

Avaliação citopatológica da mucosa vaginal de camundongas tratadas com um antiandrogênico

Larissa Incerti Santos de CARVALHO¹
Ramon Alves de Oliveira PAULA²
Deila Rosély CARNEIRO³

¹ Farmacêutica pela Universidade Federal de Alfenas. E-mail: larissaiscarvalho@gmail.com

² Graduando em Farmácia pela Universidade Federal de Alfenas. E-mail: ramon-alves@hotmail.com

³ Médica Veterinária. Professora associada da Universidade Federal de Alfenas. E-mail: deilarc@bol.com.br

Recebido em: 26/05/2013 - Aprovado em: 30/07/2013 - Disponibilizado em: 15/08/2013

RESUMO: A flutamida é um antiandrogênico não esteroidal, indicado para tratamento do câncer de próstata. O registro de produtos à base dessa substância na França e Estados Unidos, dentre outros países, não prevê seu uso em pacientes do sexo feminino. No Brasil, entretanto, existem relatos do uso de flutamida por mulheres, restrita à prescrição médica, para tratamento da acne, alopecia (queda de cabelo) e hirsutismo (excesso de pêlos no corpo ou no rosto), visto que a referida substância promove o bloqueio do receptor de andrógenos, interfere com a captação celular de testosterona e DHT e aumenta o metabolismo de andrógenos. Considerando os possíveis efeitos da flutamida na sincronização do ciclo estral dos mamíferos domésticos e sua crescente utilização por mulheres nas situações citadas anteriormente, o presente estudo teve por objetivo verificar os aspectos citopatológicos da vagina de camundongas tratadas a curto prazo com flutamida, sendo este um parâmetro importante na avaliação da função reprodutiva feminina. Não foram observadas alterações significativas na duração das fases do ciclo estral das camundongas tratadas, porém mais estudos devem ser feitos para que se afirme com certeza a existência ou não de efeitos sobre o ciclo, uma vez que vários fatores, como o tempo de tratamento e a dose administrada, podem ter sido limitantes para o aparecimento dos efeitos nocivos.

Palavras-chave: Flutamida. Antiandrogênios. Ciclo estral. Reprodução. Hirsutismo.

Cytopathologic evaluation of vaginal mucosa of mice treated with an antiandrogen

ABSTRACT: The flutamide is a nonsteroidal antiandrogen, nominated for the prostate cancer treatment. The registration of products made of this substance in France and the United States, among other countries, doesn't foresee its use in female patient. In Brazil, however, there are reports of the flutamide use by women, restricted to the medical prescription, for treatment of the acne, alopecia (hair fall) and hirsutism (excess of hair in the body or in the face), since this substance promotes the blocking of the androgen receptor, it interferes with the cellular reception of testosterone and DHT and increases the metabolism of androgen. Considering the possible effects of the flutamide in the estrous cycle synchronization of domestic mammals and its increasing use by women in the previously mentioned situations, the present study had for objective to check the cytological aspects of the vagina of mice treated with flutamide in the short term, being this an important parameter in the feminine reproductive function evaluation. Significant alterations were not observed in the estrous cycle phases duration of the mice treated, however more studies should be made for being affirmed with certainty the existence or not of effects on the cycle, once that several factors, as the time of treatment and the administered dose, might have been limiting for the emergence of the noxious effects.

Keywords: Flutamide. Antiandrogen. Estrous cycle. Reproduction. Hirsutism.

1 INTRODUÇÃO

Os ovários e as glândulas supra-renais são os principais produtores de andrógenos circulantes nas mulheres. Os primeiros, são responsáveis pela maior parte dessa produção,

sintetizam andrógenos através das células da teca, sob a influência do hormônio luteinizante e folículo estimulante (HAROUN, 2005).

O aumento de andrógenos pode aparecer sob várias formas, dependendo dos locais em que a unidade pilo-sebácea hormônio dependente possui receptores específicos sensíveis à ação dos hormônios andrógenos. Quando esta ação ocorrer nas glândulas sebáceas teremos como resultado a seborréia e a acne. Ação nos folículos pilosos a levará ao hirsutismo e à alopecia androgenética (HAROUN, 2005; PARADISE *et al.*, 2011; YARAK *et al.*, 2005; ZEGHER; IBÁÑEZ, 2010).

Vários fatores podem levar ao hiperandrogenismo feminino, como um desequilíbrio hormonal, causando a síndrome dos ovários policísticos (SOP) e até mesmo câncer nos ovários. As características clínicas da SOP, uma das anormalidades endócrinas mais comuns acometendo mulheres em idade reprodutiva, incluem ainda a resistência à insulina e infertilidade (ARCHER; CHANG, 2004; FERREIRA *et al.*, 2006; YARAK *et al.*, 2005).

Devido ao enorme desconforto e problemas psicossociais causados por tais manifestações, foram desenvolvidas terapias que objetivam o tratamento hormonal. Estas incluem os fármacos chamados de antiandrogênicos ou bloqueadores do receptor de andrógenos, como o acetato de ciproterona, a espirolactona e a flutamida. Eles agem diminuindo a produção de andrógenos pelas glândulas supra-renais e ovários e inibem sua ação a nível da glândula sebácea, bloqueando o receptor de

androgênico e, portanto, opõem-se as ações dos andrógenos sobre tais glândulas. (HAROUN, 2005; KATSAMBAS; DESSINIOTI, 2010).

A flutamida biossintética (alfa-trifluor-2-metil-4-nitro-m-propanamida) é um antiandrogênio não esteroide, destituído de atividade hormonal e utilizado no tratamento do câncer de próstata. O registro dessa substância na França e Estados Unidos, entre outros países, não prevê seu uso em pacientes do sexo feminino. No Brasil, entretanto, esta vem sendo prescrita por alguns dermatologistas para combater a SOP, acne inflamatória grave, alopecia e hirsutismo associados à testosterona. É administrada via oral, como monoterapia ou em associação, de preferência após as refeições. (ARCHER; CHANG, 2004; DEVOTO; ARAVENA, 2004; DRUGLINE, 2013; HAROUN, 2005; KATZUNG, 2008; MARONA *et al.*, 2004; PINHEIRO, 2005).

A flutamida é completamente absorvida pelo trato gastrointestinal, e rapidamente convertida em vários metabólitos. Apresenta diversos mecanismos de ação, incluindo o bloqueio do receptor de andrógenos, a interferência com a captação celular de testosterona e aumento do metabolismo de andrógenos para inativação dos seus componentes. Tais efeitos são causados pela ação da 2-hidroxi-flutamida, principal produto do metabolismo do fármaco, que inibe seletivamente a ligação da 5- α -DHT a receptores androgênicos,

umentando a transformação do andrógeno em metabólitos glicuronídeos inativos (MARONA *et al.*, 2004; TAN, 2004).

O principal problema apresentado pela administração de flutamida é o aparecimento de toxicidade hepática, que parece ser dose-dependente. Apesar de não haver uma alta incidência de casos de hepatotoxicidade causada por esse medicamento, há alguns relatos de casos graves. Dessa forma faz-se necessário o monitoramento dos níveis de aminotransferase sérica durante os primeiros meses de tratamento (AMORIM *et al.*, 2005; DRUGLINE, 2013; HAROUN, 2005).

Sabendo do crescente uso da flutamida na dermatologia no Brasil e levando em consideração a escassez de pesquisas a respeito de possíveis efeitos da mesma sobre a fertilidade feminina, são necessários mais estudos a fim de avaliar a eficácia e segurança de tal fármaco em mulheres com sintomas relacionados ao hiperandrogenismo. O presente trabalho teve como objetivo verificar os aspectos citopatológicos da vagina de camundongas tratadas a curto prazo com flutamida.

A avaliação do ciclo estral vaginal de camundongas nulíparas é um dos marcadores mais relevantes e capaz de mensurar o prejuízo ou perda da função reprodutiva. O ciclo estral desses animais da mesma forma que o ciclo menstrual das mulheres, é caracterizado por alterações nos órgãos genitais e tecidos uterinos. Essas modificações podem ser observadas através

da análise de esfregaços vaginais, que permitem a análise das variações epiteliais da mucosa vaginal (BACHA JÚNIOR; BACHA, 2003; NELSON *et al.*, 1982; SALGADO, 2009).

O ciclo reprodutivo dos roedores, como o camundongo, é conhecido como ciclo estral e tem curta duração de 4 a 5 dias, sendo caracterizado por mudanças morfológicas nos ovários, útero e vagina.

A ciclicidade presente no organismo feminino maduro é controlada por níveis precisos de hormônios esteróides sexuais estrógeno e progesterona, produzidos pelos ovários. Assim como o ciclo menstrual nas mulheres, nestes mamíferos poliestros, o ciclo estral é marcado por mudança na estrutura e dos tecidos uterinos e dos órgãos genitais (MENDONÇA *et al.*, 2007; SALGADO, 2009).

O ciclo estral possui quatro fases denominadas proestro, estro, metaestro e diestro, as quais podem ser identificadas pelas características do esfregaço vaginal e pelas características morfológicas do útero (CONSTANZO, 1999).

O proestro é uma fase preparatória ou construtiva, que dura cerca de 12 horas. Caracteriza-se pela proliferação de fibroblastos do estroma endometrial e por um aumento apreciável no número de capilares sanguíneos endometriais. Podem-se observar no esfregaço vaginal células epiteliais basais e intermediárias. Por vezes, o núcleo destas

células, apresenta-se condensado o que caracteriza a picnose nuclear.

O estro dura cerca de 24 horas. Assim como o proestro, é um período anabólico e nesta fase a fêmea está receptiva ao macho. Os vasos sanguíneos do útero e ovários tornam-se dilatados e mais evidentes que no proestro, sendo que o útero encontra-se edemaciado e hipertrofiado. A análise citológica do esfregaço vaginal permite a observação de células anucleadas, isoladas ou em grumos. Ocorre também intensa queratinização e descamação vaginal.

O metaestro é considerado uma fase de catabolismo. Se nesta fase ocorrer o acasalamento, é formado o corpo lúteo, caso contrário, esta estrutura eventualmente degenera. O exame colpocitológico apresenta, além das células observadas nas duas fases anteriores, a presença de leucócitos. Esta fase pode ser dividida em Metaestro I e II, e persiste cerca de 10 horas.

O diestro é considerado um período quiescente, no qual ocorre a regeneração uterina através da proliferação e diferenciação dos fibroblastos do estroma endometrial. O esfregaço vaginal é caracterizado elementos celulares escassos, e grande concentração muco e de leucócitos polimorfonucleares. Esta fase, sendo a de mais longa duração, permanece por um intervalo que dura de 54 a 57 horas (MENDONÇA *et al.*, 2007; SALGADO, 2009).

A identificação da atividade ovariana normal e o tamanho do comprometimento

desta quando ocorre exposição desses animais a determinadas drogas, cirurgias ou agentes tóxicos fornecem informações para pesquisa básica que aponte ao melhor conhecimento e sua utilidade na atividade clínica. O estudo em camundongos é mais fácil, já que são de fácil manejo e apresentam um ciclo estral mais regulado, durando em média quatro dias (MENDONÇA *et al.*, 2007; VILELA *et al.*, 2007).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais e grupos experimentais

Utilizou-se 40 camundongas albino suíço, nulíparas, com 60 dias de idade e provenientes do biotério central da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Após um período de adaptação, aproximadamente sete dias, verificou-se a regularidade do ciclo estral, através de exame colpocitológico, as fêmeas foram distribuídas de modo aleatório nos seguintes grupos: Controle 1) receberam óleo de milho + DMSO por via subcutânea durante 4 semanas (n=10); 2) Receberam 8 mg/Kg/dia de flutamida solubilizada em óleo de milho + DMSO por via subcutânea durante 4 semanas (n=10); 3) Controle 2: receberam óleo de milho + DMSO por via subcutânea durante 7 semanas(n=10); e 4) Receberam 8 mg/Kg/dia de flutamida solubilizada em óleo de milho + DMSO por via subcutânea durante 7 semanas (n=10).

O DMSO foi utilizado em pequena quantidade, apenas para facilitar a

solubilização da flutamida. No período experimental as camundongas foram mantidas em gaiolas, sob condições controladas de fotoperíodo (claro/escuro de 12h/12h), temperatura mantida entre 22 e 24°C e recebendo água e ração comercial *ad libitum*.

Este estudo foi realizado após a aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Alfenas, registro nº 260/2010.

2.2 Exame colpocitológico

Após a administração do fármaco, realizaram-se, diariamente, sempre no mesmo horário, durante todo o experimento. Os exames colpocitológicos em todos os animais foram realizados de acordo com Costa (2010). Uma haste flexível com algodão umedecido em solução salina foi introduzida, com cuidado, no canal vaginal das camundongas produzindo-se levemente um movimento rotatório para obtenção do material. Transferiu-se o material sobre uma lâmina histológica, sendo a preparação fixada em álcool 95°. Após coloração com hematoxilina e eosina, as lâminas foram analisadas em microscopia de luz.

2.3 Avaliação do ciclo estral

A avaliação das fases do ciclo estral foi realizada de acordo com Nelson *et al.* (1982).

2.4 Análise estatística

Os valores obtidos foram representados através de suas médias \pm erro padrão. Utilizou-se o teste Tukey a 5% de significância, em ambiente Windows.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para a prevalência de cada fase do ciclo estral em função do tratamento e do período de avaliação, estão representados na tabela 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 – Prevalência, em porcentagem, de cada fase do ciclo estral, para os grupos controle e tratados.

Grupo	Proestro	Estro	Meta-estro	Diestro
G1	0,046 \pm 0,008 ^a	0,264 \pm 0,025 ^a	0,166 \pm 0,019 ^a	0,527 \pm 0,035 ^a
G2	0,033 \pm 0,008 ^a	0,269 \pm 0,025 ^a	0,192 \pm 0,019 ^a	0,506 \pm 0,035 ^a

Média \pm Erro padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si a 5%.

FONTE: Autor.

Tabela 2 – Prevalência, em porcentagem, de cada fase do ciclo estral, para os tempos de avaliação de 4 e 7 semanas.

Tempo	Proestro	Estro	Meta-estro	Diestro
4 semanas	0,043 \pm 0,008 ^a	0,237 \pm 0,025 ^a	0,167 \pm 0,019 ^a	0,557 \pm 0,035 ^a
7 semanas	0,035 \pm 0,008 ^a	0,297 \pm 0,025 ^a	0,191 \pm 0,019 ^a	0,477 \pm 0,035 ^a

Média \pm Erro Padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si a 5%.

FONTE: Autor.

Não se verificou diferenças estatisticamente significativas na duração de cada fase do ciclo estral entre os grupos controle e tratado (Tabela 1), assim como entre os tempos de tratamento de quatro e sete semanas (Tabela 2). Foi observado que todas as camundongas apresentavam ciclos estrais regulares. A ausência de alterações no ciclo estral não exclui a possibilidade da droga afetar o ciclo de fêmeas normais.

A dose de 8 mg/Kg/dia pode não ter sido suficiente para estimular alterações nesse indivíduos, já que a flutamida é um potente inibidor não esteroide do receptor androgênico, com diversos mecanismos de ação, incluindo o bloqueio do receptor de andrógenos, a interferência com a captação celular de testosterona e DHT e aumento do metabolismo de andrógenos para inativar seus componentes (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2009; DEVOTO; ARAVENA, 2004; KATZUNG, 2008; MARONA *et al.*, 2004;).

No estudo realizado por Sahin *et al.* (2003), utilizou-se a flutamida, na dose de 250 mg, diariamente por 4 semanas, para inverter a ação de andrógenos em mulheres com síndrome do ovário policístico. Essas mulheres apresentaram diminuição significativa dos níveis de LH, FSH e testosterona livre. Nesta pesquisa a dose e o tempo de tratamento foram equivalentes aos utilizados no trabalho citado, entretanto este estudo foi realizado em mulheres apresentando SOP, e não em indivíduos normais.

A utilização de flutamida em camundongas normais parece não afetar significativamente o equilíbrio hormonal destas. Estudos com um período de duração mais longo poderiam apresentar resultados diferentes, uma vez que o tempo de tratamento pode ter influenciado no resultado, visto que é uma variável crítica em uma espécie de ciclo estral de duração tão curta.

Por outro lado, se for confirmado que em indivíduos normais a droga não causa alterações hormonais, esta pode ser então uma boa alternativa pra tratamento de acne. Dados sobre a eficácia da flutamida são bastante homogêneos. Apesar de ser potencialmente útil para o tratamento do hirsutismo, pesquisas mostraram que a flutamida está associada a uma incidência notável de efeitos adversos, principalmente de alterações hepáticas agudas em mulheres tratadas com o referido medicamento (ANVISA, 2004).

São inúmeros os fatores que podem provocar alterações no ciclo estral de camundongas. Quando agrupadas numa mesma gaiola, as camundongas podem apresentar aciclicidade. Outros fatores como idade do animal, linhagem, estação do ano, além das condições de alimentação e luminosidade podem provocar modificações no ciclo estral (BANKS, 1992; SANTOS, 2002).

Foram verificadas pequenas variações no ciclo, porém não foram estatisticamente significantes. A dose administrada pode não ter sido suficiente para provocar alterações no

ciclo estral das camundongas utilizadas no experimento. Portanto, o resultado obtido não exclui que, se administradas doses maiores, possa ocorrer aciclicidade.

4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que o tratamento de camundongas com flutamida na dose de 8 mg/kg/dia, por um período de quatro e sete semanas, não prejudicou a regularidade do ciclo estral das mesmas. Estudos utilizando doses maiores e por um período mais extenso que sete semanas devem ser realizados para que se possa concluir com certeza os efeitos, ou a ausência desses, sobre o ciclo estral das camundongas.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Hepatite fulminante associada ao uso de flutamida em mulheres**. 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/farmacovigilancia/alerta/federal/2004/federal_7_04.htm. Acesso em: 24 abril 2013.

AMORIM, M. F. D.; AMORIM, W. P. D.; DUQUES, P.; AMORIM, P. D.; VASCONCELOS, J. R. Hepatotoxicidade pela flutamida em pacientes sob tratamento para acne: Relato de caso. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 4, p. 381-384, jul./ago. 2005. Disponível em:

<http://www.scielo.br/pdf/abd/v80n4/v80n4a09.pdf>>. Acesso em: 24 abril 2013.

ARCHER, J. S.; CHANG, R. J. Hirsutism and acne in polycystic ovary syndrome. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 18, n. 5, p. 737-754, out. 2004.

BACHA JÚNIOR, W. J.; BACHA, L. M. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Editora Roca Ltda., 2003. 459p.

BANKS, W. J. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. 629p.

CASTELO-BRANCO, C.; MOYANO, D.; GOMEZ, O.; BALASCH, J. Long-term safety and tolerability of flutamide for the treatment of hirsutismo. **Fertility and Sterility**, v. 91, n. 4, p. 1183-1188, abr. 2009.

CONSTANZO L.S. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.; 1999. 392p.

COSTA, M. C. **Ciclo estral, histomorfometria ovariana e uterina de camundongas após tratamento prolongado com acetato de medroxiprogesterona**. 2010. 63f. Dissertação (Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010. Disponível em: <http://www.tede.ufv.br/tesesimplificado/tde>

[_arquivos/30/TDE-2011-05-26T072416Z-047/Publico/texto%20completo.pdf](#)>. Acesso em: 27 abril 2013.

DEVOTO, E.C.; ARAVENA, L. C. Eficacia de la flutamida en el tratamiento del hirsutismo: contribución del uso combinado con anticonceptivos orales en mujeres normoandrogenicas. **Revista Médica de Chile**, Santiago, v. 132, n. 7, p. 845-852, jul. 2004. Disponível em:

<http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872004000700009&script=sci_arttext>.

Acesso em: 24 abril 2013.

DRUGLINE. **Drugs information online:**

Drugs and diseases reference index.

Disponível em: <<http://drugline.org/>>. Acesso em: 23 abril 2013.

FERREIRA, J. A. S.; FERNANDES, C. E.; AZEVEDO, L. H.; PEIXOTO, S. Síndrome da anovulação crônica hiperandrogênica e transtornos psíquicos. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 145-151, jun. 2006. Disponível em:

<<http://www.hcnet.usp.br/ipq/revista/vol33/n3/pdf/Revista%20Psiquiatria%20Clinica%2033%203.pdf#page=33>>. Acesso em: 24 abril 2013.

HAROUN, M. Hormonal therapy of acne. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery: Incorporating Medical and Surgical Dermatology**, v. 8, n. 4, p. 6-10, 2005.

KATSAMBAS, A. D.; DESSINIOTI, C. Hormonal therapy for acne: why not as first line therapy? Facts and controversies. **Clinics in Dermatology**, v. 28, n. 1, p. 17-23, jan./fev. 2010.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 10. ed. São Paulo: McGraw-Hill, 2008. 1088p.

MARONA, H. R. N.; STORTI, M. P. B.; DE LUCCA NETO, V. A. Flutamida: Revisão de suas propriedades farmacológicas e físicoquímicas. Métodos de análise em formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 50, p. 37-44, jan./mar. 2004.

Disponível em: <

http://www.inca.gov.br/rbc/n_50/v01/pdf/revi_sao1.pdf>. Acesso em: 24 abril 2013.

MENDONÇA, F. S.; NETO, J. E.; SIMÕES, M. J.; CAMARGO, L. M.; EVÊNCIO, L. B. Aspectos citopatológicos da mucosa vaginal de camundongas tratadas com progesterona. **Revista Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 313-318, abr./jun. 2007. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/1356/1412#>>. Acesso em: 27 março 2013.

NELSON, J. F. A.; FELICIO, L. S.; RANDALL, P. K.; SIMS, C.; FINCH, C. E. A longitudinal study of estrous cyclicity in aging C57BL/6J mice: Cycle frequency,

length and vaginal cytology. **Biology of Reproduction**, v. 27, n. 2, p. 327-339, set. 1982. Disponível em: <<http://www.biolreprod.org/content/27/2/327.long>>. Acesso em: 27 abril 2013.

PARADISE, R.; PORCU, E.; FABBRI, R.; SERACCHIOLI, R.; BATTAGLIA, C.; VENTUROLI, S. Prospective cohort study on the effects and tolerability of flutamide in patients with female pattern hair loss. **The Annals of Pharmacotherapy**, v. 45, n. 4, p. 469-475, abr. 2011.

PINHEIRO, A. M. Uso da flutamida. **Jornal da Sociedade Brasileira de Dermatologia**, Rio de Janeiro, ano IX, n. 5, p. 14, set./out. 2005. Disponível em: <http://www.sbd.org.br/down/Pdf/Jornal/jornal_09_05.pdf>. Acesso em: 25 abril 2013.

SAHIN, I.; SERTER, R.; KARAKURT, F.; DEMIRBAS, B.; GULER, S.; CULHA, C.; TASKAPAN, C.; ARAL, Y. Leptin levels increase during flutamide therapy in women with polycystic ovary syndrome. **Hormone Research**, v. 60, n. 5, p. 232-236, 2003.

SALGADO, R. M. **Caracterização de preteoglicanos do útero de camundongos durante o ciclo estral e em animais ovariectomizados**: Análise dos efeitos da castração e da reposição hormonal. 2009. 43f. Tese (Pós-graduação em Biologia Celular e Tecidual) – Universidade de São Paulo, São

Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42134/tde-18112009-104439/pt-br.php>>. Acesso em: 28 março 2013.

SANTOS, B. F. Criação e manejo de camundongos. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. p. 114-118. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/sfwjtj/16>>. Acesso em: 28 março 2013.

TAN, J. Hormonal treatment of acne: review of current best evidence. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery: Incorporating Medical and Surgical Dermatology**, v. 8, n. 4, p. 11-15, 2004.

VILELA, M. G.; SANTOS JÚNIOR, J. L.; SILVA, J. G. C. Determinação do ciclo estral em ratas por lavado vaginal. **Revista Femina**, v. 35, n. 10, p. 667-670, out. 2007. Disponível em: <http://www.febrasgo.org.br/arquivos/revista%20femina/FEMINA%203510/Femina_ou_tubro-667.pdf>. Acesso em: 22 abril 2013.

YARAK, S.; BAGATIN, E.; HASSUN, K. M.; PARADA, M. O. A. B.; FILHO, S. T. Hiperandrogenismo e pele: síndrome do ovário policístico e resistência periférica à insulina. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 4, p. 395-410, jul./ago. 2005. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S036505962005000400011&script=sci_arttext>.

Acesso em: 24 abril 2013.

ZEGHER, F.; IBÁÑEZ, L. Low-dose flutamide for hirsutism: into the limelight, at

last. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 6, n. 8, p. 421-422, ago. 2010.