

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

EFEITOS DE DIFERENTES DOSES DO MINOXIDIL ORAL, EM DOIS TEMPOS DE EXPOSIÇÃO, NO COMPLEXO PROSTÁTICO DE CAMUNDONGOS BALB/C

João Vitor de Souza Ferreira
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

JOÃO VITOR DE SOUZA FERREIRA

EFEITOS DE DIFERENTES DOSES DO MINOXIDIL ORAL, EM DOIS TEMPOS DE EXPOSIÇÃO, NO COMPLEXO PROSTÁTICO DE CAMUNDONGOS BALB/C

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Sergio Luis Pinto da Matta

Coorientadora: Monica Morais Santos

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

F383e
2024

Ferreira, João Vitor de Souza, 1996-
Efeitos de diferentes doses do Minoxidil oral, em dois
tempos de exposição, no complexo prostático de camundongos
Balb/C / João Vitor de Souza Ferreira. – Viçosa, MG, 2024.
1 dissertação eletrônica (75 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Sérgio Luis Pinto da Matta.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral, 2024.
Referências bibliográficas: f. 55-75.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.751>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Finasterida - Efeitos colaterais. 2. Minoxidil - Efeitos
colaterais. 3. Próstata - Doenças. 4. Alopecia - Tratamento.
5. Ratos como animais de laboratório. I. Matta, Sérgio Luis Pinto
da, 1950-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Biologia Geral. Programa de Pós-Graduação em Biologia
Celular e Estrutural. III. Título.

CDD 22. ed. 615.7042

JOÃO VITOR DE SOUZA FERREIRA

EFEITOS DE DIFERENTES DOSES DO MINOXIDIL ORAL, EM DOIS TEMPOS DE EXPOSIÇÃO, NO COMPLEXO PROSTÁTICO DE CAMUNDONGOS BALB/C

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de agosto de 2024.

Assentimento:

João Vitor de Souza Ferreira
Autor

Sergio Luis Pinto da Matta
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 18/11/2024 às 09:00:55 e pelo orientador em 19/11/2024 às 19:27:47. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **9085.VH6P.E5DM** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por sempre proteger e guiar os meus caminhos.

Aos meus pais, Maria e Jadir, pelo amor incondicional. Agradeço pelo apoio, incentivo e acolhimento nas horas mais difíceis.

Ao meu querido Mateus, pelo carinho e companheirismo em todos os momentos.

Ao meu grande orientador, Sérgio da Matta, pela disponibilidade e confiança. Obrigado por me compreender e me inspirar.

À querida Mônica Moraes, que sempre esteve presente nesta jornada. Obrigado pelos conselhos, pela paciência e pelos ensinamentos. Você foi muito importante para que esse sonho se tornasse realidade. Você é inspiração!

Às amigas do laboratório, Fran, Diane e Amanda. Obrigado pela companhia, risadas e momentos de aprendizado. Fran, agradeço pela confiança, ajuda e por dividir comigo essa missão.

Ao Luiz Otávio, que sempre esteve disposto a me ajudar. Obrigado por me ensinar tanto.

Ao John, pela parceria e contribuição com o meu trabalho.

Aos estagiários e ajudantes do biotério, Ana Paula, Cláudia, Maria Fernanda, Luise, Vitória, Maria Paula, Jayne, Lavínia, Bruno, Kaique e Miranda.

Aos professores, funcionários e técnicos do Departamento de Biologia Geral e Departamento de Biologia Animal, muito obrigado! Agradeço aos Laboratórios de Morfologia, Laboratório de Reprodução Animal e Toxicologia, Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia e ao Laboratório de Sistemática Molecular e Biologia da Reprodução, que foram essenciais para a realização das análises deste trabalho. Agradeço aos membros da banca, Marli Cupertino e Sirlene Sartori.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

FERREIRA, João Vitor de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2024. **EFEITOS DE DIFERENTES DOSES DO MINOXIDIL ORAL, EM DOIS TEMPOS DE EXPOSIÇÃO, NO COMPLEXO PROSTÁTICO DE CAMUNDONGOS BALB/C.** Orientador: Sérgio Luis Pinto da Matta. Coorientadora: Monica Morais Santos.

A finasterida e o minoxidil são medicamentos utilizados no tratamento da alopecia androgenética. A finasterida é associada a vias antiandrogênicas e possivelmente a distúrbios em órgãos reprodutivos masculinos. O minoxidil, no entanto, não tem seus mecanismos bem compreendidos. O objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos que o uso do minoxidil oral pode causar na próstata, órgão andrógeno-dependente. Foram utilizados 120 camundongos Balb/C adultos distribuídos em 6 grupos (n=20). Todos os grupos receberam o tratamento diário via oral, por gavagem, por 42 e 84 dias. O grupo controle (CT) recebeu água destilada, o grupo veículo (VC) recebeu Lauril Sulfato de Sódio 1%, o grupo controle positivo (F5,0) recebeu finasterida 5,0 mg/kg e os grupos M2,5; M5,0 e M7,5 receberam minoxidil nas doses 2,5; 5,0 e 7,5 mg/kg, respectivamente. Animais tratados com finasterida apresentaram redução no peso do complexo prostático. Os parâmetros histomorfométricos foram alterados, sobretudo a altura epitelial do lobo prostático ventral dos animais que receberam finasterida. Os níveis de estradiol e di-hidrotestosterona foram alterados. O grupo que recebeu finasterida apresentou aumento significativo na contagem de mastócitos no lobo prostático dorsal, indício de inflamação tecidual. A administração dos medicamentos não foi capaz de alterar a quantificação de colágeno no estroma prostático, mas foi observado aumento de marcadores de estresse oxidativo, o que pode ter sido indicativo para as mudanças na histofisiologia do órgão. Os dados demonstraram que o minoxidil oral pode ser prejudicial para a próstata, pois a administração da droga causou perturbações no tecido, evidenciadas por meio de análises morfológicas, como aumento de atrofia epitelial, células apoptóticas e infiltrados inflamatórios, e bioquímicas, como mudança no perfil de hormônios sexuais. Entretanto, os efeitos observados foram mais pronunciados nos animais tratados com finasterida, o que sugere ser maior fator de risco para a saúde reprodutiva masculina em comparação com o minoxidil oral.

Palavras-chave: finasterida; minoxidil; próstata; saúde reprodutiva

ABSTRACT

FERREIRA, João Vitor de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2024. **EFFECTS OF DIFFERENT DOSES OF ORAL MINOXIDIL, AT TWO EXPOSURE TIMES, ON THE PROSTATIC COMPLEX OF BALB/C MICE.** Adviser: Sergio Luis Pinto da Matta. Co-adviser: Monica Morais Santos.

Finasteride and minoxidil are medications used for the treatment of androgenetic alopecia. Finasteride is associated to antiandrogenic pathways which may lead to fertility-related disorders in men. Minoxidil, however, needs further enlightenment. The aim of this study was to evaluate the effects the use of oral minoxidil in the prostate, an androgen-dependent organ. A total of 120 adult Balb/C mice were divided into six groups (n=20). All groups were subjected to daily treatment, via oral gavage, for 42 and 84 days. Control group (CT) received distilled water, vehicle group (VC) received sodium lauryl sulfate 1%, positive control group (F5,0) received finasteride 5,0 mg/kg, and the groups M2,5; M5,0 and M7,5 received minoxidil doses of 2,5; 5,0 and 7,5mg/kg, respectively. Animals subjected to finasteride showed a reduction in the weight of the prostatic complex. The histomorphometric parameters changed, especially the epithelial height of the ventral prostate lobe of the animals that received finasteride. Estradiol and dihydrotestosterone levels were altered. The group subjected to finasteride showed a significant increase in the mast cell count in the dorsal prostate lobe, indicative of tissue inflammation. The medication was not capable of influence the collagen levels in the prostatic stroma, but it was observed an increase of oxidative stress biomarkers, which might be an indicative of changes in the prostatic histophysiology. Results showed that the oral minoxidil can be harmful for the prostate, because the medication caused implications on the tissue evidenced through morphological, such as increased epithelial atrophy, apoptotic cells and inflammatory infiltrates, and biochemical analyses, such as changes in the profile of sex hormones. However, the observed effects were more pronounced in animals subjected to finasteride, which suggests higher risk factor for the male reproductive health if compared to oral minoxidil.

Keywords: finasteride; minoxidil; prostate; reproductive health

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Alopecia	10
2.2 Minoxidil e finasterida no tratamento de alopecia androgenética	12
2.3 Características gerais da próstata humana e de roedor	15
2.3.1 Aspectos histológicos da próstata.....	17
2.3.2 Aspectos hormonais da próstata	19
2.3.2.1 Andrógenos	19
2.3.2.2 Estrógenos.....	20
2.4 Ação do minoxidil e da finasterida na próstata	20
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivos gerais	22
3.2 Objetivos específicos	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Animais	22
4.2 Delineamento experimental	23
4.3 Coleta e preparação dos tecidos	23
4.4 Peso corporal e do complexo prostático	25
4.5 Análise histomorfométrica dos parâmetros prostáticos	25
4.6 Mensuração dos níveis de estradiol e di-hidrotestosterona (DHT)	26
4.7 Análise histopatológica	26
4.8 Quantificação de mastócitos	27
4.9 Quantificação de colágeno tipo I e tipo III	27
4.10 Avaliação do estado oxidativo	27
4.10.1 Análise da atividade de enzimas antioxidantes.....	28
4.10.2 Determinação do subproduto da peroxidação lipídica – Malondialdeído (MDA)	28
4.10.3 Óxido nítrico (ON)	29
4.10.4 Proteína carbonilada.....	29
4.11 Análises estatísticas	29
5. RESULTADOS.....	30
5.1 Peso corporal e do complexo prostático e parâmetros histomorfométricos	30
5.2 Níveis de estradiol e di-hidrotestosterona (DHT)	33

5.3 Histopatologia	34
5.4 Mastócitos.....	37
5.5 Colágeno tipo I, tipo III e total	37
5.6 Estresse oxidativo.....	44
6. DISCUSSÃO	45
7. CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS.....	55

1. INTRODUÇÃO

A alopecia androgenética (AAG) é o tipo mais comum de distúrbio progressivo de queda de cabelo que acomete, em gravidade variável, mulheres e principalmente homens, podendo atingir mais da metade daqueles com até 50 anos de idade (Severi et al., 2003; Lolli et al., 2017; York et al., 2020). Esse tipo de alopecia se desenvolve em indivíduos geneticamente predispostos, tendo como característica a miniaturização gradual do folículo piloso terminal, o que resulta no declínio da densidade visível de cabelo (Otberg et al., 2007; Kaliyadan et al., 2013). Além de ser uma herança hereditária, trata-se uma condição dependente de andrógenos e, assim, muitos de seus mecanismos moleculares ainda são desconhecidos, o que torna os tratamentos muitas vezes limitados (Hamilton, 1951; Lolli et al., 2017). Sabe-se que a patogênese tem relação com a di-hidrotestosterona (DHT), um metabólito da testosterona potencialmente mais ativo e abundante em couros cabeludos de homens propensos à AAG, responsável por interferir no ciclo de crescimento do folículo piloso e favorecer a calvície (Trueb, 2002).

Atualmente, apenas o minoxidil tópico e a finasterida oral são aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), no Brasil, como opções terapêuticas para a AAG em homens (Lee et al., 2018). Outras modalidades podem ser utilizadas, como o transplante capilar cirúrgico, porém, o custo elevado e o risco de sangramento e infecção o torna irrealizável para muitos indivíduos (Robinson, 2016). Além disso, o medicamento na formulação tópica apresenta algumas barreiras, e as mais comuns são saturação da absorção percutânea, dermatite de contato, prurido e irritação no couro cabeludo (Olsen et al., 2002; Goren et al., 2015; Wall et al., 2022). Em conjunto, a finasterida oral vem sendo relacionada a efeitos adversos como baixa libido e disfunção erétil, que implicam na saúde sexual do homem (Corona et al., 2017). Dessa forma, o uso do minoxidil oral em doses baixas se tornou uma opção *off-label*, ou seja, com regimes de tratamento não especificados na rotulagem ou bula aprovada, crescente e bem tolerada para tratamentos alopécicos (Largent, 2009; Sinclair, 2018; Sharma et al., 2020).

Por mais que o mecanismo de ação do minoxidil oral ainda não seja muito bem compreendido, é atestado que ele pode atuar na alteração de vias enzimáticas e hormonais, bem como suprimir a expressão de receptores de andrógenos (AR) em

condições de AAG (Shen et al., 2023). Vias antiandrogênicas e vasodilatação são constantemente associadas à forma que o medicamento age no organismo, embora ainda haja controvérsias (Sato et al., 1999; Pekmezci & Turkoglu, 2017; Gupta et al., 2021). A finasterida, por sua vez, é um antiandrogênico sintético que atua na inibição da enzima 5 α -redutase tipo II, impedindo a conversão da testosterona em DHT (Mella et al., 2010; Yim et al., 2014). Os níveis baixos deste metabólito, no entanto, podem comprometer a fisiologia de diversos tecidos e órgãos, sobretudo da próstata, que tem o DHT como principal responsável pela sua ação androgênica (Banerjee et al., 2018).

A próstata é uma glândula sexual acessória essencial para a função reprodutiva (Kumar & Majumder, 1995; Marker et al., 2003). Mesmo sendo um órgão-alvo para a ação de andrógenos, os hormônios esteroides, como o estrogênio e a progesterona, também exercem um importante papel no seu crescimento e na sua homeostase (Nelles et al., 2011). Portanto, um desequilíbrio desses hormônios pode resultar em anormalidades estruturais e funcionais na glândula (Ito et al., 2000). Dessa forma, vale destacar a importância de estudos que buscam compreender as consequências das alterações nas vias hormonais sobre a próstata, modificando a estrutura e, conseqüentemente, a função biológica desse órgão.

Na literatura são escassos os trabalhos acerca dos efeitos dos medicamentos na próstata, tendo em vista a grande adesão destes tratamentos para tratar a calvície (Sharma et al., 2020). Nesta temática, sobressaem-se os estudos clínicos em humanos e experimentais em relação à finasterida, que testam essa droga principalmente para tratar queda de cabelo e promover seu crescimento, embora o uso da droga também tenha grande aplicabilidade para o tratamento de hiperplasia prostática benigna (HPB) (Carreño-Orellana et al., 2016; Motofei et al., 2019; Busetto et al., 2020; Li et al., 2022; Kaiser et al., 2023). Adicionalmente, o número de estudos que envolvem o uso de minoxidil oral se resumem à eficácia do medicamento e seus efeitos colaterais, especificamente no tratamento de alopecia (Nascimento et al., 2020; Randolph & Tosti, 2020; Gupta et al., 2021; Vañó-Galván et al., 2021). Espera-se que a população masculina mais jovem tenha maior probabilidade de buscar tratamentos com tais medicamentos, por serem os que mais se preocupam com a autoimagem, além de ser essa a faixa etária mais interessada em preservar a fertilidade (Batrinos, 2014; Bearely & Avellino, 2021). Nesse cenário, se faz imprescindível mais estudos, especialmente do minoxidil oral, além de análises comparativas entre minoxidil e finasterida, para a melhor compreensão dos efeitos

que a administração dos medicamentos pode causar nas funções reprodutivas masculinas, em especial na saúde e integridade funcional da próstata.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alopecia

A alopecia é a queda de cabelo de uma ou mais áreas do corpo, mais frequentemente no couro cabeludo, podendo afetar a vida de homens e mulheres em todo o mundo (Jamerson & Aguh, 2021). Pode ser apresentada por duas categorias principais: alopecia cicatricial, caracterizada pela destruição completa do folículo piloso, por meio de um processo inflamatório desconhecido, que leva à perda permanente de cabelo; e alopecia não cicatricial, quando a unidade folicular permanece intacta durante a evolução da calvície. Esta última é o modelo mais prevalente e engloba condições como areata, dos tipos universal, total e androgenética (Harries & Paus, 2010; Jamerson & Aguh, 2021; Chen et al., 2023). A alopecia areata tem origem autoimune e se caracteriza por manchas irregulares no couro cabeludo provocadas pela queda capilar (Dawber & Van, 1995). As condições mais graves de alopecia areata configuram-se como a perda total dos fios no couro cabeludo, como na alopecia total e, ainda mais severa, a alopecia universal, na qual há perda capilar total no couro cabeludo além dos pelos por todo o corpo (Burroway et al., 2019).

A alopecia androgenética (AAG), ou calvície de padrão masculino, tem sido demonstrada como um tipo frequente de perda de cabelo progressiva, de gravidade variável, na qual a predisposição genética e a atividade de hormônios androgênicos estão claramente associadas à esta condição (Lolli et al., 2017; Martinez et al., 2018). A idade também é um fator a ser considerado, pois a doença afeta mais da metade dos homens com até 50 anos e o percentual aumenta para aqueles acima de 80 anos (Batrinos, 2014; York et al., 2020). Um estudo indicou que, em uma comunidade de Singapura, a prevalência da AAG foi de 32% entre homens jovens e adultos de até 26 anos de idade (Tang et al., 2000). Embora seja frequentemente associada ao sexo masculino, pode acometer 40% das mulheres em algum momento da vida (Santos et al., 2015). Estudos em gêmeos mostram a hereditariedade como responsável por

cerca de 80% da predisposição à calvície e, ainda, um risco elevado é observado em filhos de pais calvos (Heath et al., 2003; Chumlea et al., 2004).

Além de sua importância na saúde reprodutiva, os andrógenos têm importância no aumento do tamanho do folículo e do diâmetro da fibra capilar, exercendo um papel imprescindível no crescimento dos cabelos (Messenger, 1993; Grymowicz et al., 2020). Indivíduos que possuem o couro cabeludo predisposto a AAG, apresentam maior expressão do receptor de andrógeno (AR) e elevados níveis de di-hidrotestosterona (DHT), que é um ligante do receptor de andrógeno muito mais potente que a testosterona, o que confere cabelos mais curtos e finos (Trueb, 2002). Dessa forma, constata-se que a DHT, importante esteroide androgênico, pode promover a miniaturização dos fios (Norwood, 1975; Trueb, 2002). A redução de seus níveis, portanto, é crucial para a prevenção e tratamento da AAG (Zhou et al., 2020).

O ciclo capilar tem controle hormonal e de fatores de crescimento locais que certamente são produzidos próximo e dentro do bulbo capilar e da papila folicular (Paus et al., 2008). Normalmente, é determinado por uma fase anágena, de crescimento no comprimento do cabelo, seguido de um estágio de regressão chamado de fase catágena e, por fim, uma fase de repouso, conhecida como telógena (Kaliyadan et al., 2013). A maior parte dos cabelos do couro cabeludo estão tipicamente na fase anágena, que pode durar até 7 anos, sendo o estágio onde as células do folículo se multiplicam rapidamente para promover o crescimento no comprimento do fio capilar. Outra porção dos cabelos encontram-se na fase catágena, onde a divisão celular é interrompida, um período que dura de 2 a 3 semanas. Por fim, parte dos fios estão na fase telógena, onde não há produção de novos fios, envolvendo cerca de 100 dias que antecedem o novo crescimento capilar (Shahsavari et al., 2024). Em casos de alopecia, a fase anágena diminui e a fase telógena aumenta, o que compromete o comprimento do cabelo novo e leva a uma aparência calva (Kaliyadan et al., 2013). Nessa alteração da relação anágena e telógena, há uma diminuição progressiva do tamanho do bulbo capilar e da espessura do folículo piloso (Blume-Peytavi & Vogt, 2013).

O cabelo é um importante fator da autoimagem do indivíduo e, por isso, sua perda pode ser uma causa de depressão, ansiedade e angústia (Tabolli et al., 2013). Nesse sentido, o impacto psicossocial que a queda capilar pode provocar deve ser levado em consideração, pois percepções negativas em relação à autoimagem podem afetar a vida social de pessoas calvas (Asfour et al., 2023). Um estudo com homens

demonstrou que aqueles afetados pela calvície se consideram menos atraentes em relação aos não calvos, além de acharem que a falta de cabelo os deixa com aparência mais envelhecida. Aliás, constatou-se que os que mais sofrem são os mais jovens e que apresentam calvície progressiva, ou seja, quando a perda capilar é mais evidente e extensa pelo couro cabeludo (Cash, 1992). Dessa forma, é nesta faixa etária que estão os principais interessados pela busca de tratamentos (Tang et al., 2000; Batrinos, 2014).

2.2 Minoxidil e finasterida no tratamento de alopecia androgenética

Inicialmente, o minoxidil oral foi introduzido como um anti-hipertensivo devido à sua capacidade de diminuir a pressão arterial (Campese, 1981). O medicamento era utilizado somente para esta finalidade, em doses padrão de 10 a 40 mg/dia, que podiam chegar até a dose máxima de 100 mg/dia (Jimenez-Cauhe et al., 2020). No entanto, foram observados sinais não esperados nos pacientes hipertensos, como hipertricose, levando a indícios de que a droga poderia ter potencial para o tratamento da calvície, como na alopecia androgenética (Panchaprteep & Lueangarun, 2020). A partir disso, houve a criação da formulação tópica, com o objetivo de estimular o crescimento capilar. No entanto, foram observados diversos efeitos colaterais, como dermatite de contato e alérgica, prurido, irritação do couro cabeludo e hipertricose facial. Além disso, outras desvantagens foram mencionadas, como o desconforto ao aplicar o medicamento. Todos esses fatores permitiram que o uso do minoxidil, na forma oral, se tornasse uma alternativa viável, e com maior tolerância entre os indivíduos, para tratar a perda de cabelo (Ebner & Müller, 1995; Suchonwanit et al., 2019; Nestor et al., 2021).

Por mais que a AAG seja uma condição prevalente na população humana, as opções terapêuticas aprovadas são limitadas, sendo necessário que pesquisas futuras promovam mais evidências acerca de outras terapias para esta doença. É importante que a eficácia, a praticidade, os custos e os efeitos colaterais do tratamento sejam levados em consideração (Nestor et al., 2021). O microagulhamento e o transplante capilar podem ser boas opções, porém seu alto custo e suas possíveis complicações os tornam inacessíveis para muitas pessoas (Kerure & Patwardhan, 2018; Devjani et al., 2023). A mesoterapia, procedimento não cirúrgico que consiste na aplicação de substâncias farmacológicas, como a dutasterida, por via subcutânea

ou intradérmica, apresentou uma resposta terapêutica eficaz, com efeitos colaterais leves e uma opção aconselhada para pacientes que desejam evitar o tratamento oral (Saceda-Corralo et al., 2022). Atualmente, apesar de seus efeitos adversos já relatados, o minoxidil tópico e a finasterida oral são os dois únicos medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) no Brasil (Devjani et al., 2023). No entanto, mesmo não tendo aprovação para tratar AAG, o minoxidil oral em doses baixas tem obtido bastante adesão em homens e mulheres, demonstrando resultados promissores (Panchaprateep & Lueangarun, 2020; Ramírez-Marín & Tosti, 2022).

Para o tratamento da alopecia, são utilizadas doses inferiores às aquelas utilizadas para tratar hipertensão, entre 0,25 e 5,0 mg/dia, em mulheres e homens, sendo usada de maneira *off-label* em pacientes adultos jovens com queda de cabelo padronizada, ou naqueles que apresentaram baixa adesão ou intolerância à formulação tópica (Jimenez-Cauhe et al., 2019). De fato, Randolph & Tosti (2020) demonstraram que o minoxidil oral é uma alternativa de tratamento eficaz e bem tolerada em pacientes que relataram dificuldades e incômodos quando usaram a via tópica. Jimenez-Cauhe et al. (2019) observaram que a dose de 5 mg por dia foi eficaz e apresentou um perfil de segurança em homens com AAG, mesmo havendo efeitos adversos, porém toleráveis, em parte dos homens tratados. Uma mesma dose administrada por 24 semanas, uma vez ao dia, foi objeto de estudo de Panchaprateep & Lueangarun (2020), que relataram a eficácia e a segurança do minoxidil oral em homens com AAG, apresentando aumento efetivo do crescimento do cabelo e efeitos colaterais comuns, como hipertricose, principalmente na face e nos antebraços de 93% dos homens tratados e edema no pé, em 10% deles. É relatado que os efeitos colaterais são reversíveis com a interrupção do medicamento e que as opções por terapias orais são preferencialmente mais fáceis entre os pacientes (Panchaprateep & Lueangarun, 2020; Nestor et al., 2021).

O mecanismo de ação do minoxidil oral não é bem compreendido e muitas vezes controverso, mas algumas possibilidades já foram propostas nas quais o minoxidil pode exercer efeito através de múltiplas vias, como induzir a via de sinalização Wnt/ β -catenina nas células da papila dérmica (Gupta et al., 2021). Ao ativar essa via, o medicamento estimula a liberação de fatores de crescimento do endotélio vascular (VEGF), o que pode prolongar a fase anágena dos folículos capilares em indivíduos com AAG (Lachgar et al., 1998; Choi, 2020; Gupta et al.,

2021). Por outro lado, um estudo mostrou que a droga não induziu o prolongamento da fase anágena, embora esta fase tenha iniciado precocemente em ratos que receberam a aplicação de minoxidil tópico (Mori & Uno, 1990). Além disso, seu efeito vasodilatador pode ter importância ao levar mais nutrientes e sangue rico em oxigênio até os folículos pilosos, favorecendo assim, o crescimento capilar (Gupta et al., 2021; Villani et al., 2021). A droga também pode ter efeitos em vias antiandrogênicas sendo relatada, *in vitro*, a redução da expressão gênica de 5 α -redutase tipo II em linhagem de queratinócitos humanos, embora não haja evidências suficientes na literatura de como se dá a interação do minoxidil com esta enzima (Pekmezci & Turkoglu, 2017). Por outro lado, Sato et al (1999) demonstraram aumento da atividade de enzimas de vias androgênicas, como a 5 α -redutase, além da 17 β -hidroxiesteróide desidrogenase (17 β -HSD), envolvidas na última etapa da síntese de testosterona, ambas em células de papila dérmica humana. Sabe-se que a ação farmacológica do minoxidil oral vem do seu metabólito sulfatado e a sua metabolização ocorre no fígado por glucuronidação, hidroxilação e sulfatação. Além disso, a droga apresenta meia-vida de 3 a 4 horas, e a excreção renal ocorre, predominantemente, em até 20 horas (Buhl et al., 1990; Rogers & Avram, 2008; Gupta et al., 2021).

Em relação à finasterida oral, seu mecanismo de atuação é a partir da inibição da enzima 5 α -redutase tipo II, o que leva ao bloqueio da conversão da testosterona em DHT, diminuindo seus níveis séricos e, conseqüentemente, reduzindo a queda capilar mediada por andrógenos (Dhurat et al., 2020). Porém, a queda dos níveis de DHT pode influenciar negativamente os parâmetros espermáticos, além de outros fatores reprodutivos masculinos (Semet et al., 2017). O uso desse medicamento está associado a efeitos colaterais sexuais e distúrbios relacionados à fertilidade (Santana et al., 2023). A droga é encontrada em doses de 1 a 5 mg e sua eficácia contra AAG já foi comprovada em pacientes que relataram melhora acentuada no crescimento de cabelos em até um ano de uso, podendo se estender a uma década (Rossi et al., 2011).

Além da AAG, a finasterida é utilizada frequentemente no tratamento de hiperplasia prostática benigna (HPB), uma condição crônica comum relacionada à idade (Laanani et al., 2023). A HPB caracteriza-se pelo aumento da próstata resultante da proliferação de células estromais e epiteliais ao redor da uretra, provocando sintomas do trato urinário inferior muito característicos, como a dificuldade de micção (De Nunzio et al., 2012). Assim, por reduzir os níveis de DHT pela inibição de 5 α -

reductase, a finasterida é capaz de reduzir a proliferação celular e, conseqüentemente, o volume da glândula, aliviando os sintomas (Wu et al., 2021).

Mesmo sendo considerado um medicamento seguro e bem tolerado, uma parcela dos usuários que recebeu doses de 5 mg/dia relatou efeitos colaterais sexuais, como disfunção erétil, diminuição da libido, diminuição do volume ejaculatório e problemas com o orgasmo (Cather et al., 1999; Irwig & Kolukula, 2011; Semet et al., 2017). Há relatos, ainda, associados com questões sociais, emocionais e psicológicas, como depressão e automutilação após o uso do medicamento (Nguyen et al., 2021). Por outro lado, já foi constatado que a dose de 1 mg/dia em homens jovens saudáveis não apresentou adversidades, sem alterar a espermatogênese, a produção de sêmen, a morfologia dos espermatozoides e os níveis de testosterona (Overstreet et al., 1999). Em contrapartida, Irwig & Kolukula (2011) demonstraram a persistência de efeitos colaterais após a interrupção do uso, em homens em tratamento de AAG que utilizaram esta mesma dose. Assim, é preciso que o profissional de saúde faça uma avaliação precisa e individualizada para o uso ou não de medicamentos que inibam a 5 α -reductase, principalmente em pacientes com histórico de problemas como os supracitados (Pereira & Coelho, 2020).

2.3 Características gerais da próstata humana e de roedor

A próstata é a maior e uma das principais glândulas anexas ao sistema reprodutor masculino de mamíferos. Está localizada na cavidade pélvica, posteriormente à sínfise púbica, anterior ao reto e abaixo do colo da bexiga, onde se dispõe ao redor da porção inicial da uretra, designada uretra prostática (Aumüller & Adler, 1979; Francis & Swain, 2017).

Apesar da morfogênese da próstata ser similar em muitas espécies, sua anatomia difere entre os mamíferos (Timms, 1994). Em humanos, a próstata é uma estrutura compacta e disposta de forma concêntrica em torno da uretra, onde são reconhecidas quatro regiões com características histológicas específicas, sendo a zona periférica, zona de transição, zona central e, de característica aglandular, a zona anterior (Figura 1) (Shappell et al., 2004; Prins & Lindgren, 2015). Todavia, a glândula de roedor é dividida em quatro lobos bilateralmente simétricos, classificados de acordo com sua topografia em relação à uretra, denominados como próstata anterior ou glândula de coagulação, próstata ventral, próstata lateral e próstata dorsal, sendo

estes dois últimos lobos muitas vezes agrupados como dorsolateral, embora apresentem diferenças em sua histologia (Figura 1) (Cunha et al., 1987; Prins & Lindgren, 2015). O conjunto dos lobos é usualmente referido como complexo prostático (Gonçalves et al., 2016). A próstata anterior fica adjacente à concavidade da vesícula seminal, a próstata ventral fica abaixo da bexiga, o lobo lateral se encontra em ambos os lados da uretra e, por fim, o lobo dorsal, que está localizado bilateralmente na base da vesícula seminal (Hayashi et al., 1991; Oliveira et al., 2016). Dessa forma, apesar das diferenças anatômicas, há também muitas semelhanças entre a próstata humana e de roedor, como a composição celular e molecular e o desenvolvimento embrionário, o que favorece o uso destes animais como modelo experimental (Valkenburg & Williams, 2011).

Ainda que a próstata ventral de roedores não possua nenhum tipo de homologia com quaisquer das zonas da próstata humana, frequentemente é associada a alterações relacionadas ao envelhecimento, e por isso bastante utilizada em experimentos (Morais-Santos et al., 2015; Campolina-Silva et al., 2020). Além disso, é um dos principais lobos dependentes de andrógenos, além de abranger aproximadamente a metade da massa de todo o complexo prostático (Banerjee et al., 2000; Desai et al., 2004). Em contrapartida, os lobos dorsais e laterais se assemelham com a zona periférica da próstata humana, local mais suscetível ao desenvolvimento de tumores, enquanto que o lobo anterior é correspondente à zona central, região mais resistente à carcinogênese (Shappell et al., 2004; Morais-Santos et al., 2015; Ittmann, 2017).

A principal função da próstata é produzir o líquido prostático, uma secreção leitosa, homogênea e alcalina, que corresponde a aproximadamente 30% do plasma seminal, responsável por nutrir e proteger os espermatozoides durante a ejaculação, garantindo, assim, o sucesso reprodutivo (Kumar & Majumder, 1995). Nessa secreção, encontram-se importantes substâncias biológicas como frutose, ácido cítrico, espermina, prostaglandinas, zinco, proteínas, imunoglobulinas e enzimas específicas, como proteases, esterases e fosfatases (Chalabi et al., 2002). A veiculação dos espermatozoides é facilitada pela presença, principalmente, de fibrinolisinase, coagulase e antígeno prostático específico (PSA), que atuam na liquefação do sêmen e do muco cervical. Parte da nutrição dos espermatozoides se dá pela fosfatase ácida e sua sobrevivência nas vias genitais femininas é assegurada pelo citrato de cálcio, essencial na alcalinização do pH vaginal. Já os elevados níveis

de zinco são essenciais para a proteção dos gametas, uma vez que possui ação antioxidante e antibacteriana (Aumüller & Adler, 1979; Kumar & Majumder, 1995).

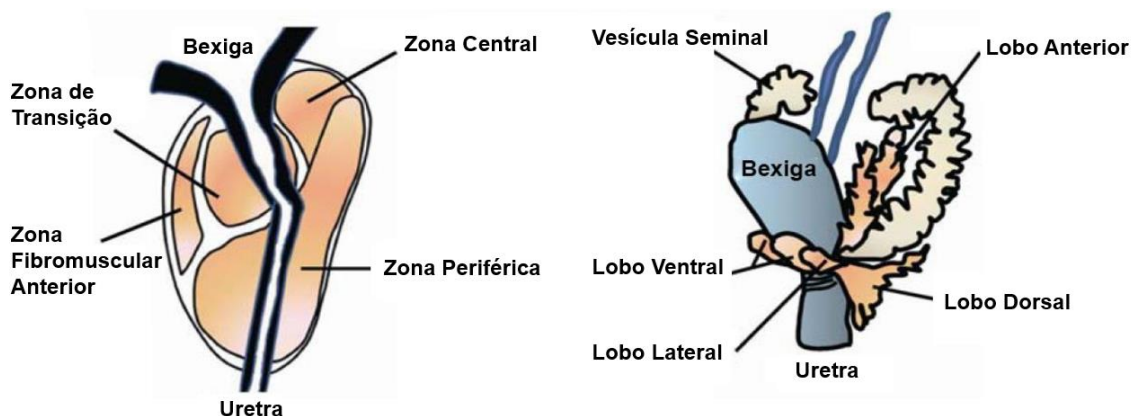


Figura 1 - Representação esquemática da próstata humana (à esquerda) e da próstata murina (à direita) em visão lateral. Adaptado de Luo & Liu, 2012.

2.3.1 Aspectos histológicos da próstata

A próstata é composta de epitélio glandular, arranjado em ácinos e ductos, e de estroma, constituído por tecido fibromuscular e uma matriz proteica (Srougi et al., 2010; Lee et al., 2011; Chung et al., 2012). Organiza-se em um conjunto de até 50 glândulas túbulo-alveolares ramificadas, os adenômeros, formados por um epitélio cúbico ou pseudoestratificado colunar, dependendo do seu nível de atividade secretora, e encontram-se circundados por um estroma fibromuscular através do qual seus ductos atingem a uretra prostática (Cormack, 2003; Gartner & Hiatt, 2003; Chung et al., 2012; Junqueira & Carneiro, 2013).

As características dos lobos prostáticos murinos são distintas, sendo o padrão de dobramento epitelial um dos fatores de diferenciação entre eles (Lee et al., 1990). A próstata anterior apresenta dobras extensas, estrutura tubular, epitélio formado por células cúbicas ou colunares e a secreção luminal é homogênea e eosinófila. O lobo dorsolateral possui dobramento significativo, porém menor que a próstata anterior. Separadamente, a próstata dorsal apresenta epitélio variando de colunar a cúbico, seus ácinos possuem pequeno diâmetro em relação aos outros lobos, o núcleo dispõe de forma central no citoplasma granular típico desse lobo e o lúmen possui secreção homogênea e eosinófila. A próstata lateral, por sua vez, apresenta um epitélio que varia de colunar a cúbico constituído por células baixas que formam um lúmen que pode se apresentar de diferentes tamanhos. A próstata ventral, que possui um

dobramento mínimo em comparação aos outros lobos, apresenta epitélio pseudoestratificado prismático, núcleo localizados no terço basal e, geralmente, o lúmen possui uma secreção pálida (Lee et al., 1990; Hayashi et al., 1991; Oliveira et al., 2016).

O epitélio glandular é composto por três tipos celulares diferenciados pela sua morfologia, localização e função específicas: células secretoras, basais e neuroendócrinas. As células secretoras, também chamadas de células luminais, têm um aspecto colunar com margens indefinidas, citoplasma abundante, núcleo basal, numerosos grânulos secretores e receptores de andrógenos. É o tipo celular mais frequente no epitélio e sua função é produzir o líquido prostático, rico em fosfatase ácida e PSA (Srougi et al., 2010). As células basais apresentam formato arredondado e irregular, citoplasma escasso e núcleo pequeno. Algumas apresentam-se indiferenciadas e são consideradas células-tronco. Em espécies murinas, estas células são pouco numerosas e estão localizadas junto à membrana basal dos ácinos, podendo atingir ou não a superfície luminal (El-Alfy et al., 2000; Shum et al., 2008). Acredita-se que sejam as precursoras das células secretoras e que possuem o papel de transportar materiais entre as células epiteliais de secreção e o espaço extracelular. Em humanos, a célula basal apresenta características distintas daquelas encontradas em roedores. São encontradas em maior quantidade e muitas vezes são diferenciadas e apresentam junções oclusivas entre elas, indicando importante papel na comunicação e no transporte celular (El-Alfy et al., 2000; Srougi et al., 2010). As células neuroendócrinas são dificilmente observadas em colorações histológicas de rotina, sendo distribuídas em grupos ou isoladas. São capazes de secretar peptídeos, serotonina, hormônio tireoestimulante, calcitonina e somatostatina, atuando na regulação intraepitelial, no crescimento, na diferenciação e nos processos secretórios do órgão maduro (Abrahamsson & Di Sant'Agnese, 1993; Bostwick et al., 2008; Srougi et al., 2010; Ittmann, 2017).

O estroma prostático desempenha papel essencial no desenvolvimento e na manutenção do estado diferenciado do epitélio (Carvalho et al., 2012). É constituído, principalmente, por colágeno tipo I e III, matriz proteica, células musculares e fibroblastos (Deering et al., 1994; Chagas et al., 2002; Srougi et al., 2010). O colágeno, importante constituinte da matriz extracelular, ajuda a preservar a elasticidade e a resistência à tração, sendo fundamental para manter a integridade estrutural do órgão (Gelse, 2003). Ainda, é possível observar nervos, vasos sanguíneos e mastócitos,

importantes células da linha de frente da defesa imunológica. A quantidade de fibras musculares lisas é fator de diferenciação entre o estroma prostático humano e de roedor. Na próstata humana as células musculares lisas encontram-se em grande quantidade e distribuídas por todo estroma, enquanto que em roedores elas encontram-se restritas em torno dos adenômeros organizadas por camadas concêntricas (Hayward et al., 1996).

2.3.2 Aspectos hormonais da próstata

O desenvolvimento e o crescimento normal da próstata são influenciados por andrógenos e estrógenos, hormônios esteroides sexuais derivados do colesterol. Estes hormônios podem ser secretados pelos testículos, ovários e córtex da glândula adrenal e, após a sua secreção, são liberados na corrente sanguínea e induzem diferentes efeitos biológicos (Chan & O'Malley, 1976; Ellem & Risbridger, 2009; Hu et al., 2010). Um balanço sinérgico andrógeno/estrógeno é crucial para a integridade e crescimento normal da próstata (Ito et al., 2000).

2.3.2.1 Andrógenos

O papel dos andrógenos é essencial para o desenvolvimento e crescimento do trato genital masculino, sobretudo da próstata, que tem seus compartimentos epitelial e estromal estimulados à diferenciação e proliferação pela ação destes hormônios (Corona et al., 2014). Em humanos, existem quatro formas principais de andrógenos circulantes: a testosterona, a di-hidrotestosterona (DHT), a androstenediona, a deidroepiandrosterona (DHEA) e seu derivado sulfatado (DHEAS) (Handa & Price, 2000). Nos homens adultos, a testosterona é o andrógeno mais abundante, e sob ação de uma enzima citoplasmática denominada 5α -redutase, pode ser convertido a DHT, metabólito mais ativo que possui afinidade de até dez vezes maior pelo receptor androgênico do que a própria testosterona (Wu, 1997). Na próstata, a presença de DHT é necessária para o completo desenvolvimento e funcionamento da glândula (Swerdloff et al., 2017).

2.3.2.2 Estrógenos

Assim como os andrógenos, os estrógenos também regulam muitos eventos fisiológicos, inclusive nos órgãos reprodutivos (Pakdel, 2023). Embora seja o principal hormônio feminino, pequenas quantidades são sintetizadas nos homens, nas células de Leydig e Sertoli, por meio da conversão da testosterona mediada pela enzima aromatase (Carreau et al., 2003; Hess, 2003). Assim, comumente pode ser produzido em locais com alta atividade dessa enzima, como ocorre na próstata, nos tecidos adiposo e ósseo e em regiões do sistema nervoso central (Aires, 2012; Morais-Santos et al., 2018). Quando no tecido prostático, podem estar associados à divisão e diferenciação das células epiteliais, e, por muitas vezes, à proliferação celular exagerada e à desorganização tecidual (Pelletier, 2002; Prins et al., 2007).

A sua ação é mediada por receptores de estrogênio (ER), que possuem dois isotipos denominados ER α e ER β , presentes na próstata com diferentes intensidades de expressão (Kuiper et al., 1996; Page, 2011; Xu et al., 2018). A localização destes receptores é diferente nos tecidos prostáticos, sendo o ER α comumente expresso nas células do estroma e em esparsas células epiteliais, enquanto que o ER β é localizado intensamente no epitélio (Morais-Santos et al., 2015; Gangkak et al., 2017; Morais-Santos et al., 2018). A ação dos ER é complexa, pois estes possuem papéis antagônicos na próstata: o ER α é associado à proliferação aberrante, inflamação e câncer, enquanto, contrariamente, o estrogênio é capaz de exercer função benéfica via ER β , sendo frequentemente relacionado à prevenção da hiperplasia e hipertrofia celular, por possuir papéis anti-proliferativos e pró-apoptóticos (Ellem & Risbridger, 2007).

2.4 Ação do minoxidil e da finasterida na próstata

As duas isoenzimas de 5 α -redutase, denominadas tipo I (5 α R-I) e tipo II (5 α R-II), são expressas em diferentes intensidades nos mais variados sistemas biológicos. A 5 α R-I está presente na maioria dos tecidos e sua expressão é preferencialmente na pele e no fígado, com pouca importância fisiológica nos órgãos genitais. Por outro lado, além de possuir alta afinidade por substratos esteroides, a 5 α R-II se expressa principalmente nos tecidos reprodutivos, especialmente na próstata (Thigpen et al., 1993; Bartsch et al., 2000). Como já descrito anteriormente, essa enzima tem sua

atividade inibida pela ação de drogas, como a finasterida. Por este medicamento ter maior afinidade pela 5 α R-II, os níveis de DHT são suprimidos em até 90% na próstata, mais evidente que a queda no soro, de 70% (Bartsch et al., 2000). Sabendo que a DHT atua como andrógeno primário na próstata, podendo acelerar a HPB, torna-se necessária uma investigação apurada dos efeitos da administração de medicamentos que influenciam na regulação hormonal nessa glândula, seja para fins de tratamento da HPB ou AAG (Bartsch et al., 2000).

Wu et al (2016) propuseram uma análise comparativa de toxicologia reprodutiva entre os medicamentos aprovados para tratar alopecia e mostraram que o tratamento com finasterida torna os homens com AAG mais suscetíveis a problemas reprodutivos. Dessa forma, o medicamento deve ser usado com cautela e, na escolha do tratamento adequado, deve ser levado em consideração todos os efeitos adversos. Além disso, há evidências que apontam o efeito tóxico da finasterida no sistema reprodutor masculino e, por estar relacionada a receptor de andrógenos, a sinalização de hormônios sexuais pode ser afetada. Um trabalho experimental realizado em ratos demonstrou complicação nas formações congênitas do aparelho genital dos animais tratados com finasterida (Bowman et al., 2003). Houve, ainda, uma discussão acerca da possibilidade da droga desenvolver câncer de próstata de alto grau, mas esse risco não foi confirmado (Lynn & Krunic, 2010).

Apesar de escassos, os estudos que envolvem o minoxidil, na formulação oral, mostraram queda nos níveis séricos de testosterona ou diminuição de sua produção nos testículos (Parker et al., 1982; Mingsan et al., 2020; Santana et al., 2023). Isso nos sugere que podem ocorrer alterações funcionais, também, em outros órgãos reprodutivos, como na próstata.

Envolvidos na AAG, os receptores de andrógenos têm papel notório em uma ampla gama de doenças e processos fisiológicos. Na calvície, eles são expressos em níveis significativamente mais elevados quando comparados com os folículos do couro cabeludo não calvo (Sawaya & Price, 1997). Por sua vez, embora alguns estudos relatarem que o minoxidil não atua diretamente por meio de um efeito androgênico, outros trabalhos mostraram sua relação com os receptores de andrógenos, de modo que a droga é capaz de suprimir funções relacionadas a estes receptores, como o crescimento celular (Nuck et al., 1987; Messenger & Rundegren, 2004; Hsu et al., 2014). Dessa forma, sabendo que a próstata é andrógeno

dependente, torna-se necessário mensurar e entender os possíveis efeitos que medicamentos, como minoxidil e finasterida, podem causar neste órgão.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar possíveis efeitos causados no complexo prostático de camundongos Balb/C adultos após administração oral de minoxidil, nas doses 2,5 mg/dia, 5,0 mg/dia e 7,5 mg/dia, e de finasterida, na dose de 5,0 mg/dia, durante 42 e 84 dias de tratamento.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar parâmetros corporais e morfométricos prostáticos dos lobos ventral e dorsal de camundongos Balb/C adultos;
- Determinar os níveis intra prostáticos de di-hidrotestosterona e estradiol;
- Verificar possíveis histopatologias nos lobos prostáticos analisados;
- Quantificar o número de mastócitos no estroma dos lobos prostáticos analisados;
- Mensurar o percentual e tipo de fibras colágenas no estroma dos lobos prostáticos analisados;
- Avaliar a atividade das enzimas antioxidantes Superóxido dismutase, Catalase e Glutathione S-transferase;
- Mensurar a concentração de malondialdeído, óxido nítrico e proteína carbonilada no complexo prostático.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados 120 camundongos Balb/C machos com 76 dias de idade, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os animais foram mantidos no Biotério do

Departamento de Biologia Geral sob condições padrão de dieta (água e ração *ad libitum*), luminosidade (12h de claro e 12h de escuro) e temperatura (21°C a 22°C). Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFV (processo 25/2022) e seguiu as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4.2 Delineamento experimental

Após 46 dias de aclimatação, os animais foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos experimentais (n = 20) e alojados em gaiolas de polipropileno. Todos os grupos receberam o tratamento via oral, por gavagem (0,2 mL), diariamente, por 42 ou 84 dias. O grupo controle (CT) recebeu água destilada, o grupo veículo (VC) recebeu Lauril Sulfato de Sódio 1%, o grupo controle positivo (F5,0) recebeu finasterida (5,0 mg/kg), o grupo M2,5 recebeu minoxidil (2,5 mg/kg), o grupo M5,0 recebeu minoxidil (5,0 mg/kg) e o grupo M7,5 recebeu minoxidil (7,5 mg/kg). A porção de 0,2 mL utilizada foi baseada no valor indicado para administração por gavagem em camundongos (0,1 mL/10 g peso corporal), levando em consideração o tamanho do estômago dos animais.

Santana et al (2023) mostraram que não há consenso a respeito da dose ideal de minoxidil, porém, para finasterida, a dose mais avaliada é a de 5 mg/kg. Dessa forma, as dosagens utilizadas neste trabalho foram determinadas de acordo com essa referência. O grupo finasterida, usado como controle positivo, serviu de base para a escolha das doses de minoxidil, 2,5, 5,0 e 7,5 mg/kg, pois equivalem à dose menor, igual e maior que a dose comumente utilizada nas pesquisas.

Os períodos de tratamento, 42 e 84 dias, foram determinados pelo tempo de duração de um e dois ciclos espermatogênicos no camundongo, respectivamente (França & Russell, 1998). O experimento por 84 dias corresponde ao uso prolongado do medicamento.

4.3 Coleta e preparação dos tecidos

Após cada período de tratamento, 10 animais de cada grupo foram eutanasiados por administração intraperitoneal de cetamina (57 mg/kg) e xilazina (4,3

mg/kg). Foi realizada uma laparotomia a partir da incisão na linha alba para obtenção da próstata.

Os lobos prostáticos dos animais destinados às análises de estado oxidativo e quantificação hormonal foram dissecados, pesados e congelados em nitrogênio líquido (-196°C) e posteriormente armazenados em ultra-freezer (-80°C) até o seu processamento.

Os lobos destinados às análises histológicas foram imersos em solução de formalina neutra tamponada 10%. Após o processo de fixação, o complexo prostático foi dissecado, pesado, lavado em solução de salina tampão fosfato (PBS), desidratado em série crescente de etanol, diafanizado em xilol e incluído em parafina. A posição de inclusão do complexo prostático é dada em posição anterior, de acordo com a sua conformação anatômica (Figura 2). A próstata anterior foi separada dos demais lobos para que o posicionamento da inclusão fosse feito de forma adequada. Este lobo foi incluído à parte para estudos futuros. Para o presente trabalho, a inclusão do complexo prostático envolveu os lobos ventral e dorsal em sua posição *in situ* junto a uretra. Os fragmentos foram seccionados a 5 µm de espessura por meio de um micrótomo rotativo (RM 2255, Leica Biosystems, Nussloch, Alemanha). As lâminas resultantes foram destinadas a três protocolos de coloração, sendo eles por Hematoxilina e Eosina (H&E), Azul de Toluidina/Borato de Sódio e por *Picrosirius*, de acordo com a finalidade de cada análise e, por fim, montadas com Entellan® (Merck, Frankfurt, Alemanha).

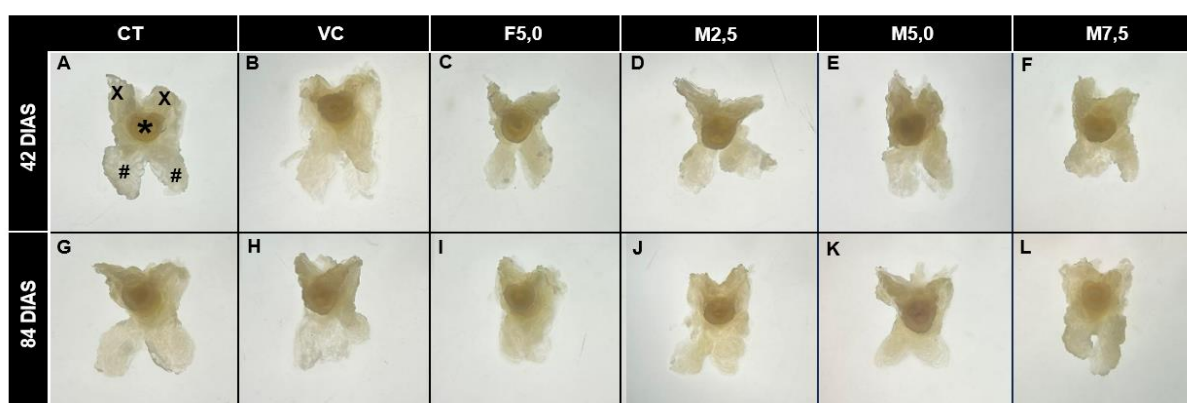


Figura 2 - Complexo prostático de camundongos Balb/C adultos, em visão posterior. As imagens equivalem ao órgão dissecado e após remoção do lobo anterior e glândula seminal, após fixação. A – F: equivalem aos animais tratados por 42 dias; G – L: equivalem aos animais tratados por 84 dias. A e G = grupo CT (Controle); B e H = grupo VC (Veículo); C e I: grupo F5,0 (Finasterida 5,0 mg/kg); D e J: grupo M2,5

(Minoxidil 2,5 mg/kg); E e K: grupo M5,0 (Minoxidil 5,0 mg/kg); F e L: grupo M7,5 (Minoxidil 7,5 mg/kg). * = Uretra Prostática; X = Lobo Dorsal; # = Lobo Ventral.

4.4 Peso corporal e do complexo prostático

Os animais de cada grupo foram pesados em balança de precisão (AS500, Marte) no dia da eutanásia, obtendo-se a média do peso corporal. Esse mesmo procedimento foi utilizado para obtenção do peso absoluto do complexo prostático. O peso relativo de cada complexo foi determinado pela multiplicação do peso absoluto por 100, sendo o resultado dividido pelo peso corporal do respectivo animal.

4.5 Análise histomorfométrica dos parâmetros prostáticos

Para as análises histomorfométricas, as lâminas resultantes foram coradas por H&E e posteriormente fotografadas em microscópio de luz (Olympus BX-53, Tóquio, Japão) acoplado a uma câmera colorida digital (Olympus PD73; 17,28 megapixels). Foram obtidas 10 imagens aleatórias do lobo ventral e 10 imagens aleatórias do lobo dorsal, de cada animal (n = 5/grupo). Todas as imagens foram analisadas e mensuradas por meio do *software* Image J® versão 1.53a (*National Institutes of Health*, Rockville, MD, EUA).

A proporção volumétrica entre os elementos que compõem o complexo prostático foi estimada a partir da contagem de 2.660 pontos por animal, utilizando-se 266 intersecções (pontos), realizando-se a contagem de 10 campos aleatoriamente distribuídos, nas preparações histológicas da próstata. Foram anotados pontos sobre o epitélio, lúmen e estroma da próstata. A proporção volumétrica foi calculada utilizando-se a seguinte equação: $\text{Proporção volumétrica (\%)} = (\text{NP} / 266) \times 100$, onde NP = Número de pontos contados sobre cada componente.

Para medir a altura do epitélio prostático, foi traçada uma linha reta de uma extremidade do epitélio até a outra, obtendo, assim, o valor referente à altura em μm . Foram realizadas 10 medidas por animal, em diferentes campos de cada imagem (n = 50 medidas/grupo) e posteriormente calculada a altura média por grupo (Aquino et al., 2019).

4.6 Mensuração dos níveis de estradiol e di-hidrotestosterona (DHT)

Os níveis de estradiol e DHT no complexo prostático (n = 5/grupo) foram medidos utilizando-se 50 mg de tecido. A extração de hormônios esteroides seguiu o método que se baseia no sequestro de lipídeos. Assim, resumidamente, as amostras foram maceradas em gelo seco, pulverizadas e solubilizadas em 500 µL de PBS gelado. Posteriormente, os homogenatos foram misturados com éter dietílico na proporção do solvente e, após a separação das fases, as amostras foram centrifugadas a 800 g durante 5 minutos. As amostras foram então congeladas em banho de gelo seco/etanol e a fração de menor densidade no solvente foi transferida para um novo tubo e centrifugada novamente, nas mesmas condições. Foram efetuadas mais duas séries de mistura de éter dietílico e recolha do sobrenadante para cada amostra. A fração de solvente enriquecida com esteroides foi seca num concentrador *Savant SpeedVac®*, armazenada a -20°C e ressuspensa em 100 µL de tampão ELISA 1x no momento das medições hormonais. A concentração hormonal foi determinada utilizando *kits* ELISA comerciais (EIA-5761 e EIA-2693; DRG Diagnostics GmbH) seguindo as instruções do fabricante e protocolos previamente estabelecidos (Morais-Santos et al., 2015; Campolina-Silva et al., 2021; Coimbra et al., 2024).

4.7 Análise histopatológica

As lâminas foram coradas por H&E e a avaliação qualitativa das possíveis alterações morfológicas e/ou patológicas foi feita em microscópio de luz (Olympus BX-53, Tóquio, Japão), explorando todo o campo de visão de cada secção. Foram analisadas 3 secções do lobo ventral e 3 secções do lobo dorsal, por animal (n = 5/grupo), totalizando 15 por grupo para cada lobo.

As descrições foram feitas de acordo com o Sistema de Classificação de Patologias Prostáticas, desenvolvido pelo Instituto Nacional do Câncer de Modelos Murinos para Câncer Humano (Shappell et al., 2004).

4.8 Quantificação de mastócitos

Para mensurar o número de mastócitos no estroma de cada lobo prostático, foi realizada a análise de lâminas histológicas coradas por Azul de Toluidina/Borato de Sódio. Por meio de um microscópio de luz (Olympus CX40®) com ampliação de 400x, foram avaliados 10 campos aleatórios em cada animal (n = 5/grupo). A área de cada campo resulta da seguinte equação: $A = \pi (d/2)^2$, onde $\pi \cong 3,14$ e $d = 50 \mu\text{m}$, onde d é o diâmetro do campo. Dessa forma, o número de mastócitos por unidade de área é dada por $N = \Sigma \text{mastócitos}/A$, onde N = número de mastócitos e A = área total do campo histológico, que neste caso equivale a $1,96 \text{ mm}^2$ (Mandarim-de-Lacerda, 2003; Souza et al., 2018).

4.9 Quantificação de colágeno tipo I e tipo III

Para a avaliação das fibras colágenas, foram utilizadas lâminas coradas por *Picosirius* e as análises ocorreram utilizando o *software* ProPlus®. Para essa finalidade, 10 imagens aleatórias, de cada lobo, por animal (n = 5/grupo) foram obtidas em microscópio (Olympus BX-53, Tóquio, Japão), com um filtro polarizante sobre a fonte de luz, acoplado a uma câmera colorida digital (Olympus PD73; 17,28 *megapixels*). Com a coloração e o filtro específicos, foi possível diferenciar o colágeno tipo I (birrefringência laranja a laranja-amarelada e vermelha) e tipo III (birrefringência verde a verde-amarelada) (Coleman, 2011). O percentual de cada tipo de colágeno e o total de fibras colágenas foram dados pela média de cada grupo.

4.10 Avaliação do estado oxidativo

Amostras do complexo prostático (n = 5) foram homogeneizadas em tampão fosfato 0,1 M (1 mL; pH 7,4) e centrifugadas a 12000 rpm, a 4°C por 10 minutos. O sobrenadante foi separado e destinado às análises de enzimas antioxidantes, concentração de óxido nítrico, malondialdeído e proteína total, enquanto o *pellet* foi utilizado para quantificação de proteína carbonilada.

4.10.1 Análise da atividade de enzimas antioxidantes

A atividade enzimática da Superóxido Dismutase (SOD) foi determinada em leitor de Elisa em 570 nm baseado na capacidade desta enzima em catalisar a reação do superóxido O_2^- em H_2O_2 e, assim, diminuir a razão de auto-oxidação do pirogalol (Dieterich et al., 2000). Os resultados foram expressos em U SOD/mg proteína.

A atividade da Catalase (CAT) foi mensurada segundo Goth (1991) e Korolyuk et al. (1988), modificado por Hadwan e Abed (2016). Foi avaliada por meio da incubação da amostra enzimática em peróxido de hidrogênio e tampão de fosfato de sódio-potássio por três minutos. O método baseia-se na reação do peróxido de hidrogênio com molibdato de amônio para produzir uma cor amarelada, que possui uma absorbância máxima a 374 nm. Os resultados foram expressos em kU CAT/mg proteína.

A atividade enzimática da Glutathione S-transferase (GST) foi mensurada através da formação do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno (CDNB). Foi utilizada uma mistura contendo CDNB 1 mM em etanol, Glutathione Redutase (GSH) 1 mM, fosfato de potássio (pH 7.0) 100 mM e homogenato de tecido pelo aumento da absorbância ($\lambda = 340$ nm), por 90 segundos (Habig et al., 1974). O coeficiente de extinção molar do CDNB $\epsilon_{340} = 9,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ foi utilizado para os cálculos finais. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$.

4.10.2 Determinação do subproduto da peroxidação lipídica – Malondialdeído (MDA)

Ao homogenato foi adicionada solução TBARS (ácido tricloroacético 15%, 0,375% de ácido tiobarbitúrico e ácido clorídrico 0,25 M) e, posteriormente, aquecido em água fervente por 40 minutos a 90°C . Após resfriado, foi adicionado álcool butílico (600 mL), agitado em vortex e centrifugado a 6000 rpm. A fase superior foi utilizada para quantificar a concentração de MDA em leitor de microplacas ($\lambda = 532$ nm). A concentração de MDA foi determinada por meio de curva padrão a partir de concentrações conhecidas de 1, 1, 3,3-tetramethoxypropane (TMPO) (Buege & Aust, 1978). Os resultados foram expressos em $\mu\text{M}/\text{mg}$ proteína.

4.10.3 Óxido nítrico (ON)

A concentração de ON foi mensurada por meio do reativo de Griess, composto por 1% de sulfanilamida e 0,1% naftil-etileno-diamina em 2,5% H₃PO₄. Desta forma, 50µL do sobrenadante das amostras foi adicionado em microplacas com igual volume do Reativo de Griess e incubado em temperatura ambiente por 15 minutos e, em seguida, determinada em leitor de microplacas ($\lambda = 540$ nm). A concentração do óxido nítrico das amostras foi determinada utilizando curva padrão com concentrações conhecidas de nitrito de sódio (Droge, 2002; Ricart-Jané et al., 2002). Os resultados foram expressos em µM.

4.10.4 Proteína carbonilada

O teor de carbonil de proteína foi medido usando o método de Levine et al (1994), que utiliza a reação dos grupos carbonila com 2, 4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH), promovendo melhor especificidade e sensibilidade à análise. Foram adicionados à amostra uma solução DNPH 10 mmol/L diluída em ácido clorídrico (7%), então mantida a temperatura ambiente no escuro e agitada periodicamente por 30 minutos. Depois, ácido 23 tricloroacético (TCA) gelado a 10% foi adicionado a cada tubo, centrifugado (5000 g para 10 min a 4° C) e o sobrenadante descartado. O precipitado foi lavado com acetato de etila e etanol. Por fim, o dodecil sulfato de sódio (SDS) a 6% foi adicionado. A absorbância foi medida a 370 nm. Os resultados foram expressos em nmol/ml.

4.11 Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada comparando a exposição ao veículo, à finasterida e às três doses de minoxidil com o grupo controle negativo (água) e as três doses de minoxidil com o controle positivo (finasterida). Os dados foram submetidos à avaliação de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e, na sequência, aqueles com distribuição normal foram comparados por meio de análise de variância (ANOVA) seguida do método post hoc de Student Newman-Keuls (SNK). Os dados não paramétricos foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis. Foi utilizado o *software* GraphPad Prism v8.0.1 (GraphPad Software, EUA), considerando nível de

significância $p \leq 0,05$. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (média \pm DP).

5. RESULTADOS

5.1 Peso corporal e do complexo prostático e parâmetros histomorfométricos

O peso corporal, do complexo prostático e os parâmetros histomorfométricos da próstata de animais tratados por 42 e 84 dias estão descritos na Tabela 1 e Tabela 2, respectivamente. Não foram observadas variações entre os grupos experimentais com finasterida e minoxidil, quanto ao peso corporal. O peso absoluto e o peso relativo do complexo prostático foi significativamente menor nos grupos Finasterida quando comparados com o grupo Controle: F5,0 (84 dias) e F5,0 (42 dias), respectivamente.

Quanto às análises histomorfométricas dos animais expostos por 42 dias, na comparação com o grupo Controle, houve diminuição significativa na altura de epitélio do lobo ventral dos grupos que receberam finasterida (F5,0) e minoxidil na dose de 2,5 mg/kg (M2,5). No lobo dorsal, a proporção de epitélio teve redução nos animais tratados com finasterida, assim como houve redução da altura de epitélio nos grupos F5,0 e M7,5. Quando comparados com o grupo Finasterida, M2,5 e M5,0 apresentaram aumento na proporção de epitélio no lobo dorsal. O estroma e o lúmen não apresentaram diferenças estatísticas em nenhum dos dois lobos (Tabela 1).

Quanto às análises histomorfométricas dos animais expostos por 84 dias, na comparação com o grupo Controle, a altura epitelial do lobo ventral teve redução no grupo F5,0. Neste mesmo lobo, houve aumento da proporção de epitélio nos animais que receberam minoxidil 2,5 mg/kg. Quando comparados com o grupo Finasterida, a altura epitelial aumentou nos grupos M2,5 e M7,5, no lobo ventral e, no lobo dorsal, o aumento foi expressivo nos grupos M2,5 e M5,0. A proporção de epitélio no lobo dorsal foi significativamente maior no grupo M5,0. O estroma e o lúmen não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos dois lobos (Tabela 2).

Tabela 1 - Peso corporal e do complexo prostático e parâmetros histomorfométricos da próstata de camundongos Balb/C após tratamento com finasterida e diferentes concentrações de minoxidil, por 42 dias.

Parâmetros	CT	VC	F5,0	M2,5	M5,0	M7,5
PC (g)	33,14±3,58	31,44±3,61	36,52±2,32	34,23±2,40	36,48±3,03	36,11±2,63
PCP (g)	0,101±0,011	0,110±0,013	0,088±0,012	0,105±0,013	0,111±0,012	0,099±0,008
PRCP (g/100g)	0,317±0,040	0,338±0,018	0,255±0,032 *	0,301±0,044	0,301±0,029	0,277±0,026
<i>Próstata ventral</i>						
EP (%)	27,01±4,86	19,72±1,93	20,01±2,87	25,10±4,90	26,50±4,51	23,59±6,98
LU (%)	27,05±5,81	28,33±6,00	30,25±10,56	35,95±2,80	33,08±4,61	29,96±8,96
ES (%)	45,94±7,58	51,95±5,51	49,74±9,06	38,95±6,41	40,42±5,06	46,45±10,46
AE (µm)	20,55±3,08	18,47±2,06	15,40±3,57 *	15,98±1,11 *	17,74±1,99	16,69±2,34
<i>Próstata dorsal</i>						
EP (%)	33,12±10,13	36,08±8,65	19,42±2,59 *	32,44±8,84 #	31,58±8,44 #	26,02±0,66
LU (%)	26,26±9,11	20,36±3,19	35,50±4,68	25,11±4,89	25,64±2,29	28,00±7,59
ES (%)	40,62±8,34	43,55±11,24	45,07±0,37	42,45±11,29	42,78±8,06	45,97±4,45
AE (µm)	17,67±1,27	14,83±1,60	13,20±2,50 *	15,91±1,41	15,16±2,02	13,31±1,91 *

PC – Peso Corporal; PCP – Peso Complexo Prostático; PRCP – Peso Relativo Complexo Prostático; EP – Epitélio; LU – Lúmen; ES – Estroma; AE – Altura de Epitélio. CT = Controle; VC = Veículo; F5,0 = Finasterida 5,0 mg/kg; M2,5 = Minoxidil 2,5 mg/kg; M5,0 = Minoxidil 5,0 mg/kg; M7,5 = Minoxidil 7,5 mg/kg. Dados expressos como média ± desvio padrão. * mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Controle ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). # mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Finasterida, controle positivo ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos).

Tabela 2 - Peso corporal e do complexo prostático e parâmetros histomorfométricos da próstata de camundongos Balb/C após tratamento com finasterida e diferentes concentrações de minoxidil, por 84 dias.

Parâmetros	CT	VC	F5,0	M2,5	M5,0	M7,5
PC (g)	37,55±3,42	33,81±2,37	35,48±4,04	35,41±2,84	34,44±2,86	36,72±2,72
PCP (g)	0,148±0,006	0,120±0,027	0,103±0,016 *	0,130±0,017	0,125±0,016	0,126±0,024
PRCP (g/100g)	0,380±0,033	0,339±0,073	0,296±0,021	0,371±0,050	0,364±0,050	0,341±0,050
<i>Próstata ventral</i>						
EP (%)	18,40±2,65	16,47±0,98	21,25±0,30	23,33±2,28	18,17±1,73	20,06±3,94
LU (%)	38,73±5,50	29,01±9,76	36,16±8,62	36,25±7,32	37,87±4,66	40,07±12,61
ES (%)	43,81±5,04	54,52±10,62	43,31±9,94	40,17±6,55	43,95±6,01	39,87±12,92
AE (µm)	17,41±0,92	18,50±2,76	12,65±2,14 *	17,58±2,87 #	17,10±0,82	18,10±2,23 #
<i>Próstata dorsal</i>						
EP (%)	27,25±6,19	24,89±1,25	22,97±7,72	33,91±6,22	36,69±5,69 #	30,24±4,51
LU (%)	23,79±5,08	21,44±2,37	26,80±4,94	21,38±6,69	24,46±5,58	19,62±3,57
ES (%)	49,44±6,21	54,26±2,92	50,23±8,24	44,71±10,61	38,85±5,51	50,14±5,66
AE (µm)	12,82±1,04	13,30±1,29	12,01±1,44	15,26±0,91 #	15,08±2,54 #	14,49±0,72

PC – Peso Corporal; PCP – Peso Complexo Prostático; PRCP – Peso Relativo Complexo Prostático; EP – Epitélio; LU – Lúmen; ES – Estroma; AE – Altura de Epitélio. CT = Controle; VC = Veículo; F5,0 = Finasterida 5,0 mg/kg; M2,5 = Minoxidil 2,5 mg/kg; M5,0 = Minoxidil 5,0 mg/kg; M7,5 = Minoxidil 7,5 mg/kg. Dados expressos como média ± desvio padrão. * mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Controle ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). # mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Finasterida, controle positivo ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos).

5.2 Níveis de estradiol e di-hidrotestosterona (DHT)

A concentração de estradiol no tecido prostático foi significativamente menor no grupo dos animais que receberam minoxidil na dose de 5,0mg/kg (M5,0) por 42 dias, quando comparado com o controle (Figura 3A). A concentração de DHT foi maior no grupo M2,5, tratado por 42 dias, quando comparados com o grupo controle positivo F5,0 (Figura 3B). No tratamento por 84 dias, as concentrações hormonais, tanto de estradiol quanto de DHT, não foram alteradas quando comparados os grupos experimentais com o controle e os grupos que receberam minoxidil (M2,5, M5,0 e M7,5) quando comparados com F5,0 (Figura 3C e D).

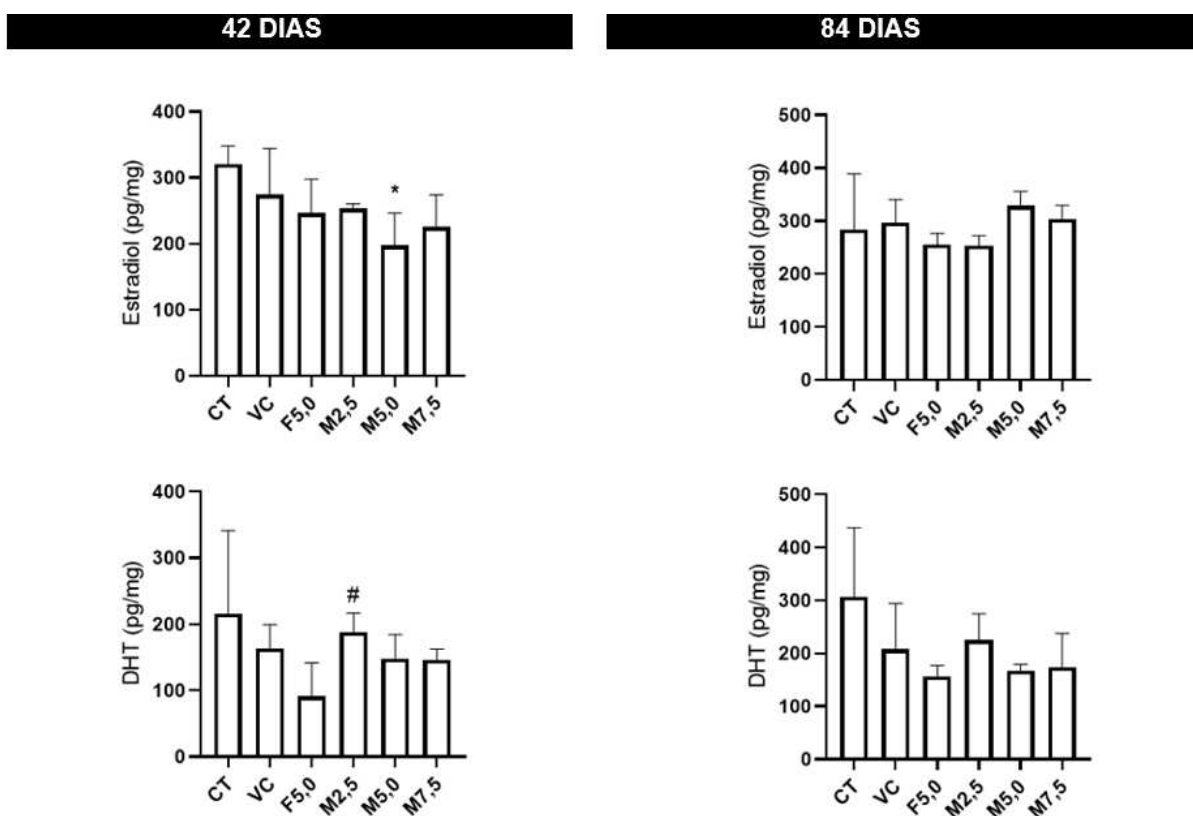


Figura 3 - Efeitos da administração de finasterida e minoxidil sobre as concentrações intra prostáticas de estradiol e di-hidrotestosterona (DHT) em camundongos Balb/C, durante 42 e 84 dias. A e B equivalem aos grupos expostos às drogas por 42 dias. C e D equivalem aos grupos expostos às drogas por 84 dias. CT = Controle; VC = Veículo; F5,0 = Finasterida 5,0 mg/kg; M2,5 = Minoxidil 2,5 mg/kg; M5,0 = Minoxidil 5,0 mg/kg; M7,5 = Minoxidil 7,5 mg/kg. Dados expressos como média \pm desvio padrão. * mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Controle ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). # mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo

Finasterida, controle positivo ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos).

5.3 Histopatologia

As avaliações qualitativas histopatológicas dos lobos ventral e dorsal estão representadas na Figura 4. O perfil histológico dos lobos prostáticos dos animais controle apresenta um epitélio pseudoestratificado colunar típico de próstata ventral, com as células mostrando aparência normal, sem grandes alterações morfológicas. Na próstata dorsal, o mesmo ocorreu, com epitélio cúbico e células com núcleo central, sem evidências patológicas. O estroma de ambos os lobos se mostrou escasso, típico da próstata do modelo experimental e do tipo de inclusão utilizado, formado por tecido conjuntivo frouxo e fibras musculares lisas que organizam-se em torno dos adenômeros secretores. O lúmen, nos dois lobos, se mostrou com aparência característica, com presença de secreções homogêneas, principalmente no lobo dorsal. As secções histológicas dos animais do grupo veículo seguiram o mesmo padrão descrito para o grupo controle, com epitélio típico e presença de pequenos infiltrados inflamatórios no lobo dorsal.

O grupo finasterida, por sua vez, foi o que mais demonstrou alterações na histoarquitetura da glândula. No lobo ventral deste grupo, todos os fragmentos analisados apresentaram adenômeros com atrofia epitelial. As áreas atróficas são caracterizadas pela redução da altura do epitélio, que pode variar dependendo do grau da atrofia, chegando a tornar-se muito delgado. Muitas vezes foi possível observar no mesmo adenômero áreas de transformação gradativa do epitélio prismático para cúbico. No lobo dorsal deste grupo foram observados infiltrados inflamatórios e a presença de células apoptóticas foi marcante no lobo ventral. A identificação destas células foi possível pela ocorrência da condensação da cromatina, fragmentação do núcleo, formação de corpos apoptóticos e retração celular. Outra alteração marcante verificada neste grupo foi a aparência da secreção glandular, que apresentou-se quebradiça e, ou, ausente no interior dos adenômeros do lobo ventral. A presença de concreções intraluminais foi mais evidente em relação aos outros grupos. A próstata dorsal apresentou secreções rarefeitas, embora a presença de secreções homogêneas tenha sido mais pronunciada. De forma complementar, ainda foram

observados, no lobo ventral, a vacuolização do citoplasma de algumas células que compõem o epitélio.

Os três grupos que receberam minoxidil, nas diferentes doses, apresentaram um perfil histológico semelhante entre eles, com alterações discretas quando comparado com o grupo finasterida. Foi possível observar atrofia epitelial em alguns adenômeros do lobo ventral, infiltrados inflamatórios, vacuolização do citoplasma e células apoptóticas. O lobo dorsal dos animais destes grupos não apresentou diferenças acentuadas, sendo marcado pela presença de infiltrados inflamatórios. Com a análise qualitativa, não foi possível identificar mudanças acentuadas entre os grupos tratados por 42 e 84 dias. O lobo ventral foi o que mais apresentou alterações. Não foram observadas variações evidentes no tamanho dos lúmens entre os grupos experimentais comparados com o controle. É importante destacar que, regularmente, foram observados parênquima e estroma de aspecto normal em associação com aqueles alterados, nas mesmas secções da próstata, em ambos os lobos e períodos de tratamento.

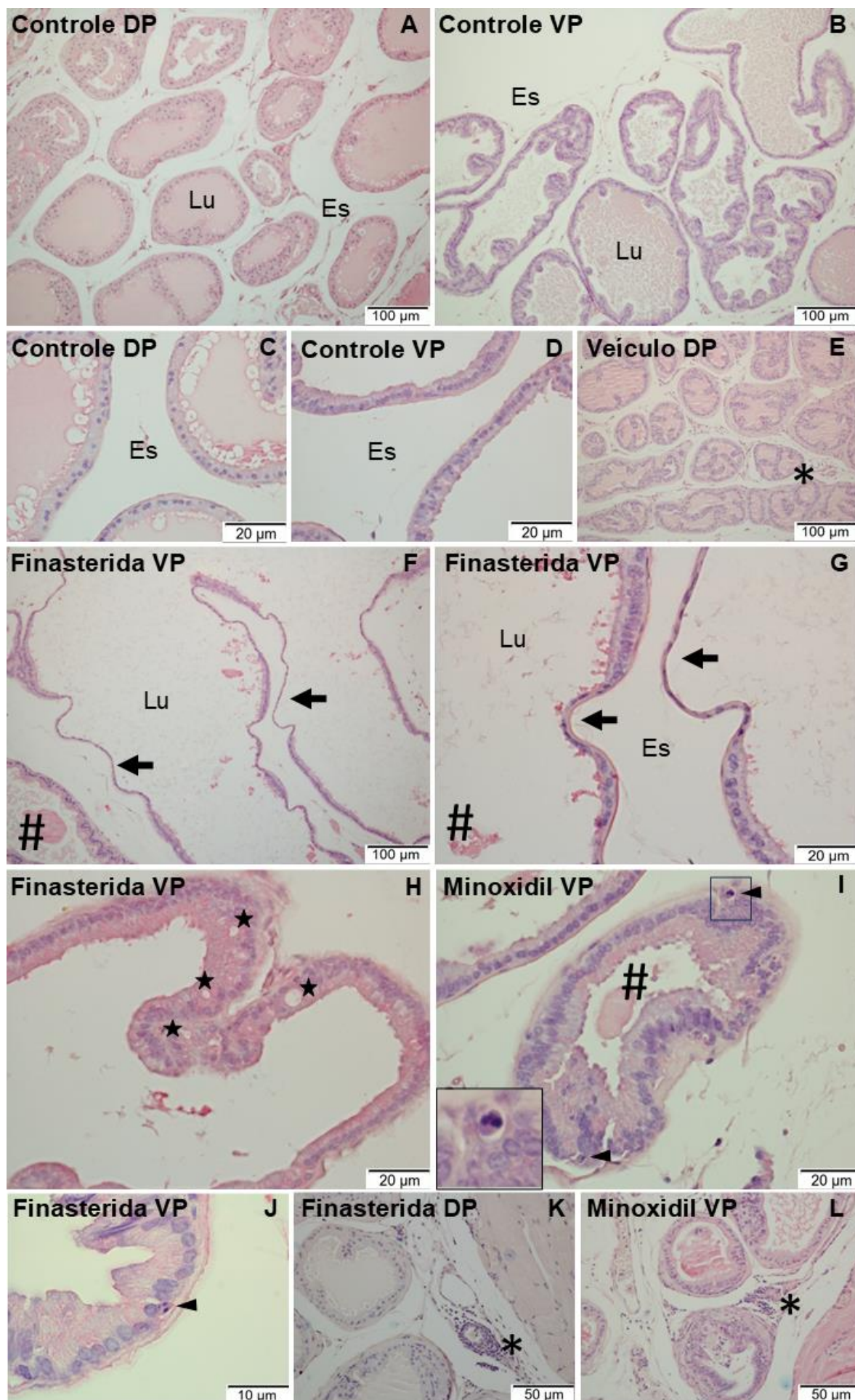


Figura 4 - Histopatologia da próstata dorsal (DP) e da próstata ventral (VP) de camundongos Balb/C submetidos à administração de finasterida ou minoxidil, por 42 e 84 dias. **(A)** Próstata dorsal de animais controle apresentando lúmens com secreção homogênea na maior parte dos adenômeros e epitélio cúbico, típico deste lobo prostático. **(B)** Próstata ventral de animais controle mostrando secreções escassas e epitélio pseudoestratificado colunar, típicos deste lobo prostático. **(C e D)** Detalhe em maior aumento do epitélio dos lobos dorsal e ventral, respectivamente. **(E)** Secreção prostática dos animais do grupo veículo seguiram o padrão dos animais do grupo controle, sendo possível observar um pequeno foco de infiltrado inflamatório (*). **(F e G)** Intensa área de atrofia epitelial (setas) e concreção intraluminal (#). **(H)** Epitélio contendo abundantes vacúolos citoplasmáticos (estrela). **(I e J)** Células apoptóticas (ponta de seta) e concreção intraluminal (#) na próstata ventral; (I) em detalhe, uma célula apoptótica. **(K e L)** Focos de infiltrado inflamatório (*). Es = Estroma; Lu = Lúmen. Barra em A, B, E e F = 100 µm. Barra em C, D, G, H e I = 20 µm. Barra em J = 10 µm. Barra em K e L = 50 µm. Corado em Hematoxilina e Eosina.

5.4 Mastócitos

As análises histológicas indicaram que, quando comparados com o controle, o número de mastócitos apresentou uma tendência a aumentar nos grupos experimentais tratados com finasterida e minoxidil, porém essa ascensão não foi significativa no lobo prostático ventral, nos períodos de 42 e 84 dias (Figura 5). Em relação ao lobo dorsal, os animais expostos a finasterida por 42 dias tiveram aumento no número de mastócitos. Já no tratamento por 84 dias, os grupos finasterida (F5,0) e minoxidil (M2,5) tiveram aumento significativo de mastócitos (Figura 5). Na comparação das doses de minoxidil (M2,5, M5,0 e M7,5) com o grupo Finasterida (F5,0), não houve diferença estatística.

5.5 Colágeno tipo I, tipo III e total

As proporções de colágeno tipo I e tipo III estão apresentadas na Tabela 3 (42 dias) e na Tabela 4 (84 dias); e o colágeno predominantemente foi o tipo III. O percentual de colágeno tipo I e tipo III não apresentou diferenças nos animais tratados com os medicamentos e veículo, em relação ao grupo controle e quando comparados

as doses de minoxidil (M2,5, M5,0 e M7,5) com o grupo Finasterida (F5,0). Não houve alteração na quantidade de colágeno total no estroma da próstata dos animais experimentais (Figura 6).

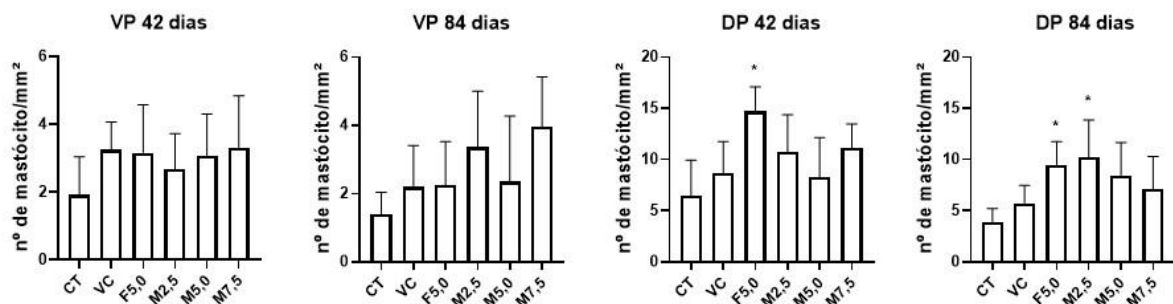
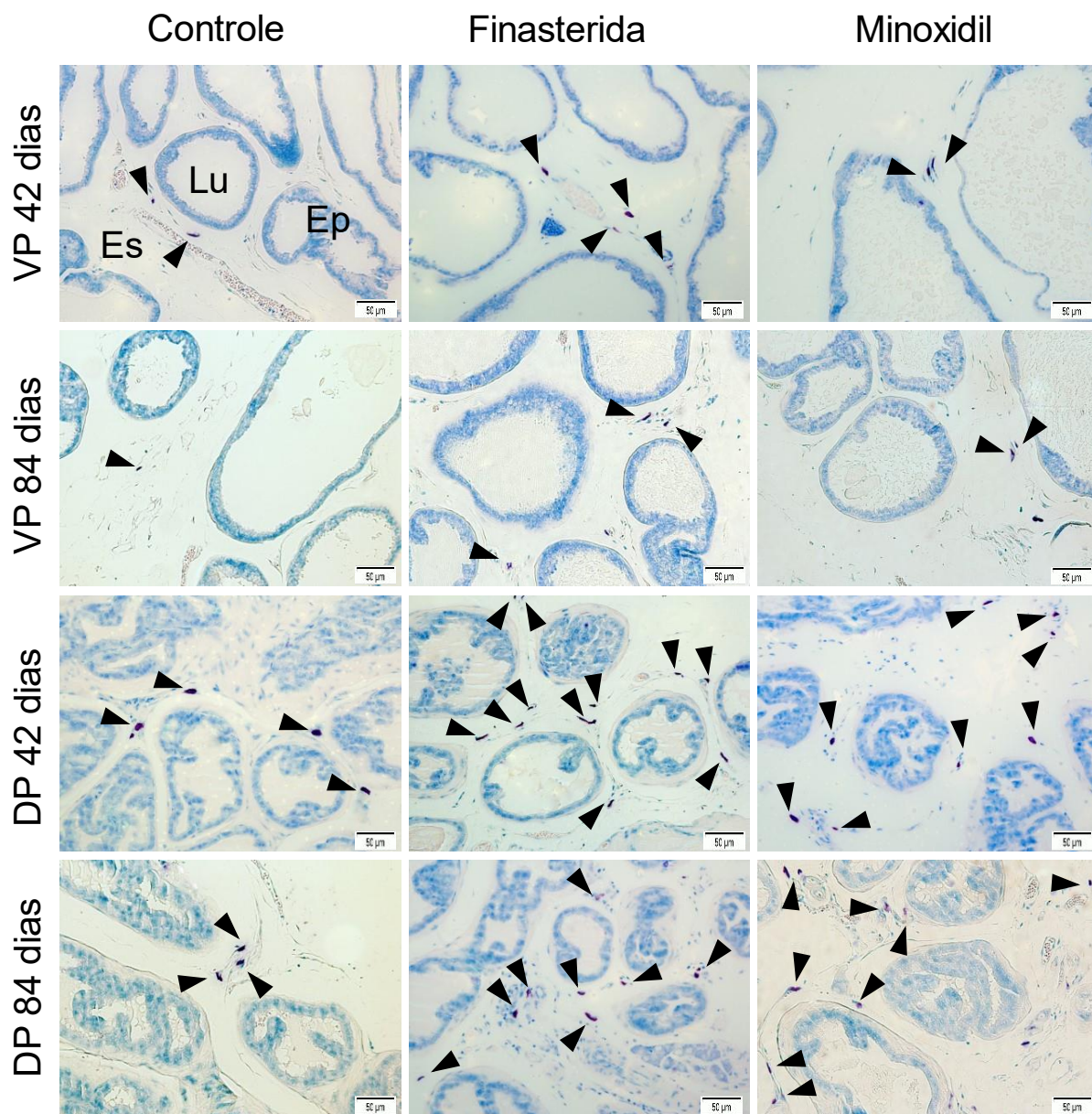


Figura 5 - Fotomicrografias da próstata ventral (VP) e da próstata dorsal (DP) de camundongos Balb/C submetidos à administração de finasterida e minoxidil, por 42 e 84 dias. As imagens revelam a presença de mastócitos no estroma de cada lobo prostático. Pontas de setas = Mastócitos; Ep = Epitélio; Lu = Lúmen; Es = Estroma. Os gráficos mostram a quantificação de mastócitos encontrados por área (1,96 mm²). CT = Controle; VC = Veículo; F5,0 = Finasterida 5,0 mg/kg; M2,5 = Minoxidil 2,5 mg/kg; M5,0 = Minoxidil 5,0 mg/kg; M7,5 = Minoxidil 7,5 mg/kg. Dados expressos como média \pm desvio padrão. * mostram valores significativamente diferentes em relação ao controle ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). # mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Finasterida, controle positivo ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). Corado por Azul de toluidina/Borato de Sódio. Barra das micrografias = 50 μ m.

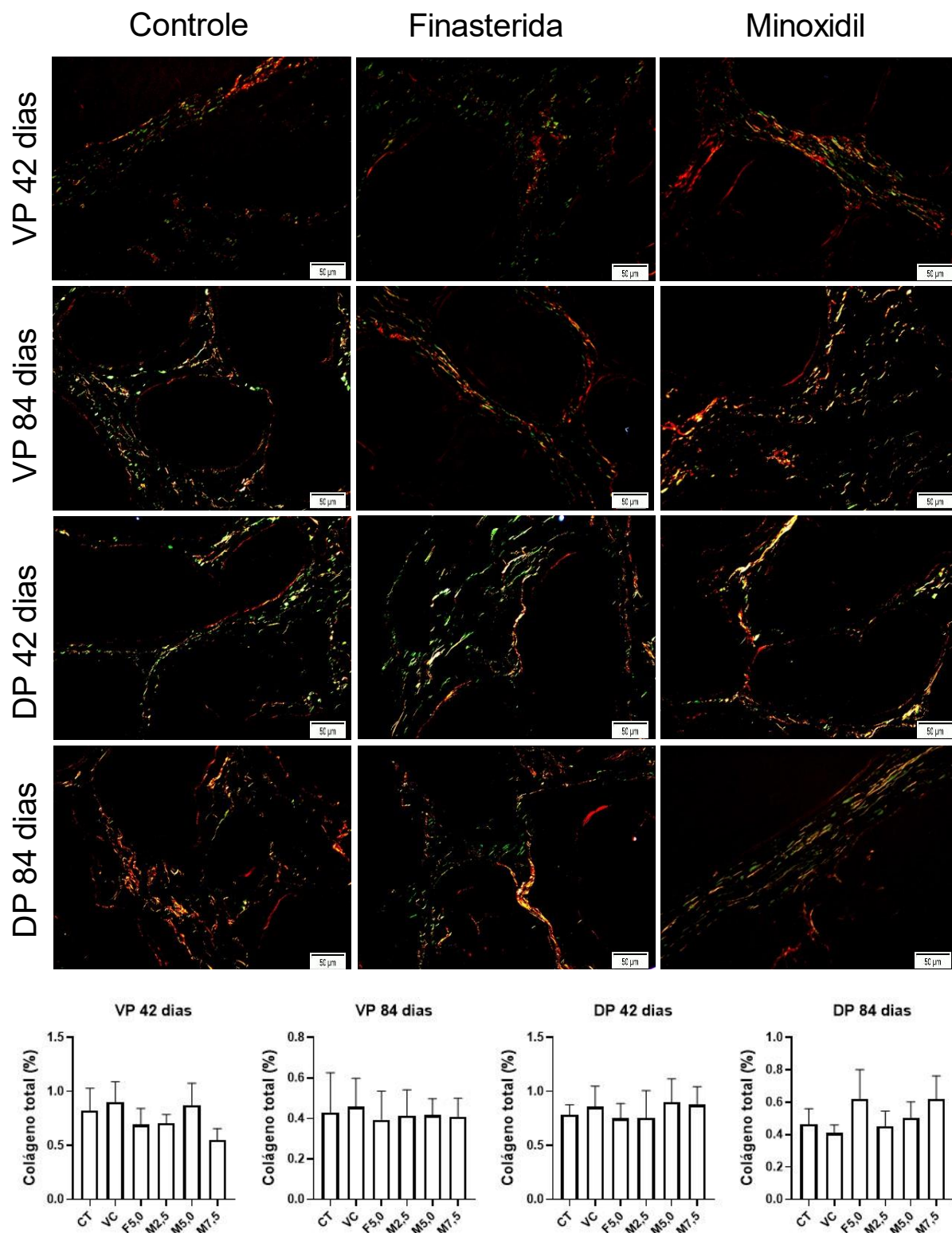


Figura 6 - Fotomicrografias da próstata ventral (VP) e da próstata dorsal (DP) de camundongos Balb/C submetidos à administração de finasterida e minoxidil, por 42 e 84 dias. O colágeno tipo I apresenta birrefringência laranja a laranja-amarelada e vermelha; e o colágeno tipo III apresenta birrefringência verde ou verde-amarelada. Os gráficos representam a quantidade de colágeno total em cada lobo prostático. CT

= Controle; VC = Veículo; F5,0 = Finasterida 5,0 mg/kg; M2,5 = Minoxidil 2,5 mg/kg; M5,0 = Minoxidil 5,0 mg/kg; M7,5 = Minoxidil 7,5 mg/kg. Dados expressos como média \pm desvio padrão. * mostram valores significativamente diferentes em relação ao controle ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). # mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Finasterida, controle positivo ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). Corado por *Picrosirius*, visto sob luz polarizada. Barra das micrografias = 50 μ m.

Tabela 3 - Percentual de fibras colágenas tipo I e tipo III no estroma prostático de camundongos Balb/C após tratamento com finasterida e diferentes concentrações de minoxidil, por 42 dias.

Tipo de colágeno	CT	VC	F5,0	M2,5	M5,0	M7,5
<i>Próstata ventral</i>						
Tipo I	0,222±0,126	0,267±0,093	0,149±0,053	0,339±0,083	0,306±0,085	0,202±0,044
Tipo III	0,600±0,147	0,633±0,226	0,542±0,114	0,369±0,127	0,553±0,164	0,353±0,100
<i>Próstata dorsal</i>						
Tipo I	0,291±0,078	0,348±0,132	0,232±0,088	0,338±0,152	0,434±0,239	0,421±0,110
Tipo III	0,509±0,039	0,507±0,072	0,503±0,063	0,417±0,010	0,442±0,017	0,446±0,087

CT = Controle; VC = Veículo; F5,0 = Finasterida 5,0 mg/kg; M2,5 = Minoxidil 2,5 mg/kg; M5,0 = Minoxidil 5,0 mg/kg; M7,5 = Minoxidil 7,5 mg/kg. Os dados foram expressos em média \pm desvio-padrão. * mostram valores significativamente diferentes em relação ao controle ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). # mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Finasterida, controle positivo ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos).

Tabela 4 - Percentual de fibras colágenas tipo I e tipo III no estroma prostático de camundongos Balb/C após tratamento com finasterida e diferentes concentrações de minoxidil, por 84 dias.

Tipo de colágeno	CT	VC	F5,0	M2,5	M5,0	M7,5
<i>Próstata ventral</i>						
Tipo I	0,225±0,015	0,193±0,060	0,168±0,069	0,189±0,085	0,184±0,093	0,197±0,052
Tipo III	0,253±0,117	0,196±0,065	0,259±0,010	0,223±0,044	0,235±0,032	0,211±0,082
<i>Próstata dorsal</i>						
Tipo I	0,235±0,104	0,142±0,015	0,267±0,102	0,170±0,061	0,163±0,057	0,239±0,119
Tipo III	0,230±0,022	0,267±0,050	0,354±0,107	0,280±0,066	0,341±0,081	0,380±0,139

CT = Controle; VC = Veículo; F5,0 = Finasterida 5,0 mg/kg; M2,5 = Minoxidil 2,5 mg/kg; M5,0 = Minoxidil 5,0 mg/kg; M7,5 = Minoxidil 7,5 mg/kg. Os dados foram expressos em média ± desvio-padrão. * mostram valores significativamente diferentes em relação ao controle ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). # mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Finasterida, controle positivo ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos).

5.6 Estresse oxidativo

A atividade da SOD aumentou de forma significativa no grupo F5,0 no período de 42 dias (Figura 7A e G). A CAT e a GST, enzimas da segunda linha de defesa antioxidante, não apresentaram alterações significativas (Figura 7B, C, H e I). A atividade do ON apresentou diferenças estatísticas no grupo Finasterida (F5,0) tratado por 42 dias (Figura 7D). Em relação à administração dos medicamentos por 84 dias, a concentração do ON foi significativamente maior nos grupos M5,0 e M7,5 (Figura 7J). Os animais expostos por 42 dias à finasterida, tiveram os valores de MDA alterados quando comparados com o controle e, àqueles que receberam minoxidil (M5,0), apresentaram alterações quando comparado com o controle positivo (F5,0) (Figura 7E), enquanto que os animais expostos por 84 dias não demonstraram alterações significativas neste marcador (Figura 7K). Os valores de PC não revelaram significância estatística (Figura 7F e L).

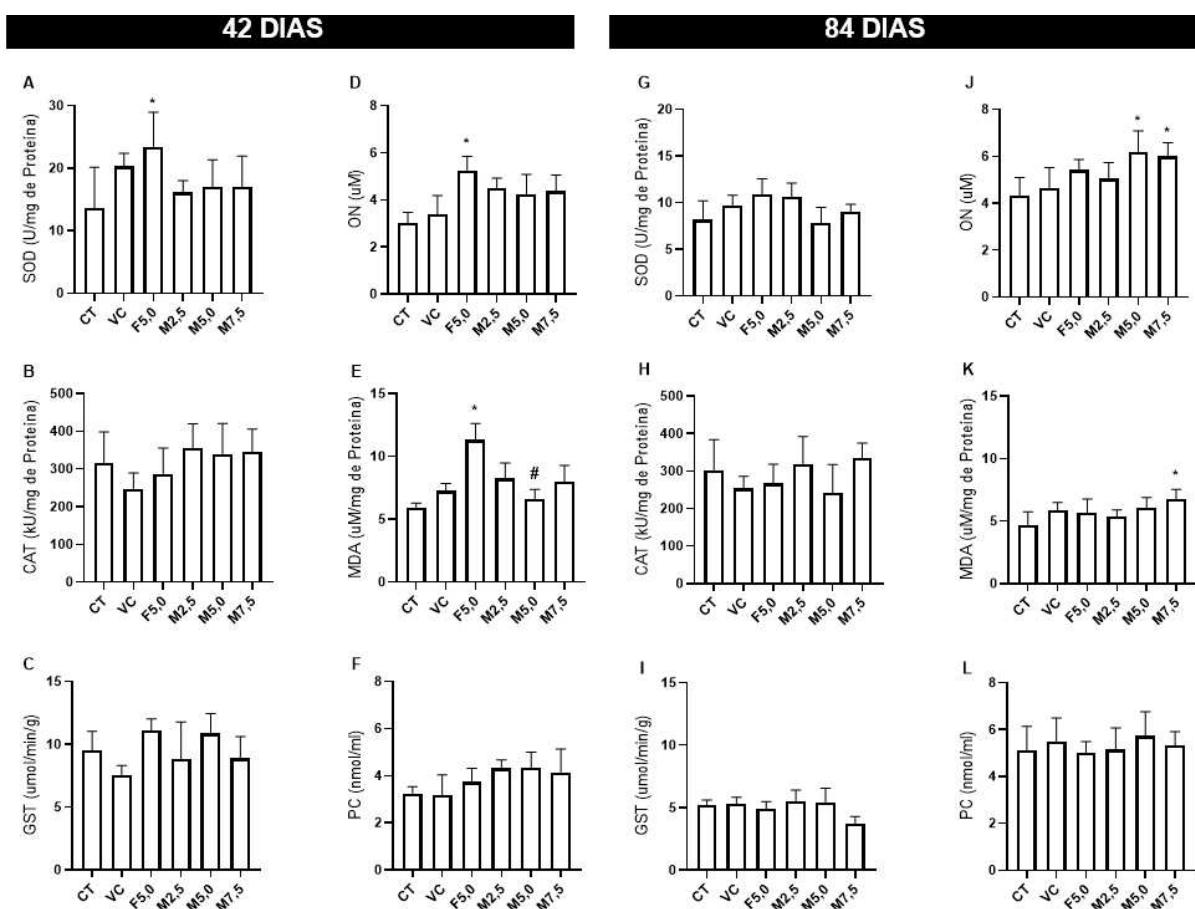


Figura 7 - Efeitos da administração de finasterida e minoxidil sobre a atividade de enzimas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo no complexo prostático de camundongos Balb-c, durante 42 (A-F) e 84 dias (G-L) de tratamento. CT = Controle;

VC = Veículo; F5,0 = Finasterida 5,0 mg/kg; M2,5 = Minoxidil 2,5 mg/kg; M5,0 = Minoxidil 5,0mg/kg; M7,5 = Minoxidil 7,5mg/kg. SOD = Superóxido dismutase; CAT = Catalase; GST = Glutathione-S-Transferase; ON = Óxido nítrico; MDA = Malondialdeído; PC = Proteína carbonilada. Dados expressos como média \pm desvio padrão. * = valores significativamente diferentes em relação ao controle ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos). # mostram valores significativamente diferentes em relação ao grupo Finasterida, controle positivo ($p \leq 0,05$) pelo Student Newman Keuls (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis (dados não paramétricos).

6. DISCUSSÃO

Neste estudo foi investigado o impacto do minoxidil oral, comumente usado *off-label* no tratamento de alopecia, sobretudo do tipo androgênica, em um órgão de grande importância para a saúde reprodutiva do homem, a próstata. Nossos dados revelaram que não houve diferença significativa no peso corporal dos animais. Essa análise é importante porque pode nos fornecer informações de uma possível anormalidade no organismo, devido os tratamentos em questão (Fernandez et al., 2008). Por outro lado, o peso relativo da próstata diminuiu de forma significativa no grupo F5,0, dos animais expostos por 42 dias, quando comparados com o controle. Por mais que a significância nos animais que receberam finasterida foi expressiva apenas no período de 42 dias, os animais tratados por 84 dias também apresentaram uma tendência de declínio do peso relativo do órgão. Esses dados corroboram com a utilização de finasterida para retardar o avanço da HPB, alterando o tamanho total do órgão e, conseqüentemente, seu peso (Ramsamy et al., 2016). Esses resultados se assemelham ao observado por Corradi et al (2004), que administraram 100 mg/kg de finasterida durante 10 dias em gerbilos (*Meriones unguiculatus*) machos adultos e relataram redução de 18% do peso absoluto do complexo prostático. O peso da próstata também diminuiu após administração crônica de finasterida em ratos (Pahalada et al., 1998), porém, receberam doses bem acima das empregadas em nosso trabalho. A mesma dose do medicamento utilizada em nosso estudo foi capaz de promover a redução no tamanho da próstata de homens tratados por 6 meses (Montironi et al., 1996). Assim como já sabido em relação à finasterida, há a hipótese de que o minoxidil também atue em vias antiandrogênicas e, com isso, a tendência de

queda observada nos animais que receberam esta droga pode estar associada a esse mecanismo, uma vez que a próstata é um órgão andrógeno-dependente, tendo seu crescimento diretamente influenciado pela ação dos andrógenos (Dahiya & Bagchi, 2022).

As análises histomorfométricas mostraram diminuição na altura do epitélio nos dois lobos prostáticos, sendo mais evidentes nos animais que receberam finasterida. Isso já era esperado, pois a presença de adenômeros atróficos neste grupo foi muito evidente a partir das análises histopatológicas. Os adenômeros tornaram-se dilatados e, conseqüentemente, as medidas de altura epitelial foram menores. Nossos dados se assemelham aos encontrados por Rittmaster et al (1996), quemostaram que o uso de 5 mg de finasterida durante diferentes períodos foi capaz de causar involução da próstata por meio da atrofia. Dessa maneira, é de se esperar uma redução da função secretora das células mais abundantes que compõem o epitélio (Wright et al., 1996), as células luminiais, podendo causar prejuízos na função secretora da próstata. Adicionalmente, essa redução da quantidade e, possivelmente da qualidade do fluido prostático, pode impactar negativamente na reprodução, tendo em vista que a próstata é a principal glândula envolvida na fertilidade masculina (Verze et al., 2016). Nossos achados não apresentaram diferenças significativas na proporção dos constituintes prostáticos, com excessão do epitélio. Em contrapartida, um estudo realizado com homens que tomaram a mesma dose utilizada neste trabalho, por 6 ou 12 meses, demonstrou alterações na arquitetura luminal, bem como ácinos prostáticos irregulares, atrofia e metaplasia (Montironi et al., 1996). De maneira intrigante, a proporção de epitélio aumentou no grupo M2,5 tratado por 84 dias. Quando as doses de minoxidil foram comparadas com o controle positivo, o grupo Finasterida, a altura e a proporção epitelial foram significativamente maiores, reforçando que os efeitos deletérios, como diminuição dos constituintes prostáticos, ocorreram nos animais que receberam finasterida. Vale ressaltar que, quanto ao uso de minoxidil oral e seus efeitos na histomorfologia da próstata, nossa pesquisa é pioneira e não há registros na literatura acerca desta especificidade.

Nesse mesmo sentido, os níveis hormonais apresentaram um declínio em grande parte dos grupos experimentais. A DHT e os estrógenos têm sido amplamente associados ao controle da histofisiologia da próstata (Cunha et al., 1987). Assim, com a redução de seus níveis, é de se esperar que a atividade tecidual também sofra queda, o que pode causar perturbações funcionais na glândula, uma vez que essa

desregulação é frequentemente associada a doenças prostáticas (Andrioli et al., 2004; Di Zazzo et al., 2018). Ao administrarem finasterida, inibidor da 5 α -redutase, e Letrozol, inibidor de aromatase, Corradi et al (2009) mostraram a importância de um equilíbrio entre andrógenos e estrógenos como fator fundamental para a manutenção do estado funcional da glândula. Nossos dados apontam que houve uma tendência na redução dos níveis de DHT, sobretudo no grupo tratado com finasterida, entretanto, sem diferenças significativas. Em outros estudos, foi verificada uma queda de DHT, bem como do volume da glândula e de suas secreções, após administração de finasterida em cães (Sirinarumitr et al., 2001; Golchin-Rad et al., 2020). Um estudo realizado por Taboga et al (2009) relatou que a falta da DHT pode promover a desdiferenciação das células musculares lisas da próstata, quando administrado antiandrógenos, como a finasterida. Prahalada et al (1998) mostraram que a administração de 160 mg/kg da droga, por 15 dias, foi capaz de diminuir os níveis médios de DHT em 98%. Em nosso trabalho, a diminuição dos níveis hormonais, embora não significativa, pode ter influenciado as alterações morfológicas no epitélio prostático, como observadas nas análises de histomorfometria e histopatologia. Por outro lado, o tratamento não foi capaz de modificar outros parâmetros analisados, como estroma e lúmen. Alterações no microambiente do epitélio e do estroma já foram relacionadas com vias antiandrogênicas e antiestrogênicas (Suzuki et al., 1998; Ito et al., 2000; Huynh et al., 2001).

A avaliação histopatológica revelou alterações no tecido prostático dos dois lobos analisados, porém de forma mais pronunciada no lobo ventral, e isso pode ser entendido pelo fato deste lobo ser um dos principais dependentes de andrógeno (Banerjee et al., 2000; Desai et al., 2004). A frequente presença de atrofia do epitélio, células apoptóticas e infiltrados inflamatórios ocorreu neste lobo, principalmente no grupo que recebeu finasterida. Esses resultados estão de acordo com os dados observados por Huynh et al (2001), que relataram aumento da atrofia das células epiteliais, quando administrado finasterida em conjunto com um antiestrógeno. Por outro lado, Prahalada et al (1998) não observaram diferenças qualitativas na morfologia da próstata de ratos entre os grupos controle e tratados com 160 mg/kg de finasterida durante 15 dias. Mesmo com uma dose superior à utilizada neste estudo, o tempo de tratamento foi expressivamente menor, deixando imprecisa a comparação. A função das células epiteliais da próstata é estimulada tanto pela testosterona quanto pela DHT, porém esse último de forma mais potente (Wright et al., 1996). A alteração

tecidual observada em nossa análise, principalmente no grupo F5,0, nos dois períodos de tratamento, reflete a ação antiandrogênica da finasterida, sendo a DHT necessária para a manutenção da morfofisiologia do órgão. Assim, a redução dos níveis de DHT e estradiol neste grupo nos sugere ser uma das causas desta perturbação. A intensa atrofia epitelial e a vacuolização citoplasmática no tecido prostático já foram relatadas como resultado de privação androgênica (Hellström et al., 1993). Nossos achados estão em conformidade com a literatura, pois as análises histológicas mostraram que estas condições foram comuns nos grupos que receberam finasterida, que atua em vias antiandrogênicas. Além da influência endócrina, as alterações menos expressivas nos grupos que receberam minoxidil (M2,5; M5,0 e M7,5) podem ser indicativos de que o medicamento age por meio de outras vias, as quais precisam ser melhor investigadas e entendidas. No entanto, as três doses de minoxidil não foram capazes de gerar uma diferença acentuada em nossas observações histopatológicas, pois o perfil histológico se mostrou similar nos três grupos tratados com o medicamento. As alterações morfológicas mais pronunciadas no grupo F5,0 apontam que o minoxidil não tenha tantos efeitos deletérios para o tecido quando comparado com o nosso controle positivo, a finasterida.

A apoptose pode ser entendida como um mecanismo de eliminação seletiva de células, da qual a sobrevivência poderia prejudicar o bem-estar do organismo (Gerscherson & Rotello, 1992). No entanto, a homeostasia prostática é controlada por fatores mitogênicos responsáveis pela proliferação celular e por fatores inibidores que modulam a apoptose, ambos processos controlados indiretamente pela DHT (Steiner, 1995). Nossos achados demonstraram que o maior número de células apoptóticas foi observado no grupo finasterida, embora também foi notado, de forma menos acentuada, nos animais tratados com minoxidil. Esses dados estão de acordo com estudos que constataram que a finasterida induz a apoptose (Rittmaster et al., 1996; Sutton et al., 2005). Além disso, por se tratar de um processo fisiológico e de reparo de eliminação de células lesionadas ou anormais, a maior presença dessa condição pode nos indicar perturbação tecidual nestes grupos. Assim como em nosso trabalho, foram observados corpos apoptóticos entre as células epiteliais da próstata humana após administração de 5 mg de finasterida por 6 meses (Montironi et al., 1996). A menor evidência de apoptose nos animais tratados com minoxidil pode ser entendida como estado de homeostase fisiológica do órgão, na qual a proliferação celular e a apoptose estão intimamente balanceados. Já foi demonstrado que o minoxidil tornou

a célula resistente à apoptose em cardiomiócitos de ratos Wistar (Takatani et al., 2004). A presença de células apoptóticas nos animais experimentais também pode ser resultado do estresse oxidativo, pois a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode ser uma das causas dessa condição (Koyuturk et al., 2006; Rubio et al., 2012).

O aumento na contagem de mastócitos foi expressivo no lobo dorsal dos animais tratados com finasterida por 42 dias e, também, nos grupos F5,0; M2,5 e M5,0 por 84 dias. Comparativamente entre os lobos ventral e dorsal, a próstata dorsal possui, naturalmente, maior quantidade de mastócitos. Além da proporção ser menor no lobo ventral, quando comparado com o lobo dorsal, nenhum grupo tratado apresentou diferenças expressivas em relação ao controle na avaliação deste lobo. Os mastócitos podem ter um efeito imunológico anti-inflamatório ou pró-inflamatório, além de desempenharem papel essencial na proteção e no reparo tecidual, com capacidade de liberarem mediadores contidos em seus grânulos contra substâncias endógenas ou exógenas. Porém, a capacidade de aumentarem em número na inflamação, sugere que os mastócitos podem contribuir para uma ampla gama de patologias (Maurer et al., 2003; Beghdadi, 2011; Noto et al., 2021). Os indivíduos que utilizam o minoxidil tópico comumente queixam-se de coceira e irritação local (Ebner & Müller, 1995; Nestor et al., 2021). Em geral, esse prurido é causado devido a uma ação inflamatória na pele que, conseqüentemente, atrai as células de defesa, como os mastócitos, para o local da aplicação. Já foi demonstrado que estas células podem atuar como efetoras na reação de hipersensibilidade de contato a substâncias irritantes (Beghdadi, 2011). Em relação à formulação oral, não há relatos na literatura que associam o uso da droga com o número de mastócitos, tampouco em análises no tecido prostático, porém, os achados do nosso trabalho são indicativos de inflamação tecidual, pelo recrutamento destas células nos animais tratados, bem como pela detecção de focos inflamatórios. Os níveis hormonais também podem contribuir para uma melhor compreensão da quantificação de mastócitos. É bem estabelecido que os estrógenos estabelecem uma resposta imune exacerbada, induzindo a inflamação, enquanto que os andrógenos possuem efeitos anti-inflamatórios, atenuando a resposta inflamatória (Ben-Batalla et al., 2020). O aumento do número de mastócitos, bem como a detecção de focos inflamatórios nos animais que receberam finasterida, corroboram os efeitos anti-inflamatórios dos andrógenos na próstata. Adicionalmente, dados da literatura também mostram aumento de focos inflamatórios intra prostáticos

em pacientes em uso de finasterida (Murtola et al., 2015), bem como aumento de mastócitos na próstata de ratos após castração (Franck-Lissbrant et al., 1998), corroborando nossos dados. Embora não significativamente, detectamos em nosso trabalho uma tendência na redução de DHT no grupo F5,0 nos dois tempos de tratamento, indicando que pequenas modificações hormonais podem ser capazes de desajustar o equilíbrio tecidual local.

Em relação ao tratamento com minoxidil, a mesma tendência de redução tecidual de DHT foi de encontro ao aumento de mastócitos no período de tratamento mais prolongado. Esses dados apontam que o minoxidil oral pode afetar os níveis locais de andrógenos na próstata, favorecendo a inflamação, de forma semelhante à finasterida. Estes dados nos trazem um alerta quanto à relevância e necessidade de maiores investimentos para o entendimento quanto às ações do minoxidil oral na próstata, que devem ser avaliadas com cautela. Sabe-se que a inflamação prostática pode ter consequências na funcionalidade da glândula, onde este ambiente inflamado resulta em alterações nos componentes do fluido prostático prejudicando a qualidade do sêmen e, conseqüentemente, a fertilidade (Alshahrani et al., 2013; Verze et al., 2016). Adicionalmente, a inflamação tem sido relacionada intimamente com o desenvolvimento das desordens proliferativas da próstata (Sfanos & De Marzo, 2011; Kaya et al., 2017; Castro et al., 2021; Oseni et al., 2023).

A diferenciação da próstata e a manutenção de sua secreção são intimamente influenciadas pelo estroma prostático, por meio da interação epitélio-mesenquimal (Cunha, 2008). Nesse sentido, justifica-se a necessidade de analisar componentes estromais, como as fibras colágenas, que desempenham importância estrutural e morfogênica na matriz tecidual, além do colágeno ser a proteína mais abundante nos mamíferos (Burns-Cox et al., 2001; Iwasaki et al., 2012). Os colágenos tipo I e tipo III estão entre os tipos mais comuns encontrados no estroma prostático (Vilamaior et al., 2000), justificando a escolha destas proteínas estruturas para a investigação neste trabalho.

Os andrógenos têm relação direta com o conteúdo de colágeno na próstata (Müntzing, 1980). Shen et al (2023) propuseram a supressão de receptores de andrógenos como um dos mecanismos do minoxidil oral. Dessa forma, podemos supor que os animais que receberam o medicamento teriam uma resposta reduzida aos andrógenos circulantes, o que afetaria a biologia das células epiteliais e estromais, e, conseqüentemente, as fibras colágenas. Porém, a síntese e a

degradação destes componentes não foram alteradas estatisticamente. Nossos dados não apresentaram diferenças no percentual de colágeno tipo I e tipo III quando comparados com o grupo controle, tampouco no colágeno total dos animais experimentais nos dois períodos de exposição, em ambos os lobos analisados. Mudanças referentes à quantidade destes componentes poderiam causar alteração na histoarquitetura da próstata e, certamente, na fisiologia do órgão.

Diferentemente, Aquino et al (2019) encontraram diminuição na quantidade de colágeno no estroma prostático após administração de arsenito de sódio, composto capaz de reduzir a resposta androgênica da glândula, tal como o minoxidil. Mariotti & Mawhinney (1981) observaram que a castração foi capaz de promover o declínio na síntese de colágeno da próstata e da vesícula seminal. Por outro lado, Corradi et al (2004) constataram um acúmulo de colágeno ao redor dos ácinos prostáticos após tratamento com 100 mg/kg de finasterida.

Em nosso estudo, era de se esperar um aumento das fibras no grupo que recebeu finasterida, uma vez que o medicamento promove a redução da atividade das metaloproteinases da matriz, enzimas envolvidas na degradação das moléculas de colágeno (Moroz et al., 2013; Delella et al., 2017), ocasionando, assim, aumento na quantidade das fibras após o tratamento. Por outro lado, em relação ao minoxidil era esperado um declínio, como já observado por Lachgar et al (1996), que mostraram a ação do minoxidil capaz de suprimir a síntese de colágeno na papila dérmica de vibrissas de ratos. Além disso, Murad & Pinnell (1987) demonstraram a produção de um colágeno deficiente em culturas de fibroblastos de pele humana após administração do medicamento. Em relação à quantificação das fibras na próstata, após o uso de minoxidil oral, nossa pesquisa é precursora e mais estudos precisam ser realizados para ajudar a defender como esta droga poderia ou não ocasionar alteração no conteúdo de colágeno da matriz.

A utilização de medicamentos é apenas um dos diversos fatores que podem afetar os níveis de antioxidantes celulares (Machlin, 1992; Roe, 1992). Os andrógenos, por sua vez, são reguladores da atividade das enzimas antioxidantes (Rzeszotek et al., 2022) e, por isso, torna-se útil avaliar os efeitos que as drogas, comumente relacionadas às vias antiandrogênicas, causam no estado oxidativo. Assim, o complexo de defesa enzimático ao estress oxidativo, constituído por glutathiona peroxidases (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), tem papel essencial para as células no ataque aos radicais livres resultantes do

metabolismo oxidativo (Kolasa et al., 2008). O estresse oxidativo é uma condição que ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres (EROs e espécies reativas de nitrogênio - ERNs) e a capacidade do organismo de neutralizá-los, por meio das defesas antioxidantes (Sies, 2015). Portanto, fatores fisiológicos, como desequilíbrios endócrino e nutricional; condições ambientais, como exposição a radiações e poluentes, e agentes farmacológicos, podem comprometer a capacidade do corpo de controlar os danos oxidativos (Deavall et al., 2012; Goodwin & Christofidou-Solomidou, 2018). A função reprodutiva masculina é prejudicada por esse estresse, pois já foi demonstrado que até 80% dos homens inférteis apresentam níveis expressivos de EROs no seu sêmen (Aitken & Curry, 2011; Agarwal & Bui, 2017).

As enzimas antioxidantes, como a SOD e a CAT, funcionam em conjunto na prevenção de danos oxidativos. A SOD converte o radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular e, mesmo sendo menos reativo que o superóxido, o acúmulo de peróxido de hidrogênio ainda pode trazer efeitos nocivos às estruturas celulares, sendo posteriormente convertido a oxigênio e água pela CAT (Chelikani et al., 2004; Hermes-Lima, 2005; Kumar & Clair, 2021). O aumento da atividade da SOD já foi relacionado com o efeito protetor em tumores prostáticos, pois se a atividade for reduzida, pode resultar em acúmulo de superóxido, que causa efeitos deletérios no tecido (Gate et al., 1990; Kumar & Clair, 2021). Embora o acúmulo de EROs esteja associado a patologias, altos níveis das enzimas antioxidantes também podem representar indícios (Moloney & Cotter, 2018). Nosso estudo relatou aumento da atividade de SOD no grupo F5,0 (42 dias). Corroborando com nossos achados, Kolasa et al (2008) mostraram que a administração de finasterida foi capaz de aumentar a SOD extracelular em outros órgãos reprodutivos, como no epidídimo de ratos Wistar. Podemos especular, com o aumento desta atividade enzimática, que houve uma tentativa de neutralizar os radicais livres e seus potenciais efeitos deletérios. Os níveis de CAT não apresentaram alteração em nosso estudo, porém já foi demonstrado que o uso de finasterida foi capaz de diminuir a atividade dessa enzima no testículo de modelos murinos (Shalaby et al., 2020). A GST atua no metabolismo da detoxificação celular, além da defesa à peroxidação lipídica (Hayes et al., 2005). Sua atividade reduzida poderia nos sugerir esgotamento do sistema de defesa antioxidante que buscou reduzir o acúmulo de EROs, embora não tenha havido diferenças expressivas em nossos achados.

O malondialdeído (MDA) é um produto da peroxidação lipídica e importante marcador de dano oxidativo (Rahal et al., 2014). O aumento expressivo da concentração de MDA indica uma possível formação de lipídeos peroxidados no complexo prostático dos animais tratados com finasterida, por 42 dias, e minoxidil na maior dose, por 84 dias. A próstata pode sofrer diferentes danos a partir do aumento de MDA (Shabani et al., 2021). O poder antioxidante reduzido e o aumento da peroxidação lipídica foram observados por Laur et al (2008) associados a diferentes doenças prostáticas. Esses dados nos ajudam a entender que o aumento de MDA constatado em nossos resultados pode induzir mudanças nas propriedades físico-químicas da membrana celular, alterando sua fluidez e permeabilidade (Vendermiale et al., 1999), o que certamente acometeria a saúde reprodutiva da próstata. A peroxidação lipídica causada por EROs pode contribuir, ainda, para a morte celular (Ferreira & Matsubar, 1997), e esta condição foi observada em nossa pesquisa, podendo ser o aumento deste marcador uma das causas para os achados de células apoptóticas. Embora não tenha sido expressivo em todos os grupos, os níveis de MDA foram maiores nos animais que receberam o tratamento quando comparado com o controle, fortalecendo nossa hipótese. Ainda que grandes alterações morfológicas não tenham sido observadas nos grupos Minoxidil, o aumento de MDA nos animais que receberam a maior dose (M7,5) por 84 dias pode ser indícios de dano tecidual, uma vez que se trata de um importante marcador de efeitos deletérios ao tecido. É importante considerar, ainda, que as alterações moleculares antecedem as alterações morfológicas. O tratamento com 3,1 mg/kg de finasterida também foi capaz de aumentar os níveis de MDA em testículos de ratos Wistar (Olayinka & Adewole, 2020), atestando o efeito danoso às membranas lipídicas em outros órgãos reprodutivos.

Adicionalmente, o acúmulo de proteínas carboniladas (PC) também apresenta um importante papel como marcador de estresse oxidativo, podendo causar danos à atividade mitocondrial e ao processo de transcrição da célula por meio da oxidação de resíduos de lisina, arginina, prolina e treonina (Hauck et al., 2018). Em nosso estudo, os níveis de PC não foram alterados nos tratamentos com finasterida e minoxidil. Os níveis de outro marcador de estresse, o óxido nítrico (ON), aumentou nos grupos F5,0 (42 dias) e M5,0 e M7,5 (84 dias). Seu papel vasodilatador é importante em pequenas doses, porém sabe-se que o acúmulo do radical pode ser prejudicial para os constituintes celulares (Droge, 2002) e os níveis elevados podem nos sugerir problemas funcionais na glândula. Várias vias de sinalização de processos

inflamatórias são reguladas por ON, como o recrutamento de células para locais de inflamação e a indução de apoptose (Andrabi et al., 2023). Essas ideias são consistentes com os nossos achados de infiltrado inflamatório, aumento de mastócitos e células apoptóticas, embora o estresse nitrosativo não tenha sido expressivo em todos os grupos que receberam os medicamentos e apresentaram essas condições histológicas.

De fato, a administração do minoxidil foi capaz de causar alterações em parâmetros importantes da próstata. Essas mudanças nos sugerem perturbações na integridade e no funcionamento da glândula, podendo ocasionar futuros danos na fertilidade masculina. Mais estudos acerca dessa temática são necessários, como a avaliação dos efeitos que o uso destes medicamentos pode causar em outros órgãos, a fim de compreender e elucidar os mecanismos de ação das drogas, bem como contribuir na promoção de outras alternativas terapêuticas seguras para o tratamento da alopecia. Assim, é essencial a busca por uma compreensão global dos efeitos que o minoxidil oral pode causar, sobretudo, na reprodução humana.

7. CONCLUSÕES

Nossos resultados indicam que o uso de minoxidil oral foi capaz de causar modificações moleculares e, conseqüentemente, na histoarquitetura do complexo prostático de camundongos Balb/C. Entre as mais comuns foram atrofia epitelial, presença de infiltrados inflamatórios, aumento no número de mastócitos e estresse oxidativo, com alta evidência de marcador de dano lipídico após administração do medicamento. Porém, os efeitos morfológicos foram menos acentuados nos animais que receberam minoxidil quando comparados com aqueles que receberam finasterida, comprovando os efeitos deletérios da droga. Dessa forma, foi de grande importância a presença de um grupo controle positivo (finasterida), pois nos permitiu inferir que o uso de minoxidil ocasionou menos efeitos adversos na glândula, quando realizadas comparações das diferentes doses de minoxidil com o grupo que recebeu finasterida. De fato, nossa pesquisa pode contribuir para uma melhor compreensão dos efeitos que estas drogas causam nos órgãos reprodutivos e, conseqüentemente, na fertilidade masculina. De modo geral, nossos dados revelam que as diferenças no tempo de exposição não foram importantes para o agravamento das alterações morfológicas, tampouco as diferentes doses do medicamento, embora o aumento de

MDA no grupo que recebeu a maior dose de minoxidil tenha sido expressivo, nos permitindo inferir que alterações moleculares poderiam anteceder novas mudanças no perfil morfológico da glândula em um período de exposição maior que a utilizada neste trabalho. O estudo sobre o uso de antiandrogênicos, como a finasterida, pode ser útil para elucidar a relevância dos andrógenos na manutenção funcional da próstata e certificar que, como mostrado em nossos resultados, o uso destes medicamentos afeta a integridade do órgão. Dessa forma, os indivíduos propensos à alopecia androgenética, sobretudo os mais jovens, que buscam por essas opções de tratamento, merecem e precisam reconhecer a importância da melhor escolha terapêutica para prevenir danos reprodutivos no futuro.

REFERÊNCIAS

- Agarwal, A., Bui, A. D. 2017. Oxidation-reduction potential as a new marker for oxidative stress: Correlation to male infertility. *Investigative and Clinical Urology*, 58(6), 385–399. doi: 10.4111/icu.2017.58.6.385
- Aires, M. M. 2012. *Fisiologia*. 4 ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 1352 p.
- Aitken, R. 1997. Molecular mechanisms regulating human sperm function. *Molecular Human Reproduction*, 3(3), 169-179. doi:10.1093/molehr/3.3.169
- Aitken, R. J., Curry, B. J. 2011. Redox Regulation of Human Sperm Function: From the Physiological Control of Sperm Capacitation to the Etiology of Infertility and DNA Damage in the Germ Line. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(3), 367–381. doi:10.1089/ars.2010.3186
- Alshahrani, S., McGill, J., Agarwal, A. 2013. Prostatitis and male infertility. *Journal of Reproductive Immunology*, 100(1), 30–36. doi:10.1016/j.jri.2013.05.004
- Andrabi, S. M., Sharma, N. S., Karan, A., Shahriar, S. M. S., Cordon, B., Ma, B., Xie, J. 2023. Nitric Oxide: Physiological Functions, Delivery, and Biomedical Applications. *Advanced Science (Weinh)*, 10(30), 1–38. doi: 10.1002/advs.202303259
- Andriole, G. L., Humphrey, P., Ray, P., Gleave, M. E., Trachtenberg, J., Thomas, L. N., Rittmaster, R. S. 2004. Effect Of The Dual 5 α -Reductase Inhibitor Dutasteride On Markers Of Tumor Regression In Prostate Cancer. *The Journal of Urology*, 172(3), 915–919. doi:10.1097/01.ju.0000136430.37245.b9
- Aquino, A. M., Salata, G. C., Pinho, C. F., de Freitas, A. T. A. G., Périco, L. L., de Lion Siervo, G. E. M., Scarano, W. R. 2019. Arsenic exposure during prepuberty alters prostate maturation in pubescent rats. *Reproductive Toxicology*, 89(2019), 136-144. doi:10.1016/j.reprotox.2019.07.010

Asfour, L., Cranwell, W., Sinclair, R. 2023. Male Androgenetic Alopecia. Endotext [Internet]. South Dartmouth, 25 jan 2023.

Aumüller, G., Adler, G., 1979. Experimental studies of apocrine secretion in the dorsal prostate epithelium of the rat. *Cell and Tissue Research*, 198, 145-58. doi:10.1007/bf00234842

Badri, T., Nessel, T. A., Kumar, D. D., 2020. Minoxidil. In: StatPearls. StatPearls Publishing; Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482378/>

Banerjee, P. P., Banerjee, S., Brown, T. R., Zirkin, B. R. 2018. Androgen action in prostate function and disease. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, v. 6, n. 2, p. 62.

Banerjee, S., Banerjee, P. P., Brown, T. R. 2000. Castration-Induced Apoptotic Cell Death in the Brown Norway Rat Prostate Decreases as a Function of Age1. *Endocrinology*, 141(2), 821–832. doi:10.1210/endo.141.2.7339

Bartsch, G., Rittmaster, R. S., Klocker, H., 2000. Dihydrotestosterone and the Concept of 5 α -Reductase Inhibition in Human Benign Prostatic Hyperplasia. *European Urology*, 37(4), 367–380. doi:10.1159/000020181

Batrinis, M. L., 2014. The endocrinology of baldness. *Hormones*, 13(2), 197–212. doi:10.1007/bf03401334

Bearely, P., Avellino, G. J. 2021. The role of benign prostatic hyperplasia treatments in ejaculatory dysfunction. *Fertility and Sterility*, 116(3), 611–617. doi:10.1016/j.fertnstert.2021.07.1199

Beghdadi, W. 2011. Mast cells as cellular sensors in inflammation and immunity. *Frontiers in Immunology*, 2(37), 1-15. doi:10.3389/fimmu.2011.00037

Ben-Batalla, I., Vargas-Delgado, M. E., von Amsberg, G., Janning, M., Loges, S. 2020. Influence of Androgens on Immunity to Self and Foreign: Effects on Immunity and Cancer. *Frontiers in Immunology*, 11, 1184. doi:10.3389/fimmu.2020.01184

Bowman, C. J., Barlow, N. J., Turner, K. J., Wallace, D. G., Foster, P. M. D. 2003. Effects of in Utero Exposure to Finasteride on Androgen-Dependent Reproductive Development in the Male Rat. *Toxicological Sciences*, 74(2), 393–406. doi:10.1093/toxsci/kfg128

Buege, J. A., Aust, S. D. 1978. Microsomal lipid peroxidation methods. *Methods in Enzymology*, vol. 2, p. 302–310.

Buhl, A. E., Waldon, D. J., Baker, C. A., Johnson, G. A. 1990. Minoxidil Sulfate Is the Active Metabolite that Stimulates Hair Follicles. *Journal of Investigative Dermatology*, 95(5), 553–557. doi:10.1111/1523-1747.ep12504905

Burns-Cox, N., Avery, N. C., Gingell, J. C., Bailey, A. J. 2001. Changes In Collagen Metabolism In Prostate Cancer: A Host Response That May Alter Progression. *The Journal of Urology*, 166(5), 1698–1701. doi:10.1016/s0022-5347(05)65656-x

Burroway, B., Griggs, J., Tosti, A. 2019. Alopecia Totalis and Universalis Long-term Outcomes: a Review. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 34(4), 709-715. doi:10.1111/jdv.15994

Busetto, G. M., Del Giudice, F., D'Agostino, D., Romagnoli, D., Minervini, A., Rocco, B., Antonelli, A., Celia, A., Schiavina, R., Cindolo, L., Chung, B. I., Kim, J. H., Maggi, M., Sciarra, A., De Berardinis, E., Porreca, A. 2020. Efficacy and safety of Finasteride (5 alpha-reductase inhibitor) monotherapy in patients with benign prostatic hyperplasia: A critical review of the literature. *Archivio Italiano Di Urologia e Andrologia*, 91(4), 205–210. doi:10.4081/aiua.2019.4.205

Cai, Z., Li, H., 2020. An Updated Review: Androgens and Cognitive Impairment in Older Men. *Frontiers in Endocrinology*, 11. doi:10.3389/fendo.2020.586909

Campese, V. M. 1981. Minoxidil: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use. *Drugs*, 22, 257–278. doi:10.2165/00003495-198122040-00001

Campolina-Silva, G. H., Barata, M. C., Werneck-Gomes, H., Maria, B. T., Mahecha, G. A. B., Belleannée, C., Oliveira, C. A. 2021. Altered expression of the vitamin D metabolizing enzymes CYP27B1 and CYP24A1 under the context of prostate aging and pathologies. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 209, 105832. doi:10.1016/j.jsbmb.2021.105832

Carreau, S., Lambard, S., Delalande, C., Denis-Galeraud, I., Bilinska, B., Bourguiba, S., 2003. Aromatase expression and role of estrogens in male gonad: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1(1), 35. doi:10.1186/1477-7827-1-35

Carreño-Orellana, N., Moll-Manzur, C., Carrasco-Zuber, J. E., Álvarez-Véliz, S., Berroeta-Mauriziano, D., Porrás-Kusmanic, N. 2016. Efectos adversos de finasteride: mitos y realidades. Una revisión actualizada. *Revista Médica de Chile*, 144(12), 1584–1590. doi:10.4067/s0034-98872016001200010

Carvalho, C. A. F., Pissolato, M., Candido, E. M., Liberti, E. A., Cagnon, V. H. A., 2012. Morphological alterations in the prostate stroma of rats submitted to chronic nicotine treatment. *Microscopy Research and Technique*, 75(1), 46–53. doi:10.1002/jemt.21023

Cash, T. F. 1992. The psychological effects of androgenetic alopecia in men. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 26(6), 926–931. doi:10.1016/0190-9622(92)70134-2

Castro, N. F. da C., Jubilato, F. C., Guerra, L. H. A., Santos, F. C. A. dos, Taboga, S. R., Vilamaior, P. S. L. 2021. Therapeutic effects of β -caryophyllene on proliferative disorders and inflammation of the gerbil prostate. *The Prostate*, 81(12), 812–824. doi:10.1002/pros.24177

Cather J., Lane D., Heaphy M., Nelson B. 1999. Finasteride: An update and review. *Cutis*, 64, 167–172.

Chalabi, S., Easton, R. L., Patankar, M. S., Lattanzio, F. A., Morrison, J. C., Panico, M., Morris, H. R., Dell, A., Clark, G. F. 2002. The expression of free oligosaccharides in human seminal plasma. *Journal of Biological Chemistry*, 277(36), 32562-32570. doi:10.1074/jbc.m205152200

Chan, L., O'Malley, B. W. 1976. Mechanism of Action of the Sex Steroid Hormones (First of Three Parts). *New England Journal of Medicine*, 294(24), 1322–1328. doi: 10.1056/nejm197606102942405

Chelikani, P., Fita, I., Loewen, P. C. 2004. Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(2), 192–208. doi:10.1007/s00018-003-3206-5

Chen, Y., Dong, X., Wang, Y., Li, Y., Xiong, L., Li, L. 2023. Serum 25 hydroxyvitamin D in non-scarring alopecia: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 23(4), 1131-1140. doi: 10.1111/jocd.16093

Choi, B. Y., 2020. Targeting Wnt/ β -Catenin Pathway for Developing Therapies for Hair Loss. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 4915. doi:10.3390/ijms21144915

Chung, B. I., Sommer, G., Brooks, J. D. 2012. Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. In: Wein AJ, editor-in-chief; Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. *Campbell-Walsh Urology*. 10 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; p. 33-70.

Coimbra, J. L. P., Campolina-Silva, G., Lair, D. F., Guimarães-Ervilha, L. O., Souza, A. C.F., Oliveira, C. A., Costa, G. M. J., Machado-Neves, M. 2024. Subchronic intake of arsenic at environmentally relevant concentrations causes histological lesions and oxidative stress in the prostate of adult Wistar rats. *Reproductive Toxicology*. 128, 108647. doi: 10.1016/j.reprotox.2024.108647

Coleman, R. 2011. Picrosirius red staining revisited. *Acta Histochemica*, 113(3), 231–233. doi:10.1016/j.acthis.2010.02

Cormack, D., H. 2003. Sistema Reprodutor Masculino. In: Cormack DH, editor. *Fundamentos de Histologia*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 335-48.

Corona, G., Tirabassi, G., Santi, D., Maseroli, E., Gacci, M., Dicuio, M., Sforza, A., Mannucci, E., Maggi, M. 2017. Sexual dysfunction in subjects treated with inhibitors of 5 α -reductase for benign prostatic hyperplasia: a comprehensive review and meta-analysis. *Andrology*, 5(4), 671–678. doi:10.1111/andr.12353

Corona, G., Vignozzi, L., Rastrelli, G., Lotti, F., Cipriani, S., Maggi, M., 2014. Benign Prostatic Hyperplasia: A New Metabolic Disease of the Aging Male and Its Correlation with Sexual Dysfunctions. *International Journal of Endocrinology*, 1–14. doi:10.1155/2014/329456

Corradi, L. S., Carvalho, H. F., Góes, R. M., Taboga, S. R. 2004. Inhibition of 5- α -reductase activity induces stromal remodeling and smooth muscle de-differentiation in adult gerbil ventral prostate. *Differentiation*, 72(5), 198–208. doi:10.1111/j.1432-0436.2004.07205004.x

Corradi, L. S., Góes, R. M., Vilamaior, P. S. L., Taboga, S. R. 2009. Increased androgen receptor and remodeling in the prostatic stroma after the inhibition of 5-alpha reductase and aromatase in gerbil ventral prostate. *Microscopy Research and Technique*, 72(12), 939–950. doi:10.1002/jemt.20740

Cox, G., Austin, R. C. 1997. Dexamethasone-induced suppression of apoptosis in human neutrophils requires continuous stimulation of new protein synthesis. *Journal of Leukocyte Biology*, 61(2), 224–230. doi:10.1002/jlb.61.2.224

Cunha, G. R. 2008. Mesenchymal–epithelial interactions: past, present, and future. *Differentiation*, 76(6), 578–586. doi:10.1111/j.1432-0436.2008.00290.x

Cunha, G. R., Donjacour, A. A., Cooke, P. S., Mee, H., Bigsby, R. M., Higgins, S. J., Sugimura, Y. 1987. The Endocrinology and Developmental Biology of the Prostate. *Endocrine Reviews*, 8(3), 338–362. doi:10.1210/edrv-8-3-338.

Dahiya, V., Bagchi, G. 2022. Non-canonical androgen signaling pathways and implications in prostate cancer. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Cell Research*, 1869(12), 119357. doi: 10.1016/j.bbamcr.2022.119357

De Nunzio, C., Aronson, W., Freedland, S. J., Giovannucci, E., Parsons, J. K. 2012. The Correlation Between Metabolic Syndrome and Prostatic Diseases. *European Urology*, 61(3), 560–570. doi:10.1016/j.eururo.2011.11.013

Deavall, D. G., Martin, E. A., Horner, J. M., Roberts, R. 2012. Drug-Induced Oxidative Stress and Toxicity. *Journal of Toxicology*, 1–13. doi:10.1155/2012/645460

Delella, F. K., de Almeida, F. L. A., Nunes, H. C., Rinaldi, J. C., Felisbino, S. L. 2017. Fibrillar collagen genes are not coordinately upregulated with TGF β 1 expression in finasteride-treated prostate. *Cell Biology International*, 41(11), 1214–1222. doi:10.1002/cbin.10787

Demirci-Çekiç, S., Özkan, G., Avan, A. N, Uzunboy, S., Çapanoğlu, E., Apak, R. 2022. Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 5, 209, 114477. doi: 10.1016/j.jpba.2021.114477

Desai, K. V., Michalowska, A. M., Kondaiah, P., Ward, J. M., Shih, J. H., Green, J. E. 2004. Gene Expression Profiling Identifies a Unique Androgen-Mediated Inflammatory/Immune Signature and a PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome 10)-Mediated Apoptotic Response Specific to the Rat Ventral Prostate. *Molecular Endocrinology*, 18(12), 2895–2907. doi:10.1210/me.2004-0033

Devjani, S., Ezemma, O., Kelley, K. J., Stratton, E., Senna, M. 2023. Androgenetic Alopecia: Therapy Update. *Drugs*, 83(8), 701-715. doi: 10.1007/s40265-023-01880-x

Dhurat, R., Sharma, A., Rudnicka, L., Kroumpouzou, G., Kassir, M., Galadari, H., Wollina, U., Lotti, T., Golubovic, M., Binic, I., Grabbe, S., Goldust, M. 2020. 5-alpha Reductase Inhibitors in Androgenetic Alopecia: Shifting Paradigms, Current Concepts, Comparative Efficacy and Safety. *Dermatologic Therapy*. doi:10.1111/dth.13379

Di Zazzo, E., Galasso, G., Giovannelli, P., Di Donato, M., Castoria, G. 2018. Estrogens and Their Receptors in Prostate Cancer: Therapeutic Implications. *Frontiers in Oncology*, 8. doi:10.3389/fonc.2018.00002

Dieterich, S., Bielick, U., Beulich, K., Hasenfuss, G., Prestle, J. 2000. Expressão gênica de enzimas antioxidantes no coração humano: aumento da expressão da catalase no coração com insuficiência terminal. *Circulation*, 101(1), 33–39. doi:10.1161/01.cir.101.1.33

Driscoll, S. G., Taylor, S. H. 1980. Effects of the prenatal maternal estrogen on the male urogenital system. *Obstetrics Gynecology*. 56, 537–542. PMID: 7432722.

Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95. doi: 10.1152/physrev.00018.2001

Dusse, L. M. S., Vieira, L. M., Carvalho, M. das G. 2003. Revisão sobre óxido nítrico. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 39(4). doi:10.1590/s1676-24442003000400012

Ebner, H., Müller, E., 1995. Allergic contact dermatitis from minoxidil. *Contact Dermatitis*, 32(5), 316–317. doi:10.1111/j.1600-0536.1995.tb00798.x

El-Alfy, M., Pelletier, G., Hermo, LS, Labrie, F. 2000. Unique Features of the Basal Cells of Human Prostate Epithelium. *Microscopy Research and Technique*, 51(5), 436–446. doi:10.1002/1097-0029(20001201)51:5<436::aid-jemt6>3.0.co;2-t

Ellem, S. J., Risbridger, G. P., 2007. Treating prostate cancer: a rationale for targeting local oestrogens. *Nature Reviews Cancer*, 7(8), 621–627. doi:10.1038/nrc2174

Ellem, S. J., Risbridger, G. P., 2009. The Dual, Opposing Roles of Estrogen in the Prostate. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1155(1), 174–186. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04360.x

Fernandez, C. D. B., Porto, E. M., Arena, A. C., Kempinas, W. D. G. 2008. Effects of altered epididymal sperm transit time on sperm quality. *International Journal of Andrology*, 31(4), 427–437. doi:10.1111/j.1365-2605.2007.00788.x

Ferreira, A. L. A., Matsubar, L. B., 1997. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 43 (1), 61–868.

Filomeni, G., De Zio, D., Cecconi, F., 2014. Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs. *Cell Death & Differentiation*, 22(3), 377–388. doi:10.1038/cdd.2014.150

França, L. R., Russell, L. D. 1998. The testis of domestic mammals. In: Martinez-Garcia, F. & Regadera, J. (eds). Male reproduction - a multidisciplinary overview. Madrid, Churchill Communications, 198- 219.

Francis, J. C., Swain, A. 2017. Prostate Organogenesis. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 8(7), a030353. doi:10.1101/cshperspect.a030353

Franck-Lissbrant, I., Häggström, S., Damber, J.-E., Bergh, A. 1998. Testosterone Stimulates Angiogenesis and Vascular Regrowth in the Ventral Prostate in Castrated Adult Rats. Endocrinology, 139(2), 451–456. doi:10.1210/endo.139.2.5683

Gangkak, G., Bhattar, R., Mittal, A., Yadav, S. S., Tomar, V., Yadav, A., Mehta, J., 2017. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in prostate and clinical correlation in men with benign prostatic hyperplasia. Investigative and Clinical Urology, 58(2), 117. doi:10.4111/icu.2017.58.2.117

Gartner, L. P., Hiatt, J. L. 2003. Sistema Reprodutor Masculino. In: Gartner LP, Hiatt JL, editors. Tratado de Histologia em Cores. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 401-18.

Gate, L., Paul, J., Nguyen, B. G., Tew, K. D., Tapiero, H. 1990. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. Biomedicine & Pharmacotherapy, 53, 169–80.

Gelse, K., 2003. Collagens—structure, function, and biosynthesis. Advanced Drug Delivery Reviews, 55(12), 1531–1546. doi:10.1016/j.addr.2003.08.002

Gerschenson, L. E., Rotello, R. J. 1992. Apoptosis: a different type of cell death. The FASEB Journal, 6(7), 2450–2455. doi:10.1096/fasebj.6.7.1563596

Golchin-Rad, K., Mogheiseh, A., Nazifi, S., Ahrari Khafi, M. S., Derakhshandeh, N., Abbaszadeh-Hasiri, M. 2020. Changes in the Serum Prostatic Biomarkers During the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia with a 5alpha-reductase Inhibitor: Finasteride. Topics in Companion Animal Medicine, 38, 100405. doi:10.1016/j.tcam.2020.100405

Gonçalves, B. F., de Campos, S. G. P., Zanetoni, C., Scarano, W. R., Falleiros, L. R., Amorim, R. L., Góes, R. M., Taboga, S. R. 2013. A New Proposed Rodent Model of Chemically Induced Prostate Carcinogenesis: Distinct Time-Course Prostate Cancer Progression in the Dorsolateral and Ventral Lobes. The Prostate, 73(11), 1202–1213. doi:10.1002/pros.22669

Goodwin, T., Christofidou-Solomidou, M., 2018. Oxidative Stress and Space Biology: An Organ-Based Approach. International Journal of Molecular Sciences, 19(4), 959. doi:10.3390/ijms19040959

Goth, L.A. 1991. Simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clinica Chimica Acta, 196, 143–152.

Grymowicz, M., Rudnicka, E., Podfigurna, A., Napierala, P., Smolarczyk, R., Smolarczyk, K., Meczekalski, B., 2020. Hormonal Effects on Hair Follicles. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5342. doi:10.3390/ijms21155342

Gupta, A. K., Talukder, M., Venkataraman, M., Bamimore, M. A. 2021. Minoxidil: a comprehensive review. *Journal of Dermatological Treatment*, 1–11. doi:10.1080/09546634.2021.1945527

Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139

Hadwan, M. H., Abed, H. N. 2016. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. *Data in Brief*, 6, 194–199.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. 1999. *Free radicals in biology and medicine*, 3rd ed. New York: Oxford University Press, 936p.

Hamilton, J. B., 1951. Quantitative measurement of a secondary sex character, axillary hair. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 53(3), 585–599. doi:10.1111/j.1749-6632.1951.tb31960.x

Handa, J. R., Price, R. H. 2000. Androgen Action. In: Fink, G., ed. *Encyclopedia of stress*. New York: Academic Press, 1, 183-188.

Harries, M. J., Paus, R. 2010. The Pathogenesis of Primary Cicatricial Alopecias. *The American Journal of Pathology*, 177(5), 2152–2162. doi:10.2353/ajpath.2010.100454

Hayashi, N., Sugimura, Y., Kawamura, J., Donjacour, A. A., Cunha, G. R. 1991. Morphological and Functional Heterogeneity in the Rat Prostatic Gland1. *Biology of Reproduction*, 45(2), 308–321. doi:10.1095/biolreprod45.2.308

Hayes, J. D., Flanagan, J. U., Jowsey, I. R. 2005. Glutathione Transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45(1), 51–88. doi:10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857

Hayward, S. W., Baskin, L. S., Haughney, P. C., Cunha, A. R., Foster, B. A., Dahiya, R., Prins, G. S., Cunha, G. R. 1996. Stromal Development in the Ventral Prostate, Anterior Prostate and Seminal Vesicle of the Rat. *Cells Tissues Organs*, 155(2), 94–103. doi:10.1159/000147794

Heath, A. C., Nyholt, D. R., Gillespie, N. A., Martin, N. G. 2003. Genetic Basis of Male Pattern Baldness. *Journal of Investigative Dermatology*, 121(6), 1561–1564. doi:10.1111/j.1523-1747.2003.12615.x

Hellström, M., Häggman, M., Brändstedt, S., de la Torre, M., Pedersen, K., Jarlsfeldt, I., Wijkstrom, H., Busch, C. 1993. Histopathological Changes in Androgen-Deprived Localized Prostatic Cancer. *European Urology*, 24(4), 461–465. doi:10.1159/000474350

Hermes-Lima, M. 2005. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals. *Functional Metabolism*, 319–368. doi:10.1002/047167558x.ch12

Hess, R. A. 2003. Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 52, 1-14. doi:10.1186/1477-7827-1-52

Hrycay, E. G., Bandiera, S. M. 2015. Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer. *Advances in Pharmacology*, 35–84. doi:10.1016/bs.apha.2015.03.003

Hsu, C.-L., Liu, J.-S., Lin, A.-C., Yang, C.-H., Chung, W.-H., Wu, W.-G., 2014. Minoxidil may suppress androgen receptor-related functions. *Oncotarget*, 5(8). doi:10.18632/oncotarget.1886

Hu, J., Zhang, Z., Shen, W.-J., Azhar, S. 2010. Cellular Cholesterol Delivery, Intracellular Processing and Utilization for Biosynthesis of Steroid Hormones. *Nutrition & Metabolism*, 7(1), 47. doi: 10.1186/1743-7075-7-47

Huynh, H., Alpert, L., Alaoui-Jamali, M. A., Ng, C. Y., Chan, T. W. 2001. Co-administration of finasteride and the pure antioestrogen ICI 182,780 act synergistically in modulating the IGF system in rat prostate. *Journal of Endocrinology*, 171, 109–118.

Irwig, M. S., Kolukula, S. 2011. Persistent Sexual Side Effects of Finasteride for Male Pattern Hair Loss. *The Journal of Sexual Medicine*, 8(6), 1747–1753. doi:10.1111/j.1743-6109.2011.02255.x

Ito, K., Fukabori, Y., Shibata, Y., Suzuki, K., Mieda, M., Gotanda, K., Honma, S., Yamanaka, H. 2000. Effects of a new steroidal aromatase inhibitor, TZA-2237, and/or chlormadinone acetate on hormone-induced and spontaneous canine benign prostatic hyperplasia. *European Journal of Endocrinology*, 143(4), 543–554. doi:10.1530/eje.0.1430543

Ittmann, M. 2017. Anatomy and Histology of the Human and Murine Prostate. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(5), a030346. doi:10.1101/cshperspect.a030346

Iwasaki, S., Yoshizawa, H., Aoyagi, H. 2012. Localization of type III collagen in the lingual mucosa of rats during the morphogenesis of circumvallate papillae. *Odontology*, 100, 10-21.

Jamerson, T. A., Aguh, C. 2021. An Approach to Patients with Alopecia. *Medical Clinics of North America*, 105(4), 599–610. doi:10.1016/j.mcna.2021.04.002

Jimenez-Cauhe, J., Saceda-Corralo, D., Rodrigues-Barata, R., Hermosa-Gelbard, A., Moreno-Arrones, O. M., Fernandez-Nieto, D., Vaño-Galvan, S., 2019. Effectiveness and safety of low-dose oral minoxidil in male androgenetic alopecia. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 81, 648-9. doi:10.1016/j.jaad.2019.04.054

Jimenez-Cauhe, J., Saceda-Corralo, D., Rodrigues-Barata, R., Moreno-Arrones, O. M., Ortega-Quijano, D., Fernandez-Nieto, D., Jaen-Olasolo, P., Vaño-Galvan, S. 2020.

Safety of low-dose oral minoxidil treatment for hair loss. A systematic review and pooled-analysis of individual patient data. *Dermatologic Therapy*, 33. doi:10.1111/dth.14106

Junqueira, L.C., Carneiro, J. 2013. Aparelho Reprodutor Masculino. In: Junqueira LC, Carneiro J, editors. *Histologia Básica*. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 411-26.

Kaiser, M., Abdin, R., Gaumont, S. I., Issa, N. T., Jimenez, J. J. 2023. Treatment of Androgenetic Alopecia: Current Guidance and Unmet Needs. *Clinical Cosmetic and Investigational Dermatology*, 31(16), 1387-1406. doi: 10.2147/CCID.S385861.

Kaliyadan, F., Nambiar, A., Vijayaraghavan, S. 2013. Androgenetic alopecia: An update. *Indian Journal of Dermatology Venereol Leprol*, 79(5), 613. doi:10.4103/0378-6323.116730

Kaufman, J. M., Vermeulen, A. 2005. The Decline of Androgen Levels in Elderly Men and Its Clinical and Therapeutic Implications. *Endocrine Reviews*, 26(6), 833–876. doi:10.1210/er.2004-0013

Kaya, E., Ozgok, Y., Zor, M., Eken, A., Bedir, S., Erdem, O., Ebiloglu, T., Ergin, G. 2017. Oxidative stress parameters in patients with prostate cancer, benign prostatic hyperplasia and asymptomatic inflammatory prostatitis: A prospective controlled study. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 26(7), 1095-1099. doi: 10.17219/acem/66837

Kerure, A. S., Patwardhan, N. 2018. Complications in Hair Transplantation. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 11(4), 182-189. doi: 10.4103/JCAS.JCAS_125_18

Khandrika, L., Kumar, B., Koul, S., Maroni, P., Koul, H. K. 2009. Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Letters*, 282(2), 125–136. doi:10.1016/j.canlet.2008.12.011

King, K. J., Nicholson, H. D., Assinder, S. J. 2006. Effect of increasing ratio of estrogen:androgen on proliferation of normal and human prostate stromal and epithelial cells and the malignant cell line LNCaP. *Prostate*, 66, 105–114. doi:10.1002/pros.20327

Kohen, R., Nyska, A., 2002. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620–650. doi:10.1080/01926230290166724

Kolasa, A., Marchlewicz, M., Adler, G., Ciechanowicz, A., Głabowski, W., Wiszniewska, B. 2008. Expression of E-SOD, GPX5 mRNAs and immunoexpression of Cu/ZnSOD in epididymal epithelial cells of finasteride-treated rats. *Andrologia*, 40(5), 303–311. doi:10.1111/j.1439-0272.2008.00858.x

Kollur, S. M., Pattankar, V. L., Hag, E. 2004. Mast cells in testicular lesions. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 109(3), 239–246. doi:10.3109/2000-1967-086

Korolyuk, M. A., Ivanova, L. I., Maiorova, I. G., Tokarev, V.E. 1988. A method for measuring catalase activity. *Laboratornoe Delo*, 1, 16–19.

Koyuturk, M., Yanardag, R., Bolkent, S., Tunali, S. 2006. Influence of combined antioxidants against cadmium induced testicular damage. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(3), 235–240. doi:10.1016/j.etap.2005.08.006

Kuiper, G. G., Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S. Gustafsson, J. A. 1996. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93, 5925-30. doi:10.1073/pnas.93.12.5925

Kumar, S., Clair, D. S. 2021. Radioresistance in Prostate Cancer: Focus on the Interplay between NF- κ B and SOD. *Antioxidants (Basel)*. 10(12), 1925. doi: 10.3390/antiox10121925.

Kumar, V. L., Majumder, P. K. 1995. Prostate gland: Structure, functions and regulation. *International Urology and Nephrology*, 27(3), 231–243. doi:10.1007/bf02564756

Laanani, M., Weill, A., Jollant, F., Zureik, M., Dray-Spira, R. 2023. Suicidal risk associated with finasteride versus dutasteride among men treated for benign prostatic hyperplasia: nationwide cohort study. *Scientific Reports*, 13(1), 5308. doi: 10.1038/s41598-023-32356-3.

Lachgar, S., Charvéron, M., Bouhaddioui, N., Neveux, Y., Gall, Y., Bonafé, J. L. 1996. Inhibitory effects of bFGF, VEGF and minoxidil on collagen synthesis by cultured hair dermal papilla cells. *Archives of Dermatological Research*, 288(8), 469–473. doi:10.1007/bf02505237

Lachgar, S., Charveron, M., Gall, Y., Bonafe, J. L. 1998. Minoxidil upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in human hair dermal papilla cells. *British Journal of Dermatology*, 138(3), 407–411. doi:10.1046/j.1365-2133.1998.02115.x

Largent, E. A. 2009. Going Off-label Without Venturing Off-Course. *Archives of Internal Medicine*, 169(19), 1745. doi:10.1001/archinternmed.2009.31

Laur, J. D. L., Abud, M., Fontana, C. L., Silva, J., Cisella, Y., Elizalde, R. P., Ortiz, A. 2008. Poder antioxidante y daño celular em el carcinoma de próstata. *Archivos Españoles de Urologia*, 61(5), 563-569.

Lee, C., Sensibar, J.A., Dudek, S.M., Hiipakka, R.A., Liao, S.T. 1990. Prostatic ductal system in rats: regional variation in morphological and functional activities. *Biology of Reproduction*, 43, 1079–1086. doi:10.1095/biolreprod43.6.1079

Levine, R. L., Williams, J. A., Stadtman, E. P., Shacter, E. 1994. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 233, 346–557.

Lewis, S. E. M., Boyle, P. M., McKinney, K. A., Young, I. S., Thompson, W. 1995. Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men. *Fertility and Sterility*, 64(4), 868–870. doi:10.1016/s0015-0282(16)57870-4

Li, Y., Ma, J., Qin, X. H., Hu, C. Y. 2022. The efficacy and safety of dutasteride and finasteride in patients with benign prostatic hyperplasia: a systematic review and meta-analysis. *Translational Andrology and Urology*, 11(3), 313-324. doi: 10.21037/tau-22-58.

Lolli, F., Pallotti, F., Rossi, A., Fortuna, M. C., Caro, G., Lenzi, A., Sansone, A., Lombardo, F. 2017. Androgenetic alopecia: a review. *Endocrine*, 57(1), 9–17. doi:10.1007/s12020-017-1280-y

Luo, J., Liu, X. 2012. Polo-like kinase 1, on the rise from cell cycle regulation to prostate cancer development. *Protein & Cell*, 3(3), 182–197. doi:10.1007/s13238-012-2020-y

Lynn, R., Kronic, A., 2010. Therapeutic Hotline: Treatment of androgenic alopecia with finasteride may result in a high grade prostate cancer in patients: fact or fiction? *Dermatologic Therapy*, 23(5), 544–546. doi:10.1111/j.1529-8019.2010.01358.x

Mandarim-de-Lacerda, C. A. 2003. Stereological tools in biomedical research. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 75(4), 469–486. doi:10.1590/s0001-37652003000400006

Mariotti, A., Mawhinney, M. 1981. Hormonal control of accessory sex organ fibromuscular stroma. *Prostate*, 2, 397-408.

Marker, P. C., Donjacour, A. A., Dahiya, R., Cunha, G. R. 2003. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Developmental Biology*, 253(2), 165–174. doi:10.1016/s0012-1606(02)00031-3

Marks, L. S., 2004. 5 α -reductase: history and clinical importance. *Reviews Urology*. 6, S11–S21.

Martinez-Jacobo, L., Villarreal-Villarreal, C. D., Ortiz-López, R., Ocampo-Candiani, J., Rojas-Martínez, A. 2018. Genetic and molecular aspects of androgenetic alopecia. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 84, 263-268. doi: 10.4103/ijdv.IJDVL_262_17

Maurer, M., Theoharides, T., Granstein, R. D., Bischoff, S. C., Bienenstock, J., Henz, B., Kovanen, A. M., Piliponsky, N., Kambe, H., Vliagoftis, F., Levi-Schaffer, M., Metz, Y., Miyachi, D., Befus, P., Forsythe, Y., Kitamura, S., Galli, S. 2003. What is the physiological function of mast cells? *Experimental Dermatology*, 12(6), 886–886. doi:10.1111/j.0906-6705.2003.0109a.x

Mella, J. M., Perret, M. C., Manzotti, M., Catalano, H. N., Guyatt, G. 2010. Efficacy and Safety of Finasteride Therapy for Androgenetic Alopecia. *Archives of Dermatological Research*, 146(10). doi:10.1001/archdermatol.2010.256

Messenger, A. G., Rundegren, J., 2004. Minoxidil: mechanisms of action on hair growth. *British Journal of Dermatology*, 150(2), 186–194. doi:10.1111/j.1365-2133.2004.05785.x

Messenger, A. G., 1993. The control of hair growth: An overview. *Journal of Investigative Dermatology*, 101(1), S4–S9. doi:10.1016/0022-202x(93)90494-3

Mingsan, M., Mengfan, P., Dandan, L., Zhengwang, Z., 2020. Effects of AiQingHua oil on microcirculation disturbance and alopecia mice model. *Journal of King Saud University – Science*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.03.023>

Moloney, J. N., Cotter, T. G. 2018. ROS signalling in the biology of cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 80, 50–64. doi:10.1016/j.semcdb.2017.05.023

Montironi, R., Valli, M., Fabris, G. 1996. Treatment of benign prostatic hyperplasia with 5-alpha-reductase inhibitor: morphological changes in patients who fail to respond. *Journal of Clinical Pathology*, 49(4), 324-8. doi: 10.1136/jcp.49.4.324

Morais-Santos, M., Nunes, A. E. B., Oliveira, A. G., Moura-Cordeiro, J. D., Mahecha, G. A. B., Avellar, M. C. W., Oliveira, C. A. 2015. Changes in Estrogen Receptor ER β (ESR2) Expression without Changes in the Estradiol Levels in the Prostate of Aging Rats. *Plos One*, 10(7). doi:10.1371/journal.pone.0131901

Morais-Santos, M., Werneck-Gomes. H., Campolina-Silva, G. H., Santos, L. C., Mahecha, G. A. B., Hess, R. A, Oliveira, C. A. 2018. Basal Cells Show Increased Expression of Aromatase and Estrogen Receptor α in Prostate Epithelial Lesions of Male Aging Rats. *Endocrinology*. 159(2), 723-732. doi: 10.1210/en.2017-00773

Mori, O., Uno, H., 1990. The Effect of Topical Minoxidil on Hair Follicular Cycles of Rats. *The Journal of Dermatology*, 17(5), 276–281. doi:10.1111/j.1346-8138.1990.tb01641.x

Moroz, A., Delella, F. K., Almeida, R., Lacorte, L. M., Fávaro, W. J., Deffune, E., Felisbino, S. L. 2013. Finasteride Inhibits Human Prostate Cancer Cell Invasion through MMP2 and MMP9 Downregulation. *Plos One*, 8(12), e84757. doi:10.1371/journal.pone.0084757

Motofei, I. G., Rowland, D. L., Tampa, M., Sarbu, M. I., Mitran, M. I., Mitran, C. I., Stoian, A. P., Diaconu, C. C., Paunica, S., Georgescu, S. R. 2019. Finasteride and Androgenic Alopecia; from Therapeutic Options to Medical Implications. *Journal of Dermatological Treatment*, 1–25. doi:10.1080/09546634.2019.1595507

Müntzing, J. 1980. Androgen and collagen as growth regulators of the rat ventral prostate. *The Prostate*, 1(1), 71–78. doi:10.1002/pros.2990010110

Murad, S., Pinnell, S. R. 1987. Suppression of fibroblast proliferation and lysyl hydroxylase activity by minoxidil. *Journal of Biological Chemistry*, 262. doi: 10.1016/S0021-9258(18)45304-5

Murtola, T. J., Gurel, B., Umbehr, M., Lucia, M. S., Thompson, I. M., Goodman, P. J., Kristal, A. R., Parnes, H. L., Lippman, S. M., Sutcliffe, S., Peskoe, S. B., Barber, J. R., Drake, C. G., Nelson, W. G., De Marzo, A. M., Platz, E. A. 2015. Inflammation in Benign Prostate Tissue and Prostate Cancer in the Finasteride Arm of the Prostate Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 25(3), 463–469. doi:10.1158/1055-9965.epi-15-0987

Nascimento, I. J. B., Harries, M., Rocha, V.B., Thompson, J. Y., Wong, C. H, Varkaneh, H. K, Guimarães, N. S, Rocha Arantes, A. J, Marcolino, M. S. 2020. Effect of Oral Minoxidil for Alopecia: Systematic Review. *International Journal of Trichology*. 12(4), 147-155. doi: 10.4103/ijt.ijt_19_20.

Nestor, M. S., Ablon, G., Gade, A., Han, H., Fischer, D. L., 2021. Treatment options for androgenetic alopecia: efficacy, side effects, compliance, financial considerations, and ethics. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 20, 3759-81. doi: 10.1111/jocd.14537

Nilsson, S., Gustafsson, J.-Å. 2000. Estrogen receptor transcription and transactivation Basic aspects of estrogen action. *Breast Cancer Research*, 2(5), 360-366. doi:10.1186/bcr81

Norwood, O. T., 1975. Male pattern baldness: classification and incidence. *Southern Medical Journal*, 68(11), 1359–1365. doi: 10.1097/00007611-197511000-00009

Noto, C. N, Hoft, S. G, DiPaolo, R. J. 2021. Mast Cells as Important Regulators in Autoimmunity and Cancer Development. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 12(9), 1-13 doi: 10.3389/fcell.2021.752350

Nuck, B. A., Fogelson, S. L., Lucky, A. W., 1987. Topical Minoxidil Does Not Act as an Antiandrogen in the Flank Organ of the Golden Syrian Hamster. *Archives of Dermatology*, 123(1), 59-61 doi:10.1001/archderm.1987.01660250065019

Olayinka, E. T., Adewole, K. E. 2020. In vivo and in silico evaluation of the ameliorative effect of hesperidin on finasteride-induced testicular oxidative stress in Wistar rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31(2), 81-89. doi:10.1080/15376516.2020.1831123

Oliveira, D. S. M., Dzinic, S., Bonfil, A. I., Saliganan, A. D., Sheng, S., Bonfil, R. D. 2016. The mouse prostate: a basic anatomical and histological guideline. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. doi:10.17305/bjbms.2016.917

Olsen, E. A., Whiting, D., Bergfeld, W., Miller, J., Hordinsky, M., Wanser, R., Zhang, P., Kohut, B. 2007. A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of a novel formulation of 5% minoxidil topical foam versus placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 57(5), 767–774. doi:10.1016/j.jaad.2007.04.012

Oseni, S. O., Naar, C., Pavlović, M., Asghar, W., Hartmann, J. X., Fields, G. B., Esiobu, N., Kumi-Diaka, J. 2023. The Molecular Basis and Clinical Consequences of Chronic Inflammation in Prostatic Diseases: Prostatitis, Benign Prostatic Hyperplasia, and Prostate Cancer. *Cancers (Basel)*. 15(12), 1-47. doi: 10.3390/cancers15123110

Otberg, N., Finner, A. M., Shapiro, J. 2007. Androgenetic Alopecia. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 36(2), 379–398. doi:10.1016/j.ecl.2007.03.004

Overstreet, J. W., Fuh, V. L., Gould, J., Howards, S. S., Lieber, M. M., Hellstrom, W., Shapiro, S., Carroll, P., Corfman, R. S., Petrou, S., Lewis, R., Toth, P., Shown, T., Roy, J., Jarow, J. P., Bonilla, J., Jacobsen, C. A., Wang, D. Z., Kaufman, K. D. 1999. Chronic Treatment With Finasteride Daily Does Not Affect Spermatogenesis Or Semen Production In Young Men. *The Journal of Urology*, 162(4), 1295–1300. doi:10.1016/s0022-5347(05)68270-5

Page, S.T. 2011. Physiologic role and regulation of intratesticular sex steroids. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 18, 217–223. doi:10.1097/med.0b013e328345d50e

Paithankar, J. G., Saini, S., Dwivedi, S., Sharma, A., Chowdhuri, D. K. 2021. Heavy metal associated health hazards: An interplay of oxidative stress and signal transduction. *Chemosphere*; 262, 128350. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128350.

Pakdel, F. 2023. The Role of Estrogen Receptors in Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(14), 1-3, 11354. doi: 10.3390/ijms241411354

Panchaprateep, R., Lueangarun, S. 2020. Efficacy and Safety of Oral Minoxidil 5 mg Once Daily in the Treatment of Male Patients with Androgenetic Alopecia: An Open-Label and Global Photographic Assessment. *Dermatology and Therapy*, 10(6), 1345–1357. doi:10.1007/s13555-020-00448-x

Parker, L. N., Lifrak, E. T., Odell, W. D. 1982. Lack of a gonadal or adrenal androgenic mechanism for the hypertrichosis produced by diazoxide, phenytoin and minoxidil. *Biochemical Pharmacology*, 31 (10), 1948–1950. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(82\)90505-6](https://doi.org/10.1016/0006-2952(82)90505-6).

Paus, R., Arck, P., Tiede, S. 2008. (Neuro-)endocrinology of epithelial hair follicle stem cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 288(1-2), 38–51. doi:10.1016/j.mce.2008.02.023

Pekmezci, E., Turko, M., 2017. Minoxidil acts as an antiandrogen: a study of 5 α -reductase type 2 gene expression in a human keratinocyte cell line. *Acta Dermatovenerol Croatica*, 25(4), 271. PMID: 30064598.

Pelletier, G. 2002. Effects of Estradiol on Prostate Epithelial Cells in the Castrated Rat. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 50(11), 1517–1523. doi:10.1177/002215540205001112

Pereira, A. F. J. R., Coelho, T. O. de A., 2020. Post-finasteride syndrome. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 95(3), 271-277. doi:10.1016/j.abd.2020.02.001

Potts, J. M., Sharma, R., Pasqualotto, F., Nelson, D., Hall, G., Agarwal, A. 2000. Association of ureaplasma urealyticum with abnormal reactive oxygen species levels and absence of leukocytospermia. *Journal of Urology*, 163(6), 1775-8. doi: 10.1016/S0022-5347(05)67540-4.

- Prahalada, S., Rhodes, L., Grossman, S. J., Heggan, D., Keenan, K. P., Cukierski, M. A., Hoe, C. M., Berman, C., van Zwieten, M. J. 1998. Morphological and hormonal changes in the ventral and dorsolateral prostatic lobes of rats treated with finasteride, a 5-Alpha reductase Inhibitor. *The Prostate*, 35(3), 157–164. doi:10.1002/(sici)1097-0045(19980515)35:3<157::aid-pros1>3.0.co;2-e
- Prins, G. S., Korach, K. S. 2008. The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease. *Steroids*, 73(3), 233–244. doi:10.1016/j.steroids.2007.10.013
- Prins, G. S., Lindgren, M. 2015. Accessory Sex Glands in the Male. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 773–804. doi:10.1016/b978-0-12-397175-3.00018-1
- Prins, G., Birch, L., Tang, W., Ho, S., 2007. Developmental estrogen exposures predispose to prostate carcinogenesis with aging. *Reproductive Toxicology*, 23(3), 374–382. doi:10.1016/j.reprotox.2006.10.001
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., Dhama, K. 2014. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*, 1-19. doi: 10.1155/2014/761264
- Ramírez-Marín, H. A., Tosti, A., 2022. Role of Oral Minoxidil in Patterned Hair Loss. *Indian Dermatology Online Journal*, 13(6), 729-733. doi: 10.4103/idoj.idoj_246_22
- Ramsamy, K., Subramaniyan, R., Patra, A. K. 2016. An observational Study of the Association between Androgenetic Alopecia and Size of the Prostate. *International Journal of Trichology*, 8(2), 62-6. doi: 10.4103/0974-7753.188034
- Randall, V. A. 2008. Androgens and hair growth. *Dermatologic Therapy*, 21(5), 314–328. doi:10.1111/j.1529-8019.2008.00214.x
- Randolph, M., Tosti, A. 2020. Oral minoxidil treatment for hair loss: A review of efficacy and safety. *Journal of the American Academy of Dermatology*. doi:10.1016/j.jaad.2020.06.1009
- Ricart-Jané, D., Llobera, M., López-Tejero, D. 2002. Anticoagulants and other preanalytical factors interfere in plasma nitrate/nitrite quantification by the Griess method. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*, 6(2), 178–185.
- Rittmaster, R. S, Norman, R. W, Thomas, L. N, Rowden, G. 1996. Evidence for atrophy and apoptosis in the prostates of men given finasteride. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 81(2), 814-9. doi: 10.1210/jcem.81.2.8636309
- Robinson, J. 2016. Hair transplants: what to expect. WebMD. <https://www.webmd.com/skinproblems-and-treatments/hair-loss/men-hair-loss-17/hair-transplants>. Published. Accessed May 04, 2023.
- Rogers, N. E., Avram, M. R. 2008. Medical treatments for male and female pattern hair loss. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 59(4), 547–566. doi:10.1016/j.jaad.2008.07.001

Rossi, A., Cantisani, C., Scarnò, M., Trucchia, A., Fortuna, M. C., Calvieri, S., 2011. Finasteride, 1mg daily administration on male androgenetic alopecia in different age groups: 10-year follow-up. *Dermatologic Therapy*, 24(4), 455–461. doi:10.1111/j.1529-8019.2011.01441.x

Rubio, N., Coupienne, I., Di Valentin, E., Heirman, I., Grooten, J., Piette, J., Agostinis, P. 2012. Spatiotemporal autophagic degradation of oxidatively damaged organelles after photodynamic stress is amplified by mitochondrial reactive oxygen species. *Autophagy*, 8(9), 1312–24.

Rzeszotek, S., Kolasa, A., Pilutin, A., Misiakiewicz-Has, K., Sielatycka, K., Wiszniewska, B. 2022. The Interplay between Finasteride-Induced Androgen Imbalance, Endoplasmic Reticulum Stress, Oxidative Stress, and Liver Disorders in Paternal and Filial Generation. *Biomedicines*, 10(11), 2725. doi: 10.3390/biomedicines10112725

Saceda-Corralo, D., Moustafa, F., Moreno-Arrones, Ó., Jaén-Olasolo, P., Vañó-Galván, S., Camacho, F. 2022. Mesotherapy With Dutasteride for Androgenetic Alopecia: A Retrospective Study in Real Clinical Practice. *Journal of Drugs in Dermatology*, 21(7), 742-747. doi: 10.36849/JDD.6610

Santana, F. F. V., Lozi, A. A., Gonçalves, R. V., Da Silva, J., Da Matta, S. L. P., 2023. Comparative effects of finasteride and minoxidil on the male reproductive organs: A systematic review of in vitro and in vivo evidence. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1(478), 1-11, 116710. doi: 10.1016/j.taap.2023.116710

Santos, Z., Avci, P., Hamblin, M. R., 2015. Drug discovery for alopecia: gone today, hair tomorrow. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 10(3), 269–292. doi:10.1517/17460441.2015.1009892

Sato, T., Tadokoro, T., Sonoda, T., Asada, Y., Itami, S., Takayasu, S., 1999. Minoxidil increases 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase and 5 α -reductase activity of cultured human dermal papilla cells from balding scalp. *Journal of Dermatological Science*, 19 (2), 123–125. [https://doi.org/10.1016/s0923-1811\(98\)00048-6](https://doi.org/10.1016/s0923-1811(98)00048-6).

Sawaya, M. E., Price, V. H. 1997. Different Levels of 5 α -Reductase Type I and II, Aromatase, and Androgen Receptor in Hair Follicles of Women and Men with Androgenetic Alopecia. *Journal of Investigative Dermatology*, 109(3), 296–300. doi:10.1111/1523-1747.ep12335779

Semet, M., Paci, M., Saïas-Magnan, J., Metzler-Guillemain, C., Boissier, R., Lejeune, H., Perrin, J., 2017. The impact of drugs on male fertility: a review. *Andrology* 5 (4), 640–663. <https://doi.org/10.1111/andr.12366>.

Severi, G., Sinclair, R., Hopper, J. L., English, D. R., McCredie, M. R. E., Boyle, P., Giles, G. G. 2003. Androgenetic alopecia in men aged 40-69 years: prevalence and risk factors. *British Journal of Dermatology*, 149(6), 1207–1213. doi:10.1111/j.1365-2133.2003.05565.x

Sfanos, K. S., De Marzo, A. M. 2011. Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology*, 60(1), 199–215. doi:10.1111/j.1365-2559.2011.04033.x

Shabani, E., Kalantari, H., Kalantar, M., Goudarzi, M., Mansouri, E., Kalantar, H. 2021. Berberine ameliorates testosterone-induced benign prostate hyperplasia in rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 301. doi: 10.1186/s12906-021-03472-2

Shahsavari, A., Riley, C. A., Maughan, C. 2024. Graham-Little-Piccardi-Lasseur Syndrome. 2024 May 7. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 30726015.

Shalaby, A. M., Alabiad, M. A., El Shaer, D. F. 2020. Resveratrol Ameliorates the Seminiferous Tubules Damages Induced by Finasteride in Adult Male Rats. *Microscopy and Microanalysis*, 26(6), 1176–1186. doi:10.1017/s1431927620024514

Shappell, S. B., Thomas, G. V., Roberts, R. L., Herbert, R., Ittmann, M. M., Rubin, M. A., Humphrey, P. A., Sundberg, J. P., Rozengurt, N., Barrios, R., Ward, J. M., Cardiff, R. D. 2004. Prostate Pathology of Genetically Engineered Mice: Definitions and Classification. The Consensus Report from the Bar Harbor Meeting of the Mouse Models of Human Cancer Consortium Prostate Pathology Committee. *Cancer Research*, 64(6), 2270–2305. doi:10.1158/0008-5472.can-03-0946

Sharma, A. N., Michelle, L., Juhasz, M., Muller Ramos, P., Atanaskova Mesinkovska, N. 2020. Low-dose oral minoxidil as treatment for non-scarring alopecia: a systematic review. *International Journal of Dermatology*, 59(8), 1013–1019. doi:10.1111/ijd.14933

Shen, Y., Zhu, Y., Zhang, L., Sun, J., Xie, B., Zhang, H., Song, X. 2023. New Target for Minoxidil in the Treatment of Androgenetic Alopecia. *Drug Design, Development and Therapy*, 17, 2537-2547. doi: 10.2147/DDDT.S427612.

Shin, J., Chung, E., Kim, M., Kim, T., Kim, W., Huh, C. 2018. Evaluation of long-term efficacy of finasteride in Korean men with androgenetic alopecia using the basic and specific classification system. *The Journal of Dermatology*. doi:10.1111/1346-8138.14719

Shum, W. W. C., Da Silva, N., McKee, M., Smith, P. J. S., Brown, D., Breton, S. 2008. Transepithelial Projections from Basal Cells Are Luminal Sensors in Pseudostratified Epithelia. *Cell*, 135(6), 1108–1117. doi:10.1016/j.cell.2008.10.020

Sies, H. 2015. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180–183. doi:10.1016/j.redox.2015.01.0

Sinclair, R. D. 2018. Female pattern hair loss: A pilot study investigating combination therapy with low-dose oral minoxidil and spironolactone. *International Journal of Dermatology*, 57 (1), 104–109. doi:https://doi.org/10.1111/ijd.13838

Sirinarumitr, K., Johnston, S. D., Kustritz, M. V. R., Johnston, G. R., Sarkar, D. K., Memon, M. A. 2001. Effects of finasteride on size of the prostate gland and semen

quality in dogs with benign prostatic hypertrophy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(8), 1275–1280. doi:10.2460/javma.2001.218.1275

Souza, A. C. F., Bastos, D. S. S., Santos, F. C., Sertorio, M. N., Ervilha, L. O. G., Gonçalves, R. V., de Oliveira, L. L., Machado-Neves, M. 2018. Arsenic aggravates oxidative stress causing hepatic alterations and inflammation in diabetic rats. *Life Sciences*. doi:10.1016/j.lfs.2018.08.054

Srougi, M., Dall'Oglio, M., Antunes, A. A. 2010. Hiperplasia Prostática Benigna (HPB): Aspectos Morfológicos e Fisiopatológicos. In: Srougi M, Dall'Oglio M, Antunes AA, editors. *Hiperplasia Prostática Benigna*. São Paulo: Atheneu, 25-35.

Steiner, M. S. 1995. Review of peptide growth factors in benign prostatic hyperplasia and urological malignancy. *Journal of Urology*, 153, 1085-6.

Sutton, M. T, Vingling, M, Vyas, A, Atiemo, H, Borkowski, A, Jacobs, S. C, Kyprianou, N. 2006. Finasteride targets prostate vascularity by inducing apoptosis and inhibiting cell adhesion of benign and malignant prostate cells. *Prostate*, 66, 1194-202.

Suzuki, K., Okazaki, H., Kurokawa, K., Suzuki, T., Onuma, E., Takanashi, H., Mamiya, Y., Yamanaka, H. 1998. Effects of dual inhibition of 5-alpha-reductase and aromatase on spontaneously developed canine prostatic hypertrophy. *Prostate*, 37, 70–76.

Swerdloff, R. S., Dudley, R. E., Page, S. T., Wang, C., Salameh, W. A. 2017. Dihydrotestosterone: Biochemistry, Physiology, and Clinical Implications of Elevated Blood Levels. *Endocrine Reviews*, 38(3), 220–254. doi:10.1210/er.2016-1067

Taboga, S. R., Vilamaior, P. S. L., Góes, R. M. 2009. Modulação androgênica e estrogênica na próstata: uma abordagem em modelos experimentais de roedores com enfoque na biologia estrutural. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 53(8), 946–955. doi:10.1590/s0004-27302009000800007

Tabolli, S., Sampogna, F., di Pietro, C., Mannoaranparampil, T. J., Ribuffo, M., Abeni, D. 2013. Health Status, Coping Strategies, and Alexithymia in Subjects with Androgenetic Alopecia. *American Journal of Clinical Dermatology*, 14(2), 139–145. doi:10.1007/s40257-013-0010-3

Takatani, T., Takahashi, K., Jin, C., Matsuda, T., Cheng, X., Ito, T., Azuma, J. 2004. Minoxidil Attenuates Ischemia-Induced Apoptosis in Cultured Neonatal Rat Cardiomyocytes. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 43(6), 789–794. doi:10.1097/00005344-200406000-00008

Tang, J., Zhang, Y., Zhang, M. B., Li, Y. M., Fei, X., Song, Z. G. 2014. Tissue elasticity displayed by elastography and its correlation with the characteristics of collagen type I and type III in prostatic stroma. *Asian Journal of Andrology*, 16(2), 305-8. doi: 10.4103/1008-682X.122582

Tang, P. H., Chia, H. P., Cheong, L. L., Koh, D. 2000. A community study of male androgenetic alopecia in Bishan, Singapore. *Singapore Medical Journal*, 41(5), 202-5.

Thigpen, A. E., Silver, R. I., Guileyardo, J. M., Casey, M. L., McConnell, J. D., Russell, D. W., 1993. Tissue distribution and ontogeny of steroid 5 alpha-reductase isozyme expression. *Journal of Clinical Investigation*, 92(2), 903–910. doi:10.1172/jci116665

Timms, B. G., Mohs, T. J., Didio, L. J. A. 1994. Ductal Budding and Branching Patterns in the Developing Prostate. *The Journal of Urology*, 151(5), 1427–1432. doi:10.1016/s0022-5347(17)35273-4

Trueb, R. M. 2002. Molecular mechanisms of androgenetic alopecia. *Experimental Gerontology*, 37(8-9), 981–990. doi: 10.1016/S0531-5565(02)00093-1.

Valkenburg, K. C., Williams, B. O. 2011. Mouse Models of Prostate Cancer. *Prostate Cancer*, 1–22. doi:10.1155/2011/895238

Vañó-Galván, S., Pirmez, R., Hermosa-Gelbard, A., Moreno-Arrones, Ó. M., Saceda-Corralo, D., Rodrigues-Barata, R., Jimenez-Cauhe, J., Koh, W. L., Poa, J. E., Jerjen, R., Trindade de Carvalho, L., John, J. M., Salas-Callo, C. I., Vincenzi, C., Yin, L., Lo-Sicco, K., Waskiel-Burnat, A., Starace, M., Zamorano, J. L., Jaén-Olasolo, P., Piraccini, B. M., Rudnicka, L., Shapiro, J., Tosti, A., Sinclair, R., Bhojrul, B. 2021. Safety of low-dose oral minoxidil for hair loss: A multicenter study of 1404 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 84(6), 1644–1651. doi:10.1016/j.jaad.2021.02.054

Vendemiale, G., Grattagliano, I., Altomare, E. 1999. An uptake in the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. *International Journal of Clinical & Laboratory Research*, 29, 49-55.

Vermeulen, A., Kaufman, J. M., Goemaere, S., Van-Pottelberg, I. 2002. Estradiol in elderly men. *Aging Male*, 5(2), 98-102. doi:10.1080/tam.5.2.98.102

Verze, P., Cai, T., Lorenzetti, S. 2016. The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nature Reviews Urology*, 13(7), 379–386. doi:10.1038/nrurol.2016.89

Vilamaior, P. S., Felisbino, S. L., Taboga, S. R., Carvalho, H. F. 2000. Collagen fiber reorganization in the rat ventral prostate following androgen deprivation: a possible role for smooth muscle cells. *Prostate*, 45, 253-258.

Villani, A., Fabbrocini, G., Ocampo-Candiani, J., Ruggiero, A., Ocampo-Garza, S. S. 2021. Review of oral minoxidil as treatment of hair disorders: in search of the perfect dose. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 35(7), 1485–1492. doi:10.1111/jdv.17216

Wright, A. S., Thomas, L. N, Douglas, R. C, Lazier, C. B, Rittmaster, R. S. 1996. Relative potency of testosterone and dihydrotestosterone in preventing atrophy and apoptosis in the prostate of the castrated rat. *Journal of Clinical Investigation*, 98(11), 2558-63. doi: 10.1172/JCI119074

Wright, A. S., Thomas, L. N, Douglas, R. C, Lazier, C. B, Rittmaster, R. S. 1996. Relative potency of testosterone and dihydrotestosterone in preventing atrophy and

apoptosis in the prostate of the castrated rat. *Journal of Clinical Investigation*, 98(11), 2558-63. doi: 10.1172/JCI119074.

Wu, F.C. 1997. Endocrine aspects of anabolic steroids. *Clinical Chemistry*, Washington, 43(7), 1289-1292.

Wu, M., Yu, Q., Li, Q. 2016. Differences in reproductive toxicology between alopecia drugs: an analysis on adverse events among female and male cases. *Oncotarget*, 7(50), 82074–82084. doi:10.18632/oncotarget.12617

Wu, W. F, Wang, L., Spetsieris, N, Boukovala, M, Efstathiou, E, Brössner, C., Warner, M., Gustafsson, J. A. 2021. Estrogen receptor β and treatment with a phytoestrogen are associated with inhibition of nuclear translocation of EGFR in the prostate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(13), 1-6. doi: 10.1073/pnas.2011269118

Xu, X., Wang, L., Luo, D., Zhang, M., Chen, S., Wang, Y., Zheng, D., Feng, L., Gao, L., Yu, C., Guan, Q. 2018. Effect of Testosterone Synthesis and Conversion on Serum Testosterone Levels in Obese Men. *Hormone and Metabolic Research*, 50(9), 661-670. doi:10.1055/a-0658-7712

Yim, E., Nole, K. L. B., Tosti, A. 2014. 5 α -Reductase inhibitors in androgenetic alopecia. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, 21(6), 493–498. doi:10.1097/med.0000000000000112

York, K., Meah, N., Bhojrul, B., Sinclair, R. 2020. A review of the treatment of male pattern hair loss. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 21(5), 603–612. doi:10.1080/14656566.2020.1721463

Zhou, Y., Yu, S., Zhao, J., Feng, X., Zhang, M., Zhao, Z. 2020. Effectiveness and Safety of Botulinum Toxin Type A in the Treatment of Androgenetic Alopecia. *BioMed Research International*, 2020, 1–7. doi:10.1155/2020/1501893