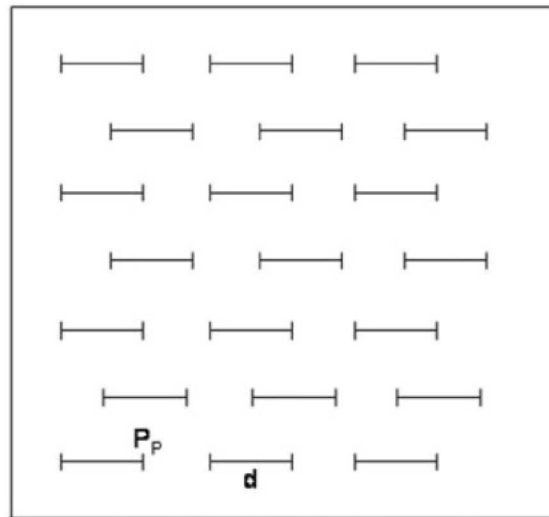


FONTE: O autor, rato número 20 (2019).

NOTA: Contagem das fibras elásticas que tocam pontos-teste de interesse mostradas pelas setas.

Utilizamos para nossa análise o “sistema-teste polivalente”, ou M42 (FIGURA 6). Segundo Weibel, Kistler e Scherle (1976) este sistema deve ser composto de 21 linhas de extensão “d”, sendo a área teste: $36,36d^2$, ao final de cada extremidade das linhas haverá um ponto teste, totalizando 42 pontos.

FIGURA 6 – GRID M42 PARA ANÁLISE ESTEREOLÓGICA



FONTE: MANDARIM-DE-LACERDA (2003).

Fórmula da densidade volumétrica:

$$V_v: P_p/P_t$$

P_p : pontos parciais, os quais tocam fibras elásticas

P_t : Pontos totais, no Sistema teste M42 este número é igual a 42.

Durante a análise de contagem manual respeitamos a teoria do estereologista Hans Gundersen, o qual buscando reduzir valores superestimados propôs que os elementos de análise que toquem qualquer uma das 2 linhas determinadas do sistema teste, sejam excluídos da contagem, estas linhas serão nominadas linhas proibidas.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A Correlação de Pearson foi inicialmente utilizada para avaliar a associação entre a idade do rato e a densidade volumétrica das fibras elásticas. Nos grupos que demonstraram diferença de proporção média das densidades volumétricas utilizamos o teste T de Welch. As análises foram realizadas utilizando o software R de computação estatística com nível de significância adotado de 95% ($p < 0,05$).

3 ARTIGO

Os dados da presente tese – resultados e discussão foram submetidos à análise e publicação na revista científica *Acta cirúrgica brasileira*, aceito para publicação no dia 25/07/2019 (fator de impacto: 0,933 pela Scielo, em 2017).

**Stereological Analysis of Elastic Fibers of the Corpus Cavernosum of Rats
During Aging Process**

Introduction

Erectile dysfunction (ED) is defined as the inability to initiate, maintain, and conclude a satisfactory sexual relationship. According to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)-5, symptoms must last for a minimum time of 6 months for diagnosis of ED¹. The incidence of ED is high, affecting approximately 152 million men worldwide².

ED may be caused by one or more comorbidities, and prevalence increases with aging. In addition to the arterial, hormonal, neurological, and veno-occlusive origins of ED, increasing evidence implicates the structural disorganization of corpus cavernosum trabeculae and changes in the content of the fibers that make up the tunica albuginea². Trabeculae are composed of endothelial and smooth muscle cells, as well as an extracellular matrix formed by collagen and elastic fibers. The elastic fibers are composed of fibrillar glycoprotein and fibril groups, which occupy extracellular spaces where they are embedded in elastin. This system allows the lengthening and increase of penile stiffness during erection, as well as the rapid return to a flaccid state after detumescence³. As these elastic fibers are produced in the early stages of life, in adulthood, the damaged fibers are repaired ineffectively, with protein material prepared in a disorganized manner and, therefore, may have impaired functional activity⁴.

The number of elastic fibers is reduced in men with ED compared to those in control subjects of the same age³, allowing us to infer its importance in the erection process. A reduction of these fibers in the corpora cavernosa of rabbits subjected to induced diabetes mellitus was previously reported⁵, and in another study conducted on healthy rats, a reduction in the volumetric density (Vv) of elastic fibers of the corpora cavernosa was observed in the early stages of adult life⁶. However, further studies are required to confirm these results⁶.

Experimental studies, especially those using rats, are a viable and economical option to demonstrate specific changes as rats have a short life span and therefore quickly reach the senescence phase⁶.

This study aimed to evaluate changes in the number of elastic fibers in the corpora cavernosa of rats during the natural aging process, and to assess the degree of this change by determining Vv at different ages via stereological analysis.

Methods

This study followed the ethical principles of animal experimentation established by the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and the norms of the Canadian Council on Animal Care (1993). It was previously approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation (CEEA), of the Sector of Biological Sciences of the Federal University of Paraná, as part of the project "Anatomical and physiological evaluation of male urogenital aging," process No. 23075.032620/2010-10.

Forty-eight Wistar rats (*Rattus norvegicus* var. *albinus*), raised under similar conditions, none of them mated females during its lifetime and were randomly divided into four groups of 12 rats each (G1, G2, G3, and G4). Animals were subjected to resection of the penis and other organs for other research at the ages of 6, 9, 12, and 24 months, respectively. For the surgical procedures, the rats were anesthetized intraperitoneally with a solution of Ketamin Hydrochloride (57,67mg/ml) associated to 2% xylazine hydrochloride at a dose of 1ml/Kg body weight. A one-punch cardiac puncture was carried out and induction of cardiac arrest by exsanguination. This was followed by resection of penis, kidneys, bladder, liver, brain, heart and aorta.

Histological processing

The penis of each rat was laid on a horizontal surface, and the middle third segment was resected, according to a technique previously described⁵. After tissue fixation in 10% formalin solution, the segment was kept in fixative solution for 16 hours, and then dehydrated by passage through solutions of xylene and alcohol. Finally, the sections were embedded in paraffin and cut into 5- μ m sections using a microtome (American Optical, Spencer AO 820). According to that described by Baddeley et al.⁷, we used the vertical section method, with isotropic, uniform, and random sections obtained according to the cylindrical shape of the corpora cavernosa and their isotopic compositions. Ten consecutive sections were mounted on slides and stained using

Weigert's resorcin-fuchsin method (Figure 1). Following the method described by Pinheiro et al. ⁸, we did not perform oxidation with Oxone, as there were no differences in staining patterns between the slides treated and not treated with oxidation.

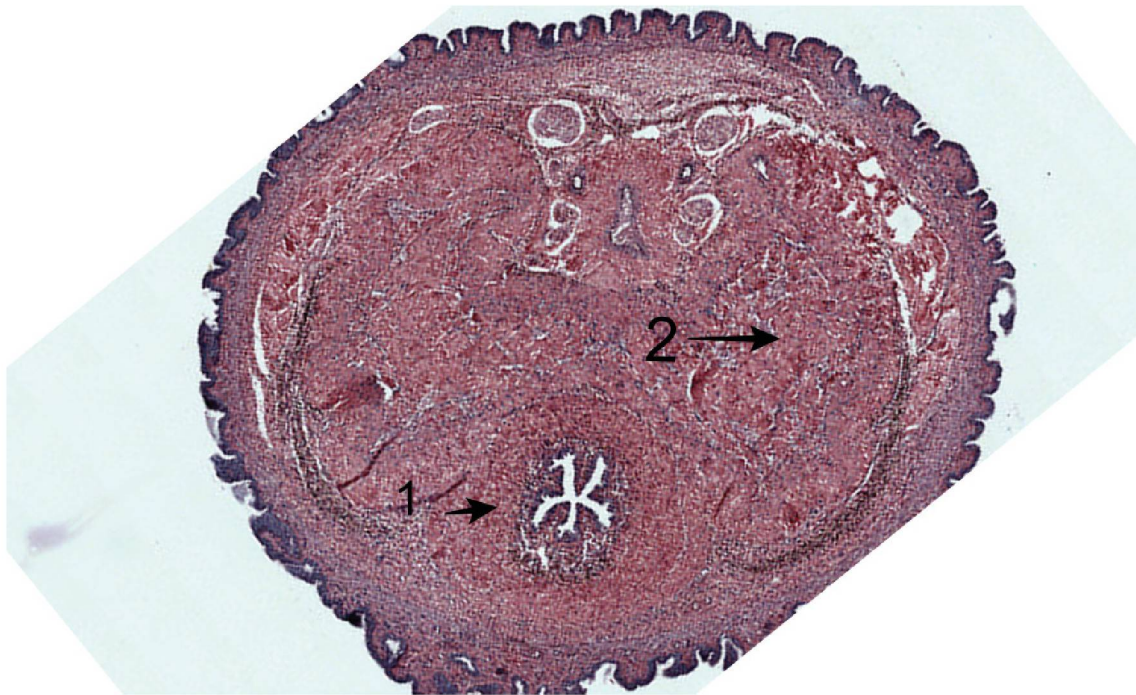


FIGURE 1 – Penile corpus stained with Weigert's resorcin-fuchsin.

Arrow 1, urethra; arrow 2, corpus cavernosum. Image was taken from rat number 10 (G1, euthanized at six months).

Images of the histological slides were captured using a video camera (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) coupled to an optical microscope at 400x magnification and were scanned and analyzed using the VSVviewer® software. In order to increase the accuracy of the stereological analyses, five consecutive sections were evaluated, with five randomly selected fields of the corpora cavernosa analyzed per section (i.e., 25 fields per each rat, totaling 1200 fields).

Analysis of the points of interest of the images was based on the determination of the Vv of elastic fibers using the grid M42 ⁹, comprising 42 test points that were superimposed on the selected image (Figure 2). Manual counting was performed, without using computerized analysis. The number of test points contacted by elastic fibers was divided by the total number of test points in the field, and the resulting percentage of elastic fibers was used to determine Vv.

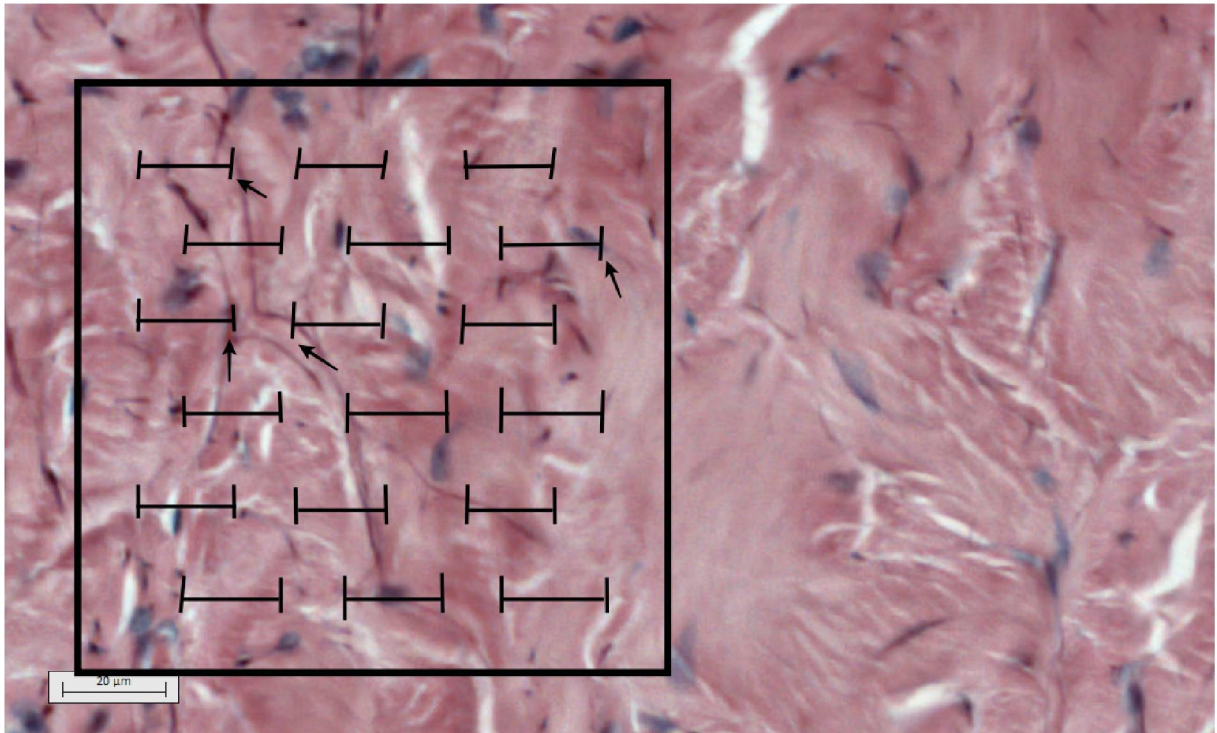


FIGURE 2 - Grid M42 superimposed on the corpus cavernosum. Elastic fibers that contact the test points (marked by black arrows) were counted. Image taken from rat number 10 (G3, euthanized at 12 months).

Vv was determined according to the following formula: $Vv = Pp/Pt$, where Pt = number of total points (test), and Pp = number of partial points (number of points contacted by fibers – number of positive points).

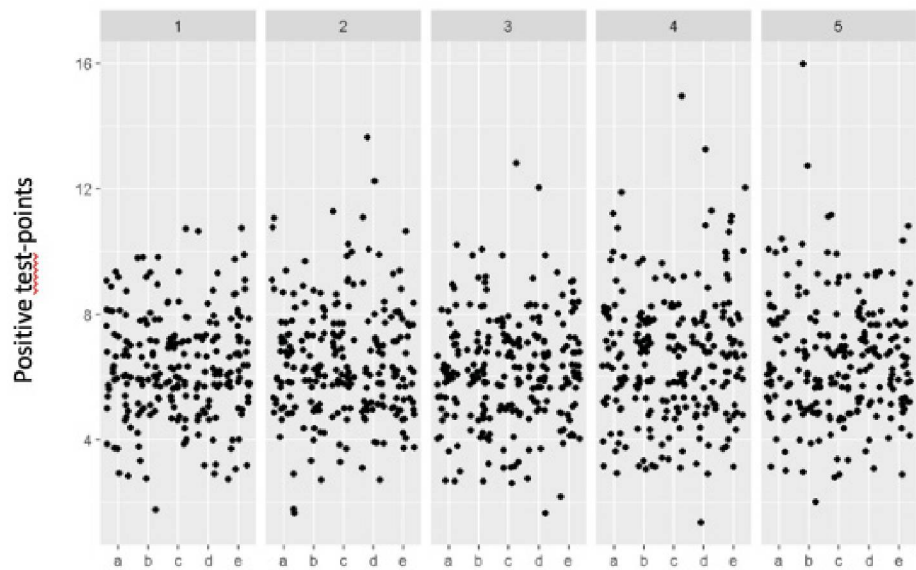
Statistical analysis

A Pearson correlation statistical test was used to evaluate the association between the ages of rats and their respective elastic fiber Vv. Welch's *t*-test was used to assess the statistical significance of the differences in Vv values observed between groups.

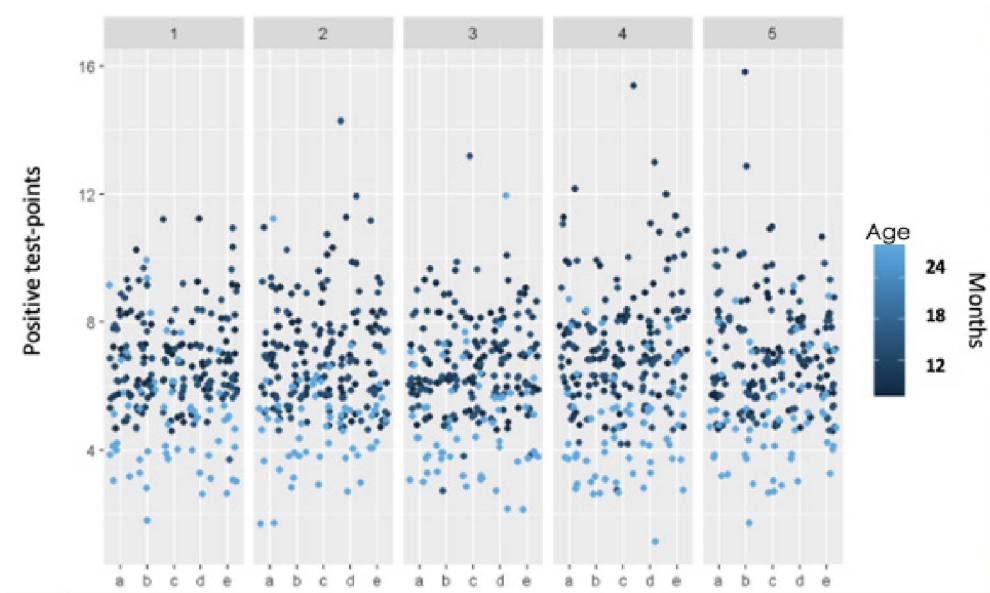
Statistical analyses were performed using the R software. A significance level of 95% was used ($p < 0.05$).

Results

Histological section fields were found to be homogeneous. The positive points of the field test, which are those contacted by elastic fibers in each random vertical section of the corpus cavernosum, are shown in (Graphic 1) numbered from 1 to 5. Five fields were analyzed and labeled "a" to "e".

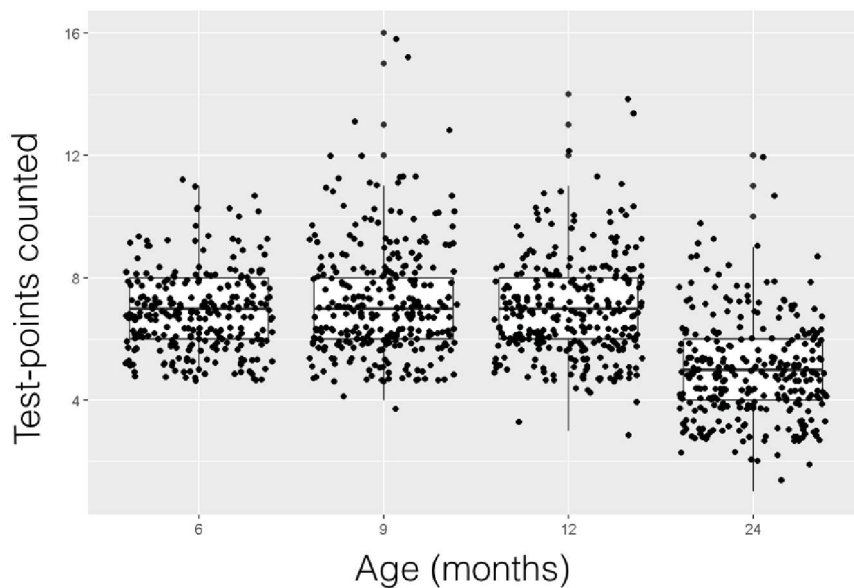


Graphic 1: Random fields of corpus cavernosum (a-e) in random sections (1-5). The homogeneity of positive test points, corresponding to the age of the rats, is shown in (Graphic 2).



Graphic 2: Random fields of corpus cavernosum (a-e) in random sections (1-5).
 Showing the homogeneity corresponding to the age of the rats.

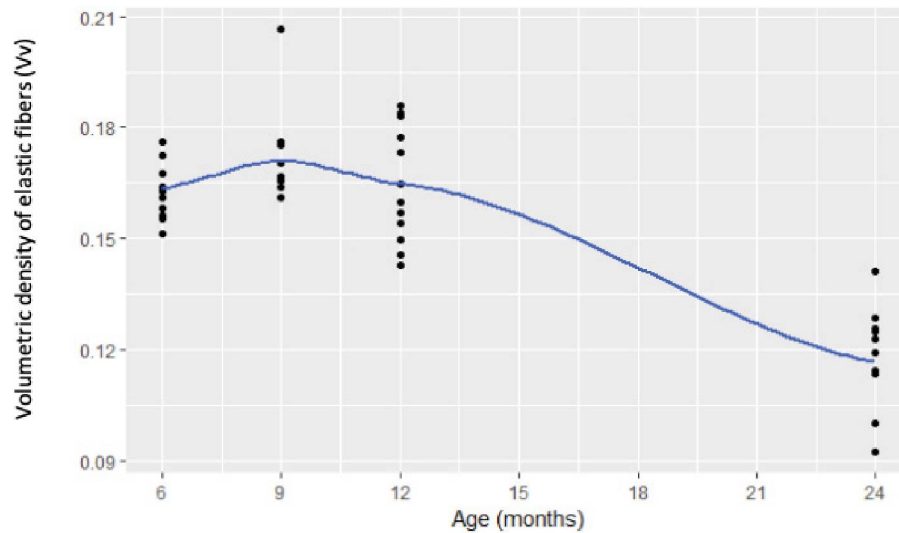
Positive test points (those contacted by elastic fibers) are shown in the digitalized images of the rats' corpora cavernosa (G1 to G4), grouped according to age (Graphic 3).



Graphic 3: Variation of positive test-points in different ages.

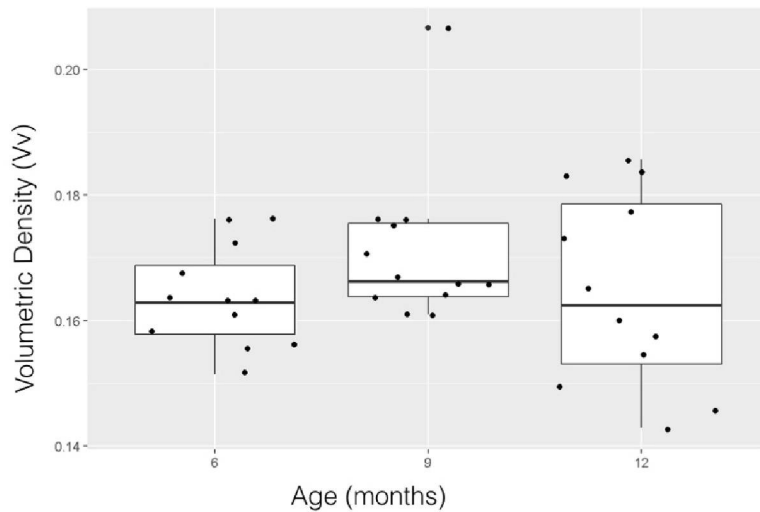
The Pearson correlation coefficient relating the relative densities of elastic fibers and age was -0.81 (strong negative correlation), with a high statistical significance ($p = 0.0000000002$, 95% confidence interval).

The Vv trend curve in relation to age in the study groups is shown in (Graphic 4). Vv shows stable behavior until 12 months of life, with the greatest reduction observed in G4 (24 months).



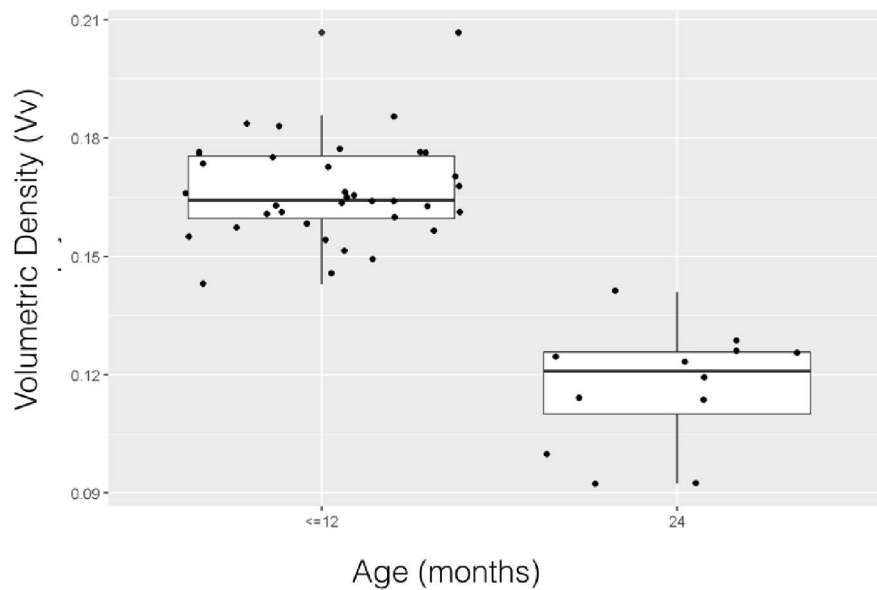
Graphic 4: This graphic with trend line shows similar Vv until the age of 12 months and a significant decline when considering rats with 24 months old

The Pearson correlation coefficient for the Vv of elastic fibers of the corpora cavernosa of rats aged ≤ 12 months was 0.035 (p -value = 0.8). There was no statistical difference between these groups (graphic 5).



Graphic 5: This figure shows that there is no difference in Vv between the groups with 6, 9 and 12 months old.

Considering the rats aged ≤ 12 months as a single group, Welch's *t*-test was used to determine statistical differences between the Vv of elastic fibers in this single group and in G4 (rats euthanized at 24 months). The mean value of Vv in G4 was 0.1166 compared to 0.1664 in the aggregated G1, G2, and G3 group (Graphic 6). The decrease in Vv between the groups was 0.0498 (29.92%), and was statistically significant (confidence interval, CI = 0.039-0.059; $p = 0.00000001$).



Graphic 6: This graph shows the significant difference of Vv of elastic fibers between the group gathering the rats with 6, 9 and 12 months old (Vv:0.1166) and the group of rats with 24 months old (Vv:0.1664) (IC: 0,039-0,059).

Discussion

The use of stereology in genitourinary tract studies allows the quantification of its elements, and therefore brings greater objectivity to the analysis. Pinheiro et al.⁸ demonstrated the relevance of stereological analysis in determining the relative densities of muscle, collagen, and elastic fibers of the corpus cavernosum of rats at 4 months of age, as well as its effectiveness in describing the behavior of the corpus cavernosum extracellular matrix in pathological states. Also using stereology, Abidu-Figueiredo *et al*⁹ proved the effects of diabetes mellitus on the corpus cavernosum of rabbits and showed the reduction of elastic fibers and collagen. In our experience, stereology is a reliable tool, the capacity to provide homogeneous positive test-points for rats at the same age, as well as the capacity to confirm our valid hypothesis in agreement with literature data, base this reliability.

There are considerable differences in the Vv of elastic fibers among mammals with a vascular penis. In humans, the Vv reaches 9%¹⁰. In a study analyzing rats aged 4 months, the Vv of elastic fibers was lower than those found in humans, with a mean Vv of 4.9%⁸. Figueiredo *et al.* demonstrated the high Vv of elastic fibers in New Zealand rabbits with indices reaching 25.1%⁵. In the present study, the Vv of rats aged ≤ 12 months was 0.1664 (16.64%), which is greater than that reported in previous studies conducted using rats, there are two technical possibilities to explain such difference, first computerized counting may underestimate the Vv of fibers depending on the color tone or sensitivity of the software used, the second one is that manual counting may overestimate Vv, because of the counting of fibers millimetrically distant to the test-point, another important data is the different ages between our groups ranging from 6-12 months and their group of 4 months old.

Few studies have addressed changes in the Vv of elastic fibers of the mammalian corpus cavernosum during the natural aging process. In rabbits, a progressive increase in the Vv of these fibers was observed between 30 and 240 days of life, and stabilization was observed between 240 and 730 days⁹. In humans and rats, the inverse effect is reported, with reduction of Vv with age¹⁰. Shen Z.J. *et al.*⁶ observed a quantitative reduction in elastic fibers in rats aged 9 to 14 weeks. However, in the present study, there was no significant difference in Vv up to 12 months of age, two factors can explain this difference, at first Shen Z.J *et al* used a different species of rat, Sprague-Dawley, secondly they studied rats younger than those used in this study.

As the sexual maturity of rats is reached at approximately 50 days, their reproductive senescence varies between 15 and 22 months and, despite these data being collected in females, one can extrapolate these to males¹¹. Thus, our results show that, in adulthood, the Vv of elastic fibers of the corpus cavernosum do not undergo significant changes, while in senescence there is a significant decrease of Vv.

Despite the multifactorial nature of ED, the decrease in the number of elastic fibers seems to play an important role by reducing the penile elastic capacity and its firmness during erection. Any degree of loss of these fibers may cause a loss of resistance to distension during erection, with consequent pressure attenuation, culminating in ED¹¹.

The statistical confirmation that elastic fibers of the corpus cavernosum are changed in pathological processes that lead to ED and the direct analysis comparing patients with and without ED clearly demonstrate that these fibers are important. Costa et al.³ compared biopsies of corpus cavernosum from subjects with and without ED, in individuals with similar ages, and observed the presence of smooth and collagen muscle fibers with similar Vv but with a statistically significant reduction of elastic fibers. In diabetic rabbits, Abidu-Figueiredo et al.⁹ observed a reduction in the Vv of elastic fibers of the corpus cavernosum despite the increase in smooth muscle fibers, which indicates that changes in the behavior of elastic fibers seem to be directly associated with the presence of pathological processes resulting in ED. Although it is not the main focus of this study to evaluate the penile functional change with age, the outstanding reduction of elastic fibers Vv in older rats, allows us to infer that this reduction may be associated with the ED related to aging.

Aging is an independent risk factor for the development of ED¹³, and structural changes such as a decrease in the Vv of elastic fibers may therefore play a role in this dysfunction. However, the degree of impairment of erectile function caused by this reduction requires further investigation.

The recognition of the importance of elastic fibers in the physiology of erection, as well as their deterioration with pathological or even natural states such as aging, opens the door for a vast field of study aimed at reversing or preventing damage caused to these fibers. An example of this is the use of low-intensity extracorporeal shock wave therapy and low-intensity pulsed ultrasound (LIPU) which, in studies conducted with animals, has led to changes in the microstructure of the corpus cavernosum. LIPU could even convert the process of penile fibrosis, induced by diabetes mellitus in rats, by increasing the number of smooth muscle fibers and collagen I/III ratio, as well as the amount and shape of elastic fibers¹⁴. The present study demonstrated that the Vv of elastic fibers of the corpus cavernosum of rats decreases in senescence. However, further studies are necessary to identify measures that may attenuate this condition.

Conclusions

The natural aging process in rats was responsible for changes in the number of elastic fibers of the trabeculae of the corpora cavernosa, as evidenced by a 30% decrease in volumetric density during senescence.

References

1. Sachdev OS, Mohan A, Taylor L, Jest DV. DSM-5 and Mental Disorders in Older Individuals: An Overview. *Harv Rev Psychiatry*. 2015 set-oct;23(5):320-8. DOI 10.1097/HRP.0000000000000090.
2. Nehra A, Goldstein I, Pabby A, Nugent M, Huang YH, De Las Morenas A, Krane RJ, Udelson D, Saenz de Tejada I, Moreland RB. Mechanisms of venous leakage: A prospective clinicopathological correlation of corporeal function and structure. *J Urol*. 1996;156(4):1320–9. PMID: 8808863.
3. Costa WS, Carrerete FB, Horta WG, Sampaio FJB. Comparative analysis of the penis corpora cavernosa in controls and patients with erectile dysfunction. *BJU Int*. 2006;97(3):567–9.
4. Wagenseil JE, Mecham RP. New insights into elastic fiber assembly. *Birth Defects Res Part C - Embryo Today Rev*. 2007;81(4):229–40.
5. Figueiredo MA, Sampaio FJB, Costa WS. Alterações do tecido conjuntivo e músculo liso no pênis de coelhos diabéticos [dissertation]. Rio de Janeiro: Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2009.
6. Shen ZJ, Jin XD, Chen ZD, Shi YH. Effect of aging on penile ultrastructure. *Asian J Androl*. 2001 Dec;3(4):281-4. PMID: 11753473.
7. Baddeley AJ, Gundersen HJG, Cruz-Orive LM. Estimation of surface area from vertical sections. *J Microsc [Internet]*. 1986 Jun;142(3):259–76. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2818.1986.tb04282.x>
8. Pinheiro ACAD, Costa WS, Cardoso LEM, Sampaio FJB. Organization and relative content of smooth muscle cells, collagen and elastic fibers in the corpus cavernosum of rat penis. *J Urol*. 2000;164(5):1802–6.

9. Abidu-Figueiredo M, Costa WS, Chagas MA, Sampaio FJB, Cardoso LEDM. Age-related changes in the concentration of elastic fibers in different regions of the rabbit penis. *Acta Cir Bras.* 2013 May;28(5):378–84. PMID: 23702941.
10. Akkus E, Carrier S, Baba K, Hsu GL, Padnma-Nathan H, Nunes L, Lue TF. Structural alterations in the tunica albuginea of the penis: impact of Peyronie's disease, aging and impotence
11. Sattar AA, Wespes E, Schulman CC. Computerized measurement of penile elastic fibres in potent and impotent men. *Eur Urol [Internet].* 1994;25(2):142–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8137855>
12. Quinn R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? *Nutrition.* 2005;21(6):775–7. PMID: 15925305.
13. Schiavi RC, Schreiner-Engel P. Nocturnal penile tumescence in healthy aging men. *J Gerontol.* 1988 Sep; 43(5)M:146-50. PMID: 3418036
14. Lay H, Xin H, Guan R, Xu Y, Li H, Tian W, Wng L, Gao Z, Guo Y, Lue TF, Lin G, Xin Z. Low-intensity pulsed ultrasound Improves Erectile Function in streptozotocin-induced Tipe I Diabetic Rats. *Urology.* 2015 Dec; 86(6): 1241.e11-8. doi: 10,1016

Conflict of interest: none

Financial source: none

Research performed at Laboratory of Anatomy and Experimental Surgery, Division of Urology, Department of Surgery, Federal University of Paraná (UFPR), Curitiba-PR, Brazil. Part of Master degree thesis, Postgraduate Program in Surgical Clinic. Tutor: Rogério de Fraga and Fernando Lorenzini.

4 CONCLUSÃO

Nosso estudo demonstrou que o processo natural de envelhecimento em ratos, determinou redução quantitativa na densidade volumétrica das fibras elásticas nas trabéculas do corpo cavernoso destes animais na ordem de 30%.

REFERÊNCIAS

- ABIDU-FIGUEIREDO, M. et al. The penis in diabetes: structural analysis of connective tissue and smooth muscle alterations in a rabbit model. **BJU Int.**, Edinburgh, v. 108, n. 3, p. 400–404, 2011.
- AKKUS, E. et al. Structural alterations in the tunica albuginea of the penis: impact of Peyronie's disease, ageing and impotence. **Br. J. Urol.**, Edinburgh, v. 79, n. 1, p. 47–53, 1997.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. 5 th ed. Washington DC: American Psychiatric Association Publisher, 2013.
- BADDELEY, A. J.; GUNDERSEN, H. J. G.; CRUZ-ORIVE, L. M. Estimation of surface area from vertical sections. **J. Microsc.** [Internet], Oxford, v.142, n.3, p.259–276, 1986. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1986.tb04282.x>.
- CHRIST, G. J. et al. Pharmacological studies of human erectile tissue : characteristics of spontaneous contractions and alterations in a-adrenoceptor responsiveness with age and disease in isolated tissues. **Br. J. Pharmacol.**, London, v. 101, n.2, p. 375–381, 1990.
- COSTA, W. S. et al. Comparative analysis of the penis corpora cavernosa in controls and patients with erectile dysfunction. **BJU Int.**, Edinburgh, v. 97, n. 3, p. 567–569, 2006.
- DIEDERICHS, W. et al. The sympathetic role as an antagonist of erection. **Urol. Res.**, Berlin, v. 19, p. 123–126, 1991.
- FELDMAN, H. A. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. **J Urol**. Ridgewood, v. 151, n. 1, p. 54-61, Jan. 1994.
- GOLDSTEIN, A. M. B. et al. New observations on microarchitecture of corpora cavernosa in man and possible relationship to mechanism of erection. **Urology**, Ridgewood, v. 20, n. 3, p. 259–266, 1982.
- GOLDSTEIN, I. et al. Definition and classification of erectile dysfunction : Report of the Nomenclature Committee of the International Society of Impotence. **Int. J. Impot. Res.** London, v. 11, n.3, p.141–143, 1999.
- GREIBLING, T. L. **Geriatric urology**. New York: Springer, 2014.
- IBGE. **Estimativa da população residente para os municípios e para as unidades da federação com data de referência em 1º de julho de 2018**. Rio de Janeiro, 2018. p. 1–16.

MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Stereological tools in biomedical research. **An. Acad. Bras. Ciên.**, Rio de Janeiro, v. 75, n. 4, p. 469–486, 2003.

PARK, K. et al. Chronic administration of an oral rho kinase inhibitor prevents the development of vasculogenic erectile dysfunction in a rat model. **J. Sex. Med.**, Malden, v. 3, n. 6, p. 996–1003, 2006.

PINHEIRO, A. C. A. D. et al. Organization and relative content of smooth muscle cells, collagen and elastic fibers in the corpus cavernosum of rat penis. **J. Urol.**, Ridgewood v. 164, n. 5, p. 1802–1806, 2000.

SHEN, Z. J. et al. Effect of aging on penile ultrastructure. **Asian J. Androl.**, Beijing, v. 3, n. 4, p. 281–284, 2001.

SILVA, A. G. P. da. **Introdução à estereologia**. Rio de Janeiro: Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2007. Apostila digitada do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais.

TOM F. LUE. Physiology of penile erection and patophysiology of erectile dysfunction. In: WEIN A.J. et al. **Campbell-Walsh urology**. 11 th. Philadelphia: Elsevier, 2016. p. 612-642.

WEIBEL, E. R.; KISTLER, G. S.; SCHERLE, W. F. Practical stereological methods for morphometric cytology. **J. Cell Biol.**, New York, v. 30, n. 1, p. 23-38, 1966.

WEIN A.J. et al. **Campbell-Walsh urology**. 11 th ed. Philadelphia: Elsevier, 2016.

APÊNDICE 1 – DADOS DA ESTEREOLOGIA

Apêndice 1				
penis	pontos positivos	total de pontos	relação volumétrica	Médias
1.1.a	6	42	0,14	0,168
1.1.b	7	42	0,16	
1.1.c	7	42	0,16	
1.1.d	11	42	0,26	
1.1.e	7	42	0,16	
1.2.a	7	42	0,16	
1.2.b	6	42	0,14	
1.2.c	6	42	0,14	
1.2.d	5	42	0,11	
1.2.e	8	42	0,19	
1.3.a	9	42	0,21	
1.3.b	7	42	0,16	
1.3.c	6	42	0,14	
1.3.d	6	42	0,14	
1.3.e	9	42	0,21	
1.4.a	6	42	0,14	
1.4.b	6	42	0,14	
1.4.c	8	42	0,19	
1.4.d	7	42	0,16	
1.4.e	8	42	0,19	
1.5.a	6	42	0,14	
1.5.b	9	42	0,21	
1.5.c	9	42	0,21	
1.5.d	8	42	0,19	
1.5.e	7	42	0,16	
2.1.a	8	42	0,19	0,158
2.1.b	8	42	0,19	
2.1.c	7	42	0,16	
2.1.d	6	42	0,14	
2.1.e	7	42	0,16	
2.2.a	6	42	0,14	
2.2.b	7	42	0,16	
2.2.c	5	42	0,11	
2.2.d	6	42	0,15	
2.2.e	8	42	0,19	
2.3.a	7	42	0,14	
2.3.b	6	42	0,15	
2.3.c	7	42	0,16	
2.3.d	7	42	0,16	
2.3.e	6	42	0,14	

2.4.a	8	42	0,19	
2.4.b	7	42	0,16	
2.4.c	6	42	0,14	
2.4.d	7	42	0,16	
2.4.e	7	42	0,16	
2.5.a	8	42	0,19	
2.5.b	6	42	0,14	
2.5.c	7	42	0,16	
2.5.d	8	42	0,19	
2.5.e	6	42	0,14	
3.1.a	5	42	0,11	0,151
3.1.b	6	42	0,14	
3.1.c	6	42	0,14	
3.1.d	7	42	0,16	
3.1.e	7	42	0,16	
3.2.a	7	42	0,16	
3.2.b	5	42	0,11	
3.2.c	6	42	0,14	
3.2.d	8	42	0,19	
3.2.e	6	42	0,14	
3.3.a	7	42	0,16	
3.3.b	8	42	0,19	
3.3.c	8	42	0,19	
3.3.d	6	42	0,14	
3.3.e	6	42	0,14	
3.4.a	7	42	0,16	
3.4.b	7	42	0,16	
3.4.c	5	42	0,11	
3.4.d	5	42	0,11	
3.4.e	7	42	0,16	
3.5.a	6	42	0,14	
3.5.b	9	42	0,21	
3.5.c	5	42	0,11	
3.5.d	8	42	0,19	
3.5.e	7	42	0,16	
4.1.a	5	42	0,11	0,146
4.1.b	6	42	0,14	
4.1.c	5	42	0,11	
4.1.d	7	42	0,16	
4.1.e	8	42	0,19	
4.2.a	7	42	0,16	
4.2.b	8	42	0,19	
4.2.c	6	42	0,14	
4.2.d	6	42	0,14	
4.2.e	5	42	0,11	
4.3.a	6	42	0,14	

4.3.b	5	42	0,11	
4.3.c	7	42	0,16	
4.3.d	5	42	0,11	
4.3.e	6	42	0,14	
4.4.a	8	42	0,19	
4.4.b	8	42	0,19	
4.4.c	7	42	0,16	
4.4.d	5	42	0,11	
4.4.e	8	42	0,19	
4.5.a	5	42	0,11	
4.5.b	7	42	0,16	
4.5.c	7	42	0,16	
4.5.d	6	42	0,14	
4.5.e	6	42	0,14	
5.1.a	6	42	0,14	0,149
5.1.b	5	42	0,11	
5.1.c	7	42	0,16	
5.1.d	8	42	0,19	
5.1.e	9	42	0,21	
5.2.a	5	42	0,11	
5.2.b	6	42	0,14	
5.2.c	7	42	0,16	
5.2.d	7	42	0,16	
5.2.e	6	42	0,14	
5.3.a	5	42	0,11	
5.3.b	5	42	0,11	
5.3.c	5	42	0,11	
5.3.d	5	42	0,11	
5.3.e	5	42	0,11	
5.4.a	6	42	0,14	
5.4.b	7	42	0,16	
5.4.c	8	42	0,19	
5.4.d	9	42	0,21	
5.4.e	10	42	0,23	
5.5.a	6	42	0,14	
5.5.b	7	42	0,16	
5.5.c	9	42	0,21	
5.5.d	5	42	0,11	
5.5.e	5	42	0,11	
6.1.a	6	42	0,14	0,158
6.1.b	8	42	0,19	
6.1.c	7	42	0,16	
6.1.d	9	42	0,21	
6.1.e	7	42	0,16	
6.2.a	8	42	0,19	
6.2.b	8	42	0,19	

6.2.c	10	42	0,23	
6.2.d	7	42	0,16	
6.2.e	5	42	0,11	
6.3.a	6	42	0,14	
6.3.b	6	42	0,14	
6.3.c	7	42	0,16	
6.3.d	5	42	0,11	
6.3.e	6	42	0,14	
6.4.a	5	42	0,11	
6.4.b	7	42	0,16	
6.4.c	8	42	0,19	
6.4.d	9	42	0,21	
6.4.e	7	42	0,16	
6.5.a	6	42	0,14	
6.5.b	6	42	0,14	
6.5.c	5	42	0,11	
6.5.d	7	42	0,16	
6.5.e	6	42	0,14	
7.1.a	6	42	0,14	0,153
7.1.b	7	42	0,16	
7.1.c	7	42	0,16	
7.1.d	6	42	0,14	
7.1.e	7	42	0,16	
7.2.a	7	42	0,16	
7.2.b	8	42	0,19	
7.2.c	7	42	0,16	
7.2.d	8	42	0,19	
7.2.e	7	42	0,16	
7.3.a	5	42	0,11	
7.3.b	6	42	0,14	
7.3.c	7	42	0,16	
7.3.d	7	42	0,16	
7.3.e	6	42	0,14	
7.4.a	5	42	0,11	
7.4.b	7	42	0,16	
7.4.c	6	42	0,14	
7.4.d	8	42	0,19	
7.4.e	6	42	0,14	
8.1.a	6	42	0,14	0,158
8.1.b	6	42	0,14	
8.1.c	7	42	0,16	
8.1.d	7	42	0,16	
8.1.e	8	42	0,19	
8.2.a	9	42	0,21	
8.2.b	7	42	0,16	
8.2.c	9	42	0,21	

8.2.d	5	42	0,11	
8.2.e	8	42	0,19	
8.3.a	7	42	0,16	
8.3.b	9	42	0,21	
8.3.c	6	42	0,14	
8.3.d	8	42	0,19	
8.3.e	7	42	0,16	
8.4.a	10	42	0,23	
8.4.b	5	42	0,11	
8.4.c	7	42	0,16	
8.4.d	6	42	0,14	
8.4.e	5	42	0,11	
8.5.a	6	42	0,14	
8.5.b	7	42	0,16	
8.5.c	7	42	0,16	
8.5.d	5	42	0,11	
8.5.e	5	42	0,11	
9.1.a	7	42	0,16	0,162
9.1.b	10	42	0,23	
9.1.c	5	42	0,11	
9.1.d	7	42	0,16	
9.1.e	6	42	0,14	
9.2.a	7	42	0,16	
9.2.b	7	42	0,16	
9.2.c	7	42	0,16	
9.2.d	6	42	0,14	
9.2.e	7	42	0,16	
9.3.a	6	42	0,14	
9.3.b	8	42	0,19	
9.3.c	7	42	0,16	
9.3.d	7	42	0,16	
9.3.e	7	42	0,16	
9.4.a	6	42	0,14	
9.4.b	7	42	0,16	
9.4.c	6	42	0,14	
9.4.d	5	42	0,11	
9.4.e	8	42	0,19	
9.5.a	7	42	0,16	
9.5.b	5	42	0,11	
9.5.c	11	42	0,26	
9.5.d	9	42	0,21	
9.5.e	8	42	0,19	
10.1.a	8	42	0,19	0,156
10.1.b	5	42	0,11	
10.1.c	7	42	0,16	
10.1.d	6	42	0,14	

10.1.e	7	42	0,16	
10.2.a	7	42	0,16	
10.2.b	6	42	0,14	
10.2.c	9	42	0,21	
10.2.d	7	42	0,16	
10.2.e	8	42	0,19	
10.3.a	7	42	0,16	
10.3.b	6	42	0,14	
10.3.c	5	42	0,11	
10.3.d	8	42	0,19	
10.3.e	7	42	0,16	
10.4.a	7	42	0,16	
10.4.b	8	42	0,19	
10.4.c	6	42	0,14	
10.4.d	8	42	0,19	
10.4.e	7	42	0,16	
10.5.a	6	42	0,14	
10.5.b	6	42	0,14	
10.5.c	7	42	0,16	
10.5.d	5	42	0,11	
10.5.e	6	42	0,14	
11.1.a	7	42	0,16	
11.1.b	6	42	0,14	
11.1.c	7	42	0,16	
11.1.d	6	42	0,14	
11.1.e	9	42	0,21	
11.2.a	8	42	0,19	
11.2.b	8	42	0,19	
11.2.c	10	42	0,21	
11.2.d	5	42	0,11	
11.2.e	8	42	0,19	
12.3.a	5	42	0,11	0,17
12.3.b	7	42	0,16	
12.3.c	6	42	0,14	
12.3.d	8	42	0,19	
12.3.e	9	42	0,21	
12.4.a	11	42	0,26	
12.4.b	10	42	0,21	
12.4.c	7	42	0,16	
12.4.d	8	42	0,19	
12.4.e	7	42	0,16	
12.5.a	6	42	0,14	
12.5.b	6	42	0,14	
12.5.c	7	42	0,16	
12.5.d	7	42	0,16	
12.5.e	7	42	0,16	

13.1.a	7	42	0,16	0,161
13.1.b	7	42	0,16	
13.1.c	6	42	0,14	
13.1.d	7	42	0,16	
13.1.e	8	42	0,19	
13.2.a	7	42	0,16	
13.2.b	6	42	0,14	
13.2.c	6	42	0,14	
13.2.d	7	42	0,16	
13.2.e	7	42	0,16	
13.3.a	6	42	0,14	
13.3.b	6	42	0,14	
13.3.c	6	42	0,14	
13.3.d	7	42	0,16	
13.3.e	9	42	0,21	
13.4.a	7	42	0,16	
13.4.b	6	42	0,14	
13.4.c	6	42	0,14	
13.4.d	7	42	0,16	
13.4.e	7	42	0,16	
13.5.a	5	42	0,11	
13.5.b	8	42	0,19	
13.5.c	7	42	0,16	
13.5.d	8	42	0,19	
13.5.e	11	42	0,26	
14.1.a	6	42	0,14	0,156
14.1.b	5	42	0,11	
14.1.c	5	42	0,11	
14.1.d	6	42	0,14	
14.1.e	7	42	0,16	
14.2.a	9	42	0,21	
14.2.b	7	42	0,16	
14.2.c	8	42	0,19	
14.2.d	6	42	0,14	
14.2.e	5	42	0,11	
14.3.a	5	42	0,11	
14.3.b	6	42	0,14	
14.3.c	6	42	0,14	
14.3.d	5	42	0,11	
14.3.e	7	42	0,16	
14.4.a	5	42	0,11	
14.4.b	6	42	0,14	
14.4.c	7	42	0,16	
14.4.d	7	42	0,16	
14.4.e	11	42	0,26	
14.5.a	8	42	0,19	

14.5.b	9	42	0,21	
14.5.c	6	42	0,14	
14.5.d	9	42	0,21	
14.5.e	8	42	0,19	
15.1.a	9	42	0,21	0,162
15.1.b	6	42	0,14	
15.1.c	8	42	0,19	
15.1.d	7	42	0,16	
15.1.e	8	42	0,19	
15.2.a	7	42	0,16	
15.2.b	6	42	0,14	
15.2.c	8	42	0,19	
15.2.d	6	42	0,14	
15.2.e	7	42	0,16	
15.3.a	6	42	0,14	
15.3.b	7	42	0,16	
15.3.c	8	42	0,19	
15.3.d	7	42	0,16	
15.3.e	7	42	0,16	
15.4.a	6	42	0,14	
15.4.b	6	42	0,14	
15.4.c	9	42	0,21	
15.4.d	11	42	0,26	
15.4.e	5	42	0,11	
15.5.a	6	42	0,14	
15.5.b	6	42	0,14	
15.5.c	5	42	0,11	
15.5.d	8	42	0,19	
15.5.e	6	42	0,14	
16.1.a	8	42	0,19	0,16
16.1.b	6	42	0,14	
16.1.c	5	42	0,11	
16.1.d	6	42	0,14	
16.1.e	6	42	0,14	
16.2.a	6	42	0,14	
16.2.b	6	42	0,14	
16.2.c	7	42	0,16	
16.2.d	6	42	0,14	
16.2.e	6	42	0,14	
16.3.a	6	42	0,14	
16.3.b	9	42	0,21	
16.3.c	7	42	0,16	
16.3.d	8	42	0,19	
16.3.e	6	42	0,14	
16.4.a	6	42	0,14	
16.4.b	6	42	0,14	

16.4.c	8	42	0,19	
16.4.d	11	42	0,26	
16.4.e	8	42	0,19	
16.5.a	8	42	0,19	
16.5.b	7	42	0,16	
16.5.c	6	42	0,14	
16.5.d	6	42	0,14	
16.5.e	8	42	0,19	
17.1.a	8	42	0,19	0,169
17.1.b	6	42	0,14	
17.1.c	7	42	0,16	
17.1.d	6	42	0,14	
17.1.e	10	42	0,21	
17.2.a	7	42	0,16	
17.2.b	9	42	0,21	
17.2.c	7	42	0,16	
17.2.d	10	42	0,21	
17.2.e	8	42	0,19	
17.3.a	8	42	0,19	
17.3.b	5	42	0,11	
17.3.c	7	42	0,16	
17.3.d	6	42	0,14	
17.3.e	8	42	0,19	
17.4.a	8	42	0,19	
17.4.b	7	42	0,16	
17.4.c	8	42	0,19	
17.4.d	7	42	0,16	
17.4.e.	10	42	0,21	
17.5.a	8	42	0,19	
17.5.b	6	42	0,14	
17.5.c	6	42	0,14	
17.5.d	7	42	0,16	
17.5.e	6	42	0,14	
18.1.a	9	42	0,21	0,166
18.1.b	5	42	0,11	
18.1.c	7	42	0,16	
18.1.d	6	42	0,14	
18.1.e	7	42	0,16	
18.2.a	7	42	0,16	
18.2.b	5	42	0,11	
18.2.c	8	42	0,19	
18.2.d	11	42	0,26	
18.2.e	6	42	0,14	
18.3.a	7	42	0,16	
18.3.b	8	42	0,19	
18.3.c	7	42	0,16	

18.3.d	5	42	0,11	
18.3.e	6	42	0,14	
18.4.a	8	42	0,19	
18.4.b	7	42	0,16	
18.4.c	8	42	0,19	
18.4.d	6	42	0,14	
18.4.e	9	42	0,21	
18.5.a	8	42	0,19	
18.5.b	6	42	0,14	
18.5.c	9	42	0,21	
18.5.d	7	42	0,16	
18.5.e	7	42	0,16	
19.1.a	5	42	0,11	0,158
19.1.b	9	42	0,21	
19.1.c	6	42	0,14	
19.1.d	6	42	0,14	
19.1.e	6	42	0,14	
19.2.a	6	42	0,14	
19.2.b	6	42	0,14	
19.2.c	7	42	0,16	
19.2.d	7	42	0,16	
19.2.e	8	42	0,19	
19.3.a	6	42	0,14	
19.3.b	10	42	0,21	
19.3.c	8	42	0,19	
19.3.d	7	42	0,16	
19.3.e	4	42	0,09	
19.4.a	10	42	0,21	
19.4.b	8	42	0,19	
19.4.c	5	42	0,11	
19.4.d	8	42	0,19	
19.4.e	6	42	0,14	
19.5.a	6	42	0,14	
19.5.b	10	42	0,21	
19.5.c	7	42	0,16	
19.5.d	7	42	0,16	
19.5.e	6	42	0,14	
20.1.a	7	42	0,16	0,156
20.1.b	6	42	0,14	
20.1.c	6	42	0,14	
20.1.d	6	42	0,14	
20.1.e	8	42	0,19	
20.2.a	5	42	0,11	
20.2.b	6	42	0,14	
20.2.c	10	42	0,21	
20.2.d	10	42	0,21	

20.2.e	5	42	0,11	
20.3.a	10	42	0,21	
20.3.b	6	42	0,14	
20.3.c	7	42	0,16	
20.3.d	8	42	0,19	
20.3.e	8	42	0,19	
20.4.a	5	42	0,11	
20.4.b	8	42	0,19	
20.4.c	7	42	0,16	
20.4.d	5	42	0,11	
20.4.e	6	42	0,14	
20.5.a	7	42	0,16	
20.5.b	5	42	0,11	
20.5.c	6	42	0,14	
20.5.d	7	42	0,16	
20.5.e	8	42	0,19	
21.1.a	6	42	0,14	0,169
21.1.b	5	42	0,11	
21.1.c	11	42	0,26	
21.1.d	5	42	0,11	
21.1.e	6	42	0,14	
21.2.a	11	42	0,26	
21.2.b	9	42	0,21	
21.2.c	7	42	0,16	
21.2.d	5	42	0,11	
21.2.e	6	42	0,14	
21.3.a	6	42	0,14	
21.3.b	5	42	0,11	
21.3.c	5	42	0,11	
21.3.d	9	42	0,21	
21.3.e	5	42	0,11	
21.4.a	8	42	0,19	
21.4.b	7	42	0,16	
21.4.c	4	42	0,09	
21.4.d	7	42	0,16	
21.4.e	9	42	0,21	
21.5.a	5	42	0,11	
21.5.b	16	42	0,38	
21.5.c	10	42	0,21	
21.5.d	8	42	0,19	
21.5.e	9	42	0,21	
22.1.a	8	42	0,19	0,171
22.1.b	6	42	0,14	
22.1.c	6	42	0,14	
22.1.d	7	42	0,16	
22.1.e	6	42	0,14	

22.2.a	6	42	0,14	
22.2.b	6	42	0,14	
22.2.c	6	42	0,14	
22.2.d	8	42	0,19	
22.2.e	5	42	0,11	
22.3.a	6	42	0,14	
22.3.b	6	42	0,14	
22.3.c	5	42	0,11	
22.3.d	10	42	0,21	
22.3.e	9	42	0,21	
22.4.a	12	42	0,28	
22.4.b	9	42	0,21	
22.4.c	9	42	0,21	
22.4.d	8	42	0,19	
22.4.e	12	42	0,28	
22.5.a	7	42	0,16	
22.5.b	6	42	0,14	
22.5.c	9	42	0,21	
22.5.d	7	42	0,16	
22.5.e	6	42	0,14	
23.1.a	6	42	0,14	0,156
23.1.b	9	42	0,21	
23.1.c	5	42	0,11	
23.1.d	5	42	0,11	
23.1.e	6	42	0,14	
23.2.a	6	42	0,14	
23.2.b	7	42	0,16	
23.2.c	9	42	0,21	
23.2.d	5	42	0,11	
23.2.e	5	42	0,11	
23.3.a	6	42	0,14	
23.3.b	9	42	0,21	
23.3.c	7	42	0,16	
23.3.d	7	42	0,16	
23.3.e	5	42	0,11	
23.4.a	7	42	0,16	
23.4.b	8	42	0,19	
23.4.c	7	42	0,16	
23.4.d	7	42	0,16	
23.4.e	6	42	0,14	
23.5.a	6	42	0,14	
23.5.b	5	42	0,11	
23.5.c	11	42	0,28	
23.5.d	7	42	0,16	
23.5.e	8	42	0,19	
24.1.a	5	42	0,11	0,2

24.1.b	5	42	0,11	
24.1.c	7	42	0,16	
24.1.d	9	42	0,21	
24.1.e	6	42	0,14	
24.2.a	9	42	0,21	
24.2.b	7	42	0,16	
24.2.c	11	42	0,28	
24.2.d	9	42	0,21	
24.2.e	9	42	0,21	
24.3.a	8	42	0,19	
24.3.b	7	42	0,16	
24.3.c	8	42	0,19	
24.3.d	6	42	0,14	
24.3.e	6	42	0,14	
24.4.a	6	42	0,14	
24.4.b	10	42	0,21	
24.4.c	15	42	0,35	
24.4.d	13	42	0,3	
24.4.e	11	42	0,26	
24.5.a	10	42	0,21	
24.5.b	13	42	0,3	
24.5.c	10	42	0,21	
24.5.d	9	42	0,21	
24.5.e	8	42	0,19	
25.1.a	9	42	0,21	0,179
25.1.b	7	42	0,16	
25.1.c	8	42	0,19	
25.1.d	8	42	0,19	
25.1.e	11	42	0,26	
25.2.a	7	42	0,16	
25.2.b	7	42	0,16	
25.2.c	9	42	0,21	
25.2.d	6	42	0,14	
25.2.e	11	42	0,26	
25.3.a	8	42	0,19	
25.3.b	7	42	0,16	
25.3.c	8	42	0,19	
25.3.d	6	42	0,14	
25.3.e	6	42	0,14	
25.4.a	10	42	0,21	
25.4.b	8	42	0,19	
25.4.c	6	42	0,14	
25.4.d	6	42	0,14	
25.4.e	10	42	0,21	
25.5.a	10	42	0,21	
25.5.b	5	42	0,11	

25.5.c	7	42	0,16	
25.5.d	8	42	0,19	
25.5.e	7	42	0,16	
26.1.a	7	42	0,16	0,172
26.1.b	8	42	0,19	
26.1.c	7	42	0,16	
26.1.d	7	42	0,16	
26.1.e	6	42	0,14	
26.2.a	7	42	0,16	
26.2.b	7	42	0,16	
26.2.c	7	42	0,16	
26.2.d	8	42	0,19	
26.2.e	6	42	0,14	
26.3.a	6	42	0,14	
26.3.b	7	42	0,16	
26.3.c	10	42	0,21	
26.3.d	8	42	0,19	
26.3.e	6	42	0,14	
26.4.a	11	42	0,26	
26.4.b	6	42	0,14	
26.4.c	7	42	0,16	
26.4.d	8	42	0,19	
26.4.e	11	42	0,26	
26.5.a	9	42	0,21	
26.5.b	6	42	0,14	
26.5.c	7	42	0,16	
26.5.d	8	42	0,19	
26.5.e	6	42	0,14	
27.1.e	10	42	0,21	0,17
27.2.a	9	42	0,21	
27.2.b	6	42	0,14	
27.2.c	8	42	0,19	
27.2.d	7	42	0,16	
27.2.e	8	42	0,19	
27.3.a	9	42	0,21	
27.3.b	10	42	0,21	
27.3.c	6	42	0,14	
27.3.d	7	42	0,16	
27.3.e	8	42	0,19	
27.4.a	7	42	0,16	
27.4.b	7	42	0,16	
27.4.c	10	42	0,21	
27.4.d	6	42	0,14	
27.4.e	10	42	0,21	
27.5.a	8	42	0,19	
27.5.b	7	42	0,16	

27.5.c	6	42	0,14	
27.5.d	8	42	0,19	
27.5.e	5	42	0,11	
28.1.a	7	42	0,16	0,176
28.1.b	8	42	0,18	
28.1.c	6	42	0,14	
28.1.d	7	42	0,16	
28.1.e	6	42	0,14	
28.2.a	8	42	0,18	
28.2.b	9	42	0,21	
28.2.c	7	42	0,16	
28.2.d	12	42	0,28	
28.2.e	9	42	0,21	
28.3.a	6	42	0,14	
28.3.b	8	42	0,18	
28.3.c	7	42	0,16	
28.3.d	6	42	0,14	
28.3.e	9	42	0,21	
28.4.a	9	42	0,21	
28.4.b	8	42	0,18	
28.4.c	8	42	0,18	
28.4.d	7	42	0,16	
28.4.e	6	42	0,14	
28.5.a	8	42	0,18	
28.5.b	8	42	0,18	
28.5.c	6	42	0,14	
28.5.d	9	42	0,21	
28.5.e	8	42	0,18	
29.1.a	8	42	0,18	0,164
29.2.b	7	42	0,16	
29.1.c	6	42	0,14	
29.1.d	6	42	0,14	
29.1.e	8	42	0,18	
29.2.a	7	42	0,16	
29.2.b	6	42	0,14	
29.2.c	8	42	0,18	
29.2.d	8	42	0,18	
29.2.e	8	42	0,18	
29.3.a	6	42	0,14	
29.3.b	6	42	0,14	
29.3.c	7	42	0,16	
29.3.d	7	42	0,16	
29.3.e	8	42	0,18	
29.4.a	6	42	0,14	
29.4.b	8	42	0,18	
29.4.c	5	42	0,11	

29.4.d	7	42	0,16	
29.4.e	7	42	0,16	
29.5.a	10	42	0,21	
29.5.b	10	42	0,21	
29.5.c	7	42	0,16	
29.5.d	6	42	0,14	
29.5.e	10	42	0,21	
30.1.a	6	42	0,14	0,153
30.1.b	5	42	0,11	
30.1.c	9	42	0,21	
30.1.d	6	42	0,14	
30.1.e	4	42	0,09	
30.2.a	9	42	0,21	
30.2.b	8	42	0,18	
30.2.c	7	42	0,16	
30.2.d	14	42	0,33	
30.2.e	6	42	0,14	
30.3.a	7	42	0,16	
30.3.b	3	42	0,07	
30.3.c	13	42	0,3	
30.3.d	6	42	0,14	
30.3.e	8	42	0,18	
30.4.a	4	42	0,09	
30.4.b	5	42	0,11	
30.4.c	3	42	0,07	
30.4.d	8	42	0,18	
30.4.e	5	42	0,11	
30.5.a	8	42	0,18	
30.5.b	6	42	0,14	
30.5.c	5	42	0,11	
30.5.d	8	42	0,18	
30.5.e	5	42	0,11	
31.1.a	6	42	0,14	0,138
31.1.b	6	42	0,14	
31.1.c	5	42	0,11	
31.1.d	6	42	0,14	
31.1.e	6	42	0,14	
31.2.a	5	42	0,11	
31.2.b	6	42	0,14	
31.2.c	8	42	0,18	
31.2.d	7	42	0,16	
31.2.e	5	42	0,11	
31.3.a	5	42	0,11	
31.3.b	5	42	0,11	
31.3.c	5	42	0,11	
31.3.d	5	42	0,11	

31.3.e	6	42	0,14	
31.4.a	7	42	0,16	
31.4.b	7	42	0,16	
31.4.c	5	42	0,11	
31.4.d	5	42	0,11	
31.4.e	8	42	0,18	
31.5.a	6	42	0,14	
31.5.b	7	42	0,16	
31.5.c	7	42	0,16	
31.5.d	8	42	0,18	
31.5.e	7	42	0,16	
32.1.a	9	42	0,21	0,149
32.1.b	10	42	0,21	
32.1.c	6	42	0,14	
32.1.d	8	42	0,18	
32.1.e	6	42	0,14	
32.2.a	5	42	0,11	
32.2.b	6	42	0,14	
32.2.c	5	42	0,14	
32.2.d	5	42	0,14	
32.2.e	8	42	0,18	
32.3.a	5	42	0,11	
32.3.b	6	42	0,14	
32.3.c	5	42	0,11	
32.3.d	7	42	0,16	
32.3.e	7	42	0,16	
32.4.a	8	42	0,18	
32.4.b	6	42	0,14	
32.4.c	4	42	0,09	
32.4.d	7	42	0,16	
32.4.e	6	42	0,14	
32.5.a	8	42	0,18	
32.5.b	7	42	0,16	
32.5.c	7	42	0,16	
32.5.d	6	42	0,14	
32.5.e	5	42	0,11	
33.1.a	8	42	0,18	0,158
33.1.b	8	42	0,18	
33.1.c	7	42	0,16	
33.1.d	6	42	0,14	
33.1.e	6	42	0,14	
33.2.a	8	42	0,18	
33.2.b	5	42	0,11	
33.2.c	6	42	0,14	
33.2.d	5	42	0,11	
33.2.e	9	42	0,21	

33.3.a	6	42	0,14	
33.3.b	6	42	0,14	
33.3.c	5	42	0,11	
33.3.d	6	42	0,14	
33.3.e	7	42	0,16	
33.4.a	8	42	0,18	
33.4.b	7	42	0,16	
33.4.c	7	42	0,16	
33.4.d	6	42	0,14	
33.4.e	8	42	0,18	
33.5.a	9	42	0,21	
33.5.b	8	42	0,18	
33.5.c	8	42	0,18	
33.5.d	7	42	0,16	
33.5.e	7	42	0,16	
34.1.a	7	42	0,16	0,143
34.1.b	7	42	0,16	
34.1.c	8	42	0,18	
34.1.d	8	42	0,18	
34.1.e	6	42	0,14	
34.2.a	6	42	0,14	
34.2.b	5	42	0,11	
34.2.c	6	42	0,14	
34.2.d	6	42	0,14	
34.2.e	6	42	0,14	
34.3.a	8	42	0,18	
34.3.b	6	42	0,14	
34.3.c	5	42	0,11	
34.3.d	6	42	0,14	
34.3.e	5	42	0,11	
34.4.a	6	42	0,14	
34.4.b	6	42	0,14	
34.4.c	9	42	0,21	
34.4.d	6	42	0,14	
34.4.e	7	42	0,16	
34.5.a	5	42	0,11	
34.5.b	5	42	0,11	
34.5.c	6	42	0,14	
34.5.d	7	42	0,16	
34.5.e	5	42	0,11	
35.1.a	5	42	0,11	0,136
35.1.b	5	42	0,11	
35.1.c	6	42	0,14	
35.1.d	5	42	0,11	
35.1.e	9	42	0,21	
35.2.a	6	42	0,14	

35.2.b	5	42	0,11	
35.2.c	6	42	0,14	
35.2.d	7	42	0,16	
35.2.e	5	42	0,11	
35.3.a	7	42	0,16	
35.3.b	9	42	0,21	
35.3.c	4	42	0,09	
35.3.d	7	42	0,16	
35.3.e	6	42	0,14	
35.4.a	5	42	0,11	
35.4.b	6	42	0,14	
35.4.c	6	42	0,14	
35.4.d	6	42	0,14	
35.4.e	5	42	0,11	
35.5.a	6	42	0,14	
35.5.b	5	42	0,11	
35.5.c	5	42	0,11	
35.5.d	5	42	0,11	
35.5.e	9	42	0,21	
36.1.a	7	42	0,16	0,149
36.1.b	6	42	0,14	
36.1.c	6	42	0,14	
36.1.d	7	42	0,16	
36.1.e	9	42	0,21	
36.2.a	5	42	0,11	
36.2.b	10	42	0,21	
36.2.c	6	42	0,14	
36.2.d	6	42	0,14	
36.2.e	6	42	0,14	
36.3.a	6	42	0,14	
36.3.b	5	42	0,11	
36.3.c	6	42	0,14	
36.3.d	6	42	0,14	
36.3.e	8	42	0,18	
36.4.a	7	42	0,16	
36.4.b	7	42	0,16	
36.4.c	6	42	0,14	
36.4.d	7	42	0,16	
36.4.e	8	42	0,18	
36.5.a	10	42	0,21	
36.5.b	5	42	0,11	
36.5.c	6	42	0,14	
36.5.d	5	42	0,11	
36.5.e	5	42	0,11	
61.1.a	4	42	0,09	0,116
61.1.b	4	42	0,09	

61.1.c	4	42	0,09	
61.1.d	3	42	0,07	
61.1.e	5	42	0,11	
61.2.a	5	42	0,11	
61.2.b	6	42	0,14	
61.2.c	4	42	0,09	
61.2.d	5	42	0,11	
61.2.e	5	42	0,11	
61.3.a	4	42	0,09	
61.3.b	5	42	0,11	
61.3.c	7	42	0,16	
61.3.d	6	42	0,14	
61.3.e	4	42	0,09	
61.4.a	4	42	0,09	
61.4.b	8	42	0,18	
61.4.c	5	42	0,11	
61.4.d	5	42	0,11	
61.4.e	6	42	0,14	
61.5.a	5	42	0,11	
61.5.b	6	42	0,14	
61.5.c	7	42	0,16	
61.5.d	5	42	0,11	
61.5.e	7	42	0,16	
62.1.a	4	42	0,09	0,135
62.1.b	6	42	0,14	
62.1.c	6	42	0,14	
62.1.d	4	42	0,09	
62.1.e	6	42	0,14	
62.2.a	5	42	0,11	
62.2.b	6	42	0,14	
62.2.c	6	42	0,14	
62.2.d	5	42	0,11	
62.2.e	5	42	0,11	
62.3.a	4	42	0,09	
62.3.b	4	42	0,09	
62.3.c	8	42	0,18	
62.3.d	12	42	0,28	
62.3.e	6	42	0,14	
62.4.a	4	42	0,09	
62.4.b	8	42	0,18	
62.4.c	5	42	0,11	
62.4.d	5	42	0,11	
62.4.e	6	42	0,14	
62.5.a	5	42	0,11	
62.5.b	7	42	0,16	
62.5.c	6	42	0,14	

62.5.d	6	42	0,14	
62.5.e	9	42	0,21	
63.1.a	6	42	0,14	0,112
63.1.b	10	42	0,21	
63.1.c	8	42	0,18	
63.1.d	5	42	0,11	
63.1.e	3	42	0,07	
63.2.a	5	42	0,11	
63.2.b	4	42	0,09	
63.2.c	6	42	0,14	
63.2.d	3	42	0,07	
63.2.e	5	42	0,11	
63.3.a	5	42	0,11	
63.3.b	4	42	0,09	
63.3.c	4	42	0,09	
63.3.d	4	42	0,09	
63.3.e	4	42	0,09	
63.4.a	8	42	0,18	
63.4.b	3	42	0,07	
63.4.c	3	42	0,07	
63.4.d	4	42	0,09	
63.4.e	4	42	0,09	
63.5.a	5	42	0,11	
63.5.b	5	42	0,11	
63.5.c	4	42	0,09	
63.5.d	7	42	0,16	
63.5.e	6	42	0,14	
64.1.a	4	42	0,09	0,119
64.1.b	6	42	0,14	
64.1.c	4	42	0,09	
64.1.d	5	42	0,11	
64.1.e	5	42	0,11	
64.2.a	4	42	0,09	
64.2.b	4	42	0,09	
64.2.c	5	42	0,11	
64.2.d	5	42	0,11	
64.2.e	4	42	0,09	
64.3.a	7	42	0,16	
64.3.b	7	42	0,16	
64.3.c	6	42	0,14	
64.3.d	5	42	0,11	
64.3.e	6	42	0,14	
64.4.a	6	42	0,14	
64.4.b	4	42	0,09	
64.4.c	6	42	0,14	
64.4.d	7	42	0,16	

64.4.e	8	42	0,18	
64.5.a	6	42	0,14	
64.5.b	4	42	0,09	
64.5.c	5	42	0,11	
64.5.d	5	42	0,11	
64.5.e	4	42	0,09	
65.1.a	7	42	0,16	0,12
65.1.b	8	42	0,18	
65.1.c	6	42	0,14	
65.1.d	5	42	0,11	
65.1.e	7	42	0,16	
65.2.a	11	42	0,26	
65.2.b	4	42	0,09	
65.2.c	6	42	0,14	
65.2.d	5	42	0,11	
65.2.e	5	42	0,11	
65.3.a	3	42	0,07	
65.3.b	7	42	0,16	
65.3.c	3	42	0,07	
65.3.d	6	42	0,14	
65.3.e	4	42	0,09	
65.4.a	6	42	0,09	
65.4.b	3	42	0,07	
65.4.c	5	42	0,11	
65.4.d	5	42	0,11	
65.4.e	5	42	0,11	
65.5.a	8	42	0,18	
65.5.b	3	42	0,07	
65.5.c	5	42	0,11	
65.5.d	5	42	0,11	
65.5.e	3	42	0,07	
66.1.a	5	42	0,11	0,119
66.1.b	4	42	0,09	
66.1.c	8	42	0,18	
66.1.d	5	42	0,11	
66.1.e	5	42	0,11	
66.2.a	5	42	0,11	
66.2.b	6	42	0,14	
66.2.c	6	42	0,14	
66.2.d	7	42	0,16	
66.2.e	4	42	0,09	
66.3.a	5	42	0,11	
66.3.b	5	42	0,11	
66.3.c	3	42	0,07	
66.3.d	6	42	0,14	
66.3.e	5	42	0,11	

66.4.a	4	42	0,09	
66.4.b	4	42	0,09	
66.4.c	4	42	0,09	
66.4.d	4	42	0,09	
66.4.e	7	42	0,16	
66.5.a	7	42	0,16	
66.5.b	4	42	0,09	
66.5.c	5	42	0,11	
66.5.d	9	42	0,21	
66.5.e	5	42	0,11	
67.1.a	9	42	0,21	0,118
67.1.b	9	42	0,21	
67.1.c	7	42	0,16	
67.1.d	5	42	0,11	
67.1.e	5	42	0,11	
67.2.a	5	42	0,11	
67.2.b	4	42	0,09	
67.2.c	7	42	0,16	
67.2.d	4	42	0,09	
67.2.e	6	42	0,14	
67.3.a	4	42	0,09	
67.3.b	4	42	0,09	
67.3.c	6	42	0,14	
67.3.d	4	42	0,09	
67.3.e	2	42	0,04	
67.4.a	9	42	0,21	
67.4.b	5	42	0,11	
67.4.c	3	42	0,07	
67.4.d	4	42	0,09	
67.4.e	7	42	0,16	
67.5.a	4	42	0,09	
67.5.b	5	42	0,11	
67.5.c	3	42	0,07	
67.5.d	5	42	0,11	
67.5.e	5	42	0,11	
68.1.a	7	42	0,16	0,1
68.1.b	6	42	0,14	
68.1.c	5	42	0,11	
68.1.d	3	42	0,07	
68.1.e	4	42	0,09	
68.2.a	3	42	0,07	
68.2.b	5	42	0,11	
68.2.c	3	42	0,07	
68.2.d	4	42	0,09	
68.2.e	6	42	0,14	
68.3.a	5	42	0,11	

68.3.b	6	42	0,14	
68.3.c	7	42	0,16	
68.3.d	6	42	0,14	
68.3.e	4	42	0,09	
68.4.a	5	42	0,11	
68.4.b	4	42	0,09	
68.4.c	3	42	0,07	
68.4.d	5	42	0,11	
68.4.e	4	42	0,09	
68.5.a	5	42	0,11	
68.5.b	7	42	0,16	
68.5.c	3	42	0,07	
68.5.d	4	42	0,09	
68.5.e	6	42	0,14	
69.1.a	4	42	0,09	0,094
69.1.b	2	42	0,04	
69.1.c	6	42	0,14	
69.1.d	4	42	0,09	
69.1.e	5	42	0,11	
69.2.a	6	42	0,14	
69.2.b	5	42	0,11	
69.2.c	5	42	0,11	
69.2.d	4	42	0,09	
69.2.e	4	42	0,09	
69.3.a	3	42	0,07	
69.3.b	3	42	0,07	
69.3.c	3	42	0,07	
69.3.d	2	42	0,04	
69.3.e	7	42	0,16	
69.4.a	3	42	0,07	
69.4.b	3	42	0,07	
69.4.c	4	42	0,09	
69.4.d	1	42	0,02	
69.4.e	4	42	0,09	
69.5.a	3	42	0,07	
69.5.b	5	42	0,11	
69.5.c	4	42	0,09	
69.5.d	8	42	0,18	
69.5.e	7	42	0,16	
70.1.a	3	42	0,07	
70.1.b	3	42	0,07	0,109
70.1.c	5	42	0,11	
70.1.d	3	42	0,07	
70.1.e	3	42	0,07	
70.2.a	5	42	0,11	
70.2.b	3	42	0,07	

70.2.c	4	42	0,09	
70.2.d	5	42	0,11	
70.2.e	7	42	0,16	
70.3.a	7	42	0,16	
70.3.b	4	42	0,09	
70.3.c	5	42	0,11	
70.3.d	8	42	0,18	
70.3.e	4	42	0,09	
70.4.a	3	42	0,07	
70.4.b	3	42	0,07	
70.4.c	5	42	0,11	
70.4.d	5	42	0,11	
70.4.e	5	42	0,11	
70.5.a	5	42	0,11	
70.5.b	9	42	0,21	
70.5.c	3	42	0,07	
70.5.d	7	42	0,16	
70.5.e	5	42	0,11	
71.1.a	5	42	0,11	0,08
71.1.b	5	42	0,11	
71.1.c	4	42	0,09	
71.1.d	5	42	0,11	
71.1.e	3	42	0,07	
71.2.a	2	42	0,04	
71.2.b	3	42	0,07	
71.2.c	5	42	0,11	
71.2.d	5	42	0,11	
71.2.e	4	42	0,09	
71.3.a	4	42	0,09	
71.3.b	4	42	0,09	
71.3.c	3	42	0,07	
71.3.d	5	42	0,11	
71.3.e	5	42	0,11	
71.4.a	4	42	0,09	
71.4.b	5	42	0,11	
71.4.c	5	42	0,11	
71.4.d	3	42	0,07	
71.4.e	3	42	0,07	
71.5.a	3	42	0,07	
71.5.b	2	42	0,04	
71.5.c	3	42	0,07	
71.5.d	3	42	0,07	
71.5.e	4	42	0,09	
72.1.a	3	42	0,07	0,088
72.1.b	3	42	0,07	

72.1.c	4	42	0,09	
72.1.d	5	42	0,11	
72.1.e	4	42	0,09	
72.2.a	2	42	0,04	
72.2.b	4	42	0,09	
72.2.c	6	42	0,14	
72.2.d	3	42	0,07	
72.2.e	5	42	0,11	
72.3.a	3	42	0,07	
72.3.b	4	42	0,09	
72.3.c	3	42	0,07	
72.3.d	3	42	0,07	
72.3.e	4	42	0,09	
72.4.a	4	42	0,09	
72.4.b	3	42	0,07	
72.4.c	5	42	0,11	
72.4.d	3	42	0,07	
72.4.e	4	42	0,09	
72.5.a	4	42	0,09	
72.5.b	4	42	0,09	
72.5.c	6	42	0,14	
72.5.d	4	42	0,09	
72.5.e	4	42	0,09	

Legenda: O primeiro número se refere a identificação do rato, o segundo ao corte analisado e a letra ao campo dentro de determinado corte.

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO SETOR DE CIÊNCIAS DA BIOLÓGICAS/UFPR



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comitê de Ética em Experimentação Animal
(CEEA)



Nº 463

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEEA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno do CEEA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEEA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

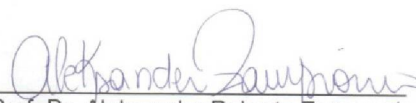
PROCESSO: 23075.032620/2010-10

APROVADO: 17/08/2010 – R.O. 07/2010

TÍTULO: Avaliação anátomo-fisiológica do envelhecimento urogenital masculino

AUTORES: Rogério de Fraga, Édison Luiz P. Farias, Djanira Veronez, Ciro Alberto de Oliveira Ribeiro, Marta Margarete Cestari, Helena Cristina Silva de Assis, Francisco Filipak Neto, Alanna Silva Huk, Larissa Remonti Bessani

DEPARTAMENTO: Anatomia


Prof. Dr. Aleksander Roberto Zampronio
Coordenador do CEEA

ANEXO 2 – PROTOCOLO DE SUBMISSÃO DO ARTIGO NO JORNAL CIENTÍFICO ACTA CIRÚRGICA BRASILEIRA

From: actacirbras@gmail.com
To: thiago_hota30@yahoo.com.br
CC:
Subject: Acta Cirúrgica Brasileira - Decision on Manuscript ID ACB-2019-0032.R1
Body: 25-Jul-2019

Dear Dr. Hota:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "STEREOLOGICAL ANALYSIS OF ELASTIC FIBERS OF THE CORPUS CAVERNOSUM OF RATS DURING THE AGING PROCESS" in its current form for publication in the Acta Cirúrgica Brasileira.

our publishing team will contact you for further details before final publication. Authors should provide a **STRUCTURED ABSTRACT** (look at the instructions to authors) and send to our team when they contact you.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Acta Cirúrgica Brasileira, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Prof. Edna Montero
Editor-in-Chief, Acta Cirúrgica Brasileira
actacirbras@gmail.com

Date Sent: 25-Jul-2019