

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

ANA MARIA GALVAN CUSTODIO

**“REGULAÇÃO HORMONAL DA PRÓSTATA FEMININA DO
GERBILO DA MONGÓLIA: ALTERAÇÕES DECORRENTES
DA SENESCÊNCIA E MEDIANTE A SUPLEMENTAÇÃO
HORMONAL PELA DEIDROEPIANDROSTERONA (DHEA)”**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Ana Maria Galvan Custodio
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia para obtenção do Título de
Doutor em Biologia Celular e Estrutural,
na área de Biologia Celular.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga

Campinas, 2007.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

C969r	<p>Custodio, Ana Maria Galvan Regulação hormonal da próstata feminina do gerbil da Mongólia: alterações decorrentes da senescência e mediante a suplementação hormonal pela deidroepiandrosterona (DHEA) / Ana Maria Galvan Custodio. – Campinas, SP: [s.n.], 2007.</p> <p>Orientador: Sebastião Roberto Taboga. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.</p> <p>1. Próstata feminina. 2. Gerbil. 3. Envelhecimento. 4. Histopatologia. 5. Hormônios. I. Taboga, Sebastião Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.</p>
-------	--

Título em inglês: Hormonal regulation of the Mongolian gerbil female prostate: alterations caused by senescence and dehydroepiandrosterone hormonal supplementation (DHEA).

Palavras-chave em inglês: Female prostate; Gerbil; Aging; Histopathology; Hormones.

Área de concentração: Biologia Celular.

Titulação: Doutora em Biologia Celular e Estrutural.

Banca examinadora: Sebastião Roberto Taboga, Silvana Gisele Pegorin de Campos, Felipe Augusto Ruiz Sueiro, Rejane Maira Góes, Hernandes Faustino de Carvalho.

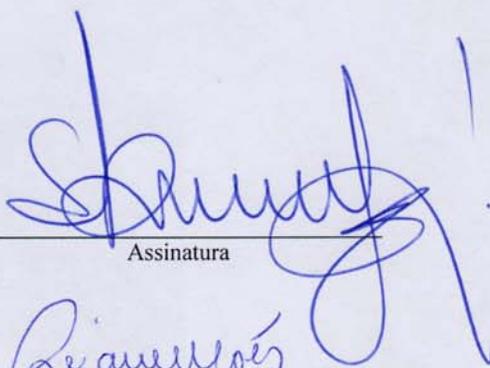
Data da defesa: 27/07/2007.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Celular e Estrutural.

Campinas, 27 de julho de 2007.

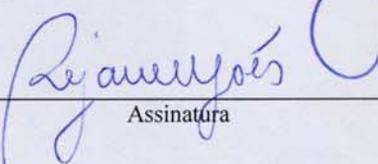
BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga (Orientador)



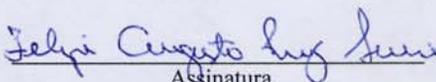
Assinatura

Profa. Dra. Rejane Maira Góes



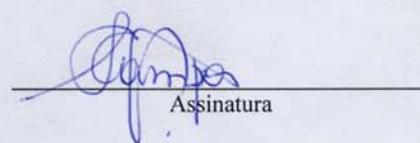
Assinatura

Prof. Dr. Felipe Augusto Ruiz Sueiro



Assinatura

Profa. Dra. Silvana Gisele Pegorin de Campos



Assinatura

Prof. Dr. Hernandes Faustino de Carvalho

Assinatura

Profa. Dra. Valéria Helena Alves Cagnon Quitete



Assinatura

Prof. Dr. Sérgio Luis Felisbino

Assinatura

Prof. Dr. José Carlos Mesquita

Assinatura

Agradecimentos...

↪ *Ao meu orientador, Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga, não apenas pelo conhecimento científico transmitido, mas também pelo crédito e incentivo dispensado....*

↪ *Ao querido técnico, Luiz Roberto Faleiros Jr, não somente pelo auxílio durante a execução do experimento, o qual desempenha com individual primor... mas também, por diminuir os enigmas entre o pesquisador e o objeto de estudo associado à rotina histológica. E principalmente, por tornar o dia-a-dia no laboratório de pesquisa mais agradável em função do seu bom humor....*

↪ *À todos os companheiros de laboratório: doutores, mestres e estagiários por todas as contribuições prestadas.... agregadas as discussões complementares ao crescimento científico....*

Ao querido e companheiro amigo Renato... por compartilhar durante todos esses anos seu carinho, generosidade, bom caráter.... de maneira transparente e verdadeira.... acrescidos pelas palavras de sabedoria nos momentos mais peculiares....

À querida amiga Dani por dividir a grandeza de sua essência... e estar sempre disposta em ouvir os desabafos....

Ao amigo Sérgio pelo seu carinho e humildade....

À querida Mãe pela meiguice e acolhimento fraternal envolvidos pelo doce sorriso....

Ao querido Ismininho, Ricardo, pelo carinho, amizade e disponibilidade em socorrer-me nos momentos de sufoco, além da alegria e originalidade.... (nem sempre tão original assim....!!)

Ao Manuel pelo sorriso acolhedor, ombro amigo e palavra de carinho nos momentos propícios....

À Cláudia Pacheco pela amizade, carinho e estima....

À Sabrina pelo carinho e assistência prestada nos momentos necessários

À Silvana pelo auxílio e dicas profissionais propícias....

À Lara e a Pat pelo carinho e amizade....

À Profa. Dra. Rejane pela atenção disponibilizada nas horas devidas....

↪ *À amiga Cristiani Zanetoni pelo envolvente carinho peculiar que se renova a cada encontro... além de sua transparente torcida pelo meu êxito....*

↪ *À querida Flávia Delella 'filhinha', pela ternura e amizade duradoura...*

↪ *Ao querido Well pelo carinho e amizade...*

↪ *Aos professores da graduação e pós-graduação pela arte de ensinar..... e pela construção desta em mim..... Em especial à Profa. Dra. Maria Tercília pelo estímulo, carinho e apoio sempre fornecido.... desde quando apenas 'engatinhava' na área acadêmica.....*

↪ *A secretária da Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural, Liliam Panagio, pelo distinto profissionalismo, empenho e atenção concedido durante esses anos de UNICAMP.....*

↪ *Ao CNPq responsável pela bolsa de pesquisa e à FAPESP pelo auxílio técnico e financeiro concedidos.*

↪ *Aos membros da pré-banca:*

Profa. Dra. Silvana G. P. de Campos pela dedicada correção da versão inicial desse trabalho lapidando-o e tornando-o mais adequado à divulgação científica.....

Profa. Dra. Patrícia Maluf Cury não somente pelas convenientes sugestões concedidas, mas também pela amizade e respeito por mim dedicado e incentivo à continuidade da pesquisa científica.....

Prof. Dr. Felipe Augusto Ruiz Sueiro pelas adequações proporcionadas aumentando a objetividade deste trabalho.....

↪ *Aos membros da banca pela atenção dispensada e sugestões para o aprimoramento deste trabalho.....*

↪ *Àqueles que sem explicação reciclaram minha rede de amizades e repentinamente se enraizaram.... acolhendo-me nos momentos confusos e vibrando com meus êxitos.... À vocês....*

... amiga Ana Luisa, agradeço-lhe pela sua paciência e por contagiar-me com seu irradiante brilho... driblando os desalentos com sua palavra acolhedora.... e tornando minhas conquistas mais prazerosas....

... amigo Décyo, minha gratidão pelo carinho dividido nos momentos mais apertados e pelo abraço forte mesmo a distância significando: estou aqui para qualquer momento!!!...

... amiga Meire, (Resimeire Ferraz) meu reconhecimento pela concretização de uma amizade verdadeira..... embasada na transparência, doação, amor e companheirismo.....

↪ *Ao Paulo R. Ferraz pelo carinho e encorajamento dividido durante os anos de convivência.... E aos seus queridos Pais pelo amor e orações por mim dedicados....*

↪ *À companheira Cristiane Gil pela sua envolvente alegria..... repleta de carinho, amizade e incentivo.....*

↪ *À minha querida amiga Ninon, Analice, pela transparente e imensa amizade que nos envolve a tanto tempo.....*

↪ *Aos amigos permanentes: Antônio Márcio e Xikão (Francisco Athayde) pelo carinho e torcida.....*

↪ *Ao querido Armênio Alcântara por tantos “Respire fundo!!!”.....*

↪ *Aos profissionais:*

Suzi Cavalari pela amizade e estímulo....

Sérgio Serrano por auxiliar na descoberta e entendimento da minha subjetividade....

↪ *Especial gratidão à minha família pelo indubitável amor, mas em especial.....*

Aos meus Pais pelos anos de dedicação e incentivo.... agregados ao respeito, dignidade e caráter que edificaram o meu alicerce ...

Aos meus irmãos, Manão e Maninho, pelo acolhimento, estímulo.... carinho.... compartilhados em todos os nossos momentos...

As minhas queridas cunhadas, Rê e Carla, pela franqueza, amizade.... e transparência de nossa relação....

Aos meus apaixonantes e ‘malinhas’ sobrinhos, Gustavo, Nayá, Gabriel e Maria Carolina, pelo carinho, alegria, torcida..... entre outros, divididos durante nossa onvivência....

À minha querida Madrinha, Sandra, pelo fiel carinho, força e companheirismo.....

À todos os demais.....

Através do trabalho em equipe têm-se a execução desta tese de doutorado..... Pessoas especiais que de um modo ímpar se envolveram tanto de forma direta como indireta no desempenho deste projeto, além daqueles que permaneceram nos bastidores durante todos esses anos..... dando-me suporte emocional para sua concretização.... Enfim.... minha gratidão se estende à todos vocês....

Este trabalho é dedicado

À bióloga e pesquisadora que não apenas compartilhou seu conhecimento ensinando-me com tanto êxito e prazer o 'universo' da próstata feminina, mas também procurou estar junto em cada nova dúvida e descoberta científica....

À amiga, confidente e companheira dos momentos de alegrias e tristezas embalados de tanto carinho e cumplicidade.....

À irmã que pude escolher....

Enfim, à você Fer!

Profa. Dra. Fernanda Cristina Alcântara dos Santos

*Mais importante do que a ciência, é o que ela produz,
Uma resposta provoca uma centena de perguntas.*

*Mais importante do que a poesia, é o que ela produz,
Um poema invoca uma centena de atos heróicos.*

*Mais importante do que o reconhecimento, é o que ele produz,
Produz dor e culpa.*

*Mais importante do que a procriação é a criança.
Mais importante do que a evolução da criação é a evolução do criador.*

*Em lugar dos passos imperiais, o imperador.
Em lugar dos passos criativos, o criador.
Um encontro de dois: olhos nos olhos, face a face,
e quando você estiver perto arrancarei seus olhos
e os colocarei no lugar dos meus;
arrancarei meus olhos
e os colocarei no lugar dos seus;
então verei você com seus olhos
e você me verá com meus olhos.*

*Então até a coisa mais comum servirá ao silêncio e
nosso encontro permanecerá meta sem cadeias.
Um lugar indeterminado, num tempo indeterminado.
Uma palavra indeterminada para um homem inderteminado.*

J. L. Moreno

Resumo.....	10
Abstrat.....	11
Introdução	
1. Desenvolvimento embrionário da glândula prostática.....	12
2. Próstata feminina humana.....	14
3. Características morfo-funcionais da próstata feminina do <i>Meriones unguiculatus</i> ao longo do desenvolvimento.....	16
4. Precursor esteróide deidroepiandrosterona (DHEA).....	18
Objetivos.....	22
Capítulo I	
<i>Aging effects on the Mongolian gerbil female prostate (skene´s paraurethral glands): structural, ultrastructural, quantitative and hormonal evaluations</i>	23
Capítulo II	
<i>Aspectos histopatológicos da próstata feminina do gerbilo na Mongólia associados à senescência.....</i>	52
Capítulo III	
<i>Avaliações estruturais e ultra-estruturais da glândula prostática feminina do gerbilo da Mongólia posterior à suplementação hormonal pela deidroepiandrosterona (DHEA).....</i>	83
Capítulo IV	
<i>Plasticidade fenotípica do epitélio secretor da próstata feminina do gerbilo da Mongólia</i>	121
Conclusões gerais.....	145
Referências bibliográficas.....	147
Certificado da Comissão de Ética.....	154
Declaração do Comitê de Ética	155

Diferente da abordagem clássica, a próstata não é um órgão exclusivo do organismo masculino, podendo ser encontrada nas fêmeas de vários mamíferos, incluindo humanos e roedores. A compreensão do desenvolvimento pós-natal e possíveis processos histopatológicos da glândula anexa da mulher são dificultados pela sua localização anatômica parauretral, restringindo seu estudo até então ao material de necropsia. Porém, sua similaridade com a próstata do gerbilo da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) possibilitou a utilização desse animal como um adequado modelo experimental para se averiguar as características morfo-funcionais da glândula. A análise dos componentes epiteliais e estromais da próstata nas idades jovem, adulta e senil do desenvolvimento pós-natal, as alterações histopatológicas decorrentes do envelhecimento e a sua resposta morfológica mediante a suplementação hormonal pela deidroepiandrosterona (DHEA) foi o objetivo deste trabalho. Os resultados foram obtidos a partir das avaliações estruturais, ultra-estruturais, morfométrico-estereológica e sorológicas (dos animais isentos de tratamento) do órgão. A glândula feminina jovem mostrou uma precocidade funcional em comparação à do macho de mesma idade provavelmente associada à ação do estrógeno circulante. Enquanto que a senescência foi marcada pela diminuição dos níveis séricos de esteróides e intensificação das lesões benignas, pré-malignas e malignas já desenvolvidas na idade adulta, porém com menor incidência. A suplementação hormonal promoveu uma instabilidade na homeostase glandular a partir da idade jovem induzindo o desenvolvimento de alterações histopatológicas benignas e pré-malignas, além de conferir uma supraestimulação das células secretoras. A existência de fenótipos celulares modificados foi identificada no epitélio secretor da glândula sendo aparentemente mais intensificado durante a idade senil e posterior à administração hormonal. Assim sendo, a real condição da histopatologia prostática é alarmante, porém pouca atenção ainda é dada a essa glândula do sistema genital feminino, principalmente mediante a senescência e as terapias de suplementação hormonal. Talvez seja necessária uma adaptação da rotina clínica ginecológica mediante a existência deste órgão com o intuito de se monitorar a glândula e prevenir possíveis desconfortos e comprometimentos à saúde da mulher.

In contrast to the classic boarding, the prostate is not an exclusive gland of the male organism and it can be found in mammal females, including humans and rodents. The precise comprehension of the post-natal development and possible histopathological processes related to this gland are difficult because of its anatomical paraurethral localization and it restricting the study in necropsy material. However, the similarity between the Mongolian gerbil prostate (*Meriones unguiculatus*) and women one makes it a good animal model to study the morphofunctional feature of this gland. The analyse of the epithelial and stromal components in the prostate of young, adul and old ages, the histopathological disorders decurrent of aging and their morphological answer related to the hormonal supplementation by deidroepiandrosterona (DHEA) were the objective of this work. The results were based on structural, ultrastructural, morphometric-steriological studies and hormonal analyzes (except the treated animals). The young female prostate showed an early gland functionaly compared to the male in the same age and it was probably associated to the serum stradiol levels. The aging was marked by the reduction of the serum steroids and intensification of the benign, pre-malignant and malignant histopathological alterations. Althought these same changes had already developed in the adult age, they had lesser incidence. Hormonal supplement promoted instability of the gland homeostasis in the young age inducing the development of benign and malign histopathological alterations beyond the high biossynthetic stimulation on the secretory cells. Some modiflicated cellular phenotypes were identified in the gland secretory epithelium and it could be amplified during the senesce period and after the hormonal administration. In this way, the real condition of the prostatic histopathology is alarming and few attention is given to this gland wich is too inherent to the female genital system, especially regarding the senescence and therapies of hormonal supplementation. Maybe it is necessary an adaption in the female clinic routin since this female ogan exists and thus the gland could be monitored and some discomforts and damages of the women health could be prevented.

1. Desenvolvimento embriológico da próstata

A próstata desenvolve-se a partir do tecido embrionário denominado seio urogenital, o qual corresponde a um tubo derivado do intestino primitivo que termina na cloaca. O componente endodérmico do seio urogenital se diferencia no epitélio glandular e o componente mesodérmico origina os tecidos estromais. Este tecido embrionário, em camundongos e ratos de ambos os sexos, origina-se no 13º dia de concepção sendo indistinguível até a 17ª semana pós-concepção. Enquanto em humanos sua origem é dada na 7ª semana de gestação não havendo distinção em machos e fêmeas até a 10-12ª semana (Marker et al., 2003).

A morfogênese prostática é iniciada por estímulos androgênicos através do crescimento de cordões sólidos, a partir do epitélio do seio urogenital em direção ao mesênquima, estabelecendo-se as subdivisões em lóbulos (Timms et al., 1994; Cunha et al., 1987; Kellokumpu-Lehtonen, 1985; Lowsley, 1912). Em roedores, a maioria dos ductos ramifica-se após o nascimento, a partir da região proximal em direção a região distal, distendendo-se pela mesoderme e formando os brotos ocorrendo simultaneamente à canalização do ducto e a citodiferenciação estromal e epitelial (Wang et al., 2001). Os cordões prostáticos se estendem pelo mesênquima como resultado da atividade proliferativa das células epiteliais em suas extremidades (Sugimura et al., 1986). À medida que ocorre a canalização, o epitélio se reorganiza em duas populações celulares distintas: as células epiteliais basais e secretoras luminais, enquanto o estroma diferencia-se na camada de musculatura lisa que envolve o ducto prostático e o estroma conjuntivo (Hayward et al., 1996). As células epiteliais passam a expressar citoqueratinas 5, 8, 14 e 18 e p63 (Wang et al., 2001).

A organogênese, diferenciação e atividade da próstata dos mamíferos em geral são dependentes de andrógeno (Thomson, 2001) e das interações entre o compartimento epitelial e estromal (Hayward et al., 1996; Taplin e Ho, 2001; Thomson et al., 2002; Marker et al., 2003). O desenvolvimento epitelial é estimulado pela sinalização proveniente do mesênquima, via fatores de crescimento, a partir da ativação androgênica (Thomson, 2001)

influenciando a diferenciação das células mesenquimais em células musculares lisas e fibroblastos, constituindo o estroma (Hayward et al., 1996).

Em embriões de fêmeas de ratos e humanos, a ausência de testosterona induz o seio urogenital a originar a porção inferior da vagina e a uretra (Shapiro et al., 2004). A camada mesenquimal do seio urogenital passa a circundar o epitélio uretral, sendo subdividido em três zonas: o mesênquima periuretral, a zona mesenquimal que sofre diferenciação em músculo liso e a zona que contém o mesênquima condensado ventral. Esta última estrutura apresenta localização análoga à próstata ventral masculina e representa o mesênquima do seio urogenital sem a invasão do epitélio do seio urogenital (Thomson et al., 2002).

A formação de brotos prostáticos é um processo constitutivo de machos e fêmeas, porém a ramificação e expansão desses brotos é regulada por esteróides. Em fêmeas, o isolamento entre o mesênquima condensado ventral e o epitélio uretral, provocado pela camada de músculo liso, impede a formação de uma glândula prostática desenvolvida e lobulada (Thomson et al., 2002). Desse modo, o reduzido tecido prostático observado em fêmeas de várias espécies é originário do seio urogenital que não sofreu estímulo androgênico. No entanto, embora a próstata feminina adulta seja menor que a masculina (cerca de 15% a 25% do tamanho da próstata ventral masculina), ela apresenta um epitélio secretor diferenciado e funcional (Zaviačič et al., 2000a; Santos et al., 2003; Custódio et al., 2004). Como a próstata de fêmeas cresce e desenvolve-se em um ambiente com baixos níveis de andrógenos (apenas 5% do total de precursores androgênicos produzidos no organismo masculino), acredita-se que outros fatores, além desses hormônios possam atuar no desenvolvimento e manutenção da função dessa glândula em adultos (Timms et al., 1999). Em ambos os sexos, a interação epitélio-estroma é mantida ao longo do desenvolvimento pós-natal, onde os fatores de crescimento são importantes para a homeostase e funcionalidade do órgão. Fatores regulatórios produzidos e secretados de modo parácrino pelas células epiteliais agem no estroma propiciando o desenvolvimento e manutenção da matriz extracelular e assim, afetando a proliferação, diferenciação e funcionalidade do epitélio (Untergasser et al., 2005).

O crescimento e diferenciação da próstata, em ambos os sexos, também são influenciados pelo estrógeno que pode atuar de forma indireta sobre a glândula via eixo

hipotálamo-pituitário-gonadal, e de forma direta, através dos receptores estrogênicos específicos presentes no órgão (Prins, 1997; Prins et al., 1993; Cunha et al., 2001). Em fêmeas de roedores, a morfogênese prostática parece ser influenciada pela posição intra-uterina dos animais durante a gestação (Clark et al., 1991; Timms et al., 1999). Assim, em fetos femininos de ratos, o desenvolvimento de brotos prostáticos é mais freqüente quando a gestação ocorre entre duas fêmeas (gestação 2F - 67% de ocorrência de próstata), e mais raro quando a gestação ocorre entre dois machos (gestação 2M - 29% de freqüência de próstata). Isso acontece por que animais de gestação 2F e 2M apresentam diferenças naturais nos níveis de testosterona (T) e estrógeno (E). As fêmeas com gestação 2F apresentam maiores níveis de E, que é o hormônio responsável por modular os efeitos dos andrógenos sobre a próstata em desenvolvimento, induzindo um maior crescimento dos brotos prostáticos durante a morfogênese glandular (Timms et al., 1999).

2. Próstata feminina humana

A primeira identificação da próstata em fêmeas de mamíferos foi realizada por Renier de Graaf (1672), no século XVII, que verificou glândulas ao redor da uretra homólogas ao órgão da espécie masculina. Duzentos anos mais tarde, Alexander J.C. Skene (1980) verificou dois ductos parauretrais que se abriam ao lado da uretra sem função aparente, nomeando-os como glândulas parauretrais de Skene, as quais eram tidas como vestigiais (Zaviačič e Ablin, 2000).

Apesar do termo próstata feminina ter retomado sua utilização no início do século XX ainda é notada uma resistência na clínica em aceitar sua correta nomenclatura, bem como a sua existência como órgão funcional e suscetível a processos patofisiológicos (Zaviačič, 1999).

Pouco se conhece sobre a fisiologia deste órgão feminino e seu papel funcional (Zaviačič et al., 2000a; b; Santos et al., 2003; Custódio et al., 2004; Santos et al., 2006). Pesquisas apontam (Zaviačič, 1993a; 1999) semelhanças nos constituintes químicos do líquido prostático eliminado durante a ejaculação feminina com o líquido prostático masculino, além da detecção de níveis de PSA no soro e na urina de mulheres (Zaviačič et al., 1993, Zaviačič and Ablin, 2000; Schmidt et al., 2001). Ainda julga-se haver uma função

relacionada ao comportamento sexual (Zaviačič, 1993), onde alguns estudos associam-na ao ponto de Gräfenberg (ponto-G), onde o estímulo deste ponto possibilita a ejaculação feminina (Schubach, 2002), enquanto outros pesquisadores defendem tratar-se da mesma estrutura (Addiego et al., 1981; Hines, 2001). Ademais é um órgão suscetível a lesões prostáticas benignas e malignas (Uzoaru et al., 1992; Zaviacic et al., 1993; Dodson et al., 1995; Sloboda et al., 1998; Zaviačič, 1999 e Zaviačič et al., 2000a; Custódio et al., 2005) semelhantes às desenvolvidas pela glândula masculina, principalmente durante a senescência.

A ocorrência da próstata feminina tem sido estendida tanto para humanos (Fig. 1), como para roedores, sendo suas semelhanças morfológicas notadas através dos métodos histológicos (Shehata 1975 e 1980; Gross e Didio, 1987; Zaviačič et al., 2000ab, Santos et al., 2003, Custódio et al, 2004), histoquímicos enzimáticos e imunohistoquímicos (Tepper et al., 1984; Wernet et al., 1988 e 1992; Zaviačič et al., 1997; Sloboda et al., 1998; Zaviačič e Ablin, 2000). Histologicamente, a próstata feminina humana (Zaviačič et al., 2000a) apresenta-se como um conjunto de glândulas parauretrais compostas por um epitélio secretor maduro e diferenciado com ductos inseridos em um estroma fibromuscular.

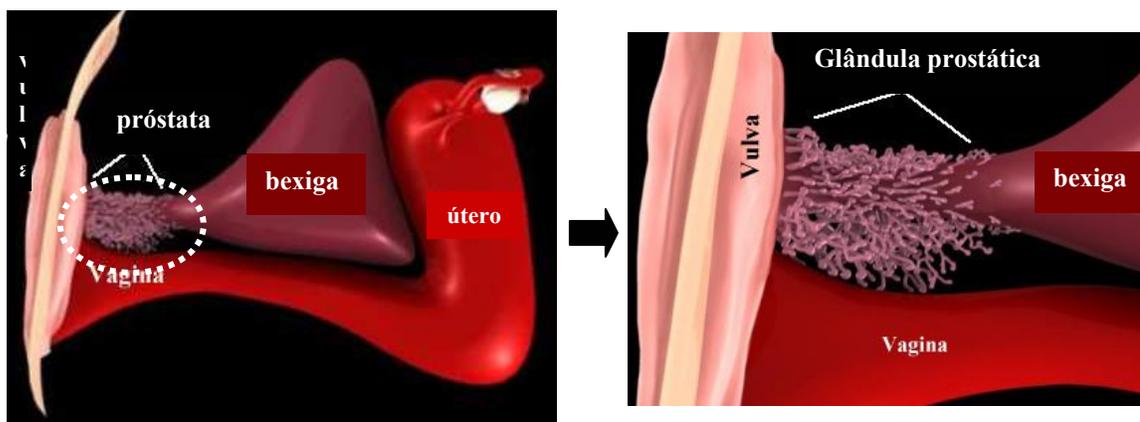


Figura 1: Ilustração da localização da glândula prostática feminina no corpo feminino humano (http://www.the-clitoris.com/spanish/html/s_index.htm).

3. Características morfo-funcionais da próstata feminina do gerbilo da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) ao longo do desenvolvimento

O gerbilo (*Meriones unguiculatus*), também conhecido como esquilo da Mongólia (Fig. 2), é um murídeo da subfamília Gerbillinae, proveniente das regiões áridas da China e Mongólia (Schwentker, 1963), que gradativamente foi adotado em experimentos biológicos e biomédicos pelo seu comportamento dócil e facilidade de manejo. Segundo Cheal (1986), a vida média deste roedor é de aproximadamente 36 meses podendo se estender até os 56 meses de vida atuando assim, como um mamífero modelo para o estudo do envelhecimento.

As análises estruturais e ultra-estruturais da próstata feminina adulta (Santos et al., 2003) revelaram semelhanças morfológicas com a glândula ventral do gerbilo macho adulto (Pegorin de Campos et al., 2006) alcançando cerca de 10% do peso prostático masculino. Segundo Santos e colaboradores (2003), a próstata feminina do gerbilo também apresenta similaridade com a próstata da mulher, no que se refere à estrutura alveolar e tecidual apontada por Zaviačič (1999).



Figura 2: Gerbilo da Mongólia (*Meriones unguiculatus*).

Adicionalmente, a próstata feminina desse roedor possui uma localização parauretral, estabelecendo um íntimo contato com a parede da uretra mediana e distal. Histologicamente (Fig. 3) é formada pelos mesmos componentes da próstata masculina: unidades secretoras túbulo-alveolares e ductos inseridos numa matriz músculo-fibrosa. Os ductos são revestidos por epitélio cúbico simples, com um diâmetro menor que as unidades

glandulares dispostss em grupos contidos na musculatura uretral, onde desembocam. As regiões secretoras são revestidas por um epitélio cúbico ou cilíndrico localizados em posição distal à uretra, podendo variar em forma e tamanho. A análise morfológica desta glândula identifica um epitélio secretor formado por tipos celulares distintos, enquanto o estroma é constituído por células musculares lisas e porção não muscular. A musculatura lisa organiza-se ao redor dos alvéolos e ductos, havendo eventualmente musculatura estriada esquelética. O estroma não muscular é ricamente irrigado por vasos sanguíneos e apresenta uma grande quantidade de fibras colágenas, reticulares e elásticas além de nervos, fibroblastos, mastócitos e macrófagos (Santos et al., 2003).

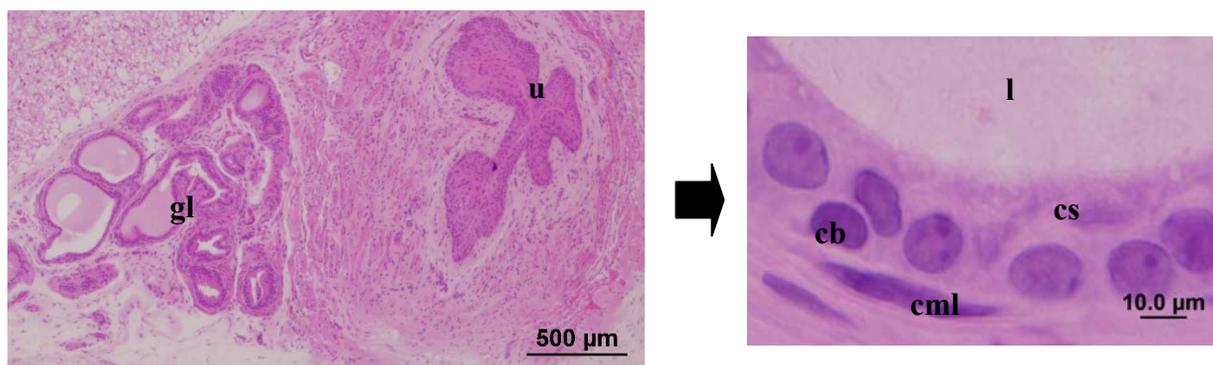


Figura 3: Histologia da próstata Gerbilo da Mongólia (u: uretra, gl: glândula, e: estroma, l: lúmen, cb: célula basal, cs: célula secretora e cml: célula muscular lisa).

Assim como os demais órgãos do aparelho genital feminino, a manutenção morfo-fisiológica da próstata se encontra sob o controle dos hormônios esteróides também ao longo de todo o desenvolvimento pós-natal (Zaviačič 1999; Santos et al., 2006; Santos e Taboga, 2006). Custodio e colaboradores (2004), através de estudos comparativos entre a próstata do gerbilo de ambos os sexos, revelaram a constante e intensa atividade enzimática até a senescência da glândula feminina em relação ao macho, o que supostamente é controlado pelos níveis de esteróides circulantes.

O projeto de pesquisa desenvolvido neste doutorado observou uma maior incidência de lesões durante essa idade fazendo com que a integridade estrutural da glândula feminina

do gerbilo fosse alterada. Miller (2001) certificou-se que o processo de senilidade humano promove um número elevado de desordens patológicas resultantes da significativa redução nos níveis de esteróides quando comparado com mulheres saudáveis em idade reprodutiva. De um modo geral, o processo de envelhecimento é acompanhado por um decréscimo natural da atividade endócrina concomitante ao declínio fisiológico que predispõe o organismo ao desenvolvimento de doenças. Segundo Chahal e Drake (2007) as glândulas sofrem a ação do envelhecimento e sendo a maioria de suas funções inter-relacionadas, e com isso, a função reduzida de uma em especial poderá desfavorecer as demais.

4. Precursor esteróide deidroepiandrosterona (DHEA)

A deidroepiandrosterona (DHEA) é um pró-hormônio que atua como um reservatório para a biossíntese de andrógenos e/ou estrógenos nos tecidos periféricos (Labrie et al., 2005), como pele, tecido adiposo, mama, pulmão, endométrio, próstata, fígado, rim, epidídimo e cérebro (Labrie et al., 1992; Pelletier et al., 1992, Milewich et al., 1993, Martel et al., 1994). Todas as enzimas necessárias para essa conversão são expressas nos próprios tecidos, ocorrendo a ativação, produção, metabolismo e controle do nível intracelular desses esteróides de acordo com a necessidade local. Com isso, a exposição dos demais tecidos a esses produtos convertidos é minimizada protegendo-os dos possíveis efeitos colaterais (Labrie et al., 2005). A síntese e ação local desses hormônios nos tecidos periféricos sem que sejam liberados no espaço extracelular ou na circulação é denominada de intracrinologia (Labrie et al., 2001ab; Genazzani et al., 2007). Em adição aos efeitos endócrinos e intracrininos após conversão periférica, o DHEA também pode exercer a ação de neuroesteróide (Genazzani et al., 2007).

Em humanos, a dinâmica de secreção do DHEA está relacionada com a idade. Antes do nascimento, sua produção pela glândula supra-renal fetal é intensa, após o nascimento há uma involução da zona fetal dessa glândula e conseqüente diminuição da concentração sérica desse precursor esteróide alcançando níveis quase indetectáveis durante o primeiro ano de vida. Na infância sua concentração permanece baixa entre os 6 e 10 anos de idade, havendo a partir de então, uma ativação de sua secreção, sendo esse período conhecido como adrenaquia. Entre os 20 e 30 anos, a concentração máxima desse precursor esteróide é

atingida, decaindo posteriormente. Em torno dos 70 anos, seu nível é 10 a 20% do encontrado na vida adulta caracterizando a andropausa (Palmert et al., 2001; Orentreich et al., 1984).

No entanto, a origem fisiológica do DHEA (fig. 4) gera divergências entre os que atribuem a sua secreção exclusivamente à glândula adrenal (Kroboth et al., 1999; Allolio e Arlt, 2002; Labrie et al., 2001a b e 2005; Genazzani et al., 2007) e os que consideram as gônadas responsáveis por 50% dos seus níveis circulantes (Longcope, 1986; Pieper e Loboeki, 2000; Buvat, 2003).

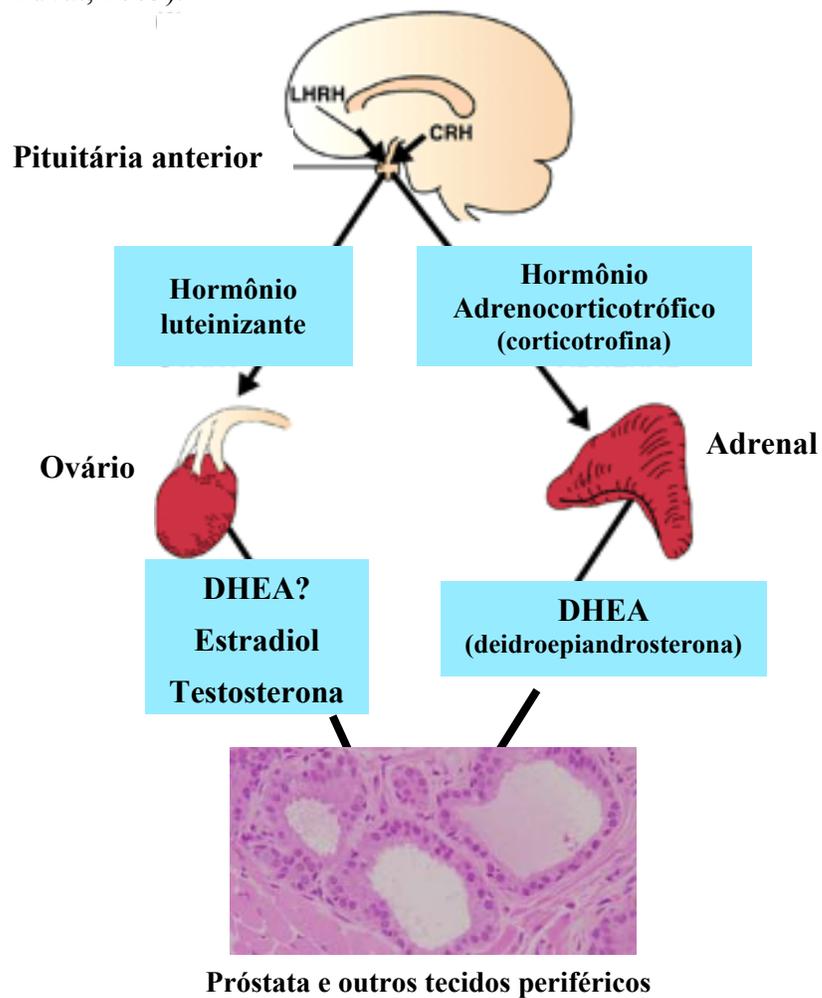


Figura 4: Esquema ilustrando as prováveis origens fisiológicas da deidroepiandrosterona. (CRH = hormônio liberador da corticotrofina; LHRH = hormônio liberador do mormonio luteinizante. Modificado de Labrie et al., 2005).

Em humanos, o controle da biossíntese de todas as classes de esteróides hormonais (Fig. 5) pertence à família do gene da 3 β -hidroxisteróide desidrogenase (3 β -HSD) (Labrie, et al., 2001a b). Inúmeros estudos têm associado o declínio dos níveis de DHEA e DHEAS (deidroepiandrosterona sulfatada) como consequência da diminuição da atividade enzimática da 17 α -hidroxilase ou involução da zona reticular da supra-renal com o envelhecimento (Gurnel, et al 2001).

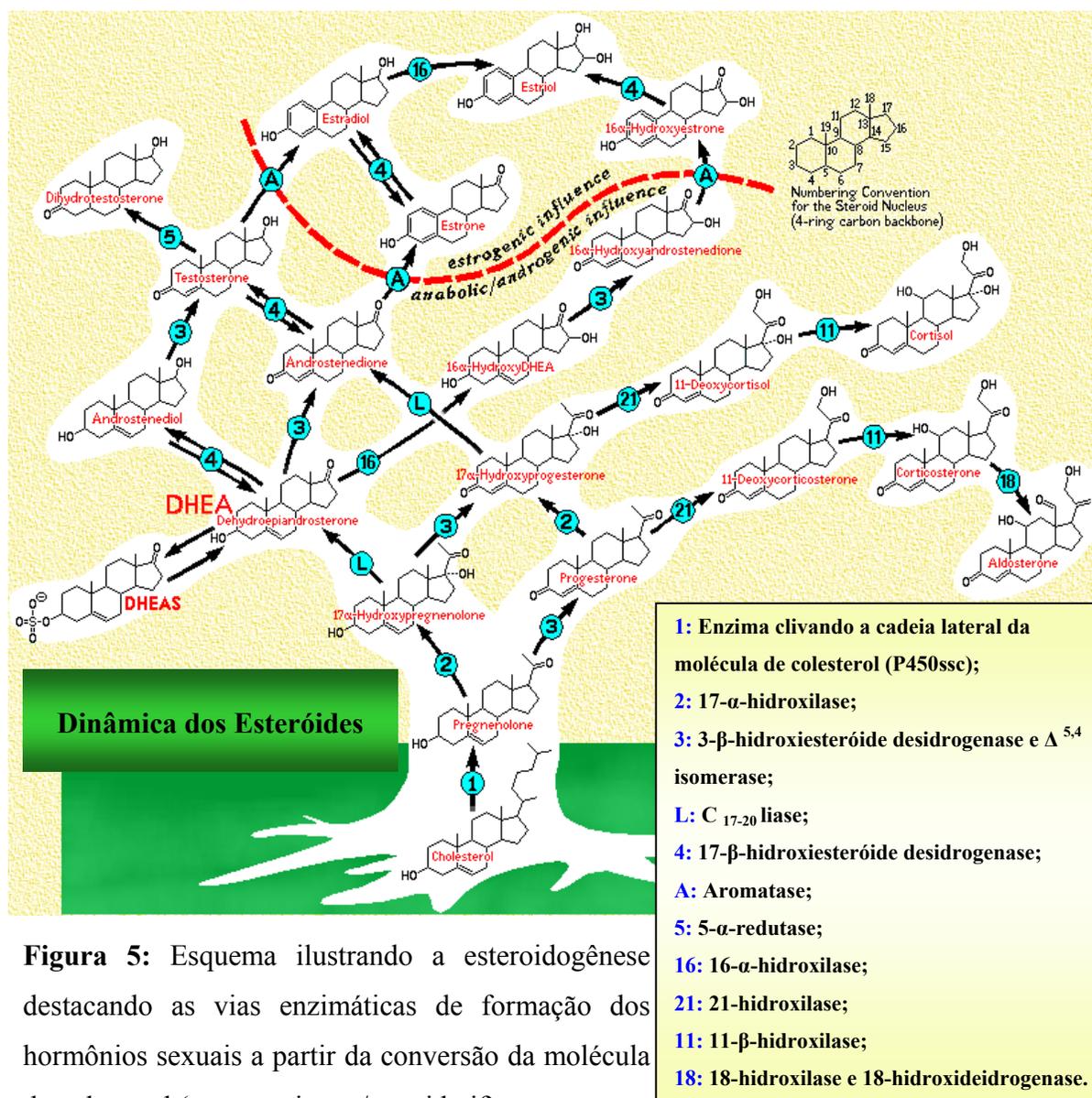


Figura 5: Esquema ilustrando a esteroidogênese destacando as vias enzimáticas de formação dos hormônios sexuais a partir da conversão da molécula de colesterol (www.ceri.com/steroid.gif).

Labrie e colaboradores (2003 e 2005) postulam que este pro-hormônio possa ser o responsável pela formação intracrina de 75% do estrógeno circulante nas mulheres antes da menopausa e 100% após esse período. No homem, a secreção de andrógeno pelos testículos é contínua através da vida, no entanto, a conversão do DHEA para andrógenos tem sido avaliada na próstata, sendo 50% desses sintetizados localmente e derivado do DHEA adrenal (Labrie et al., 2003; Bovenberg et al., 2005).

Este precursor esteróide pode ser utilizado como estratégia para reduzir os déficits fisiológicos associados a determinadas doenças ou derivadas da própria senescência (Labrie et al., 2005). Com isso, nas mulheres pós-menopausa, uma atenuação dos danos fisiológicos causado pelos déficits hormonais vinculados ao envelhecimento foi observada posterior à administração desse fármaco exógeno, possibilitando assim, a manutenção da massa óssea, diminuição da adiposidade, aumento da resistência muscular, equilíbrio do metabolismo de glicose e insulina, manutenção da libido e do bom humor dessas mulheres (Genazzani et al., 2007).

Embora a função biológica do DHEA como precursor dos esteróides sexuais seja clara (Labrie et al., 2001a b, 2003, 2005 e 2006a), ainda não foi identificado seu receptor nuclear ou de membrana permanecendo seu mecanismo de ação sob investigação (Arnold e Blackman, 2005). Muitos dos seus efeitos têm sido exercidos via receptor de andrógeno e/ou estrógeno após sua conversão enzimática nesses hormônios sexuais (Labrie et al., 1998, 2001a), embora uma afinidade direta por esses receptores já foi demonstrada (Tan et al., 1997; Martin et al., 2004). No entanto, muitas discussões a respeito de sua ação androgênica (Labrie et al., 2006b) ou estrogênica (Chen et al., 2005; Arnold et al., 2005) diverge o meio científico.

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo investigar os aspectos morfo-fisiológicos da próstata feminina do gerbilo *Meriones unguiculatus* nas idades jovem, adulta e senil, mediante:

1 - à regulação hormonal associada ao desenvolvimento e envelhecimento da glândula;

2 - aos efeitos da suplementação hormonal pela deidroepiandrosterona (DHEA).

3 - as distintas populações celulares do compartimento epitelial da glândula.

**AGING EFFECTS ON THE MONGOLIAN GERBIL FEMALE PROSTATE
(SKENE'S PARAURETRAL GLANDS): STRUCTURAL, ULTRASTRUCTURAL,
QUANTITATIVE AND HORMONAL EVALUATIONS**

Ana Maria G Custodio¹; Fernanda C A Santos^{2,3}; Silvana G P Campos²;
Patricia S L Vilamaior³; Rejane M Góes²; Sebastião R Taboga²

¹Department of Cell Biology – Institute of Biology - UNICAMP, CP 6109 - 13084-864 - Campinas; ²São Paulo State University – UNESP/IBILCE, Laboratory of Microscopy and Microanalysis, Department of Biology, 15054-000 - São José do Rio Preto; ³Rio Preto University Center – UNIRP, Biological Sciences and Veterinary Medicine School, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil.

Running Title: Age-related alterations in the Mongolian gerbil female prostate.

Funded by:

National Council of Scientific and Technological Development (CNPq) and São Paulo State Research Foundation (FAPESP).

***Correspondence to:**

Dr. Sebastião Roberto Taboga (e-mail: taboga@ibilce.unesp.br)

Departamento de Biologia - IBILCE/UNESP

Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth,

São José do Rio Preto, SP, Brazil, Zipcode: 15054-000

Tel: +55 17 32212386; Fax: +55 17 32212390.

ABSTRACT

Different to the classic view, the prostate is not a gland exclusive to the male, also being an organ of the female genital system presenting morphofunctional similarity between human and rodent. Thus structural, ultrastructural, morphometric-stereological of the female prostate (Skene's paraurethral gland) and steroid serological levels were evaluated during young, adult and senile ages in the Mongolian gerbil. The morphofunctional precocity of the gland in comparison with the male one occurred in young gland is probably associated to the female circulating steroid levels. The hormonal imbalance in senescence coincides with its susceptibility to histopathological lesions, such as epithelial hypertrophy, metaplasia and intraepithelial neoplasia. Differently from male, the aging degeneration of female gland involves the accumulation of lipofuscin-granules. However, the alterations in senile prostate did not damage its functionality. These analyses reinforce the use of this experimental model for the comprehension of glandular morphofunctional aspects with special attention to senescence. Thus, the appreciation of this organ becomes relevant to avoid future discomfort to women's health.

Keywords: female prostate, Mongolian gerbil, aging, steroids hormones, histopathology, ultrastructure.

INTRODUCTION

Contrary to the classic view, the prostate is not an exclusive organ to the male and can be found in females of various mammal species, including humans and rodents. The first identification of this gland in human females was accomplished by Renier de Graaf (1672), who denominated it the *female prostate*, in the seventeenth century, but 200 years later; Alexander J.C. Skene renamed it *Skene's paraurethral gland* (Skene, 1880). The term *female prostate* was readopted at the beginning of the twentieth century (Zaviačič, 1999), despite the resistance noted in clinical medicine in accepting its nomenclature, as well as its existence as a functional organ that is susceptible to pathophysiological processes. Two important contributions concerning female prostate were published by Mahoney (1940) and Price (1942). The former work investigated the occurrence of this gland in female Wistar rats and point to the embryological development.

Little is known about the physiology of prostate in females (Zaviačič et al., 2000a,b; Santos et al., 2003 and 2006; Custódio et al., 2004) and its contribution to the physiology of female genital tract. Researches point to similarities (Zaviačič, 1999) in the chemical constituents of prostatic secretion eliminated during female ejaculation to male prostatic one, besides the detection of PSA (prostatic specific antigen) in serum and in urine of women (Schmidt et al., 2001). Some studies have associated it with the Gräfenberg spot (G-spot), which when stimulated enables the release of female ejaculate by the prostate (Schubach, 2002), and some reports have considered as the same structure (Addiego et al., 1981; Hines, 2001). Furthermore it is an organ attacked by benign and malignant prostatic pathologies (Uzoaru et al; 1992; Dodson et al., 1995; Sloboda et al., 1998; Zaviačič, 1999;

Zaviačič et al., 2000a,b) similar to those developed by the male gland, principally during senescence.

Analogy between the female gland in several animals with humans can be ascertained based on histological (Shehata, 1980; Gross and Didio, 1987; Zaviačič et al., 2000a,b; Santos et al.; 2003; Custódio et al., 2004; Santos and Taboga, 2006), histochemical (Flamini et al., 2002), enzymatic and immunohistochemical methods (Wernet et al. 1982; Tepper et al., 1984; Sloboda et al., 1988; Satoh et al., 2001).

According to Santos and collaborators (2003), the female prostate of the rodent *Meriones unguiculatus* possesses paraurethral localization, establishing an intimate contact with the median and distal wall of the urethra. Histologically, it is formed by the same tissue components as the male prostate: glands and ducts inserted in a muscular-fibrous matrix. Thus, adult female prostate of this rodent has been described as an excellent model for investigating the factors involved in the homeostasis, functionality and morphology of the gland. However, a detailed approach of epithelial and stromal components of the gland in different ages of the postnatal development is still necessary. Thus, the structural, ultrastructural, morphometric-stereological and serological characteristics of the gerbil female prostate were evaluated in the ages of postnatal development: young (1 month), adult (4 months) and senile (18 months) and the main processes were interpreted in comparison with that one previously described to male organ.

MATERIAL AND METHODS

Animal and Sample Preparations

Forty-five female gerbils (*Meriones unguiculatus*, Gerbilinae: Muridae) were employed for this analysis being fifteen animals utilized for each phase of postnatal development: young (1 month), adult (4 months) and senile (18 months). The animals were maintained under conventional conditions of temperature and humidity (25°C, 40–70% relative humidity, 12-hr light/12-hr dark), with free access to ration and water. After being anesthetized by CO₂ inhalation, the animals were weighed and immediately decapitated. Blood samples from some of them were collected for serological analysis, and the urethra and adjacent tissues, including prostate gland were dissected out, weighed, and fixed according to different protocols, as described below. Animal care was performed according to the ethical guidelines of the Commission for Ethics in Animal Experimentation (CEEA) at the University of Campinas (UNICAMP), Sao Paulo, Brazil (process Nr 1213-1). The experiments were realized in the Microscopy and Microanalysis Laboratory, Department of Biology, IBILCE, São Paulo State University, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil.

Serological analysis

Circulating serum testosterone, estradiol and dehydroepiandrosterone (DHEA) levels were determined by immunochemical assays. After animal's decapitation, blood was collected and the serum was separated by centrifugation (3,000 rpm) and stored at -20°C for

subsequent hormone assay. The determination of serum testosterone levels was performed by luminescence immunoassay (mouse anti-testosterone antibodies – Johnson & Johnson, Orthoclinical Diagnostics Division, USA) in an automatic analyzer: Vitros-ECi (Johnson & Johnson, Orthoclinical Diagnostics Division, USA) for ultrasensitive chemiluminescence detection. The intra-assay and inter-assay variation were 4.6 and 4.3%, respectively. The tests are linear from 0 to 30 ng/mL (detection level). The sensitivity was 0.1-150ng/ml for testosterone, and 0.1-3814pg/ml for estradiol and for DHEA.

Structural analysis

The urethra plus adjacent prostatic tissue were fixed by immersion in Karnovsky's solution (5% paraformaldehyde, 2.5% glutaraldehyde in 0.1M of phosphate buffer, pH 7.2), for 24 hours. After fixation, the tissues were dehydrated in ethanol gradient and embedding was performed in glycol methacrylate resin (Historesin embedding kit; Leica, Nussloch, Germany), and cut into 3 µm sections with a Leica RM2155 automatic rotatory microtome. Histological sections were stained with hematoxylin-eosin (H&E) for general morphological analysis, periodic acid & Schiff (PAS) for localization of neutral carbohydrates (Behmer et al., 1976), picosirius-hematoxylin for collagenous fibers (Junqueira et al., 1979), Weigert's resorcin-fuchsin modified for elastic fibers (Santos et al., 2004), Gömöri's reticulin for collagenous and reticular fibers (Gömöri, 1937), the Feulgen reaction for nuclear phenotypes (Mello and Vidal, 1978) and AgNOR for nucleolus (Howell and Black, 1980) study. The specimens were analyzed with a Zeiss-Jenaval (Zeiss-Jenaval, Jena, Germany) or Olympus BX60 light microscope (Olympus, Hamburg,

Germany) and the images were digitalized using the Image-Pro Plus version 4.5 for Windows software.

Morphometric-stereological analysis

Haematoxylin-eosin stained sections of the thirty random prostatic fields per animal of each postnatal phases of development were analyzed. The morphometric-stereological analyses were carried out using Weibel's multipurpose graticulate with 130 points and 60 test lines (Weibel, 1978) to compare the relative proportion (relative volume) of each prostatic tissue component (epithelium, lumen and stroma). The absolute volume of the female prostate was determined by multiplying the relative volume values of the prostate compartments by the prostate weight. This parameter was based on the determination that 1mg of prostate fresh tissue had a volume of approximately 1mm^3 (Vilamaior et al., 2006).

For the morphometric analyses, 200 random measurements of the epithelium height and the thickness of the smooth muscle layer that surrounds each alveolus were also obtained.

Karyometric evaluation was carried out using Feulgen reaction-stained sections. Nuclear areas, perimeters, and the form factor = $[4 \pi \times \text{nuclear area} / (\text{nuclear perimeter})^2]$ parameter were determined for 200 nuclei of the epithelial secretory cells in each postnatal development age. The form factor parameter measures nuclear roundness in such a way that values < 1 are associated with nuclei that are more rounded (Taboga and Vidal, 2003).

Ultrastructural Analysis

The prostatic fragments were fixed by immersion in 3% glutaraldehyde plus 0.25% tannic acid solution in Milloning's buffer, pH 7.3, containing 0.54% glucose for 24 hours. After washing with the same buffer, they were post-fixed with 1% osmium tetroxide for 2 hours, washed again, dehydrated in graded acetone series and embedded in Araldite resin (Cotta-Pereira et al., 1976). Ultrathin sections (50-75nm) were cut using a diamond knife and contrasted with 2% uranyl acetate for 30 minutes, followed by 2% lead citrate in sodium hydroxide solution for 10 minutes. The samples were evaluated with a LEO-Zeiss 906 transmission electron microscope operated in 80kV.

Statistical analysis

All the statistical tests were performed with Statistica 6.0 software (StarSoft, Inc., (Tulsa, OK). The quantitative results were expressed using the mean \pm standard deviation and the ANOVA and Tukey honest test for significance difference (HDS) were applied and $p \leq 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Biometrical evaluations

Body weight suffered a significant increase about 33g in adult age and 40g from this age to the senescent. In spite of this, the weight of prostate tissue adjacent to urethra had doubled in adult animals and it reached greater value with aging. The relative weight of the old prostate showed a growth of 23%. (Table I)

Hormonal levels

The circulating DHEA, testosterone and estradiol levels had greater concentration in adult age when compared to the young and senile. The DHEA and estradiol levels had a significant decline on senescent age (Table I).

Morphological analysis

The female prostate gland in the three ages of postnatal development exhibited its alveoli and ducts surrounding the urethra and inserted in the vascularized and innervated fibromuscular stroma (Fig. 1).

The gland of young and adult animals did not show structural (young: Fig. 1A - F and adult: Fig. 1G - I) and ultrastructural differences (young: Fig. 2A - F and adult: Fig. 2G and H), and could thus be described in a similar pattern. The young animal prostate was composed by dilated alveoli forming a distinct lumen (Fig.1A - G) delimited by an epithelial compartment (Fig. 1G). The secretory or luminal cells exhibited uniform distribution and voluminous aspect with nuclei predominantly basal (Fig. 1B - D, G and H) and merocrine secretion mainly in its apical portion (Fig. 1B and I). These cells, together

with the basal cells, of smaller size and bordering the basal membrane, composed the cubic or columnar simple epithelium (Fig. 1G). Ultrastructurally, the secretory and basal cells showed a well-developed endomembranes system (Fig. 2) and an elevated number of mitochondria (Fig. 2C and G). In the secretory cells these organelles were often concentrated on the apices (Fig. 2B). The secretory cells nuclei are voluminous, exhibiting decondensed chromatin (Fig. 2A - C) and conspicuous nucleoli with variable number at young age (Fig. 1C) and a smaller number on adult. (Fig. 1H).

A continuous basement membrane delimitates the secretory of the stromal compartment (Fig. 1E). The ultrastructural analyses of the stroma evidenced slender smooth muscle cells (Fig. 2B, E and H) with innumerable caveolae, mitochondria and other synthetic organelles such as endoplasmic reticulum and Golgi apparatus (Fig. 2E and H). The fibroblasts (Fig. 2A and E) also presented functional phenotype with synthetic organelles distributed to the restricted cytoplasm, amply occupied by nucleus. The fibrillar components of stroma were constituted by collagen bundles (Fig. 2H) and thin elastic system fibers (fig. 1F). This sparse fibrillar arrangement were distributed among concentric and packed layers from smooth muscle cells and fibroblasts (Fig. 2E) that surround the glandular alveoli, also being able to group adjacent to the basal lamina (Fig. 2A, B and H).

The structural (fig. 1J - P) and ultrastructural analyses (fig. 3A – H and 4A - G) of the senile gland revealed cells with distinct phenotypes (Fig. 1J) in relation to the preceding ages and disarrangement of the epithelial (Fig. 1J and L; 4A) and stroma (Fig. 1J; 4B, C e G) compartment. The architectural of the alveoli was disordered by metaplasias (Fig. 1J, M and L), dysplasias (Fig. 1J) and prostatic intraepithelial neoplasias, which presented a complex pattern forming intraepithelial arcs and originating the microlumen structures (Fig.

1L). Basal cells apparently were visible in greater proportion compared to the young and adult phases (data not shown). The secretory cells presented a pleomorphic phenotype (Fig. 3A – C and 4A) confirmed by ultrastructural analyses, accompanied by an intense accumulation of heterogeneous secretory multi-vesicular bodies which confer a fragmented aspect to the cell besides the high concentration of lipofuscin-like deposits (Fig. 3A - D) dispersed throughout the cytoplasm. In spite of that, cellular activity was apparently not injured given the occurrence of merocrine (Fig. 1N) and apocrine secretion (Fig. 3G). In addition to the secretory phenotype, the epithelial cells showed polymorphous nuclei (Fig. 1O and 4A) with decondensed and dispersed chromatin (Fig. 3B) and numerous evident nucleoli (Fig. 1O and 3B). The adhesion of secretory cells, such as desmosomes (Fig. 3E) and hemidesmosomes (Fig. 3F), were intact. This last exhibited probably points of rupture (fenestrations) with protrusions from the epithelial cells basis into the stroma (Fig. 3H) enabling contact between the two compartments.

The stroma of the senile gland was afflicted by a desmoplasia characterized for the thickness and disordering of its constituents (Fig. 1P; 4A – C, E and G) visible not only in the subepithelial region (Fig. 3B; 4A and B) but also among the stromal cells associating to a possible remodeling of the compartments where the projections of the epithelial cells were intermixed by the stroma components (Fig. 4B and B). Unlike the young and adult animals, the smooth muscle cells in senile ones presented phenotypical spine-like cytoplasmic projections (Fig. 4C, G). An increase contractile elements (Fig. 4F) and caveolae (Fig. 4B and D) were observed in these cells. Even with signs of cellular aging dispersed by cytoplasm (ceramide-like granules) the secretory apparatus of stromal cells was not structurally compromised (Fig. 4E and F).

Stereological analysis

Although the stroma was the most prominent compartment in all ages considering the relative volume values, its absolute volume decreases with aging (Table 1). The counterparts of epithelium and lumen were equivalent in all ages, either in terms of relative or absolute volume (Table 1). However, the adult and senile female gland presented an increase about 10% in relative volume of the epithelial and luminal compartment, in comparison with young organ while the stroma decreased about 10 to 17%.

Morphometrical analysis

The secretory epithelium presented a gradual thickening during postnatal development while the layer of muscular cells was higher only in adult age. However, the subepithelial layer of collagen fibers suffered gradual enlargement almost tripling with the aging. These alterations were statistically significant ($p \leq 0.05$).

The data regarding karyometric analysis indicated a significant decrease of nuclear area and perimeter of the young secretory cells until senescent age being more accentuated between young and adult gland. The form factor had significant reduction in adult age (Table I).

DISCUSSION

The comprehensive morphological analysis of Mongolian gerbil female prostate in different postnatal ages confirmed its similarities with the ventral lobe of male prostatic complex, either as epithelial or stromal cell populations. Although such resemblance has already been verified to the adults (Santos et al., 2004) the present description emphasizes that this also applies to young and senescent ages. However, comparing the morphophysiological alterations during aging between both sexes (Pegorin de Campos et al., 2006), some crucial differences and similarities were noted, as emphasized below.

Firstly, as indicated by ultrastructural analysis, the female gland is active as regards the secretory activity in all the ages studied, including the young, whereas in the male organ a peak of secretion occurs from the adult age (Custódio et al., 2004). Thus, it was observed that the epithelial and stromal compartments of the gland in young gerbils were morphologically developed and differentiated. The intense epithelial metabolism was evidenced by abundance of cytoplasmic organelles involved with protein secretion, decondensed chromatin, numerous conspicuous nucleoli and high amounts of mitochondria. In addition, stereological data showed that relative volume of epithelium and lumen are equivalent in all ages investigated. Then, the morphological and quantitative data presented herein pointed to the functional precocity of female prostate in the gerbil in comparison to the male one (Pegorin de Campos et al., 2006). Furthermore, these data corroborated previous studies based on quantification of acid phosphatase activity which indicated the maturity of enzymatic apparatus and intense secretory activity already in the young female prostate and the maintenance of constant secretory levels during all phases of post natal

development (Custódio et al., 2004). The pioneering studies in rat have shown that female prostates develop a functional state in young animals and regresses at approximately 40 days of age (Mahoney, 1940; Price, 1939; 1942). Certainly, female prostate in the gerbil is not temporarily functional but exhibits a differentiated histological organization and a steady activity along all phases of postnatal development. The present results as well as previous ones with this species (Santos et al., 2003) evidenced no variations along the ductal system as regard the secretory activity. This feature is not common to all female prostates investigated up to date, since Flamini and colleagues (2002) described a differential secretory activity between ducts and alveoli of plain viscacha. Despite the particularities among species, the functionality of the female prostate is nowadays a consensus (Zaviačič, 1999).

The present results indicate that the aging process led to a perturbation in glandular architecture of female prostate characterized mainly by disarrangement of the secretory epithelium and phenotypic alterations in its cells. Thus, some ageing events well known to the male prostate also occurred in the female organ of this rodent, such as hypertrophy, degenerative and pathological lesions. Prostate hypertrophy was indicated by the increase of approximately 23% in prostate relative weight along the aging and it is probably due the increase in epithelial compartment, as indicated by stereological and morphometrical analysis. Hypertrophy of secretory epithelial cells detected to the prostate of old animals may reflect an overload of waste material and an increase in the size of the remaining functional organelles, since these events are frequent consequences of ageing (Terman et al., 2007).

The senescent gland presented heterogeneous vesicular bodies that confer it a fragmented appearance, besides its innumerable lipofuscin-like granules. The granules are also denominated aging pigment and act as a biomarker of aging characterized by their electron-density, osmiophilic properties and preferential localization around the cellular nucleus although in this study they were dispersed throughout the cell. This pigment represents a polyhedral intralysosomal material that cannot be degraded by lysosomal hydrolases nor undergo exocytosis, being constituted of degraded lipidic and oxidated proteic residues (Terman and Brunk, 2004a). The accumulation of lipofuscin-like granules causes a compromise in autophagic lysosomal function; consequently their progressive deposition diminishes the adaptability of the cell and promotes the development of age-related diseases (Terman and Brunk, 2004b). Then, the gradual accumulation of these biological wastes in post-mitotic cells results in proportional diminution of cell functionality and progressive degeneration (Terman et al., 2007). It is possible to suggest that for this species the aging of female prostate is accomplished by degenerative mechanism involving mainly lipofuscin deposition, whereas in male the lipid degeneration is predominant (Pegorin de Campos et al., 2006).

The main histopathological alterations observed in aging were epithelial such as secretory-cell metaplasia and dysplasia and hyperplasia. Areas containing these epithelial lesions were interspersed with regions of non-compromised epithelium in the same alveoli, indicating that such cellular disorders were not homogeneous in the gland. The senescent gland exhibited several signs of atypical epithelial cell proliferation causing an epithelial disarrangement and formation intraepithelial arcs which surrounding microlumens. According to World Health Organization Classification of Tumor (2004) descriptions, this

histological alteration is classified as a pseudocribiform pattern of prostatic intraepithelial neoplasia and considered a malignant disease. A fenestration of the basal membrane was also noted at ultrastructural level in the old gland making possible leakage of secretory cells into the stroma which can characterize the malignance pathology (Man et al., 2005). Although there is restricted knowledge with respect to histopathology that develops in the female prostate, its monitoring is of great clinical importance. Researchers (Sloboda et al., 1998; Chan et al., 2000) documented that urethral adenocarcinomas are of prostatic origin, where these neoplastic cells installing in determinate organs of the female reproductive system, besides propagating them by the bloodstream. At present, diverse works have been published reporting the occurrence of cancers of the urethra in postmenopausal women. These adenocarcinomas are PSA-positive and present the same architectural pattern of prostate cancer observed in men (Sloboda et al., 1998; Islam et al., 2001; Kato et al., 2005). To our knowledge, these data focusing aging of female prostate are the first to show the relationship between aging and incidence of premalignant and malignant epithelial lesions in this rodent experimental model and pointed this rodent as a satisfactory model for investigation of the prostate diseases.

Despite some nuclear (decline in nuclear area, perimeter and form factor) and other epithelial alterations above mentioned, the ultrastructural examination of senescent gland revealed the integrity endomembranes synthetic organelles and the increase in relative volume of secretion (lumen) are strong indicatives that physiological contribution of this gland was not harmed with aging.

The stroma relative and absolute volumes decreased progressively during ages investigated with a thickness of smooth muscular cell layer in adult and subepithelial

collagen layer in old animals. The ultrastructural analysis displayed this fibrillar thickness accompanied also by the disarrangement between stromal cells showing the desmoplasia phenotype in the senile gland. Therefore, despite the decrease in stroma during aging, the remodeling of this compartment is analogue to the male organ (Horsfall et al, 1994).

As the prostate in females grows and develops in an environment of low levels of androgens, it is believed that other factors besides these hormones can act in its development and maintenance (Price, 1939; Mahoney, 1940; Timms et al., 1999). However, the mechanisms responsible for physiological regulation of mature female prostate (Santos et al., 2006), as well as the possible alterations during aging are still unknown. The precocious maturation of the female prostate was initially correlated with androgenic stimulation from adrenal and ovaries (Price, 1939). Transplantation experiments also indicated that this gland is responsive to testicular androgens (Price, 1942). Recently, it was revealed that exogenous testosterone lead to an increase in cell proliferation in gerbil female prostate, but an apparent reduction in secretory activity after prolonged administration (Santos et al., 2006). In addition, the elevation of estrogen in such experiments was accompanied by the decreased expression of PSA-related antigen, what suggest a negative correlation between circulating estrogen and epithelial secretion. The present results reveal that DHEA and estrogen practically did not change among ages, undergoing a discrete but not significant decrease at senescence. Major hormonal variations were detected to circulating testosterone which proportionally changed from 3:8:1 in young, adult and senile animals. This probably suggests that secretory activity to the female prostate require low androgen threshold than male organ. On the other hand, it is possible

suggest that several histopathological alterations during senescence can be correlated to high estrogen levels.

In conclusion, the structural and ultrastructural characteristics, as well as the morphometric-stereological and serological analyses, shown through the study of the female prostate in the Mongolian gerbil in young, adult and senescent ages could confirm the link of its early functional maturity to steroids levels and its susceptibility to histopathological processes. In addition the structural and histopathological similarities with the women gland (Zaviačič, 1999) reinforce the potentiality of this animal as an excellent experimental model for the comprehension of female prostate morphofunctional aspects. That is relevant because at the present, the studies of the gland in women were available only in postmortem conditions. In this context, the appreciation of this gland, also inherent to the female genital system, during its postnatal development is of great importance to avoid future discomforts to women's health.

ACKNOWLEDGEMENTS

This paper is part of the thesis presented by AMGC to the Institute of Biology, UNICAMP, in partial fulfillment of the requirement for a PhD degree, and was supported by grants from the Brazilian agencies FAPESP – São Paulo Research Foundation (Proc. Nr. 02/12942-6) and CNPq - Brazilian National Research and Development Council (Proc. Nr. 301111/05-7 research fellowship to SRT and doctoral fellowship to AMGC). The authors wish to thank to Mr. Luiz Roberto Falleiros Júnior and MSc Rosana Silistino de Souza for their technical assistance, as well as all other researchers at the Microscopy and

Microanalysis Laboratory. Acknowledgement is also due to Mr. James Welsh for English-language revision of this paper. Special tanks to MSc. Sabrina Santos Rochel for suggesting in the final form of the manuscript and English-language revision and advice. Comments provided by the anonymous referees helped improve our original manuscript.

REFERENCES

- Addiego F, Belzer EG, Comolli J, Moger W, Perry JD, Whipple B. 1981. Female ejaculation: a case study. *J Sex Res* 17:1-13.
- Behmer OA, Tolosa EMC, Neto AGF. 1976. Manual de práticas para histologia normal e patológica. Edart-Edusp, São Paulo, p. 239.
- Chan YM, Ka-Leung Cheng D, Nga-Yin Cheung A, Yuen-Sheung Ngan H, Wong LC. 2000. Female urethral adenocarcinoma arising from urethritis glandularis. *Gynecol Oncol* 79:511-4.
- Cotta-Pereira G, Rodrigo FG, David-Ferreira JF. 1976. The use of tannic acid-glutaraldehyde in the study of elastic related fibers. *Stain Technol* 51:7-11.
- Custódio AMG, Góes RM, Taboga SR. 2004. Acid phosphatase activity in gerbil prostate: comparative study in male and female during postnatal development. *Cell Biol Int* 28:335-344.
- de Graaf R. 1672. *De mulierum organis generationi inservientibus. Tractatus novus demonstrans tani homines et animália caetera omnia, quac vivípara dicuntur, haud minus quam vivípara ab ovo origenem ducere.* Leyden, 66p.
- Dodson MK, Cliby WA, Pettavel PP, Keeney GL, Podratz KC. 1995. Female urethral adenocarcinoma: evidence for more than one tissue of origin? *Gynecol Oncol* 59:352-357.
- Flamini MA, Barbieto CG, Gimeno EJ, Portiansky EL. 2002. Morphological characterization of the female prostate (Skene's gland or paraurethral gland) of *Lagostomus maximus maximus*. *Ann Anat* 184:341-345.
- Gömöri G. 1937. Silver impregnation for reticulin in paraffin sections. *Am J Pathol* 13:993-1002.
- Gross SA and Didio LJA. 1987. Comparative morphology of the prostate in adult male and female of *Praomys (mastomys) natalensis* studies with electron microscopy. *J Submicrosc Cytol Pathol* 19:77-84.
- Hines TM. 2001. The G-spot: A modern gynecologic myth. *Am J Obstet Gynecol*, 185:359-362.

- Horsfall DJ, Mayne K, Ricciardelli C, Rao M, Skinner JM, Henderson DW, Marshall VR, Tilley WD. 1994. Age-related changes in Guinea pig prostatic stroma. *Lab Invest* 70: 753–763.
- Howell WM and Black DA. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer. I. Step method. *Experientia* 36: 104–105.
- Islam AHMM, Kato H, Hayama M, Kobayashi S, Ota H, Nishizawa O. 2001. Adenocarcinoma of female paraurethral duct showing neuroendocrine differentiation. *Urology* 58:1058iv-vi.
- Junqueira LCU, Bignolas G, Brentani R. 1979. Picrossirius staining plus polarization microscopy, specific method of collagen detection in tissue section. *J. Histochem.* 11: 447–455.
- Kato H, Kobayashi S, Islam AM, Nishizawa O. 2005. Female para-urethral adenocarcinoma: histological and immunohistochemical study. *Int J Urol* 12:117-119.
- Mahoney JJ. 1940. The embryology and postnatal development of the prostate gland in the female rat. *Anat Rec* 77: 375-395.
- Man YG, Shen T, Zhao Y, Amy Sang QX. 2005. Focal prostate basal cell layer disruptions and leukocyte infiltration are correlated events: A potential mechanism for basal cell layer disruptions and tumor invasion. *Cancer Detect Prev* 29:161-9.
- Mello MLS and Vidal BC. 1980. *Práticas de biologia celular*. Campinas, Brazil: Edgard Blücher-Funcamp.
- Pegorin de Campos SG, Zanetoni C, Góes RM, Taboga SR. 2006. Biological behavior of the gerbil ventral prostate in three phases of postnatal development. *Anat Rec* 288:723–733.
- Price D. 1939. Normal development and regression of the prostate gland of the female rat. *Proc Soc Exper Biol and Med* 41: 580-583.
- Price D. 1942. A comparison of the reactions of male and female rat prostate transplants. *Anat Rec* 83: 93-113.
- Santos FCA, Carvalho HF, Góes RM, Taboga SR. 2003. Structure, histochemistry and ultrastructure of the epithelium and stroma in the gerbil (*Meriones unguiculatus*) female prostate. *Tissue Cell* 35:447-457.
- Santos FCA, Corradi LS, Leite RP, Góes RM, Taboga SR. 2004. A modified method for the selective staining of elastic system fibers in methacrylate tissue sections. *Braz J Morphol Sci Suppl* 21:73-79.
- Santos FCA, Leite RP, Custódio AMG, Carvalho KP, Monteiro-Leal LH, Santos AB, Carvalho HF, Taboga SR. 2006. Testosterone stimulates growth and secretory activity of the adult female prostate of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Biol Reprod* 75:370-9.
- Santos FCA and Taboga SR. 2006. Female prostate: a review about the biological repercussions of this gland in humans and rodents. *Anim Reprod* 3:3-18.
- Satoh H, Mori K, Furuhashi K. 2001. Morphological and immunohistochemical characteristics of the heterogeneous prostate-like glands (paraurethral gland) seen in female Brown-Norway rats. *Toxicol Pathol* 29:237-41.
- Schmidt S, Franke M, Lehmann J, Loch T, Stöckle M, Weichert-Jacobsen K. 2001. Prostate-specific antigen in female urine: a prospective study involving 217 women. *Urology* 57:717-720.

- Schubach G. 2002. The G-spot is the female prostate. *Am J Obstet Gynecol* 186:850.
- Shehata R. 1980. Female prostate and urethral glands in the home rat, *Rattus norvegicus*. *Acta Anat*, 107:286-288.
- Skene AJC. 1880. The anatomy and pathology of two important glands of the female urethra. *Amer J Obstetr Diss Women Child*, 13:265-270.
- Sloboda J, Zaviačič M, Jakubovský J, Hammar E, Johnsen J. 1998. Metastasizing adenocarcinoma of the female prostate (Skene's paraurethral glands). Histological and immunohistochemical prostate markers studies and first ultrastructural observation. *Pathol Res Pract* 194:129-136.
- Taboga SR and Vidal B de C. 2003. Collagen fibers in human prostatic lesions: histochemistry and anisotropies. *J Submicrosc Cytol Pathol* 35:11-6.
- Tepper SL, Jagirdar J, Heath D, Geller SA. 1984. Homology between the female paraurethral (Skene's) glands and the prostate. *Arch Pathol Lab Med* 108:423-425.
- Terman A and Brunk UT. 2004a. Molecules in focus: Lipofuscin. *Int J Biochem Cell Biol* 36:1400-1404.
- Terman A and Brunk UT. 2004b. Molecules in focus: Aging as a catabolic malfunction. *Int J Biochem Cell Biol* 36:2365-2375.
- Terman A, Gustafsson B and Brunk UT. 2007. Autophagy, organelles and ageing. *J Pathol* 211:134-43.
- Timms BG, Petersen SL, Vom Saal FS. 1999. Prostate gland growth during development is stimulated in both male and female rat fetuses by intrauterine proximity to female fetuses. *J Urol* 161:1694-1701.
- Uzoaru I, Akang EE, Aghadiuno PU, Nadimpalli VR. 1992. Benign cystic ovarian teratomas with prostatic tissue: a report of two cases. *Teratology* 45:235-239.
- Vilamaior PSL, Taboga SR, Carvalho HF. 2006. Postnatal growth of the ventral prostate in Wistar rats: a stereological and morphometrical study. *Anat Rec* 288:885-892.
- Weibel ER. 1978. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest* 12,131-155.
- Wernet N, Albrecht M, Sesterhenn I, Goebbels R, Bonkhoff H, Seitz G, Inniger R, Remberger K. 1992. The "female prostate": location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. *Eur Urol* 22:64-69.
- World Health Organization Classification of Tumor. 2004. Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. IARC Press, France.
- Zaviačič M, Jakubovská V, Belošovič J, Breza J. 2000a. Ultrastructure of the normal adult human female prostate gland (Skene's gland). *Anat Embryol* 201:51-61.
- Zaviačič M, Zajíčková M, Blazeková J, Donárová L, Svetoslav S, Miroslav M, Zaviačič T, Holomán K, Breza J. 2000b. Weight, size, macroanatomy, and histology of the normal prostate in the adult human female: a minireview. *Journal of Histotechnology* 23:61-69.
- Zaviačič M. 1999. The Female Prostate: From vestigial Skene's paraurethral glands and ducts to woman's functional prostate. Slovak Academic Press, Slovakia.

LEGENDS

Table I: *Quantitative analyses of the young, adult and senile female prostate.* ¹Data of the body, relative body and prostate weights (n = 15/age), being that relative body weight correspond to the ratio between the weight of the prostate and that of the whole body and relative weight variation is shown with respect to the control, which was taken as 100%. ^{2,3,4}Statystic data relative to morphometric-stereological analyses. ⁵DHEA, testosterone and estrogen serological levels (n = 5/age). Values represent mean ± SD and superscript letters (^{a,b,c}) represent statistically significant differences between the ages (p≤ 0.05).

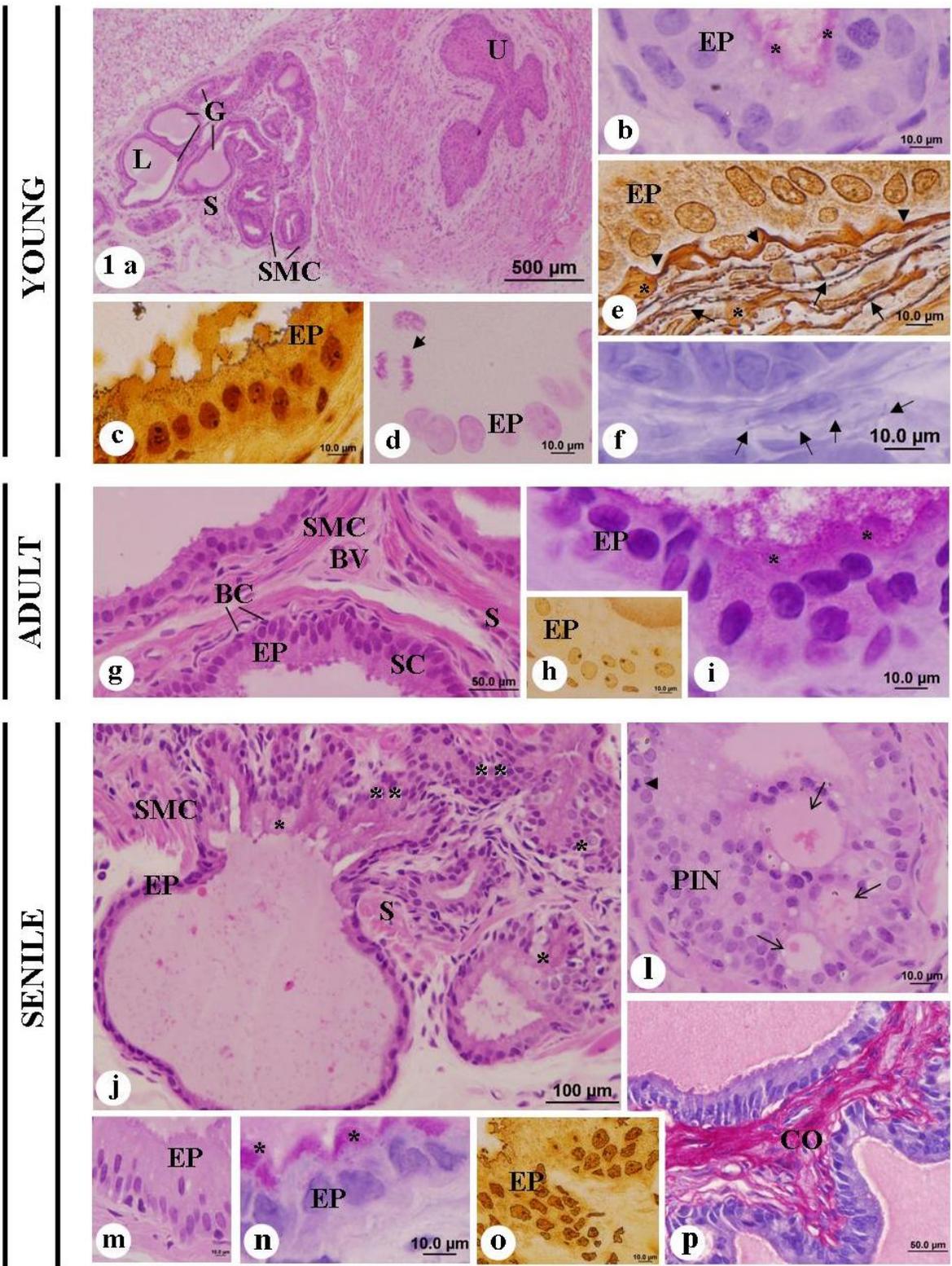
Figure 1: *Structure and histochemical aspects of the female prostate:* Young (A - F), adult (G - I) and senile (J - P) animals. **A:** General vision of the paraurethral (U = urethra) localization of the female prostatic gland (G) constitute by epithelium and stromal (S) compartment. Smooth muscular cell layer (SMC) and lumen (L). H&E. **B, I and N:** Detail of the apical portion of the epithelium cell (EP) with merocrine secretion (*). PAS. **C, H and O:** Epithelial cells (EP) with its evident nucleoli staining by AgNOR. **D:** Detail of secretor epithelium (EP) with metaphase cell (arrow) evidenced by Feulgen reaction. **E:** Reticular fibers arrangement (arrows) staining by Gömöri reticulim, below continuous basement membrane (arrow-head) lining the epithelium (EP) and stromal (S) compartment. Collagen (*). **F:** Elastic fibers (arrows) of the glandular stroma staining by Weight resorsin fucsin. **G:** General aspect of the gland compartment epithelial (EP) formed by secretory cells (SC) and basal cell (BC) inserted in stroma (S) with smooth muscular cell (SMC) and blood vessel (BV). H&E. **J:** Alveoli with dysphasia. Epithelial (EP) cell proliferation (**). Clear cells (*) and stroma (S). H&E. **L:** Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) with cribriform pattern (arrow-head) displaying intraepitheal arches and microlumens (arrows). H&E. **M:** Detail of the tall columnar epithelium (EP). H&E. **P:** Denser layer collagen fibers (CO) evidenced red color due Hematoxin-picrossirius stain around glandular the alveoli.

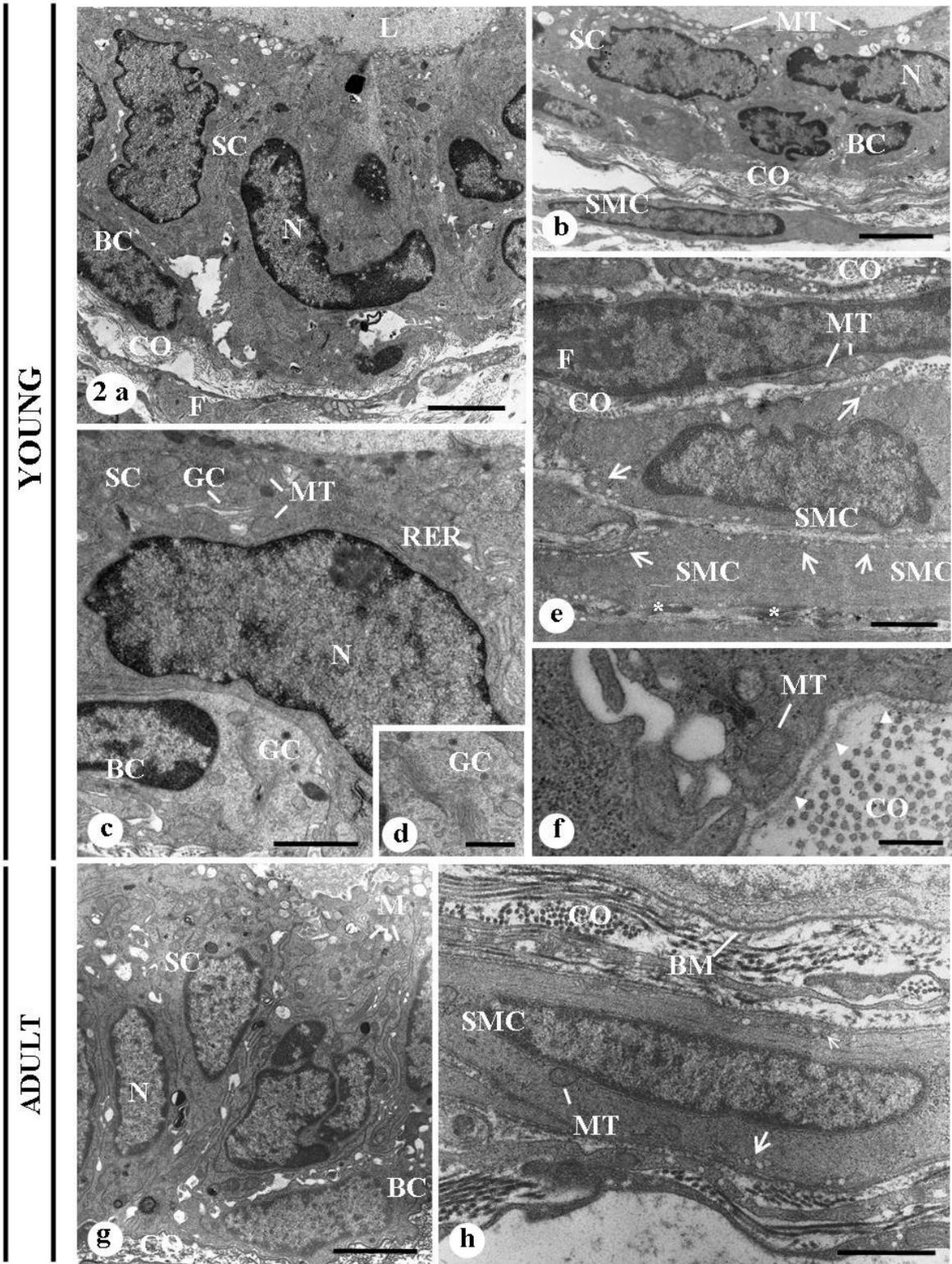
Figure 2: Ultrastructure of the female prostate: Young (A - F) and adult (G - H) animals. **A, B and G:** Epithelium compartment constituted by secretory cells (SC) and basal cells (BC) with voluminous nucleus (N). Stroma with smooth muscular cells (SMC), fibroblast (F) and collagen fibers (CO). Mitochondria (MT) usually in the cellular apical portion. Lumen (L). Scale bar: 2.0 μ m, 2.6 μ m and 2.0 μ m, respectively. **C:** Secretory epithelium cell (SC) and basal (CB) with biosynthetic organelles: mitochondria (MT), rough endoplasmic reticulum (RER), Golgi complex (GC) and nucleus (N). Scale bar: 1.1 μ m. **D:** Abundant Golgi stacks of the basal cell (Amplification Fig. C) with abundant cisternae. Scale bar: 3.3 μ m. **E and H:** Stroma showing fibroblasts (F) and fusiform smooth muscular cell (SMC) intermixed by collagens fibers (CO). Caveolae (arrows), mitochondria (MT) and basement membrane (BM). Scale bar: 8.6 μ m and 5.6 μ m, respectively. **F:** Continuous basement membrane (arrow-head). Mitochondria (MT) e collagen fibers (CO). Scale bar: 9.3 μ m.

Figure 3: Ultrastructure of the senile female prostate. **A and B:** Secretory cell with accumulation of secretory vesicle (arrows) and ceramide-like granules (*). Nucleus (N), nucleoli (NU), mitochondria (MT), rough endoplasmic reticulum (RER), smooth muscular cell (SMC), collagen fibers (CO) and microvilli (M). Scale bar: 2.6 μ m and 2.0 μ m, respectively. **C and D:** Detail of apical and basal portion, respectively, of the secretory cell with several secretory vesicle (arrows) and synthesis organelles, like: smooth (ser) and rough (RER) endoplasmic reticulum opposing to the ceramide-like granules (*) that are biomarker of cellular aging. Scale bar: 7.2 μ m and 4.3 μ m, respectively. **E:** Detail of the desmosome (arrows) between adjacent epithelium cells. Scale bar: 4.6 μ m. **F:** Hemidesmosomes (arrows) can the adhesion among basal cell (BC) and basement membrane (BM). Scale bar: 3.6 μ m. **G:** Blebs of the epithelium cell characterized apocrine secretion. Mitochondria (MT). Scale bar: 2.6 μ m. **H:** Fenestration in the basement membrane (BM) (discontinuous line) with cytoplasmic protrusions addressed to stroma. Mitochondria (MT) and collagen fibers (CO). Scale bar: 3.6 μ m.

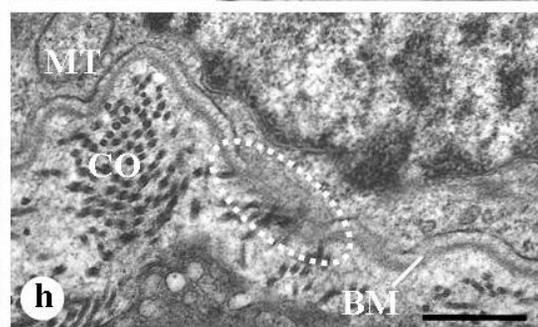
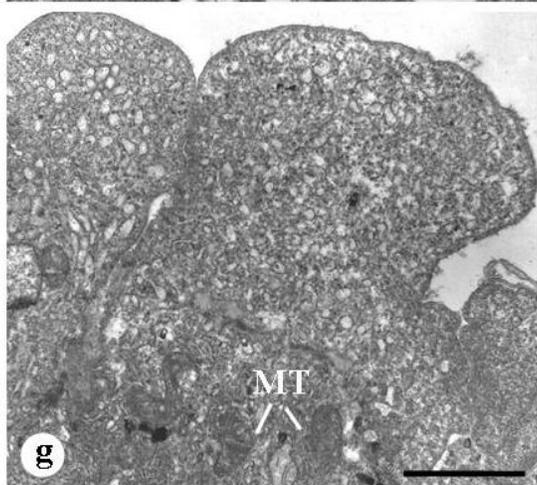
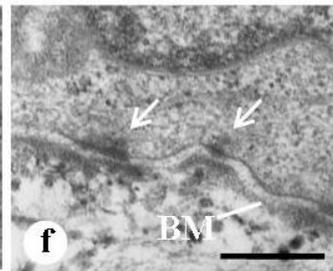
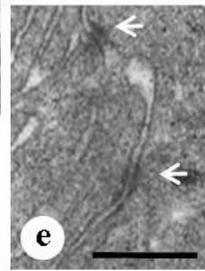
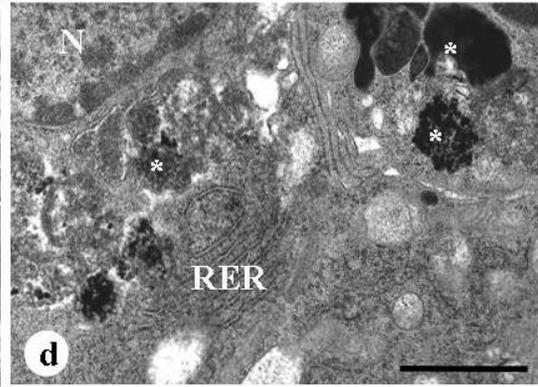
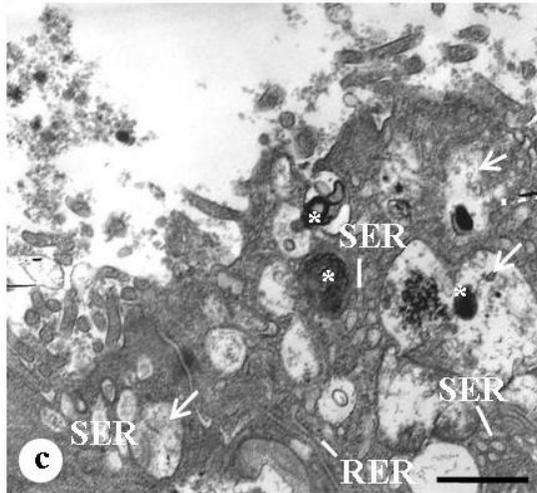
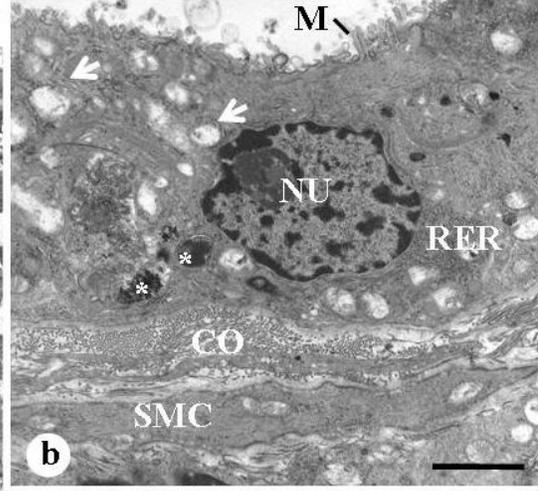
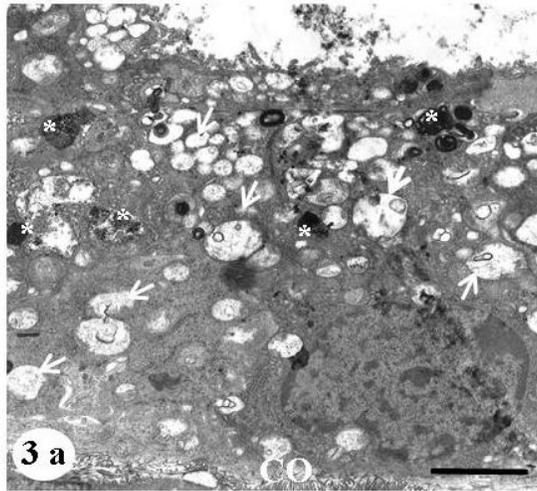
Figure 4: Ultrastructure of the senile female prostate. **A:** Pleomorphic secretory cell (SC) of glandular epithelium surrounded by denser layer of the subepithelial collagen (CO) limited by basement membrane (BM). Nucleous (N). Scale bar: 2.6 μ m. **B:** Structural rearrangement of prostatic compartments seen cellular projection of the secretory cells (SC) in direction to denser collagen (CO) layer, beside of smooth muscular cell (SMC) and elastin deposits (*). Basement membrane (BM), caveolae (arrows) and mitochondria (MT). Scale bar: 7.2 μ m. **C:** Modified phenotypes of the smooth muscular cell (SMC) showing cytoplasmatic projections intermixed by elatin deposits. Caveolae (arrows). Scale bar: 2.8 μ m. **D:** Detail of the smooth muscular cell (SMC) with voluminous nucleous (N) and innumerous caveolae (arrows) along the cell membrane. Mitochondria (MT). Scale bar: 2.8 μ m. **E:** Fibroblast (F) below subepithelial collagen (CO) layer and dilated cisternae of rough enoplasmatic reticulum (*). Epithelium (EP). Scale bar: 2.8 μ m. **F:** Ceramide-like deposits (*) associated with lipid droplets (arrows) and abundant contractile elements (***) scattered in the cytoplasmatic of smooth muscular cell. Scale bar: 3.6 μ m. **G:** Smooth muscular cells (SMC) exhibiting the wrinkled contour with numerous short, irregular spine-like projections. Scale bar: 9.3 μ m.

Table I		Ages of posnatal development		
		young	adult	senile
<i>Biometry¹</i>				
Body weight (g)*		31.3 ^a ± 2.0	64.7 ^b ± 2.4	71.1 ^b ± 2.4
Prostatic complex weight (g)*		0.06 ^a ± 0.006	0.12 ^b ± 0.009	0.15 ^b ± 0.013
Prostatic relative weight (%)		0.017 ^a ± 0.0001	0.002 ^b ± 0.0001	0.002 ^b ± 0.0001
Variation of relative weight (%)		-	+9.85	+23.06
<i>Stereology² – Relative volume – RV (%) and Absolute volume - AV (mm³)</i>				
Epithelium	RV*	23.7 ^a ± 1.3	30.1 ^b ± 2.5	32.1 ^b ± 2.5
	AV*	0.014 ± 0.0001	0.036 ^b ± 0.0002	0.048 ^b ± 0.0001
Lumen	RV	22.2 ± 2.4	28.9 ± 3.5	32.0 ± 3.5
	AV	0.013 ± 0.0001	0.035 ± 0.0001	0.048 ± 0.0002
Stroma	RV*	53.1 ^a ± 2.6	41.0 ^b ± 2.8	35.9 ^b ± 2.9
	AV*	0.032 ^a ± 0.0008	0.049 ^b ± 0.0002	0.052 ^b ± 0.0002
<i>Morphometry³(μm)</i>				
Height of secretory cells*		10.6 ^a ± 0.3	12.5 ^b ± 0.4	13.1 ^b ± 0.5
Thickness of smooth muscle layer*		6.5 ^a ± 0.2	7.3 ^b ± 0.2	6.3 ^a ± 0.3
Thickness of collagen fiber layer*		1.1 ^a ± 0.04	1.8 ^b ± 0.08	2.9 ^c ± 0.1
<i>Karyometry⁴</i>				
Nuclear area (μm ²)*		14.2 ^a ± 0.2	11.2 ^b ± 0.2	10.4 ^c ± 0.3
Nuclear perimeter (μm)*		14.9 ^a ± 0.1	13.6 ^b ± 0.1	12.9 ^c ± 0.2
Nuclear form factor*		0.79 ^a ± 0.06	0.75 ^b ± 0.06	0.75 ^b ± 0.07
<i>Hormone levels⁵</i>				
DHEA (ng/ml)*		2.16 ^a ± 0.1	2.66 ^a ± 0.3	1.52 ^b ± 0.1
Testosterone (ng/ml)		0.60 ^a ± 0.08	1.48 ^a ± 0.5	0.18 ^b ± 0.05
Estrogen (pg/ml)*		22.50 ^a ± 1.6	25.02 ^a ± 2.9	18.56 ^b ± 2.0

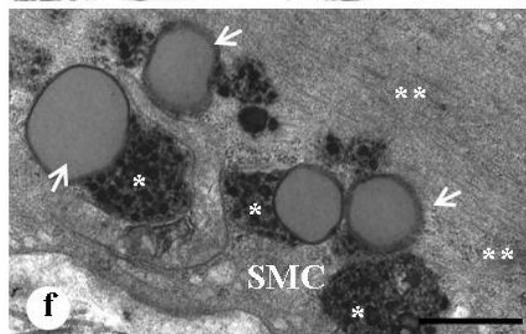
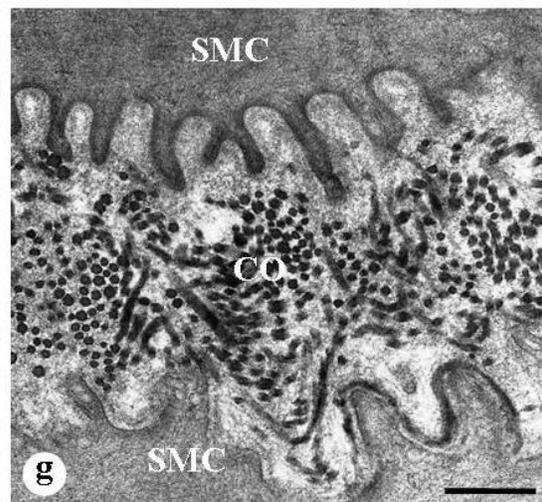
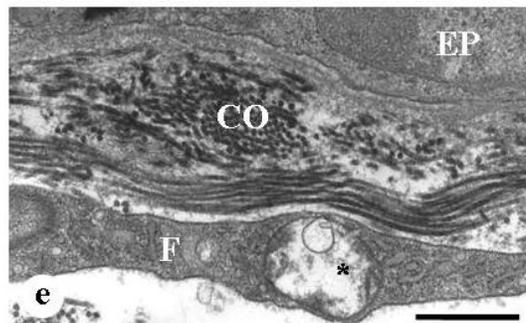
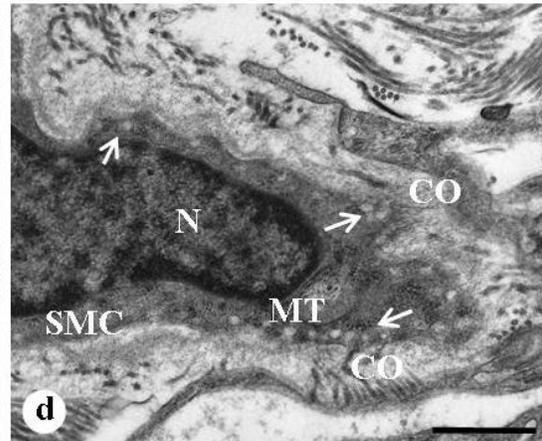
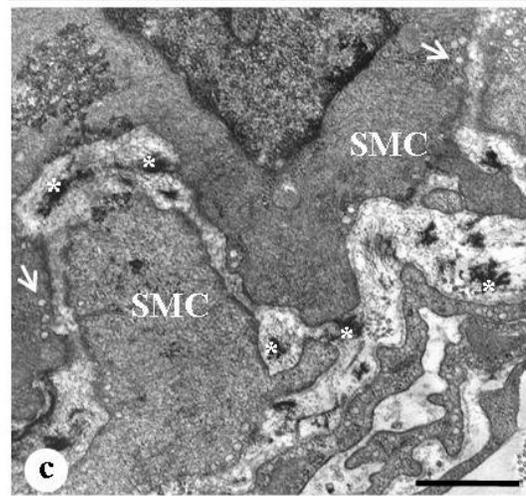
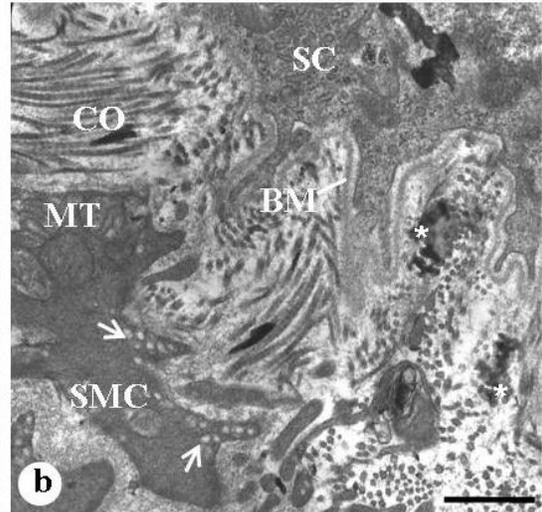
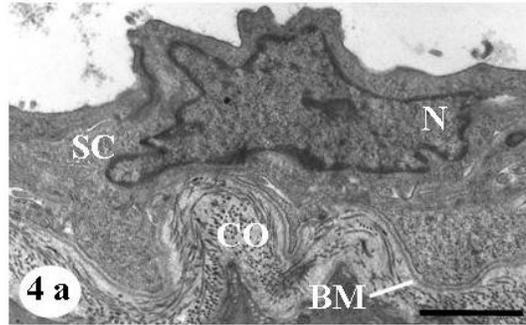




SENILE



SENILE



**ARTIGO: ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DA PRÓSTATA FEMININA DO
GERBILO DA MONGÓLIA ASSOCIADOS A SENESCÊNCIA**

Ana Maria Galvan Custodio¹

Fernanda Cristina Alcântara dos Santos^{2,3}

Silvana Gisele Pegorin de Campos²

Patricia Simone Leite Vilamaior³

Sebastião Roberto Taboga²

¹Department of Cell Biology – Institute of Biology - UNICAMP, CP 6109 - 13084-864 - Campinas; ²São Paulo State University – UNESP/IBILCE, Laboratory of Microscopy and Microanalysis, Department of Biology, 15054-000 - São José do Rio Preto; ³Rio Preto University Center – UNIRP, Biological Sciences and Veterinary Medicine School, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil.

***Correspondence to:**

Dr. Sebastião Roberto Taboga (e-mail: taboga@ibilce.unesp.br)

Departamento de Biologia - IBILCE/UNESP

Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth,

São José do Rio Preto, SP, Brazil, Zipcode: 15054-000

Tel: +55 17 32212386; Fax: +55 17 32212390.

RESUMO

Os órgãos femininos regulados por hormônios esteróides são alvos de estudos principalmente durante a senescência. Apesar da próstata feminina ser um órgão influenciado pelos hormônios e suscetível a lesões, poucas são as informações sobre essas histopatologias. Assim, considerando a similaridade morfo-fisiológica da próstata da mulher com a do gerbilo, o objetivo deste trabalho foi identificar as alterações histopatológicas espontâneas que se desenvolvem neste roedor a fim de fornecer subsídios ao entendimento das histopatologias que acometem a próstata da mulher. Os aspectos estruturais, ultra-estruturais, morfométrico-estereológicos, sorológicos e a quantificação da incidência, multiplicidade e porcentagem de alvéolos acometidos pela lesão foram analisados. Lesões benignas, como a hiperplasia benigna prostática, prostatites, micro-cálculos e cálculos prostáticos, lesões pré-malignas como as neoplasias intraepiteliais de alto grau, e as malignas como o adenocarcinoma foram identificadas na glândula adulta, porém esse perfil histopatológico foi intensificado com a senescência estando associado à diminuição dos níveis dos hormônios esteróides circulantes. Enquanto as atenções estão voltadas para outros órgãos genitais, a real condição do comprometimento histopatológico da próstata feminina é alarmante. Prevenções clínicas devem ser introduzidas ao contexto ginecológico com o intuito de se monitorar a glândula e evitar possíveis desconfortos e comprometimentos à saúde da mulher.

INTRODUÇÃO

O processo de envelhecimento é acompanhado por um decréscimo natural da atividade endócrina concomitante a um declínio fisiológico que predispõe o organismo ao desenvolvimento de patologias. Segundo Chahal e Drake (2007), as glândulas sofrem a ação do envelhecimento sendo a maioria de suas funções inter-relacionadas, onde a função reduzida de uma em especial poderá desfavorecer as demais.

Atualmente, o aumento da expectativa de vida da população feminina gera uma preocupação em se manter as condições adequadas de saúde e bem estar das mulheres para que desfrutem de uma qualidade de vida adequada na terceira idade. Pesquisas recentes dão ênfase à manutenção dos processos cognitivos, função física e sexual e desempenho psicossociais das mulheres pós-menopausa (Labrie et al., 2001; Labrie et al., 2005; Aloysi et al., 2006) considerando que o processo de senilidade promove um número elevado de desordens patológicas resultantes da significativa redução nos níveis de esteróides quando comparado com mulheres saudáveis em idade reprodutiva (Miller, 2001).

O comportamento do aparelho genital feminino perante o climatério é alvo de excessiva preocupação devido a sua dependência hormonal. Estudos se concentram nas alterações de órgãos, como mamas, endométrio, ovário e útero mediante a menopausa (Labrie et al., 2001 e 2006; Castelo-Branco e Rostro, 2006; Yeh, 2007) enquanto o conhecimento do comportamento da próstata durante esse período é escasso (Zaviačič, 1999; Santos et al., 2003 e 2006; Custodio et al., 2004).

Embora a divulgação da existência da glândula feminina ter ocorrido apenas após a década de 80, sua descoberta por Renier de Graaf é datada desde o século XVII (Zaviačič, 1999, Zaviačič and Ablin, 2000). Provavelmente isso seja decorrente do fato deste órgão ter sido considerado vestigial durante o período em que foi intitulado por Alexander J.C. Skene como glândula parauretral de Skene (Zaviačič, 1999, Zaviačič and Ablin, 2000). A ocorrência dessa glândula tem sido relatada em fêmeas de vários mamíferos, incluindo humanos (Zaviačič, 1999, Zaviačič and Ablin, 2000) e roedores (Sheata, 1974; 1975; 1980; Smith et al., 1978; Gross e Didio, 1987; Flamini et al., 2002, Santos et al., 2003 e 2006, Custodio et al., 2004). Estudos apontam para semelhanças entre esse órgão feminino e o

masculino no que se refere aos aspectos morfofisiológicos (Sheata 1975 e 1980; Gross e Didio, 1987; Zaviačič et al., 2000a b; Santos et al., 2003, Custódio et al., 2004), histoquímico-enzimáticos e imunohistoquímicos (Tepper et al., 1984; Wernet et al., 1988 e 1992; Zaviačič et al., 1997; Sloboda et al., 1998; Zaviačič e Ablin, 2000).

Assim como no organismo masculino (Bonkhoff e Remberger, 1998; Banerjee et al., 2001; Leav et al., 2001; Shappell et al., 2004), discute-se a questão de que a próstata feminina possa ser acometida por desordens patológicas tanto de ordem benigna (Zaviačič, 1999) como pré-maligna e maligna. Relatos freqüentes de desordens do sistema urogenital, cujo foco de origem é a próstata, tem aumentado os cuidados e as atenções destinados a esta glândula (Dodson et al., 1995; Ali et al., 1995; Ebisuno et al., 1995; Sloboda et al., 1998; Islam et al., 2001; Sharifi-Aghdas e Ghaderian, 2004; Kato et al., 2005; McCluggage et al., 2006).

As investigações relativas à próstata feminina humana baseiam-se em coletas pós-morte. Esse fato restringe o conhecimento a respeito desse órgão principalmente durante o envelhecimento, fase em que há maior predisposição ao desenvolvimento de lesões espontâneas. Porém, uma maior compreensão sobre a histopatologia da próstata feminina tem sido possível graças à adoção de modelos experimentais de roedores. Esse fato possibilita a obtenção de material possibilitando os estudos quantitativos, fisiológicos e experimentos de manipulação hormonal (Santos et al., 2003, 2006; Santos e Taboga, 2006, Custodio et al., 2004, 2006 e Custodio et al., 2007 *submitted*). Nesse sentido, o gerbilo da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) tem se tornado um modelo biológico de grande aplicação para o estudo desta glândula feminina, em especial devido à semelhança que guarda com o órgão humano.

Dessa forma, o presente estudo vem preencher uma lacuna no que se refere ao conhecimento dos processos histopatológicos que se desenvolvem espontaneamente na próstata feminina do gerbilo podendo fornecer subsídios ao entendimento das lesões que acometem a glândula da mulher.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e preparo das amostras

Quarenta e cinco fêmeas do gerbilo (*Meriones unguiculatus*, Gerbilinae: Muridae) foram empregadas para esta análise, sendo quinze para cada fase do desenvolvimento pós-natal: jovem (1 mês), adulta (4 meses) e senil (18 meses). Os animais foram mantidos sob condições convencionais de temperatura e umidade tendo livre acesso à ração e água. Depois de anestesiados com inalação de CO₂ os animais foram decapitados. A manutenção e manipulação dos animais foram realizadas de acordo com o guia da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo (processo número: 1213-1). Esse projeto foi realizado no Centro de Microscopia e Microanálise do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da UNESP, campus de São José do Rio Preto (SP).

Análise estrutural

A uretra e o tecido prostático* foram fixados por imersão em solução Karnovsky (4% paraformaldeído, 2,5% glutaraldeído em 0,1M de tampão fosfato, pH 7,2), durante 48 horas. Após a fixação, os tecidos foram lavados, desidratados em gradiente de etanol, embebidos em resina (Historesin; Leica) e cortes de 3 µm foram obtidos com o micrótomo rotatório automático Leica (RM2155).

Os cortes histológicos foram corados pela Hematoxilina-eosina (H&E) para análise morfológica geral (Behmer et al., 1976) e avaliações morfométricas-estereológicas, pela reticulina de Gömöri para fibras colágenas e reticular (Gömöri, 1937) e pela AgNOR para estudo nucleolar (Howell and Black, 1980).

A digitalização e análise quantitativa dos cortes histológicos foram realizadas no sistema analisador de imagens Image-Pro® Plus versão 4.5 for Windows™ software acoplado a um microscópio Olympus modelo BX60.

Análise nucleolar

* A próstata feminina não é visível macroscopicamente. De acordo com sua localização, abaixo da bexiga e ao longo da parede da uretra, o isolamento do tecido propriamente torna-se dificultado.

Os núcleos das células epiteliais secretoras com ausência (zero), um, dois ou mais que dois nucléolos corados pela técnica de impregnação por prata (AgNOR) foram quantificados em 25 campos selecionados aleatoriamente por idade. O número de nucléolos obtidos foi dividido pelo total de núcleos analisados nos respectivos campos. Os valores absolutos encontrados foram convertidos em porcentagens.

Análise da incidência e multiplicidade da lesão, porcentagem de lesões por alvéolos e perfil de alvéolo

Para a obtenção desses índices foi escolhido um corte histológico corado com H&E de cada um dos 10 animais adultos e senis escolhidos aleatoriamente. O animal jovem não foi submetido a tais quantificações por não apresentarem nenhum tipo de lesão. O diagnóstico das lesões foi dado segundo Shappell e colaboradores (2004) em acréscimo à classificação de Tumores do Sistema Urinário e Órgãos Genitais Masculinos da Organização Mundial da Saúde de 2004. As lesões classificadas como benignas foram as hiperplasias prostáticas benignas, micro cálculos, cálculos prostáticos e prostatites, as pré-malignas foram às neoplasias intraepiteliais prostáticas de alto grau (NIP) e as malignas, os adenocarcinomas. Os desarranjos da arquitetura tecidual com padrão mais intenso foram identificados como displasias. Embora as NIP possam ser classificadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2004) como sendo de baixo e alto grau, e ambas terem sido diagnosticadas na glândula, apenas as de alto grau foram quantificadas.

A incidência (= diagnóstico da lesão / amostra) da lesão na glândula foi dada através da identificação das diferentes lesões em relação ao número total da amostra, enquanto a multiplicidade (= número de lesões específicas / amostra) se obteve através do número de vezes que cada uma das lesões foi identificada no corte histológico analisado em relação ao número total de animais existentes analisados. A porcentagem de lesões por alvéolos (= nº de alvéolos que desenvolveram a lesão específica / nº de alvéolos presentes no corte histológico) foi determinada pelo número de alvéolos que desenvolveram a lesão em função do seu número total existentes no corte histológico avaliado e a média do perfil de alvéolos (= total de alvéolos da amostra analisada / total de alvéolos do grupo) foi indicada pelo

número de alvéolos identificado no corte histológico analisado em relação ao número total existente em toda a amostra.

Análise ultra-estrutural

Os fragmentos prostáticos foram fixados por imersão durante 24 horas em glutaraldeído 3%, ácido tânico 0,25%, em tampão Milloning, pH 7,3 contendo 0,54% de glicose. Após a lavagem com o mesmo tampão, foram pós-fixados durante 2 horas com tetróxido de ósmio 1%, desidratados em gradiente de acetona e embebidos em resina de Araldite (Cotta-Pereira et al., 1976). Cortes ultra-finos foram realizados em ultramicrotomo Leica com navalha de diamante, coletados em “grids” de 200 mesh e contrastados com acetato de uranila alcoólico 2%, por 30 minutos, seguido por citrato de chumbo 2% em solução de hidróxido de sódio durante 10 minutos. As amostras foram avaliadas pelo microscópio eletrônico de transmissão LEO-Zeiss 906 à 80 Kv.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa Statistica 6.0 (StatSoft), com o teste ANOVA e Tukey para avaliação da significância, onde $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS

Análises estruturais e ultra-estruturais

A análise estrutural (Fig. 1A - C) e ultraestrutural (Fig. 4Aa e B) da glândula jovem do gerbilo não identificaram alterações histopatológicas mostrando um compartimento epitelial desenvolvido e inserido num estroma fibromuscular vascularizado e innervado (Fig. 1A e 4A). Enquanto no compartimento epitelial (Fig. 1B e 4A) duas populações celulares puderam ser notadas, a célula luminal voltada para a luz do ácino e repleta de organelas desenvolvidas (Fig. 4A e B) dispersas pelo citoplasma exibindo um fenótipo secretor ativo (Fig. 4B) e a célula basal (Fig. 1B e 4A), apoiada na membrana basal, com escassez de organelas (Fig. 4A). Os núcleos dessas células secretoras mostraram cromatina

descondensada (Fig. 4A). A membrana basal contínua delimitou o epitélio uniforme e justaposto (Fig. 4A) do estroma, o qual se encontrou rico em fibras colagênicas destacando as reticulares (Fig. 1C). As células musculares lisas e os fibroblastos entremearam às fibras colágenas que não se limitaram apenas à camada subepitelial (Fig. 4A).

Apesar de ter sido identificado na glândula adulta algumas lesões, a documentação histopatológica restringiu-se a senil visto a maior incidência de lesões comprometendo a glândula. A análise estrutural dessa idade (Fig. 2, 3, 5 e 6) indicou alterações principalmente no compartimento epitelial da glândula identificando desordens benignas, como a hiperplasia prostática benigna (Fig. 2A), os micro-cálculos prostáticos (Fig. 2B) e os cálculos (Fig. 2C), pré-malignas, como as neoplasias intraepiteliais de baixo (Fig. 2D) e alto (Fig. 3A) grau e malignas (Fig. 3B e C).

A glândula senil exibiu um padrão displásico (Fig. 2A, C, D; 3A e B) inserida num estroma fibromuscular denso (Fig. 2A e D; 3A). Alvéolos hiperplásicos (Fig. 2A) apresentaram um epitélio delgado do tipo simples pavimentoso (Fig. 2B) caracterizando a hiperplasia prostática benigna. Enquanto outros mostraram seus lumens inteiramente ocupados por pequenos (Fig. 2B) e grandes cálculos prostáticos (Fig. 2C) além dos infiltrados inflamatórios (Fig. 3B). Neoplasias intra-epiteliais (NIP) de baixo (Fig. 2D) e alto (Fig. 3A) foram identificadas, sendo esta última caracterizada pelos arcos intraepiteliais que formam os micro-lumens. O extravasamento celular em direção ao estroma (Fig. 3B) indicou um possível adenocarcinoma. Neste local as fibras colagênicas do tipo reticular se mostraram fragmentadas (Fig. 3C).

A análise ultra-estrutural permitiu a observação de células epiteliais (Fig. 5A, B - D e E) e estromais (Fig. 5G) ativas independente do fenótipo celular (Fig. 5B) distinguindo um sistema de endomembranas desenvolvido (Fig. 5B, D e E). O acúmulo de grânulos do tipo lipofuscina e corpos multivesiculares secretores heterogêneos (Fig. 5E) foram observados na célula secretora. Espaços intraepiteliais (Fig. 6A e B) indicaram o desprendimento entre as células adjacentes e a desestruturação da uniformidade glandular. Pequenos cristais puderam ser identificados dispersos pelo lúmen (Fig. 5B e C). O fenótipo nuclear apresentou uma cromatina descondensada e acumulada na periferia (Fig. 5A e B; 6A e C). A densa camada de colágeno não se restringiu apenas à camada subepitelial (Fig.

5A; 6A e F) distribuindo-se também entre as células musculares lisas e fibroblastos, contribuindo para a remodelação do compartimento estromal (Fig. 5A e F). As células musculares lisas (fig. 5A e F) apresentaram projeções celulares alterando seu fenótipo fusiforme. A membrana basal contínua limitou (Fig. 5A) o compartimento epitelial dos constituintes estromais nas lesões benignas, enquanto a descontinuidade da membrana basal (Fig. 6E) possibilitou que as protusões provenientes das células epiteliais invadissem o estroma caracterizando aparentemente uma lesão do tipo maligna.

Análise nucleolar

Os núcleos das células epiteliais secretoras apresentaram uma média de 39% de nucléolos na idade jovem reduzindo quase à metade na idade adulta, alcançando em torno de 31% com a senescência sendo todas essas variações estatisticamente significativas. Enquanto cerca de 83% dos núcleos na idade jovem apresentaram mais de dois nucléolos havendo uma redução significativa em torno de 14% para a idade adulta ($68,57 \pm 5,34\%$), enquanto que com o envelhecimento 97% das células analisadas apresentou este fenótipo, o que foi estatisticamente significativo. Poucos núcleos sem nucléolos foram evidenciados na fase jovem e adulta, enquanto com a senescência ocorreu uma ausência total desse fenótipo nuclear. Núcleos com um único nucléolo não apresentaram variação significativa entre a idade jovem e adulta, porém diminuiu de modo significativo com o envelhecimento. Núcleos com dois nucléolos foram mais evidentes na célula adulta reduzindo-se de modo significativo com a senilidade (Tabela I).

Análise da incidência e multiplicidade da lesão, porcentagem de lesões por alvéolos e perfil de alvéolo.

As variações das incidências de lesões não foram significativas em relação às idades analisadas. Na idade adulta a hiperplasia foi a lesão de maior incidência (70%) desenvolvendo posteriormente em 100% das glândulas senis. Por outro lado, a prostatite (10%) foi menos incidente na fase adulta seguida pelas displasias (20%) e pelos dois tipos de cálculos prostáticos (30%), enquanto com a senescência alcançaram uma incidência de 20%, 90%, 30% e 30%, respectivamente. A neoplasia intraepitelial de alto grau teve uma

redução de 10% em sua incidência com o envelhecimento (20%), enquanto o adenocarcinoma foi incidente em 20% do tecido senil, apresentando uma elevação de 10% em relação à fase precedente.

Dentre as lesões desenvolvidas na idade adulta a hiperplasia apresentou maior multiplicidade seguida pelo cálculo prostático, neoplasia intraepitelial de alto grau, microcálculo prostático, prostatite, displasias e adenocarcinoma. Com a senescência ocorreu um aumento significativo dessa multiplicidade em relação à displasia enquanto as demais não mostraram alteração significativa.

A avaliação da porcentagem de lesão por alvéolo da displasia indicou um aumento significativo com a senescência, porém, para a hiperplasia, prostatite, micro cálculo, neoplasia intraepitelial de alto grau e adenocarcinoma ocorreu uma elevação não significativa com o envelhecimento contrapondo-se à redução apresentada no diagnóstico do cálculo prostático.

Um aumento não significativo do perfil de ácino foi verificado entre a idade adulta e senil (Tabela II).

DISCUSSÃO

A análise detalhada da glândula prostática feminina revelando sua espontaneidade em desenvolver alterações histopatológicas de caráter benigno, pré-maligno e maligno em decorrência do processo de envelhecimento foi o foco deste trabalho. Porém, essa característica não se restringiu apenas a essa idade sendo exibida já na glândula adulta. As lesões identificadas não foram incidentes em todas as glândulas avaliadas e nem se restringiram a diagnósticos exclusivos por amostra, sendo identificadas intercalando regiões glandulares íntegras podendo ser múltiplas vezes encontradas na mesma amostra e em conjunto com outras alterações.

A incidência, multiplicidade e porcentagem de lesões desenvolvidas por alvéolos são índices que não haviam sido avaliados na próstata feminina. Mesmo se tratando de dados obtidos em um modelo experimental, esses parâmetros são necessários para se conhecer a realidade histopatológica da glândula feminina.

Segundo Santos e Taboga (2006), além das implicações biológicas e comportamentais assumidas pela glândula, o principal foco de interesse sobre a próstata feminina advém de sua capacidade em desenvolver lesões severas durante a senescência. Porém, Zaviačič (1999) anteriormente afirmou que em razão da aceitação do conceito vestigial e do descrédito da importância da glândula para a saúde da mulher, muitos relatos patológicos foram emitidos de modo impreciso, alegando-se tratar de doenças do trato urinário e não prostáticas.

A avaliação das lesões prostáticas femininas foi mais voltada para o compartimento epitelial, o qual muitas vezes não foi acompanhado pelo comprometimento do estroma adjacente. O aumento do volume relativo do órgão durante o desenvolvimento pós-natal ressaltando a elevada proporção epitelial e a redução do estroma durante a senescência foi avaliada por Custodio e colaboradores (2007 *submitted*) o que possivelmente pôde estar associado à histopatologia do compartimento epitelial.

Dentre as alterações benignas observadas na glândula feminina foi constatada uma grande dilatação luminal acompanhada de um epitélio simples pavimentoso. Essa arquitetura expandida do alvéolo acrescida do epitélio metaplásico conferiu à glândula o diagnóstico de hiperplasia prostática benigna. Folson e O'Brien (1943) relataram que essa desordem em mulheres é mais freqüente do que reconhecida e tratada, podendo incluí-la nos sintomas do trato urinário inferior, semelhante ao modo como é reconhecida nos homens. Essa lesão leva a obstrução e retenção urinária além de um maior comprometimento do sistema renal, como já foi avaliado em necropsias (Zaviačič, 1999). Assim como no homem, na mulher essa doença é caracterizada pela progressiva hiperplasia glandular e estromal (Bierhoff et al., 1997) ao redor da uretra levando as obstruções urodinâmicas (Untergasser et al., 2005). Marcelli e Cunningham (1999) acreditam que a dinâmica celular conduzida pelo aumento do número de células em função de sua proliferação e redução do processo de apoptose seja uma das conseqüências do alargamento do lúmen da próstata.

Desde a idade adulta essa hiperplasia prostática teve incidência, multiplicidade e porcentagem de lesão por alvéolo expressiva, mas o agravamento ocorreu na senescência, onde todas as glândulas avaliadas estiveram comprometidas, confirmando assim sua forte

relação com a idade. No órgão masculino, situação semelhante ocorre sendo a idade avançada um dos fatores de risco desencadeante dessa desordem (Griffith et al., 1998; Carson e Rittmaster, 2003; Untergasser et al., 2005).

Os cálculos prostáticos também foram diagnosticados na glândula sendo diferenciados de acordo com suas dimensões. Estruturas diminutas com aspecto cristalóide dispersas pelo lúmen do alvéolo foram identificados como micro-cálculos, enquanto os cálculos prostáticos propriamente ditos apresentaram maiores dimensões e revestiram toda a luz da glândula. Ambos apresentaram a mesma incidência na próstata adulta e senil, porém a multiplicidade dos microcálculos dobrou com a senescência, enquanto os cálculos mostraram uma ligeira diminuição. Esses elementos podem ser gerados pela calcificação dos corpos amiláceos ou pela precipitação da secreção prostática contribuindo para os sintomas das doenças que também envolvem o trato urinário inferior (Klimas et al., 1985; Sondergaard et al., 1987; Billis, 1995). Corpos amiláceos e cálculos prostáticos contendo sais de fosfato de cálcio, magnésio, potássio, carbonato de cálcio e oxalato de cálcio costumam acompanhar a hiperplasia prostática benigna no homem (Geramoutsos et al., 2004), enquanto na fêmea esse agrupamento concomitante não foi muito freqüente. Essas estruturas podem atuar como um empecilho para os ductos, obstruindo os alvéolos, iniciando reações inflamatórias chegando a causar abscessos.

A incidência e multiplicidade dos infiltrados inflamatórios também foram maiores com a senescência. Essa lesão benigna foi identificada tanto no lúmen da glândula como no interstício ao redor dos alvéolos e também associada ao adenocarcinoma. Zaviačič (1999) expôs que durante muito tempo essas infecções provenientes da próstata feminina foram conhecidas como síndrome uretral feminina e tratadas como doenças da uretra. Após a ligeira conscientização sobre a importância dessa glândula, a infecção foi denominada de prostatite, sendo semelhante ao macho, e submetida a terapêuticas adequadas. Atualmente sabe-se que a infecção mais comum do trato urinário feminino, a cistite, tem seu foco de origem na próstata em função de uma comunicação existente entre a próstata, a uretra e a parede anterior da vagina. Assim, quando ocorre a inflamação da próstata (prostatites ou Skenites) essa infecção pode se disseminar por todo o trato reprodutor feminino, caracterizando as conhecidas útero-prostato-cistites.

A proliferação anômala de células epiteliais foi observada na glândula adulta (30%) ocorrendo uma leve diminuição de sua incidência (20%) e aumento de sua multiplicidade com o envelhecimento. Essa proliferação celular alterada é definida como uma lesão pré-maligna (Lippman e Hong, 2002a b) conhecida como neoplasia intraepitelial prostática (NIP) sendo classificada como de baixo e alto grau (OMS, 2004) em consequência de sua complexa arquitetura morfológica e anormalidade celular.

No entanto, a distinção entre a NIP de baixo grau, o epitélio normal e a hiperplasia epitelial é difícil ser realizada, segundo a Organização Mundial da Saúde (2004), além do que, segundo relatos clínicos, esse tipo de proliferação celular pode envolver não significando uma lesão potencial para a glândula. Dessa forma, apesar das prováveis NIP de baixo grau ter sido identificada com esse estudo, apenas as de alto grau foram consideradas para a análise. As NIP de alto grau são lesões heterogêneas constituídas por células volumosas com nucléolos poeminentes sendo que através do arranjo assumido pelas células proliferadas é possível descrever quatro diferentes padrões morfológicos, havendo as NIP com organização plana, em tufos, como micropapilas e os arranjos cribiformes (Billis, 1995; Bostwick et al., 2000; Shappell et al., 2004; OMS, 2004). O modelo cribiforme de lesão é caracterizado pela formação de arcos intraepiteliais na glândula que estabeleceram os “micro lumens” (Brawer, 1992) e são considerados um caso extremo de natureza pré-maligna que pode ser confundido com o câncer de próstata (Mostofi et al., 1992).

Mesmo com as lesões benignas e pré-malignas desenvolvidas no órgão, a análise ultra-estrutural das células secretoras e estromais não mostraram o comprometimento de sua atividade permanecendo o sistema de endomembranas íntegros e funcionais. Custodio e colaboradores (2007 *submitted*) verificaram que apesar da existência dos grânulos do tipo lipofuscina e da sua aparência fragmentada em função dos corpos vesiculares heterogêneos dispersos pelo citoplasma celular, a glândula prostática senescente é ativa. Ao se comparar a atividade da enzima fosfatase ácida entre as próstatas do gerbilo em ambos os sexos, Custodio e colaboradores (2004) também demonstraram que a atividade secretora da glândula feminina se mantém constante durante a senescência confirmando a funcionalidade celular durante essa idade.

Em conjunto às demais lesões verificadas no tecido prostático feminino, adenocarcinomas foram identificadas em 10% das glândulas femininas ainda na fase adulta, tendo sua incidência dobrada e sua multiplicidade triplicada com a senilidade. Segundo Zaviačič (1999) a incidência do adenocarcinoma prostático feminino é muito baixa, provavelmente devido ao reconhecimento tardio da funcionalidade da glândula, aliado ao diagnóstico impreciso gerado durante muitos anos em função do acometimento de outros tecidos genitais femininos, como a uretra. Porém, técnicas imunohistoquímicas detectaram que este tecido é o foco de origem de muitos cânceres de uretra (Huffman, 1951; Zaviačič et al., 1993; Dodson et al., 1994; 1995; Ali et al., 1995; Ebisuno et al., 1995; Sloboda et al., 1998; Islam et al., 2001; Sharifi-Aghdas e Ghaderian, 2004; Kato et al., 2005; McCluggage et al., 2006).

O desenvolvimento de histopatologias na glândula feminina requer atenção, pois a invasão das células alteradas a partir deste tecido é facilitada devido suas características estruturais e localização anatômica. As semelhanças entre a glândula humana (Zaviačič, 1999) e a do gerbilo (Santos et al., 2003, Custodio et al., 2004 e 2007 *submitted*; Santos et al., 2006; Santos e Taboga, 2006) apontam que ambas são constituídas por um conjunto de glândulas e ductos dispostos lateralmente à uretra e inseridas num estroma fibromuscular. No entanto, apesar dos constituintes estromais existentes, a glândula feminina não apresenta uma proteção tecidual efetiva como ocorre com o órgão masculino, de roedor e de humano, no qual a densa musculatura lisa acompanhada pela camada de colágeno envolve a próstata estabelecendo uma cápsula (Mc Neal, 1993; Pegorin de Campos et al., 2006). Dessa forma, na fêmea, células neoplásicas podem ser disseminadas a partir da glândula para os demais órgãos urogenitais. Além de considerar as características próprias desse tipo celular, como: habilidade migratória, incontrolada proliferação e perda da diferenciação celular que distinguem as células cancerosas das saudáveis e conduzem a próstata a um crescimento desregulado (Zeng e Kyprianou, 2005; Reynolds e Kyprianou 2006).

Um número considerável de núcleos com mais de dois nucléolos foi destacado em todas as idades ocorrendo um aumento significativo dessa característica no decorrer do envelhecimento confirmando assim a elevada atividade metabólica. Enquanto a maioria das células secretoras da glândula masculina nas três idades do desenvolvimento pós-natal não

apresentou nucléolo ou exibiu apenas um corpúsculo nucleolar (Pegorin de Campos et al., 2006). Ultra-estruturalmente, um núcleo volumoso contendo numerosos nucléolos conspícuos foi comumente observado nas células secretoras, inclusive em áreas proliferativas onde possivelmente a atividade celular foi mais intensa. Durante a idade jovem, essa ativação pode ter sido conseqüência do desenvolvimento do tecido, enquanto nas idades subseqüentes o aumento dos números de nucléolos pode ser atribuído às alterações histopatológicas desenvolvidas a partir da fase adulta. De acordo com Roynolds e Kyprianou (2006) as células neoplásicas apresentam núcleos caracterizados por seus nucléolos proeminentes. No entanto, as células secretoras da glândula feminina apresentaram uma diminuição da área, perímetro e fator forma nuclear durante o envelhecimento. A quantificação nucleolar realizada neste trabalho não foi executada em função das diferentes histopatologias, o que pode ter dificultado a correlação do fator forma nuclear (Taboga et al., 2003) e demais variáveis à melhoria do diagnóstico histológico. Apesar desses resultados estatísticos nucleares obtidos, não se deve afirmar que houve uma diminuição das atividades transcricionais nucleares durante o desenvolvimento pós-natal e instalação de lesões. Ao contrário, aliado ao padrão ultra-estrutural e a análise quantitativa da porcentagem de nucléolo por núcleo foi mostrado relevante atividade celular. Mediante o abordado, presume-se que o conteúdo de DNA nucleolar continua sendo um indicador da condição funcional e grau de proliferação celular (Trére, 2000; Karalyan et al., 2004) além da utilização do fenótipo nucleolar como indicador da ativação metabólica, como foi verificado nos estudos executados com tecidos cancerosos (Buhmeida et al., 2000; Derenzini et al., 2000).

O agravamento histopatológico da glândula do gerbilo durante o climatério provavelmente esteve aliado ao declínio dos hormônios esteróides. Segundo Custodio e colaboradores (2007 *submitted*), o nível de testosterona sérica foi de 0,18 ng/ml nesta idade sendo três e oito vezes menores que a concentração encontrada na idade jovem e adulta, respectivamente, enquanto o nível de estrógeno teve uma queda significativa passando de 25,02 pg/ml na idade adulta para 18,56 pg/ml na senil. O nível de DHEA circulante no gerbilo adulto foi 2,66 ng/ml decaindo com a senescência para 1,52 ng/ml. Provavelmente, a queda nos hormônios esteróides circulantes esteja associada não só a privação da função

ovariana característica nesta fase, mas também à redução do DHEA. Segundo Labrie e colaboradores (2005) este hormônio é responsável pela conversão de andrógeno e/ou estrógeno nos tecidos periféricos, como a próstata. Estudos realizados em mulheres (Miller, 2001) confirmam uma diminuição dos níveis esteróides com o envelhecimento e conseqüentemente, muitas desordens patológicas são resultantes dessa significativa redução quando comparado com mulheres saudáveis em idade reprodutiva.

A próstata feminina mesmo na idade adulta manifestou sua predisposição em desenvolver alterações histopatológicas, porém provavelmente devido a um efeito sinérgico de múltiplos fatores associado ao déficit endócrino gerado durante a senescência acentuou a incidência, multiplicidade e gravidade dessas doenças. O atual estudo pode firmar definitivamente nesta glândula lesões já identificadas no órgão masculino (Mostofi et al., 1992; Brawer, 1992; Mc`Neal, 1993; Sloboda et al., 1998) durante o envelhecimento, além de apresentar através de tais índices a realidade quantitativa dessas histopatologias.

O entendimento dos processos patológicos que acometem a glândula prostática em ambos os sexos necessita de uma combinação multidisciplinar de conhecimentos, principalmente no que se refere ao câncer (Hsing et al., 2002). Isto inclui dados epidemiológicos, urológicos, patológicos, bioquímicos, endocrinológicos, genéticos e moleculares, além de uma condição primária e de extrema relevância que é a aceitação plena da glândula prostática como um órgão do aparelho genital feminino com predisposição ao desenvolvimento de lesões com os mais variados níveis de comprometimento. Apesar da alarmante realidade da glândula prostática, as atenções clínicas continuam voltadas para outros órgãos femininos. Informações sobre a biologia desta glândula aliada a possíveis prevenções básicas que fazem parte da rotina urológica deveriam ser introduzidas ao contexto clínico feminino com o intuito de se monitorar o órgão e evitar possíveis desconfortos e comprometimentos à saúde da mulher.

BIBLIOGRAFIA

- Ali SZ, Smilari TF, Gal D, Lovecchio JL and Teichberg S. 1995. Primary adenoid cystic carcinoma of Skene's glands. *Gynecol Oncol*, 57: 257-61.
- Aloysi A, Van Dyk K and Sano M, 2006. Women's cognitive and affective health and neuropsychiatry. *Mt Sinai J Med*. 73: 967-75.
- Banerjee PP, Banerjee S and Brown TR, 2001. Increased androgen receptor expression correlates with development of age-dependent, lobespecific spontaneous hyperplasia of the Brown Norway rat prostate. *Endocrinology* 142: 4066-75.
- Behmer OA, Tolosa EMC and Freitas-Neto AG, 1976. Manual para histologia normal e patológica. Edart-Edusp, São Paulo.
- Bierhoff E, Walljasper U, Hofmann D, Vogel J, Wernert N and Pfeifer U, 1997. Morphological analogies of fetal prostate stroma and stromal nodules in BPH. *Prostate*. 31: 234-40.
- Billis A, 1995. Uropatologia: Próstata. Guia prático para o diagnóstico anatomopatológico. UNICAMP, Campinas, SP.
- Bonkhoff H and Remberger K, 1998. Morphogenetic concepts of normal and abnormal growth in the human prostate. *Virchows Arch*. 433: 195-202.
- Bostwick DG, Ramnani D and Qian J, 2000. Prostatic intraepithelial neoplasia: animal models 2000. *Prostate* 43: 286-94.
- Brawer MK, 1992. Prostatic Intraepithelial neoplasia: a premalignant lesion. Symposium: The pathology of Prostate cancer – prt 1: Classic aspects of prostate cancer pathology. *Human Pathol* 23: 242-48.
- Buhmeida A, Kuopio T and Collan Y, 2000. Nuclear size and shape in fine needle aspiration biopsy samples of the prostate. *Anal Quant Cytol Histol* 22: 291-8.
- Carson C and Rittmaster R, 2003. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology* 61: 2-7.
- Castelo-Branco C and Rostro F, 2006. Management of menopause. *Minerva Ginecol* 58: 137-52.
- Chahal HS and Drake WM, 2007. The endocrine system and ageing. *J Pathol* 21: 173-80.
- Cotta-Pereira G, Rodrigo FG and David-Ferreira JF, 1976. The use of tannic acid-glutaraldehyde in the study of elastic related fibers. *Stain Technol* 51:7-11.
- Custódio AMG, Góes RM and Taboga SR, 2004. Acid phosphatase activity in gerbil prostate: comparative study in male and female during postnatal development. *Cell Biol Int* 28: 335-44.
- Custódio AMG, Jesus GP, Santos FCA, Falleiros-Jr LR and Taboga SR., 2006. Senescence and steroidal therapies induce alterations of the epithelial cells phenotypes in the gerbil female prostate. In Proceedings of the XIII Congresso Brasileiro de Biologia Celular, 2006. Búzios, Brazil.
- Custodio AMG, Santos FCA, Campos SGP, Vilamaior PSL and Taboga SR, 2007. Aging effects of the on mongolin gerbil female prostate: structural, ultrastructural quantitative and hormonal evaluations. *Anat Rec (submitted)*.
- Derenzini M, Trere D, Pession A, Govoni M, Sirri V and Chieco P, 2000. Nucleolar size indicates the rapidity of cell proliferation in cancer tissues. *J Pathol* 191: 181-6.

- Dodson MK, Cliby WA, Keeney GL, Peterson MF and Podratz KC, 1994. Skene's gland adenocarcinoma with increased serum level of prostate-specific antigen. *Gynecol Oncol* 55: 304-7.
- Dodson MK, Cliby WA, Pettavel PP, Keeney GL and Podratz KC, 1995. Female urethral adenocarcinoma: evidence for more than one tissue of origin? *Gynecol Oncol* 59: 352-7.
- Ebisuno S, Miyai M and Nagareda T, 1995. Clear cell adenocarcinoma of the female urethra showing positive staining with antibodies to prostate-specific antigen and prostatic acid phosphatase. *Urology* 45: 682-5.
- Flamini MA, Barbeito CG, Gimeno EJ and Portiansky EL, 2002. Morphological characterization of the female prostate (Skene's gland or paraurethral gland) of *Lagostomus maximus maximus*. *Annals of Anatomy*, 184: 341-5.
- Folson AL and O'Brien HÁ, 1943. The female urethra. The connecting link between the urologist and the gynecologist. *JAMA* 128: 408 - 14.
- Geramoutsos I, Gyftopoulos K, Perimenis P, Thanou V, Liagka D, Siamblis D and Barbalias G, 2004. Clinical correlation of prostatic lithiasis with chronic pelvic pain syndromes in young adults. *Eur Urol* 45: 333-7.
- Gömöri G. 1937. Silver impregnation for reticulin in paraffin sections. *Am J Pathol* 13:993-1002.
- Griffith TS, Kawakita M, Tian J, Ritchey J, Tartaglia J, Sehgal I, Thompson TC, Zhao W and Ratliff TL, 2001. Inhibition of murine prostate tumor growth and activation of immunoregulatory cells with recombinant canarypox viruses. *J Natl Cancer Inst* 93: 998-1007.
- Gross SA and Didio LJA, 1987 Comparative morphology of the prostate in adult male and female of *Praomys (mastomys) natalensis* studies with electron microscopy. *J Submicrosc Cytol* 19: 77-4.
- Howell WM and Black DA. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer. I. Step method. *Experientia* 36: 104-105.
- Hsing AW, Reichardt JK and Stanczyk FZ, 2002. Hormones and prostate cancer: current perspectives and future directions. *Prostate* 52: 213-35.
- Huffman JW, 1951. Clinical significance of the paraurethral ducts and glands. *Arch Surg* 62: 615-25.
- Islam AHMM, Kato H, Hayama M, Kobayashi S, Ota H and Nishizawa O, 2001. Adenocarcinoma of female paraurethral duct showing neuroendocrine differentiation. *Urology* 58: 1058.
- Karalyan ZA, Djaghatspanyan NG, Gasparyan MH, Karobyan LA, Abroyan LO, Magakian YH, Ter-Pogossyan ZR, Kamalyan LA and Karalova EM, 2004. Morphometry of nuclear and nucleolar structures in a CaCo-2 cell line. *Cell Biol Int* 28: 249-53.
- Kato H, Kobayashi S, Islam AM and Nishizawa O, 2005. Female para-urethral adenocarcinoma: histological and immunohistochemical study. *Int J Urol* 12: 117-9.
- Klimas R, Bennet B and Gardner Jr WA, 1985. Prostatic caculi: a review. *Prostate* 7: 91-9.
- Labrie F, 2006. Dehydroepiandrosterone, androgens and the mammary gland. *Gynecol Endocrinol* 22: 118-30.
- Labrie F, Luu-The V, Bélanger A, Lin S-X, Simard J, Pelletier G and Labrie C, 2005. Is dehydroepiandrosterone a hormone? *J Endocrinol* 187: 169-96.

- Labrie F, Luu-The V, Labrie C and Sigmard J, 2001. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: Intracrinology. *Front Neuroendocrinol* 22: 185-212.
- Leav I, Schelling KH, Adams JY, Merck FB and Alroy J, 2001. Role of canine basal cells in postnatal prostatic development, induction of hyperplasia, and sex-hormone-stimulated growth, and ductal origin of carcinoma. *Prostate* 48: 210-24.
- Lippman SM and Hong WK, 2002a. Cancer prevention science and practice. *Cancer Res* 15: 5119-25.
- Lippman SM and Hong WK, 2002b. Cancer prevention by delay. Commentary re: J. A. O'Shaughnessy et al., Treatment and Prevention of Intraepithelial Neoplasia: An Important Target for Accelerated New Agent Development. *Clin. Cancer Res* 8: 314-46.
- Marcelli M and Cunningham GR, 1999. Hormonal signaling in prostatic hyperplasia and neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 3463-8.
- McCluggage WG, Ganesan R, Hirschowitz L, Miller K and Rollason TP, 2006. Ectopic prostatic tissue in the uterine cervix and vagina: report of a series with a detailed immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol* 30: 209-15.
- McNeal JE, 1983. The prostate gland: morphology and pathobiology. *Monogr Urol* 4: 3-37.
- Miller KK, 2001. Androgen deficiency in women. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 2395-2401.
- Mostofi, FK, Sesterhenn IA and Davis Jr. CJ, 1992. Prostatic Carcinoma: Problems in the Interpretation of Prostatic Biopsies. Symposium: The pathology of Prostate cancer – prt 1: Classic aspects of prostate cancer pathology. *Hum Pathol* 23: 223-41.
- Pegorin de Campos SG, Zanetoni C, Góes RM and Taboga SR, 2006. Biological Behavior of the Gerbil Ventral Prostate in Three Phases of Postnatal Development. *Anat Rec* 288: 723-33.
- Reynolds AR and Kyprianou N, 2006. Growth factor signalling in prostatic growth: significance in tumour development and therapeutic targeting. *Br J Pharmacol* 147: 144-52.
- Santos FCA and Taboga SR, 2006. Female prostate: a review about the biological repercussions of this gland in humans and rodents. *Anim Reprod* 3: 3-18.
- Santos FCA, Carvalho HF, Góes RM and Taboga SR, 2003. Structure, histochemistry and ultrastructure of the epithelium and stroma in the gerbil (*Meriones unguiculatus*) female prostate. *Tissue Cell* 35: 447-57.
- Santos FCA, Leite RP, Custódio AMG, Carvalho KP, Monteiro-Leal LH, Santos AB, Carvalho HF and Taboga SR, 2006. Testosterone stimulates growth and secretory activity of the adult female prostate of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Biol Reprod* 75: 370-9.
- Shappell SB, Thomas GV, Roberts RL, Herbert R, Ittmann MM, Rubin MA, Humphrey PA, Sundberg JP, Rozengurt N, Barrios R, Ward JM and Cardiff RD, 2004. Prostate pathology of genetically engineered mice: definitions and classification. The consensus report from the Bar Harbor meeting of the Mouse Models of Human Cancer Consortium Prostate Pathology Committee. *Cancer Res.* 15: 2270-305.
- Sharifi-Aghdas F and Ghaderian N, 2004. Female paraurethral cysts: experience of 25 cases. *BJU Int*, 93: 353-56.

- Shehata R, 1974. Urethral glands in the wall of the female urethra of rats, mice and closely related rodents. *Acta Anat* 90: 381-87.
- Shehata R, 1975. Female prostate in *Arvicantihis niloticus* and *Meriones lybicus*. *Acta Anat* 92: 513-23.
- Shehata R, 1980. Female prostate and urethral glands in the home rat, *Rattus norvegicus*. *Acta Anat* 107:286-88.
- Sloboda J, Zaviačič M, Jakubovský J, Hammar E and Johnsen J, 1998. Metastasizing adenocarcinoma of the female prostate (Skene's paraurethral glands). Histological and immunohistochemical prostate markers studies and first ultrastructural observation. *Pathol Res Pract* 194: 129-36.
- Smith AF, Landon GV, Ghanadian R and Chisholm GD, 1978. The ultrastructure of the male and female prostate of *Praomys (Mastomys) natalensis*. *Cell Tiss Res*, 190: 539-52.
- Sondergaard G, Vetner M and Christensen PO, 1987. Prostatic calculi. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 95: 141-5.
- Taboga SR, Santos AB, Gonzatti AGR, Vidal BC and Mello MLS, 2003. Nuclear phenotypes and morphometry of human secretory prostate cells: a comparative study of benign and malignant lesions in Brazilian patients. *Caryologia* 56: 313-220.
- Tepper SL, Jagirdar J, Heath D and Geller SA, 1984. Homology between the female paraurethral (Skene's) glands and the prostate. *Arch Pathol Lab Med* 108: 423-5.
- Trére D, 2000. AgNOR staining and quantification. *Micron* 31: 127-31.
- Untergasser G, Madersbacher S and Berger P, 2005. Benign prostatic hyperplasia: age-related tissue-remodeling. *Exp Gerontol* 40: 121-8.
- Wernet N, Albrecht M, Sesterhenn I, Goebbels R, Bonkhoff H, Seitz G, Inniger R and Remberger K, 1992. The "female prostate": location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. *Eur Urol* 22: 64-9.
- Wernet N, Gerdes J, Loy V, Seitz G, Scherr O and Dhom G, 1988. Investigations of the estrogen (ER-ICA-test) and progesterone receptor in the prostate and prostatic carcinoma on immunohistochemical basis. *Virchows Arch Pathol* 412: 387-91.
- World Health Organization (2004). Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. France: IARC Press, France.
- Yeh IT, 2007. Postmenopausal hormone replacement therapy: endometrial and breast effects. *Adv Anat Pathol* 14: 17-24.
- Zaviačič M and Ablin RJ, 2000. The female prostate and prostate-specific antigen. Immunohistochemical localization, implications of this prostate marker in women and reasons for using the term "prostate" in human female. *Histol Histopathol*, 15: 131-42.
- Zaviačič M, 1999. The Female Prostate: From vestigial Skene's paraurethral glands and ducts to woman's functional prostate. Slovak Academic Press, Slovakia.
- Zaviačič M, Danihel L, Ružičková M, Blažeková J, Itoh Y, Okutani R and Kaway T, 1997. Immunohistochemical localization of human protein 1 in the female prostate (Skene's Gland) and the male prostate. *Histochem J* 29: 219-27.
- Zaviačič M, Jakubovská V, Belošovič J and Breza J, 2000a. Ultrastructure of the normal adult human female prostate gland (Skene's gland). *Anat Embriol* 20: 51-61.

- Zaviačič M, Sidlo J and Borovský M, 1993. Prostate specific antigen and prostate specific acid phosphatase in adenocarcinoma of Skene's paraurethral glands and ducts. *Virchows Arch A Pathol Anat*, 423: 503-5.
- Zaviačič M, Zajíčková M, Blazeková J, Donárová L, Svetoslav S, Miroslav M, Zaviačič T, Holomán K and Breza J, 2000b. Weight, size, macroanatomy, and histology of the normal prostate in the adult human female: a minireview. *J Histotechnol* 23: 61-9.
- Zeng L and Kyprianou N, 2005. Apoptotic regulators in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): value in prostate cancer detection and prevention. *Prostate Can Prostatic Dis* 8: 7-13.

Legendas

Tabela I: Porcentagem da distribuição de nucléolo por núcleos nas células epiteliais secretoras da glândula prostática feminina nas idades jovem, adulta e senil. Os valores mencionados correspondem à média e ao erro padrão, respectivamente. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($*p \leq 0,05$) entre as idades avaliadas. Letras sobrescritas (^{a, b, c}) representam diferenças significativas entre as idades.

Tabela II: Dados da incidência (I = diagnóstico da lesão / amostra), multiplicidade (M = número de lesões específicas / amostra), porcentagem de lesões por ácino (% de lesão por alvéolo = n° de alvéolos que desenvolveu a lesão específica / n° de alvéolos presentes no corte histológico) durante as fases do desenvolvimento pós-natal. Os valores mencionados correspondem à média e ao erro padrão, respectivamente. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($*p \leq 0,05$) entre as idades avaliadas. Letras sobrescritas (^{a, b, c}) representam diferenças significativas entre as idades.

Figura 1: Aspectos estruturais e histoquímicos da próstata feminina jovem. **A:** Visão geral do compartimento epitelial (EP) inserido no estroma (E) glandular (G). Coloração: H&E. **B:** Detalhe do epitélio, com células secretoras (CS) e basal (*) delimitando o lúmen (L) do alvéolo envolvido pela camada de células musculares lisas (CML). Coloração: H&E. **C:** Fibras reticulares (setas) entremeadas pelos depósitos de colágeno (*). Coloração: Reticulina de Gömöri.

Figura 2: Alterações histopatológicas identificadas na próstata feminina senil corada com H&E. **A:** Aspecto geral da glândula com regiões de hiperplasia prostática benigna (setas) Estroma (E). **B:** Detalhe do epitélio metaplásico do tipo simples pavimentoso. Lúmen (L) com micro-cálculos dispersos (setas). Colágeno (CO). **C:** Alvéolo displásico com cálculos prostáticos (setas). Células musculares lisas (CML). Vaso sanguíneo (VS). **D:** Neoplasia intraepitelial (NIP) de baixo grau. Epitélio (EP) e lúmen (L).

Figura 3: Aspectos estruturais e histoquímicos da próstata feminina senil com alterações histopatológicas. **A:** Neoplasia intraepitelial (NIP) de alto grau com padrão cribiforme destacando os micro-lúmens (setas). Lúmen (L). Coloração: H&E. **B:** Alvéolo com invasão de células epiteliais para o estroma indicando um possível adenocarcinoma (seta). Prostatite (*). Coloração: H&E. **C:** Detalhe da base do epitélio (visto na fotomicrografia B), notando-se o rompimento das fibras reticulares subepiteliais (cabeça de seta) e a invasão das células epiteliais (*) para o estroma. Coloração: Retículina de Gömöri.

Figura 4: Aspectos ultra-estruturais da próstata feminina jovem. **A:** Epitélio com células secretora (CS) e basal (CB) de núcleos (N) volumosos. Mitocôndrias (M), retículo endoplasmático rugoso (RER) e vesículas de secreção (seta) dispersas pelo citoplasma das células. Abundantes interdigitações (setas espessas). Membrana basal (MB) íntegra delimitando o compartimento epitelial dos constituintes estromais, como: célula muscular lisa (CML) com cavéolas (pequenas setas) na superfície de sua membrana, fibroblasto (F) e fibras de colágenos (CO). Lúmen (L). 6000x. **B:** Complexo de Golgi (CG) na posição supra-nuclear (núcleo: N) da célula secretora interligada com a adjacente pelos desmossomos (seta). Núcleo (N) e desmossomos. 12930x.

Figura 5: Aspectos ultra-estruturais da próstata feminina senil com alterações histopatológicas. **A:** Epitélio pavimentoso com células secretoras (CS) de fenótipos heterogêneos e núcleos (N) volumosos, com vesículas de secreção (setas brancas) dispersas pelo citoplasma e microvilosidades (setas negras) em sua superfície apical. Estroma compacto rico em fibrilas colágenas (CO) e células musculares lisas (CML) abaixo da membrana basal (MB) íntegra. 6000x. **B:** Pleiomorfismo celular mostrando o contraste entre a célula secretora clara e escura ativas com núcleos (N) volumosos, vesículas de secreção (setas brancas) e mitocôndrias (M) dispersas pelo citoplasma. Lúmen (L) com acúmulo de corpos cristalóides (setas negras). 6000x. **C:** Detalhe dos cristais acumulados no lúmen da glândula. 6000x. **D:** Célula secretora com complexo de Golgi (*) desenvolvido de posição supra-nuclear (núcleo: N). 27800x. **E:** Ápice da célula secretora com vesículas de secreção (setas) e acúmulo de grânulos do tipo cerâmidas (*). Núcleo (N), mitocôndria (M) e lúmen

(L). 16700x. **F:** Células musculares lisas (CML) com projeções celulares entremeadas pela densa camada de colágeno (CO). Cavéolas (pequenas setas). 10000x.

Figura 6: Aspectos ultra-estruturais da próstata feminina com alterações histopatológicas. **A:** Epitélio com células secretoras (CS) de núcleos (N) volumosos e com grânulos do tipo ceramidas (*) dispersos pelo citoplasma. Abundantes espaços intraepiteliais (setas) entre as células adjacentes. 6000x. **B:** Detalhe dos amplos espaços intraepiteliais (setas). 10000x. **C:** Detalhe da formação do arco intraepitelial. Núcleo (N). 10000x. **D:** Arcos intraepiteliais formando os micro-lúmens (setas cheias) característico do padrão cribiforme da NIP de alto grau. Núcleo (N) e microvilosidades (setas negras). 16700x. **E:** Membrana basal (MB) fenestrada com protusões do citoplasma da célula epitelial em contato com o estroma indicando uma provável lesão maligna. Colágeno (CO). 16700x.

Tabela I

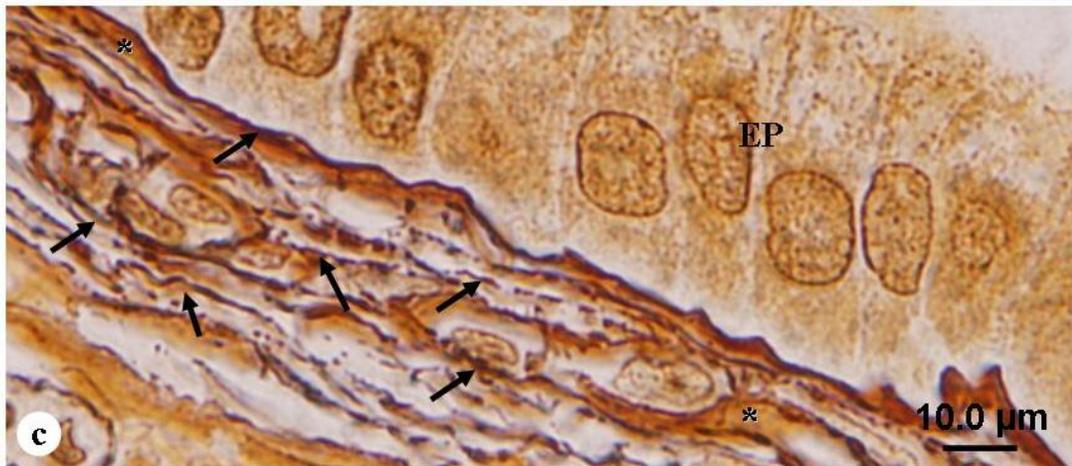
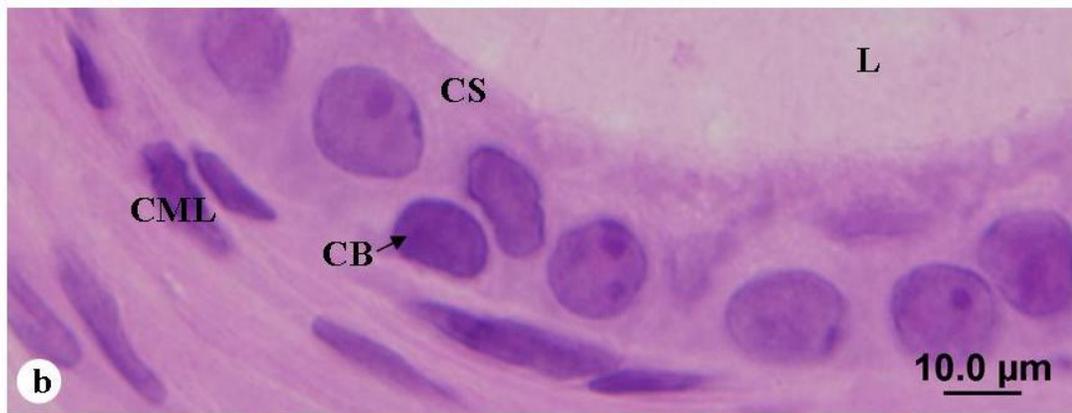
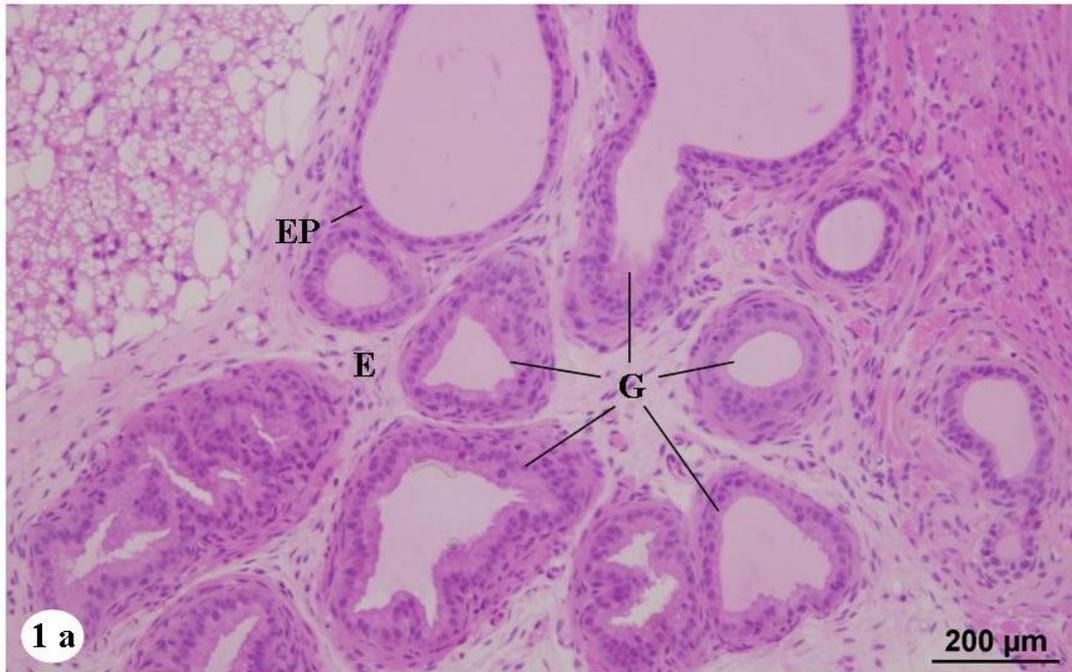
% de número de nucléolos por núcleos

Idades	Número de nucléolo em cada núcleo				Média do número de nucléolos no grupo*
	0*	1*	2*	+ que 2*	
Jovem	3.41 ^a ± 1.45	5.85 ^a ± 1.52	7.63 ^a ± 1.82	83.09 ^a ± 3.68	38.79 ^a ± 3.35
Adulta	9.11 ^b ± 1.98	9.74 ^a ± 2.67	12.56 ^a ± 2.75	68.57 ^b ± 5.34	20.96 ^b ± 1.32
Senil	0.00 ^a ± 0.00	2.10 ^b ± 1.27	0.83 ^b ± 0.58	97.05 ^c ± 1.69	31.32 ^a ± 2.23

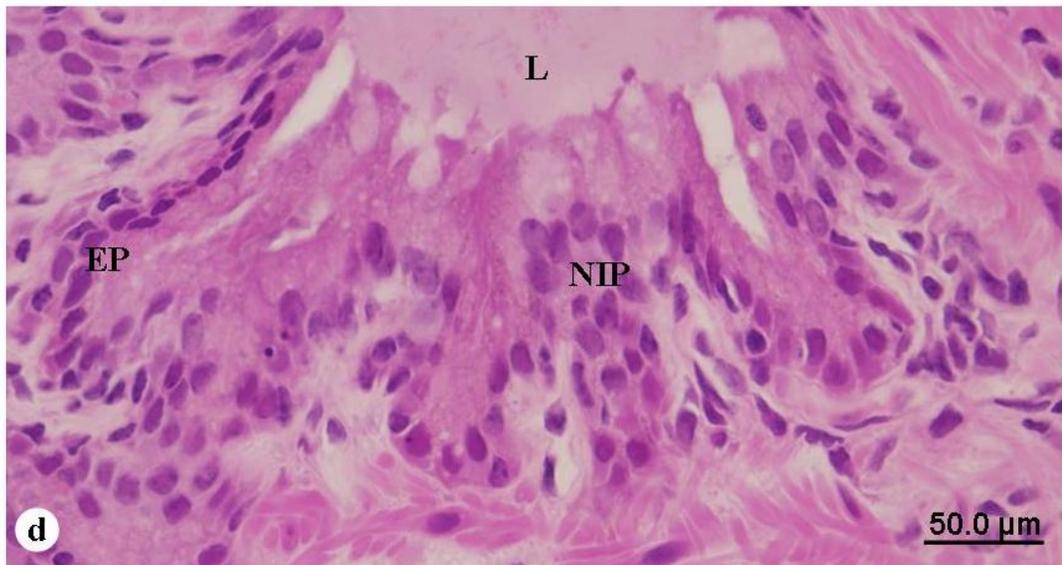
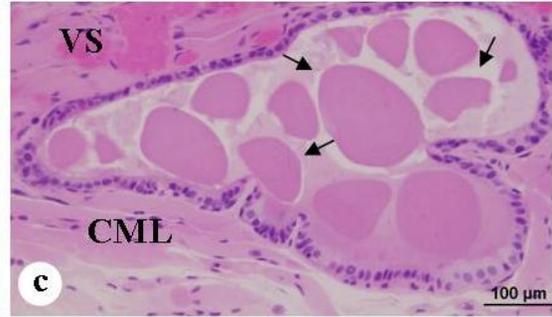
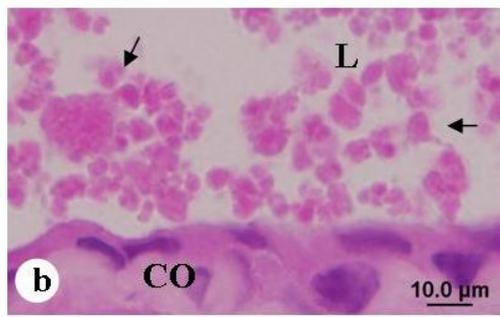
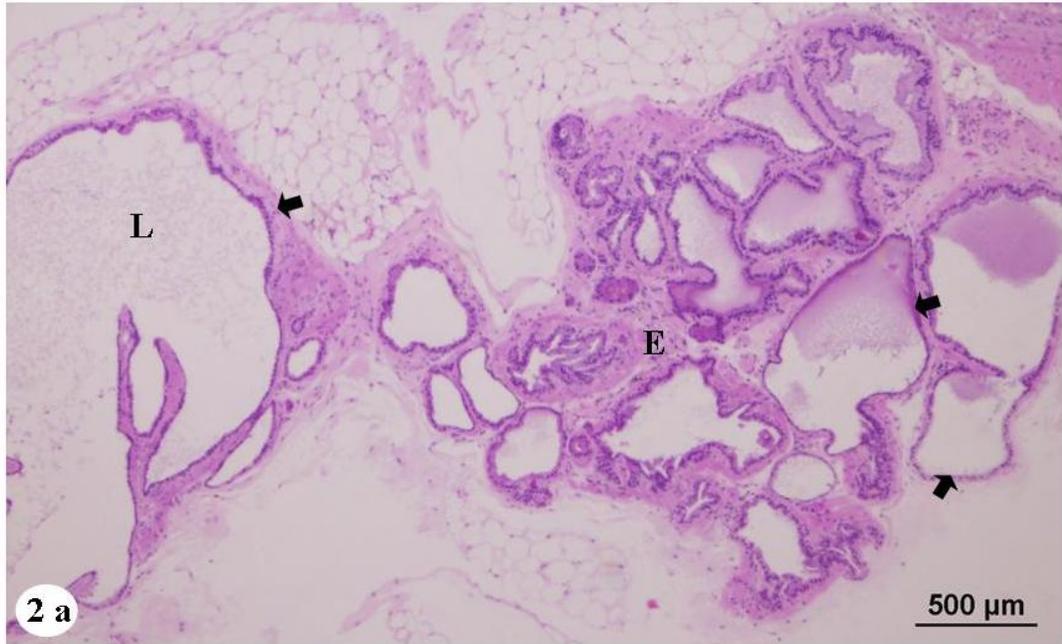
Tabela II

Lesões Prostáticas Femininas

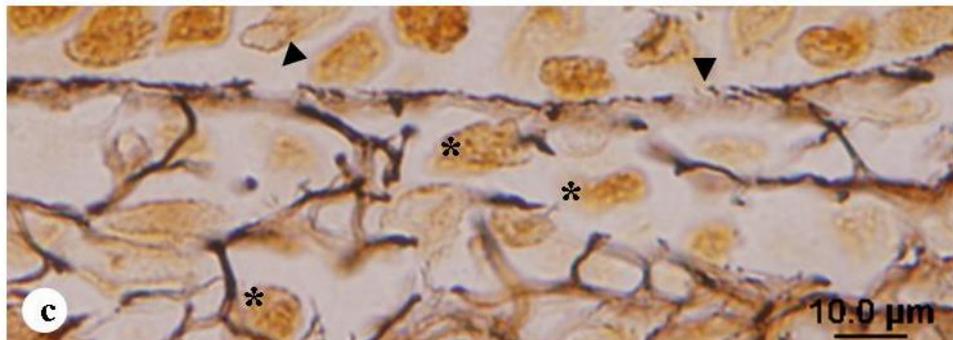
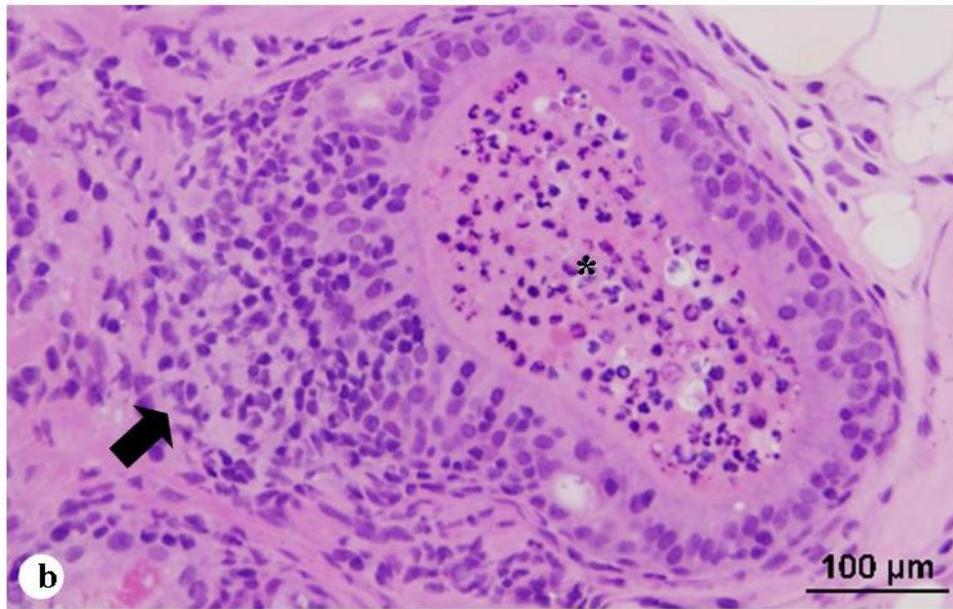
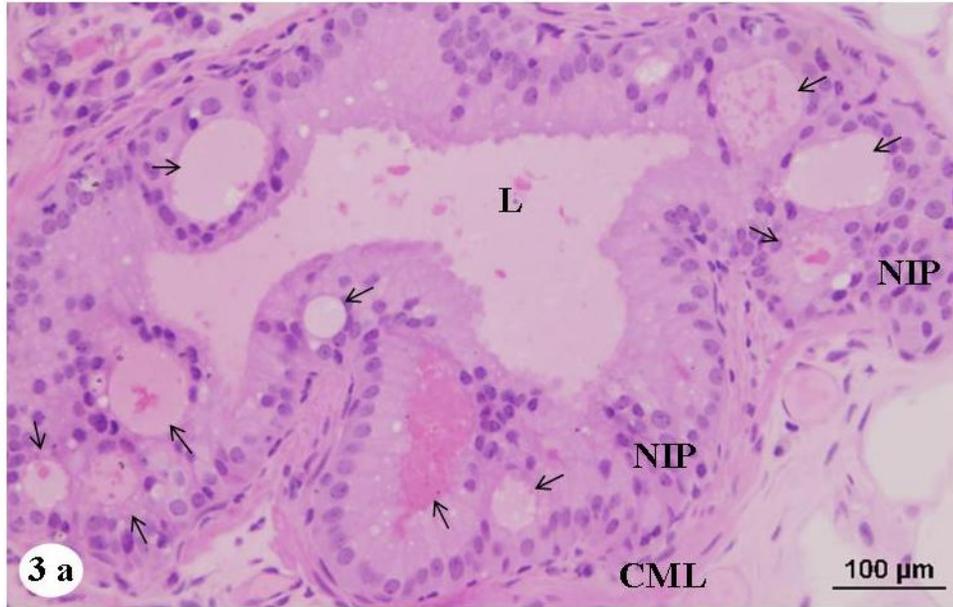
		Benigna					Pré maligna	Maligna	
		Perfil de alvéolo	Displasia*	Hiperplasia	Prostatite	Micro cálculo	Cálculo	PIN alto grau	Adeno-carcinoma
A D U L T O	I (%)		20	70	10	30	30	30	10
	M*	12,0 ± 1,81	0,2 ^a ± 0,13	2,1 ± 0,87	0,3 ± 0,3	0,5 ± 0,30	0,6 ± 0,33	0,6 ± 1,07	0,1 ± 1,0
	% Lesions*		2,67 ^a ± 1,79	16,7 ± 4,63	1,30 ± 1,30	3,25 ± 1,81	4,16 ± 2,13	5,11 ± 3,10	1,0 ± 1,0
S E N I L	I (%)		90	100	20	30	30	20	20
	M*	17,5 ± 2,57	1,9 ^b ± 0,54	4,2 ± 0,98	0,4 ± 0,30	1,4 ± 0,85	0,5 ± 0,26	1,6 ± 1,07	0,3 ± 0,21
	% Lesions*		10,28 ^b ± 1,90	23,38 ± 3,94	2,08 ± 1,42	9,27 ± 6,41	3,47 ± 2,02	6,51 ± 4,37	1,74 ± 1,16



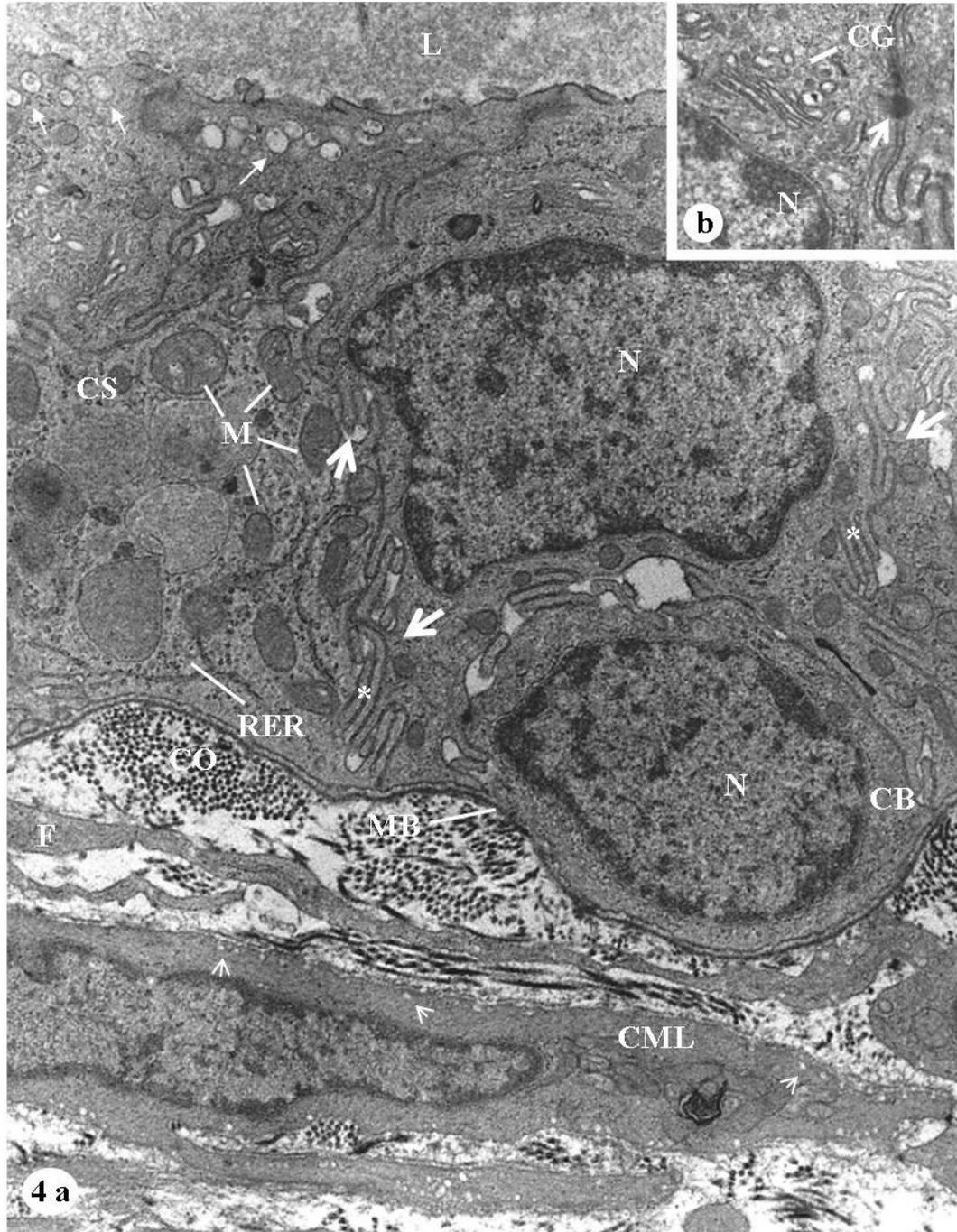
ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS



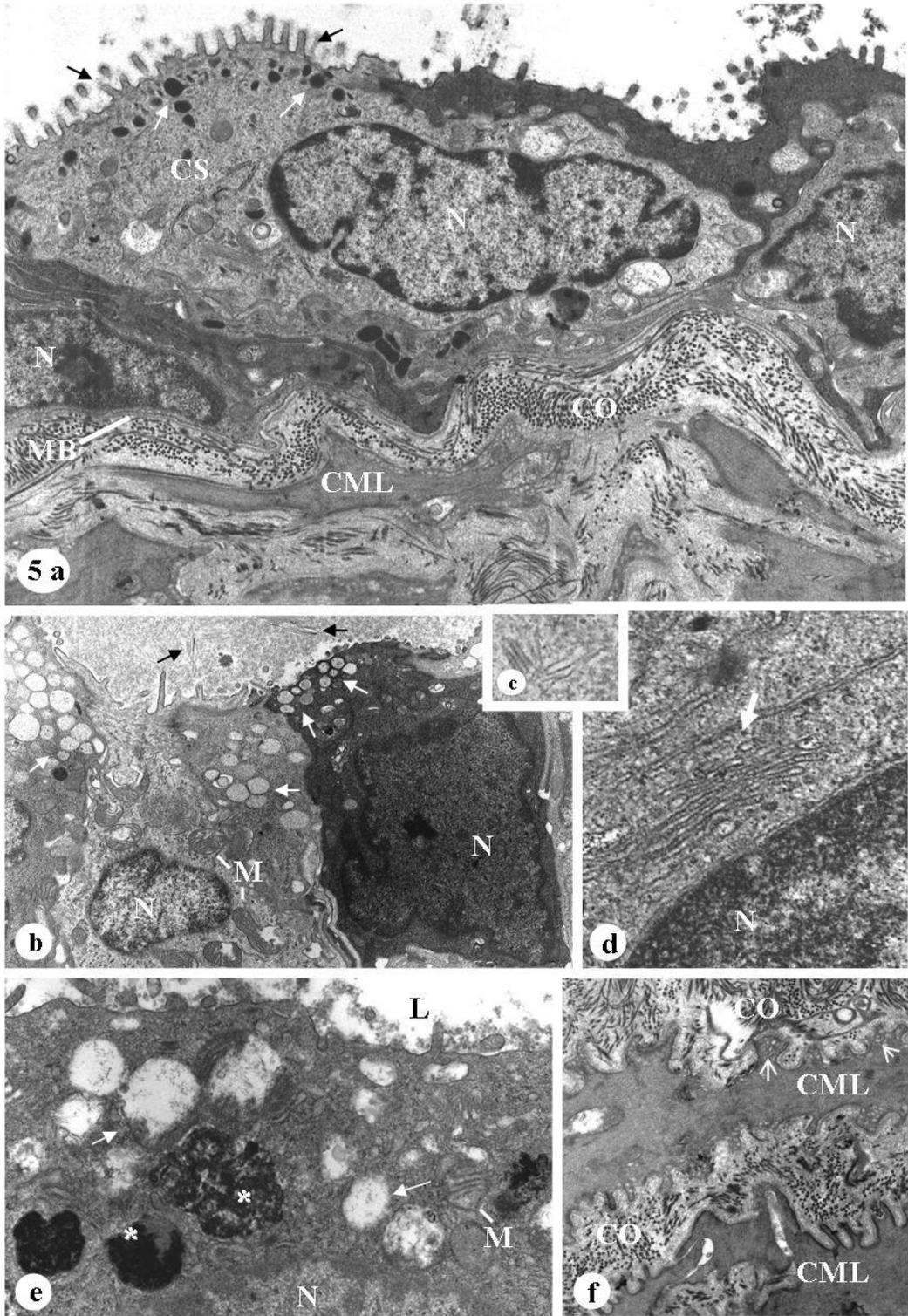
ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS



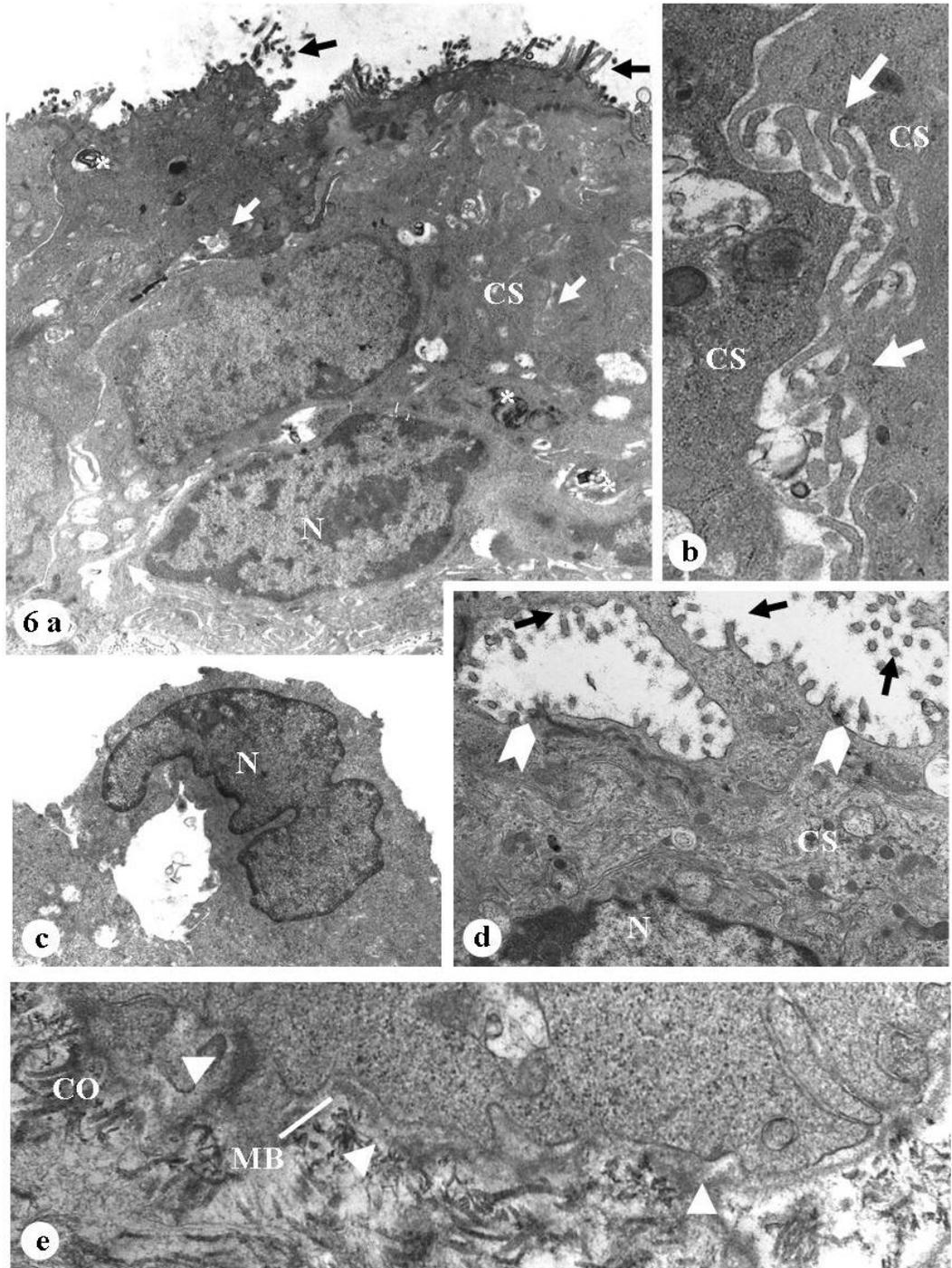
JOVEM



ALTERAÇÕES ULTRA-ESTRUTURAIS



ALTERAÇÕES ULTRA-ESTRUTURAIS



**Artigo: AVALIAÇÕES ESTRUTURAIS E ULTRA-ESTRUTURAIS DA
PRÓSTATA FEMININA DO GERBILO DA MONGÓLIA POSTERIOR À
SUPLEMENTAÇÃO HORMONAL PELA DEIDROEPIANDROSTERONA (DHEA)**

Ana Maria Galvan Custodio¹

Fernanda Cristina Alcântara dos Santos^{2,3}

Silvana Gisele Pegorin de Campos²

Patricia Simone Leite Vilamaior³

Sebastião Roberto Taboga²

¹Department of Cell Biology – Institute of Biology - UNICAMP, CP 6109 - 13084-864 - Campinas; ²São Paulo State University – UNESP/IBILCE, Laboratory of Microscopy and Microanalysis, Department of Biology, 15054-000 - São José do Rio Preto; ³Rio Preto University Center – UNIRP, Biological Sciences and Veterinary Medicine School, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil.

***Correspondence to:**

Dr. Sebastião Roberto Taboga (e-mail: taboga@ibilce.unesp.br)

Departamento de Biologia - IBILCE/UNESP

Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth,

São José do Rio Preto, SP, Brazil, Zipcode: 15054-000

Tel: +55 17 32212386; Fax: +55 17 32212390.

RESUMO

Uma especial atenção tem sido dada às terapias hormonais utilizadas não apenas na tentativa de se atenuar o desequilíbrio gerado pelas doenças que alteram o sistema endócrino, mas também no intuito de readequar a fisiologia do aparelho genital feminino durante o climatério. Uma das estratégias utilizadas para essa suplementação é a administração do precursor esteróide deidroepiandrosterona (DHEA). Através de um processo intracrino, esse pró-hormônio age como um reservatório para a biossíntese dos andrógenos e/ou estrógenos nos tecidos periféricos permitindo a ativação, produção, metabolismo e o controle do nível intracelular desses esteróides de acordo com a necessidade local. Embora os esteróides atuem na glândula prostática feminina desde o período neo-natal, desencadeando sua diferenciação, até a senescência, mantendo sua funcionalidade e homeostase, os efeitos do DHEA sob esta glândula ainda não são conhecidos. Assim, análises estruturais, ultra-estruturais e morfométricas foram realizadas após os períodos de 3, 7, 14 e 21 dias de administração intradérmica de 5mg/km/animal desse fármaco no intuito de se conhecer o efeito desse pró-hormônio sobre a glândula feminina. Um desarranjo estrutural e ultra-estrutural, muitas vezes caracterizando alterações histopatológicas, foi verificado nos compartimentos prostáticos da glândula jovem persistindo nas idades subseqüentes, provavelmente em função do desequilíbrio hormonal gerado pela utilização do DHEA exógeno. Associado a isso, foi identificada a supra-estimulação da atividade secretora das células prostáticas durante todas as idades do desenvolvimento pós-natal. Com isso, conclui-se que doses farmacológicas do DHEA obtidas pela suplementação hormonal e também pelas dietas alimentares podem, por um lado, minimizar as deficiências hormonais do organismo, enquanto por outro, conduzir a uma superestimulação metabólica da glândula e induzir alterações histopatológicas prematuras comprometendo à saúde da mulher.

INTRODUÇÃO

A próstata em fêmeas de mamíferos, incluindo roedores e humano é um órgão funcional do sistema genital feminino (Zaviačič, 1999; Santos et al., 2003 e 2006; Custodio et al., 2004 e 2007a *submitted*). A semelhança da glândula entre as duas espécies foi revelada através de diversos métodos histológicos (Sheata 1975 e 1980; Gross e Didio, 1987; Zaviačič et al., 2000a b; Santos et al., 2003, Custódio et al, 2004), histoquímicos enzimáticos e imunohistoquímicos (Tepper et al., 1984; Wernet et al., 1988 e 1992; Zaviačič et al., 1997; Sloboda et al., 1998; Zaviačič e Ablin, 2000).

As características estruturais e ultra-estruturais da próstata feminina do roedor *Meriones unguiculatus*, também conhecido como esquilo da Mongólia, o coloca com um bom modelo experimental devido suas similaridades morfo-fisiológicas (Santos et al., 2003 e 2006; Custodio et al., 2004 e 2007a *submitted*, b *in process*) com a glândula da mulher (Zaviačič, 1999).

Com o atual aumento na expectativa de vida da população feminina, aliado a diminuição natural dos níveis hormonais após a menopausa, uma especial atenção tem sido dada às terapias de suplementação hormonal como tentativa de se atenuar os desajustes fisiológicos do aparelho genital perante o climatério. Uma das estratégias que vem sendo utilizada é a administração do precursor esteróide deidroepiandrosterona (DHEA), o qual funciona como um reservatório para a biossíntese dos andrógenos e/ou estrógenos nos tecidos periféricos (Labrie et al., 2005), como pele, tecido adiposo, mama, pulmão, endométrio, próstata, fígado, rim, epidídimo e cérebro (Labrie et al., 1992; Pelletier et al., 1992, Milewich et al., 1993, Martel et al., 1994). Todas as enzimas necessárias para essa conversão são expressas nos próprios tecidos em questão, possibilitando a ativação, produção, metabolismo e o controle do nível intracelular desses esteróides de acordo com a necessidade local (Labrie et al., 2005; Genazzani et al., 2007). A síntese e ação local desses hormônios nesses tecidos sem que sejam liberados no espaço extracelular ou na circulação é estudada por um ramo da endocrinologia denominada intracrinologia (Labrie et al., 2001; Genazzani et al., 2007). A biossíntese local desses esteróides minimiza a exposição de

outros tecidos a ação desses hormônios recém convertidos, protege-os dos possíveis efeitos colaterais (Labrie et al., 2005).

A origem do DHEA no organismo é motivo de divergências entre os pesquisadores, pois um grupo atribue sua secreção unicamente à glândula supra-renal (Kroboth et al., 1999; Allolio e Arlt, 2002; Labrie et al., 2001 e 2005; Genazzani et al., 2007), enquanto outro (Longcope, 1986; Pieper e Lobocki, 2000; Buvat, 2003) considera as gônadas como responsáveis por 50% de seus níveis encontrados na circulação.

Labrie e colaboradores (2003 e 2005) postulam que o DHEA possa ser o responsável pela formação intracrina de 75% do estrógeno circulante nas mulheres antes da menopausa e 100% após esse período. No homem, cuja secreção de andrógeno pelos testículos continua através da vida, a conversão do DHEA para andrógenos tem sido avaliada na próstata, sendo 50% desses sintetizados localmente e derivado do DHEA circulante (Labrie et al., 2003; Bovenberg et al, 2005). Porém, nas mulheres pós-menopausa, uma atenuação dos danos fisiológicos causado pelos déficits hormonais associados ao envelhecimento foi observada posterior à administração desse fármaco, possibilitando assim, a manutenção da massa óssea, diminuição da adiposidade, aumento da resistência muscular, equilíbrio do metabolismo de glicose e insulina, manutenção da libido e do bom humor por essas mulheres (Genazzani et al., 2007).

Atualmente, a maioria das pesquisas tem se concentrado nos efeitos pós-menopáusicos sofridos por alguns órgãos, como: mamas, endométrio, ovário e útero (Labrie, et al., 2001 e 2006a; Castelo-Branco e Rostro, 2006) em função do decréscimo nos níveis de esteróides, porém são insipientes as informações a respeito da glândula prostática feminina principalmente no que se refere à atuação do DHEA (Custodio et al., 2006). Assim, uma atenção especial deve ser dada ao efeito desse fármaco sob a glândula durante as idades do desenvolvimento pós-natal em preocupação ao seu uso pelos países desenvolvidos, não apenas como terapia hormonal para mulheres com idade avançada, mas também como suplemento em dietas alimentares para todas as idades (Celec e Stárka, 2003; Genazzani et al., 2007). Com isso, avaliar a glândula prostática feminina frente à administração intradérmica do DHEA nas idades jovem, adulta e senil durante o período de 3, 7, 14 e 21 dias de tratamento foi o objetivo deste trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e delineamento experimental

Para este trabalho foram utilizadas 50 fêmeas para cada uma das idades do desenvolvimento pós-natal: jovem (1 mês), adultas (4 meses) e senis (18 meses) do gerbilo (*Meriones unguiculatus*, Gerbilinae: Muridae). Estas receberam doses intradérmicas diárias de DHEA (5mg/kg) diluídas em solução salina durante os períodos de 3, 7, 14 e 21 dias sendo sacrificadas 24 horas após a última administração do fármaco. Enquanto o grupo controle recebeu apenas o veículo de diluição (Figura 1).

Os animais foram mantidos sob condições convencionais de temperatura e umidade tendo livre acesso à ração e água. Depois de anestesiados com inalação de CO₂ os animais foram decapitados. A manipulação dos animais e experimentos foi realizada de acordo com o guia da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo (processo número: 1213-1). Os experimentos foram realizados no Centro de Microscopia e Microanálise do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da UNESP, campus de São José do Rio Preto (SP).

Análise biométrica

O peso corpóreo de cada animal foi obtido antes de seu sacrifício enquanto, após a dissecação do animal, a próstata e tecidos anexos[†] de cada amostra foram submetidos à pesagem. O peso relativo de cada amostra foi obtido dividindo-se o peso do complexo prostático pelo peso corpóreo. A variação do peso relativo foi obtida considerando o peso relativo médio dos animais controle para cada idade como 100% e os valores médios referentes às demais idades foram expressos em função deste.

Análise estrutural

[†] A próstata feminina não é visível macroscopicamente. De acordo com sua localização, abaixo da bexiga e ao longo da parede da uretra, o isolamento do tecido propriamente torna-se dificultado.

A próstata e tecidos anexos foram fixados por imersão em solução Karnovsky (4% paraformaldeído, 2,5% glutaraldeído em 0,1M de tampão fosfato, pH 7,2), durante 48 horas. Após a fixação, os tecidos foram lavados, desidratados em gradiente de etanol, embebidos em resina (Historesin; Leica) e submetidos a cortes de 3 µm com o micrótomo rotatório automático Leica (RM2155). Os cortes histológicos foram corados pela Hematoxilina-eosina (H&E) para análise morfológica geral e avaliações morfométrico-estereológicas e pela reação de Feulgen para se quantificar os fenótipos nucleares (Behmer et al., 1976).

A digitalização e análise quantitativa dos cortes histológicos foram realizadas no sistema analisador de imagens Image-Pro®Plus versão 4.5 for Windows™ software acoplado a um microscópio Olympus modelo BX60.

Análises morfométrico-estereológica

O volume relativo das porções glandulares (epitélio, lúmen e estroma) foi determinado utilizando-se o sistema-teste de Weibel (1978) com 130 pontos, sendo escolhidos aleatoriamente 30 campos histológicos corados pela hematoxilina e eosina. O volume foi calculado depois de se contar o número de pontos que coincidiram com cada porção glandular em questão onde o valor absoluto foi convertido em porcentagem.

A análise morfométrica foi realizada após a captura de 200 campos aleatórios em cada grupo experimental corados pela Hematoxilina-eosina, sendo quantificada a altura do epitélio, espessura da camada muscular e não muscular (colágeno).

Análise cariométrica

Para a avaliação da área nuclear, perímetro e fator forma ($= 4\pi \times \text{área nuclear} / (\text{perímetro nuclear})^2$) foram utilizados 200 núcleos de cada idade do desenvolvimento pós-natal das células epiteliais secretoras

Análise da incidência e multiplicidade da lesão, porcentagem de lesões por alvéolos e perfil de alvéolo

Para a obtenção desses índices foi utilizado um corte histológico corado com H&E e escolhido de forma aleatória, de cada uma das 10 glândulas adultas e senis avaliadas. A glândula jovem não foi submetida a esses índices por não apresentar nenhum tipo de lesão. O diagnóstico das lesões foi dado segundo Shappell e colaboradores (2004) em acréscimo à classificação de Tumores do Sistema Urinário e Órgãos Genitais Masculinos da Organização Mundial da Saúde de 2004. As lesões classificadas como benignas foram as hiperplasias prostáticas benignas, micro cálculos, cálculos prostáticos e prostatites, as pré-malignas foram às neoplasias intraepiteliais prostáticas de alto grau (NIP) e as malignas, os adenocarcinomas. Os desarranjos da arquitetura tecidual com padrão mais intenso foram identificados como displasias. Embora as NIP possam ser classificadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2004) como sendo de baixo e alto grau, e ambas terem sido diagnosticadas na glândula, apenas as de alto grau foram quantificadas.

A incidência (= diagnóstico da lesão / amostra) da lesão na glândula foi dada através da identificação das diferentes lesões em relação ao número total da amostra, enquanto a multiplicidade (= número de lesões específicas / amostra) se obteve através do número de vezes que cada uma das lesões foi identificada no corte histológico analisado em relação ao número total de animais existentes analisados. A porcentagem de lesões por alvéolos (= nº de alvéolos que desenvolveram a lesão específica / nº de alvéolos presentes no corte histológico) foi determinada pelo número de alvéolos que desenvolveram a lesão em função do seu número total existentes no corte histológico avaliado e a média do perfil de alvéolos (= total de alvéolos da amostra analisada / total de alvéolos do grupo) foi indicado pelo número de alvéolos identificado no corte histológico analisado em relação ao número total existente em toda a amostra.

Análise ultra-estrutural

Os fragmentos prostáticos foram fixados por imersão durante 24 horas em glutaraldeído 3% mais solução de ácido tânico 0,25% em tampão Milloning, pH 7,3 contendo 0,54% de glicose. Após lavar com o mesmo tampão, foram pós-fixados durante 2 horas com tetróxido de ósmio 1%, lavados, desidratados em gradiente de acetona e embebidos em resina de Araldite (Cotta-Pereira et al., 1976). Cortes ultra-finos foram

realizados em ultra-micrótomo Leica com navalha de diamante, coletados em “grids” de 200 mesh e contrastados com acetato de uranila alcoólico 2% por 30 minutos, seguido por citrato de chumbo 2% em solução de hidróxido de sódio durante 10 minutos (Santos et al., 2003). As amostras foram avaliadas pelo microscópio eletrônico de transmissão LEO-Zeiss 906 a 80 Kv.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa Statistica 6.0 (StatSoft), com o teste ANOVA e Tukey para avaliação da significância, onde $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS

Análise biométrica

A administração do DHEA conduziu a um aumento significativo do peso corpóreo nas fêmeas jovens aos 7, 14 e 21 dias de tratamento, enquanto na fêmea adulta foi visto uma redução significativa do peso durante esses mesmos períodos. Enquanto no 7º ocorreu um aumento e no 14º dia uma redução do peso corpóreo dos animais senis. Em relação ao peso da próstata e tecidos anexos, um aumento significativo ocorreu no 7º dia de tratamento na idade jovem enquanto uma redução foi notada na glândula adulta aos 3 e 14 dias e senil aos 7, 14 e 21 dias de tratamento. A variação do peso relativo no grupo jovem mostrou um aumento em torno de 15% no 3º dia contrapondo-se a redução em torno de 30% do 14º dia de tratamento. Enquanto na idade adulta houve um aumento de 22% no início da suplementação e destacada diminuição em torno de 30% aos 7 dias da idade senil (tabela I).

Análise estrutural

A administração do DHEA exógeno na próstata feminina promoveu um desarranjo da arquitetura glandular e o aparecimento de diferentes graus de lesões (Fig. 3A - M) na maioria dos períodos de tratamento quando comparados ao tecido isento da suplementação com DHEA (Fig. 2A - C).

Com a administração do pró-hormônio, as glândulas prostáticas femininas jovens (Fig. 2D, G, I e N), adultas (Fig. 2B, E, H, L e O) e senis (Fig. 2C, F, I, M e P) apresentaram um aumento variado na altura das células epiteliais sendo sempre superiores aos encontrados nas respectivas glândulas controle, havendo destaque para o 7º dia (Fig. 2G) e 21º dia (Fig. 2N) de tratamento na idade jovem, 3º (Fig. 2E) e 14º dia (Fig. 2L) na idade adulta e 7º dia (Fig. 2I) na glândula senil. Enquanto em todas as idades estudadas a camada de células musculares sofreu um espessamento relevante com o tratamento, com exceção do 21º dia da idade adulta (Fig. 2O) que permaneceu semelhante ao encontrado na glândula controle. A camada subepitelial de colágeno foi mais densa no 7º dia de tratamento da glândula jovem (Fig. 2G) e adulta (Fig. 2H) enquanto na senil (Fig. 2L) houve uma redução dessa camada no 3º, 14º e 21º dia de administração do fármaco.

O perfil histopatológico (Fig. 3A - M) do tecido prostático feminino frente à administração do DHEA exógeno foi revelado nas três idades estudadas durante a maioria dos períodos de veiculação do fármaco. Lesões benignas como os micro-cálculos (Fig. 3A) e os cálculos prostáticos (Fig. 3D), a hiperplasia prostática benigna (Fig. 3B, H e J), as prostatites (Fig. 3E, M) e as displasias glandulares (Fig. 3K) foram diagnosticados no tecido, além das neoplasias intraepiteliais de baixo (Fig. 3B - F e O) e alto (Fig. 3I e M) grau de natureza pré-maligna e os micro-ácinos (Fig. 3D e H) indicativos do comprometimento neoplásico do tecido.

Análise ultra-estrutural

Independente do período de administração do DHEA exógeno, a ultra-estrutura das células prostáticas femininas em relação à célula controle (Fig. 4B), apontou uma superestimulação da atividade sintética a partir da idade jovem (Fig. 4A e C) perdurando durante a idade adulta (Fig. 5A - F) até a senescência (Fig. 6A - F). O fenótipo sintético ativado foi revelado pelas células epiteliais secretoras e basais (Fig. 4A; 5A, B, D - F; 6C, E e F) que exibiram abundantes retículos endoplasmáticos lisos e rugosos, complexos de Golgi e mitocôndrias (Fig. 4A; 5B, D - F; 6E) vesículas de secreção (Fig. 4A; 5A e C; 6E e F) dispersas pelo citoplasma, além de nucléolo (Fig. 5F) evidente. Essa ativação celular foi também encontrada nas células estromais, como nas: células musculares lisas (Fig. 4C e 6B)

e fibroblastos (Fig. 6B). Corpos multilamelares foram encontrados dispersos pelo citoplasma (Fig. 4A; 5A e 6E) das células secretoras e também depositados entre as células adjacentes (Fig. 5A e B) ou entre a célula e a membrana basal (Fig. 5C). A formação de espaços intracelulares foi identificada entre a célula basal e células secretoras (Fig. 4A e 5E) e entre as próprias células secretoras (Fig. 6A) assemelhando-se com uma desintegração da região de contato entre as células adjacentes. O tratamento também conduziu a alterações nos fenótipos celulares, destacando as células escuras a qual foi dotada do mesmo aparato biossintético das claras (Fig. 5A e B). A invasão do epitélio por células de defesa como o plasmócito (Fig. 6C) pôde ser identificada no compartimento. A neoplasia intraepitelial (Fig. 6D) e a desmoplasia do estroma (Fig. 6A) também pode ser revelada com o tratamento. Aliada a esses eventos a fenestração da membrana basal (Fig. 6A) caracterizou uma provável lesão de caráter maligno.

Análise estereológica

Durante o tratamento realizado não ocorreu alteração significativa nos volumes ocupados pelos compartimentos prostáticos nas três idades em questão em relação aos respectivos grupos controles (Tabela II).

Análise morfométrica

A administração do DHEA conduziu um espessamento significativo da camada de células epiteliais secretoras da glândula jovem tendo destacado o 7º e 21º dia. Na glândula adulta, o aumento ocorrido aos 3 e 14 dias de tratamento foi estatisticamente significativo contrapondo-se à significativa redução do 7º dia. Enquanto com a senescência, uma diminuição significativa aos 14 e 21 dias foi notada posterior ao aumento ocorrido no 3º e 7º dia. Um espessamento significativo também foi observado na camada de célula muscular em todos os períodos de tratamento, sendo mais notado no 3º dia. No 7º e 14º dia de administração do fármaco na idade adulta foi observada uma significativa espessura dessa camada de células que se reduziu no 21º dia. Enquanto com a senescência, aos 7 dias ocorreu um notável espessamento contrapondo-se a diminuição significativa identificada aos 21 dias de suplementação do DHEA. A espessura da camada de colágeno da glândula

jovem teve um aumento no 7º dia, seguido de uma redução no 14º, ambos de modo significativo. O aumento também foi visto aos 3, 7 e 14 dias na próstata adulta. Enquanto uma redução significativa foi observada nessa camada durante 3, 14 e 21 dias do tratamento de animais senescentes (Tabela III).

Análise cariométrica

Um declínio significativo da área nuclear do grupo jovem foi demonstrado aos 7 e 14 dias de tratamento, enquanto no adulto ocorreu uma elevação significativa no 3º dia e deste para o 14º dia. No 3º dia de administração exógena do DHEA na glândula senil houve uma elevação significativa desse índice seguido de uma redução no 14º e 21º dia. O perímetro nuclear das células secretoras da glândula jovem teve uma redução significativa aos 7 e 14 dias de tratamento. A idade adulta foi acompanhada de um aumento no perímetro nuclear em todos os períodos tratados destacando o 14º dia. Enquanto no grupo senil, o 3º dia exibiu um aumento significativo dessa variável e posterior diminuição no 7º dia. O fator forma indicou uma redução significativa aos 3, 7 e 14 dias na idade jovem; na adulta isso se procedeu no 7º e 21º dia enquanto na senil ocorreu no 3º e 7º dia (Tabela IV).

Análise da incidência, multiplicidade da lesão e porcentagem de lesões por alvéolos

As variações das incidências de lesões e porcentagem de lesões por alvéolos não foram significativas. As glândulas nos diferentes períodos de tratamento realizado foram comparadas com as de mesma idade que receberam apenas o veículo de administração do hormônio. O DHEA exógeno veiculado na idade jovem não revelou o desenvolvimento de displasias, prostatites, neoplasias intraepiteliais de alto grau e adenocarcinomas mantendo o mesmo perfil em relação ao grupo controle o qual se mostrou totalmente livre de qualquer comprometimento histopatológico.

A incidência da displasia na glândula adulta no 3º e 21º dia de tratamento foi metade da encontrada na controle, sendo que neste último a multiplicidade e porcentagem de ácinos envolvidos com a lesão foram semelhante à glândula controle. Durante a senescência houve uma redução na incidência dessa lesão que oscilou entre 20 – 40%, sendo que apesar do 3º dia mostrar uma maior multiplicidade em relação aos demais

períodos, essa foi metade da obtida na glândula controle. Enquanto no 7º dia um maior número de alvéolos estava envolvido com a lesão sendo similar à glândula sem tratamento.

A hiperplasia prostática benigna no animal jovem esteve presente em 40% da glândula no 3º e 21º dia e em 60% no 7º e 21º dia, apresentando uma maior multiplicidade e porcentagem de alvéolos lesionados no 14º dia tratamento. Durante o 3º dia, na idade adulta, 100% da glândula exibiram a lesão que oscilou entre 40 – 60% nos demais períodos, equilibrando-se com o animal isento de tratamento (60%). A maior multiplicidade foi no 7º dia sendo semelhante à controle e a porcentagem de lesão por alvéolo destacada no 3º dia foi o dobro da glândula que não recebeu o DHEA. Com a senescência, o 3º e o 21º dia de tratamento tiveram 20% de sua incidência diminuída enquanto o 14º dia apresentou a maior multiplicidade e o 3º dia uma maior porcentagem de lesão por alvéolo ambos em relação ao controle e aos demais períodos de inoculação do fármaco.

A incidência das prostatites após 3 dias de administração do fármaco na glândula adulta e senil e no 21º dia na próstata senil foi semelhante à controle, enquanto no 14º dia a incidência dobrou nesta última idade. A maior porcentagem de alvéolos comprometidos se deu no 14º dia de tratamento, o qual foi 10 vezes maior que a glândula sem tratamento, enquanto a multiplicidade triplicou aos 3 dias na senescente.

Os micros-cálculos foram evidentes em 20% da glândula jovem com 3 dias de suplementação hormonal e destacado aos 14 dias (40%) da idade adulta com a incidência semelhante à controle, sendo que neste a porcentagem de alvéolos comprometidos quadruplicou. Com a senescência, os índices avaliados no 3º dia triplicaram porém a maior multiplicidade foi obtida nos dois períodos finais do tratamento.

Os cálculos prostáticos foram vistos apenas em 20% da glândula jovem aos 7 e 21 dias. Enquanto aos 3 e 21 dias da idade adulta a incidência da lesão foi reduzida a metade sendo a multiplicidade e a porcentagem de ácinos acometidos no 3º dia maior. A terapia com o pró-hormônio aumentou a incidência dessa lesão durante o envelhecimento tendo triplicado no 3º dia, além de encontrar uma maior multiplicidade e porcentagem de lesões por alvéolos. Porém, a incidência foi dobrada nos dois últimos períodos de administração do DHEA.

A neoplasia intraepitelial de alto grau reduziu 1/3 de sua incidência no 3º, 7º e 14º dia e foi ausente aos 21 dias. O 7º dia teve a maior multiplicidade em relação aos tratamentos, porém foi metade da encontrada na glândula controle. O 3º dia mostrou um maior número de alvéolos com a lesão, porém esta foi inferior à glândula isenta da administração do DHEA. Com o envelhecimento, a incidência dobrou nas duas etapas finais de administração do fármaco onde se teve a maior multiplicidade, enquanto o 21º dia teve alvéolo mais comprometido com a lesão.

O adenocarcinoma não foi identificado posterior à terapia de suplementação hormonal, sendo diagnosticado apenas na glândula adulta e senil controle (Tabela V).

DISCUSSÃO

A suplementação hormonal pela DHEA realizada na glândula prostática feminina durante as idades jovem, adulta e senil desencadeou o desbalanço homeostático da glândula resultando em diferentes respostas estruturais e ultra-estruturais aos períodos de tratamento provocados pela provável alteração nos níveis de hormônio endógeno.

O aumento significativo do peso corpóreo identificado apenas nas fêmeas jovens pode não ser decorrente unicamente da administração do DHEA visto que o animal nesta idade se encontra num processo de desenvolvimento. Todos os períodos de tratamento das fêmeas adultas foram associados com uma redução do peso corpóreo, o mesmo ocorrendo durante as fases finais do tratamento dos animais senescentes. Enquanto o peso do complexo prostático teve um aumento apenas no primeiro período da administração do DHEA de 15% e 22% na idade jovem e adulta, respectivamente, e a senescência foi caracterizada pela redução desse peso. Apesar da regressão biométrica, o perfil morfométrico apresentado pelos compartimentos glandulares indicou que a funcionalidade do órgão não foi prejudicada. De um modo geral, em razão da elevada altura apresentada pelas células submetidas ao tratamento, em comparação à glândula do animal que não recebeu o tratamento pode-se deduzir que houve uma estimulação atípica dos compartimentos glandulares em relação às próprias idades estudadas. Isso também pode ser ressaltado quando a espessura dessas células tratadas foi comparada aos grupos que não

receberam o DHEA das idades subseqüentes, confirmando assim, uma supra-estimulação metabólica decorrente de sua administração. A análise estereológica, apesar de ser efetivamente utilizada para indicar as oscilações no volume relativo dos compartimentos prostáticos não fortaleceu, nesse estudo, os resultados obtidos pela morfometria.

A intensa ativação dos compartimentos glandulares foi confirmada ultra-estruturalmente podendo se notar a ampla distribuição das organelas biossintéticas aliados ao acúmulo de vesículas secretoras dispersas no citoplasma celular do compartimento epitelial e estromal. O fenótipo secretor diferenciado também foi identificado nas células basais as quais, segundo Santos e colaboradores (2003), usualmente apresentam uma escassez de organelas. Essas características são resultantes do elevado metabolismo celular desencadeado pela administração desse precursor esteróide. Estudos pré-clínicos demonstraram que a suplementação fisiológica com o DHEA exógeno permite a biossíntese de andrógenos e estrógenos somente no tecido alvo que contém as enzimas estereidogênicas (Labrie, 1991; Labrie et al., 2000). Possivelmente, essa conversão intracrina favoreceu a supra-estimulação da glândula, a qual é dependente dos hormônios esteróides.

Outra conseqüência do metabolismo diferenciado nessa idade foi sua predisposição a um fenótipo precoce de envelhecimento celular caracterizado pela identificação dos amplos espaços intraepiteliais e dos grânulos osmiofílicos multilamelares dispersos pelo citoplasma ou acumulados entre as células adjacentes e entre estas e a membrana basal. Esses acúmulos de membranas multilameladas se assemelham aos depósitos de ceramidas descritos na próstata do gerbilo macho submetido ao tratamento com finasteria (Corradi et al., 2004) e na próstata feminina senil (Custodio et al., 2005 e 2007a *submitted*). Este material não pôde ser degradado pelas hidrolases lisossomais e nem exocitados sendo constituído por resíduos protéicos oxidados e lipídios degradados, fazendo com que o lisossomo diminua sua função participativa no “turnover” celular. Com isso, acredita-se que a deposição progressiva deste marcador do envelhecimento diminua a adaptabilidade da célula e promova o desenvolvimento de patologias relacionadas à idade (Terman e Brunk, 2004ab).

O desequilíbrio hormonal gerado pelo DHEA também induziu o desenvolvimento de lesões identificadas a nível estrutural e ultra-estrutural na glândula feminina a partir da idade jovem, mantendo uma incidência e multiplicidade relacionada com a idade e o período de tratamento. A suscetibilidade desse órgão em desenvolver lesões espontâneas foi confirmada por Custodio e colaboradores (2007b *in process*) que as identificaram somente a partir da idade adulta se intensificando com a senescência. Por outro lado, as glândulas dos animais adultos e senescentes que receberam o DHEA exógeno desenvolveram todas as lesões diagnosticadas no órgão sem tratamento mostrando uma oscilação em sua incidência, multiplicidade e porcentagem de alvéolos comprometidos pela lesão.

A hiperplasia prostática benigna foi identificada em todos os períodos de tratamento da idade jovem alternando sua incidência durante esta idade e a subsequente, reduzindo-se em torno de 20 – 80% com o tratamento dos animais envelhecidos. Assim como no homem, na mulher essa patologia manifesta uma progressiva hiperplasia glandular e estromal (Bierhoff et al., 1996) ao redor da uretra levando as obstruções uro-dinâmicas (Untergasser et al., 2005).

As demais lesões benignas ocorreram em intervalos específicos durante a veiculação do fármaco, como os micro-cálculos que foram observados apenas aos 3 dias de tratamento contrapondo-se ao cálculo mais desenvolvido identificado no 7º e 21º dia. Os cálculos prostáticos identificados são gerados pela calcificação dos corpos amiláceos ou pela precipitação da secreção prostática contribuindo para os sintomas do trato urinário inferior (Klimas et al., 1985; Sondergaard et al., 1987 e Billis, 1995) atuando como um empecilho para os ductos, obstruindo os ácinos e iniciando reações inflamatórias chegando a causar abscessos. Quanto aos infiltrados inflamatórios, Zaviačič (1999) reconhece que a cistite é um processo que tem sua origem na próstata e sua comunicação com a uretra e a parede anterior da vagina dissemina essa inflamação (prostatites ou Skenites) por todo o trato reprodutor feminino, caracterizando as conhecidas útero-prostato-cistites. As neoplasias intraepiteliais de alto grau foram mais freqüentes na idade adulta e senil. Essa alteração patológica retrata o estágio pré-maligno (Lippman e Hong, 2002a b) do tecido constituindo-se pela aglomeração e estratificação de células com formatos desiguais, núcleos alargados com nucléolos proeminentes e numerosos acompanhado por um

hipercromatismo (Brawer, 1992; Bostwick et al., 2000). A arquitetura heterogênea desta lesão permite sua organização de acordo com a disposição assumida pelas células proliferadas, podendo ser encontrado com um padrão plano, em tufos, micropapilas e arranjos cribiformes de células (Billis, 1995; Shappell et al., 2004; OMS, 2004), sendo este último um caso extremo de natureza pré-maligna (Brawer, 1992) podendo ser confundido com o câncer de próstata (Mostofi et al., 1992). Diferente da neoplasia intra-epitelial que as células em proliferação permaneceram no limite do ácino em função da integridade da membrana basal, no adenocarcinoma a ruptura dessa proteção promove o extravasamento das células para o estroma (Brawer, 1992). Esse comprometimento mais agressivo do tecido prostático feminino também foi indicado pela presença dos micro-ácinos glandulares (Foster et al., 1998).

As manifestações histopatológicas não foram estatisticamente significativas em relação ao tratamento não se efetivando uma ação protetora ou indutora do efeito do DHEA mediante as lesões. Exceto na idade jovem, apesar de não ter ocorrido o respaldo estatístico, onde se constataram morfológicamente uma indução da atividade proliferativa das células com a instalação da neoplasia intraepitelial e a hiperplasia resultando muitas vezes num fenótipo displásico, além da existência de outras lesões benignas. Segundo Stoll (1999), a biotransformação do DHEA em andrógeno e estrógeno excedendo os níveis basais, pode acarretar riscos de promover neoplasias dependentes de hormônios sexuais.

Segundo Labrie e colaboradores (2005) as avaliações epidemiológicas entre homens e mulheres são contraditórias e não conclusivas. Há indicações que o declínio dos níveis de DHEA, testosterona e estrógeno relacionados com a idade protege contra o aumento da ocorrência do câncer sensível ao hormônio durante o envelhecimento (Martin, 1999), enquanto outras pesquisas revelam que o elevado nível do DHEA e sua forma sulfatada (DHEAS) estão associados à diminuição das taxas de câncer (Comstock et al, 1993), sugerindo um efeito protetor. Segundo Acácio e colaboradores (2004), o uso do DHEA como um suplemento alimentar na idade adulta tem uma potencial ação androgênica ou estrogênica podendo estimular a proliferação e outros efeitos adversos nas células de câncer da próstata ou mama.

Embora a função biológica do DHEA como precursor dos esteróides sexuais seja clara (Labrie et al, 2001, 2003, 2005 e 2006a), ainda não foi identificado seu receptor nuclear ou de membrana permanecendo seu mecanismo de ação sob investigação (Arnold e Blackman, 2005). Muitos dos seus efeitos têm sido exercidos via receptor de andrógeno e/ou estrógeno após sua conversão enzimática nesses hormônios sexuais (Labrie et al, 1998, 2001), embora uma afinidade direta por esses receptores já foi demonstrada (Tan et al., 1997; Martin et al., 2004).

Em razão às muitas divergências que permeiam a ação desse pró-hormônio exógeno, o meio científico busca elucidar a efetiva via metabólica de ação androgênica ou estrogênica desse fármaco. Assim, Chen e colaboradores (2005) ao testar os efeitos do DHEA sobre os receptores de andrógenos e estrógenos verificaram um potencial fisiológico relevante para a ativação do receptor de estrógeno β em relação ao α e ao receptor de andrógeno. Arnold e colaboradores (2005), ao compararem a ação deste fármaco em relação ao estrógeno, testosterona e diidrotestosterona sobre a proliferação das células LNCaP, verificaram a similaridade entre o efeito desencadeado pelo DHEA e pelo estrógeno. Sendo que, a testosterona e seu metabólito induziram o crescimento celular de modo acelerado enquanto o DHEA e o estrógeno reduziram e retardaram esse efeito.

Por outro lado, camundongos castrados que receberam doses subcutâneas diárias de diidrotestosterona e DHEA mostraram que o perfil de genes expressos com o DHEA é semelhante ao da diidrotestosterona, mostrando a função androgênica desse precursor esteróide (Labrie et al., 2006b).

Apesar da suplementação hormonal com DHEA aqui realizada ter direcionado para efeitos semelhantes aos obtidos com a hiperandrogenização da próstata feminina do gerbilo, tais como as alterações envolvendo o compartimento epitelial e a supra-estimulação secretora do tecido (Santos et al., 2006), os resultados até então apresentados não permitem restringir à ação androgênica como única resposta da glândula perante o DHEA. As proliferações celulares identificada nos desarranjos histológicos da glândula podem também estar vinculadas a sua ação estrogênica (Risbridger et al., 2000; Bianco et al., 2002).

Apesar da utilização de animais de laboratório para se avaliar a ação do DHEA estar gerando contradições no meio científico, experimentos anteriormente realizados (Custódio

et al., 2007a *submitted*) puderam verificar que o gerbilo apresenta níveis de DHEA satisfatórios oscilando entre as idades, sendo 2,16 ng/ml na idade jovem, 2,66 ng/ml na fase adulta e 1,52 ng/ml na senescência, o que provou ser um modelo experimental adequado para se estudar a variação hormonal de sua glândula prostática mediante as alterações decorrentes da senilidade. Porém, Labrie e colaboradores (2003, 2005) explicam que esses modelos animais utilizados em laboratório não secretam quantidades significativas deste precursor fazendo com que as gônadas figurem como absoluta fonte dos esteróides, dificultando a abordagem da intracrinologia deste hormônio. Entretanto, o nível de DHEA já foi relatado em muitas espécies utilizadas como modelo biológico (Wichmann et al., 1984; Schiebinger et al., 1981; Belanger et al., 1989; Lacoste et al., 1999). Experimentos realizados com hamster gonadectomizados revelarem níveis de DHEA equivalentes ao encontrado nos animais não submetidos ao procedimento cirúrgico, sugerindo assim que as gônadas não contribuem em grande quantidade para as concentrações circulantes dos esteróides e de seus precursores nesses roedores (Pieper e Loboeki, 2000).

Apesar do uso do DHEA em humanos não estar propriamente definido, muitos de seus efeitos positivos são relatados (Labrie et al., 2003, 2005; Genazzani et al., 2007). Doses farmacológicas, além de serem prescritas para a suplementação hormonal, também são vinculadas às dietas alimentares (Genazzani et al., 2007) para minimizar os déficits hormonais provocados tanto pelas deficiências fisiológicas do organismo como pelo envelhecimento. Por outro lado, sabendo que a morfofuncionalidade da próstata é mediada por esteróides (Santos et al., 2003 e 2006; Santos e Taboga, 2006; Custodio et al., 2007a *submitted*) a administração deste precursor deve ser cautelosa. Além da dificuldade em se aceitar a existência da próstata feminina ser preocupante, o efeito causado pela suplementação hormonal em sua homeostase, simulada neste experimento, pode ser um provável fator que põe em risco à saúde da mulher.

BIBLIOGRAFIA

- Acacio BD, Stanczyk FZ, Mullin P, Saadat P, Jafarian N and Sokol RZ, 2004. Pharmacokinetics of dehydroepiandrosterone and its metabolites after long-term daily oral administration to healthy young men. *Fertil Steril*.81: 595-604.
- Allolio B and Arlt W, 2002. DHEA treatment: myth or reality? *Trends Endocrinol Metabolism* 13: 288-294.
- Arnold JT and Blackman MR, 2005. Does DHEA exert direct effects on androgen and estrogen receptors, and does it promote or prevent prostate cancer? *Endocrinology* 146: 4565-7.
- Arnold JT, Le H, McFann KK and Blackman MR, 2005. Comparative effects of DHEA vs. testosterone, dihydrotestosterone, and estradiol on proliferation and gene expression in human LNCaP prostate cancer cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288: 573-84.
- Behmer OA, Tolosa EMC and Freitas-Neto AG, 1976. Manual para histologia normal e patológica. Edart-Edusp, São Paulo. Brasil.
- Belanger B, Belanger A, Labrie F, Dupont A, Cusan L and Monfette G, 1989. Comparison of residual C-19 steroids in plasma and prostatic tissue of human, rat, and guinea pig after castration: Unique importance of extratesticular androgens in men. *J Steroid Biochem* 32: 695-8.
- Bianco J, Handelsman DJ and Pedersen J, 2002. Direct response of the murine prostate gland and seminal vesicles to estradiol. *Endocrinology* 143: 4922-33.
- Bierhoff E, Vogel J, Benz M, Giefer T, Wernert N and Pfeifer U, 1996. Stromal nodules in benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* 29: 345-54.
- Billis A, 1995. Uropatologia: Próstata. Guia prático para o diagnóstico anatomopatológico. UNICAMP, Campinas, SP, Brasil.
- Bostwick DG, Ramnani D and Qian J, 2000. Prostatic intraepithelial neoplasia: animal models 2000. *Prostate* 43: 286-94.
- Bovenberg SA, Van Uum SH and Hermus AR, 2005. Dehydroepiandrosterone administration in humans: evidence based? *Neth J Med* 63: 300-4.
- Brawer MK, 1992. Prostatic Intraepithelial neoplasia: a premalignant lesion. Symposium: The pathology of Prostate cancer – prt 1: Calssic aspects of prostate cancer pathology. *Human Pathol* 23: 242-8.
- Buvat J, 2003. Androgen therapy with dehydroepiandrosterone. *World J Urol* 21: 346-55.
- Castelo-Branco C and Rostro F, 2006. Management of menopause. *Minerva Ginecol*. 58:137-52.
- Celec P and Starka L, 2003. Dehydroepiandrosterone - is the fountain of youth drying out? *Physiol Res* 52: 397-407.
- Chen F, Knecht K, Birzin E, Fisher J, Wilkinson H, Mojena M, Moreno CT, Schmidt A, Harada S, Freedman LP and Reszka AA, 2005. Direct agonist/antagonist functions of dehydroepiandrosterone. *Endocrinology* 146: 4568-76.
- Comstock GW, Gordon GB and Hsing AW, 1993. The relationship of serum dehydroepiandrosterone and its sulfate to subsequent cancer of the prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2: 219-21.

- Corradi LS, Góes RM, Carvalho HF and Taboga SR, 2004. Inhibition of 5-a-reductase activity induces stromal remodeling and smooth muscle de-differentiation in adult gerbil ventral prostate. *Differentiation* 72: 1-11
- Cotta-Pereira G, Rodrigo FG, David-Ferreira JF. 1976. The use of tannic acid-glutaraldehyde in the study of elastic related fibers. *Stain Technol* 51:7–11.
- Custódio AMG, Góes RM and Taboga SR, 2004. Acid phosphatase activity in gerbil prostate: comparative study in male and female during postnatal development. *Cell Biol Int* 28: 335-44.
- Custódio AMG, Jesus GP, Góes RM and Taboga SR, 2005. The old female prostatic secretor epithelium of the gerbil (*Meriones Unguiculatus*) and its lipofuscinogenesis age-dependent. *Braz J Morphol Sci Suppl*, 22:46.
- Custódio AMG, Jesus GP, Santos FCA, Falleiros-Jr LR and Taboga SR., 2006. Senescence and steroidal therapies induce alterations of the epithelial cells phenotypes in the gerbil female prostate. In *Proceedings of the XIII Congresso Brasileiro de Biologia Celular, 2006. Búzios, Brazil.*
- Custodio AMG, Santos FCA, Campos SGP, Vilamaior PSL and Taboga SR, 2007b. Histopathological aspects of the Mongolian gerbil female prostate associated with senescence (*in process*).
- Custodio AMG, Santos FCA, Campos SGP, Vilamaior PSL, Taboga SR, Aging effects of the on Mongolin gerbil female prostate: structural, ultrastructural quantitative and hormonal evaluations. *Anat Rec (submitted)*.
- Foster CSF and Bostwick DG, 1998. *Pathology of the prostate*. Saunders Company, Philadelphia.
- Genazzani AD, Lanzoni C and Genazzani AR, 2007. Might DHEA be Considered a Beneficial Replacement Therapy in the Elderly? *Drugs Aging*. 24: 173-85.
- Klimas R, Bennet B and Gardner Jr WA, 1985. Prostatic caculi: a review. *Prostate* 7: 91-9.
- Kroboth PD, Salek FS, Pittenger AL, Fabian TJ and Frye RF, 1999. DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol* 39: 327-48.
- Labrie F, 1991. Intracrinology. *Mol Cel Endocrinol* 78: C113-118.
- Labrie F, 2006a. Dehydroepiandrosterone, androgens and the mammary gland. *Gynecol Endocrinol* 22: 118-30.
- Labrie F, Belanger A, Labrie C, Simard J, Cusan L, Gomez JL and Candas B, 1998. DHEA and the intracrine formation of androgens and estrogens in peripheral target tissues: its role during aging. *Steroids* 63: 322-8.
- Labrie F, Luu-The V, Bélanger A, Lin S-X, Simard J, Pelletier G and Labrie C, 2005. Is dehydroepiandrosterone a hormone? *J Endocrinol* 187: 169-96.
- Labrie F, Luu-The V, Labrie C, and Simard J, 2001. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: intracrinology. *Front Neuroendocrinol* 22: 185–212.
- Labrie F, Luu-The V, Labrie C, Belanger A, Simard J, Lin SX and Pelletier G, 2003. Endocrine and intracrine sources of androgens in women: inhibition of breast cancer and other roles of androgens and their precursor dehydroepiandrosterone. *Endocr Rev* 24: 152-82.

- Labrie F, Luu-The V, Lin S-x, Simard J, Labrie C, El-Alfy M, Pelletier G and Bélanger A, 2000. Intracrinology: role of the family of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in human physiology and disease. *J Mol Endocrinol* 25: 1-16.
- Labrie F, Luu-The V, Martel C, Chernomoretz A, Calvo E, Morissette J and Labrie C, 2006b. Dehydroepiandrosterone (DHEA) is an anabolic steroid like dihydrotestosterone (DHT), the most potent natural androgen, and tetrahydrogestrinone (THG). *J Steroid Biochem Mol Biol* 100: 52-58.
- Labrie F, Simard J, Luu-The V, Bélanger A and Pelletier G, 1992. Structure, function and tissue-specific gene expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/5-ene-4-ene isomerase enzymes in classical and peripheral intracrine steroidogenic tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 43: 805-26.
- Lacoste D, Caron S, Belanger A and Labrie F, 1999. Effect of a 3-week treatment with [D-Trp⁶, des-Gly-NH₂] LHRH ethylamide, aminoglutethamide, ketoconazole, or flutamide alone or in combination on testicular, serum, adrenal, and prostatic steroid levels in the dog. *J Steroid Biochem* 33:233-47.
- Lippman SM and Hong WK, 2002a. Cancer prevention science and practice. *Cancer Res* 15: 5119-25.
- Lippman SM and Hong WK, 2002b. Cancer prevention by delay. Commentary re: J. A. O'Shaughnessy et al., Treatment and Prevention of Intraepithelial Neoplasia: An Important Target for Accelerated New Agent Development. *Clin. Cancer Res* 8: 314-46.
- Longcope C, 1986. Adrenal and gonadal androgen secretion in normal females. *Clin Endocrinol Metab* 15: 213-28.
- Martel C, Melner MH, Gagné D, Simard J and Labrie F, 1994 Widespread tissue distribution of steroid sulfatase, 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ 5- Δ 4 isomerase (3 β -HSD), 17 β -HSD 5 α -reductase and aromatase activities in the rhesus monkey. *Mol Cell Endocrinol* 104: 103-11.
- Martin C, Ross M, Chapman KE, Andrew R, Bollina P, Seckl JR and Habib FK, 2004. CYP7B generates a selective estrogen receptor β agonist in human prostate. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 2928-35.
- Martin-Du Pan RC, 1999. Are the hormones of youth carcinogenic? *Ann Endocrinol* 60: 392-7.
- Milewich L, Shaw CE, Mason JI, Carr BR, Blomquist CH and Thomas JL 1993 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in tissues of human fetus determined with 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol and dehydroepiandrosterone as substrates. *J Steroid Biochem Mol Biol* 45: 525-37.
- Mostofi, FK, Sesterhenn IA and Davis Jr CJ, 1992. Prostatic Carcinoma: Problems in the Interpretation of Prostatic Biopsies. Symposium: The pathology of Prostate cancer – prt 1: Classic aspects of prostate cancer pathology. *Human Pathol* 23: 223-41.
- Pelletier G, Dupont E, Simard J, Luu-The V, Bélanger A and Labrie F 1992 Ontogeny and subcellular localization of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD) in the human and rat adrenal, ovary and testis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 43: 451-67.
- Pieper DR and Lobocki CA, 2000. Characterization of serum dehydroepiandrosterone secretion in golden hamsters. *Proc Soc Exp Biol Med* 224: 278-84.

- Risbridger GP, Wang H, Frydenberg M and Cunha G, 2000. The metaplastic effects of estrogen on mouse prostate epithelium: Proliferation of cells with basal cell phenotype. *Endocrinology* 142: 2443-50.
- Santos FCA and Taboga SR, 2006. Female prostate: a review about the biological repercussions of this gland in humans and rodents. *Anim Reprod* 3: 3-18.
- Santos FCA, Carvalho HF, Góes RM and Taboga SR, 2003. Structure, histochemistry and ultrastructure of the epithelium and stroma in the gerbil (*Meriones unguiculatus*) female prostate. *Tissue Cell* 35: 447-57.
- Santos FCA, Leite RP, Custódio AMG, Carvalho KP, Monteiro-Leal LH, Santos AB, Carvalho HF and Taboga SR, 2006. Testosterone stimulates growth and secretory activity of the adult female prostate of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Biol Reprod* 75: 370-9.
- Schiebinger R, Albertson B, Barnes K, Cutler G and Loriaux D, 1981. Developmental changes in rabbit and dog adrenal function: A possible homologue of adrenarche in the dog. *Am J Physiol* 240: 694-9.
- Shappell SB, Thomas GV, Roberts RL, Herbert R, Ittmann MM, Rubin MA, Humphrey PA, Sundberg JP, Rozengurt N, Barrios R, Ward JM and Cardiff RD, 2004. Prostate pathology of genetically engineered mice: definitions and classification. The consensus report from the Bar Harbor meeting of the Mouse Models of Human Cancer Consortium Prostate Pathology Committee. *Cancer Res.* 15: 2270-305.
- Sloboda J, Zaviačič M, Jakubovský J, Hammar E and Johnsen J, 1998. Metastasizing adenocarcinoma of the female prostate (Skene's paraurethral glands). Histological and immunohistochemical prostate markers studies and first ultrastructural observation. *Pathol Res Pract* 194: 129-36.
- Sondergaard G, Vetner M and Christensen PO, 1987. Prostatic calculi. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 95:141-5.
- Stoll BA, 1999. Dietary supplements of dehydroepiandrosterone in relation to breast cancer risk. *Eur J Clin Nutr* 53: 771-5.
- Tan J, Sharief Y, Hamil KG, Gregory CW, Zang DY, Sar M, Gumerlock PH, deVere White RW, Pretlow TG, Harris SE, Wilson EM, Mohler JL and French FS, 1997. Dehydroepiandrosterone activates mutant androgen receptors expressed in the androgen-dependent human prostate cancer xenograft CWR22 and LNCaP cells. *Mol Endocrinol* 11: 450-9.
- Tepper SL, Jagirdar J, Heath D and Geller SA, 1984. Homology between the female paraurethral (Skene's) glands and the prostate. *Arch Pathol Lab Med* 108: 423-5.
- Terman A and Brunk UT, 2004a. Molecules in focus: Lipofuscin. *Int J Bioch Cell Biol* 36: 1400-4.
- Terman A and Brunk UT, 2004b. Molecules in focus: Aging as a catabolic malfunction. *Int J Bioch Cell Biol* 36: 2365-75.
- Untergasser G, Madersbacher S and Berger P, 2005. Benign prostatic hyperplasia: age-related tissue-remodeling. *Exp Gerontol* 40: 121-8.
- Weibel ER, 1978. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest* 12: 131-55.

- Wernet N, Albrecht M, Sesterhenn I, Goebbels R, Bonkhoff H, Seitz G, Inniger R and Remberger K, 1992. The “female prostate”: location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. *Eur Urol* 22: 64-9.
- Wernet N, Gerdes J, Loy V, Seitz G, Scherr O and Dhom G, 1988. Investigations of the estrogen (ER-ICA-test) and progesterone receptor in the prostate and prostatic carcinoma on immunohistochemical basis. *Virchows Arch Pathol* 412: 387-91.
- Wichmann U, Wichman G and Krause W, 1984. Serum levels of testosterone precursors, testosterone and estradiol in 10 animal species. *Exp Clin Endocrinol* 83: 283-90.
- World Health Organization (2004). Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. France: IARC Press, France.
- Zaviačič M and Ablin RJ, 2000. The female prostate and prostate-specific antigen. Immunohistochemical localization, implications of this prostate marker in women and reasons for using the term “prostate” in human female. *Histol Histopathol*, 15: 131-42.
- Zaviačič M, 1999. The Female Prostate: From vestigial Skene’s parauretral glands and ducts to woman’s functional prostate. Slovak Academic Press, Slovakia.
- Zaviačič M, Danihel L, Ružičková M, Blažeková J, Itoh Y, Okutani R and Kaway T, 1997. Immunohistochemical localization of human protein 1 in the female prostate (Skene’s Gland) and the male prostate. *Histochem J* 29: 219-27.

Legendas:

Tabela I: Resultados referentes às análises das glândulas prostáticas de fêmeas jovens, adultas e senis. Dados do corpóreo, prostático e relativo ($n = 5$ por tratamento), sendo que este último corresponde à razão entre o peso do complexo prostático e o peso prostático. A sua variação é demonstrada com relação ao animal controle das respectivas idades que é referido como 100%. Dados da estatística descritiva referentes à morfometria, estereologia e cariometria. Os valores mencionados correspondem à média e ao erro padrão, respectivamente. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($*p \leq 0,05$) entre as idades avaliadas. Letras sobrescritas (^a, ^b, ^c, ^d) representam diferenças significativas entre os tratamentos.

Tabela II: Resultados referentes às análises das glândulas prostáticas de fêmeas jovens, adultas e senis. Dados referentes a análise estereológica dos compartimentos glandulares durante os períodos de suplementação pela DHEA. Os valores mencionados correspondem à média e ao erro padrão, respectivamente.

Tabela III: Resultados referentes às análises das glândulas prostáticas de fêmeas jovens, adultas e senis. Dados referentes à análise morfométrica da altura das células epiteliais, camada de células musculares lisas e colágeno subepitelial durante os períodos de suplementação pela DHEA. Os valores mencionados correspondem à média e ao erro padrão, respectivamente. Os valores mencionados correspondem à média e ao erro padrão, respectivamente. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($*p \leq 0,05$) entre as idades avaliadas. Letras sobrescritas (^a, ^b, ^c, ^d) representam diferenças significativas entre os períodos de tratamento.

Tabela IV: Resultados referentes às análises das glândulas prostáticas de fêmeas jovens, adultas e senis. Dados cariométricos referentes à área nuclear e nuclear e fator forma durante os períodos de suplementação pela DHEA. Os valores mencionados correspondem à média e ao erro padrão, respectivamente. Os valores mencionados correspondem à média

e ao erro padrão, respectivamente. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($*p \leq 0,05$) entre as idades avaliadas. Letras sobrescritas (^{a, b, c, d}) representam diferenças significativas entre os períodos de tratamentos.

Tabela V: Dados da incidência (I = diagnóstico da lesão / amostra), multiplicidade (M = número de lesões específicas / amostra), porcentagem de lesões por ácino (% de lesão por ácinos = n° de lesão específica / n° de ácinos presentes no corte histológico) e perfil de ácino do tecido prostático feminino (total de ácinos da amostra analisada / amostra) durante os períodos de tratamento. Os valores mencionados correspondem à média e ao erro padrão, respectivamente. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($*p \leq 0,05$) entre as idades avaliadas. Letras sobrescritas (^{a, b, c}) representam diferenças significativas entre as idades.

Figura 1: Diagrama ilustrando o delineamento experimental durante os períodos de 3, 7, 14 e 21 dias de terapia de suplementação hormonal com o DHEA nas glândulas prostáticas femininas das idades jovem, adulta e senil. A administração do fármaco foi diária sendo os animais sacrificados 24 horas após a última exposição à droga.

Figura 2: Aspectos estruturais e histoquímicos da glândula prostática feminina controle e tratada com DHEA. **1 A - C:** Aspectos morfológicos da glândula controle. Glândula (G), epitélio (EP), lúmen (L) e estroma (E). **1 A - P:** Aspectos morfológicos das oscilações dos compartimentos prostáticos da fêmea posterior à administração do DHEA. As setas indicam o constituinte glandular com aparente aumento em sua altura. Epitélio (EP) e colágeno (*).

Figura 3: Aspectos patológicos da glândula feminina posterior à administração do DHEA. **A:** Micro-cálculos prostáticos (setas) acumulados no lúmen (L) da glândula. **B:** Hiperplasia prostática benigna (HPB) e neoplasia intraepitelial prostática (NIP) de baixo grau. **C, E, F e G:** Neoplasia intraepitelial prostática (NIP) de baixo grau e prostatite (*). Células claras (seta dupla). **D:** Glândula acometida pela neoplasia intraepitelial (NIP) de baixo grau, cálculo prostático (seta dupla) e micro-ácinos (seta cheia). **H:** Hiperplasia prostática

benigna (HPB) e microácinos (seta cheia). **I:** Neoplasia intraepitelial prostática de alto grau destacando os micro-lúmens (seta). **J:** Glândula displásica com prostatite (*). **L:** Hiperplasia prostática benigna (HPB). **39:** Metáfase mitótica (cabeça de seta) na neoplasia intraepitelial de baixo grau (NIP). **N:** Neoplasia intraepitelial prostática (NIP) alta destacando os micro-lúmens (seta) e prostatite (*).

Figura 4: Aspectos ultra-estruturais da glândula prostática feminina jovem. **A:** Compartimento epitelial da glândula tratada com o DHEA com células secretora (CS) e basal (CB) ancoradas na membrana basal (MB) contínua, com núcleos (N) volumosos, nucléolos (NU) evidentes e organelas biosintéticas desenvolvidas, como: retículo endoplasmático rugoso (RER), complexo de Golgi (CG), e vesículas de secreção (VS) dispersas pelo citoplasma. 12930x. **B:** Compartimento epitelial da glândula jovem que não recebeu a administração do DHEA. Célula secretora (CS), núcleo (N), mitocôndrias (*) e membrana basal (MB) contínua. 6000x. **C:** Célula muscular lisa (CML) da glândula tratada com o DHEA altamente secretora com núcleo (N) robusto, complexo de Golgi (CG) com amplas cisternas, mitocôndrias (M) e centríolos (seta) dispersos pelo citoplasma. 16700x.

Figura 5: Aspectos ultra-estruturais da glândula prostática feminina adulta posterior à administração do DHEA. **A:** Epitélio secretor com heterogeneidade fenotípica onde se contrasta a célula clara (**) e a escura (*) com núcleos (N) volumosos, vesículas de secreção (setas) e corpos multilamelares tipo cerâmidas dispersos pelo citoplasma (cabeça de seta) ou entre as células adjacentes (seta cheia). Estroma denso com destacada camada de fibras de colágeno (CO) e célula muscular lisa (CML). 3597x. **B:** Células secretoras clara (**) e escura (*) adjacentes com citoplasma rico em organelas de síntese, como o retículo endoplasmático rugoso (RER), mitocôndria (M) e também acúmulo de corpos multilamelares tipo cerâmidas (seta cheia) ancoradas numa membrana basal (MB) contínua com uma espessa camada de colágeno (CO) subepitelial. 10000x. **C:** Epitélio secretor ricas em vesículas de secreção (setas) e corpos multilamelares tipo cerâmidas dispersos pelo citoplasma (*) ou depositado na base do epitélio (seta cheia) em contato com a membrana basal (MB). 7750x. **D:** Ápice da célula secretora altamente funcional com complexos de

Golgi (CG) e mitocôndrias (M) desenvolvidas. Núcleo (N). 16700x. **E:** Célula secretora funcional com mitocôndrias (M), complexo de Golgi (CG) e núcleo (N) dispersos pelo citoplasma e amplos espaços intraepiteliais (setas cheias). Mitocôndria (M), complexo de Golgi (CG) e retículo endoplasmático rugoso (RER). 21560x. **F:** Citoplasma denso da célula secretora com o aparato sintético ativado. Destaque para os retículos endoplasmático liso (REL) e rugoso (RER), núcleo (N) e nucléolo (NU). 7750x.

Figura 6: Aspectos ultra-estruturais da glândula prostática feminina senil posterior à administração do DHEA. **A:** Compartimento epitelial secretor atípico com amplos espaços intraepiteliais (setas cheias) entre a célula luminal e basal (CB), porém abundância de vesículas de secreção (setas). Desmoplasia do estroma com adensamento das fibras de colágenos (CO) aliadas à deposição de elastina (*) dispersas entre as células musculares lisas (CML) fenotipicamente alteradas. Destaque (área tracejada) para a membrana basal (MB) fenestrada. 7750x. **B:** Células estromais ativas destacando as células musculares lisas (CML) com núcleos (N) polimórficos, elementos contráteis (*) abundantes e complexo de Golgi (CG) evidente e o fibroblasto (F) rico em retículo endoplasmático rugoso (RER). 10000x. **C:** Compartimento secretor com abundância de vesículas de secreção (setas) e a presença de um plasmócito (P) intraepitelial. Núcleo (N) e retículo endoplasmático rugoso (RER). 7750x. **D:** Neoplasia intraepitelial prostática. 6000x. **E:** Aspecto fragmentado da célula secretora em função do acúmulo de vesículas secretoras (VS), também corpos multilamelares (setas) e grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso (RER) disperso pelo citoplasma. Lúmen (L). 7750x. **F:** Compartimento epitelial heterogêneo com células secretoras altas e espaços intraepiteliais (setas cheias) entre as células adjacentes. Vesícula de secreção (VS), núcleo (N). 7750x.

Tabela I		Controle (veículo)	Dias de tratamento			
			3 dias	7 dias	14 dias	21 dias
<i>Dados biométricos</i>						
Peso corpóreo (g)	J*	31,3 ^a ± 2,0	29,4 ^a ± 1,2	40,5 ^b ± 0,9	41,9 ^b ± 0,7	39,05 ^b ± 0,9
	A*	64,7 ^a ± 2,4	57,9 ^a ± 1,2	57,0 ^b ± 2,6	53,6 ^b ± 1,5	56,0 ^b ± 2,0
	S*	71,1 ^a ± 2,4	75,8 ^a ± 3,7	76,3 ^a ± 3,8	63,1 ^b ± 1,9	66,8 ^a ± 2,8
Peso complexo prostático (g)	J*	0,06 ^a ± 0,006	0,06 ^a ± 0,003	0,07 ^b ± 0,02	0,05 ^a ± 0,02	0,06 ^a ± 0,02
	A*	0,12 ^a ± 0,01	0,09 ^b ± 0,006	0,11 ^a ± 0,009	0,09 ^b ± 0,009	0,11 ^a ± 0,01
	S*	0,15 ^a ± 0,01	0,13 ^a ± 0,01	0,10 ^b ± 0,006	0,10 ^b ± 0,008	0,11 ^b ± 0,008
Peso prostático relativo	J*	0,002 ^a ± 0,0001	0,002 ^a ± 0,0005	0,002 ^a ± 0,00005	0,001 ^b ± 0,00004	0,001 ^b ± 0,00006
	A	0,002 ± 0,0001	0,002 ± 0,0001	0,002 ± 0,0001	0,002 ± 0,0001	0,002 ± 0,0002
	S*	0,0021 ^a ± 0,0001	0,001 ^a ± 0,0001	0,0013 ^b ± 0,0001	0,0016 ^b ± 0,0001	0,0017 ^a ± 0,0001
Variação do peso relativo (%)	J		+ 15,41	- 2,16	- 29,27	- 18,24
	A		+ 22,0	+ 2,16	- 13,77	- 1,79
	S		- 20,98	- 38,53	- 26,24	- 22,07

Tabela II		Controle (veículo)	Dias de tratamento			
			3 dias	7 dias	14 dias	21 dias
<i>Dados estereológicos</i>						
Epitélio (%)	J	23.7 ± 1.3	28.7 ± 1.3	26.3 ± 1.4	22.3 ± 1.7	28.5 ± 2.0
	A	30.1 ± 2.5	27.2 ± 2.1	27.2 ± 2.9	33.0 ± 1.7	29.4 ± 2.0
	S	32.1 ± 2.5	31.3 ± 2.1	34.2 ± 2.8	29.5 ± 2.5	26.0 ± 1.7
Lúmen (%)	J	22.2 ± 2.4	20.2 ± 2.9	27.5 ± 2.7	27.4 ± 2.8	24.2 ± 2.9
	A	28.9 ± 3.5	27.9 ± 2.1	37.4 ± 3.2	31.0 ± 2.7	28.2 ± 0.9
	S	32.0 ± 3.5	36.7 ± 2.5	29.7 ± 2.8	36.2 ± 3.5	41.5 ± 2.2
Estroma (%)	J	54.1 ± 2.6	51.1 ± 2.8	47.2 ± 2.5	50.3 ± 2.3	47.2 ± 3.5
	A	41.0 ± 2.8	44.9 ± 2.5	35.4 ± 1.7	36.0 ± 2.5	42.3 ± 2.8
	S	35.9 ± 2.9	32.1 ± 2.3	36.1 ± 2.2	34.2 ± 1.7	32.5 ± 1.9

Tabela III		Controle (veículo)	Dias de tratamento			
			3 dias	7 dias	14 dias	21 dias
<i>Dados morfométrico</i>						
Altura das células secretoras (µm)	J*	10,6 ^a ± 0,3	14,7 ^b ± 0,4	17,5 ^c ± 0,6	15,0 ^b ± 0,4	17,4 ^c ± 0,6
	A*	12,5 ^a ± 0,4	20,7 ^b ± 0,8	17,5 ^c ± 0,7	20,3 ^b ± 0,6	13,3 ^a ± 0,3
	S*	13,0 ^a ± 0,5	19,9 ^b ± 0,7	21,6 ^b ± 0,8	15,8 ^c ± 0,6	15,6 ^c ± 0,6
Espessura da camada muscular lisa (µm)	J*	6,5 ^a ± 0,2	11,8 ^b ± 0,4	11,2 ^b ± 0,4	10,1 ^b ± 0,3	11,4 ^b ± 0,4
	A*	7,3 ^a ± 0,2	11,4 ^b ± 0,4	11,6 ^b ± 0,4	11,8 ^b ± 0,4	7,5 ^a ± 0,3
	S*	6,3 ^a ± 0,3	13,5 ^b ± 0,5	16,3 ^c ± 0,5	12,8 ^b ± 0,5	9,1 ^d ± 0,4
Espessura da camada de fibras de colágeno (µm)	J*	1,1 ^a ± 0,04	0,9 ^a ± 0,03	3,0 ^b ± 0,2	1,5 ^c ± 0,1	1,1 ^a ± 0,03
	A*	1,8 ^a ± 0,08	1,2 ^b ± 0,04	2,3 ^c ± 0,1	1,2 ^b ± 0,04	2,0 ^a ± 0,3
	S*	2,9 ^a ± 0,11	1,2 ^b ± 0,03	2,6 ^a ± 0,11	1,9 ^c ± 0,07	1,8 ^c ± 0,1

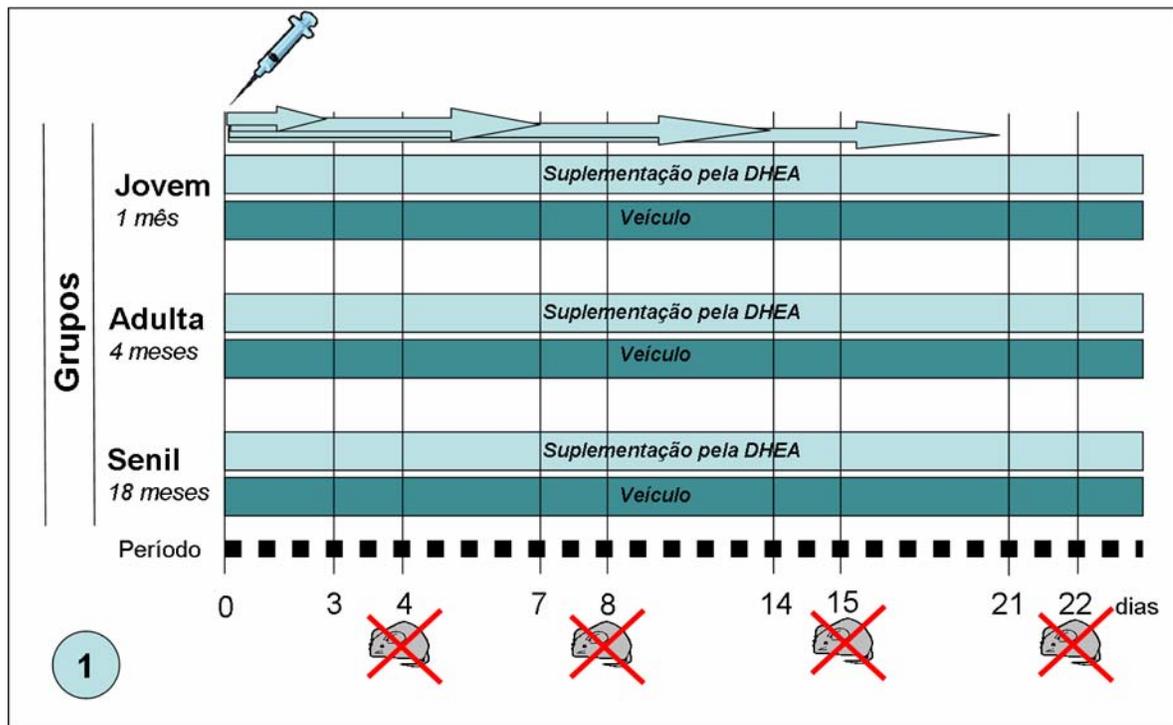
Tabela IV		Controle (veículo)	Dias de tratamento			
			3 dias	7 dias	14 dias	21 dias
<i>Dados cariométricos</i>						
Área nuclear (μm^2)	J*	14,2 ^a ± 0,23	13,9 ^a ± 0,3	11,6 ^b ± 0,3	11,0 ^b ± 0,2	13,7 ^a ± 0,3
	A*	11,2 ^a ± 0,2	12,4 ^b ± 0,2	11,3 ^a ± 0,3	13,6 ^c ± 0,2	10,9 ^a ± 0,2
	S*	10,4 ^a ± 0,3	12,2 ^b ± 0,2	11,1 ^a ± 0,3	9,6 ^c ± 0,2	10,1 ^c ± 0,2
Perímetro nuclear (μm)	J*	14,9 ^a ± 0,12	15,1 ^a ± 0,3	13,8 ^b ± 0,14	13,9 ^b ± 0,4	14,8 ^a ± 0,1
	A*	13,6 ^a ± 0,12	14,5 ^b ± 0,12	14,3 ^b ± 0,2	15,4 ^c ± 0,1	14,3 ^b ± 0,2
	S*	13,0 ^a ± 0,2	14,8 ^b ± 0,1	13,9 ^c ± 0,2	12,5 ^a ± 0,2	12,8 ^a ± 0,2
Fator forma nuclear	J*	0,79 ^a ± 0,06	0,75 ^b ± 0,07	0,74 ^b ± 0,07	0,74 ^b ± 0,09	0,76 ^a ± 0,08
	A*	0,75 ^a ± 0,06	0,74 ^a ± 0,06	0,68 ^b ± 0,09	0,72 ^a ± 0,08	0,66 ^b ± 0,08
	S*	0,75 ^a ± 0,07	0,71 ^b ± 0,08	0,70 ^b ± 0,08	0,75 ^a ± 0,07	0,76 ^a ± 0,07

Tabela V		<i>LESÕES PROSTÁTICAS FEMININAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO DHEA</i>									
		Displasia					Hiperplasia				
		Períodos de tratamento									
		CONTROLE	3 D	7 D	14 D	21 D	CONTROLE	3 D	7 D	14 D	21 D
J O V E M	Incidência (%)	-	-	-	-	-	40	60	60	40	
	Multiplicidade	-	-	-	-	-	0,6 ± 0,4	1,0 ± 0,4	2,2 ± 0,91	0,6 ± 0,4	
	% de lesões por alvéolo	-	-	-	-	-	8,0 ± 6,4	11,6 ± 5,6	34,1 ± 18,2	9,1 ± 6,5	
A D U L T A	Incidência (%)	40	20	-	-	20	60	100	60	40	
	Multiplicidade	0,4 ± 0,2	0,2 ± 0,2	-	-	0,4 ± 0,4	2,4 ± 1,6	0,2 ± 0,8	2,4 ± 1,1	0,6 ± 0,4	
	% de lesões por alvéolo	2,6 ± 2,6	0,6 ± 0,6	-	-	2,6 ± 2,6	16,0 ± 7,8	33,8 ± 13,1	28,0 ± 11,5	6,4 ± 3,9	
S E N I L	Incidência (%)	100	40	20	40	20	100	80	20	40	
	Multiplicidade	2,0 ± 0,7	1,0 ± 0,7	0,8 ± 0,8	0,6 ± 0,4	0,2 ± 0,2	2,4 ± 0,6	2,4 ± 0,7	0,6 ± 0,6	4,6 ± 2,8	
	% de lesões por alvéolo	11,8 ± 2,1	6,2 ± 4,1	10,0 ± 10,0	3,9 ± 2,4	2,8 ± 2,8	15,1 ± 1,7	24,2 ± 8,1	20,0 ± 20,0	22,1 ± 14,0	

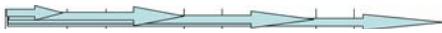
Continuação da Tabela V		<i>LESÕES PROSTÁTICAS FEMININAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO DHEA</i>				
		Prostatite				
		Períodos de tratamento				
		CONTROLE	3 D	7 D	14 D	21 D
J O V E M	Incidência (%)	-	-	-	-	
	Multiplicidade	-	-	-	-	
	% de lesões por alvéolo	-	-	-	-	
A D U L T A	Incidência (%)	20	20	-	-	
	Multiplicidade	0,6 ± 0,6	0,4 ± 0,4	-	-	
	% de lesões por alvéolo	2,6 ± 2,6	13,2 ± 13,2	-	-	
S E N I L	Incidência (%)	20	20	-	40	
	Multiplicidade	0,6 ± 0,6	2,0 ± 2,0	-	1,6 ± 0,97	
	% de lesões por alvéolo	2,5 ± 2,5	10,5 ± 10,5	-	20,6 ± 13,4	

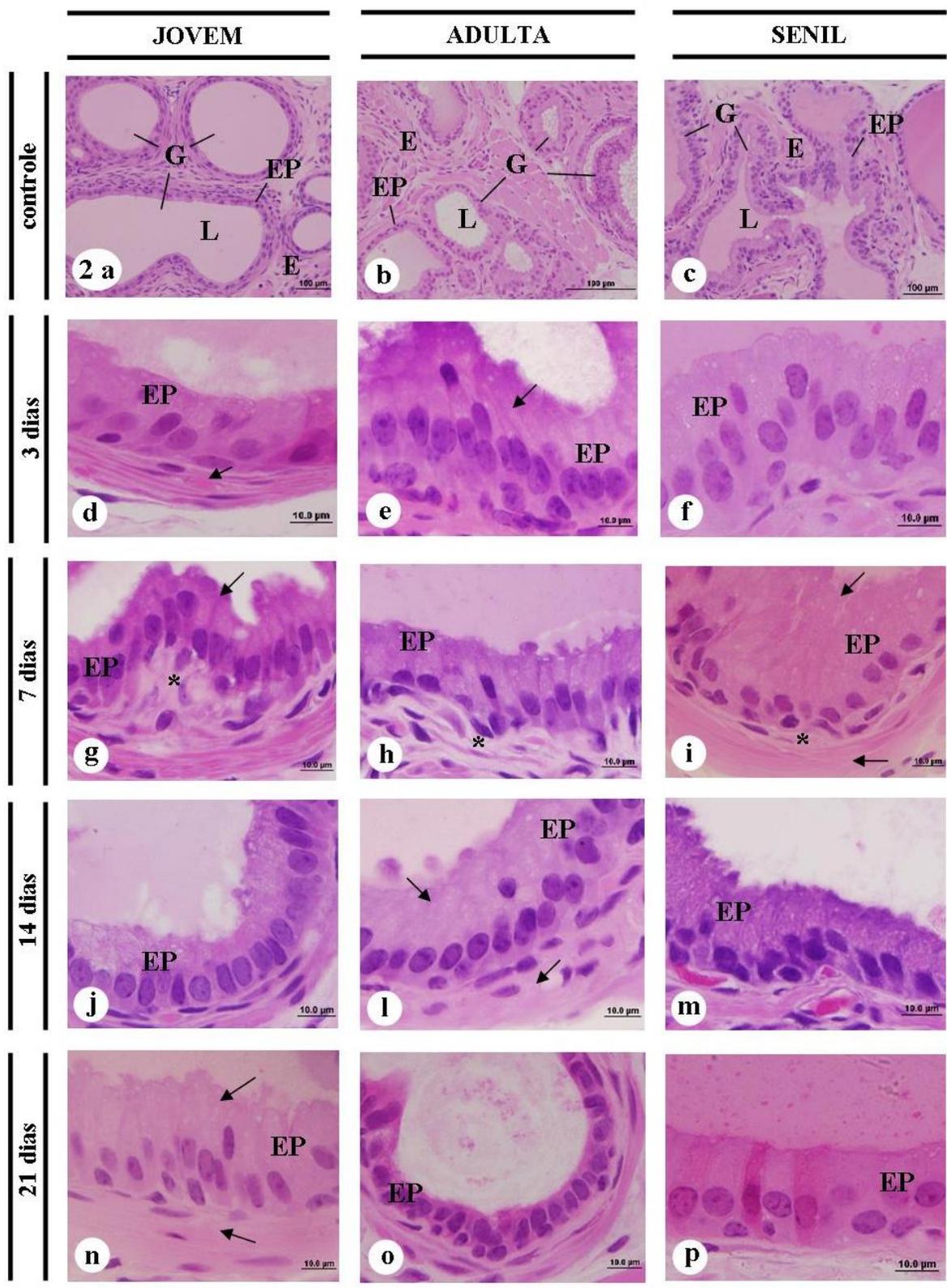
Continuação da Tabela V		<i>LESÕES PROSTÁTICAS FEMININAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO DHEA</i>									
		Micro - cálculo					Cálculo				
		Períodos de tratamento									
		CONTROLE	3 D	7 D	14 D	21 D	CONTROLE	3 D	7 D	14 D	21 D
J O V E M	Incidência (%)	-	20	-	-	-	-	20	-	20	
	Multiplicidade	-	0,8 ± 0,8	-	-	-	-	0,4 ± 0,4	-	0,2 ± 0,2	
	% de lesões por alvéolo	-	5,6 ± 5,6	-	-	-	-	4,0 ± 4,0	-	4,0 ± 4,0	
A D U L T A	Incidência (%)	40	-	-	40	20	40	20	-	20	
	Multiplicidade	0,8 ± 0,5	-	-	1,6 ± 0,97	0,6 ± 0,6	0,4 ± 0,2	1,0 ± 1,0	-	0,2 ± 0,2	
	% de lesões por alvéolo	5,4 ± 3,3	-	-	19,4 ± 13,2	2,3 ± 2,3	2,5 ± 2,5	3,2 ± 3,2	-	1,3 ± 1,3	
S E N I L	Incidência (%)	20	60	-	20	20	20	60	-	40	
	Multiplicidade	1,4 ± 1,4	3,6 ± 2,01	-	7,0 ± 1,4	5,0 ± 1,0	0,4 ± 0,4	1,0 ± 0,4	-	1,0 ± 0,7	
	% de lesões por alvéolo	12,7 ± 12,7	36,9 ± 16,6	-	5,6 ± 12,5	14,2 ± 14,2	3,07 ± 3,0	13,5 ± 7,5	-	4,6 ± 2,9	

Continuação da Tabela V		<i>LESÕES PROSTÁTICAS FEMININAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO DHEA</i>									
		PIN de alto grau					Adenocarcinoma				
		Períodos de tratamento									
		CONTROLE	3 D	7 D	14 D	21 D	CONTROLE	3 D	7 D	14 D	21 D
J O V E M	Incidência (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Multiplicidade	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	% de lesões por alvéolo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A D U L T A	Incidência (%)	60	20	20	20	-	20	-	-	-	
	Multiplicidade	1,2 ± 0,5	0,2 ± 0,2	0,6 ± 0,6	0,2 ± 0,2	-	0,2 ± 0,2	-	-	-	
	% de lesões por alvéolo	10,2 ± 5,5	6,6 ± 6,6	5,0 ± 5,0	1,5 ± 1,5	-	2,0 ± 2,0	-	-	-	
S E N I L	Incidência (%)	20	20	20	40	40	40	-	-	-	
	Multiplicidade	1,4 ± 1,4	0,8 ± 0,8	0,4 ± 0,4	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,24	0,6 ± 0,4	-	-	-	
	% de lesões por alvéolo	5,8 ± 5,8	4,2 ± 4,2	5,0 ± 5,0	4,6 ± 2,9	6,1 ± 3,8	3,4 ± 2,1	-	-	-	

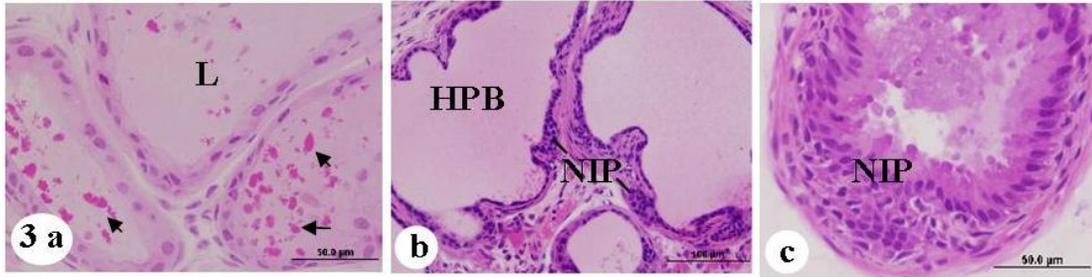


1

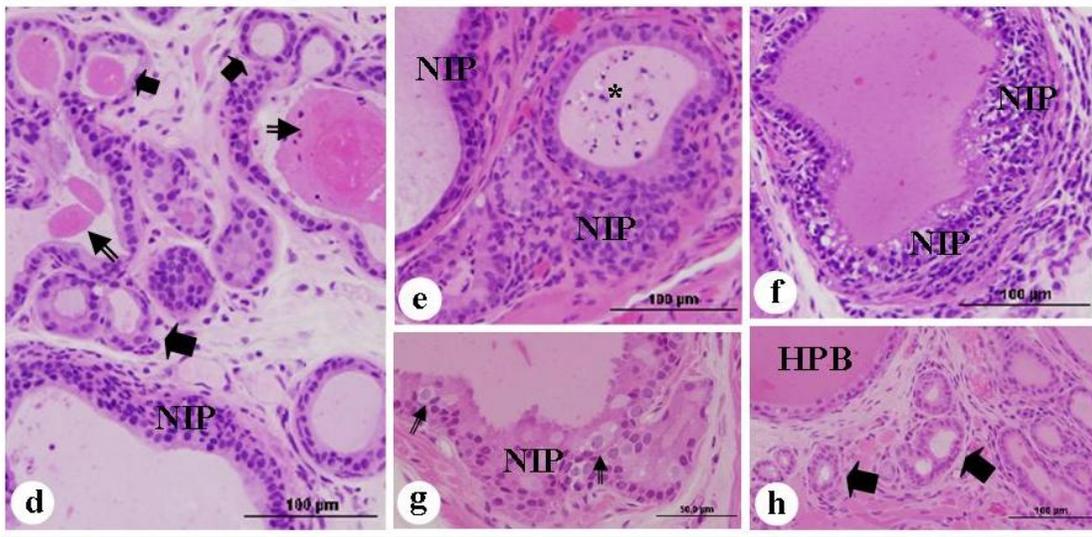
-  = Dia do sacrifício
-  = Início da administração do DHEA
-  = Período de tratamento



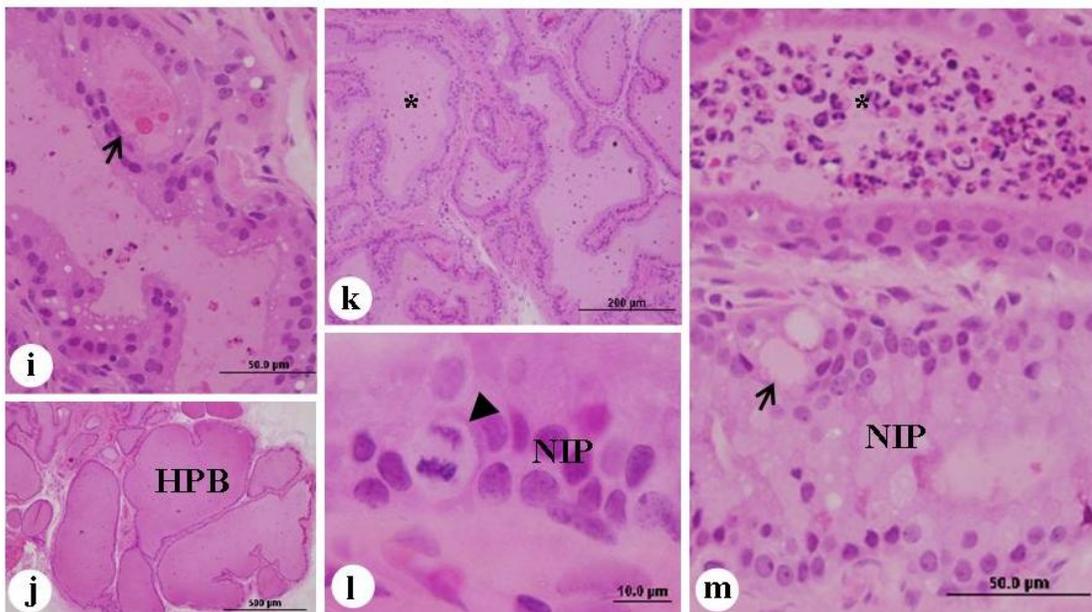
JOVEM



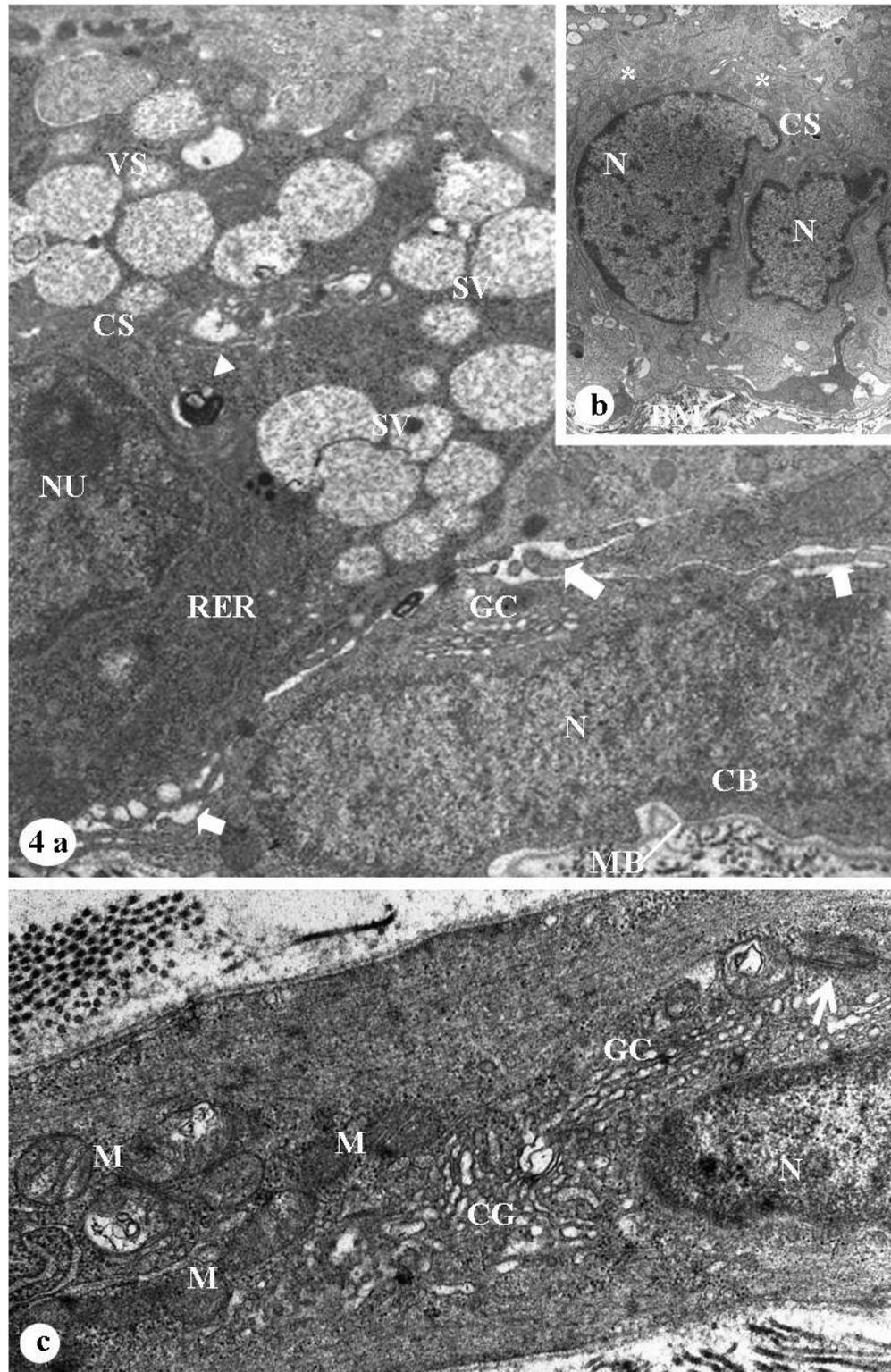
ADULTA



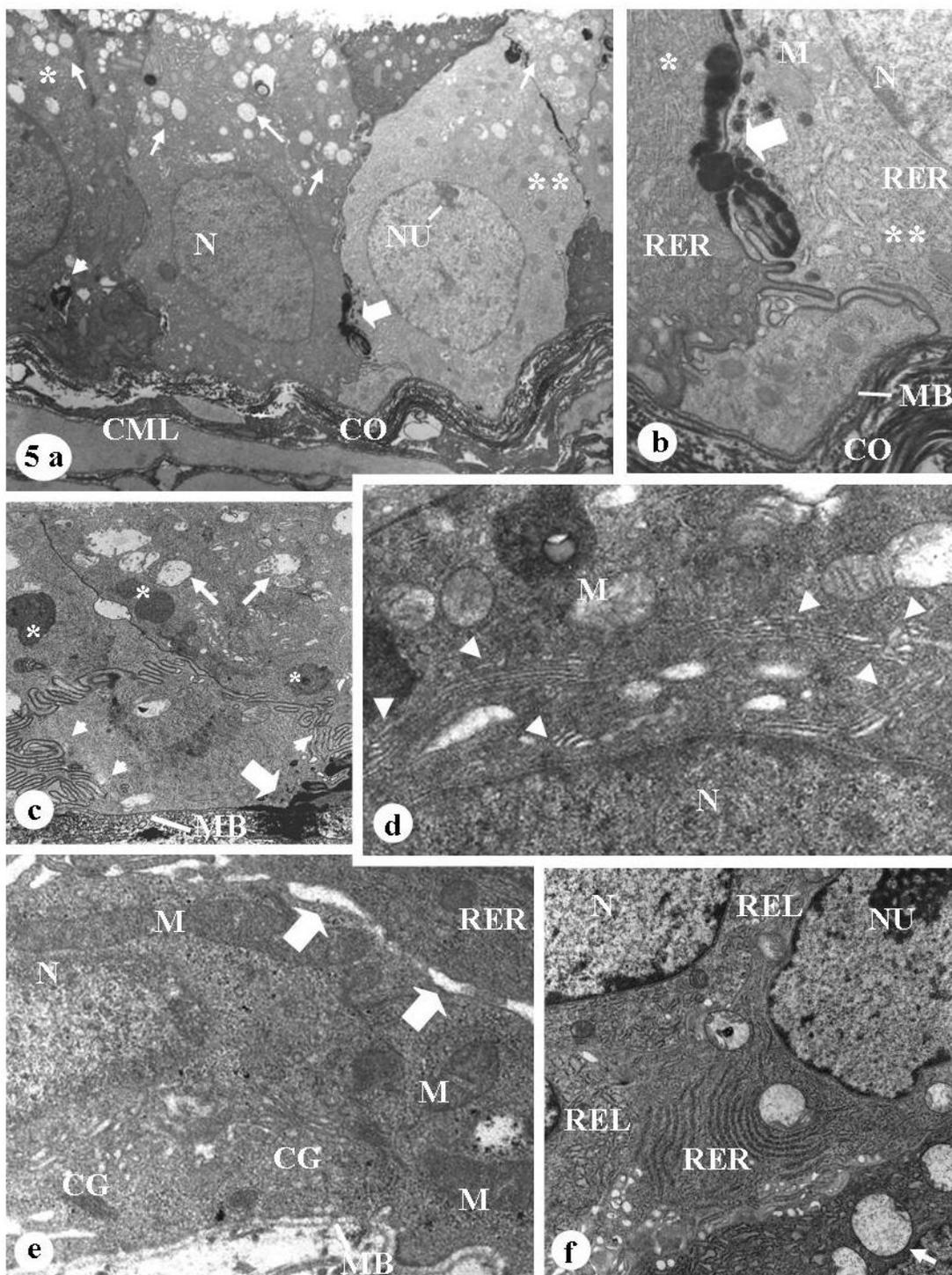
SENIL



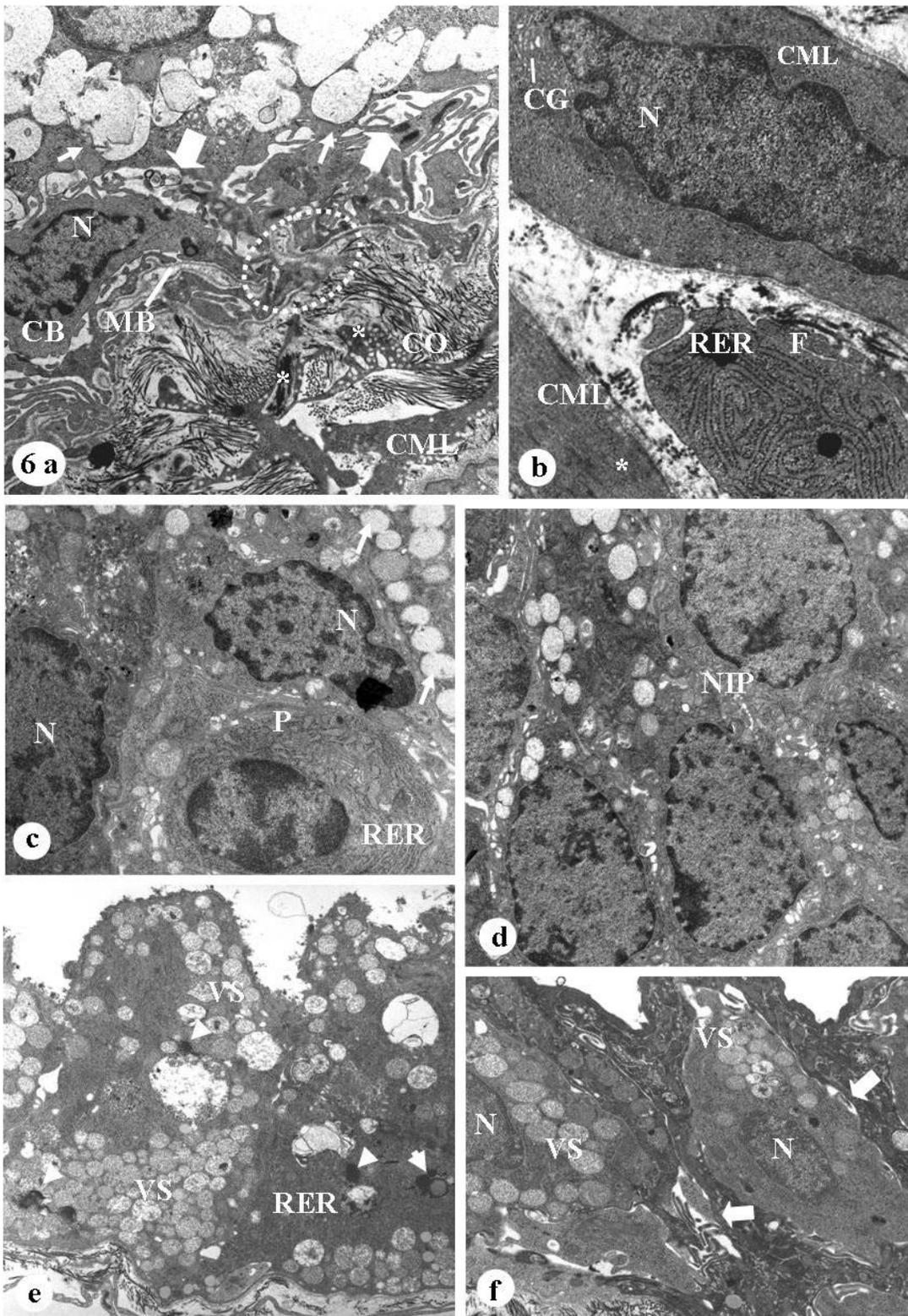
JOVEM



ADULTA



SENIL



**Artigo: PLASTICIDADE FENOTÍPICA DO EPITÉLIO SECRETOR DA
PROSTÁTA FEMININA DO GERBILO DA MONGÓLIA.**

Ana Maria Galvan Custodio¹

Fernanda Cristina Alcântara dos Santos^{2,3}

Silvana Gisele Pegorin de Campos²

Patricia Simone Leite Vilamaior³

Sebastião Roberto Taboga²

¹Department of Cell Biology – Institute of Biology - UNICAMP, CP 6109 - 13084-864 - Campinas; ²São Paulo State University – UNESP/IBILCE, Laboratory of Microscopy and Microanalysis, Department of Biology, 15054-000 - São José do Rio Preto; ³Rio Preto University Center – UNIRP, Biological Sciences and Veterinary Medicine School, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil.

***Correspondence to:**

Dr. Sebastião Roberto Taboga (e-mail: taboga@ibilce.unesp.br)

Departamento de Biologia - IBILCE/UNESP

Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth,

São José do Rio Preto, SP, Brazil, Zipcode: 15054-000

Tel: +55 17 32212386; Fax: +55 17 32212390.

RESUMO

A próstata é um órgão do sistema genital feminino que se encontra sob ação dos hormônios esteróides. Os roedores vêm sendo adotados para o estudo da glândula feminina devido, entre outros, sua similaridade morfo-fisiológicas com a humana. Com isso, o gerbilo da Mongólia é um modelo experimental adequado para se estudar a próstata, a qual possui uma localização parauretral nas fêmeas e histologicamente é formada pelos mesmos componentes da masculina: unidades ductos-alveolares inseridas numa matriz músculo-fibrosa. Duas populações celulares freqüentes revestem a glândula, sendo as células basais e as luminais, porém, já também já foram descritas as células claras e ciliadas nesse epitélio prostático. No entanto, ao longo do desenvolvimento pós-natal tipos celulares diversificados se distribuíram entre as células epiteliais típicas. Assim, o objetivo prévio deste trabalho foi identificar e caracterizar essa heterogeneidade celular no compartimento epitelial da glândula prostática feminina nas idades jovem, adulta e senil. Colorações histológicas de rotina, tais como a hematoxilina-eosina, (H&E), periódico ácido de Schiff (PAS) e impregnação por prata (AgNOR) auxiliaram essa distinção. Os tipos celulares identificados, tais como: células claras, mucinosas, ciliadas, “fragmentadas”, espumosas e as neurendócrinas se distribuíram entre as células secretoras típicas do compartimento epitelial. Esses diferentes tipos celulares foram identificados em todos os grupos analisados, porém com a senescência a freqüência dessas células parece ter aparentemente aumentado. Assim, apesar de não se conhecer especificamente o porquê dessa predisposição celular, o desequilíbrio hormonal, característico da senilidade, talvez tenha estimulado a incidência dessa heterogeneidade celular na glândula. Até então, essa identificação celular foi possível pelas alterações fenotípicas e respostas tintoriais conseqüente da reação do corante utilizado com o conteúdo sintetizado pela célula. Apesar dessa avaliação morfológica, a integração de outros métodos, como a imunohistoquímica, por exemplo, possibilitaria com maior eficácia a caracterização dessas células. Sendo assim, a necessidade de se caracterizar esses tipos celulares é eminente buscando-se sedimentar suas peculiaridades para poder se distingüir a relação e função destas no compartimento prostático feminino.

INTRODUÇÃO

A ocorrência da próstata feminina tem sido estendida tanto para humanos como para roedores sendo suas semelhanças morfológicas notadas através dos métodos histológicos (Sheata 1975 e 1980; Gross e Didio, 1987; Zaviačič et al., 2000a e 2000b; Santos et al., 2003, Custódio et al, 2004), histoquímicos enzimáticos e imunohistoquímicos (Tepper et al., 1984; Wernet et al., 1988 e 1992; Zaviačič et al., 1997; Sloboda et al., 1998; Zaviačič e Ablin, 2000).

A fisiologia deste órgão (Zaviačič et al., 2000a, b; Santos et al., 2003; Custódio et al., 2004; Santos et al., 2006) e seu papel funcional nas fêmeas é alvo de um número crescente de estudos. Pesquisas apontam semelhanças nos constituintes químicos do líquido prostático eliminado durante a ejaculação feminina com o líquido prostático masculino, além da detecção de níveis de PSA no soro e na urina das mulheres (Zaviačič et al., 1993; Zaviačič, 1999; Zaviačič and Ablin, 2000; Schmidt et al., 2001). Ainda julga-se haver uma função relacionada ao comportamento sexual (Zaviačič et al, 1993) sendo que alguns estudos associam-na ao ponto de Gräfenberg (ponto-G), visto que o estímulo deste ponto possibilita a ejaculação feminina (Schubach, 2002), enquanto outros pesquisadores defendem tratar-se da mesma estrutura (Addiego et al., 1981; Hines, 2001). Ademais é um órgão suscetível a lesões prostáticas benignas e malignas (Uzoaru et al., 1992; Zaviacic et al., 1993; Dodson et al., 1995; Sloboda et al., 1998; Zaviačič, 1999 e Zaviačič et al., 2000a; Custódio et al., 2005) semelhantes às desenvolvidas pela glândula masculina, principalmente durante a senescência.

O gerbilo é um modelo experimental adequado para se estudar a glândula feminina, a qual possui uma localização parauretral em íntimo contato com a parede da uretra mediana e distal. Histologicamente é formada pelos mesmos componentes da próstata masculina: unidades ductos-alveolares inseridas numa matriz músculo-fibrosa. As porções ductais dispostas em grupos contidos na musculatura uretral onde desembocam são revestidas por epitélio cúbico simples, apresentando um diâmetro menor que as porções secretoras alveolares. Essas últimas são localizadas em posição distal à uretra, podendo variar em forma e tamanho, sendo revestidas por um epitélio cúbico ou cilíndrico (Santos et

al., 2003). Como os demais órgãos do aparelho genital feminino, a manutenção morfo-fisiológica da próstata ao longo de todo o desenvolvimento pós-natal está sob o controle dos hormônios esteróides (Zaviačič 1999; Santos et al., 2006; Santos e Taboga, 2006).

Apesar do compartimento epitelial ser constituído tipicamente pelas células secretoras (luminais) e pelas basais (Santos et al., 2003), tipos celulares distintos puderam ser distinguidos entre essas células. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar estrutural e ultra-estruturalmente essa heterogeneidade celular do compartimento secretor da glândula prostática feminina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e preparo das amostras

Quarenta e cinco fêmeas do gerbilo (*Meriones unguiculatus*, Gerbilinae: Muridae) foram empregadas para esta análise, sendo cinco para cada fase do desenvolvimento pós-natal: jovem (1 mês), adulta (4 meses) e senil (18 meses). Os animais foram mantidos sob condições convencionais de temperatura e umidade tendo livre acesso à ração e água. Depois de anestesiados com inalação de CO₂ os animais foram decapitados. A manipulação e experimento com os animais foram realizados de acordo com o guia da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo (processo número: 1213-1). Os experimentos foram realizados no Centro de Microscopia e Microanálise do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da UNESP, campus de São José do Rio Preto (SP).

Análise estrutural

A próstata e tecidos anexos[‡] foram fixados por imersão em solução Karnovsky (4% paraformaldeído, 2,5% glutaraldeído em 0,1M de tampão fosfato, pH 7,2), durante 48 horas. Após a fixação, os tecidos foram lavados, desidratados em gradiente de etanol,

[‡] A próstata feminina não é visível macroscopicamente. De acordo com sua localização, abaixo da bexiga e ao longo da parede da uretra, o isolamento do tecido propriamente torna-se dificultado.

embebidos em resina (Historesin; Leica) e submetidos a cortes de 3 μ m com o micrótomo rotatório automático Leica (RM2155).

Os cortes histológicos foram corados pela Hematoxilina-eosina (H&E), Ácido Periódico de Schiff (PAS) (Behmer et al., 1976) e AgNOR (Howell and Black, 1980).

A digitalização e análise quantitativa dos cortes histológicos foram realizadas no sistema analisador de imagens Image-Pro[®]Plus versão 4.5 for Windows[™] software acoplado a um microscópio Olympus modelo BX60.

Análise ultra-estrutural

Os fragmentos prostáticos foram fixados por imersão durante 24 horas em glutaraldeído 3%, ácido tânico 0,25%, em tampão Milloning, pH 7,3 contendo 0,54% de glicose. Após a lavagem com o mesmo tampão, foram pós-fixados durante 2 horas com tetróxido de ósmio 1%, lavados, desidratados em gradiente de acetona e embebidos em resina de Araldite (Cotta-Pereira et al., 1976). Cortes ultra-finos foram realizados em ultramicrotomo Leica com navalha de diamante, coletados em “grids” de 200 mesh e contrastados com acetato de uranila alcoólico 2% por 30 minutos, seguido por citrato de chumbo 2% em solução de hidróxido de sódio durante 10 minutos. As amostras foram avaliadas pelo microscópio eletrônico de transmissão LEO-Zeiss 906 à 80 Kv.

RESULTADOS

Na avaliação estrutural e ultra-estrutural da glândula prostática feminina foram notadas duas populações celulares típicas, uma mais freqüente que limita a luz da glândula, conhecida como célula luminal, e outra mais esporádica apoiada na membrana basal, conhecida como célula basal. Ambas são células íntegras que se distribuem uniformemente pelo compartimento epitelial da glândula (Fig. 1) o qual variou de simples cúbico (Fig. 1A) a colunar (Fig. 1B). Quando coradas pela H&E estas apresentam um citoplasma basófilo homogêneo (Fig. 1A e B). Células coradas pelo PAS mostraram poucos grânulos PAS positivos distribuídos pelo citoplasma celular e uma maior concentração na porção apical da célula (Fig. 1C).

Eventualmente, algumas células apresentaram características diferentes que as distinguiram (Fig. 2 - 9) das demais células típicas (Fig. 1) do epitélio secretor da glândula. Algumas dessas células apresentaram uma basofilia destacada na forma de grânulos quando coradas pelo H&E (Fig. 2A e C), porém não apresentaram as modificações morfológicas em relação às demais células epiteliais e podem ser encontradas em grupos (Fig. 2A e D) ou isoladas (Fig. 2E). A presença de grânulos PAS positivos (Fig. 2B, D e E) em quantidades diferentes e níveis de marcação variáveis caracterizam esse tipo celular. Grânulos indicando a precipitação da prata com o produto sintetizado e armazenado pela célula (Fig. 2F e D) também foi observado através da técnica do AgNOR. Através da utilização dessas colorações foi verificado que essas células prostáticas apresentam a mesma natureza química das células do epitélio da vagina coradas pelo PAS (Fig. 2G) e AgNOR (Fig. 2H).

Células colunares altas com uma basofilia destacada (Fig. 3a) também estiveram adjacentes às demais células epiteliais. Quando analisada ultra-estruturalmente (Fig. 3B), essas apresentaram uma concentração de vesículas de secreção na porção apical, enquanto uma destacada distribuição de organelas biossintéticas em relação às demais foi destacada em seu citoplasma eletrôn-denso.

Por outro lado, algumas células mostraram um citoplasma menos basófilo quando coradas pela H&E sendo células mais claras (Fig. 4A). Ultra-estruturalmente, essas também apresentaram um sistema de endomembranas desenvolvido disperso pelo citoplasma menos eletrôn-denso (Fig. 4B).

Outras células mostraram um processo de vacuolização gradativo em seu citoplasma conferindo-lhe um aspecto fragmentado (Fig. 5B). A ultra-estrutura apontou a presença de amplas vesículas de secreção dispersas pela célula com produto eletrôn-denso em seu interior (Fig. 5B).

Células polimórficas mais volumosas, com um citoplasma rendado foram distinguidas pela H&E (Fig. 6A e B). O tênue citoplasma apresentado por essas células foi PAS positivo. Eventualmente, no interior dos espaços delimitados pela rede citoplasmática formada foram observados alguns corpúsculos (Fig. 6C) indicativos da secreção celular. A heterogeneidade dessa rede intra-citoplasmática propiciou a mudança fenotípica dessas células. Ultra-estruturalmente, elas apresentam seu citoplasma inteiramente ocupado por

vesículas com esporádicos corpúsculos polimórficos. As organelas foram encontradas no espaço citoplasmático limitado entre as vesículas secretoras (Fig. 7A e B).

O compartimento epitelial também foi ocupado por células ciliadas (Fig. 8) as quais ultra-estruturalmente apresentaram uma concentração de mitocôndrias próximas ao corpúsculo basal dos cílios (Fig. 8B).

Outro tipo celular, até então, teve sua identificação apenas ultra-estruturalmente. Essas células foram caracterizadas pelos grânulos elétron-densos de tamanhos heterogêneos dispersos pelo citoplasma (Fig. 9A - C).

DISCUSSÃO

O compartimento epitelial da próstata feminina mostrou-se alternado por tipos celulares heterogêneos, encontrados tanto isolados como em grupos, os quais foram diferenciados por suas características fenotípicas e pelas propriedades tintoriais frente aos corantes utilizados.

As células com citoplasma ocupado por grânulos basófilos e também PAS positivos provavelmente se referem às células mucinosas (Custodio et al., 2006a). Estas não apresentaram mudança fenotípica sendo distingüidas pela natureza do seu conteúdo citoplasmático. Segundo Bancroft e Gamble (2002), os grânulos PAS positivos referem-se às mucinas sulfatadas indicando a predominância de secreção rica em carboidrato. Essas células produtoras de mucinas, ou seja, glicoproteínas de alto peso molecular lubrificam e protegem o compartimento epitelial. De acordo com sua função as mucinas se dividem em dois grupos: as que se ligam as membranas, sendo as MUC 1, MUC 3 e MUC 4, as quais contribuem para a interação célula a célula do epitélio e as secretadas, como as MUC 2, MUC 5AC, MUC5B e MUC 6 que constituem o maior componente macromolecular do muco (Legrier et al., 2004; Cozzi et al, 2005). Assim, talvez a variação na intensidade e distribuição dos grânulos PAS positivos encontrados nas células reflita os diferenciados tipos de MUC ou também seja consequência dos níveis diferentes de atividade sintética. A técnica de impregnação por prata (AgNOR) pôde confirmar a natureza química dessas células já que o carboidrato foi precipitado pela prata permitindo a identificação de

grânulos escuros dispersos pelo citoplasma caracterizando a propriedade argirófila dessas células.

Uma basofilia mais tênue, caracterizando as células claras, foi anteriormente descrita por Santos e colaboradores (2003) no compartimento epitelial desta glândula. Segundo as descrições do grupo, essas células ultra-estruturalmente apresentam um conteúdo citoplasmático menos elétron-denso havendo vesículas secretórias de densidade baixa e tamanho pequeno. Estas células que acumulam carboidrato neutro em seu citoplasma são raras no epitélio normal, mas posterior à administração de testosterona tornou-se gradualmente mais freqüente, segundo Santos e colaboradores (2006) ao estudar o efeito desse hormônio sob a glândula. Além do destaque epitelial dado pela célula merócrina clara identificada, um outro tipo celular merócrino com marcante basofilia foi distinguido no compartimento. Na maioria das vezes, essas células foram colunares altas com restrito volume citoplasmático. Quando analisadas ultra-estruturalmente seu citoplasma exibiu uma grande concentração de organelas biossintéticas. Possivelmente a natureza bioquímica da secreção produzida por essas células seja a responsável por sua eletron-densidade destacada.

Uma fragmentação parcial ou envolvendo uma grande porção do citoplasma caracterizou um outro tipo celular. Este recebeu a denominação de célula fragmentada e ultra-estruturalmente foi marcada pela quantidade de vesículas secretoras amplas e heterogêneas dispersas pelo citoplasma. Apesar de seu aspecto fragmentado, esse tipo celular não teve sua funcionalidade alterada. Ultra-estruturalmente, Custodio e colaboradores (2007 b *submitted*, c *in process*) já sugeriram a manutenção do metabolismo dessas células por constatarem seu sistema de endomembranas desenvolvido e funcional.

Células fenotípicamente alteradas ocupadas inteiramente por uma rede intracitoplasmática e apresentando um aspecto semelhante à espuma foram reconhecidas no compartimento epitelial como células espumosas. Este tipo celular polimórfico muitas vezes, apesar de aqui não documentado, apresentou seu núcleo limitado à periferia da célula provavelmente em função dessa característica. Esse tênue citoplasma “rendado” e os corpúsculos delimitados por estes foram PAS positivos sugerindo a presença de carboidratos em seu citoplasma. A análise ultra-estrutural exibiu um citoplasma

inteiramente revestido por vesículas secretoras justapostas. Entre os limitados espaços citoplasmáticos restante dessa distribuição vesicular adjacente pode ser identificado um sistema de endomembranas desenvolvido com cisternas do Complexo de Golgi muito dilatadas. Algumas vesículas secretoras foram ocupadas por corpúsculos polimórficos. Estas características ultra-estruturais sugerem que estas células espumosas apresentam um metabolismo celular mais diferenciado em relação às células típicas.

As características relatadas entre as células fragmentadas e espumosas sugerem que sejam um estágio fisiológico diferente do mesmo tipo celular. Ao se analisar ultra-estruturalmente foi possível verificar que as vesículas de secreção gradualmente aumentaram em número de uma célula para outra resultando num citoplasma inteiramente revestido por essas, no caso da célula espumosa. Uma superativação secretora possivelmente foi o princípio dessa alteração fenotípica e fisiológica. As células aparentaram um aspecto fragmentado pelo aumento das vesículas secretoras que atingiram seu máximo possibilitando o fenótipo espumoso. Aparentemente, esses dois tipos celulares caracterizados foram os que mais se destacaram no epitélio da glândula senil e posterior à administração do DHEA.

Santos e colaboradores (2007) identificaram anteriormente a existência de células ciliadas no compartimento prostático. Esta ciliogênese foi mais evidente, segundo os autores, posterior a administração androgênica. A presença dessas células esta provavelmente relacionada a uma diferenciação anômala das células basais prostáticas sob influência de um desequilíbrio hormonal, segundo os pesquisadores.

Ultra-estruturalmente, as células neurendócrinas também foram identificadas na glândula feminina do gerbilo enquanto Zaviačič (1999) já as confirmou na glândula da mulher. Tal como na próstata masculina, acredita-se que tais células estejam envolvidas com o crescimento, diferenciação e regulação do processo secretor no órgão maduro (Di Sant'Agnese, 1992). Morfologicamente, são distinguidos dois tipos de células neurendócrinas, as abertas e as fechadas (Abrahamsson, 1999ab), porém como estas secretam diferentes tipos de substâncias bioativas, como a cromogranina, serotonina, calcitonina, somatostatina, entre outras, podem ser identificados alguns tipos de células neurendócrinas (Di Sant'Agnese, 1992; Abrahamsson, 1999ab). Tais células também

podem estar envolvidas em processos de progressão tumoral, desencadeados por agentes farmacológicos e fisiológicos, tendo se diferenciado nas neurendócrinas tumorais (Abrahamsson, 1999b; Grobholz et al., 2005). Segundo Abrahamsson (1999a), a origem dessa célula tumoral não está clara, porém se insinua que ocorre uma mudança do fenótipo de célula luminal para neurendócrina. Bonkhoff e colaboradores (1991 e 1995) defendem que essas células não mostram atividade proliferativa, considerando-as como uma população celular diferenciada.

A distinção destes diferentes tipos celulares ocorreu no compartimento epitelial das glândulas de todas as idades, porém aparentemente sua intensificação se deu durante a senescência. Assim, apesar de não se conhecer especificamente o porquê dessa predisposição ao desenvolvimento das diferentes células, o desequilíbrio hormonal talvez tenha estimulado a incidência dessa heterogeneidade na glândula. Além disso, essas também foram frequentes nas alterações histopatológicas (Custodio et al., 2007b *submitted, c in process*) podendo esses tipos celulares estarem envolvidos com o desenvolvimento de lesões proliferativas na glândula.

Apesar da heterogeneidade celular distinguidas no epitélio da glândula feminina do gerbilo, há uma similaridade morfológica entre as células secretoras típicas de ambos os sexos (Santos et al., 2003 e 2006; Santos e Taboga 2006; Custodio et al., 2004, 2007 b *submitted, c in process*; Pegorin de Campos et al., 2006).

Com a avaliação morfológica realizada, até então, se obteve um perfil estrutural e ultra-estrutural dessas células. Porém, a integração de outros métodos, como a imunohistoquímica, por exemplo, possibilitaria com maior eficácia essa caracterização e a diferenciação entre esses tipos celulares. Sendo assim, é eminente o conhecimento dessas células buscando sedimentar suas peculiaridades e distinguir a relação e função destas no compartimento prostático feminino.

BIBLIOGRAFIA

- Abrahamsson PA, 1999a. Neuroendocrine cells in tumor growth of the prostate. *Endocr Relat Cancer* 6: 503-19.
- Abrahamsson PA, 1999b. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Prostate* 39: 135-48.
- Addiego F, Belzer EG, Comolli J, Moger W, Perry JD, Whipple B, 1981. Female ejaculation: a case study. *J Sex Res* 17: 1-13.
- Bancroft JD and Gamble M, 2002. *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone, New York.
- Behmer OA, Tolosa EMC and Freitas-Neto AG, 1976. *Manual para histologia normal e patológica*. Edart-Edusp, São Paulo. Brasil.
- Bonkhoff H, Stein U, Remberger K, 1995. Endocrine-paracrine cell types in the prostate and prostatic adenocarcinoma are postmitotic cells. *Hum Pathol* 26: 167-70.
- Bonkhoff H, Wernert N, Dhom G and Remberger K, 1991. Relation of endocrine-paracrine cells to cell proliferation in normal, hyperplastic, and neoplastic human prostate. *Prostate* 19: 91-8.
- Cotta-Pereira G, Rodrigo FG and David-Ferreira JF, 1976. The use of tannic acid-glutaraldehyde in the study of elastic related fibers. *Stain Technol* 51:7-11.
- Cozzi PJ, Wang J, Delprado W, Perkins AC, Allen BJ, Russel PJ and Li Y, 2005. MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC and MUC6 expression in the progression of prostate cancer. *Clin Exp Metast* 22: 565-73.
- Custódio AMG, Góes RM and Taboga SR, 2004. Acid phosphatase activity in gerbil prostate: comparative study in male and female during postnatal development. *Cell Biol Int* 28: 335-44.
- Custódio AMG, Jesus GP, Góes RM and Taboga SR, 2005. The old female prostatic secretor epithelium of the gerbil (*Meriones Unguiculatus*) and its lipofuscinogenesis age-dependent. *Braz J Morphol Sci Suppl*, 22:46.
- Custódio AMG, Jesus GP, Santos FCA, Falleiros-Jr LR and Taboga SR, 2006. Senescence and steroidal therapies induce alterations of the epithelial cells phenotypes in the gerbil female prostate. In *Proceedings of the XIII Congresso Brasileiro de Biologia Celular*, 2006. Búzios, Brazil.
- Custodio AMG, Santos FCA, Campos SGP, Vilamaior PSL and Taboga SR, 2007b. Aging effects of the on Mongolin gerbil female prostate: structural, ultrastructural quantitative and hormonal evaluations. *Anat Rec (submitted)*.
- Custodio AMG, Santos FCA, Campos SGP, Vilamaior PSL, Taboga SR, 2007c. Histopathological aspects of the Mongolian gerbil female prostate associated with senescence (*in process*).
- Di Sant'Agnes PA., 1992. Neuroendocrine differentiation in human prostatic carcinoma. *Human Pathol* 23: 287-96.
- Dodson MK, Cliby WA, Keeney GL, Peterson MF, Podratz KC. 1994. Skene's gland adenocarcinoma with increased serum level of prostate-specific antigen. *Gynecol Oncol* 55:304-7.

- Grobholz R, Griebel M, Sauer CG, Michel MS, Trojan L, Bleyl U, 2005. Influence of neuroendocrine tumor cells on proliferation in prostatic carcinoma. *Human Pathol* 36: 562-0.
- Gross SA and Didio LJA, 1987 Comparative morphology of the prostate in adult male and female of *Pracomys (mastomys) natalensis* studies with electron microscopy. *J Submicrosc Cytol* 19: 77-4.
- Hines TM. 2001. The G-spot: A modern gynecologic myth. *Am J Obstet Gynecol*, 185: 359-62.
- Howell WM and Black DA. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer. I. Step method. *Experientia* 36: 104–105.
- Legrier ME, Pinieux GD, Boye K et al., 2004. Mucinous differentiation features associated with hormonal escape in a human prostate cancer xenograft. *Br J Cancer* 90: 720-7.
- Pegorin de Campos SG, Zanetoni C, Góes RM and Taboga SR, 2006. Biological Behavior of the Gerbil Ventral Prostate in Three Phases of Postnatal Development. *Anat Rec* 288: 723-33.
- Santos FCA and Taboga SR, 2006. Female prostate: a review about the biological repercussions of this gland in humans and rodents. *Anim Reprod* 3: 3-18.
- Santos FCA, Carvalho HF, Góes RM and Taboga SR, 2003. Structure, histochemistry and ultrastructure of the epithelium and stroma in the gerbil (*Meriones unguiculatus*) female prostate. *Tissue Cell* 35: 447-57.
- Santos FCA, Falleiros-Júnior LR, Corradi LS, Vilamaior PSL and Taboga SR, 2007. Experimental endocrine therapies promote epithelial cytodifferentiation and ciliogenesis in the gerbil female prostate. *Cell Tissue Res* 328 :617-24
- Santos FCA, Leite RP, Custódio AMG, Carvalho KP, Monteiro-Leal LH, Santos AB, Carvalho HF and Taboga SR, 2006. Testosterone stimulates growth and secretory activity of the adult female prostate of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Biol Reprod* 75: 370-9.
- Schubach G. 2002. The G-spot is the female prostate. *Am J Obstet Gynecol*, 186: 850.
- Shehata R, 1975. Female prostate in *Arvicantihis niloticus* and *Meriones lybicus*. *Acta Anat* 92: 513-23.
- Shehata R, 1980. Female prostate and urethral glands in the home rat, *Rattus norvegicus*. *Acta Anat* 107:286-88.
- Sloboda J, Zaviačič M, Jakubovský J, Hammar E and Johnsen J, 1998. Metastasizing adenocarcinoma of the female prostate (Skene's paraurethral glands). Histological and immunohistochemical prostate markers studies and first ultrastructural observation. *Pathol Res Pract* 194: 129-36.
- Tepper SL, Jagirdar J, Heath D and Geller SA, 1984. Homology between the female paraurethral (Skene's) glands and the prostate. *Arch Pathol Lab Med* 108: 423-5.
- Uzoaru I, Akang EE, Aghadiuno PU and Nadimpalli VR, 1992. Benign cystic ovarian teratomas with prostatic tissue: a report of two cases. *Teratology* 45: 235-9.
- Wernet N, Albrecht M, Sesterhenn I, Goebbels R, Bonkhoff H, Seitz G, Inniger R and Remberger K, 1992. The "female prostate": location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. *Eur Urol* 22: 64-9.

- Wernet N, Gerdes J, Loy V, Seitz G, Scherr O and Dhom G, 1988. Investigations of the estrogen (ER-ICA-test) and progesterone receptor in the prostate and prostatic carcinoma on immunohistochemical basis. *Virchows Arch Pathol* 412: 387-91.
- Zaviačič M and Ablin RJ, 2000. The female prostate and prostate-specific antigen. Immunohistochemical localization, implications of this prostate marker in women and reasons for using the term "prostate" in human female. *Histol Histopathol*, 15: 131-42.
- Zaviačič M, 1999. *The Female Prostate: From vestigial Skene's paraurethral glands and ducts to woman's functional prostate*. Slovak Academic Press, Slovakia.
- Zaviačič M, Danihel L, Ružičková M, Blažeková J, Itoh Y, Okutani R and Kaway T, 1997. Immunohistochemical localization of human protein 1 in the female prostate (Skene's Gland) and the male prostate. *Histochem J* 29: 219-27.
- Zaviačič M, Jakubovská V, Belošovič J and Breza J, 2000a. Ultrastructure of the normal adult human female prostate gland (Skene's gland). *Anat Embriol* 20: 51-61.
- Zaviačič M, Sidlo J and Borovský M, 1993. Prostate specific antigen and prostate specific acid phosphatase in adenocarcinoma of Skene's paraurethral glands and ducts. *Virchows Archiv A Pathol Anat*, 423: 503-5.
- Zaviačič M, Zajíčková M, Blažeková J, Donárová L, Svetoslav S, Miroslav M, Zaviačič T, Holomán K and Breza J, 2000b. Weight, size, macroanatomy, and histology of the normal prostate in the adult human female: a minireview. *J Histotechnol* 23: 61-9.

LEGENDAS

Figura 1: Visão geral do compartimento epitelial típico da glândula prostática feminina. **A e B:** Morfologia do compartimento secretor constituído por células secretoras (CS), também conhecidas como luminais, e basais (CB). Epitélio variando entre o simples cúbico e o colunar, respectivamente. Estroma formado pelas fibras de colágeno (CO) subepitelial e camada célula muscular lisa (CML). Coloração: H&E. **C:** Células secretoras com grânulos PAS+ distribuídos e concentrados em sua porção apical. Destaque para a área do Golgi (*). **D:** Ultra-estrutura das células secretoras do epitélio (EP) secretor. Núcleo (N). Aumento: 2156x.

Figura 2: Prováveis células mucinosas do compartimento epitelial da próstata feminina. **A:** Grupo de células com citoplasma basófilo distribuído no epitélio (EP). Regiões semelhantes a vacúolos (*) com basofilia mais tênue. Coloração: H&E. **B:** Grânulos PAS+ (setas) distribuídos pelo citoplasma correspondentes aos basófilos identificados anteriormente. As regiões vesiculares exibiram discreta marcação PAS+. **C:** Agrupamento de células com basofilia mais intensa (setas) no epitélio. **D e E:** Células PAS+ mostrando diferenças na intensidade de marcação provavelmente correspondendo a quantidade de grânulos (setas) acumulados no citoplasma. **F:** Células argirófilas (setas). **G e H:** Presença de células produtoras de muco no epitélio da vagina. Coloração: PAS e AgNOR, respectivamente.

Figura 3: **A:** Células colunares altas com basofilia marcante, porém de aspecto não granular. Coloração: H&E. **B:** Ultra-estrutura da célula secretora (SC) colunar alta com acentuada eletron-densidade. Abundância de organelas biosintéticas, como: complexo de Golgi (CG) e mitocôndrias (M) dispersas pela célula e vesículas de secreção (VS) concentradas em sua porção apical. Retículo endoplasmático rugoso (RER), depósitos do tipo ceramidas (cabeça de seta). Aumento: 7750x.

Figura 4: **A:** Célula clara (seta) do compartimento epitelial da próstata feminina. Célula muscular lisa (CML). Coloração: H&E. **B:** Ultra-estrutura da célula clara (seta) mostrando

uma menor eletron-densidade contrastando com a célula secretora (CS) típica. Mitocôndria (M), complexo de Golgi (CG), retículo endoplasmático rugoso (RER), núcleo (N), depósitos do tipo ceramidas (cabeça de seta). Aumento: 3597x.

Figura 5: A: Célula “fragmentada” (seta) do compartimento epitelial da próstata feminina. Áreas de fragmentação (*) identificada no tipo celular. Coloração: H&E. **B:** Ultra-estrutura da célula secretora (CS) apontando vesículas secretoras heterogêneas (setas) com acúmulo de secreção. A: 10000x.

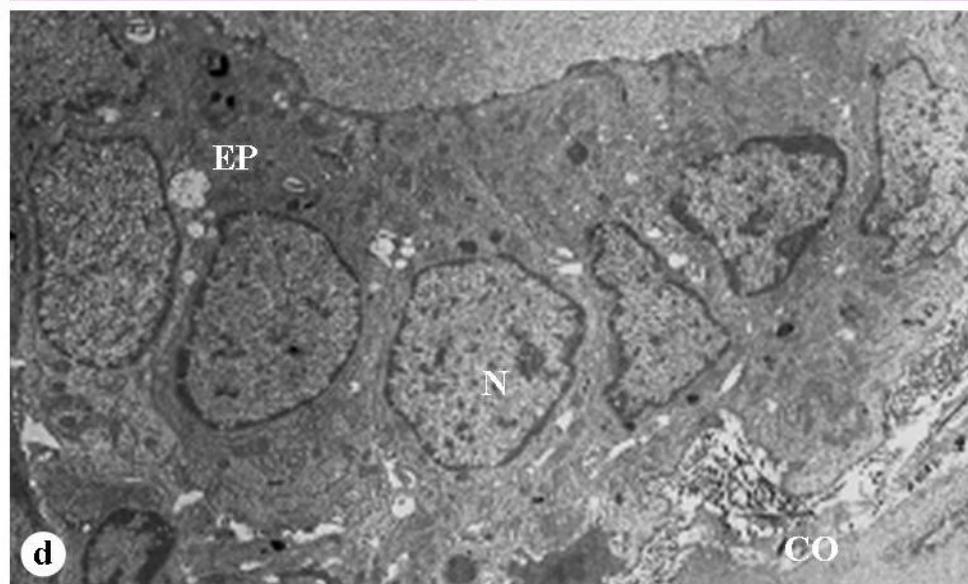
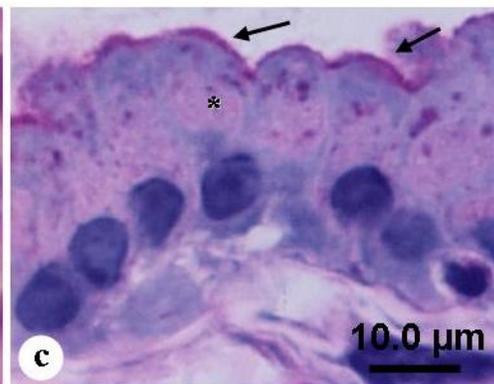
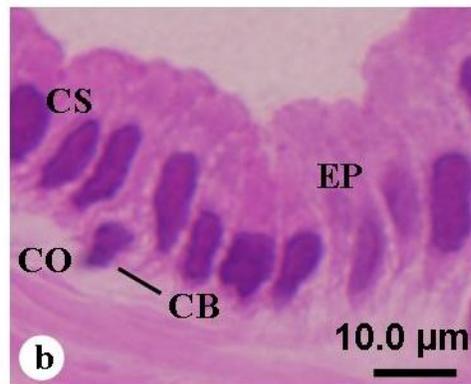
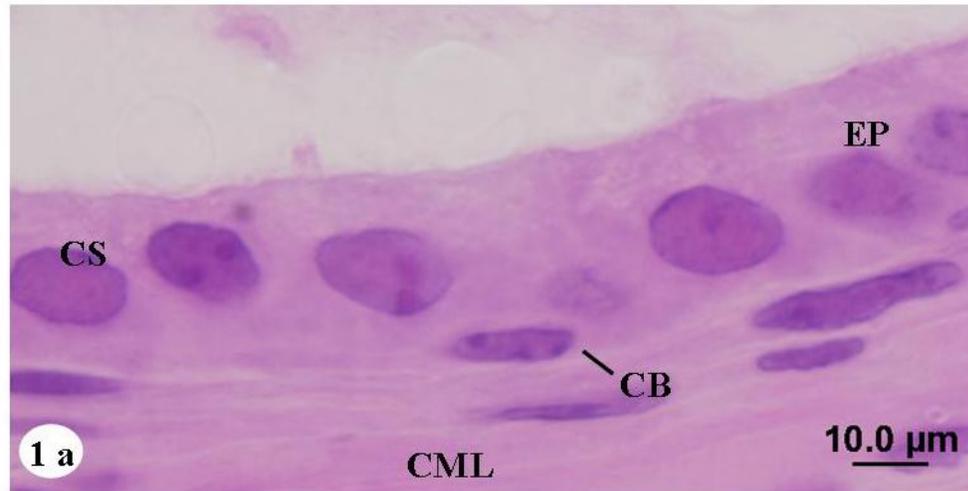
Figura 6: A e B: Células espumosas (setas) do compartimento epitelial da próstata feminina. Coloração: H&E. **C:** Marcação PAS+ da tênue rede citoplasmática que se distribue pela célula. Secreção (setas).

Figura 7: A e B: Ultra-estrutura das células espumosas do compartimento epitelial da próstata feminina. Citoplasma inteiramente revestido pelas amplas vesículas secretoras. Notar a distribuição das organelas biossintéticas, tais como: mitocôndria (M), complexo de Golgi (CG) entre os espaços citoplasmáticos intra-vesiculares. Célula secretora (CS), núcleo (N), depósitos do tipo ceramidas (*) e secreção (setas). Aumentos: 4646x e 12930x, respectivamente.

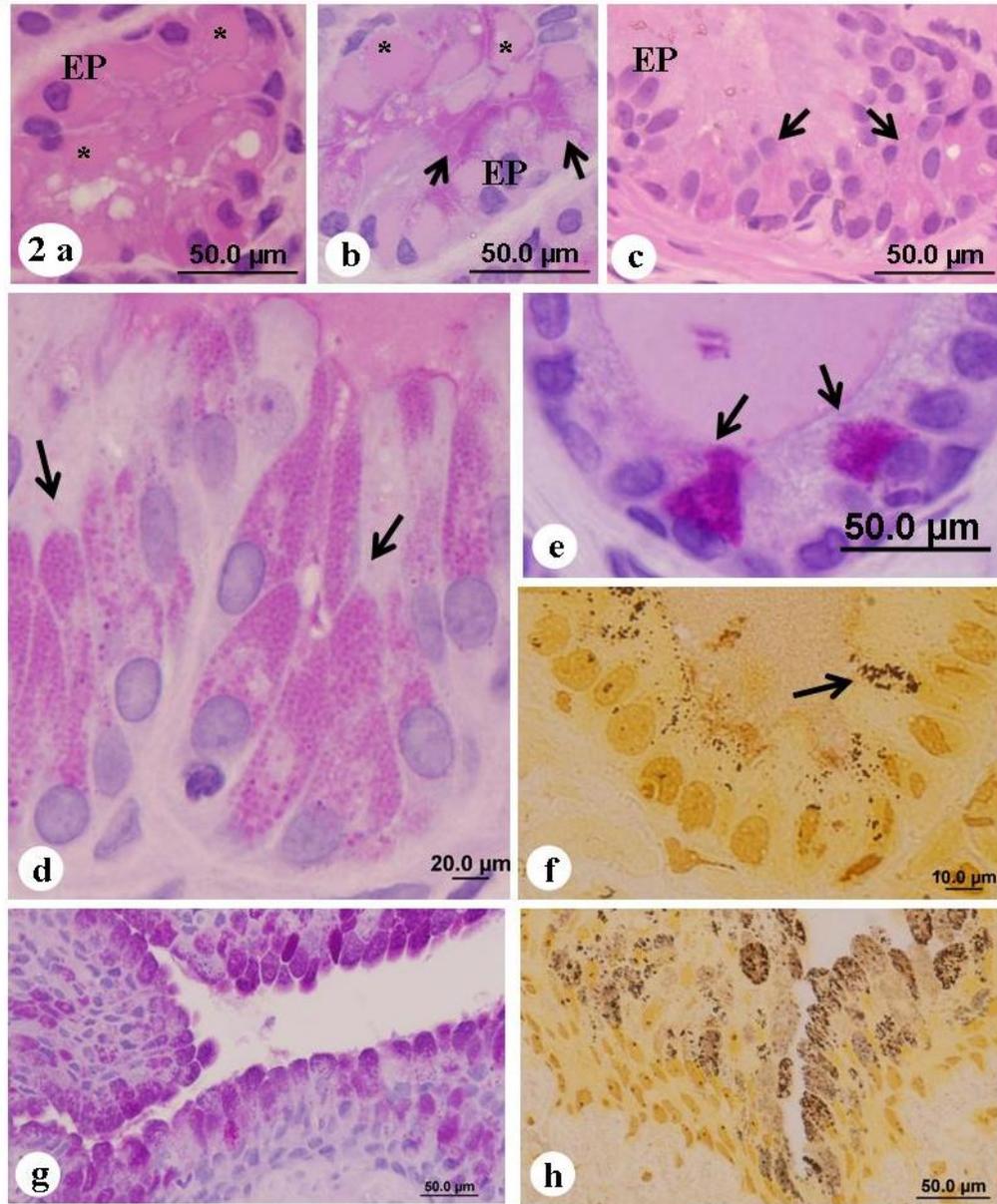
Figura 8: A: Células ciliadas do compartimento epitelial da próstata feminina. Corpúsculo basal (*). Coloração: H&E. **B:** Ultra-estrutura da célula ciliada destacando a concentração de mitocôndrias (M) próximas aos corpúsculos basais (*). Núcleo (N). Aumento: 10000x.

Figura 9: A, B e C: Ultra-estrutura das células neurendócrinas do compartimento epitelial da próstata feminina. Destaque para os grânulos eletron-densos característicos deste tipo celular. Núcleo (N). Aumento: 16700x, 35970x e 12930x, respectivamente.

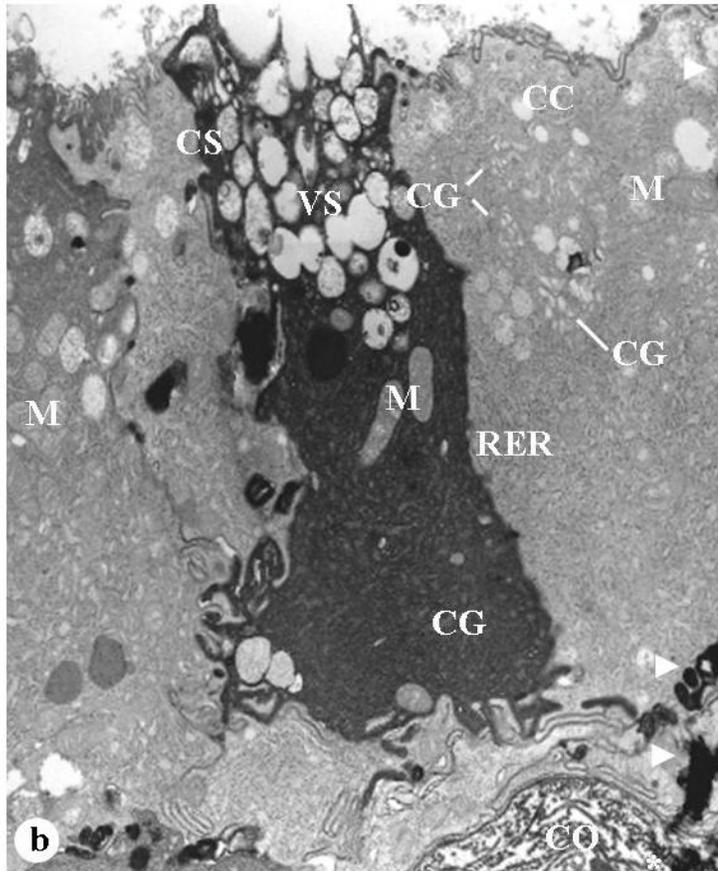
EPITÉLIO PADRÃO



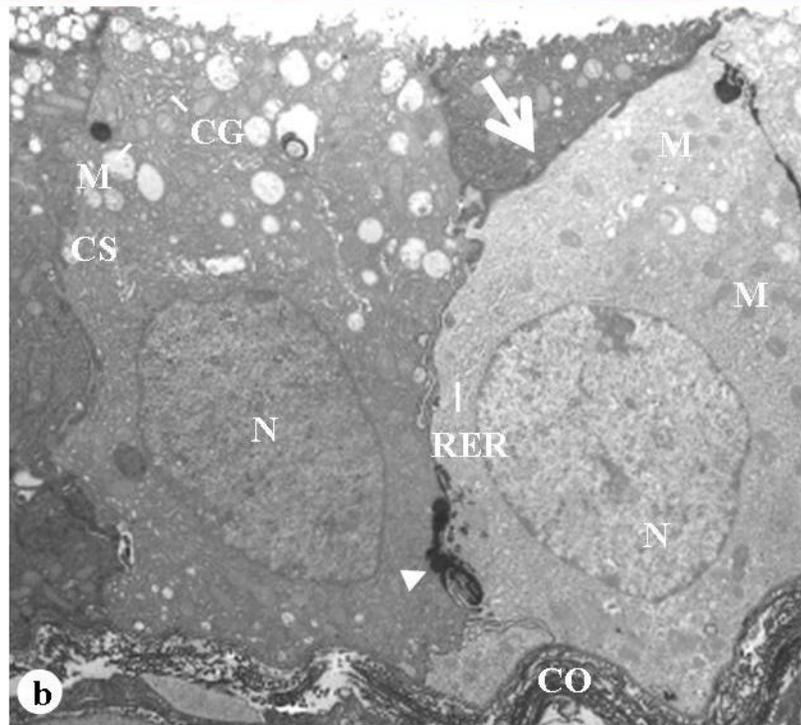
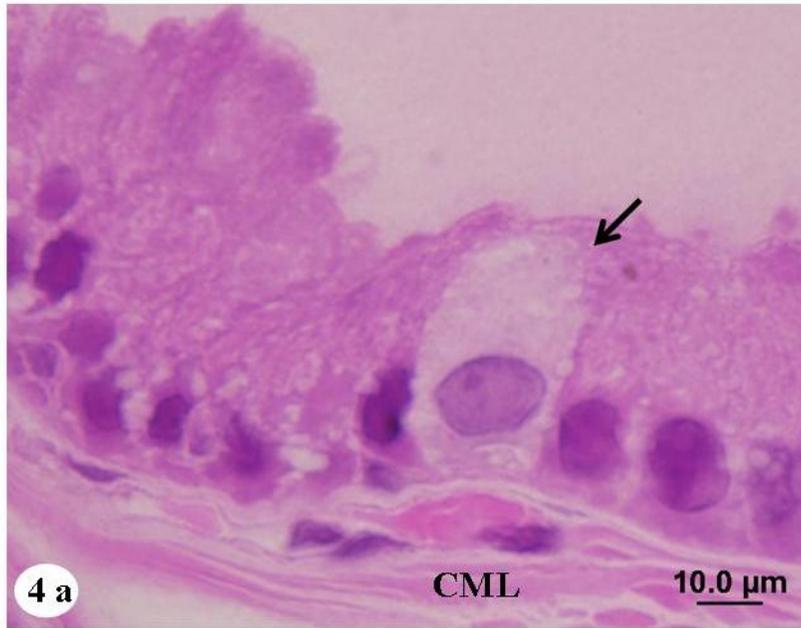
CÉLULA MUCINOSA



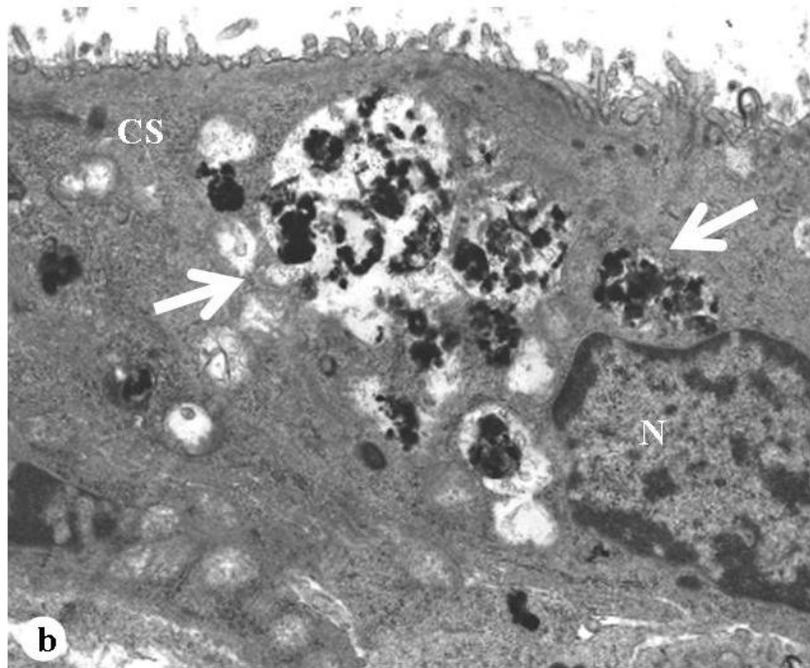
CÉLULA BASÓFILA



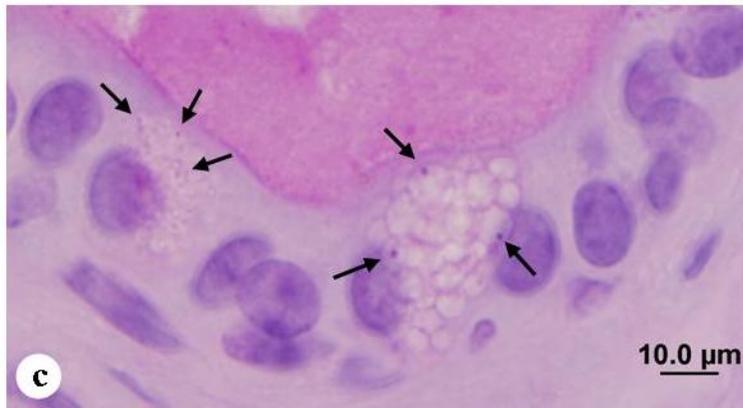
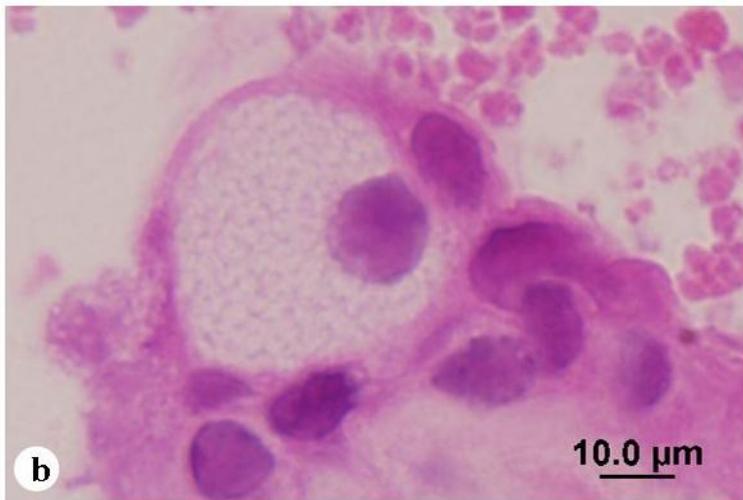
CÉLULA CLARA



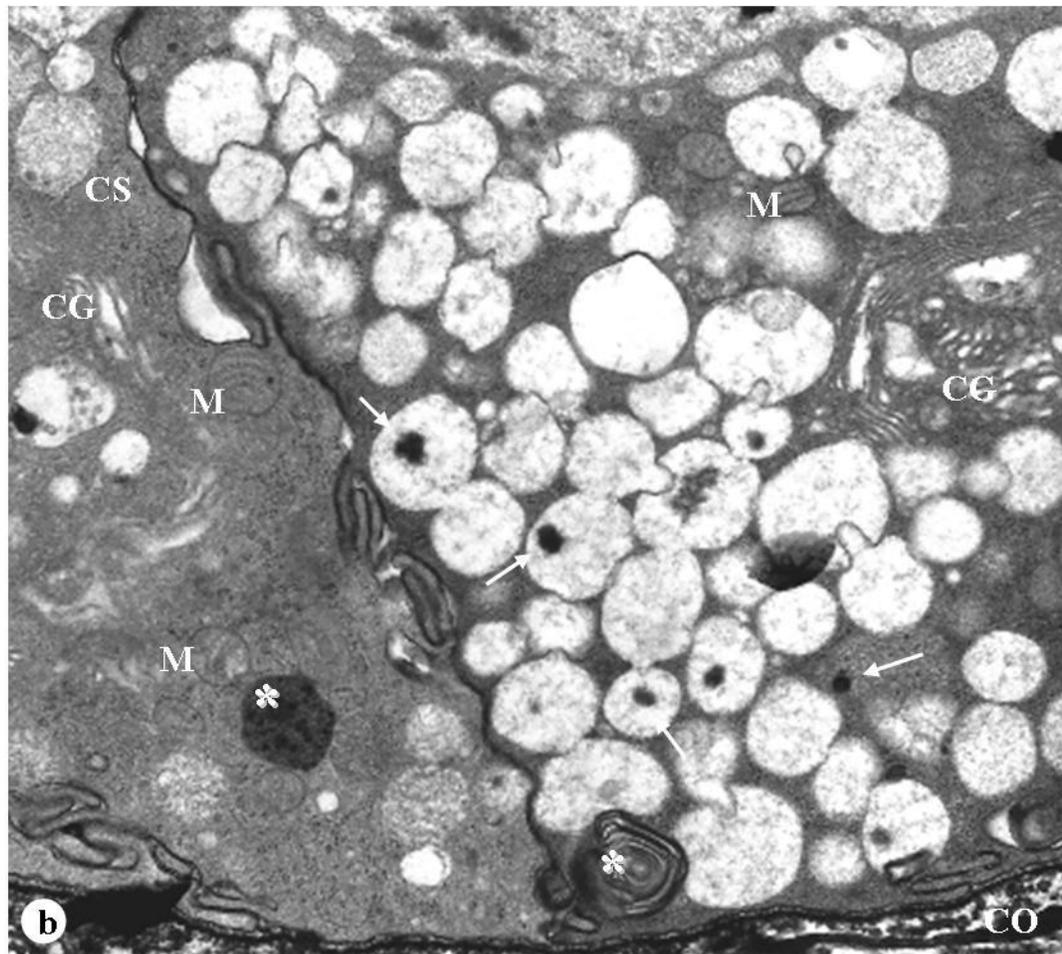
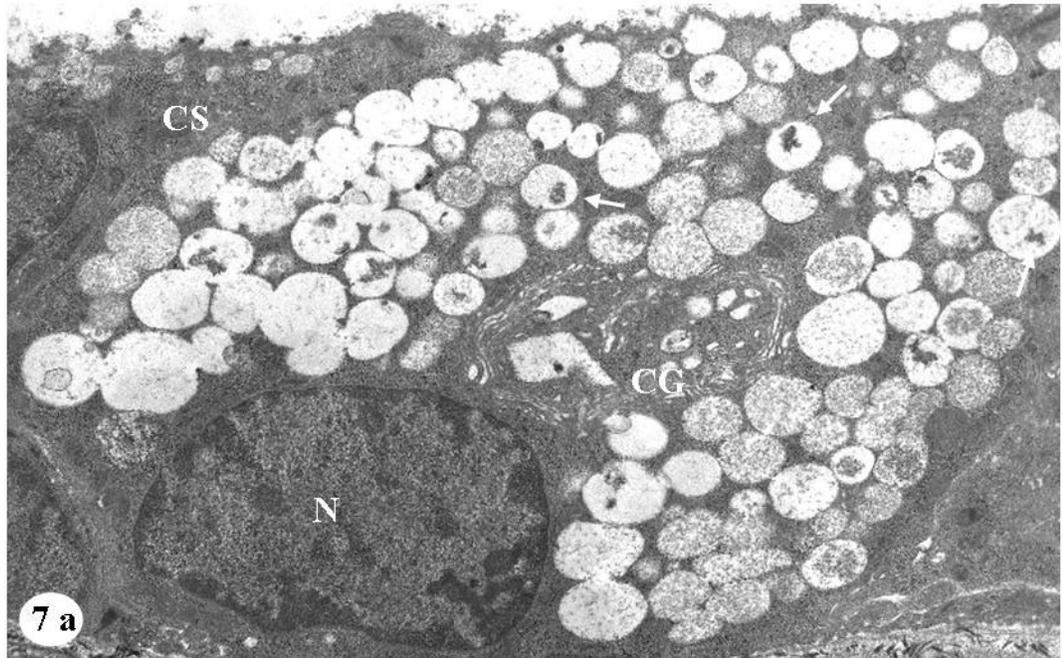
CÉLULA FRAGMENTADA



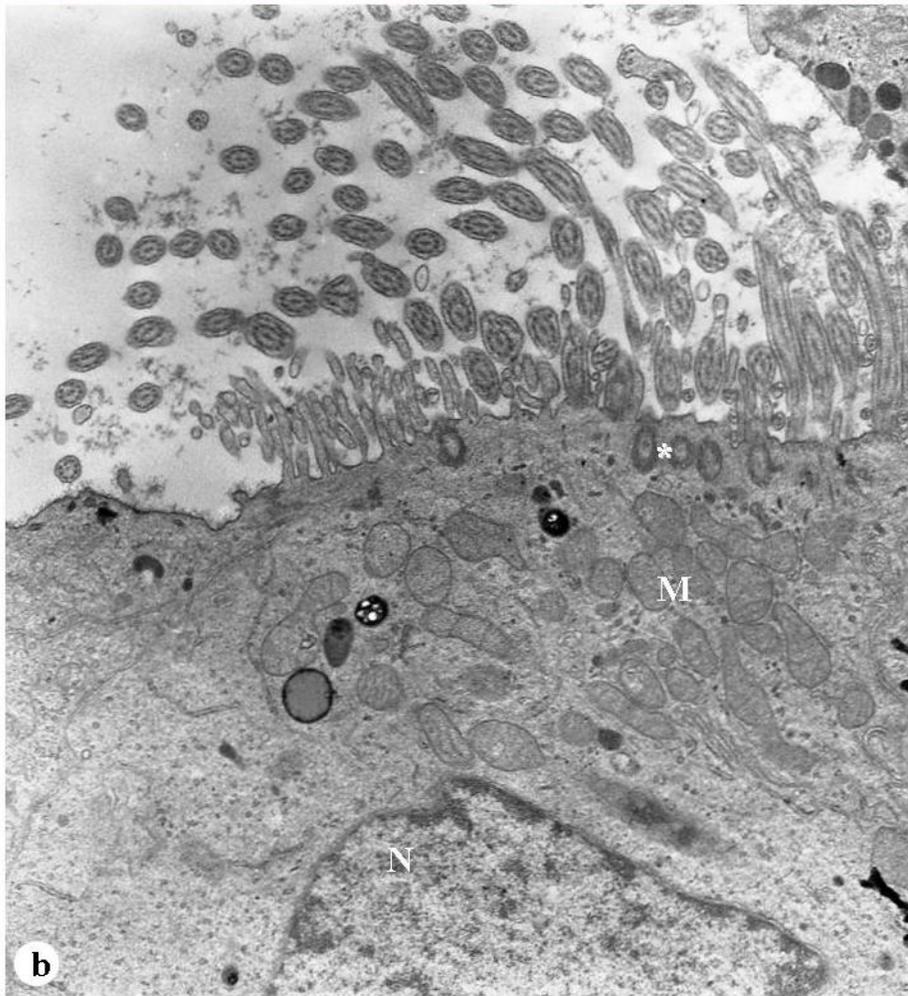
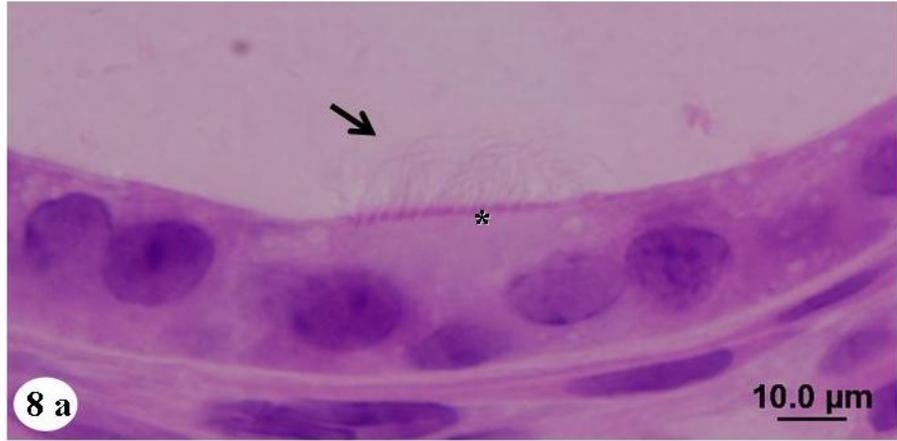
CÉLULA ESPUMOSA



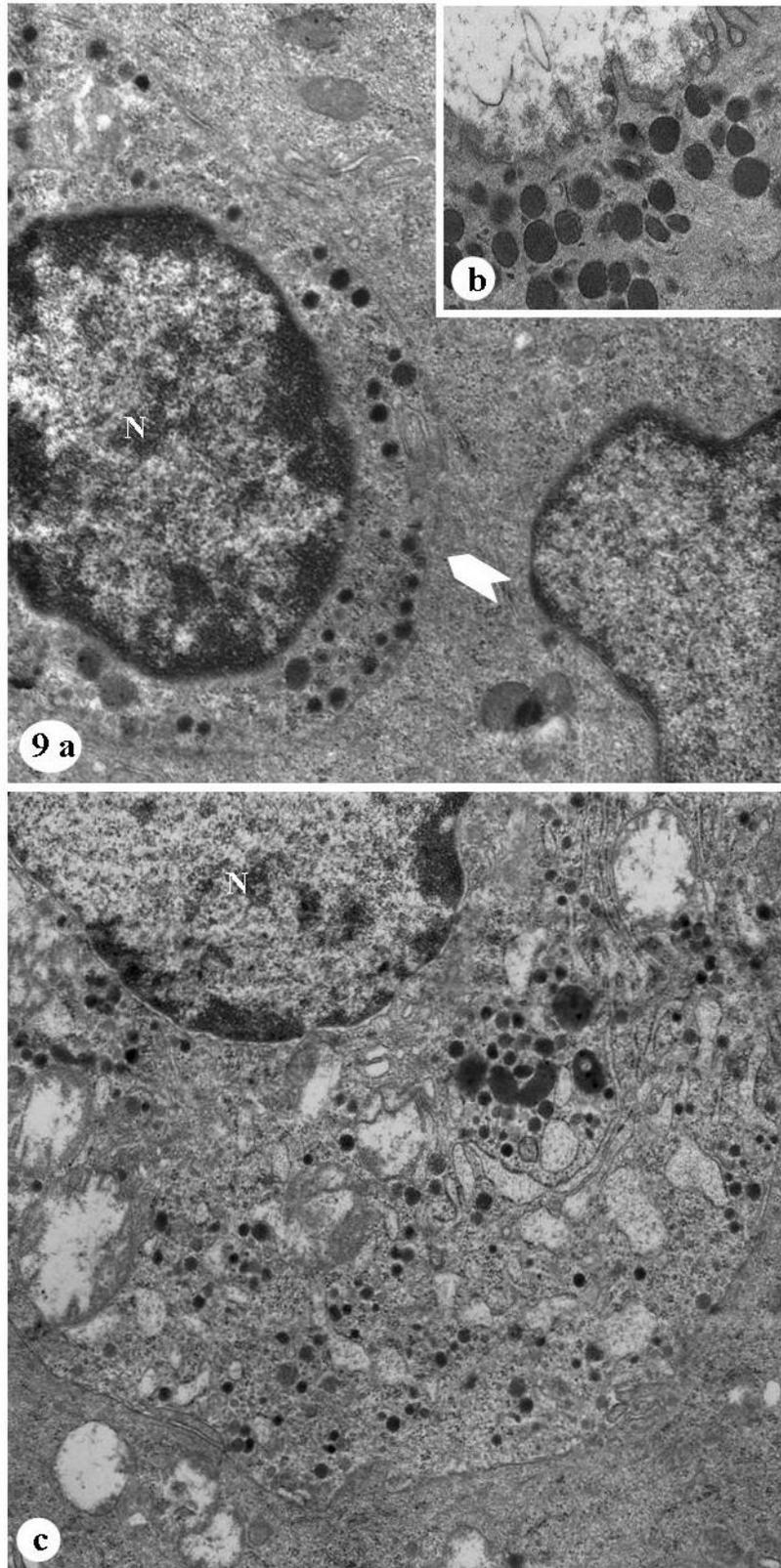
CÉLULA ESPUMOSA



CÉLULA CILIADA



CÉLULA NEURENDÓCRINA



1. Em relação à regulação hormonal da glândula prostática feminina e alterações decorrentes da senescência, foi observado:

- Uma precocidade morfofuncional quando comparada ao macho, possivelmente atrelada aos níveis séricos de estrógeno;

- Uma similaridade estrutural e ultra-estrutural dos compartimentos prostático na idade jovem e adulta provavelmente em função da manutenção dos níveis séricos de estrógeno durante as idades em questão;

- Uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de lesões benignas, pré-malignas e malignas na senescência, vinculado à diminuição dos níveis hormonais;

- Uma semelhança histopatológica com a glândula masculina em relação à intensificação das lesões no decorrer na senilidade;

2. Em relação ao processo de suplementação hormonal realizada com a administração do DHEA exógeno, foi observado:

- Um fenótipo envelhecido caracterizando as células da glândula prostática jovem;

- A estimulação da proliferação celular e conseqüente desenvolvimento de histopatologias a partir da idade jovem em determinados períodos do tratamento;

- A supra-estimulação da atividade secretora a partir da idade jovem com a manutenção desse perfil nos demais períodos do desenvolvimento pós-natal avaliados;

Em relação às distintas populações celulares do compartimento epitelial da glândula, foi observado:

- Uma heterogeneidade das células secretoras epiteliais, até então não identificada na glândula feminina, distinguida pelas variações fenotípicas e propriedades tintoriais mediante os corantes utilizados;

→ De um modo geral, as fêmeas do gerbilo submetidas ou não à terapia hormonal, serviram como um modelo experimental adequado possibilitando a associação dos aspectos morfo-funcionais observados em suas próstatas, durante as diferentes idades do desenvolvimento pós-natal, com a glândula da mulher.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Addiego F, Belzer EG, Comolli J, Moger W, Perry JD and Whipple B, 1981. Female ejaculation: a case study. *J Sex Res*, 17:1-13.
- Allolio B and Arlt W, 2002. DHEA treatment: myth or reality? *Trends in Endocrinol Metab* 13: 288-94.
- Arnold JT and Blackman MR, 2005. Does DHEA exert direct effects on androgen and estrogen receptors, and does it promote or prevent prostate cancer? *Endocrinology*. 146: 4565-7.
- Bovenberg SA, Van Uum SH and Hermus AR, 2005. Dehydroepiandrosterone administration in humans: evidence based? *Neth J Med* 63: 300-4.
- Buvat J, 2003. Androgen therapy with dehydroepiandrosterone. *World J Urol* 21: 346-55.
- Chahal HS and Drake WM, 2007. The endocrine system and ageing. *J Pathol* 211: 173-80.
- Cheal M.L, 1986. The gerbil: A unique model for research on aging. *Exp. Aging Res* 13: 3-21.
- Chen F, Knecht K, Birzin E, Fisher J, Wilkinson H, Mojena M, Moreno CT, Schmidt A, Harada S, Freedman LP and Reszka AA, 2005. Direct agonist/antagonist functions of dehydroepiandrosterone. *Endocrinology* 146: 4568-76.
- Clark MM, Crews D and Galef BG, 1991. Concentrations of sex steroids hormones in pregnant and fetal Mongolian gerbils. *Physiol Behav* 49:239.
- Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS, Mee S, Bigsby, RM, Higgins SJ and Sugimura Y, 1987. The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr Rev* 8: 338-62.
- Cunha GR, Wang YZ, Hayward SW and Risbridger GP, 2001. Estrogenic effects on prostatic differentiation and carcinogenesis. *Reprod Fertil Dev* 13: 285-96.
- Custódio AMG, Góes RM and Taboga SR, 2004. Acid phosphatase activity in gerbil prostate: comparative study in male and female during postnatal development. *Cell Biol Int* 28: 335-44.

- Custódio AMG, Jesus GP, Góes RM and Taboga SR, 2005. The old female prostatic secretor epithelium of the gerbil (*Meriones Unguiculatus*) and its lipofuscinogenesis age-dependent. *Braz J Morphol Sci Suppl* 22:46.
- de Graaf R. 1672. *De mulierum organis generationi inservientibus. Tractatus novus demonstrans tani homines et animália caetera omnia, quac vivípara dicuntur, haud minus quam vivípara ab ovo origenem ducere.* Leyden, 66p.
- Dodson MK, Cliby WA, Pettavel PP, Keeney GL and Podratz KC, 1995. Female urethral adenocarcinoma: evidence for more than one tissue of origin? *Gynecol Oncol* 59: 352-7.
- Genazzani AD, Lanzoni C and Genazzani AR, 2007. Might DHEA be Considered a Beneficial Replacement Therapy in the Elderly? *Drugs Aging*. 24: 173-85.
- Gross SA and Didio LJA, 1987 Comparative morphology of the prostate in adult male and female of *Praomys (mastomys) natalensis* studies with electron microscopy. *J. Submicrosc Cytol* 19: 77-84.
- Gurnel EM and Chatterjee KK, 2001. Dehydroepiandrosterone replacement therapy. *Eur J Endocrinol* 145: 103-6.
- Hayward SW, Baskin LS, Haughney PC, Cunha AR, Foster BA, Dahyra R, Prins GS and Cunha GR, 1996. Epithelial development in the rat ventral prostate, anterior prostate and seminal vesicle. *Acta Anat* 155: 81-93.
- Hines TM, 2001. The G-spot: A modern gynecologic myth. *Am J Obstet Gynecol*, 185: 359-62.
- Kellokumpu-Lehtonen P, 1985. Development of sexual dimorphism in human urogenital sinus complex. *Biol. Neonate* 48: 157-67.
- Kroboth PD, Salek FS, Pittenger AL, Fabian TJ and Frye RF, 1999. DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol* 39: 327-48.
- Labrie F, 2006a. Dehydroepiandrosterone, androgens and the mammary gland. *Gynecol Endocrinol* 22: 118-30.
- Labrie F, Belanger A, Labrie C, Simard J, Cusan L, Gomez JL and Candas B, 1998. DHEA and the intracrine formation of androgens and estrogens in peripheral target tissues: its role during aging. *Steroids* 63: 322-8.

- Labrie F, Luu-The V, Bélanger A, Lin S-X, Simard J, Pelletier G and Labrie C, 2005. Is dehydroepiandrosterone a hormone? *J Endocrinol* 187: 169-96.
- Labrie F, Luu-The V, Labrie C and Simard J, 2001b. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: Intracrinology. *Frontiers in Neuroendocrinology* 22: 185-212.
- Labrie F, Luu-The V, Labrie C and Simard J, 2001a. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: intracrinology. *Front Longcope C*, 1986. Adrenal and gonadal androgen secretion in normal females. *Clin Endocrinol Metab* 15: 213-28.
- Labrie F, Luu-The V, Labrie C, Belanger A, Simard J, Lin SX and Pelletier G, 2003. Endocrine and intracrine sources of androgens in women: inhibition of breast cancer and other roles of androgens and their precursor dehydroepiandrosterone. *Endocr Rev* 24:152-82.
- Labrie F, Luu-The V, Martel C, Chernomoretz A, Calvo E, Morissette J and Labrie C, 2006b. Dehydroepiandrosterone (DHEA) is an anabolic steroid like dihydrotestosterone (DHT), the most potent natural androgen, and tetrahydrogestrinone (THG). *J of Steroid Biochem & Molecular Biology* 100: 52-58.
- Labrie F, Simard J, Luu-The V, Bélanger A and Pelletier G, 1992. Structure, function and tissue-specific gene expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/5-ene-4-ene isomerase enzymes in classical and peripheral intracrine steroidogenic tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 43: 805-26.
- Longcope C, 1986. Adrenal and gonadal androgen secretion in normal females. *Clin Endocrinol Metab* 15: 213-28.
- Lowsley OS, 1912. The development of the human prostate gland with reference to the development of other structures at the neck of the urinary bladder. *Am J Anat* 13: 299-349.
- Marker PC, Donjacour AA, Dahiya R and Cunha GR, 2003. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Dev Biol* 253: 165-74.
- Martel C, Melner MH, Gagné D, Simard J and Labrie F, 1994. Widespread tissue distribution of steroid sulfatase, 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 isomerase

- (3 β -HSD), 17 β -HSD 5 α -reductase and aromatase activities in the rhesus monkey. *Mol Cell Endocrinol* 104: 103-11.
- Martin C, Ross M, Chapman KE, Andrew R, Bollina P, Seckl JR and Habib FK, 2004. CYP7B generates a selective estrogen receptor β agonist in human prostate. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2928-35.
- Milewich L, Shaw CE, Mason JI, Carr BR, Blomquist CH and Thomas JL, 1993. 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in tissues of human fetus determined with 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol and dehydroepiandrosterone as substrates. *J Steroid Biochem Mol Biol* 45 525-37.
- Miller KK, 2001. Androgen deficiency in women. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 2395-401.
- Orentreich N, Brind JL, Rizer RL and Vogelman JH, 1984. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 59: 551-5.
- Palmert MR, Hayden DL, Mansfield MJ, Crigler JF Jr, Crowley WF Jr, Chandler DW and Boepple PA, 2001. The longitudinal study of adrenal maturation during gonadal suppression: evidence that adrenarche is a gradual process. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 4536-42.
- Pegorin de Campos SG, Zanetoni C, Góes RM and Taboga SR, 2006. Biological Behavior of the Gerbil Ventral Prostate in Three Phases of Postnatal Development. *Anat Rec* 288A: 723-33.
- Pelletier G, Dupont E, Simard J, Luu-The V, Bélanger A and Labrie F, 1992. Ontogeny and subcellular localization of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD) in the human and rat adrenal, ovary and testis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 43: 451-67.
- Pieper DR and Lobocki CA, 2000. Characterization of serum dehydroepiandrosterone secretion in golden hamsters. *Proc Soc Exp Biol Med* 224: 278-84.
- Prins G S, 1997. Developmental estrogenization of the prostate gland. In 'Prostate: Basic and Clinical Aspects'. CRC Press: Boca Raton, FL. EUA.
- Prins GS, Woodham C, Lepinske M and Birch L, 1993. Effects of neonatal estrogen exposure on prostatic secretory genes and their correlation with androgen receptor expression in the separate prostate lobes of the adult rat. *Endocrinology* 132, 2387-98.

- Santos FCA and Taboga SR, 2006. Female prostate: a review about the biological repercussions of this gland in humans and rodents. *Anim. Reprod* 3: 3-18.
- Santos FCA, Carvalho HF, Góes RM and Taboga SR, 2003. Structure, histochemistry and ultrastructure of the epithelium and stroma in the gerbil (*Meriones unguiculatus*) female prostate. *Tissue & Cell* 35: 447-57.
- Santos FCA, Leite RP, Custódio AMG, Carvalho KP, Monteiro-Leal LH, Santos AB, Carvalho HF and Taboga SR, 2006. Testosterone stimulates growth and secretory activity of the adult female prostate of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Biol Reprod* 75: 370-79.
- Schmidt S, Franke M, Lehmann J, Loch T, Stöckle M, Weichert-Jacobsen K, 2001. Prostate-specific antigen in female urine: a prospective study involving 217 women. *Urology* 57: 717-720.
- Schubach G, 2002. The G-spot is the female prostate. *Am J Obstet Gynecol* 186: 850.
- Schwentker V, 1963. The Gerbil. A new laboratory animal. *Veterinarian* 6: 5-9.
- Shapiro E, Huang H, McFadden DE, Masch RJ, NG E, Lepor H and Wu XR, 2004. The prostatic utricle is not a Müllerian duct remnant: immunohistochemical evidence for a distinct urogenital sinus origin. *J Urol* 172: 1753-56.
- Shehata R, 1975. Female prostate in *Arvicantihis niloticus* and *Meriones lybicus*. *Acta Anat* 92: 513-23.
- Shehata R, 1980. Female prostate and urethral glands in the home rat, *Rattus norvegicus*. *Acta Anat* 107: 286-88.
- Skene AJC. 1880. The anatomy and pathology of two important glands of the female urethra. *Amer J Obstetr Diss Women Child*, 13:265-270.
- Sloboda J, Zaviačič M, Jakubovský J, Hammar E and Johnsen J, 1998. Metastasizing adenocarcinoma of the female prostate (Skene's paraurethrl galnds). Histological and immunohistochemical prostate markers studies and first ultrastructural observation. *Pathol Res Pract* 194: 129-36.
- Sugimura Y, Cunha GR and Donjacour AA, 1986. Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate. *Biol Reprod* 34: 961-71.

- Taplin ME and Ho SM, 2001. Clinical review 134: The endocrinology of prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3467-77.
- Tepper SL, Jagirdar J, Heath D and Geller SA, 1984. Homology between the female paraurethral (Skene's) glands and the prostate. *Arch Pathol Lab Med* 108: 423-25.
- Thomson AA, 2001. Role of androgens and fibroblast growth factors in prostatic development. *Reproduction* 121: 187-95.
- Thomson AA, Timms BG, Barton L, Cunha GR and Grace OC, 2002. The role of smooth muscle in regulating prostatic induction. *Development* 129: 1905-12.
- Timms BG, Mohs TJ and Didio JA, 1994. Ductal budding and branching patterns in the developing prostate. *J Urol* 151: 1427-32.
- Timms BG, Petersen SL and Vom Saal FS, 1999. Prostate gland growth during development is stimulated in both male and female rat fetuses by intrauterine proximity to female fetuses. *J Urology* 161: 1694-01.
- Untergasser G, Madersbacher S and Berger P, 2005. Benign prostatic hyperplasia: age-related tissue-remodeling. *Exp Gerontol* 40: 121-8.
- Uzoaru I, Akang EE, Aghadiuno PU and Nadimpalli VR, 1992. Benign cystic ovarian teratomas with prostatic tissue: a report of two cases. *Teratology* 45: 235-9.
- Wang Y, Hayward S, Cao M, Thayer K and Cunha G, 2001. Cell differentiation lineage in the prostate. *Differentiation* 68: 270-79.
- Wernet N, Albrecht M, Sesterhenn I, Goebbels R, Bonkhoff H, Seitz G, Inniger R and Remberger K, 1992. The "female prostate": location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. *Eur Urology* 22: 64-9.
- Wernet N, Gerdes J, Loy V, Seitz G, Scherr O and Dhom G, 1988. Investigations of the estrogen (ER-ICA-test) and progesterone receptor in the prostate and prostatic carcinoma on immunohistochemical basis. *Virchows Archiv Pathol* 412: 387-91.
- Zaviačič M and Ablin RJ, 2000. The female prostate and prostate-specific antigen. Immunohistochemical localization, implications of this prostate marker in women and reasons for using the term "prostate" in human female. *Histol Histopathol*, 15: 131-42.
- Zaviačič M, 1993. Update on the female prostate and the phenomenon of female ejaculation. *J Sex Res* 30: 148-51.

- Zaviačič M, 1999. The Female Prostate: From vestigial Skene's parauretral glands and ducts to woman's functional prostate. Slovack Academic Press Bratislava, Slovakia.
- Zaviačič M, Danihel L, Ružičková M, Blažeková J, Itoh Y, Okutani R and Kaway T, 1997. Immunohistochemical localization of human protein 1 in the female prostate (Skene's Gland) and the male prostate. *Histochemistry J* 29: 219-27.
- Zaviačič M, Jakubovská V, Belošovič J and Breza J, 2000a. Ultrastructure of the normal adult human female prostate gland (Skene's gland). *Anat Embriol* 201: 51-61.
- Zaviačič M, Zajíčková M, Blazeková J, Donárová L, Svetoslav S, Miroslav M, Zaviačič T, Holomán K and Breza J, 2000b. Weight, size, macroanatomy, and histology of the normal prostate in the adult human female: a minireview. *J Histotechnol* 23: 61-9.

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal CEEA-IB-UNICAMP

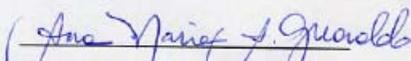
CERTIFICADO

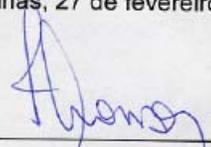
Certificamos que o Protocolo nº 1213-1, sobre "Efeito da reposição hormonal pelo precursor esteróide deidroepiandrosterona (DHEA) sobre a próstata feminina do gerbilo da Mangólia", sob a responsabilidade de Profa. Dra. Valéria Helena Alves Cagnon Quitete / Ana Maria Galvan Custódio, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em 27 de fevereiro de 2007.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 1213-1, entitled "Effects of hormonal replacement with steroidal precursor Dehydroepiandrosterone (DHEA) on the Mongolian gerbil female prostate", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on February 27, 2007.

Campinas, 27 de fevereiro de 2007.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva

CEEA/IB – Unicamp
Caixa Postal 6109
13083-970 Campinas, SP – Brasil

Telefone: (19) 3521-6359
Telefax: (19) 3521-6356
E-mail: comisib@unicamp.br
<http://www.ib.unicamp.br/institucional/ceea/index.htm>

DECLARAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o conteúdo de minha dissertação/tese de mestrado/doutorado intitulada **“Regulação hormonal da próstata feminina do gerbilo da Mongólia: alterações decorrentes da senescência e mediante a suplementação:**

() não se enquadra no Artigo 1º, § 3º da Informação CCPG 002/06, referente a bioética e biossegurança.

() está inserido no Projeto CIBio (Protocolo nº _____), intitulado _____

(x) tem autorização da Comissão de Ética em Experimentação Animal (Protocolo nº 1213-1).

() tem autorização do Comitê de Ética para Pesquisa com Seres Humanos (?) (Protocolo nº _____).

Aluno(a)

Orientador(a)

Para uso da Comissão ou Comitê pertinente:

(X) Deferido () Indeferido

Nome: _____
Função: Profª. Dra. ANAMARIA A. GOARALDO
Presidente
Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEAI/IB - UNICAMP