

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GINO PIGATTO FILHO

AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DO ENVELHECIMENTO DO CORPO
ESPONJOSO

CURITIBA

2021

GINO PIGATTO FILHO

AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DO ENVELHECIMENTO DO CORPO
ESPONJOSO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Fraga

CURITIBA

2021

P628 Pigatto Filho, Gino

Avaliação histomorfométrica do envelhecimento do corpo esponjoso [recurso eletrônico] / Gino Pigatto Filho. – Curitiba, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Fraga.

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

1. Envelhecimento. 2. Tecido elástico. 3. Colágeno. 4. Uretra.
5. Ratos. I. Fraga, Rogério de. II. Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica. Setor de Ciências da Saúde da Saúde. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

NLMC: WJ 600



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

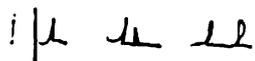
TERMO DE APROVAÇÃO

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 GINO PIGATTO FILHO intitulada: **AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DO ENVELHECIMENTO DO CORPO ESPONJOSO**, sob orientação do Prof. Dr. ROGERIO DE FRAGA, que após terem inquirido o aluno e realizada 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, 18 de Agosto de 2021.


ROGERIO DE FRAGA
Presidente da Banca Examinadora


MARCELO ALVES ARANHA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)


LUIZ SÉRGIO SANTOS
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Gino Pigatto e Jane T. da Rocha Pigatto que sempre me apoiaram incondicionalmente em toda a minha vida e sempre me ensinaram o valor do trabalho, da persistência e da coragem.

À minha esposa, Gabriella Tansini Pigatto que é minha melhor amiga e o amor da minha vida. A pessoa que faz meus dias melhores e sempre me ensina o valor inestimável dos pequenos prazeres da vida.

Ao meu filho, Pietro Tansini Pigatto, que ainda não nasceu, mas que já me enche de alegria e de vontade de batalhar pela felicidade das próximas gerações.

Ao Professor Dr Rogério de Fraga, grande amigo e mentor. Um docente nato, que sabe primorosamente cativar o que há de melhor naqueles que estão ao seu redor.

Ao Professor Dr Fernando Lorenzini, uma pessoa genial, que foi fundamental na minha formação e que sempre estará em minha memória.

Ao Dr. Aníbal W. Branco, Dr Luciano C. Stunitz, Dr. Juliano D. Scheffer e Dr. Sandro A. Nichele, pessoas brilhantes e talentosas, que me acolheram em sua equipe e me guiaram desde o princípio da minha jornada profissional, e que espero ter sempre ao meu lado.

À equipe do laboratório de Anatomia e Cirurgia Experimental da UFPR e à equipe do laboratório de Anatomia Patológica da PUC-PR, pelo auxílio no experimento.

Aos amigos que permitiram compartilhar de seu experimento: Eduardo F. Melchiorretto, Marcelo Zeni, Bruno V. D. Neves, Eduardo P de Miranda e Gustavo L. Marques e Thiago Hota.

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.

*“Prefiro os que me criticam, porque me corrigem, aos que me elogiam, porque
me corrompem.”*

(Santo Agostinho)

RESUMO

Introdução: Com o envelhecimento ocorre um aumento expressivo dos sintomas do trato urinário inferior. Estes sintomas possivelmente possuem influência das alterações matriciais do corpo esponjoso, causadas pelo envelhecimento. **Objetivo:** Quantificar as mudanças no volume relativo das fibras elásticas, fibras colágenas e a proporção entre colágeno tipo I e III no corpo esponjoso de ratos durante o processo de envelhecimento. **Métodos:** Quarenta e oito ratos, criados em condições semelhantes, foram divididos em quatro grupos (G1 a G4) e submetidos à penectomia aos 6, 9, 12 e 24 meses, respectivamente. Os cortes histológicos do segmento médio do pênis foram corados com resorcina-fucsina de Weigert, tricrômico de Masson e vermelho picrossírius. A densidade volumétrica das fibras elásticas, fibras de colágeno e a proporção de colágeno tipos I e III no corpo esponjoso foram determinados por análise estereológica. **Resultados:** Observou-se redução na proporção entre colágeno I e III entre os grupos G3 e G4 ($p < 0,048$). Na análise volumétrica das fibras elásticas, observou-se aumento significativo entre os grupos G2 e G3 ($p < 0,03$) e redução do volume entre os grupos G3 e G4 ($p < 0,01$). Não houve diferença na quantidade de colágeno total entre os grupos ($p > 0,54$). **Conclusão:** O envelhecimento em ratos não alterou a quantidade de colágeno total, mas reduziu a proporção entre colágeno tipo I e III e o volume total de fibras elásticas.

Palavras-chave: Envelhecimento. Tecido Elástico. Colágeno. Uretra. Ratos.

ABSTRACT

Introduction: With aging, there is a significant increase in lower urinary tract symptoms. Part of these symptoms may be secondary to changes in the corpus spongiosum matrix, caused by aging. **Purpose:** To quantify the age-dependent changes in the relative volume of elastic fibers, collagen fibers and the proportion of collagen types I/III in the corpus spongiosum of rats. **Methods:** Forty-eight rats, raised under similar conditions, were divided into four groups (G1 to G4) and underwent penectomy at the ages of 6, 9, 12 and 24 months, respectively. Histological sections from the middle segment of the penis were stained with Weigert's resorcin-fuchsin, Masson's trichrome and Picrosirius red, the volumetric density of elastic fibers, collagen fibers and the proportion of collagen types I and III in the corpus spongiosum were determined by stereological analysis. **Results:** A reduction in the proportion of collagen I/III between the groups G3 and G4 ($p < 0.048$) was observed. In the volumetric analysis of elastic fiber, we observed a significant rise between the groups G2 and G3 ($p < 0.03$) and a reduction of the volume between the groups G3 and G4 ($p < 0.01$). However, there was no difference in the quantity of total collagen between the groups ($p > 0.54$). **Conclusion:** Aging in rats did not change the quantity of total collagen but reduced the proportion of collagen types I/III and the volume of elastic fibers.

Key words: Aging. Elastic Tissue. Collagen. Urethra. Rats.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ANATOMIA MACROSCÓPICA DO CORPO ESPONJOSO	10
FIGURA 2 - CORRELAÇÃO ANATÔMICA DO CORPO ESPONJOSO COM OS CORPOS CAVERNOSOS	10
FIGURA 3 - MICROESTRUTURA DO CORPO ESPONJOSO E SUA CORRELAÇÃO COM A URETRA.....	11
FIGURA 4 - FIBRILAS COLÁGENAS VISTAS SOB MICROSCOPIA ELETRÔNICA	12
FIGURA 5 - FIBRAS COLÁGENAS CORADAS EM VERMELHO PELO VERMELHO PICROSÍRIUS E FIBRAS ELÁSTICAS CORADAS EM ESCURO PELA ORCEÍNA	13
FIGURA 6 - MODELO IDEALIZADO POR IDZENGA ET AL. PARA DEMONSTRAÇÃO DO FLUXO URINÁRIO REDUZIDO EM CONDIÇÕES DE ENRIJECIMENTO URETRAL	14
FIGURA 7 - CLASSIFICAÇÃO DE ESPONGIOFIBROSE POR DEVINE (1983).....	15
FIGURA 8 - LÂMINA COMPOSTA POR 10 SECÇÕES CONSECUTIVAS DOS PÊNIS DOS RATOS ESTUDADOS	20
FIGURA 9 - SECÇÃO DO CORPO ESPONJOSO CORADO PELO MÉTODO VERMELHO PICROSÍRIUS, SOB LUZ POLARIZADA.....	21
FIGURA 10 - SECÇÃO DO CORPO ESPONJOSO CORADO PELO MÉTODO TRICRÔMICO DE MASSON	21
FIGURA 11 - SECÇÃO DO CORPO ESPONJOSO CORADO PELO MÉTODO RESORCINA FUCSINA DE WEIGERT	22

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	O CORPO ESPONJOSO	9
1.2	O TECIDO CONJUNTIVO.....	11
1.3	IMPORTÂNCIA CLÍNICA DAS ALTERAÇÕES NA MATRIZ PROTEICA DO CORPO ESPONJOSO.....	13
1.4	ESTEREOLOGIA	15
2.	OBJETIVO	17
3	MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1	GRUPOS.....	18
3.2	EXPERIMENTAÇÃO.....	19
3.3	ANÁLISE ESTEREOLÓGICA	22
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
3	ARTIGO - AGE-DEPENDENT HISTOMORPHOMETRIC EVOLUTION OF THE CORPUS SPONGIOSUM	24
4	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32
	APÊNDICE 1 - ÁREAS PERCENTUAIS DO CORPO ESPONJOSO OCUPADAS PELAS FIBRAS ESTUDADAS	34
	ANEXO 1 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS/UFPR	36

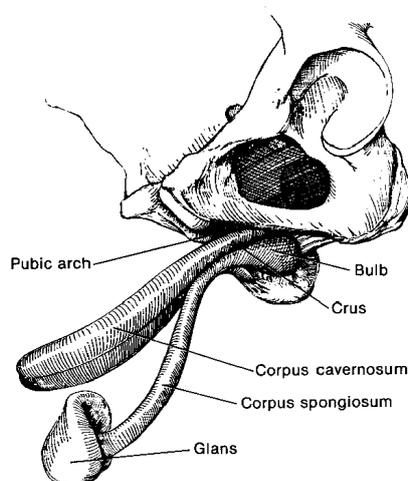
1 INTRODUÇÃO

As alterações associadas ao envelhecimento podem afetar notavelmente o funcionamento do trato urinário inferior e causar sintomas urinários de armazenamento, esvaziamento e pós-miccionais (GIRALDO-RODRÍGUEZ et al., 2019; VAHABI et al., 2017). Estes sintomas estão dentro de um grupo denominado coletivamente como sintomas do trato urinário inferior (STUI). Historicamente em homens, estes sintomas foram por muito tempo atribuídos ao simples aumento benigno da próstata. No entanto, evidências recentes sugerem que esta é uma explicação pobre para um problema mais complexo, uma vez que os STUI provavelmente são causados por diversas alterações estruturais e fisiológicas que ocorrem em vários componentes do trato urinário inferior, e não apenas na próstata (KAHOKEHR; GILLING, 2017). Um dos principais componentes do trato urinário inferior, e que está intimamente conectado com estes sintomas é o corpo esponjoso.

1.1 O CORPO ESPONJOSO

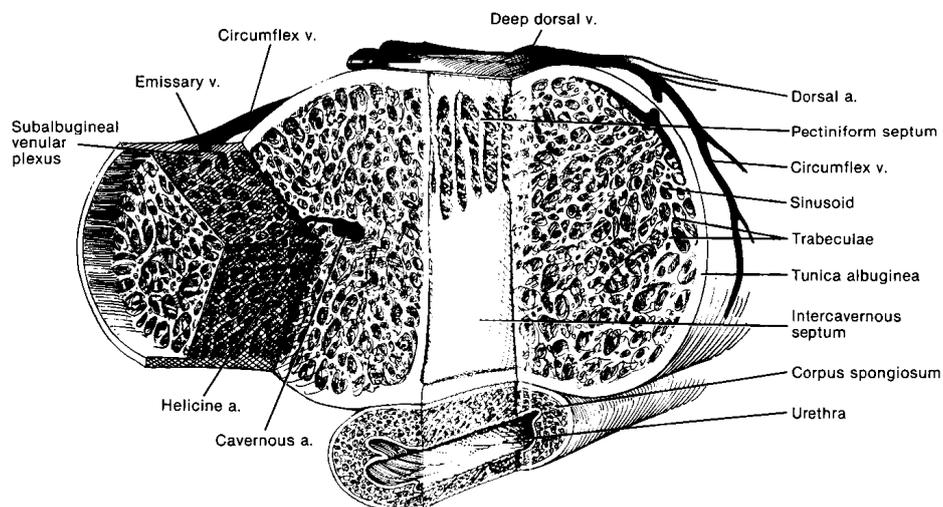
O Corpo Esponjoso (CE), ou também conhecido como “Corpo Caveroso da Uretra”, consiste em estrutura tubular que envolve a uretra peniana em toda sua extensão e se prolonga até a transição com a uretra membranosa. Na extremidade distal ele se dilata, formando a glândula peniana (FIGURA 1). Apesar de possuir propriedades semelhantes aos Corpos Caverosos, o CE possui uma pressão vascular menor durante o mecanismo de ereção. Esta independência vascular evita que a uretra seja comprimida completamente durante o processo de ejaculação, permitindo a passagem do sêmen. Ao mesmo tempo, o tônus vascular mantém a turgidez suficiente para reduzir o calibre da uretra de um tamanho grande, que seria adequado para o fluxo urinário, para um tamanho pequeno, ideal para a expulsão do sêmen sob alta pressão. Além disso, o tecido esponjoso ingurgitado atua como um intermediário durante a ejaculação, facilitando a transmissão para a uretra da pressão criada pelo músculo bulboesponjoso, que se contrai para ejetar o sêmen (FIGURA 2) (MACLENNAN, 2012).

FIGURA 1- ANATOMIA MACROSCÓPICA DO CORPO ESPONJOSO



FONTE: MACLENNAN (2012).

FIGURA 2 - CORRELAÇÃO ANATÔMICA DO CORPO ESPONJOSO COM OS CORPOS CAVERNOSOS

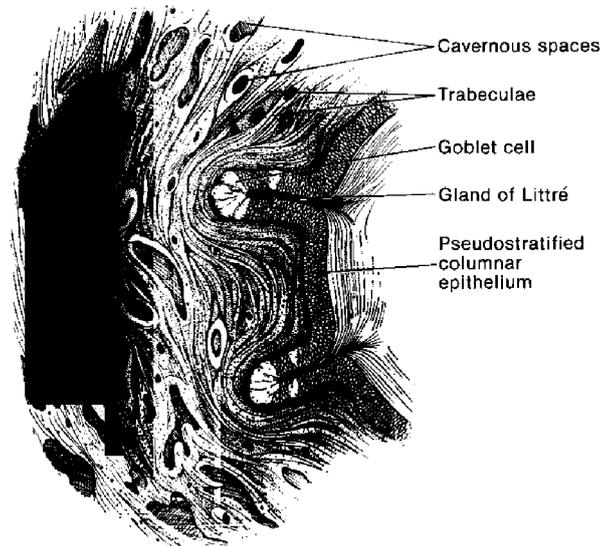


FONTE: MACLENNAN (2012).

Em sua microestrutura, o CE possui como composição diversos espaços venosos, também conhecidos como Espaços Cavernosos, entremeados por septos de tecido conjuntivo e células musculares lisas. Estes espaços

cavernosos se separam do epitélio de revestimento uretral por uma lâmina própria (FIGURA 3) (MACLENNAN, 2012).

FIGURA 3 - MICROESTRUTURA DO CORPO ESPONJOSO E SUA CORRELAÇÃO COM A URETRA



FONTE: MACLENNAN (2012).

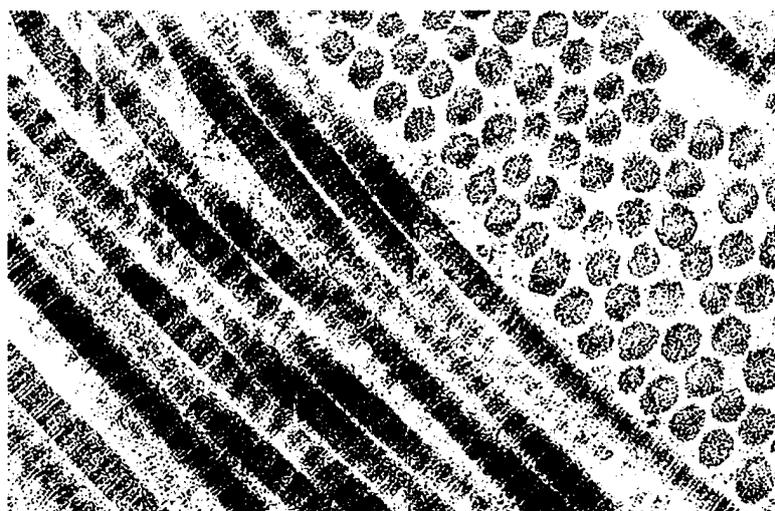
1.2 O TECIDO CONJUNTIVO

O tecido conjuntivo possui como principal conteúdo a matriz extracelular, diferentemente dos demais tipos de tecidos (epitelial, muscular e nervoso), que são formados principalmente por células. A matriz extracelular consiste em combinações de proteínas fibrosas e em um conjunto de macromoléculas hidrofílicas e adesivas, que constituem a substância fundamental (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

As fibras, predominantemente compostas de colágeno (FIGURA 4), constituem as trabéculas que circundam os espaços venosos do CE e são o componente mais resistente do estroma desta estrutura. As fibras do sistema elástico, por sua vez, apresentam características funcionais variáveis, podendo oferecer resistência ou elasticidade aos tecidos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O colágeno é a proteína mais abundante no organismo, representando 30% do seu peso seco. A variedade de colágenos dos vertebrados constitui uma família de proteínas produzidas por diferentes tipos de células e se distinguem pela sua composição química, características morfológicas, distribuição, funções e patologias. Ao microscópio de luz, as fibras colágenas em geral são acidófilas e se coram verdes ou azuis pelo tricrômio de Masson. O colágeno tipo I, também conhecido como “colágeno maduro” é o mais abundante, e possui como características ser espesso, altamente birrefringente e possui alta resistência à tensão. Corantes ácidos, como o vermelho picosírius, intensificam sua birrefringência normal, produzindo uma cor amarela intensa ou vermelha. Já o colágeno tipo III, também conhecido como “colágeno imaturo”, é fino, fracamente birrefringente e é o principal constituinte das fibras reticulares. Devido ao seu pequeno diâmetro, as fibras reticulares se coram em verde pelo vermelho picosírius, quando observadas ao microscópio de polarização. O pequeno diâmetro e a disposição frouxa das fibras reticulares criam uma rede flexível em órgãos que são sujeitos a mudanças fisiológicas de forma ou volume, como artérias, baço, útero e no foco do nosso estudo, o CE. Estas duas formas de colágeno, tipo I e III costumam agregar suas fibrilas para formação de fibras (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

FIGURA 4 – FIBRILAS COLÁGENAS VISTAS SOB MICROSCOPIA ELETRÔNICA

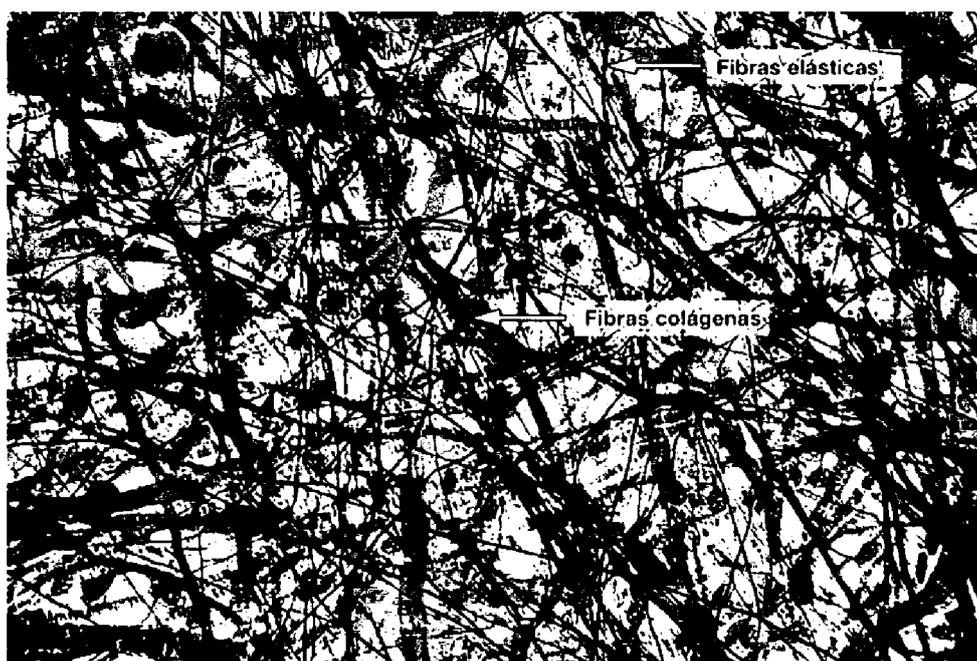


FONTE: JUNQUEIRA; CARNEIRO (2013).

Outro componente importante da matriz extracelular é o sistema elástico, que é composto por três tipos de fibras: oxitalânica, elaunínica e elástica, sendo

esta última o componente mais numeroso do sistema elástico e objeto do nosso estudo (FIGURA 5). As fibras elásticas maduras são ricas em elastina e possuem a propriedade de se distender facilmente quando tracionadas, retornando a sua conformação original após a interrupção de sua tração (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

FIGURA 5 – FIBRAS COLÁGENAS CORADAS EM VERMELHO PELO VERMELHO PICROSÍRIUS E FIBRAS ELÁSTICAS CORADAS EM ESCURO PELA ORCEÍNA



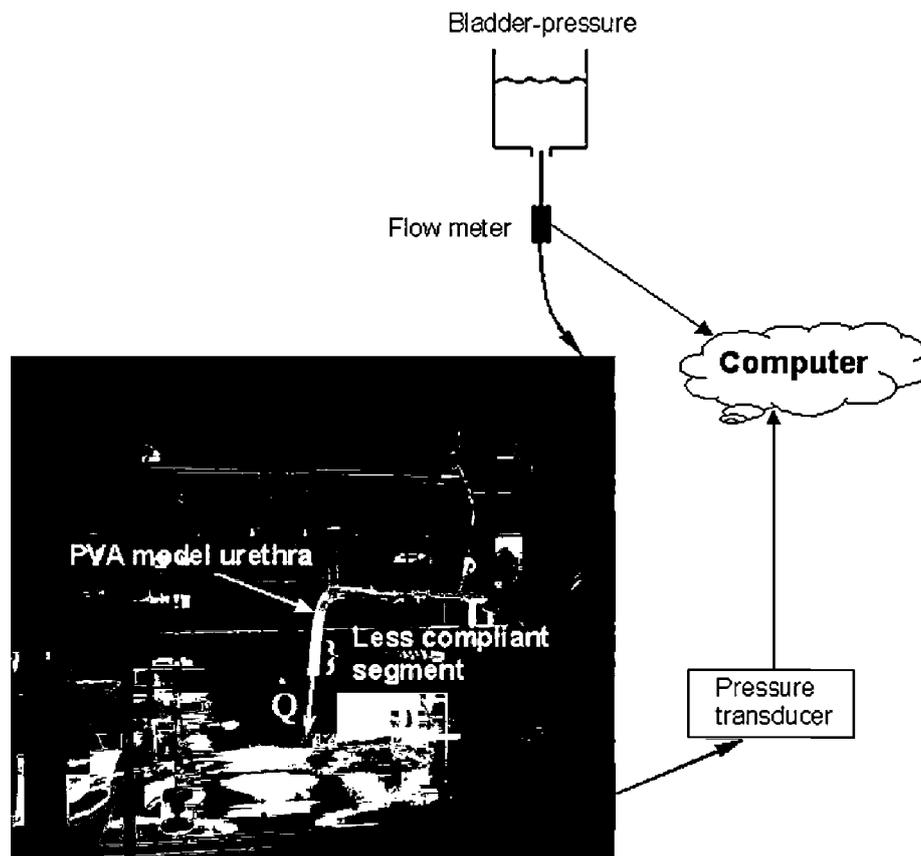
FONTE: JUNQUEIRA; CARNEIRO (2013).

1.3 IMPORTÂNCIA CLÍNICA DAS ALTERAÇÕES NA MATRIZ PROTEICA DO CORPO ESPONJOSO

Com a alteração do volume, qualidade e proporção das fibras estruturais, podem acontecer alterações marcantes na fisiologia do CE. Idzenga et al. (2006) demonstrou em seu elegante modelo que após a correção da hipospádia, alterações estruturais da matriz extracelular geram um aumento da rigidez uretral, resultando em prejuízo do fluxo uretral sem necessariamente haver pontos de estreitamento. Este exemplo nos leva questionar se outras etiologias

de alteração na matriz tecidual, como o envelhecimento por exemplo, também possam causar prejuízo do fluxo urinário.

FIGURA 6 – MODELO IDEALIZADO POR IDZENGA ET AL. PARA DEMONSTRAÇÃO DO FLUXO URINÁRIO REDUZIDO EM CONDIÇÕES DE ENRIJECIMENTO URETRAL



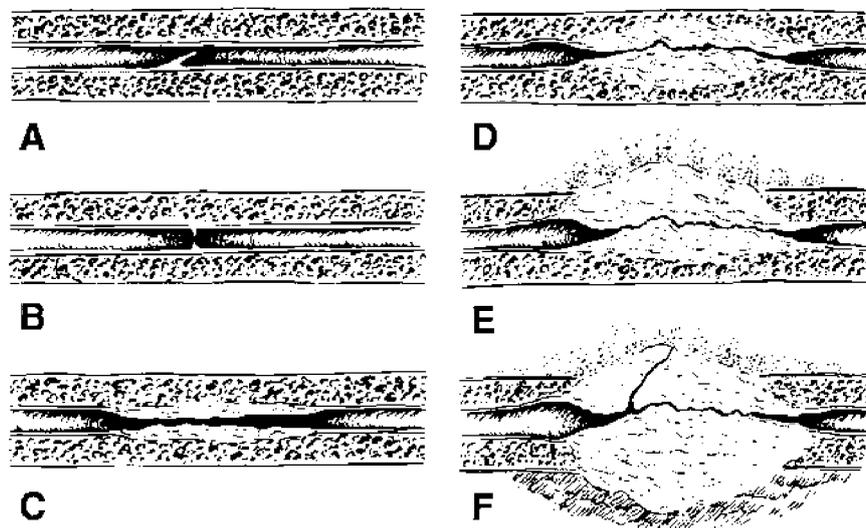
FONTE: IDZENGA (2006).

NOTA: Em uma simulação do trato urinário inferior, com o aumento da rigidez de um tubo de álcool polivinil, que simulava a uretra, reduziu-se o fluxo líquido, mesmo com uma pressão propulsora constante.

Com o envelhecimento, também aumenta a necessidade de procedimentos invasivos urológicos que costumam ser realizados tradicionalmente pela via terapêutica endoluminal. Estes procedimentos eventualmente causam cicatrizes do CE, através de um processo chamado espongiofibrose (FIGURA 7), o qual tem um potencial de apresentar uma dinâmica evolutiva diferente nas diversas fases da vida. Sendo assim, faz-se necessário entender melhor a composição tecidual e a fisiologia natural do envelhecimento do CE para, futuramente, elaborar modelos de estudo que

abordem as diferenças na espongiofibrose em jovens e idosos (KULKARNI et al., 2019; JINJIN et al., 2012; LATINI et al., 2014).

FIGURA 7 – CLASSIFICAÇÃO DE ESPONGIOFIBROSE POR DEVINE (1983)



FONTE: SCHLOSSBERG; JORDAN (2005).

NOTA: A – Estenose sem espongiofibrose, apenas com flap epitelial. B – Cicatriz peri-epitelial com mínima espongiofibrose. C-E – Espongiofibrose progressiva. F – Espongiofibrose ocupando todo o ce e com potencial formação de fístula urinária.

Deve-se notar também que várias alterações na uretra feminina associadas ao envelhecimento foram bem descritas; entretanto, existem poucos estudos desse tipo no complexo uretral masculino (SAMSIOE, 1998; HILLARY, 2014). Portanto, determinar as alterações estruturais decorrentes do envelhecimento do trato urinário masculino é fundamental para compreender as alterações fisiológicas da micção e a etiologia dos sintomas adquiridos com o envelhecimento. Poucos estudos até o momento descrevem as mudanças estereológicas no CE, justificando a importância desta pesquisa.

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

fornece 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, reprodutíveis 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.

2 OBJETIVO

Avaliar as alterações na quantidade de colágeno total e fibras elásticas e a proporção de colágeno tipo I e de colágeno tipo III no CE durante o envelhecimento natural de ratos.

3 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 aprovado previamente pelo 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).

3.1 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, sendo 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:

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

É válido ressaltar que o período de 6 e 24 meses foram escolhidos pelo fato de um rato de 6 meses ser considerado um rato adulto e o rato de 24 meses ser

grosseiramente equivalente à um ser humano de 60 anos, por tanto um rato idoso.

3.2 EXPERIMENTAÇÃO

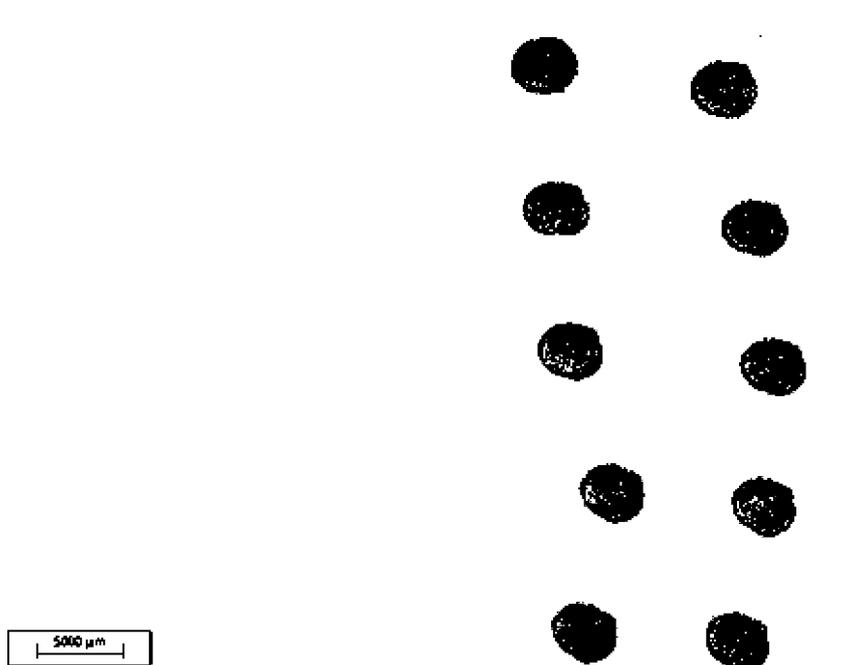
A execução do experimento ocorreu no Departamento de Anatomia do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (Curitiba, PR) em dias pré-determinados. Os animais, divididos em grupos por suas respectivas idades, foram separados em gaiolas individuais até o laboratório para sua morte e coleta 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 tóraco-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 transversais em busca de cortes isotrópico, uniformes e aleatório (IUA), haja vista a conformação cilíndrica dos corpos cavernos e esponjosos 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 8) e montados em lâminas e corados pelo métodos de vermelho picrosírius (FIGURA 9), para a visualização de colágenos tipo I e III,

tricroômico de Masson (FIGURA 10), para avaliação do volume total de colágeno, e resorcina fucsina de Weigert (FIGURA 11), para avaliação do volume de fibras elásticas. As imagens das lâminas foram capturadas com uma câmera de vídeo acoplada a um microscópio óptico com ampliação de 400x para os cortes corados com tricrômio de Masson e resorcina-fucsina de Weigert. Para capturar as imagens da coloração vermelho picrosírius, usamos um microscópio óptico com aumento de 400x sob luz polarizada para diferenciação do colágeno tipo I (fibras amarelas e vermelhas) do tipo III (fibras verdes. Usamos o software Zen 2.3 (edição azul) da Carl Zeiss Microscopy GmbH, 2011 para digitalizar e editar as imagens.

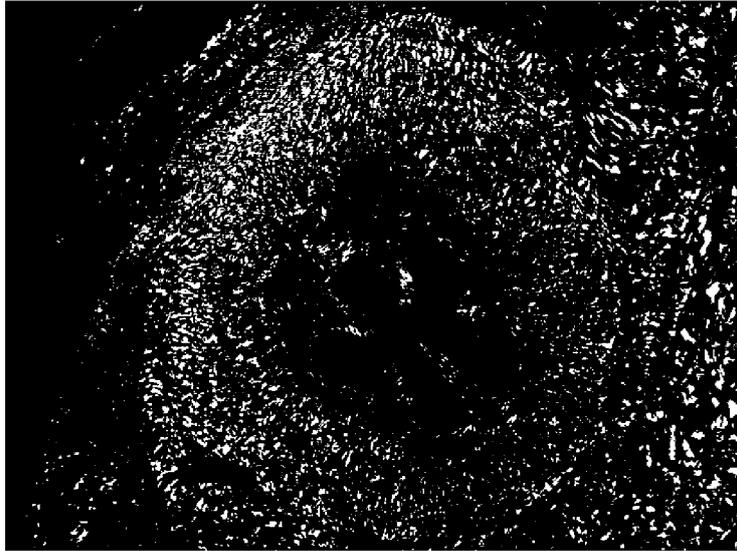
FIGURA 8 - LÂMINA COMPOSTA POR 10 SECÇÕES CONSECUTIVAS DOS PÊNIS DOS RATOS ESTUDADOS



FONTE: O autor (2021).

NOTA: Secções de pênis corados por resorcina fucsina de Weigert.

FIGURA 9 – SECÇÃO DO CORPO ESPONJOSO CORADO PELO MÉTODO VERMELHO PICROSÍRIUS, SOB LUZ POLARIZADA. RATO SACRIFICADO COM 9 MESES DE IDADE.



FONTE: O autor (2021).

NOTA: Os tons esverdeados representam o colágeno tipo III e os tons de amarelo e vermelho representam o colágeno tipo I.

FIGURA 10 – SECÇÃO DO CORPO ESPONJOSO CORADO PELO MÉTODO TRICRÔMICO DE MASSON. RATO SACRIFICADO COM 9 MESES DE IDADE.



FONTE: O autor (2021).

NOTA: Na ponta da seta, observamos a coloração azul típica do colágeno.

FIGURA 11 – SECÇÃO DO CORPO ESPONJOSO CORADO PELO MÉTODO RESORCINA FUCSINA DE WEIGERT. SACRIFICADO COM 9 MESES DE IDADE.



FONTE: O autor (2021).

NOTA; Na seta azul observamos o limite do corpo esponjoso. Na seta verde observamos o aspecto das fibras elásticas.

3.3 ANÁLISE ESTEREOLÓGICA

Para a realização da análise estereológica, foi utilizado o software Image Pro Plus, (Media Cybernetics – versão 4.5.0.29 para Windows) a fim de calcular a área total do CE e as suas percentagens de fibras elásticas, fibras de colágeno total e tipos de colágeno I e III (PRASAD; PRABHU, 2012). O método utilizado no software foi determinar a área do CE ocupada pelo espectro de cores que representa uma determinada fibra. Essa quantificação da área de cor foi realizada por meio da segmentação de cores baseada no histograma HSI, após equalização colorimétrica pelo mesmo software. A área ocupada pela cor da respectiva fibra foi dividida pela área completa de CE para determinar a percentagem de CE ocupada por aquela fibra específica. As áreas do colágeno tipo I e III foram calculadas separadamente e as percentagens obtidas do

colágeno tipo I foram divididas pelas porcentagens do colágeno tipo III para determinar suas proporções.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste estatístico de correlação de Pearson foi utilizado para avaliar a associação entre a idade dos ratos e as áreas relativas de colágeno e fibras elásticas no CE. O teste de comparação múltipla de Tukey foi usado para avaliar a significância estatística das diferenças nas áreas relativas observadas entre os grupos. Um nível de significância de 95% foi considerado ($p < 0,05$) como estatisticamente significativo.

4 ARTIGO

Os dados da presente tese – resultados e discussão foram publicados na revista científica *Acta cirúrgica brasileira* (fator de impacto: 0,03 pela Scielo, em 2020), em janeiro de 2021 sob a seguinte citação:

PIGATTO FILHO, Gino et al. Age-dependent histomorphometric evolution of the corpus spongiosum. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 35, n. 12, e351203, 2020. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502020001200202&lng=en&nrm=iso>. Epub Jan 20, 2021. <https://doi.org/10.1590/acb351203>.



Age-dependent histomorphometric evolution of the corpus spongiosum

Gino Pigatto Filho^I, Marcelo Zeni^{II}, Eduardo Felipe Melchiorretto^{II}, Gustavo Lenci Marques^{II}, Thiago Hota^{III}, Rogério de Fraga^{IV}

^I Fellow Master degree, Postgraduate Program in Surgical Clinic, Universidade Federal do Paraná, Curitiba- PR, Brazil. Conception and design; acquisition, analysis and interpretation of data; histopathological examinations; manuscript preparation and writing; critical revision; final approval.

^{II} Msc, Department of Clinical Surgery, Health Sciences Sector, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, Brazil. Conception and design, acquisition of data, technical procedures.

^{III} Msc, Department of Clinical Surgery, Health Sciences Sector, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, Brazil. Substantive scientific and intellectual contributions to the study, critical revision.

^{IV} PhD, Department of Clinical Surgery, Health Sciences Sector, Universidade Federal do Paraná, Curitiba- PR, Brazil. Substantive scientific and intellectual contributions to the study, conception and design, critical revision, final approval.

Abstract

Purpose: To quantify the age-dependent changes in the relative volume of elastic fibers, collagen fibers and the proportion of collagen types I/III in the corpus spongiosum of rats.

Methods: Forty-eight rats, raised under similar conditions, were divided into four groups (G1 to G4) and underwent penectomy at the ages of 6, 9, 12 and 24 months, respectively. Histological sections from the middle segment of the penis were stained with Weigert's resorcin-fuchsin, Masson's trichrome and Picrosirius red, the volumetric density of elastic fibers, collagen fibers and the proportion of collagen types I and III in the corpus spongiosum were determined by stereological analysis.

Results: A reduction in the proportion of collagen I/III between the groups G3 and G4 ($p < 0.048$) was observed. In the volumetric analysis of elastic fiber, we observed a significant rise between the groups G2 and G3 ($p < 0.03$) and a reduction of the volume between the groups G3 and G4 ($p < 0.01$). However, there was no difference in the quantity of total collagen between the groups ($p > 0.54$).

Conclusion: Aging in rats did not change the quantity of total collagen but reduced the proportion of collagen types I/III and the volume of elastic fibers.

Key words: Aging. Elastic Tissue. Collagen. Urethra. Rats.

■ Introduction

The process of aging impacts the urinary system and affects the functioning of essentially all urinary organs. A number of these changes have a direct impact on genitourinary health, urologic function and clinical decision-making related to urologic care.

The changes associated with aging can particularly affect the functioning of the lower urinary tract and cause urinary incontinence and urinary irritative symptoms^{1,2}, collectively termed as lower urinary tract symptoms (LUTS), which are frequently attributed to benign prostate enlargement. However, recent evidence suggests that this is a poor explanation for a complex problem, since LUTS can be characterized by structural and physiological changes in most parts of the inferior urinary tract, not just the prostate³. Notably, alterations in the quality and quantity of structural fibers in the extracellular matrix, such as collagen and elastic fibers, also occur. A good example of the clinical impact on the changes in the structural fibers of the corpus spongiosum (CS) is the increased urethral stiffness, resulting in impaired urethral flow without points of stricture after correcting hypospadias⁴. Therefore, it is reasonable to think that similar alterations in the extracellular matrix of the CS may occur with an increase in age as well.

With aging, the need for auxiliary procedures that tend to be frequently performed via endoluminal therapy also increases. However, these procedures often result in scarring of the CS that may be worsened with aging. Therefore, there is a need to understand the tissue composition and the natural physiology of the CS with aging in order to avoid surgical complications^{5,6,7}.

It should also be noted that several changes in the female urethra associated with age have been well described; however, no such studies on the male urethra exist^{8,9}. Therefore, understanding the structural changes due to the aging of the male urinary tract is crucial for comprehending the physiological changes in micturition and the etiology of the acquired symptoms and for expanding our knowledge about the ways that urethral scarring occurs in older men. Moreover, we found that very few studies describe the stereological changes in the CS. This study aimed to evaluate the age-dependent changes in the quantity of total collagen and elastic fibers and the proportion of immature and mature collagen forms in the corpus spongiosum (CS) of rats.

■ 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 approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation (CEEAA), Department of Biological Sciences of the Universidade Federal do Paraná, as part of the project "Anatomical and physiological evaluation of male urogenital aging" process No. 23075.032620/2010-10.

Forty-eight male Wistar rats (*Rattus norvegicus* var. *albinus*), maintained under a light-dark cycle of 12 h and controlled temperature (22 °C) and receiving water and food [standard pellet diet; Nuvilab-Nuvital, Curitiba (PR), Brazil] ad libitum, until they were sacrificed. Rats were divided in four even groups, kept in even conditions until the age each group was ascribed for the time of the sacrifice for the study. The rats were randomly divided into four groups of 12 rats each (G1, G2, G3, and G4). The rats underwent sacrifice and resection of the penis and other organs for research at the ages of 6 (G1), 9 (G2), 12 (G3) and 24 (G4) months of age. For the sacrifice procedures, the rats were anesthetized intraperitoneally with a solution of ketamine hydrochloride (57.67 mg/mL) and 2% xylazine hydrochloride at a dose of 1 mL/kg body weight. A one-punch cardiac puncture was performed and cardiac arrest was induced by exsanguination. This procedure was followed by resection of the penis and kidneys, bladder, liver, brain, heart and aorta for use in multiple other researches of the aging process in a multidisciplinary.

Histological processing

The penis of each rat was laid on a horizontal surface and the middle third segment was resected, as previously described. After tissue fixation in 10% formalin, the segment was fixed for 16 h and later dehydrated using pure xylene and 70% alcohol. Finally, the sections were embedded in paraffin and 5 µm sections using a microtome (American Optical, Spencer AO 820) were prepared. Ten consecutive sections were mounted on slides and stained using Picrosirius red for distinguishing collagen type I and III, Masson's trichrome for total collagen and Weigert's resorcin-fuchsin method for visualizing elastic fibers. The images of the slides were captured using a video camera coupled with an optical microscope at 400 × magnification for these sections stained with Masson's trichrome and Weigert's resorcin-fuchsin methods. To capture the images of Picrosirius red staining, we used an optical microscope at 400 × magnification under polarized light to differentiate collagen type I (red fibers) from Type III (green fibers). We used the Zen 2.3 software (blue edition) from Carl Zeiss Microscopy GmbH, 2011 for scanning and editing the images (Fig. 1).

In order to perform the stereological analysis, we used the Image Pro Plus software, from Media Cybernetics, to calculate the total area of CS and the percentage of elastic

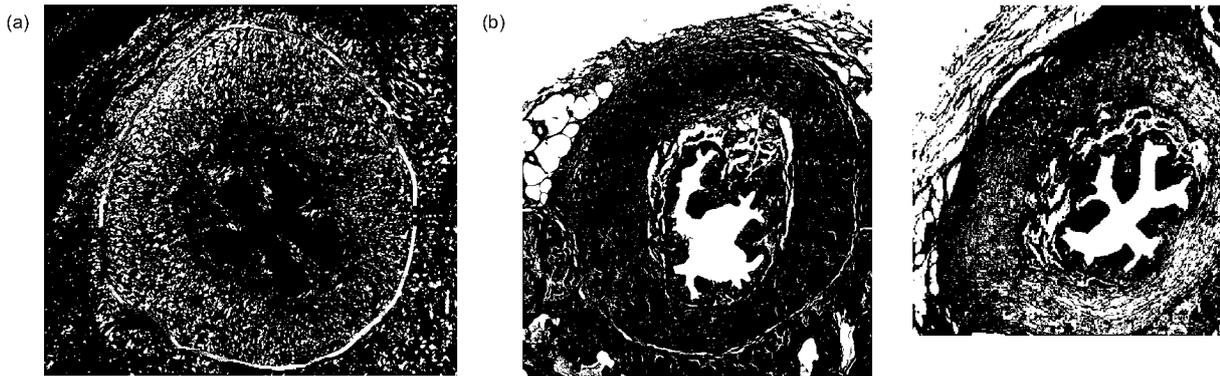


Figure 1 - Corpus spongiosum stained with (a) Picrosirius red staining method visualized under polarized light. The fibers stained in the specter between red and yellow are collagen type I and those in green are collagen type III. The purple line delimitates the area of CS. (b) Corpus spongiosum stained with Masson's trichrome staining method. Blue areas indicated by the red arrow are collagen fibers. (c) Corpus spongiosum stained with Weigert's resorcin-fuchsin method. The blue arrow indicates the border of the corpus spongiosum and green arrow indicates elastic fibers.

fibers, total collagen fibers and collagen types I and III. This method was used to determine the area occupied by the spectrum of colors that represent a particular fiber in the CS. Such color area quantification was performed using HSI histogram-based color segmentation, after color equalization by the same software. The color area was divided by the complete area of CS to determine the percentage of CS occupied by that specific fiber. The areas of collagen types I and III were calculated in a separate manner and the area of collagen type I was divided by the total area of collagen type III to determine their ratios.

Statistical analysis

A Pearson correlation statistical test was used to evaluate the association between the ages of rats and the relative areas of collagen and elastic fibers in the CS. Tukey's multiple comparison test was used to assess the statistical significance of the differences in relative areas observed between the groups. A significance level of 95% was considered ($p < 0.05$) as statistically significant.

Results

The analysis of variance indicated significant difference between the proportions of collagen in at least one pair of groups. Tukey's multiple comparison test identified significant differences between G3 and G4 with the p-value adjusted to 0.048. However, the other contrasts were not significant. The Pearson's correlation coefficient estimated between the ages and the proportion of collagen types I/III was 0.4, with the p-value of 0.004, indicating that an increase in the age is associated with diminution in the proportion of collagen types I/III (Fig. 2). No significant differences between the total collagen of different age groups were found. Pearson's correlation coefficient was estimated to be 0.09 with the p-value of 0.54 (Table 1).

The analysis of elastic fibers showed a significant difference between at least one pair of ages. Tukey's multiple comparison test revealed a significant difference between G1 and G3, with the adjusted p-value of 0.03, and between G3 and G4, with the adjusted p-value of 0.01. However, the other contrasts

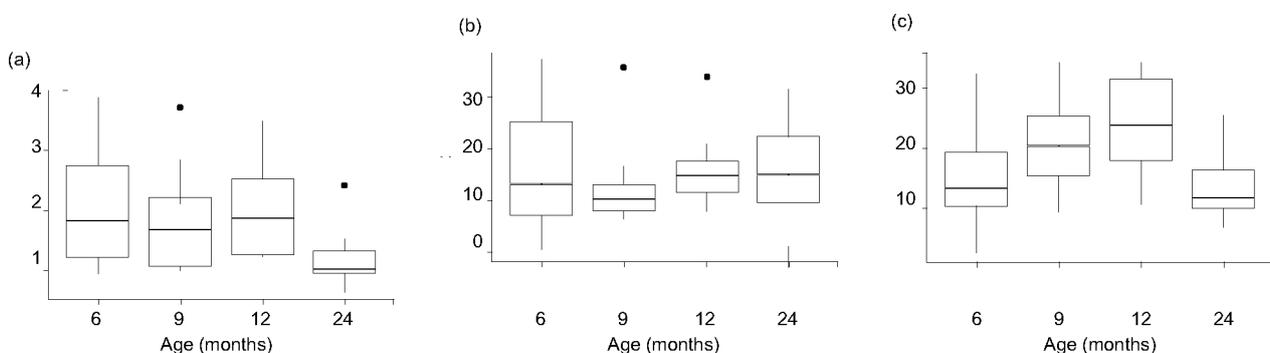


Figure 2 - Graphs representing the correlation between months (ages) and (a) collagen type I/III, (b) total collagen and (c) elastic fibers.

were not significant. In this case, we observed an increase in the volume of elastic fibers until 12 months and then a significant decrease within 24 months, which is possible.

Table 1 – The proportion of collagen type I and III, distribution of total collagen and distribution of elastic fibers between the groups, represented by mean and standard deviation.

Group	Mean	Standard deviation
Proportion of collagen type I and III		
G1	2.053	1.02
G2	1.913	0.85
G3	2.056	0.72
G4	1.192	0.48
Distribution of total collagen		
G1	15.83	12.68
G2	12.42	8.09
G3	15.96	7.06
G4	16.82	9.23
Distribution of elastic fibers		
G1	15.7	9.14
G2	21.26	7.59
G3	25.59	8.36
G4	15	6.85

■ Discussion

We observed the impact of the aging process in the extracellular matrix of the CS based on our results. These changes encompassed an initial increase followed by a decrease in the amount of elastic fibers and proportion of collagen type I/III.

In this study, we found an initial increase followed by a reduction in the quantity of elastic fibers with age. These changes, marked by a decrease in the volume of elastic fibers at the later stage, could be attributed to the late-onset of hypogonadism related to aging, as explained by Pradidarcheep¹⁰. Reinforcing this theory, a similar change in the density of elastic fibers was found by Borges *et al.*¹¹, in a study comparing extracellular matrix morphology in neutered versus intact CS of cats. This study showed that neutered cats present a smaller density of elastic fibers in the CS compared with intact cats.

da Silva *et al.*¹² also found elastic fiber changes in a study on human urethral plate in hypospadias repair associated with aging, where the number of elastic fibers reduced drastically with age. However, no initial increase in elastic fibers was observed. This is different finding from Gallo *et al.*¹³ and Abidu-Figueiredo *et al.*¹⁴. Gallo *et al.*¹³ studied the modifications of erectile tissue components in the penis during the fetal period in Humans and showed a significant increase of the elastic and collagen fibers during the early stages of development of CS. Abidu-Figueiredo *et al.*¹⁴ studied rabbits penises from 30 to 730 days and found a progressive increase in the density of elastic fibers in the CS during the whole period. Since the tissue composition between the urethral plate of hypospadias and the healthy urethra differs, the heterogeneity between the samples of the Da Silva's study and the others could justify these different results.

The elastic fibers in the extracellular matrix is known to affect the elasticity of the tissue and, therefore, may enhance obstructive symptoms, as demonstrated by Idzenga *et al.*⁴. Idzenga *et al.*⁴ explained that after surgical repair the stiffness of the distal urethra limits the flow rate due to the inability to increase the diameter of the urethra under the same pre-determinate bladder pressure. In another study, Jinjin *et al.*⁶ developed a model in which the stiffness of the fibrous prostate tissue was directly related to LUTS, regardless of the prostate size, corroborating the theory that increased CS stiffness contributes to reducing the flow rate.

By analyzing the decrease in the ratio of collagen type I/III, we found a similar result to Rodrigues *et al.*¹⁶, who also studied the changes in the extracellular matrix of rats for a period of 44 weeks. In this study, he demonstrated that diabetes mellitus can worsen the negative impact of aging in collagenous tissue. The increased proportion of collagen type III represents increased fragility of the CS tissue, since these fibers are not as resistant to tension as collagen type I. Less resistance due to a decrease in the ratio of collagen type I/III, associated with less elasticity due to a decrease in the elastic fibers predisposes the old CS to rupture. Therefore, re-enforcing the use of very delicate and narrow surgical instruments when performing a surgery on the urethra in older adults could avoid lacerations, spongiofibrosis, and strictures¹⁷.

Our study did not find any significant change in the quantity of total collagen with the increase in age. This finding contradicted from the aforementioned study by da Silva *et al.*¹² and Rodrigues *et al.*¹⁶ that showed an increase in the amount of total collagen with increasing age. However, this difference can be justified by the

fact that our control group consisted of samples from the adult population, whereas the other two studies used a younger population as their control. Therefore, we can say that increase in the total collagen found in those studies might be due to the proper development of CS and not aging.

Additionally, our findings provide a better understanding of the age-related changes in the CS and thereby creates a base for developing new strategies to treat urinary system-related diseases and prevent the disease pathology. However, the greatest limitation of our study is that we cannot infer whether the exact same process occurs in humans as well and therefore more studies on human CS should be done. Further studies are also needed to correlate these histologic alterations with the direct impact on LUTS and the healing process in humans.

■ Conclusion

Aging has a considerable impact on the composition of the extracellular matrix. These changes occur for elastic fibers as well as for collagen fibers.

■ Acknowledgments

We would like to thank the staff of the Laboratory of Anatomy and Experimental Surgery, UFPR, and the Laboratory of Pathological Anatomy, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

■ References

- Giraldo-Rodríguez L, Agudelo-Botero M, Mino-León D, Álvarez-Cisneros T. Epidemiology, progression, and predictive factors of urinary incontinence in older community-dwelling Mexican adults: longitudinal data from the mexican health and aging study. *Neurourol Urodyn*. 2019;38(7):1932–43. <https://doi.org/10.1002/nau.24096>
- Vahabi B, Wagg AS, Rosier PFWM, Rademakers KLJ, Denys M-A, Pontari M, Lovick T, Valentini FA, Nelson PP, Andersson K-E, Fry CH. Can we define and characterize the aging lower urinary tract?—ICI-RS 2015. *Neurourol Urodyn*. 2017 4;36(4):854–8. <https://doi.org/10.1002/nau.23035>
- Kahokehr AA, Gilling PJ. Recent advances in the understanding of male lower urinary tract symptoms (LUTS). *F1000Res*. 2016;5:715. <https://doi.org/10.12688/f1000research.8638.1>
- Idzenga T, Kok DJ, Pel JJM, van Mastrigt R, Wolffenbuttel KP. Is the impaired flow after hypospadias correction due to increased urethral stiffness? *J Pediatr Urol*. 2006;2(4):299-303. <https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2005.11.016>
- Kulkarni SB, Joglekar O, Alkandari M, Joshi PM. Management of post TURP strictures. *World J Urol*. 2019;37(4):589–94. <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2498-x>
- Jinjin MA, Gharaee-Kermani M, Kunju L, Hollingsworth JM, Adler J, Arruda EM, Macoska JA. Prostatic fibrosis is associated with lower urinary tract symptoms. *J Urol*. 2012;188(4):1375–81. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.06.007>
- Latini JM, McAninch JW, Brandes SB, Chung JY, Rosenstein D. SIU/ICUD consultation on urethral strictures: epidemiology, etiology, anatomy, and nomenclature of urethral stenoses, strictures, and pelvic fracture urethral disruption injuries. *Urology*. 2014;83(3):S1–7. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2013.09.009>
- Hillary CJ, Osman NI, Chapple CR. Current trends in urethral stricture management. *Asian J Urol*. 2014;1(1):46–54. <https://doi.org/10.1016/j.ajur.2015.04.005>
- Samsioe B. Urogenital aging - A hidden problem. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;178(5):S245–9. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(98\)70555-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(98)70555-1)
- Pradidarcheep W. Lower urinary tract symptoms and its potential relation with late-onset hypogonadism. *Aging Male*. 2008;11(2):51–5. <https://doi.org/10.1080/13685530801954026>
- Borges NC, Pereira-Sampaio MA, Pereira VA, Abidu-Figueiredo M, Chagas MA. Effects of castration on penile extracellular matrix morphology in domestic cats. *J Feline Med Surg*. 2017;19:1261-6. <https://doi.org/10.1177/1098612X16689405>
- da Silva EA, de Marins RL, Rondon A, Damião R. Age-related structural changes of the urethral plate in hypospadias. *J Pediatr Urol*. 2013;9(6):1155–60. <https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2013.04.004>
- Gallo CB, Costa WS, Furriel A, Bastos AL, Sampaio FJ. Modifications of erectile tissue components in the penis during the fetal period. *PLoS One*. 2014;9(8):e106409. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106409>
- Abidu-Figueiredo M, Costa WS, Chagas MA, Sampaio FJ, Cardoso LE. Age-related changes in the concentration of elastic fibers in different regions of the rabbit penis. *Acta Cir Bras*. 2013;28(5):378-84. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502013000500010>
- Babinski MA, de Brito-Gitirana L, Chagas MA, Abidu-Figueiredo M, Costa WS, Sampaio FJ. Immunohistochemical analysis of smooth muscle cells and volumetric density of the elastic system fibers of wild boar (*Sus scrofa*) penis. *Anim Reprod Sci*. 2005;86(3-4):317-28. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.08.002>
- Rodrigues AA, Suaid HJ, Fazan VP, Reis RB, Cologna AJ, Tucci S, Cassini MF, Foss MC, Martins ACP. Histologic study of urethral extracellular matrix and collagen from aging and long-term alloxan-induced diabetic male rats. *Urology*. 2011 2;77(2):510.e6-11. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2010.09.033>
- Grechenkov A, Sukhanov R, Bezrukov E, Butnaru D, Barbagli G, Vasyutin I, Tivtikyan A, Rapoport L, Alyaev Y, Glybochko P. Risk factors for urethral stricture and/or bladder neck contracture after monopolar transurethral resection of the prostate for benign prostatic hyperplasia. *Urologia*. 2018;85(4):150-7. <https://doi.org/10.1177/0391560318758195>

Correspondence:

Gino Pigatto Filho
Avenida Presidente Affonso Camargo,
139980050-370 Curitiba – PR Brasil
Tel.: (55 41)99290-3008
ginopf@icloud.com

Received: Aug 03, 2020

Review: Oct 07, 2020

Accepted: Nov 05, 2020

Conflict of interest: none

Financial source: none

¹Research performed at Laboratory of Anatomy and Experimental Surgery, Division of Urology, Department of Surgery, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR, Brazil. Part of Master degree thesis, Postgraduate Program in Surgical Clinic. Tutor: Rogériode Fraga

5 CONCLUSÃO

O envelhecimento tem um impacto considerável na composição da matriz extracelular. Essas mudanças se caracterizam por uma redução das fibras elásticas e uma redução na proporção de colágeno tipo 1/3.

REFERÊNCIAS

- ABIDU-FIGUEIREDO, M. et al. Age-related changes in the concentration of elastic fibers in different regions of the rabbit penis. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 378-384, 2013.
- BABINSKI, M.A. et al. Immunohistochemical analysis of smooth muscle cells and volumetric density of the elastic system fibers of wild boar (*Sus scrofa*) penis. **Anim. Reprod. Sci.**, Amsterdam, v. 86, n. 3-4, p. 317-328. 2005.
- BORGES, N.C. et al. Effects of castration on penile extracellular matrix morphology in domestic cats. **J. Feline Med. Surg.**, London, v. 19, n. 12, p. 1261-1266, 2017.
- DA SILVA, E.A. et al. Age-related structural changes of the urethral plate in hypospadias. **J. Pediatr. Urol.**, Kiddington, v. 9, n. 6, p. 1155-1160, 2013.
- GALLO, C.B. et al. Modifications of erectile tissue components in the penis during the fetal period. **PLoS One.**, San Francisco, v. 9, n. 8, p. e106409, 2014.
- GIRALDO-RODRÍGUEZ, L. et al. Epidemiology, progression, and predictive factors of urinary incontinence in older community-dwelling Mexican adults: longitudinal data from the Mexican health and aging study. **Neurourol. Urodyn.**, New York, v.38, n. 7 p.1932-1943, 2019.
- GRECHENKOV, A. et al. Risk factors for urethral stricture and/or bladder neck contracture after monopolar transurethral resection of the prostate for benign prostatic hyperplasia. **Urologia**, Moscow, v. 85, n. 4, p. 150-157, 2018.
- HILLARY, C.J.; OSMAN, N.I.; CHAPPLE, C.R. Current trends in urethral stricture management. **Asian J. Urol.**, Sheffield, v. 1, n. 1, p. 46-54, 2014.
- IDZENGA, T. et al. Is the impaired flow after hypospadias correction due to increased urethral stiffness? **J. Pediatr.Urol.**, Kiddington, v. 2, n. 4, p. 299-303, 2006.
- JINJIN, M.A. et al. Prostatic fibrosis associated with lower urinary tract symptoms. **J. Urol.**, Baltimore, v. 188, n. 4, p. 1375-1381, 2012.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica** – texto e atlas. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- KAHOKEHR, A.A.; GILLING, P.J. Recent advances in the understanding of male lower urinary tract symptoms (LUTS). **F1000Res.**, v .5, p. F1000 Faculty Rev-715, Wellington, Apr. 21, 2016. doi: 10.12688/f1000research.8638.1.

KULKARNI, S.B. et al. Management of post TURP strictures. **World J. Urol.**, Berlin, v. 37, n. 4, p. 589-594, 2019.

LATINI, J.M. et al. SIU/ICUD consultation on urethral strictures: epidemiology, etiology, anatomy, and nomenclature of urethral stenoses, strictures, and pelvic fracture urethral disruption injuries. **Urology**, Ridgewood, v. 83, n. 3, p. S1-7, 2014.

MACLENNAN G.T. **Hunman's atlas of urosurgical anatomy**. 2th ed. Cleveland: Elsevier, 2012.

PRADIDARCHEEP, W. Lower urinary tract symptoms and its potential relation with late-onset hypogonadism. **Aging Male**, New York, v. 11, n. 2, p. 51-55, 2008.

PRASAD, K.; PRABHU, G.K. Image analysis tools for evaluation of microscopic views of immunohistochemically stained specimen in medical research - a review. **J. Med. Syst.**, New York, v. 36, n. 4, p. 2621-2631, 2012.

RODRIGUES, A.A. et al. Histologic study of urethral extracellular matrix and collagen from aging and long-term alloxan-induced diabetic male rats. **Urology**, Ridgewood, v. 77, n. 2, p. 510 e6-11, 2011.

SAMSIOE, B. Urogenital aging - a hidden problem. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 178, n. 5, p. S245-249 1998.

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.

SCHLOSSBERG, S.M.; JORDAN, G.H. Urethral stricture. In: RAKEL, R.E.; BOPE. E.T. (Ed.). **Conn's current therapy**. Amsterdam: Elsevier, 2005.

VAHABI, B. et al. Can we define and characterize the aging lower urinary tract?-ICI-RS 2015. **Neurourol. Urodyn.**, New York, v. 38, n. 4, p. 854-858, 2017.

APÊNDICE 1 – ÁREAS PERCENTUAIS DO CORPO ESPONJOSO OCUPADAS PELAS FIBRAS ESTUDADAS

	COLAG 1/ COLAG 3	ELÁSTICA (%)	COLÁGENO TOTAL (%)
RATO 1	2,02	10,02	8,54
RATO 2	1,53	12,48	0,5
RATO 3	3,51	2,44	1,26
RATO 4	1,80	21,4	15,48
RATO 5	2,99	11,14	6,13
RATO 6	1,11	10,98	7,74
RATO 7	2,50	4,63	7,02
RATO 8	1,86	25,9	24,26
RATO 9	1,36	33,9	13,26
RATO 10	3,88	13,94	37,35
RATO 11	1,11	16,72	26,79
RATO 12	0,93	19,12	32,82
RATO 13	1,28	19,92	8,8
RATO 14	1,63	22,56	16,27
RATO 15	1,46	35,89	8,13
RATO 16	2,00	23,27	8,18
RATO 17	2,90	17,39	11,87
RATO 18	1,72	27,36	12,08
RATO 19	2,97	11,68	12,76
RATO 20	1,15	10,06	6,1
RATO 21	1,83	25,99	7,15
RATO 22	1,31	29,15	35,86
RATO 23	3,73	15,03	15,05
RATO 24	0,98	16,77	6,79
RATO 25	1,35	21,79	16,69
RATO 26	3,49	32,52	15,38
RATO 27	3,05	11,61	10,98
RATO 28	2,51	18,83	14,74
RATO 29	1,82	19,8	7,98
RATO 30	1,24	18,66	33,96
RATO 31	1,90	20,24	20,58
RATO 32	2,08	33,39	18,73
RATO 33	1,84	35,59	14,68
RATO 34	1,32	34,56	9,85
RATO 35	1,47	34,43	10,9
RATO 36	2,60	28,85	12,01

RATO 37	2,42	15,6	15,19
RATO 38	1,25	26,44	16,9
RATO 39	1,30	15,32	11,36
RATO 40	1,00	10,55	31,28
RATO 41	1,05	26,55	25,02
RATO 42	0,65	23,52	20,24
RATO 43	1,00	11,01	30,17
RATO 44	0,63	14,35	15,05
RATO 45	1,56	10,5	8,79
RATO 46	0,99	10,26	23,5
RATO 47	1,51	7,34	7,44
RATO 48	0,94	8,54	5,18

*Nota – G1 : rato 1 ao 12; G2: rato 13 ao 24; G3: rato 25 ao 36; G4: rato 37 ao 48.

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO SETOR DE CIÊNCIAS 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 anatomo-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