



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Helce Ribeiro Julio Junior

**Estudo da estrutura da fáscia endopélvica em pacientes com
diferentes pesos prostáticos**

Rio de Janeiro

2014

Helce Ribeiro Julio Junior

**Estudo da estrutura da fásia endopélvica em pacientes com
diferentes pesos prostáticos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Sistema Urogenital

Orientador : Prof. Dr. Luciano Alves Favorito

Rio de Janeiro

2014

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

J94 Julio Junior, Helce Ribeiro.
Estudo da estrutura da fáschia endopélvica em pacientes com
diferentes pesos prostáticos / Helce Ribeiro Julio Junior. – 2014.
59 f.

Orientador: Luciano Alves Favorito.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em
Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense.

1. Fáschia - Fisiologia. 2. Próstata - Doenças - Teses. 3. Próstata -
Hiperplasia - Teses. 4. Adenocarcinoma - Teses. I. Favorito, Luciano
Alves. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia
Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 616.756:616.65

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial
desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Helce Ribeiro Julio Junior

**Estudo da estrutura da fáscia endopélvica em pacientes com
diferentes pesos prostáticos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Sistema urogenital.

Aprovada em 17 de Dezembro de 2014.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Alves Favorito.
Faculdade de Ciências Médicas-UERJ

Banca examinadora: _____
Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio
Faculdade de Ciências Médicas-UERJ

Prof. Dr. João Paulo Martins de Carvalho
Hospital Federal Cardoso Fontes

Prof. Dr. Maurício Rubinstein
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro
2014

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a minha esposa Gisele e ao meu filho Helce, por me apoiarem nesse período de intenso estudo e dedicação. Também não poderia esquecer dos meus queridos pais Helce e Sonia que sempre estiveram ao meu lado ao longo desses anos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Profº Francisco José Barcellos Sampaio por me dar essa grande oportunidade e ao meu orientador Luciano Alves Favorito.

Agradeço também aos meus colegas de laboratório especialmente Suelen Freitas Costa que me foi de grande auxílio na realização deste trabalho.

Agradeço também as agências FAPERJ e CAPES pelo material que foi utilizado nessa pesquisa e ao Hospital Federal Cardoso Fontes onde foram coletadas as amostras.

RESUMO

JULIO JUNIOR, Helce Ribeiro. **Estudo da estrutura da fásia endopélvica em pacientes com diferentes pesos prostáticos** 2014. 59 f. Dissertação Mestrado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

O objetivo deste trabalho é estudar a fásia endopélvica de pacientes com diferentes pesos prostáticos. Foram estudados 10 pacientes com HPB com idades entre 54 e 82 anos (media =67.7), com próstatas maior do que 90 gramas, 10 pacientes com Adenocarcinoma de Próstata com idades entre 56 e 70 anos(media= 64), com próstatas menores do que 60 gramas e 5 cadáveres jovens do sexo masculino com idades entre 17 e 30 anos(média=24.4, grupo controle).Durante a cirurgia, a fásia endopélvica era dissecada e uma pequena amostra era coletada. As amostras eram fixadas em formol e submetidas às seguintes colorações:Vermelho de PicroSirius para a análise do colágeno, Tricrômico de Masson para quantificação do músculo liso, Resorcina- Fucsina de Weigert para quantificação das fibras elásticas e para a avaliação quantitativa do colágeno tipo III foi realizado imunohistoquímica. As imagens eram capturadas com a utilização de um microscópio Olympus BX51 e câmera Olympus DP70. A análise morfométrica foi realizada com o software Image pro e Image J utilizando uma grade para determinar a densidade de área das estruturas. As médias foram estatisticamente comparadas utilizando one way ANOVA com o teste de Bonferroni e um p valor < 0.05 foi considerado estatisticamente significativo.A média do volume prostático nos pacientes com HPB era de 122 gramas, nos com ACP de 42.3 gramas e no grupo controle de 18.6 gramas. Na análise quantitativa das fibras elásticas e do colágeno tipo III não encontramos diferença estatística entre os três grupos (p=0.19 e 0.88 respectivamente). Houve diferença estatisticamente significativa com p<0.0001 na quantificação das fibras musculares em pacientes com próstata >90 gramas(média=9.61%), quando comparado com pacientes com próstata <60gramas(média=17.92%) e com o grupo controle(média=33.35%). Nós observamos importantes diferenças na estrutura da fásia endopélvica de pacientes com próstata > 90 gramas, o que pode ser um fator a mais na avaliação pré-operatória de pacientes que realizarão prostatectomia radical.

Palavras-chave: Fásia Endopélvica. Hiperplasia Prostática Benigna. Adenocarcinoma de Próstata.

ABSTRACT

JULIO JUNIOR, Helce Ribeiro. **Structural Study of endopelvic fascia in prostates of different weights** 2014. 59 f. Dissertação Mestrado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

The objective of this paper is to study the structure of the endopelvic fascia in prostates of different weights. We studied 10 patients with BPH (54 to 82 years old, mean=67.7 – prostates >90g); 10 patients with prostate adenocarcinoma (PAC) (56 to 70 years old, mean=64 – prostates <60g) and 5 young male cadavers (17 to 30 years-old, mean=24.4 – control group). During the surgery, the endopelvic fascia was dissected and a small sample was obtained. The samples were stained with Masson's Trichrome (to quantify smooth muscle cells - SMC); Weigert Resorcin Fuchsin (elastic fibers) and PicroSirius red with polarization and immunohistochemical analysis of the type III collagen fibers to observe collagen. The images were captured with an Olympus BX51 microscope and Olympus DP70 camera. The morphometric analysis was done with the Image Pro and Image J programs, using a grid to determine areal densities. Means were statistically compared using the one-way ANOVA with the Bonferroni test and a p-value < 0.05 was considered statistically significant. The mean of the prostate weight was 122 g in BPH patients, 42.3g in PAC patients and 18.6g in control group. Quantitative analysis documented there are no differences ($p=0.19$) in the areal density of elastic fibers and in the areal density of type III collagen ($p=0.88$) between the three groups. There was a significant difference ($p=0<0.0001$) in the quantification of SMC in patients with prostates >90g (mean=9.61%) when compared to patients with prostates <60g (mean=17.92%) and with the control group (mean=33.35%). We observed some important differences in endopelvic fascia structure in prostates >90g, which can be an additional factor for pre-operative evaluation of radical prostatectomy.

Keywords: Endopelvic Fascia. Prostate Benign Hyperplasia. Prostatic Adenocarcinoma.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Imagem da fáscia endopélvica em cadáver adulto	12
Figura 2	Fáscia endopélvica na coloração HE	18
Figura 3	Software Image J ferramenta Collor Segmentation	21
Figura 4	Quantificação das fibras musculares com a grade de 100 pontos ...	22
Tabela 1	Resultado dos grupos estudados segundo a idade, PSA, peso prostático, % fibras elásticas, músculo liso e colágeno tipo III	23
Figura 5	Fibras musculares	25
Figura 6	Fibras do sistema elástico	26
Figura7	Organização do colágeno com Picro Sirius Red	28
Figura 8	Quantificação do colágeno tipo III	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Adenocarcinoma de próstata
DAB	Diamino-benzidina-tetrahydrocloridro
DP	Desvio Padrão
HE	Hematoxilina e eosina
HPB	Hiperplasia prostática benigna
MEC	Matriz extracelular
PSA	Antígeno prostático específico

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
g	gramas
μm	Micrômetro
H ₂ O	Molécula da água
ng/dL	Nanograma por decilitro
mm	Milímetro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	11
1	OBJETIVO	16
2	MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1	Grupos de estudo	17
2.2	Análise histoquímica	17
2.2.1	<u>Hematoxilina e eosina</u>	18
2.2.2	<u>Tricrômico de Masson</u>	19
2.2.3	<u>Resorcina Fucsina de Weigert</u>	19
2.2.4	<u>Picrosirius Red</u>	19
2.3	Análise imunohistoquímica	20
2.4	Morfometria	20
2.5	Análise Estatística	22
3	RESULTADOS	23
3.1	Fibras Musculares Lisas	24
3.2	Fibras do Sistema elástico	25
3.3	Colágeno	27
4	DISCUSSÃO	30
	CONCLUSÃO	33
	REFERÊNCIAS	34
	APENDICE – Structural study of endopelvic fascia in prostates of diferente weights – anatomic study applied to radical prostatectomy	37
	ANEXO A Aprovação do Comitê de ética	55
	ANEXO B Consentimento informado livre e esclarecido.....	57
	ANEXO C Aceite da revista Acta Cirurgica Brasileira	59

INTRODUÇÃO

A fáscia pélvica recobre toda a pelve verdadeira masculina e não é somente composta por colágeno, sendo rica também em tecido elástico e musculatura lisa. É contínua com a fáscia retroperitoneal e foi dividida arbitrariamente em camadas externa, interna e intermediária. É considerada a transição entre a parede pélvica e as vísceras pélvica ^{1,2,3}.

A camada externa também chamada de fáscia endopélvica (fáscia pélvica parietal, fáscia pélvica lateral ou fáscia pélvica superior), recobre a região interna da musculatura pélvica e se continua com a fáscia transversalis do abdômen. É fixada na linha arqueada da pelve, ligamento de Cooper, ligamento sacro-espinal, espinha isquiádica e o arco tendíneo do levantador do ânus ^{1,4,5,6}. A fáscia visceral recobre os órgãos tais como a próstata, bexiga e o reto e funde-se no estroma do ápice da região ventral da próstata ⁷(Figura 1).

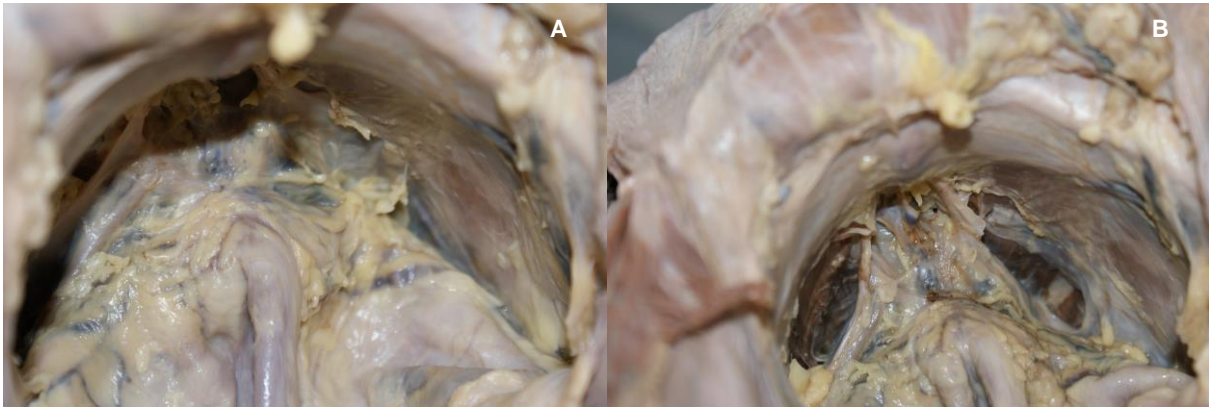
Existem 03 importantes componentes da fáscia endopélvica:

a-Anteriormente, o ligamento puboprostático se insere no quinto inferior do púbis, lateral a sínfise púbica e junção da próstata com o esfíncter externo. É chamada de ligamento pubo-uretral.

b-Lateralmente ao arco tendíneo, a fáscia endopélvica se estende do ligamento puboprostático a espinha isquiádica. Esta fáscia forma a junção da fáscia endopélvica e fáscia visceral .

c-Posteriormente a espinha isquiádica, a fáscia espalha-se para ambos os lados do reto e se une a parede pélvica como ligamentos vesical lateral e posterior ¹.

Figura 1 - Pelve masculina de um cadáver adulto, onde foi feita a retirada da parede abdominal anterior



Legenda: (A) A fásia endopélvica (FE) pode ser visualizada após a retirada da gordura retropúbica.
(B) Foi realizada a abertura da fásia endopélvica, simulando um procedimento cirúrgico.

Fonte: O autor,2014.

Histologia da fásia endopélvica

A fásia endopélvica é composta por matriz extracelular e musculatura lisa além de apresentar vasos sanguíneos e nervos cruzando-a ^{3,8}.

Matriz extracelular

A matriz extracelular (MEC) é o local onde ocorre migração, proliferação e diferenciação celular. Uma rede estrutural que circunda e sustenta as células do tecido conjuntivo. Além disso, a MEC contém várias proteoglicanas (agrecana e sindecana), glicoproteínas multiadesivas (fibronectina e laminina) e glicosaminoglicanas (dermatansulfato, queratansulfato e hialuronana). Estes três últimos grupos de moléculas constituem a substância fundamental. Cada célula do tecido conjuntivo segrega uma diferente proporção de moléculas de MEC que contribuem para a formação de muitos arranjos diferentes; por conseguinte, a MEC possui propriedades mecânicas e bioquímicas específicas, características para o tecido em que ela está presente ^{9,10}.

Colágeno

O colágeno é uma proteína muito abundante, representando aproximadamente um terço de todas as proteínas do tecido. A molécula de colágeno é organizada em fibras, sendo composta de 3 subunidades unidas em tripla hélice. Cerca de 20 tipos diferentes de colágeno foram identificados até o momento. Dentre eles, os colágenos de I a IV são os mais conhecidos. Eles diferem entre si pela fórmula química, pelo modo de associação entre suas moléculas, pelas funções que desempenham e pelas doenças que a sua má-formação e a sua produção excessiva ou insuficiente podem causar ^{11,12}.

O colágeno I é o mais abundante tipo de colágeno e está presente na pele, nos ossos, nos dentes e nos tendões. Apresenta-se sob forma de fibras grossas, sendo por isso o mais resistente a tensões ¹³.

O colágeno III é constituído por fibras e é produzido pelas células musculares e outros tipos de células. As fibras deste tipo de colágeno apresentam certa elasticidade e por isso são sempre encontradas em órgãos de forma variável ¹³.

A família dos colágenos, portanto, tem várias funções e suas moléculas se dispõem de diferentes maneiras de acordo com a função a ser desempenhada. Há fortes evidências de que estas moléculas foram modificadas durante a evolução dos seres multicelulares e se adaptaram gradualmente a várias funções que surgiram nesse processo ¹⁴.

Fibras do sistema elástico

As fibras do sistema elástico são mais finas que as fibras de colágeno e estão dispostas em uma rede tridimensional. As fibras são entrelaçadas com fibras de colágeno para limitar a distensibilidade do tecido e para evitar a laceração a partir do estiramento excessivo.

As fibras elásticas são produzidas pelas mesmas células que produzem as fibras de colágeno: os fibroblastos e as células musculares lisas. Em contraste com as fibras de colágeno, no entanto, as fibras elásticas são formadas por dois componentes

estruturais: um núcleo central de elastina e uma rede circunvizinha de microfibrilas de fibrilina ¹⁰.

Músculo Liso

O músculo liso ocorre geralmente como feixes ou folhetos de células fusiformes alongadas, com extremidades finas e gradativamente afiladas. As células, também designadas como fibras, possuem comprimentos variados dependendo da estrutura que elas constituem. Os núcleos das células musculares lisas estão localizados no centro da célula e têm com frequência uma aparência de saca rolhas aos cortes longitudinais. Quando é incluído num corte transversal de uma fibra muscular lisa, o núcleo aparece como um perfil arredondado ou circular se a célula estiver contraída ou relaxada. As células musculares lisas possuem um aparelho contrátil de filamentos finos e grossos e um citoesqueleto de filamentos intermediários de desmina e vimentina ¹⁰.

Câncer de próstata e cirurgia

Câncer de próstata é o câncer não cutâneo mais comum e a segunda maior causa de morte câncer específica em homens nos Estados Unidos ¹⁵. Em torno de 70% dos portadores de neoplasia de próstata apresentarão tumor localizado de baixo ou intermediário risco ¹⁶.

A prostatectomia radical foi o primeiro tratamento preconizado no câncer de próstata e tem sido realizado há mais de 100 anos ¹⁷. Até os dias atuais, ainda é considerada o padrão ouro no tratamento de neoplasia prostática.

A cirurgia compreende a ressecção completa da glândula prostática com margens livres e vesículas seminais, incluindo também linfadenectomia pélvica modificada. Dentre os vários tempos da cirurgia, ressalta-se a abertura da fáscia endopélvica lateralmente a próstata e ao ligamento puboprostático, com secção do mesmo ^{1,5,7,18}.

Para a avaliação da fáscia endopélvica de pacientes com próstata menores do que 60 gramas, utilizamos pacientes portadores de neoplasia de próstata, haja visto que em pacientes portadores de hiperplasia prostática benigna e volume prostático menor do que 60 gramas a cirurgia aberta não é recomendada.

Hiperplasia prostática benigna

Hiperplasia prostática benigna (termo utilizado em referência a um processo histológico de hiperplasia da glândula prostática) é uma doença muito comum no sexo masculino e vem apresentando aumento de sua incidência . Geralmente acomete homens acima de 50 anos e 80% dos homens acima de 70 anos ^{1,19}. Embora não seja uma doença mortal, é uma doença que apresenta grande morbidade devido a gama de sintomatologia que a mesma pode causar, antigamente conhecida como prostatismo. Sua causa ainda não está completamente definida, porém sabe-se que a idade e a presença de androgênios são fatores sabidamente associados ^{1,19}. A obstrução infra-vesical causada pelo aumento do volume prostático está relacionada como o principal fator causador da sintomatologia. Volume prostático muito aumentado está relacionado com uma pior sintomatologia e maior risco de progressão destes sintomas e demais complicações. Dos homens acima de 60 anos, 48 a 60% apresentarão volume prostático aumentado, porém apenas um terço apresentarão sintomatologia moderada a grave ²⁰.

Existem inúmeros tratamentos cirúrgicos para esta doença, dentre estes encontra-se a prostatectomia aberta, que consiste na retirada do adenoma prostático após acessar a próstata por via retropúbica ou trans-vesical, realizada em pacientes com próstata acima de 80 gramas e ressecção trans-uretral da próstata, realizada em pacientes com peso prostático até 80 gramas ^{1,21}. Para realização da prostatectomia retropúbica, deve-se inicialmente realizar abertura da fáschia endopélvica para a ligadura do plexo venoso dorsal e posteriormente realizar a abertura da cápsula prostática para a enucleação do adenoma prostático ¹.

O peso prostático até os dias atuais, ainda não se apresenta como um fator de importância na avaliação pré-operatória dos pacientes que serão submetidos a procedimentos cirurgicos invasivos, no que diz respeito às complicações pós operatórias e a técnica operatória a ser utilizada durante a prostatectomia radical e até mesmo se este aumento pode causar alteração no assoalho pélvico.

1 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é avaliar se o aumento do peso da próstata causa alterações morfológicas na fáschia endopélvica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisa Urogenital. Foi submetido e aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa sob parecer número 500.097/2013 (ANEXO A).

2.1 Grupos de Estudo

Foram estudadas dez amostras de fascia endopélvica provenientes de pacientes com hiperplasia prostática benigna com idades entre 54 e 82 anos (média de 67.7) que foram submetidos a cirurgia de prostatectomia retropúbica para tratamento do HPB com próstatas maiores do que 90 gramas; dez amostras provenientes de pacientes com adenocarcinoma de próstata com idades entre 56 e 70 anos (média de 64) que foram submetidos a prostatectomia radical aberta com próstatas menores do que 60 gramas e 5 amostras de cadáveres jovens com próstatas menores do que 30 gramas.

Foram retirados fragmentos da fâscia endopélvica do lado direito da próstata de pacientes com neoplasia, portadores de HPB e do grupo controle. Esse procedimento faz parte do ato cirúrgico e não prejudica de nenhuma forma os pacientes. Esses fragmentos foram fixados em formalina tamponada a 10%.

2.2 Análise Histoquímica

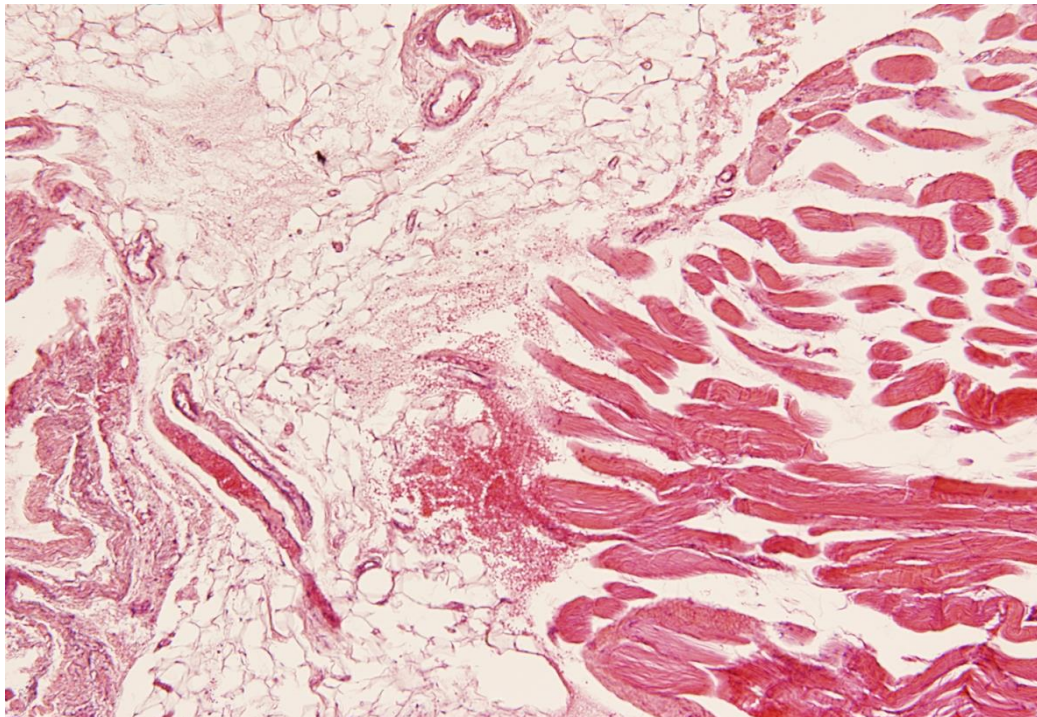
As amostras foram processadas de acordo com técnicas de rotina do laboratório, desidratadas em banhos sucessivos de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Destes blocos foram feitos cortes de 5 μm com intervalos de 200 μm que posteriormente foram submetidos a diferentes colorações.

Para a análise histoquímica, os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina para a verificação da integridade do material, Tricrômico de Masson para a observação e quantificação do tecido muscular, Resorcina Fucsina de Weigert com prévia oxidação pela oxona para a observação das fibras do sistema elástico e Picrosírius Red para a análise qualitativa do colágeno.

2.2.1 Hematoxilina e Eosina

Técnica histológica de rotina que permite a observação dos diferentes componentes teciduais. Os núcleos corados em azul (hematoxilina) e o citoplasma corado em vermelho ou rosa (eosina) ²²(Figura 2).

Figura 2- Fotomicrografia da fásia endopélvica de um paciente portador de HPB com idade de 60 anos e peso prostático de 90 gramas corada em HE, evidenciando os componentes teciduais. HE x200



Fonte: O autor, 2014.

2.2.2 Tricrômico de Masson

Técnica histológica de rotina que permite evidenciar o colágeno em azul e as fibras musculares em vermelho ²³

2.2.3 Resorcina Fucsina de Weigert

Técnica histológica de rotina que permite corar fibras elásticas em negro ou azul escuro e o tecido de fundo fica corado em laranja ²²

2.2.4 Picrosirius Red

A técnica do Picrosirius Red seguida de polarização pode mostrar as variações na espessura das fibras de colágeno sendo indicativo de fibras de colágeno dos tipos I e III. A diferença de cor observada após a polarização é o resultado da espessura das fibras assim como do arranjo do colágeno. A coloração pelo método do Picrosirius faz com que grande quantidade de moléculas de Sirius Red, de caráter ácido e alongadas, disponham-se paralelamente às moléculas do colágeno, o que provoca aumento considerável da birrefringência das fibras que contém colágeno quando observadas à luz polarizada ⁸.

2.3 Análise Imunohistoquímica

Para a imunohistoquímica, foram utilizadas lâminas silanizadas para uma melhor adesão do tecido. Foi utilizado anticorpo específico para marcação das fibras de colágeno tipo III Ab ab6310 (Laboratórios Abcam, Cambridge, MA, Estados Unidos da América). Foi realizado para o anticorpo primário simultaneamente os controles negativos, onde o anticorpo primário foi substituído por PBS/BSA. Para recuperação foi utilizado solução de TRIS/EDTA. A revelação foi feita com solução de 3,3, diamino-benzidina tetrahydroclorido (DAB) a 0,1% em H₂O, lavados em água destilada, desidratado em uma série crescente de etanol, diafanizados em xilol e montados com entellan.

2.4 Morfometria

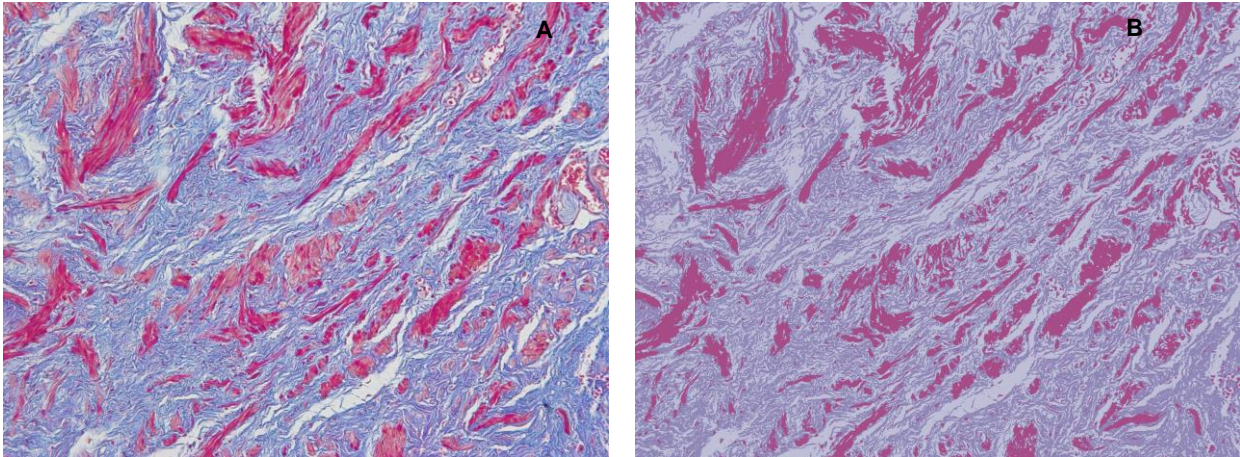
O tecido conjuntivo, as fibras musculares e as fibras elásticas foram quantificados pelo método morfométrico ²⁴. De cada lâmina foram selecionados aleatoriamente cinco campos totalizando 25 amostras de cada fásia e estes foram fotografados em um microscópio Olympus BX51 America, Inc através de uma câmera Olympus DP70 acoplada a ele. As imagens foram capturadas para o software Image Pro e após serem fotografadas foram analisadas através do software Image J versão 1.46r, através do seu próprio plug-in (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>).

Neste software, as fibras musculares foram quantificadas através de uma ferramenta de segmentação de cor, o "Collor Segmentation", que após selecionado uma cor, o "plugin" calcula a porcentagem da mesma na fotomicrografia, criando uma máscara (figura 3).

A quantificação das fibras elásticas e do tecido conjuntivo foi realizada com a ferramenta de contagem de pontos para a determinação da densidade de área. O

software insere uma grade de cem pontos sobre a fotomicrografia e são contados todos os pontos em que as fibras passam pelo lado superior direito (figura 4).

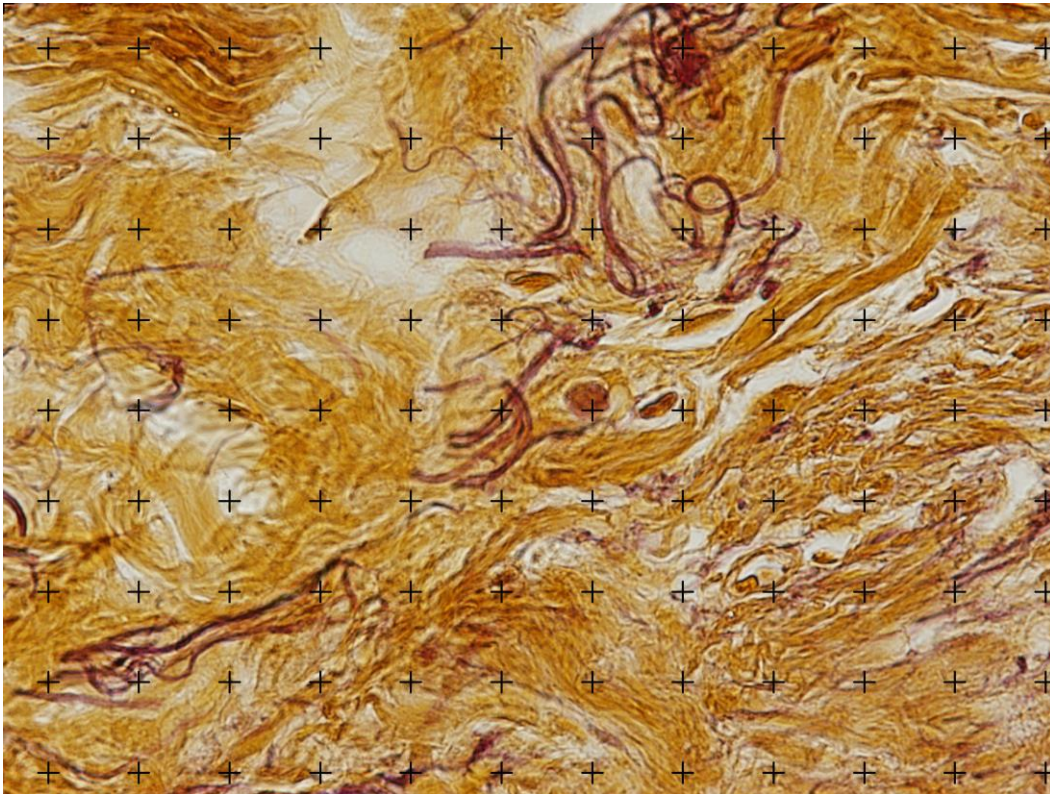
Figura 3 - Fásia endopélvica



Legenda: (A) Fotomicrografia da fásia endopélvica mostrando a utilização do software image J com a ferramenta color segmentation. (B) máscara gerada pelo programa. Tricrômico de Masson x200.

Fonte: O autor, 2014

Figura 4 - A Fotomicrografia da fásia endopélvica mostrando a utilização da grade de 100 pontos no processo de quantificação. Resorcina fucsina de Weigert x1000



Fonte: O autor, 2014.

2.5 Análise estatística

Foi utilizado o teste one way anova com pós teste de Bonferroni para a análise estatística através do software graph Pad Prism. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0.05$.

3 RESULTADOS

Os pacientes com HPB tinham a próstata pesando entre 90 e 196 gramas (média=122g), idades de 54 a 82 anos (média=67.7) e PSA variando de 1.94 até 22ng/dL (média=8.6 ng/dL). Os pacientes com ACP tinham o peso da próstata variando entre 40 e 62 gramas (media = 42.3 g), idades entre 56 e 70 anos(média=64) e PSA de 6.18 a 32.94 ng/dL (média=11.89 ng/ dL). Os pacientes do grupo controle tinham peso prostático de 14 a 22gramas (média=18.6 g) e idades entre 17 e 30 anos com média de 24.4 anos (Tabela 1).

Tabela 1- Resultado dos grupos estudados segundo a idade, PSA, peso prostático, porcentagem de fibras elásticas, músculo liso e colágeno tipo III

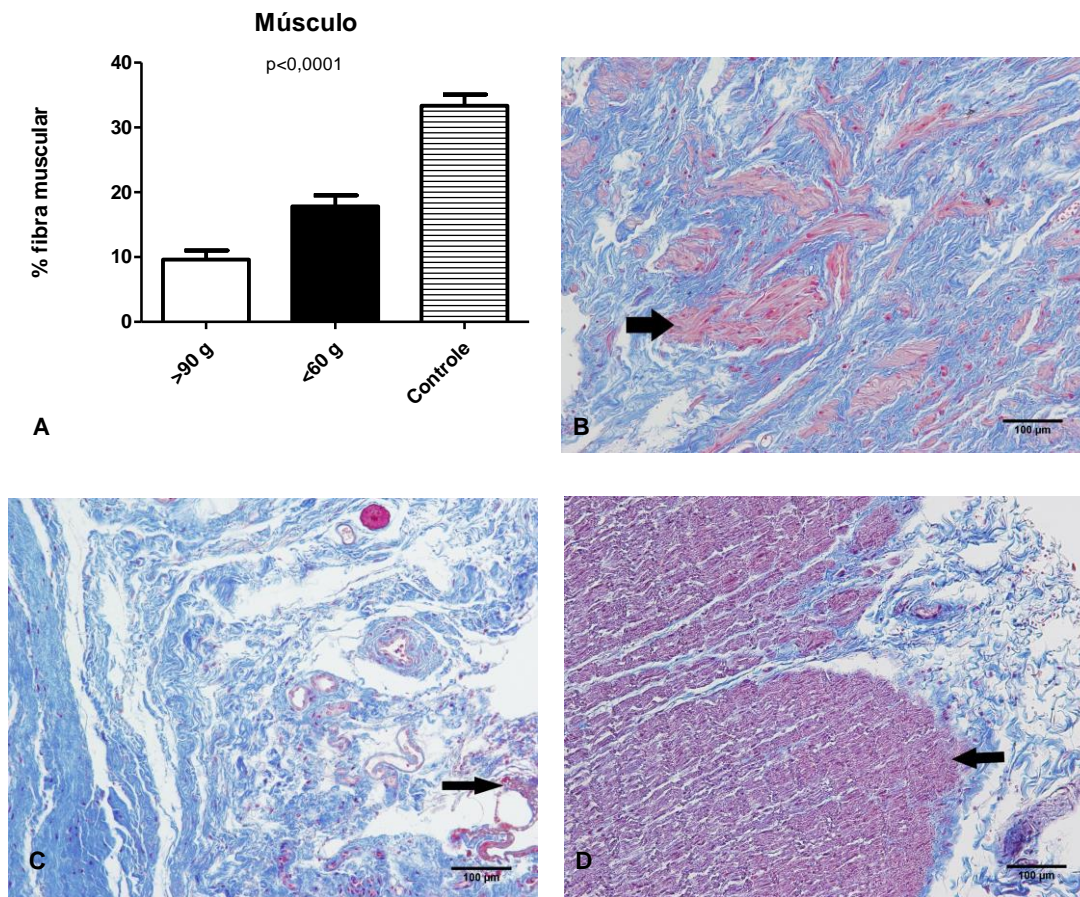
GRUPOS	IDADE	PSA	PESO (g)	FIBRAS ELÁSTICAS (%)	MÚSCULO LISO (%)	COLAGENO III (%)
G1	67	9.19	40	67.26	18	27.00
G1	65	14.52	40	65.80	17.33	1.50
G1	65	6.18	48	31.00	18.87	19.00
G1	65	6.4	50	50.93	24.50	29.00
G1	59	6.53	56	26.20	19.68	3.25
G1	67	7.76	58	20.60	24.28	0.00
G1	70	13	58	70.26	19.77	3.25
G1	57	9.62	59	65.80	9.44	9.70
G1	68	12.83	60	37.93	13.18	13.00
G1	56	32.94	62	60.93	13.36	26.70
G2	63	5.1	90	74.46	11.34	41.40
G2	57	6.48	92	74.73	6.34	3.20
G2	82	5.12	97	72.86	13.01	8.90
G2	62	7.24	102	34.73	9.60	18.80
G2	79	13	109	34.13	6.74	11.40
G2	71	1.94	110	9.73	10.31	11.60
G2	65	10.79	132	37.00	4.68	0.00
G2	54	9.8	140	57.33	18.05	13.80
G2	66	5.29	152	7.73	9.51	5.60
G2	78	22	196	44.70	6.52	0.00
G3	17		14	22.26	32.45	25.0
G3	23		18	22.20	33.33	12.4
G3	25		19	20.46	31.53	23.0
G3	27		20	46.60	38.43	37.4
G3	30		22	22.20	30.99	0.0

Fonte: O autor, 2014.

3.1 Fibras Musculares Lisas

A análise quantitativa das fibras musculares lisas evidenciou que a área das mesmas estava significativamente reduzida ($p < 0.0001$) nos pacientes com próstata maior do que 90 gramas (média=9.61%, desvio padrão = 4.16%) quando comparadas a pacientes com próstata menor do que 60 gramas (média=17.82%, desvio padrão=5.08%) e em relação aos pacientes do grupo controle (média=33.35%, desvio padrão=3.44%). Os pacientes com próstata menor do que 60 gramas também tiveram densidade de área menor em relação ao grupo controle ($p < 0.0001$) (Figura 5).

Figura 5 - Fibras musculares



Legenda: (A)- Gráfico da quantificação das fibras musculares. (B)- fotomicrografia de fásia endopélvica de um paciente de 59 anos com uma próstata de 56 gramas. A seta evidencia fibra muscular. Tricrômico de Masson x200. (C)- fotomicrografia de fásia endopélvica de um paciente de 60 anos com uma próstata de 90 gramas. A seta evidencia fibra muscular. Tricrômico de Masson x200. (D)- fotomicrografia de fásia endopélvica de um paciente de 27 anos com uma próstata de 20 gramas. A seta evidencia fibra muscular. Tricrômico de Masson x200.

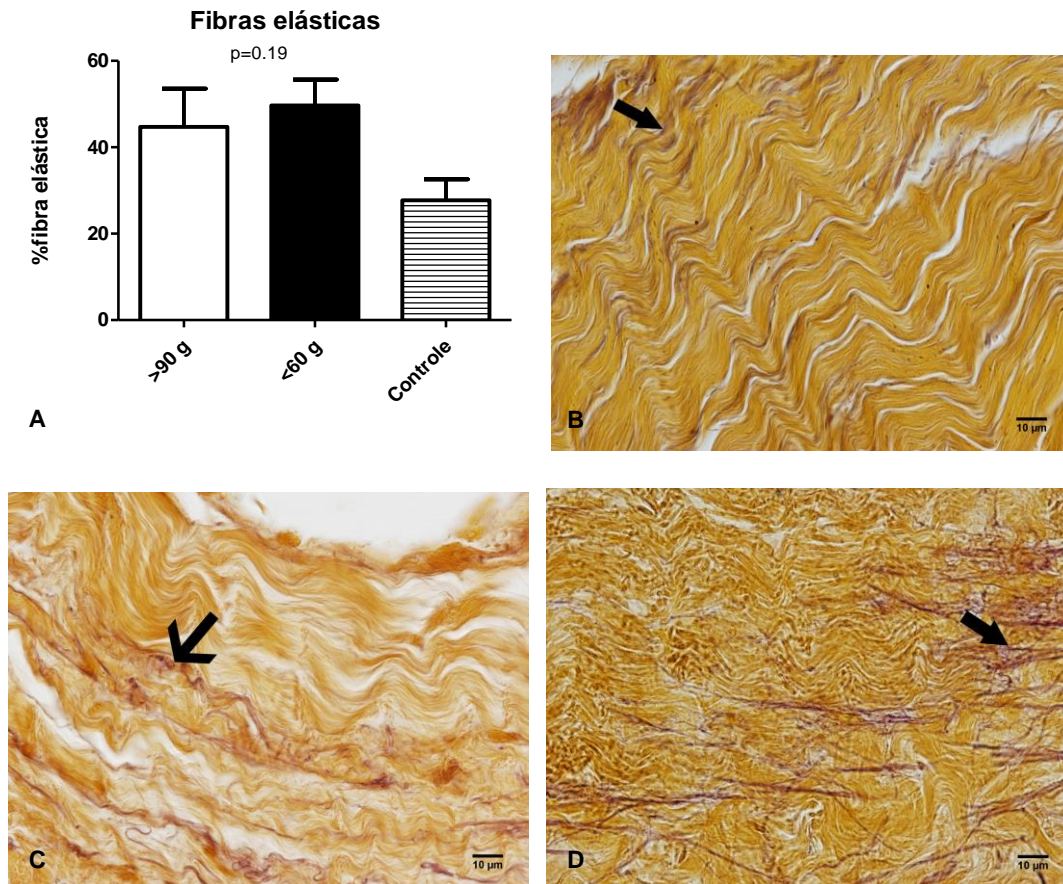
Fonte: O autor, 2014.

3.2 Fibras do Sistema elástico

Não houve diferença na quantificação de área das fibras do sistema elástico na fásia endopélvica ($p=0.19$) nos pacientes com próstata maior do que 90 gramas (média=44.74%; desvio padrão=26.46%) em relação aos pacientes com próstata menor

do que 60 gramas (média=49.67%, desvio padrão =19.04%) e do grupo controle (média=27.73%, desvio padrão=10.84%) (Figura 5).

Figura 6 – Fibras do sistema elástico



Legenda: **A**- Gráfico da quantificação das fibras elásticas. **B**- fotomicrografia de fásia endopélvica de um paciente de 70 anos com uma próstata de 58 gramas. A seta evidencia fibra elástica. Resorcina fucsina de Weigert x1000. **C**- fotomicrografia de fásia endopélvica de um paciente de 54 anos com uma próstata de 140 gramas. A seta evidencia fibra elástica. Resorcina fucsina de Weigert x1000. **D**- fotomicrografia de fásia endopélvica de um paciente de 27 anos com uma próstata de 20 gramas.

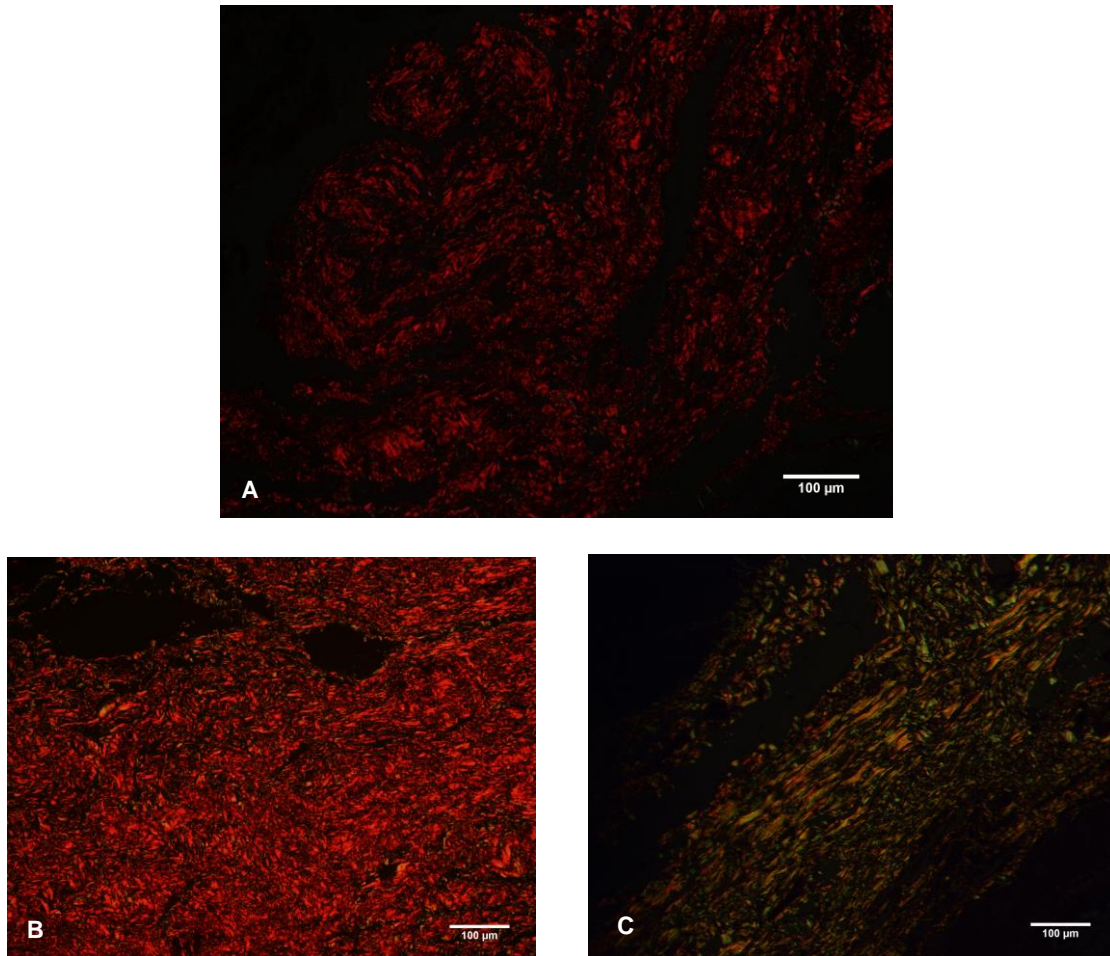
Nota: A seta evidencia fibra elástica. Resorcina fucsina de Weigert x1000.

Fonte: O autor, 2014.

3.3 Colágeno

Na análise qualitativa do colágeno através de luz polarizada foi evidenciado uma diferença de coloração entre os grupos. Houve um predomínio da coloração esverdeada nos pacientes do grupo controle sugerindo predomínio de colágeno tipo III e predominância da coloração avermelhada nos pacientes com próstata maior do que 90 gramas e menor do que 60 gramas, sugerindo predominância de colágeno tipo I. Na análise quantitativa (grade de 100 pontos) do colágeno tipo III através da imunohistoquímica não foi evidenciado diferença estatisticamente significativa ($p=0.88$) na densidade de área nos pacientes com volume prostático maior do que 90 gramas (média=11.48 variando de 0.0-41.40 com desvio padrão=12.88), em relação aos pacientes com volume prostático menor do que 60 gramas (média=13.24 variando de 0.0-29 com desvio padrão=14.09) e ao grupo controle (média=19.56 variando de 0.0-37.40 com desvio padrão=14.09). Os pacientes com próstata menor do que 60 gramas também não apresentaram diferença na quantidade de colágeno III em relação ao grupo controle (Figura 7 e figura 8).

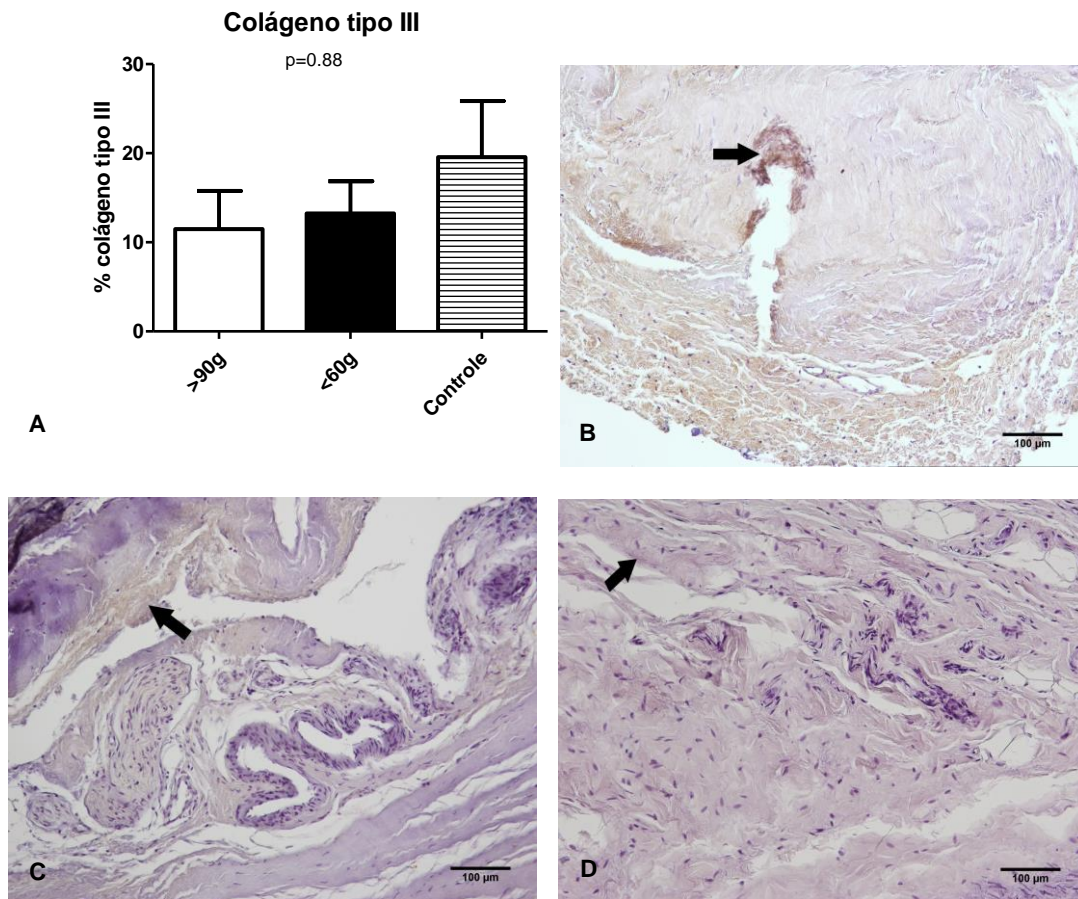
Figura 7 - Sistema colágeno



Legenda: **A-** fotomicrografia de fáschia endopélvica de um paciente de 70 anos com uma próstata de 58 gramas. PicroSirius Red sob luz polarizada x200. **B-** fotomicrografia de fáschia endopélvica de um paciente de 63 anos com uma próstata de 90 gramas. PicroSirius Red sob luz polarizada x200. **C-** fotomicrografia de fáschia endopélvica de um paciente de 27 anos com uma próstata de 20 gramas. PicroSirius Red sob luz polarizada x200.

Fonte: O autor, 2014.

Figura 8 - Colágeno tipo III



Legenda: . **A**- Gráfico da quantificação do colágeno tipo III. **B**- fotomicrografia de fásia endopélvica de m paciente de 65 anos com uma próstata de 48 gramas. A seta evidencia fibra colágena.Imunohistoquímica colágeno tipoIIIx200. **C**- fotomicrografia de fásia endopélvica de um paciente de 65 anos com uma próstata de 132 gramas. A seta evidencia fibra colágena.Imunohistoquímica colágeno tipoIIIx200. **D**- fotomicrografia de fásia endopélvica de um paciente de 17 anos com uma próstata de 14 gramas. A seta evidencia fibra colágena.Imunohistoquímica colágeno tipoIIIx200.

Fonte: O autor, 2014.

4 DISCUSSÃO

A fina fáscia que recobre o músculo levantador e a fáscia pélvica lateral representa a verdadeira fáscia endopélvica. Estudos demonstram que a fáscia endopélvica é composta dentre outras estruturas por fibras elásticas e fibras musculares³. A fáscia prostática é um tecido conjuntivo de várias camadas que compreende fibras colágenas, tecido adiposo, nervos e vasos sanguíneos e lateralmente se funde com a fáscia endopélvica ^{7, 25, 26}

Um dos grandes méritos do advento da prostatectomia radical por via laparoscópica e robótica foi a melhor visualização das estruturas durante a cirurgia em comparação com a cirurgia aberta, especialmente a facilidade de visualização da fáscia endopélvica. Isto permite ao cirurgião escolher o melhor plano nas camadas interfascial, intra-fascial ou extra-fascial, quando um processo de preservação nervosa é realizada ⁷. A relação entre a preservação da fáscia endopélvica e melhores índices de continência e potência pós-operatória tem sido descritos recentemente ^{27, 28}. Existem relatos que a não secção do ligamento puboprostático e consequente não abertura da fáscia endopélvica resultaria em melhores índices de função erétil e recuperação mais precoce da continência urinária ^{27, 28}.

A média da distância do ponto mais baixo da fáscia endopélvica até o ponto onde o ramo esfínteriano entrou no rabdoesfíncter foi 5,5 milímetros ^{27, 28, 29}. A preservação da fáscia ajuda a proteger o músculo levantador do ânus, rabdoesfíncter e ramos do nervo podendo para o rabdoesfíncter ^{27, 28, 29}.

Atualmente supõe-se que as estruturas neurovasculares estão localizadas na região póstero-lateral da próstata, na confluência da fáscia de Denonvilliers' com a fáscia endopélvica e pararretal ^{7, 25, 26}.

A dissecação intra-fascial durante a prostatectomia radical proporciona uma melhor preservação da inervação simpática, mas não das fibras parassimpáticas sem aumentar nem proporcionar maior lesão na cápsula prostática ³⁰. A fáscia endopélvica parietal e visceral funde-se na região lateral da próstata e da bexiga. Nesta fusão, a fáscia do músculo levantador se aproxima da próstata e, em seguida, volta-se

lateralmente ^{7, 25, 26}. Esta fusão é às vezes evidenciada como uma faixa esbranquiçada chamada arco tendíneo da fáscia endopélvica. A incisão da fáscia endopélvica é necessária para confirmar a gordura pré-retal, postero-lateral a próstata na dissecação extra-fascial ou para realização de procedimento sem preservação nervosa ²⁵.

Estudos prévios avaliaram a relação do tamanho da próstata e parâmetros histopatológicos e técnicos durante a prostatectomia radical. Pacientes submetidos a prostatectomia radical e portadores de próstatas maiores tem maior chance de apresentar câncer de próstata agressivo, bem como maior chance de apresentarem incontinência urinária no pós operatório ^{31, 32}. Próstatas maiores podem levar a alteração na anatomia apical que pode dificultar a dissecação durante a prostatectomia radical ³³. A forma e tamanho da próstata podem modificar significativamente a anatomia do feixe neuro-vascular, do esfíncter uretral, do complexo vascular dorsal, e dos ligamentos puboprostático e pubovesical ^{7, 33}. No entanto, a relação entre o tamanho prostático e a estrutura da fáscia pélvica parietal nunca havia sido descrito anteriormente.

Na nossa amostra não observamos diferenças na distribuição e quantificação das fibras do sistema elástico entre os três grupos apesar da menor quantidade de fibras do sistema elástico na fáscia endopélvica do grupo controle. O aumento da síntese de fibras do sistema elástico pode estar associada com excesso de distensão de um órgão ou estrutura, uma vez que também ocorre no tecido vesical durante a obstrução da saída da bexiga ^{34,35}. O aumento da concentração de fibras do sistema elástico nas próstatas com mais de 40 gramas, apesar de não ser significativa, pode ser um indício do processo de distensão nas fáscias pélvicas em virtude do crescimento prostático.

Observou-se uma diminuição da quantidade de fibras musculares lisas em pacientes com próstatas > 90g em relação ao grupo controle e também em relação aos com a próstata < 60g. Pode-se especular que a redução das fibras musculares lisas é o evento primário na formação de tecido fibroso, como descrito previamente ³⁶. Este evento, no nosso estudo, provavelmente está relacionado com o processo de distensão nas fáscias pélvicas que ocorre em virtude do crescimento prostático ou até mesmo da atrofia da musculatura podendo levar a incontinência urinária.

Já foi previamente mostrado que a presença de fibras esverdeadas está associada a fibras mais finas e que corresponde quase sempre ao colágeno tipo III ³⁷. Na nossa amostra, observamos predomínio de colágeno tipo III no grupo controle. Nas fases anteriores da remodelação e reparação de tecidos conjuntivos, a síntese de colágeno tipo III predomina. Deste modo, com base nestes resultados, sugere-se que a matriz de colágeno das próstatas maiores está alterada ou degradada em vez de fibrótico, que é consistente com o aumento da pressão hidrostática. No entanto, a análise quantitativa de colágeno III não mostrou alteração significativa entre os 3 grupos, apesar de o grupo controle apresentar também no método quantitativo uma maior concentração de colágeno III.

As principais limitações do presente estudo foram a impossibilidade técnica para a dosagem do colágeno I e a pequena amostra do grupo controle que foi de difícil obtenção.

CONCLUSÃO

No presente estudo, foram observadas diferenças importantes na estrutura da fáschia endopélvica em próstatas maiores, o que pode ser um fator a mais na avaliação pré-operatória da prostatectomia radical. Estudos futuros comparando os resultados cirúrgicos em relação ao peso da próstata são necessários para avaliar se estas alterações na fáschia endopélvica apresentam repercussão clínica significativa.

REFERÊNCIAS

1. P.C. Walsh, A.B. Retik, T.A. Stamey, E.D. Vaughan Jr. (Eds.), Campbell's Textbook of Urology (4th ed.), vol 3WB Saunders Co, Philadelphia (1992).
2. Brooks JD, Chao WM, Kerr J. Male pelvic anatomy reconstructed from the visible human data set. *J Urol.* 1998; Mar;159(3):868-872.
3. Hirata E, Fujiwara H, Hayashi S, Ohtsuka A, Abe S, Murakami G, Kudo Y: Intergender differences in histological architecture of the fascia pelvis parietalis: a cadaveric study. *Clin Anat.* 2011;24:469-477.
4. Raychaudhuri B, Cahill D. Pelvic fasciae in urology. *Ann R Coll Surg Engl.* 2008 Nov;90(8):633-637.
5. Myers RP. Practical surgical anatomy for radical prostatectomy. *Urol Clin North Am.* 2001; Aug;28(3):473-490.
6. Dasgupta P. Anatomic considerations during radical prostatectomy. *Eur Urol.* Feb;57(2):193-5.
7. Walz J, Burnett AL, Costello AJ *et al.* A critical analysis of the current knowledge of surgical anatomy related to optimization of cancer control and preservation of continence and erection in candidates for radical prostatectomy. *Eur. Urol.* 2010; 57: 179–192.
8. Junqueira,L; Carneiro,J.Histologia Básica. Texto e Atlas. Rio de Janeiro, RJ, Editora Guanabara Koogan S.A, 2013.
9. Bosman FT, Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular matrix. *J Pathol.* 2003; 200(4):423-8.
10. Ross, Michael H. Histologia: texto e atlas. Em correlação com a biologia celular e molecular / Michael H. Ross, Wojciech Pawlina; [revisão técnica Jorge Mamede de Almeida; tradução Antonio Francisco Dieb Paulo, Fernando Diniz Mundim, José Eduardo Ferreira de Figueiredo]. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; Buenos Aires [Argentina]: Editorial Médica Panamericana, 2012 il.
11. Zern MA and Reid LM. Extracellular matrix: chemistry, biology and pathobiology with emphasis on the liver. Marcel Decker, Inc. New York; 1993.
12. Miller EJ and Gay S. Wound Healing: biochemical and clinical aspects (ed . I. K. Cohen, R. F. Diegelmann, and W.J. Lindblad, Saunders, Philadelphia. 1992: pp. 130-151.

13. Kunn K. Structure and function of collagen types. (ed R. Mayne and R.E. Burgueson). Academic Press, Orlando.1987; pp 261-281.
14. Sage H, and Bornstein, P. In Strucutre and function of collagen types (Ed R Mayne and R. E. Burgeson), Academic Press, Orlando. 1987: pp 173-194.
15. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin. Jan-Feb;62(1):10-29.
16. Greene DE, Mayadev JS, Valicenti RK. Radiation treatment for patients with intermediate-risk prostate cancer. Ther Adv Urol. Jun;4(3):113-124.
17. Bianco FJ, Jr., Scardino PT, Eastham JA. Radical prostatectomy: long-term cancer control and recovery of sexual and urinary function ("trifecta"). Urology. 2005 Nov;66(5 Suppl):83-94.
18. Takenaka A, Tewari AK. Anatomical basis for carrying out a state-of-the-art radical prostatectomy. Int J Urol. Jan;19(1):7-19.
19. Yoo TK, Cho HJ. Benign prostatic hyperplasia: from bench to clinic. Korean J Urol. Mar;53(3):139-148.
20. Marberger M. Medical management of lower urinary tract symptoms in men with benign prostatic enlargement. Adv Ther. 2013 Apr;30(4):309-319.
21. Oelke M, Bachmann A, Descazeaud A, Emberton M, Gravas S, Michel MC, N'dow J, Nordling J, de la Rosette JJ; European Association of Urology. EAU guidelines on the treatment and follow-up of non-neurogenic male lower urinary tract symptoms including benign prostatic obstruction. Eur Urol. 2013 Jul;64(1):118-140.
22. Behmer, Oswaldo Arruda. Manual de Técnicas para Histologia normal e patológica./Oswaldo Arruda Behmer, Erasmo Magalhães Castro de Tolosa, Antonio Geraldo de Freitas Neto, Consuelo Junqueira Rodrigues. 2.ed-Barueri, SP:Manoli, 2003.
23. Bancroft J.D e Cook H.C. Connective tissues.Em Manual of Histological Techniques And Their Diagnostic Application. Primeira ed.Churchill. Livingstone. Edinburgh. 1994,pp42.
24. Chagas MA, Babinski MA, Costa WS, et al: Stromal and acinar components of the transition zone in normal and hyperplastic human prostate. BJU Int, 89:699, 2002;) Cavalcanti AG, Costa WS, Baskim LS, McAninch JA, Sampaio FJ. A morphometric analysis of bulbar urethral strictures. BJU Int 2007;100: 397-402.
25. Hinata N, Sejima T, Takenaka A: Progress in pelvic anatomy from the viewpoint of radical prostatectomy. Int J Urol. 2013: 20:260-270.

26. Patel VR, Schatloff O, Chauhan S *et al*. The role of the prostatic vasculature as a landmark for nerve sparing during robot-assisted radical prostatectomy. *Eur. Urol.* 2012; 61: 571–5766.
27. Takenaka A, Hara R, Soga H, Murakami G, Fujisawa M: A novel technique for approaching the endopelvic fascia in retropubic radical prostatectomy, based on an anatomical study of fixed and fresh cadavers. *BJU Int.* 2005; 95: 766-771.
28. Takenaka A, Tewari AK, Leung RA, Bigelow K, El Tabey N, Murakami G, Fujisawa M: Preservation of the puboprostatic collar and puboperineoplasty for early recovery of urinary continence after robotic prostatectomy: anatomic basis and preliminary outcomes. *Eur Urol.* 2007; 51:433-440.
29. Tewari A, Takenaka A, Mtui E, Horninger W, Peschel R, Bartsch G, Vaughan ED. The proximal neurovascular plate and the tri-zonal neural architecture around the prostate gland: importance in the athermal robotic technique of nerve-sparing prostatectomy. *BJU Int.* 2006 Aug;98(2):314-322.
30. Rifaloglu MM, Davarci M, Ozgur T, Ozkanli S, Ozdes MI, Onem K, Balbay MD: Histopathologic evaluation of neurovascular bundles and periprostatic tissue in interfascial and intrafascial nerve-sparing radical prostatectomy technique: A cadaveric anatomic study. *Urol.* 2013; 82: 948-954.
31. Hong SK, Poon BY, Sjoberg DD, Scardino T, Eastham JA: Prostate size and adverse pathologic features in men undergoing radical prostatectomy. *Urology*, 2014; 84:153-157.
32. Skeldon SC, Gani J, Evans A, Van Der Kwast T, Radomski SB. Striated muscle in the prostatic apex: does the amount in radical prostatectomy specimens predict postprostatectomy urinary incontinence?. *Urology*. 2014;83(4):888-92.
33. Myers RP, Goeliner JR, Cahil DR: *J Urol*, 1987; 138: 543-550.
34. Cortivo R, Pagano F, Passerini G, et al: Elastin and collagen in the normal and obstructed urinary bladder. *Br J Urol.* 1981; 53: 134-137.
35. Gosling JA: Modification of bladder structure in response to outflow obstruction and ageing. *Eur Urol.* 1997; 32 (suppl 1): 9-14.
36. Tostes GD, Costa SF, Carvalho JP, Costa WS, Sampaio FJ, Favorito LA: Structural analysis of testicular appendices in patients with cryptorchidism. *Int Braz J Urol*, 2013. 39: 240-247.
37. Shiki T: Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. *Arch Histol Cytol.* 2002; 65: 109-126.

APÊNDICE - Artigo aceito pela revista na íntegra

**STRUCTURAL STUDY OF ENDOPELVIC FASCIA IN
PROSTATES OF DIFFERENT WEIGHTS – ANATOMIC
STUDY APPLIED TO RADICAL PROSTATECTOMY
(Estudo estrutural da fascia endopelvica em
prostatas de diferentes pesos – Estudo anatomico
aplicado a prostatectomia)**

Helce Riberio Julio Junior ^I, Suelen Freitas Costa^I, Waldemar Silva
Costa ^{II}, Francisco Jose Barcellos Sampaio ^{III}, Luciano Alves Favorito ^{IV}

^I Fellow PhD degree, Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro-RJ, Brazil. Performed the experiment, wrote the manuscript, read and approved the final manuscript

^{II} Fellow PhD degree, Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro-RJ, Brazil. Performed the experiment, read and approved the final manuscript

^{III} Associate Professor, Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro-RJ, Brazil. Supervised all parts of the experiment, read and approved the final manuscript

^{III} Full Professor and Chief, Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro-RJ, Brazil. Designed the study, read and approved the final manuscript

^{IV} Associate Professor, Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro-RJ, Brazil. Designed the study, supervised all parts of the experiment, wrote the manuscript, read and approved the final manuscript

Key-words: Endopelvic Fascia, Prostate, Histology, Radical Prostatectomy.

ABSTRACT

PURPOSE: To study the structure of the endopelvic fascia in prostates of different weights.

METHODS: We studied 10 patients with BPH (prostates >90g); 10 patients with prostate adenocarcinoma(PAC) (prostates <60g) and 5 young male cadavers (control group). During the surgery a small sample of endopelvic fascia was obtained. We analysed elastic fibers, collagen and smooth muscle. The stereological analysis was done with the Image Pro and Image J programs. Means were statistically compared using the one-way ANOVA with the Bonferroni test and a p-value < 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS: The mean of the prostate weight was 122 g in BPH patients, 53.1g in PAC patients and 18.6g in control group. Quantitative analysis documented that there are no differences (p=0.19) in Vv of elastic fibers and in Vv of type III collagen (p=0.88) between the three groups. There was a significant difference (p=0<0.0001) in the quantification of SMC in patients with prostates >90g (mean=9.61%) when compared to patients with prostates <60g (mean = 17.92%) and with the control group (mean=33.35%).

CONCLUSION: We observed some important differences in endopelvic fascia structure in prostates >90g, which can be an additional factor for pre-operative evaluation of radical prostatectomy.

Introduction

The endopelvic fascia is the outer layer of the parietal pelvic fascia¹. It covers the obturator internus, piriformis, levator ani and coccygeus muscles, is continuous with the transversalis fascia and is fused to the periosteum of the pubic bone¹. Knowledge and proper identification of the pelvic fascias during radical prostatectomy is very important to enable the surgeon to preserve the nerve structures and consequently maintain the patient's potency and urinary continence².

Recent studies have shown that preservation of the endopelvic fascia allows earlier recovery of urinary continence^{3,4}, which is explained by the small distance between the endopelvic fascia and the nerves going to the rhabdosphincter³ and also because the endopelvic fascia is close to the neurovascular bundle⁵.

Although there have been several structural studies of the endopelvic fascia and its relation with incontinence e prolapse in women^{6,7}, studies of the endopelvic fascia in men are rare⁸. Despite indications that preservation of the endopelvic fascia during robotic prostatectomies results in improved continence, there are not published studies analyzing the relation between structural features of the endopelvic fascia and prostate weight.

However, it was observed that the weight of the prostate is significantly related to the prevalence of urinary incontinence in post-operative patients undergoing radical prostatectomy⁹.

The objective of this study is to analyze the structure of the endopelvic fascia in patients with prostate weight below 60 grams, above 90 grams and in young cadavers and to ascertain whether larger prostates cause structural alterations in the endopelvic fascia which can lead to urinary incontinency after radical prostatectomy.

MATERIAL AND METHODS

This study was carried out in accordance with the ethical standards of the hospital's institutional committee on human experimentation.

We studied 10 patients with benign prostatic hyperplasia (BPH) (54 to 82 years old, mean=67.7) submitted to open retropubic prostatectomies and with prostates heavier than 90 grams (g); 10 patients with prostate adenocarcinoma (PAC) (56 to 70 years old, mean=63.9) submitted to open radical prostatectomy and with prostates weighing under 60 g; and 5 young male cadavers that were dissected and had small prostates (less than 30 g). The endopelvic fascia was dissected during the surgeries and a small sample was obtained for histological analysis. The weight of the adenoma in BPH patients, PAC patients and cadavers was determined with a precision scale.

The endopelvic fascia was separated from the other structures and fixed in 10% buffered formalin, and routinely processed for paraffin embedding, after which 5- μ m thick sections were obtained at 200- μ m intervals. Smooth muscle and connective tissue, elastic system fibers and collagen were studied by histochemical and immunohistochemical methods.

Sections were stained with hematoxylin-eosin to assess the integrity of the tissue. The following staining methods were used: Masson's trichrome, to quantify connective and smooth muscle tissue; Weigert resorcin fuchsin with previous oxidation to observe elastic system fibers; and picrosirius red with polarization for observation of different collagen types. The immunohistochemical analysis of type III collagen was done with the avidin-biotin (ABC) method with positive and negative controls (mouse monoclonal collagen III ABCAM).

Connective tissue, smooth muscle tissue and elastic system fibers were quantified by a stereological method^{10,11}. This involved observation of five microscopic fields chosen at random, for a total of 25 test areas studied for each endopelvic fascia for the quantitative analysis. We used the Image J software, version 1.46r, loaded with its own plug-in (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). All sections were photographed with a digital camera (DP70, Olympus America, Inc., Melville, New York) under the same conditions at a resolution of 2.040 pixels, directly coupled to the microscope (BX51, Olympus America, Inc.) and stored in a TIFF file. To quantify the smooth muscle tissue, we used the Color Segmentation function of the Image J software, where the program selects structures of different colors and calculates the amount of each component.

To quantify the elastic fibers and collagen, we used the Image J software to determine the volumetric density (Vv) of each component (Figure 1). Results for each field were obtained through the quantification assessment method, by superimposing a 100-point test grid (multipurpose test system) on the video monitor screen. The arithmetic mean of the quantification in five fields of each section was determined. Afterwards, we obtained the mean quantification value for the five sections studied from each endopelvic fascia fragment (total of 25 test areas).

Means were statistically compared using the one-way ANOVA with the Bonferroni test and a p-value < 0.05 was considered statistically significant.

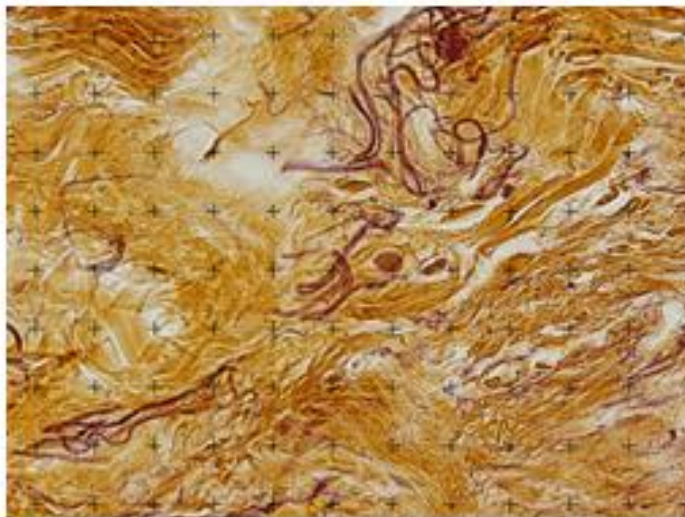


Figure 1: Morphometric analysis of the endopelvic fascia. The photomicrograph shows the quantification of elastic fibers of the endopelvic fascia in a prostate heavier than 90 g using the Image J Test grid software. Weigert stain x200.

Results

Table 1 reports the age of the patients, PSA value, prostate volume, and mean and standard deviation (SD) of quantitative data on elastic fibers, SMC and type III collagen. The patients with BPH had prostate weights between 90 and 196 g (mean=122g), ranged in ages between 54 and 82 years-old (mean=67) and had PSA values varying from 1.94 to 22 ng/dL (mean=8.6). The patients CAP had prostate weights between 40 and 62 g (mean=42.3g), ranged in ages between 56 and 70 years-old (mean=64) and had PSA values from 6.18 to 32.94 ng/dL (mean=11.89). The patients of the control group ranged in ages between 17 and 30 years old (mean=24.4) and had prostate weights between 14 g and 22 g (mean= 18.6 g).

Quantitative analysis documented that Vv of SMC were significantly smaller ($p<0.0001$) in patients with prostates >90 g (mean=9.61%, SD = 4.16%) when compared to patients with prostates <60 g (mean = 17.82%, SD = 5.08%) and with the control group (mean=33.35%, SD = 3.44%). The patients with prostates <60 g also had lower SMC values than the control group ($p<0.0001$).

Table 1: The table shows the age of the patients, PSA (prostate specific antigen) value, prostate weight (PW) in grams (g), and the mean of volumetric density (Vv) of quantitative data on elastic fibers, BMC and type III collagen of the three groups studied: G1 – patients with prostates >90g; G2 – Patients with prostates <60g and G3 – Control group (young male cadavers).

GROUP #	AGE(years)	PSA(ng/dl)	PW (g)	Elastic Fibers (Vv)	BMC (Vv)	Collagen III (Vv)
G1	67	9.19	40	67.26%	18%	27.00%
G1	65	14.52	40	65.80%	17.33%	1.50%
G1	65	6.18	48	31.00%	18.87%	19.00%
G1	65	6.4	50	50.93%	24.50%	29.00%
G1	59	6.53	56	26.20%	19.68%	3.25%
G1	67	7.76	58	20.60%	24.28%	0.00%
G1	70	13	58	70.26%	19.77%	3.25%
G1	57	9.62	59	65.80%	9.44%	9.70%
G1	68	12.83	60	37.93%	13.18%	13.00%
G1	56	32.94	62	60.93%	13.36%	26.70%
G2	63	5.1	90	74.46%	11.34%	41.40%
G2	57	6.48	92	74.73%	6.34%	3.20%
G2	82	5.12	97	72.86%	13.01%	8.90%
G2	62	7.24	102	34.73%	9.60%	18.80%
G2	79	13	109	34.13%	6.74%	11.40%
G2	71	1.94	110	9.73%	10.31%	11.60%
G2	65	10.79	132	37.00%	4.68%	0.00%
G2	54	9.8	140	57.33%	18.05%	13.80%
G2	66	5.29	152	7.73%	9.51%	5.60%
G2	78	22	196	44.70%	6.52%	0.00%
G3	17	-	14	22.26%	32.45%	25.0%
G3	23	-	18	22.20%	33.33%	12.4%
G3	25	-	19	20.46%	31.53%	23.0%
G3	27	-	20	46.60%	38.43%	37.4%
G3	30	-	22	22.20%	30.99%	0.0%

Quantitative analysis documented no differences ($p=0.19$) in Vv of elastic fibers in patients with prostates >90 g (mean=44.74%; SD=26.46%) when compared to patients with prostates <60 g (mean =49.67%, SD=19.04%) and with the control group (mean=27.73%, SD= 10.84%).

Quantitative analysis also demonstrated no differences ($p=0.88$) in Vv of collagen III fibers in patients with prostates > 90g (mean=11.48%; SD=12.88%), in relation to the patients with prostates <60 g (mean=13.24%; SD=11.44%) and with the control

group (mean=19.56%; SD= 14.09%). The patients with prostates <60g also did not present any difference in the quantity of collagen III fibers in comparison with the control group.

Picrosirius red with polarization photomicrographs revealed a difference in colors between the groups. There was predominance of green in the endopelvic fascia of the control group, suggesting type III collagen presence, and predominance of red in the endopelvic fascia in prostates with >90g and <60g, suggesting type I collagen presence in these groups. The Figure 2 shows a graph of the quantification of elastic fibers, collagen and SMC.

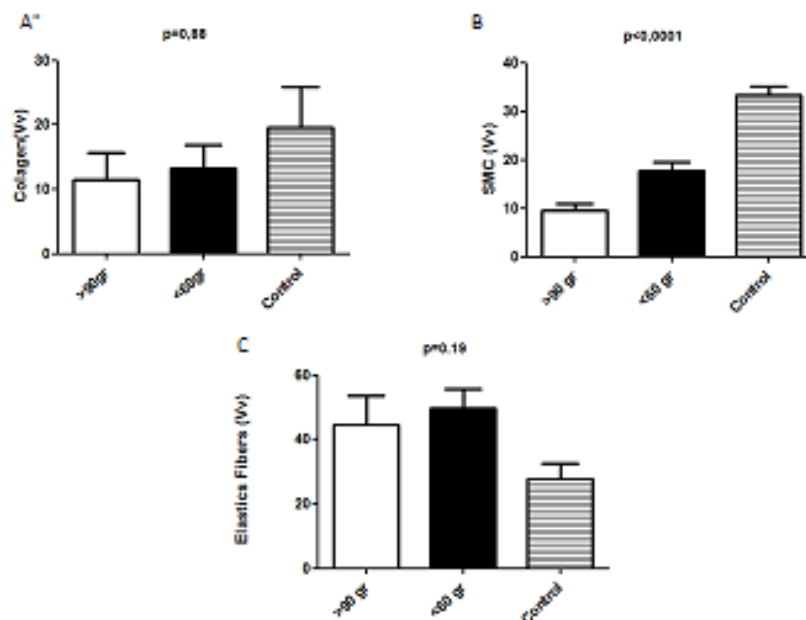


Figure 2: Graph of the quantity of elastic fibers, SMC and collagen. Vv – volumetric density SMC – smooth muscle fiber cells.

Discussion

The thin fascia overlying the levator ani and lateral pelvic fascia represented the true endopelvic fascia. Previous studies have shown that the parietal fascia in a male's pelvis is a multilayered structure that comprises elastic fibers and smooth muscles³. The prostatic fascia is a multilayered connective tissue that comprises collagenous fibers, fat tissues, nerves and blood vessels. Laterally it fuses with the endopelvic fascia¹²⁻¹⁴.

One of the great merits of the advent of radical prostatectomy by laparoscopy and robotics is the better visualization of the structures during surgery, in contrast to open surgery, especially the ability to confirm the structure of the prostatic fascia. This enables the surgeon to select the best layer among the inter-fascial, intra-fascial or extra-fascial when a nerve-sparing procedure is carried out³. The positive relation between preserving the endopelvic fascia and postoperative continence and potency indices has been described recently^{3,5}. The pubo-prostatic ligament-sparing procedure, carried out by avoiding incision of the endopelvic fascia, is expected to result in improved early postoperative recovery of continence and erectile function^{3,5}.

The mean distance from the lowest point of the endopelvic fascia to the point where the sphincteric branch enters the rhabdosphincter was 5.5 mm^{2,3,12}. Preservation of the fascia helps to protect the levator ani muscle, rhabdosphincter and pudendal nerve branches to the rhabdosphincter^{2,3,12}. The current consensus, therefore, is that the neurovascular structures are located in the postero-lateral region of the prostate, at the confluence of Denonvilliers' fascia with the endopelvic and pararectal fascia¹²⁻¹⁴.

Intra-fascial dissection during radical prostatectomy allows better preservation of the sympathetic innervation but not of the parasympathetic fibers, without increasing surgical injuries of the prostate capsule¹⁴. The parietal and visceral endopelvic fascia is fused on the lateral side of the prostate and bladder. In this fusion, the levator fascia approaches the prostate and then turns back laterally¹²⁻¹⁴. This fusion site is sometimes recognized as a whitish line and is called the arcus tendineus fascia pelvis. An incision in the endopelvic fascia is necessary to confirm the presence of pre-rectal fat postero-lateral to the prostate in extra-fascial dissection or non-nerve-sparing procedures¹².

Previous studies have investigated the relation of the prostate size and, histopathological parameters and techniques during radical prostatectomy. Patients submitted to radical prostatectomy who have enlarged prostates have a greater chance of presenting aggressive prostate

cancer and higher rates of urinary incontinence after surgery^{8,17}. Larger prostates can lead to changes in the apical anatomy that can hamper dissection during the radical prostatectomy^{8,18}. The shape and size of the prostate can significantly modify the anatomy of the NVE, urethral sphincter, dorsal vascular complex and pubovesical (puboprostatic) ligaments^{12,18}. However, the relation between prostate size and the pelvic fascia structure has never been described before.

In our sample we did not observe differences in distribution and quantification of elastic fibers between the three groups, despite the lower quantity of elastic fibers in the endopelvic fascia of the control group. The increased synthesis of elastic fibers may be associated with excessive distension of an organ or structure, as this also occurs in the vesical tissue during bladder outlet obstruction^{19,20}. The increased concentration of elastic fibers in prostates weighing more than 40 grams, although not significant, might be an indication of a distension process in the pelvic fascias due to prostate enlargement.

We observed a decrease in the quantity of smooth muscle fibers in the patients with prostates > 90 g in relation to the control group and also in relation to the prostates weighing < than 60 g. We can speculate that smooth muscle fiber reduction is the primary event in fibrotic tissue formation, as described previously²¹. This event in our study is probably

correlated to a distension process in the pelvic fascias, which occurs because of prostate enlargement or muscle atrophy that can lead to urinary incontinency.

It has been variously shown that a shift towards greenish color in the picrosirius polarization method is associated with less organized and/or degraded collagen²². In our sample, we observed a predominance of type III collagen in the control group. In earlier phases of the remodeling and repair of connective tissues, the synthesis of type III collagen is enhanced. Thus, based on these findings, the results of the collagen structure suggest that the collagen matrix of the bigger prostates is disrupted or degraded rather than fibrotic, a finding that is consistent with higher hydrostatic pressure. However, the quantitative analysis of type III collagen did not show a significant change between the three groups, although the control group also a higher concentration of type III collagen in the quantitative analysis.

The main limitations of this study were the technical impossibility of measuring the quantity of type I collagen and the small control group sample, due to the difficulty of obtaining suitable cadavers.

Conclusion

We observed important structural differences in the endopelvic fascia in larger prostates, which can be another factor in preoperative evaluation of radical prostatectomy and that can predict increased chance of urinary incontinence. Future studies comparing the surgical outcomes in relation to prostate weight are necessary to assess whether these changes in the endopelvic fascia will have really clinical repercussion .

References

- 1) Raychaudhuri B, Cahill D. Pelvic fasciae in urology. *Ann R Coll Surg Engl.* 2008 Nov; 90 (8): 633-37. doi: 10.1308/003588408X321611.
- 2) Cornu JN, Phé V, Fournier G, Delmas V, Sèbe P. Fascia surrounding the prostate: clinical and anatomical basis of the nerve-sparing radical prostatectomy. *Surg Radiol Anat.* 2010; Aug; 32(7): 663-67. doi: 10.1007/s00276-010-0668-7.
- 3) Takenaka A, Hara R, Soga H, Murakami G, Fujisawa M. A novel technique for approaching the endopelvic fascia in retropubic radical prostatectomy, based on an anatomical study of fixed and fresh cadavers. *BJU Int.* 2005 Apr; 95 (6): 766-71. PMID: 15794779
- 4) Vora AA, Dajani D, Lynch JH, Kowalczyk KJ. Anatomic and technical considerations for optimizing recovery of urinary function during robotic-assisted radical prostatectomy. *Curr Opin Urol.* 2013 Jan; 23 (1):78-87. doi: 10.1097/MOU.0b013e32835b0ae5.
- 5) Takenaka A, Tewari AK, Leung RA, Bigelow K, El Tabey N, Murakami G, Fujisawa M. Preservation of the puboprostatic collar and puboperineoplasty for early recovery of urinary continence after robotic prostatectomy: anatomic basis and preliminary outcomes. *Eur Urol.* 2007 Feb; 51 (2):433-40. PMID: 16904817.
- 6) Čór A, Barbic M, Kralj B. Differences in the quantity of elastic fibres and collagen type I and type III in endopelvic fascia between women with

- stress urinary incontinence and controls. *Urol Res.* 2003 Jun; 31 (2): 61-5. PMID: 12677309
- 7) Klutke J, Ji Q, Campeau J, Starcher B, Felix JC, Stanczyk FZ, Klutke C. Decreased endopelvic fascia elastin content in uterine prolapse. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008; 87(1): 111-15. PMID: 18158636
- 8) Hirata E, Fujiwara H, Hayashi S, Ohtsuka A, Abe S, Murakami G, Kudo Y. Intergender differences in histological architecture of the fascia pelvis parietalis: a cadaveric study. *Clin Anat.* 2011 May; 24 (4): 469-77. doi: 10.1002/ca.21042
- 9) Skeldon SC, Gani J, Evans A, Van Der Kwast T, Radomski SB. Striated muscle in the prostatic apex: does the amount in radical prostatectomy specimens predict postprostatectomy urinary incontinence? *Urology.* 2014 Apr; 83(4): 888-92. doi: 10.1016/j.urology.2013.12.055.
- 10) Chagas MA, Babinski MA, Costa WS, Sampaio FJ. Stromal and acinar components of the transition zone in normal and hyperplastic human prostate. *BJU Int.* 2002 May; 89 (7): 699-02. PMID: 11966627.
- 11) Cavalcanti AG, Costa WS, Baskin LS, McAninch JA, Sampaio FJ. A morphometric analysis of bulbar urethral strictures. *BJU Int* 2007 Aug; 100 (2): 397-02. PMID: 17617144.
- 12) Hinata N, Sejima T, Takenaka A. Progress in pelvic anatomy from the viewpoint of radical prostatectomy. *Int J Urol.* 2013 Mar; 20 (3): 260-70. doi: 10.1111/iju.12021.

prostatectomy technique: A cadaveric anatomic study. *Urol*. 2013 Oct; 82(4): 948-54. doi: 10.1016/j.urology.2013.06.012.

17) Hong SK, Poon BY, Sjoberg DD, Scardino T, Eastham JA. Prostate size and adverse pathologic features in men undergoing radical prostatectomy. *Urology*, 2014 Jul. 84(1): 153-57. doi: 10.1016/j.urology.2014.04.006.

18) Myers RP, Goeliner JR, Cahil DR. Prostate shape external striated urethral sphincter and radical prostatectomy: the apical dissection. *J Urol*, 1987 Sep; 138 (3): 543-50. PMID: 3625855.

19) Cortivo R, Pagano F, Passerini G, Abatangelo G, Castellani I. Elastin and collagen in the normal and obstructed urinary bladder. *Br J Urol*. 1981 Apr; 53 (2): 134-37. PMID: 7237045.

20) Gosling JA. Modification of bladder structure in response to outflow obstruction and ageing. *Eur Urol*. 1997; 32 (suppl 1): 9-14. PMID: 9218937.

21) Tostes GD, Costa SF, Carvalho JP, Costa WS, Sampaio FJ, Favorito LA. Structural analysis of testicular appendices in patients with cryptorchidism. *Int Braz J Urol*, 2013 Mar-Apr. 39(2): 240-47. doi: 10.1590/S1677-5538.

22) Ushiki T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. *Arch Histol Cytol*. 2002 Jun; 65 (2): 109-26. PMID: 12164335.

Acknowledgments

This study was supported by grants from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq - Brazil) and the Rio de Janeiro State Research Foundation (FAPERJ).

Corresponding Address:

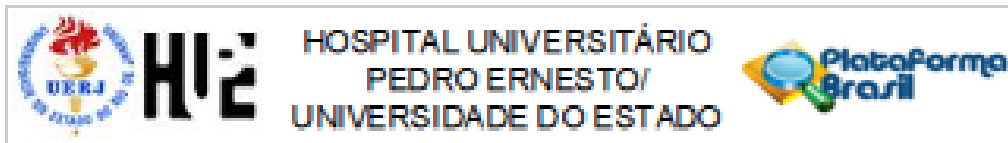
Luciano Alves Favorito, Rua Professor Gabizo, 104/201 - Tijuca - Rio de Janeiro -RJ - Brazil CEP: 20271-320. Telephone number: 55(21) 22644679/Fax number: 55(21) 38718802. E-mail: lufavorito@yahoo.com.br

Disclosure: none

Financial source: none

**Research performed at the Urogenital Research Unit - State
University of Rio de Janeiro – Brazil ¹**

ANEXO A – Parecer do comitê de ética em pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE MORFOLÓGICA DA FÁSCIA ENDOPÉLVICA EM PACIENTES PORTADORES DE ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA E HIPERPLASIA PRÓSTATICA BENIGNA (HPB).

Pesquisador: HELCE RIBEIRO JULIO JUNIOR

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 16365313.7.0000.5258

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: FUND. COORD. DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUP
FUN. CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 500.067

Data da Relatoria: 11/12/2013

Apresentação do Projeto:

O objetivo do trabalho é analisar as alterações morfológicas da fásia endopélvica de pacientes portadores de câncer de próstata e hiperplasia prostática benigna. Serão estudadas 10 amostras de fásia endopélvica peri-prostática direita de pacientes portadores de hiperplasia prostática benigna e 10 amostras de pacientes com câncer de próstata. Estas amostras serão submetidas a análises histoquímicas e imunohistoquímicas e análises estruturais, objetivando o estudo do colágeno, fibras do sistema elástico e músculo liso.

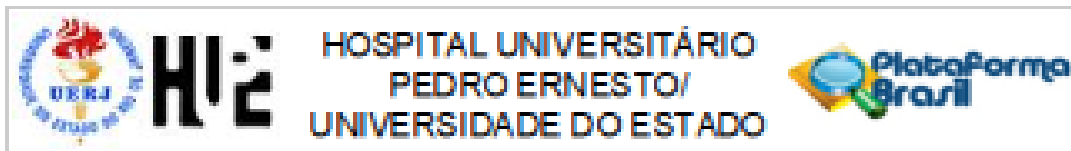
Objetivo da Pesquisa:

Avaliação morfológica da fásia endopélvica de pacientes com neoplasia de próstata e pacientes com hiperplasia prostática benigna em busca de diferenças estruturais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: A pesquisa não traz nenhum risco para os pacientes. Os riscos existentes já são inerentes ao tratamento proposto para os pacientes. **Benefícios:** Os benefícios já são os inerentes ao tratamento proposto para os pacientes.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Maracanã **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21) 2555-0253 **Fax:** (21) 2554-0853 **E-mail:** cep-hue@uerj.br



Continuação do Parecer: 5000017

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão retirados fragmentos da fâscia endopélvica do lado direito da próstata de pacientes com neoplasia e portadores de HPB. Esse procedimento faz parte do ato cirúrgico e não prejudica de nenhuma forma os pacientes. Posteriormente estes fragmentos serão submetidos a análises histoquímicas e imunohistoquímicas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

= Foram analisadas as documentações e as mesmas se encontram dentro das normas.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram atendidas as solicitações do parecer anterior.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

RIO DE JANEIRO, 18 de Dezembro de 2013

Assinador por:
ANTÔNIO FELIPE SANJULIANI
 (Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Tijuca
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2558-8253 Fax: (21)2554-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br

ANEXO B –Termo de consentimento livre e esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****PESQUISADOR RESPONSÁVEL:**

Dr: Helce Ribeiro Julio Junior

CRM: 5280011-2

Telefone de contato: (21) 2868 8399

O senhor está sendo convidado como voluntário a participar da pesquisa intitulada "Análise Morfológica da Fáschia endopélvica de pacientes portadores de Adenocarcinoma de Próstata (Câncer) e Hiperplasia Prostática Benigna (aumento do volume prostático)", que será desenvolvida na Unidade de Pesquisa Urogenital da Universidade do Estado do Rio de Janeiro e que não haverá prejuízo algum para o diagnóstico definitivo da sua patologia(doença).

Para este estudo será utilizado um fragmento (pedacinho) da fáschia endopélvica (um tipo de pele que cobre a sua próstata) que sempre é retirada junto com a próstata e não prejudica em nada a cirurgia (retirada total ou parcial da próstata para o tratamento do câncer ou do aumento do volume prostático). O objetivo deste trabalho é o estudo das estruturas que fazem parte desta fáschia, de modo a facilitar o entendimento de como ocorrem essas doenças e facilitar seu tratamento.

O procedimento que o senhor será submetido consiste em uma cirurgia para retirada do adenoma prostático (miolo da próstata) caso apresente apenas o aumento do volume, ou retirada total da próstata no caso de câncer. Nos dois casos é necessária a abertura da fáschia endopélvica e a retirada de um fragmento da mesma para avaliação histopatológica (confirmação do câncer ou ausência do mesmo).

Para participar deste estudo o senhor não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. O senhor será esclarecido sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O senhor não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Eu, _____
_____ fui informado dos objetivos do estudo "Análise Morfológica da Fásia endopélvica de pacientes portadores de Adenocarcinoma de Próstata e Hiperplasia Prostática Benigna", de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Rio de Janeiro _____ de _____ de 20__.

Assinatura do participante

Assinatura da testemunha

Assinatura do Pesquisador

ANEXO C- Comprovante do aceite da revista Acta Cirurgica Brasileira

De: luciano favorito [<mailto:lufavorito@yahoo.com.br>]
Enviada em: quinta-feira, 6 de novembro de 2014 19:37
Para: Saul Goldenberg
Assunto: Re: RES: paper to acta cirurgica

Dear Editor

I make the alterations

Thanks for your attention

Attached I send the paper again

Sincerely yours

Luciano A. Favorito

Em Quinta-feira, 6 de Novembro de 2014 12:20, Saul Goldenberg <sgolden@terra.com.br> escreveu:

Luciano A. Favorito MD,PhD

Atendida a solicitação o artigo estará agendado para abril de 2015.

Conforme norma da revista o nome dos autores deve ser completo:

Helce R.J.Junior ^I, Suelen F. Costa ^{II}, Waldemar S.Costa ^{III}, Francisco JB Sampaio ^{IV}, Luciano A. Favorito ^V

Conforme norma da revista: Ao invés de PhD student deve ser Fellow PhD degree, designação do Programa de Pós-graduação de acordo com a CAPES.

Conforme norma da revista: ambos os autores designados abaixo tem a mesma titulação e contribuição. Devem receber ambos a mesma numeração

sobrescrita.^I

^IPhD student, Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro-RJ, Brazil. Performed the experiment, wrote the manuscript, read and approved the final manuscript

^{II}: PhD student, Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro-RJ, Brazil. Performed the experiment, read and approved the final manuscript

Confirmar recebimento.

Att.

Prof. Saul

De: luciano favorito [<mailto:lufavorito@yahoo.com.br>]
Enviada em: quarta-feira, 5 de novembro de 2014 20:07
Para: sgolden@terra.com.br
Assunto: paper to acta cirurgica

Dear Professor Saul

Attached is a copy of the manuscript : STRUCTURAL STUDY OF ENDOPELVIC FASCIA IN PROSTATES OF DIFFERENT WEIGHTS – ANATOMIC STUDY APPLIED TO RADICAL PROSTATECTOMY.

To possible publication in acta cirurgica

Sincerely Yours

Luciano A. Favorito MD,PhD