

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



Fernanda Cristina Alcantara dos Santos

CARACTERIZAÇÃO MORFO-FUNCIONAL DA PRÓSTATA DE FÊMEAS DO GERBILO *Meriones unguiculatus* E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA TESTOSTERONA SOBRE OS COMPONENTES TECIDUAIS DO ÓRGÃO

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

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

A large, stylized handwritten signature in black ink.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA T. ... (P. ...)	50592
V	EX
TOMBO BC/	53030
PROC.	16-124103
C <input type="checkbox"/>	D <input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	08/09/03
Nº CPD	

CM00181388-7

BIB 12 812319

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

Sa59c

Santos, Fernanda Cristina Alcantara dos

Caracterização morfo-funcional da próstata de fêmeas do gerbilo *Meriones unguiculatus* e avaliação dos efeitos da testosterona sobre os componentes teciduais do órgão/Fernanda Cristina Alcantara dos Santos. --
Campinas, SP:[s.n.], 2002

Orientador: Sebastião Roberto Taboga

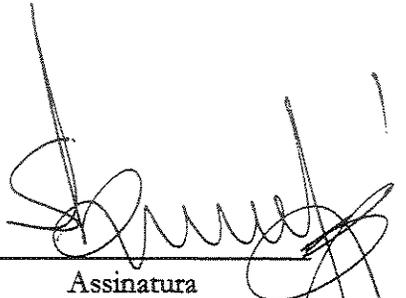
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia

1. Próstata. 2. Testosterona. 3. Estereologia. I. Taboga, Sebastião Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Data de Defesa:

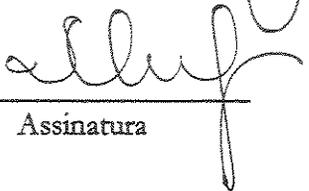
BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga (Orientador)



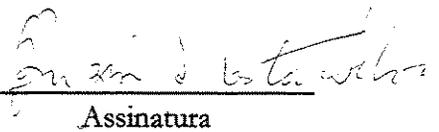
Assinatura

Prof. Dr. Hernandes Faustino de Carvalho



Assinatura

Prof. Dra. Adelina Buzini da Costa-Silva



Assinatura

Prof. Dra. Iara Maria Silva De Luca

Assinatura

20/04/2020

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga, pela indispensável orientação, incentivo e amizade.

À Profa. Dra. Adelina Buzini da Costa-Silva que é, em minha vida, o fiel exemplo do bem-educar.

À Profa. Adriana Barbosa dos Santos por ter colaborado com a análise estatística da tese.

À Profa. Rejane Maira Góes pela atenção e auxílio durante o preparo desta tese.

Aos professores Dr. Hernandes Faustino de Carvalho, Dra. Adelina Buzini da Costa-Silva e Dra. Iara Maria Silva De Luca pela colaboração na análise prévia desta tese.

Aos docentes do Departamento de Biologia Celular que contribuíram para o aperfeiçoamento dos meus conhecimentos.

Aos meus companheiros de laboratório Cristiani, Daniela, Flávia, Renato, Sérgio, Silvana e Welerson, que me apoiaram e ajudaram durante todo o desenvolver deste trabalho.

Às amigas Ana Maria e Lara, por todo carinho, dedicação e compreensão.

Aos amigos Silvia e Sérgio, que foram os primeiros a incentivar e contribuir para a realização dos meus ideais.

Aos amigos Patrícia, Adilson, Edi Nelson e Jonas pelo incentivo e companheirismo.

Aos amigos da CVX: Cristiani Gomes, Cristiane Tomazeli, Fabiana, Gilmara, Miliani e Rose, pelo carinho, orações e indispensável amizade.

À CAPES pela bolsa de estudos concedida.

Em especial, agradeço

Aos meus pais, Alcina e Sérgio, por todo amor, carinho e dedicação, em todos os momentos de minha vida.

Aos meus irmãos Aline e Alexandre por todo o amor.

Ao meu amor Wendel Cássio por me fazer feliz e por ser a inspiração dos meus dias.

A Deus que me ama e me dá a vida.

Dedico:

À memória do meu querido tio Nivaldo
Alcantara que, apesar de distante, foi para
mim como um carinhoso e amável pai.

... só se vê bem com o coração. O essencial
é invisível aos olhos.

Saint Exupéry

Sumário

Resumo	09
Abstract	11
Introdução	13
1. Desenvolvimento embrionário do aparelho reprodutor	13
2. Considerações sobre a próstata	16
3. Aspectos gerais da glândula prostática feminina	17
4. Função dos andrógenos no sistema reprodutor feminino	20
Objetivo	23
Artigos	24
1. Caracterização estrutural, citoquímica e ultra-estrutural dos compartimentos epitelial e estromal na próstata de fêmeas do gerbilo (<i>Meriones unguiculatus</i>)	25
2. Efeitos da administração experimental de testosterona sobre os componentes teciduais em próstatas de fêmeas do gerbilo (<i>Meriones unguiculatus</i>)	54
Conclusões gerais	87
Referências bibliográficas	89

A próstata não é um órgão exclusivo do organismo masculino, pois está presente em fêmeas adultas de várias espécies de roedores e também na espécie humana. A próstata feminina tem sido considerada homóloga à próstata ventral masculina, sendo composta por um pequeno conjunto de glândulas e ductos entremeados a uma matriz músculo-fibrosa. Atualmente, sabe-se que é de fundamental importância que se compreendam melhor os processos fisiológicos que mantêm esta glândula funcionalmente ativa no organismo feminino, uma vez que ela está sujeita as mesmas patologias que comprometem a próstata masculina durante o climatério. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi caracterizar histológica, citoquímica e ultra-estruturalmente os componentes teciduais da próstata feminina do gerbilo *Meriones unguiculatus* adulto normal e experimentalmente tratado com testosterona, por um intervalo de 21 dias. Para isso, as próstatas coletadas foram fixadas e incluídas para microscopia de luz e eletrônica de transmissão. Testes citoquímicos foram desenvolvidos para evidenciar fibras colágenas (Tricrômico de Masson, Picrossírius-Hematoxilina), reticulares (Reticulina de Gömöri) e elásticas (Resorcina-Fucsina de Weigert); secreções glicoprotéicas (Periodic Acid & Schiff); e fenótipos nucleares prostáticos (Reação de Feulgen). Também foram desenvolvidas colorações usuais para a análise morfológica geral da glândula. A análise morfométrico-estereológica das próstatas femininas normais e tratadas foi realizada para avaliar estatisticamente as alterações sofridas pela glândula após a administração hormonal. Os resultados indicam que a próstata feminina normal do gerbilo é morfologicamente semelhante à próstata feminina humana, apresentando os mesmos tipos celulares e o mesmo padrão estrutural característico, o que lhe permite ser um bom modelo experimental para os estudos da próstata. Além disso, as próstatas tratadas com testosterona apresentaram um grande

desenvolvimento nas primeiras fases de administração hormonal, chegando até a quadruplicar seu número inicial de ácinos e ductos. As células epiteliais apresentaram-se mais altas e volumosas, tornando-se mais ativas nos processos secretórios. O estroma tomou-se mais denso, apesar de não ter apresentado alterações significativas em sua frequência relativa. No entanto, ao final do tratamento observou-se um sucessivo declínio no desenvolvimento prostático. As próstatas tratadas com testosterona por 21 dias apresentaram um número de ácinos e ductos próximo ao apresentado pela próstata normal e um epitélio secretor menos desenvolvido. Esses resultados sugerem que a testosterona exerceu um efeito positivo inicial sobre a próstata feminina do gerbilo, tornando-se menos eficaz nas fases finais do tratamento. Deste modo, acredita-se que a exposição contínua à testosterona possa ter provocado a ativação de fatores endógenos de regulação, capazes de inibir parte do estímulo androgênico sobre a próstata feminina nas fases finais da administração hormonal.

The prostate is not an exclusive male organism, because it is also present in adults females of several rodents species and even in women. The female prostate has been considered homologous to the male ventral prostate, it is composed by small clusters of glands and ducts intermixed to a musculofibrous matrix. It is known nowadays the fundamental importance of the better understanding of the physiological process that maintain this gland functionally active in the female organism, once that it suffers the same diseases that compromises the male prostate during the climacteric. By this way, the goal of this study was to characterize histologically, cytochemically and ultrastructurally the tissues components of normal and experimentally treated with testosterone female prostate of gerbil *Meriones unguiculatus*, during 21 days. In order to do this work, the collected prostates were fixed and embedded for light microscopy and transmission electron microscopy. Cytochemical tests were employed to evidence collagen fibers (Masson's Trichrome, Picrosirius Hematoxylin), reticular fibers (Gömöri's Reticulin) and elastic system (Weigert's Resorcin Fuchsin); glycoprotein secretory products (Periodic Acid & Schiff); prostatic nuclear and mitotic phenotypes (Feulgen's Reaction). It has also been done usual staining to general morphological analysis of the prostate. The morphometric stereological analysis of the normal and treated female prostate was realized to value statistically the alteration suffered by the glands after hormonal administration. The results show that the normal female prostate of the gerbil is morphologically similar to the male prostate, they have the same cell types and the same characteristics structural pattern, what allows it is a good experimental model to studies of the prostate. In addition, the treated prostates with testosterone show a great development during the first phases of the hormonal administration, increasing four times the initial number of acini and

ducts. The epithelial cells show themselves high and voluminous, becoming more active in the secretion processes. The stroma has become thicker in spite of it has not been demonstrated significant modification in its relative frequency. Meanwhile, at the end of the treatment it has been observed a successive decrease in the prostatic development. The prostates treated with testosterone during 21 days have shown a similar number of acini and ducts to normal prostate and secretory epithelium less developed. These results suggest that testosterone has produced an initial positive effect in the gerbil female prostate, becoming less efficient in the last phases of the treatment. By this way, it is supposed that the continued exposition to testosterone could have provoked the activation of endogenous factors, that are able to inhibit part of androgenic stimuli upon the female prostates at the last phases of the hormonal administration.

1. Desenvolvimento embrionário do aparelho reprodutor

O desenvolvimento do sistema genital constitui uma fase da diferenciação sexual global de um indivíduo. A determinação sexual tem início durante a fertilização, quando um cromossomo Y ou um cromossomo X adicional junta-se ao cromossomo X já existente no óvulo. Esta fase representa a determinação genética do sexo. Em seres humanos, embora o sexo genético do embrião seja fixado na fertilização, o sexo fenotípico macroscópico só se manifesta na sétima semana de desenvolvimento. No início, o sistema genital dos dois sexos é semelhante, sendo chamado de estágio indiferenciado do desenvolvimento sexual.

Os estágios iniciais do desenvolvimento das gônadas ocorrem durante a quinta semana, quando se forma uma área espessada do mesotélio do lado medial do mesonefro. A proliferação desse epitélio e do mesênquima subjacente produz uma saliência do lado medial do mesonefro – a crista genital. Cordões epiteliais digitiformes – os cordões sexuais primitivos – penetram rapidamente no mesênquima subjacente. A gônada indiferenciada é constituída, então, por um córtex externo e por uma medula interna. Nos embriões com o complexo cromossômico XX, o córtex da gônada indiferenciada se diferencia em um ovário e a medula regride. Em embriões que possuem complexo cromossômico XY, a medula se diferencia no testículo e o córtex regride, exceto alguns resquícios vestigiais.

As células sexuais primitivas, grandes e esféricas, aparecem no início da quarta semana, entre as células endodérmicas do saco vitelino, próximo à origem do alantóide. Depois, elas migram ao longo do mesentério dorsal do intestino posterior até as cristas genitais. Durante a

sexta semana, as células germinativas primitivas penetram no mesênquima subjacente e são incorporadas aos cordões sexuais primários.

Embriões com um cromossomo Y em seu complemento cromossômico sexual geralmente formam testículos, processo induzido por uma seqüência coordenada de genes. O gene SRY, que está situado no braço curto do cromossomo Y, age como elemento chave que dirige o desenvolvimento de uma gônada indiferenciada até um testículo (Moore, 2002). A ação deste gene induz os cordões sexuais primitivos a se condensarem e penetrarem na medula da gônada indiferenciada, onde eles se ramificam e se anastomosam, formando a rede testicular. A ligação dos cordões sexuais – os cordões seminíferos – com o epitélio da superfície é perdida com a formação de uma cápsula fibrosa espessa, a túnica albugínea. Gradualmente, o testículo em crescimento se separa do mesonefro em degeneração e fica suspenso por seu próprio mesentério, o mesorquídio. Os cordões seminíferos tornam-se túbulos seminíferos, túbulos retos e rede testicular.

No interior dos cordões seminíferos, as células germinativas sexuais primordiais diferenciam-se em espermatogônias, os precursores dos espermatozóides. As demais células destes cordões tornam-se células de sustentação (de Sertoli). Do mesênquima situado entre os túbulos seminíferos diferenciam-se grupos de células intersticiais (de Leydig). Por volta da oitava semana, as células de Leydig começam a secretar hormônios androgênicos – testosterona e androstenediona, que induzem a diferenciação masculina dos ductos mesonéfricos e da genitália externa (Moore, 1990). A produção de testosterona é estimulada pela gonadotrofina coriônica humana (hCG), que chega a um nível máximo entre a 8.^a e a 12.^a semana. As células de Sertoli dos testículos são responsáveis pela produção de uma glicoproteína denominada hormônio

antimülleriano (AMH), ou substância inibidora de Müller (MIS), que inibe o desenvolvimento dos ductos paramesonéfricos.

A testosterona estimula os ductos mesonéfricos a formarem as seguintes estruturas genitais masculinas: ductos eferentes, epidídimo, ducto deferente, vesícula seminal e o ducto ejaculador.

A testosterona também induz a formação da próstata e das glândulas bulbouretrais. Múltiplas evaginações endodérmicas surgem da parte prostática da uretra e penetram no mesênquima que a circunda. O epitélio glandular da próstata se diferencia destas células endodérmicas, e o mesênquima associado se diferencia no denso estroma.

Nos embriões com ovários, os ductos mesonéfricos regridem por causa da ausência de testosterona, e os ductos paramesonéfricos se desenvolvem devido à ausência do MIS, formando a maior parte do trato genital feminino. Desta forma, várias estruturas originárias dos ductos mesonéfricos e do seio urugenal passam a existir nas fêmeas como estruturas resquiciais. Uma delas, é a glândula parauretral (de Skene), que corresponde à próstata do macho. Sua origem se dá pelo crescimento de brotos da uretra, que penetram no mesênquima circundante, formando um epitélio glandular.

Em fêmeas de mamíferos pós-púberes a funcionalidade deste tecido é mantida pela secreção de uma diminuta quantidade de testosterona pela glândula adrenal e pelos ovários (cerca de 5% do total de hormônios produzidos pelo organismo). Em mulheres adultas esta glândula possui cerca de 1/6 a 1/4 do tamanho da próstata ventral masculina e produz uma secreção com função e composição ainda pouco conhecida.

2. Considerações sobre a próstata

Todos os mamíferos machos adultos possuem pelo menos um par de glândulas acessórias ao seu trato reprodutor. Estas glândulas são nomeadas de acordo com a sua estrutura, posicionamento anatômico e função nos indivíduos, sendo a próstata e a vesícula seminal as mais estudadas para estudos comparados de filogenia nos mamíferos (Price, 1963).

A próstata é uma glândula túbulo-alveolar, com atividade secretora ligada principalmente à sua porção alveolar. Entretanto, os ductos também podem secretar alguns componentes para o conteúdo final da secreção prostática (Reese *et al.*, 1986). Entremendo as porções glandulares existe um estroma conjuntivo ricamente vascularizado, composto por fibras (Carvalho *et al.*, 1996) e células musculares lisas que têm papel contrátil durante a ejaculação (Ross *et al.*, 1993). Neste tecido estromal também estão presentes nervos e terminações nervosas. Envolvendo este órgão tem-se uma cápsula fibromuscular, que confere diferentes formas ao órgão nos diversos mamíferos já estudados.

Os componentes glandulares, de natureza epitelial, e os não glandulares, de natureza estromal, assumem características comuns nos diferentes animais, independentemente do aspecto macroscópico da glândula. (Price, 1963 e Karr *et al.*, 1995).

Segundo Price (1963), a próstata é composta por um par de lobos ventrais posicionados no istmo da bexiga e por um grupo dorsolateral de ácinos e ductos. Em ratos, as glândulas coaguladoras (próstata anterior) e as vesículas seminais circundam dorsolateralmente a uretra na base da bexiga, formando um anexo anatômico separado.

Sabe-se que muitas alterações histológicas ocorrem na próstata, em resposta as descompensações hormonais comuns ao envelhecimento (Rosai, 1996).

No homem, as principais alterações estão relacionadas a patologias benignas que levam à retenção urinária, como as conhecidas hiperplasias prostáticas (Droller, 1997), e a lesões malignas com pré-disposição genética, como os adenocarcinomas (Hayward et al., 1997).

Na região parauretral do aparelho reprodutor feminino existe um conjunto glandular que foi denominado inicialmente de glândulas de Skene. Estas glândulas eram tidas como resquícios embriológicos do complexo prostático, e, durante muito tempo, foram negligenciadas. Entretanto, os trabalhos de Zaviacic e colaboradores (1997a,b; 2000a) demonstram a grande importância morfo-funcional desta glândula, propondo a utilização da terminologia “próstata feminina” para este complexo glandular, devido à alta semelhança morfo-funcional deste órgão com a próstata masculina. Estas afirmativas têm amparo histológico, ultra-estrutural (Zaviacic *et al.*, 2000b) e imunohistoquímico (Tepper *et al.*, 1984; Zaviacic & Ablin, 2000).

3. Aspectos gerais da glândula prostática feminina

Em seres humanos, estudos recentes descreveram a anatomia básica e a estrutura histológica da próstata feminina. Em concordância com as descobertas na próstata masculina, estudos enzimáticos para fosfatase ácida (PAP) e estudos imunocitoquímicos para o antígeno específico da próstata (PSA) demonstraram a existência de marcadores prostáticos na glândula prostática feminina (Pollen & Dreilinger, 1984).

A próstata feminina humana (glândula parauretral de Skene e seus ductos) possui uma localização parauretral, sendo composta das mesmas partes que constituem a próstata do macho: glândulas, ductos e musculatura lisa (Figura 1). Os ductos prostáticos são revestidos por um epitélio colunar pseudoestratificado. As glândulas prostáticas são tubuloalveolares e revestidas por

células cúbicas ou cilíndricas, moderadamente altas. Ambas as glândulas e ductos estão embutidas em um tecido muscular fibroso e vascularizado, proveniente da mucosa estromal da uretra (Zaviacic et al., 2000b).

A análise ultra-estrutural da próstata feminina humana revelou a existência de três tipos celulares distintos: as células secretoras, basais e intermediárias (Zaviacic et al., 2000b).

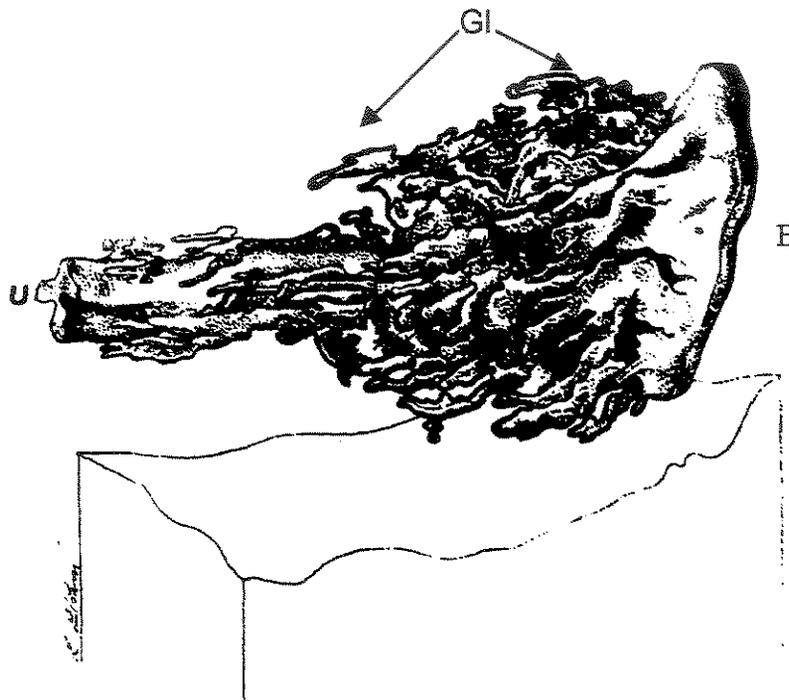


Figura 1. Esquema representativo da glândula prostática feminina humana, segundo os trabalhos de Zaviacic (1999). Observe o conjunto de glândulas (Gl) associado à uretra (u) nas proximidades da base da vesícula urinária (B).

As células predominantes da glândula prostática feminina humana são as células secretoras cilíndricas, com microvilosidades curtas e com protuberâncias do citoplasma apical. Abundantes

vesículas secretoras e grânulos, retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi desenvolvido e numerosas mitocôndrias são características de sua atividade secretora apócrina e merócrina (Zaviacic et al., 2000b). No processo de secreção apócrina, o produto de secreção é liberado junto a uma pequena parte do citoplasma apical, e, na secreção merócrina, o produto de secreção é eliminado sozinho, sem partes do citoplasma (Junqueira & Carneiro, 1999).

As células basais da próstata feminina humana estão localizadas entre as células secretoras e a membrana basal. Seu citoplasma é denso, com muito retículo endoplasmático rugoso e mitocôndrias. Seu núcleo possui muita cromatina periférica condensada, fina cromatina espalhada e nucléolo esporádico (Zaviacic et al., 2000b).

As células intermediárias estão localizadas entre as células basais e as secretoras. Seu citoplasma exibe um vasto retículo endoplasmático rugoso e ribossomos livres. Vesículas secretoras e grânulos estão praticamente ausentes nas células intermediárias.

As primeiras descrições da próstata em fêmeas de gerbilo se deram em 1975. No entanto, as espécies estudadas foram *Meriones libicus* e *Arvichantis niloticus* (Shehata, 1975). Em 1980, esse mesmo autor descreve a presença de próstata e outras glândulas parauretrais na espécie *Rattus norvegicus*, conhecidos como ratos albinos de laboratório. Porém, esses dados morfológicos são muito incompletos, pois não se estabelece uma descrição ultra-estrutural e histoquímica, abordando apenas uma descrição histológica dada pela técnica da hematoxilina-eosina (Shehata, 1980).

Outros estudos com a próstata feminina envolveram a espécie *Praomys natalensis*, onde foram estabelecidas comparações morfológicas e ultra-estruturais entre as próstatas dos machos e fêmeas desta espécie (Gross & Didio, 1987).

Os estudos envolvendo a próstata feminina têm despertado especial interesse para as ciências biológica e médica, devido ao fato deste órgão ser alvo do desenvolvimento de sérias lesões, principalmente no período pós-menopausa (Uzoaru *et al.*, 1992; Dodson *et al.*, 1995). Entretanto, os estudos com material humano são muito limitados, devido à dificuldade de obtenção de material. Assim, torna-se importante que sejam estabelecidos padrões comparativos com outros animais, para que se possa extrapolar os dados para a espécie humana.

Assim sendo, parte-se do princípio de que os gerbilos, por apresentarem uma maior facilidade no manuseio e manutenção, e por serem tão utilizados em outras áreas da medicina e da biologia, possam também ser de extrema valia para os estudos da próstata. A semelhança anatômica da próstata destes animais com a humana pode facilitar sobremaneira a interpretação e possibilitar a extrapolação dos resultados. O estudo da próstata de fêmeas do gerbilo pode levar ao entendimento das relações hormonais que ocorrem nos processos secretórios prostáticos, uma vez que acredita-se que ela deva sofrer ações hormonais importantes para se manter funcionalmente ativa na fêmea adulta.

4. Função dos andrógenos no sistema reprodutor feminino

Nas fêmeas, assim como nos machos, os andrógenos são produzidos pelas gônadas e pela adrenal (Staub & Beer, 1997).

A glândula adrenal secreta primariamente os precursores androgênicos, como por exemplo, o sulfato de diidroepiandrosterona (DHEA-S), a diidroepiandrosterona (DHEA) e a androstenediona, que são convertidos pelos tecidos periféricos em suas formas fisiologicamente ativas.

Os andrógenos secretados pelos ovários são a androstenediona, a DHEA e a testosterona. Comparados à glândula adrenal, os ovários produzem aproximadamente 25% do total de testosterona circulante no organismo de fêmeas em idade reprodutiva.

Com a conversão dos precursores androgênicos em testosterona, a produção diária total desse hormônio em fêmeas humanas adultas pode chegar a 0,35mg. Isso demonstra que os níveis de testosterona circulante no organismo feminino são muito inferiores aos apresentados pelo organismo masculino, que são de aproximadamente 7mg/dia.

No organismo feminino, a testosterona é metabolizada em 5 α -diidrotestosterona pela enzima 5 α -redutase ou em estradiol, pelo complexo aromatase. Em mulheres de peso normal, aproximadamente 1,3% da produção diária de testosterona é convertida em estrógeno, pela aromatase, no tecido adiposo. Entretanto, este valor pode variar muito conforme o peso corpóreo apresentado pelo indivíduo, sendo que em mulheres obesas cerca de 7% da produção diária de testosterona é convertida em estrógeno (Staub & Beer, 1997).

Receptores para testosterona têm sido identificados nos ovários, ovidutos e no útero de diversas espécies de vertebrados.

Nos ovários, os andrógenos inibem o crescimento folicular, o que pode promover a redução no peso do ovário e a atrofia do folículo, processos estes que são revertidos com a diminuição dos níveis séricos de testosterona.

Os andrógenos também podem causar a hipertrofia do útero e dos ovidutos. Em ratos, a testosterona é capaz de aumentar o tamanho, o peso e o crescimento do miométrio.

Estudos imunohistoquímicos demonstram que os receptores para andrógenos também estão presentes na próstata feminina humana, podendo estar relacionados com a manutenção da estrutura deste órgão no organismo feminino (Wernet, 1992). No entanto, comparada à próstata

masculina, que mantém-se funcionalmente ativa e morfologicamente desenvolvida devido aos altos níveis de testosterona, a feminina apresenta-se menos desenvolvida, pois o organismo feminino produz apenas 5% do total de testosterona que é produzida diariamente pelo organismo masculino (Ghanadian et al., 1977).

Desta forma, esses dados sugerem que os andrógenos desempenhem um papel significativo na regulação e desenvolvimento do sistema reprodutor feminino (Staub & Beer, 1997). Em acréscimo a isso, salienta-se que poucos dados citológicos, citoquímicos e até morfométricos têm sido abordados na literatura a respeito dos efeitos da cascata hormonal, principalmente androgênica, sobre o sistema reprodutor feminino, em especial à próstata.

O presente estudo teve por objetivo caracterizar morfológica, histoquímica e ultra-estruturalmente a próstata das fêmeas do gerbilo *Meriones unguiculatus* (Muridae, Gerbilinae), com principal ênfase aos compartimentos epitelial e estromal, em fêmeas adultas normais e sob a ação da testosterona experimentalmente administrada. A partir dos dados estruturais qualitativos e quantitativos, procurou-se interpretar os efeitos exercidos pelos andrógenos sobre a próstata feminina, bem como inferir as possíveis interações epitélio/estromais que promovem a atividade e manutenção homeostática da próstata feminina no organismo adulto.

Artigo 1: CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, CITOQUÍMICA E ULTRA-ESTRUTURAL DOS COMPARTIMENTOS EPITELIAL E ESTROMAL NA PRÓSTATA DE FÊMEAS DO GERBILO (*Meriones unguiculatus*).

O artigo será vertido para a língua inglesa e submetido à revista *Cell and Tissue Research*.

Artigo 2: EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO EXPERIMENTAL DE TESTOSTERONA SOBRE OS COMPONENTES TECIDUAIS EM PRÓSTATAS DE FÊMEAS DO GERBILO (*Meriones unguiculatus*).

O artigo será vertido para a língua inglesa e submetido à revista *The prostate*.

**CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, CITOQUÍMICA E ULTRA-ESTRUTURAL
DOS COMPARTIMENTOS EPITELIAL E ESTROMAL NA PRÓSTATA DE
FÊMEAS DO GERBILO (*Meriones unguiculatus*)**

Fernanda Cristina Alcântara dos Santos¹

Rejane Maira Góes²

Sebastião Roberto Taboga^{2*}

¹Departamento de Biologia Celular – IB – UNICAMP, Campinas, SP – Caixa Postal 6109 - CEP 13084-971.

²Departamento de Biologia – IBILCE – UNESP, São José do Rio Preto, SP – CEP 15054-000.

Título Resumido: Morfologia da próstata feminina do gerbilo

Palavras-chave: próstata feminina; citoquímica, ultra-estrutura, gerbilo, interação epitélio-estroma

***Endereço para Correspondência**

Departamento de Biologia - Rua Cristóvão Colombo, 2265 – Jardim Nazareth – São José do Rio Preto, SP – CEP 15054-000

Resumo

A próstata feminina é uma glândula que tem sido considerada homóloga à próstata ventral masculina e que tem despertado um grande interesse científico por ser alvo das mesmas patologias que comprometem a próstata masculina durante o climatério. O objetivo deste trabalho foi caracterizar estrutural, citoquímica e ultra-estruturalmente a próstata feminina adulta normal do gerbilo *Meriones unguiculatus*, como proposta de introdução de um novo modelo experimental para os estudos da próstata feminina. A análise morfológica do material demonstrou que a próstata feminina do gerbilo é constituída por um conjunto de glândulas e ductos que se inserem num estroma músculo-fibroso. O epitélio glandular é diferenciado e composto por células basais, intermediárias e secretoras. As células secretoras são as predominantes e secretam continuamente um produto de caráter glicoprotéico. As células basais são fonte de células secretoras e responsáveis pela renovação do epitélio glandular. O estroma prostático é muito abundante e rico em fibras, células e vasos sanguíneos. As fibras mais freqüentes são as colágenas e as elásticas, que se associam de diversas formas às células musculares lisas e aos fibroblastos. Desta forma, esses resultados demonstram que a próstata feminina do gerbilo é morfológicamente semelhante à humana, e que apesar de pouco desenvolvida, ela é uma glândula madura e fisiologicamente ativa.

Introdução

Os primeiros relatos da existência de glândulas parauretrais femininas humanas, semelhantes à próstata masculina, se deram por volta da década de 50 (Huffman, 1948, 1951; McCrea, 1952).

Sheata (1975, 1980), utilizando técnicas histológicas, descreveu a presença da glândula prostática em fêmeas adultas de várias espécies de roedores. No entanto, ele classificou a glândula como resquicial, sem nenhuma função aparente.

Gross & Didio (1987), fazendo um estudo ultra-estrutural comparativo entre a próstata feminina e a masculina do roedor *Praomys natalensis*, verificaram uma grande homologia entre estes órgãos. Seus resultados demonstraram que a próstata feminina é equivalente à próstata ventral do macho e que suas células epiteliais apresentam um fenótipo característico de células funcionalmente ativas.

Estudos histoquímicos-enzimáticos para fosfatase ácida (PAP) e estudos imunohistoquímicos para o antígeno específico da próstata (PSA) demonstraram que esses marcadores prostáticos estão presentes na glândula prostática feminina humana (Wernet et al., 1992; Tepper et al., 1984; Zaviacic et al., 1997a e 1997b).

A análise ultra-estrutural da próstata feminina humana adulta (Sloboda et al., 1998; Zaviacic et al., 2000b) revela que o epitélio do órgão é formado principalmente por células secretoras e por células basais, características que indicam que o órgão é funcionalmente maduro. Na próstata masculina, as células tumorais evoluem de células secretoras semelhantes às encontradas na próstata feminina. Desta forma, torna-se importante conhecer a morfologia e a fisiologia destas células, uma vez que a glândula prostática feminina é acometida das mesmas patologias que comprometem a próstata masculina (Sloboda et al., 1998; Zaviacic & Ablin, 2000).

Apesar dos vários estudos que envolvem a próstata feminina, pouco tem sido relatado sobre o estroma prostático. O bom entendimento dos processos de interação epitélio-estroma na glândula é de fundamental importância, visto que é o estroma quem medeia as reações apresentadas pelo epitélio (Nemeth & Lee, 1996) e que muitos sinais oncogênicos podem ser precocemente apresentados por células estromais (Tlsty, 2001).

O presente estudo tem por objetivo fazer uma análise estrutural, citoquímica e ultra-estrutural da próstata feminina adulta do gerbilo *Meriones unguiculatus*, dando ênfase aos compartimentos epitelial e estromal da glândula.

Material e Métodos

Neste estudo foram utilizadas dez fêmeas adultas do gerbilo *Meriones unguiculatus*, com três meses de idade, as quais foram mantidas em biotério sob condições controladas de luminosidade e temperatura média de 25°C, com fornecimento de água filtrada e ração “*ad libitum*”. A uretra inteira contendo o tecido prostático associado foi removida do organismo do animal, após anestesia por inalação de éter. Para microscopia de luz, os órgãos removidos foram imediatamente fixados por imersão em líquido de Bouin, ou em Karnovsky (solução de paraformol 5% e glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato Sörensen), durante 24 horas. Em seguida, os tecidos foram desidratados em etanol, clarificados em xilol, incluídos em paraplast (Histosec, Merck) ou historesina (Leica historesin embedding kit) e seccionados a 3µm em micrótomo rotativo automático (Leica). Para o estudo morfológico geral da glândula, os cortes histológicos foram corados pela técnica da hematoxilina-eosina (Behmer et al., 1976). Da mesma forma, a distribuição das fibras colágenas no estroma foi revelada pelas técnicas do picrossírius-

hematoxilina (Junqueira et al, 1979) e do tricrômico de Masson (Behmer et al, 1976). As fibras reticulares puderam ser observadas por meio da coloração pela reticulina de Gömöri (Behmer et al, 1976), enquanto as fibras elásticas foram coradas pela resorcina-fucsina de Weigert (modificado de Goldfisher et al, 1983). Finalmente, para a localização de secreções de caráter glicoprotéico utilizou-se a técnica de coloração pelo ácido periódico & Schiff – P.A.S. (Behmer et al, 1976). A análise e documentação fotográfica foram realizadas em fotomicroscópio óptico de luz convencional (Zeiss-Jenaval).

Para estudos em microscopia eletrônica de transmissão, os fragmentos de tecido com tamanho aproximado de 0,5mm foram fixados durante 24 horas pelo glutaraldeído 3% em tampão Millonig, pH 7,3, acrescido de ácido tânico 0,25%. Em seguida, eles foram lavados em tampão, pós-fixados em solução de tetróxido de ósmio 1% por 1 hora, desidratados em acetona e incluídos em araldite, segundo Cotta-Pereira (1976). Os cortes ultra-finos obtidos em ultramicrotomo LKB foram contrastados pelo acetato de uranila 2% por 12 minutos (Watson, 1958) e pelo citrato de chumbo 2% em solução de hidróxido de sódio por 10 minutos (Venable e Coggeshaal, 1965). A análise ultra-estrutural foi realizada em microscópio eletrônico de transmissão (Zeiss EM 910).

Resultados

A próstata feminina possui uma localização parauretral, estando em íntimo contato com a parede da uretra, nas suas porções mediana e distal. Histologicamente, ela possui os mesmos constituintes da próstata masculina: ácinos e ductos que se inserem numa matriz músculo-fibrosa (Fig. 1).

Os ductos, que são revestidos por um epitélio cúbico simples, possuem um calibre menor que os ácinos e localizam-se mais próximos à uretra, formando aglomerados que se inserem na musculatura uretral (Fig. 1). Embora seja comum utilizar o termo “ácino” para designar as unidades secretoras prostáticas, em fêmeas do gerbilo estas unidades são constituídas por estruturas alveolares ou túbulo-alveolares, e revestidas por um epitélio simples cúbico ou cilíndrico alto. Estes ácinos estão localizados em posições mais distais da uretra e podem variar muito em forma e tamanho (Fig. 1).

Tipos Celulares do epitélio secretor

A análise histológica do epitélio secretor evidenciou a presença de dois tipos celulares distintos: as células secretoras cilíndricas predominantes e as células basais menores e menos freqüentes, as quais são restritas ao compartimento basal do epitélio, não alcançando o lúmen da glândula (Fig. 2). Além disso, as células secretoras podem ser diferenciadas, com relação ao modo de eliminação da secreção, em apócrinas e merócrinas (Fig. 2). Por sua vez, o exame dos cortes histológicos corados pela técnica da hematoxilina-eosina indicou a existência de dois subtipos de células secretoras merócrinas: as merócrinas típicas, mais numerosas e intensamente coradas, e as merócrinas claras, que são raras e que apresentam citoplasma e núcleo pouco corados.

Através da análise ultra-estrutural da próstata feminina, uma outra forma celular pode ser identificada. Estas células foram aqui denominadas de intermediárias por geralmente localizarem-se entre as células basais e as secretoras, não atingindo o lúmen glandular (Figs. 8 e 10).

Células secretoras

As células secretoras estão em contato com o lúmen da glândula e possuem uma forma que pode variar de cúbica a cilíndrica alta. Elas podem ser subdivididas em dois tipos principais, de acordo com o modo de liberação de sua secreção: as células de liberação merócrina e as de liberação apócrina, com formação de protuberâncias do citoplasma apical – “blebs” (Figs. 8 e 9). Os “blebs” apicais podem conter uma grande quantidade de fragmentos granulares, retículo endoplasmático rugoso (RER) e estruturas parecidas com lisossomos (Fig. 9).

Diversas junções de membrana, tais como desmossomos, junções de oclusão (*tight junction*) e de adesão (Fig. 13) são encontradas unindo células vizinhas.

A região apical e supranuclear das células secretoras contém uma grande quantidade de vesículas secretoras que apresentam populações polimórficas quanto ao seu tamanho, conteúdo e densidade. Nestas regiões são notados também raros e pequenos grânulos secretores medianamente densos e envolvidos por membrana simples. Variações na quantidade, densidade e tamanho das vesículas secretoras podem conferir uma aparência característica às células secretoras merócrinas. Células merócrinas claras são repletas de vesículas secretoras de baixa densidade e de diversos tamanhos, sendo vistas com um aspecto pouco denso, enquanto que células merócrinas típicas possuem poucas e pequenas vesículas secretoras inseridas em um citoplasma denso, de aparência escura (Fig. 13).

O complexo de Golgi situa-se na região supranuclear da célula secretora e é formado por um conjunto de sáculos membranosos que se distribuem paralelamente (Fig. 9). Em células de secreção apócrina o RER é muito abundante e se distribui por todo o citoplasma, principalmente nas regiões apical e basal da célula. Nas células de secreção merócrina o RER está ausente nas

porções supranuclear e apical do citoplasma celular. Em ambos os tipos celulares o RER se apresenta como um sistema de elementos tubulares longos e consideravelmente alargados que se interconectam.

As células secretoras possuem inúmeros ribossomos associados à membrana externa do retículo endoplasmático, além de ribossomos livres situados em sua região perinuclear (Fig. 12). Diversas mitocôndrias cilíndricas e ligeiramente alongadas se distribuem por todo o citoplasma. Elas exibem uma matriz medianamente densa e com poucas cristas (Figs. 9, 12 e 13).

O núcleo das células secretoras é ovalado e possui uma superfície regular. Em seu interior há pouca cromatina periférica condensada e muita cromatina de média densidade dispersa. Um ou poucos nucléolos podem ser observados (Figs. 8 e 9).

As células posicionadas entre as células secretoras e as basais – as intermediárias –, podem ser caracterizadas por um citoplasma denso e uniforme, apresentando poucos grânulos e vesículas secretoras nas regiões apical e supranuclear. O RER da célula intermediária é menos desenvolvido do que o da célula secretora, e pode ser visto na região supranuclear. Várias mitocôndrias de forma arredondada são observadas principalmente nas regiões para e supranuclear da célula intermediária. O complexo de Golgi é pouco desenvolvido e situa-se próximo ao núcleo. O núcleo das células intermediárias é semelhante ao das células secretoras, diferindo apenas na quantidade de cromatina condensada periférica, que parece ser maior (Fig. 10).

Células Basais

As células basais (Figs. 8 e 11) são menores do que as secretoras e se apóiam sobre a membrana basal, a qual se ligam por intermédio de hemidesmossomos. O citoplasma das células

basais exibe poucas organelas, exceto RER e mitocôndrias, que são abundantes. As mitocôndrias podem ser encontradas dispersas por todo o citoplasma, enquanto que o RER é visto com maior frequência nos espaços perinucleares. Vesículas secretoras e grânulos estão ausentes neste tipo celular. O núcleo das células basais é menor do que o das células secretoras. Ele contém uma considerável quantidade de cromatina periférica condensada e uma vasta cromatina dispersa. Os nucléolos são poucos ou ausentes (Fig. 11).

Compartimento estromal

Os ácinos e ductos prostáticos estão embebidos em um tecido músculo-fibroso altamente vascularizado (Fig. 1). Uma grande quantidade de fibras musculares lisas é encontrada envolvendo os ácinos (Figs. 2 e 4), enquanto fibras musculares estriadas esqueléticas espessas podem ser observadas em regiões mais profundas do estroma (Fig. 5) ou na base do epitélio (Fig. 7).

É importante ressaltar que no estroma da próstata feminina também puderam ser identificadas células do sistema imune (macrófagos, mastócitos e leucócitos), além de terminações nervosas, estruturas estas comuns nos estromas glandulares.

Pela análise ultra-estrutural do estroma prostático nota-se que as células musculares lisas se dispõem ordenadamente na base do epitélio. Elas possuem um aspecto fusiforme característico e seu núcleo apresenta uma superfície irregular, caracterizada pela presença de dobras ou pregueações (Figs. 14 e 20). No núcleo uma vasta quantidade de cromatina densa se encontra dispersa, enquanto pouca cromatina condensada pode ser observada em contato com o envoltório nuclear. As organelas predominantes são as mitocôndrias e o complexo de Golgi, que é bem desenvolvido. Pilhas paralelas de cisternas alongadas e achatadas do Golgi podem ser

observadas, junto ao seu amplo sistema vesicular, na região perinuclear do citoplasma das células musculares (Fig. 20). O RER também está presente nos espaços perinucleares, mas é pouco numeroso.

Outro tipo celular comumente encontrado no estroma da próstata feminina é o fibroblasto, que é uma célula alongada, capaz de emitir vários prolongamentos citoplasmáticos irregulares. Seu citoplasma é rico em organelas como RER, complexo de Golgi e mitocôndrias. Nas regiões mais periféricas do fibroblasto existem várias vesículas de secreção, sendo que muitas delas são vistas estabelecendo contatos com a membrana celular, e liberando seu conteúdo para o exterior. O núcleo do fibroblasto é grande e irregular, apresentando uma cromatina fina e um nucléolo evidente (Fig. 15).

Com relação aos elementos fibrosos, são encontrados os principais representantes, ou seja, fibras colágenas, reticulares e elásticas. No entanto, estas fibras apresentam distribuição e frequência bem distintas.

As fibras colágenas são os elementos mais abundantes e algumas vezes se depositam ao redor da glândula prostática, formando uma delicada cápsula envolvente (Fig. 3). Elas são encontradas em grande quantidade na base do epitélio e ao redor dos vasos sanguíneos (Figs. 8 e 11), sempre em íntima associação com as fibras musculares lisas e estriadas esqueléticas (Figs. 4 e 5). As fibras colágenas são finas e tortuosas e se arranjam paralelamente em feixes que se dispõem de diversas formas e direções (Figs. 14, 15, 19 e 20).

A coloração pela reticulina de Gömöri permitiu localizar, na base do epitélio glandular, fibras reticulares de aspecto delicado e trajeto sinuoso. Estas fibras são menos numerosas do que as fibras colágenas e estão intimamente relacionadas com as fibras musculares lisas (Fig. 6).

As fibras elásticas são muito finas e encontram-se espaçadamente distribuídas por todo o estroma, principalmente ao redor dos ductos e dos vasos sanguíneos. Elas estabelecem um grande contato com as fibras musculares lisas (Fig. 7), e ao nível ultra-estrutural também são observadas em íntima associação com a membrana plasmática dos fibroblastos (Fig. 19). Em muitos casos estas fibras são vistas no interior de cavidades formadas por prolongamentos de fibroblastos (Figs. 15, 16 e 17). As fibras do sistema elástico mais abundantes no estroma prostático são as elaunínicas, que são constituídas por uma substância amorfa central, a elastina, e por uma rede periférica de finíssimas microfibrilas que se irradiam pelo estroma (Figs. 18 e 19).

A avaliação estrutural e ultra-estrutural da próstata feminina nos permitiu a confecção de uma ilustração esquemática da ultra-estrutura dos componentes da glândula, que pode ser observada na figura 21.

Discussão

A estrutura e a ultra-estrutura da próstata feminina do gerbilo adulto foi analisada em comparação com a próstata masculina do gerbilo e de outros roedores (Gross e Didio, 1987; Carvalho et al., 1997; Zanetoni, 2002), e com a próstata feminina humana, que já foi suficientemente descrita por várias pesquisas (Tepper et al., 1984; Wernet et al., 1988; Sloboda et al., 1998; Zaviacic et al., 1985, 1999, 2000a, 2000b).

A estrutura básica dos ácinos e a localização das células basais e secretoras do epitélio prostático feminino deste animal estão em conformidade com o padrão estrutural apresentado pela glândula prostática feminina humana.

As células secretoras são as células predominantes do epitélio prostático feminino do gerbilo. Seu citoplasma é constituído de diversas organelas que estão envolvidas no processo de síntese e secreção de substâncias, tais como retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi e mitocôndrias, além de uma grande quantidade de vesículas e grânulos de secreção. A presença desses elementos secretórios indica que estas células estão sujeitas a uma intensa atividade secretora dentro da próstata feminina.

Assim como a próstata feminina humana (Zaviacic et al., 2000b), a próstata feminina do gerbilo apresenta dois tipos de células secretoras: as apócrinas, que liberam sua secreção no lúmen da glândula através da formação de blebs apicais, e as merócrinas, cujas vesículas secretoras liberam seu conteúdo através da fusão com a membrana plasmática luminal. No entanto, na próstata feminina do gerbilo podem ser identificados dois tipos de células merócrinas: as merócrinas principais ou escuras e as merócrinas claras, o que não foi descrito na próstata feminina humana. As células merócrinas escuras são facilmente encontradas e caracterizadas por apresentar, à microscopia de luz, um citoplasma denso que se cora intensamente pela eosina. As células claras são mais raras e apresentam um citoplasma característico, que se cora fracamente pela eosina. Os diferentes padrões de coloração apresentados por essas células certamente se devem às diferentes capacidades metabólicas, uma vez que as células claras possuem uma maior quantidade de vesículas secretoras do que as escuras.

As células basais da próstata feminina do gerbilo são muito semelhantes às basais da próstata masculina (Gross & Didio, 1987; Zanetoni, 2002), principalmente com relação à sua localização e aparência do citoplasma. Nas células basais da próstata feminina do gerbilo, assim como na próstata humana, não encontram-se vesículas secretoras. A ausência destas vesículas é a mais importante diferença que pode ser observada entre as células basais e as secretoras.

A organização estrutural ordenada e as características ultra-estruturais das células secretoras e basais da próstata feminina do gerbilo sugerem que as células basais sejam as responsáveis pela renovação celular do epitélio prostático. Xue et al. (1998) e Zaviacic et al. (2000b) descreveram as células basais como células fonte capazes de originar células secretoras através de células intermediárias, que são formas celulares histologicamente posicionadas entre as células basais e as secretoras.

Embora Zaviacic et al. (2000b) tenha feito a distinção entre as células intermediárias e as secretoras da próstata feminina humana, torna-se questionável a existência deste fenótipo celular na próstata feminina do gerbilo, uma vez que as características ultra-estruturais destas células muitas vezes demonstram que elas são originadas pelo posicionamento dos planos de corte das células secretoras prostáticas.

O estroma prostático é muito vascularizado e rico em fibras, principalmente as colágenas e as elásticas. Assim como ocorre na próstata masculina de ratos (Carvalho et al., 1997), na próstata feminina do gerbilo as fibras colágenas são encontradas em associação com a membrana basal, com as células musculares lisas e fibroblastos, e com os demais componentes fibrilares do estroma. A abundância de fibras colágenas pode estar relacionada com a ausência de uma cápsula envolvente nestas glândulas, uma vez que estas fibras são as responsáveis pela manutenção da integridade estrutural do órgão.

As fibras elásticas são mais escassas e concentram-se nas proximidades dos ductos e das células musculares lisas. É provável que estas fibras proporcionem uma maior deformabilidade ao tecido, que é necessária durante a contração das células musculares lisas, para a expulsão do líquido prostático feminino.

A análise ultra-estrutural das fibras do sistema elástico demonstra que elas estão em íntimo contato com a membrana plasmática dos fibroblastos e das células musculares lisas. Muitas vezes essas fibras são observadas dentro de cavidades formadas pelos fibroblastos, o que sugere que este tipo celular seja o responsável pela síntese das fibras do sistema elástico no estroma da glândula prostática feminina. Este fenótipo sintético apresentado pelos fibroblastos e pelas células musculares lisas também é observado em próstatas de ratos após a castração, como demonstrado por Zhao et al. (1992). Desta forma, os baixos níveis de testosterona presentes na próstata feminina podem influenciar o comportamento e distribuição das fibras do sistema elástico.

A análise estrutural da próstata feminina do gerbilo revela a presença de fibras musculares estriadas esqueléticas (Taboga e Santos, 2000), o que não ocorre na próstata masculina de roedores (Gross & Didio, 1987; Zanetoni, 2002). Estas fibras provêm da musculatura envolvente da uretra e podem estar relacionadas com a sustentação do órgão em sua posição parauretral. Ultra-estruturalmente, as fibras musculares estriadas esqueléticas não puderam ser observadas, pois se posicionam em regiões mais externas da glândula, que provavelmente não foram amostradas durante a coleta para o processamento do material.

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que, da mesma forma que a próstata feminina humana, a próstata feminina do gerbilo equivale à próstata ventral do macho pós-púbere, apresentando um epitélio glandular maduro e diferenciado, composto principalmente de células basais e secretoras, com alta atividade sintética. Desta forma, este estudo entra em desacordo com o trabalho de Wernet e colaboradores (1992), que afirmaram que a próstata feminina humana adulta se assemelha à próstata do macho pré-púbere, permanecendo rudimentar e imatura durante toda a vida do indivíduo.

A próstata feminina pode ser considerada pouco desenvolvida, o que não pode ser associado com a não-funcionalidade ou imaturidade. A presença de um epitélio diferenciado e de células secretoras com alta atividade sintética é a mais forte evidência da sua maturidade e funcionalidade.

O baixo desenvolvimento da glândula está relacionado com os baixos níveis de testosterona circulantes no organismo feminino (Gross & Didio, 1987). Através de estudos de dosagem hormonal intraprostática, Ghanadian et al. (1977) demonstrou que a próstata feminina necessita das mesmas concentrações de testosterona requeridas pela próstata masculina para se desenvolver. Contudo, o organismo feminino produz apenas 5% do total de testosterona que é produzido diariamente pelo organismo masculino (Staub e Beer, 1997). Desta forma, a escassez de andrógenos torna-se um fator limitante para o desenvolvimento da próstata feminina.

Com o atual aumento significativo na expectativa de vida das mulheres, torna-se de fundamental importância conhecer melhor os processos fisiológicos que envolvem a manutenção da próstata feminina no organismo adulto, uma vez que este órgão está sujeito às mesmas patologias que comprometem a próstata masculina durante o climatério. Dentre as patologias que ocorrem na próstata feminina, as mais relatadas são as prostatites, hiperplasias benignas e carcinomas (Sloboda et al., 1998; Zaviacic et al., 2000b).

Desta forma, a próstata feminina do gerbilo adulto se presta como um excelente modelo experimental, pois apresenta uma grande semelhança estrutural e fisiológica à próstata feminina humana. Além disso, ela é um órgão compacto e de melhor acesso do que a próstata feminina humana que, devido aos aspectos éticos da doação de órgãos, é dificilmente obtida a partir de necropsias de mulheres que vieram a óbito após apresentarem morte cerebral.

Agradecimentos

Parte deste trabalho teve auxílio financeiro da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Proc. nº 00/11648-1), e bolsa CAPES para FCAS.

Referências Bibliográficas

- BEHMER, O. A; TOLOSA, E.M.C. & NETO, A.G.F. 1976. **Manual de práticas para histologia normal e patológica**. EDART-EDUSP, SP.329p.
- CARVALHO, H.F.; TABOGA, S.R.; VILAMAIOR, P.S.L. 1997. Collagen type VI is a component of the extracellular matrix microfibril network of the prostatic stroma. **Tissue and Cell 29**: 163-170.
- 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.
- GHANADIAN, R.; LEWIS, J.G. and CHISHOLM, G.D. 1977. Androgen concentration in prostate and serum of the female and female *Praomys* (*Mastomys*) *Natalensis*. **Invest Urol 15**: 212-214.
- GOLDFICHER S, COLTOFF-SCHILLER B, SCHWARTZ E, BLUMENFELD OO, 1983. Ultrastructure and staining properties of aortic microfibrils (oxytalan). **J Histochem Cytochem 31**: 382-390.
- GROSS, S.A. & DIDIO, L.J.A. 1987 Comparative morphology of the prostate in adult male and female of *Praomys* (*mastomys*) *natalensis* studies with electron microscopy. **J. Submicrosc. Cytol., 19 (1)**: 77-84.

- HUFFMAN, J.W. 1948. The detailed anatomy of the paraurethral ducts in the adult human female. **Am J Obstet Gynecol** 55: 86-101.
- HUFFMAN, J.W. 1951. Clinical significance of the paraurethral ducts and glands. **Arch Surg** 62: 615-626.
- 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.
- McCREA, L.E. 1952. Malignancy of the female urethra. **Urol Surv** 2: 85-149.
- NEMETH, J.A. & LEE, C. 1996. Prostatic ductal system in rats: regional variation in stromal organization. **Prostate**, 28: 124-128.
- SHEHATA, R. 1975. Female prostate in *Arvicantibis niloticus* and *Meriones lybicus*. **Acta Anat.**, 92: 513-523.
- SHEHATA, R. 1980. Female prostate and urethral glands in the home rat, *Rattus norvegicus*. **Acta Anat.**, 107: 286-288.
- SLOBODA, J.; ZAVIACICI, M.; 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
- STAUB, N.L. and BEER, M.D. 1997. The role of androgens in female vertebrates. **Gen. Compar. Endocrinology**, 108: 1-24.
- TABOGA, S.R. & SANTOS, F.C.A. 2000. Structural and ultrastructural characterization of the prostate in the female gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Anais do SIMEC 2000**, Angra dos Reis, Sessão P4, p.42.

- TEPPER, S.L.; JAGIRDAR,J.; HEATH, D.; GELLER, S.A. 1984. Homology between the female paraurethral (Skene's) glands and the prostate. **Arch Pathol Lab Med**, **108(5)**: 423-425.
- TLSTY, T.D. 2001. Stromal cells can contribute oncogenic signals. **Cancer Biology** **11**: 97-104.
- VENABLE JH, COGGESHALL R, 1965. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. **J Cell Biol** **25**: 407-408.
- WATSON ML, 1958. Staining tissue sections of electron microscopy with heavy metals. **J Biophys Biochem Cytol** **4**: 475-478.
- WERNET, N.; GERDES, J.; LOY,V.; SEITZ, G.; SCHERR, O.; 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**: 387-391.
- WERNET, N.; ALBRECHT, M.; SESTERHENN, I. 1992. The "female prostate": location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. **Eur Urology** **22**,64-69.
- XUE, Y.; SMEDTS, F.; VERHOFSTAD, A.; DEBRUYNE, F. 1998. Cell Kinetics of prostate exocrine and neuroendocrine epithelium and their differential interrelationship: new perspectives. **Prostate Suppl** **8**: 62-73.
- ZANETONI, C. 2002. **Alterações na próstata relacionadas com o envelhecimento do esquilo da Mongólia (*Meriones unguiculatus*): Aspectos estruturais, histoquímicos e ultra-estruturais**. Tese de Mestrado, Unicamp, Campinas, SP. 61p.
- ZAVIACIC, M.; ZAVIACICOVÁ, A.; BROZMAN, I.K.; BRUCHAC, D.; OBERUCOVÁ, J.; KOKAVEC, M. 1985. The female prostate or Skene's glands and ducts? (Reasons for return to the Graaf's original term. **Cesk Gynecol**, **50(5)**:372-377.

- ZAVIACIC, M.; DANIHEL, L.; RUZICKOVÁ, J.; ITOH, Y.; OKUTANI, R.; KAWAI, T. 1997a. Immunohistochemical localization of human protein 1 in the female prostate (Skene's Gland) and the male prostate. **Histochem J**, **29(3)**: 219-227.
- ZAVIACIC, M., RUZICKOVÁ, J.;BLAZEKOVÁ, T.; ZAVIACIC, T.; ITOH, Y.; OKUTANI, R.; KAWAI, T. 1997b. Immunohistochemical distribution of rabbit polyclonal antiurinary protein 1 antibody in the female (Skene's) and male prostate: new marker for neuroendocrine cells? **Acta Histochem**, **99(3)**: 267-275.
- ZAVIACIC, M. 1999. **The Female Prostate: From vestigial Skene's parauretral glands and ducts to Woman's functional Prostate**. Slovak Academic Press, Bratislava, Slovakia, 171p.
- ZAVIACIC, M.; ABLIN, R.J. 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(1)**:131-142.
- ZAVIACIC, M.; ZAJICHOVÁ, M.; BLAZEKOVÁ, J., DONÁROVÁ, L. 2000a. Weight, size, macroanatomy, and histology of the normal prostate in the adult human female: a minireview. **Journal of Histotechnology**, **23(1)**: 61-69.
- ZAVIACIC, M.; JAKUBOVSKÁ, V.; BREZA, J. 2000b. Ultrastructure of the normal adult human female prostate gland (Skene's gland). **Anat Embriol (Berl)** **201(1)**: 51-61.
- ZHAO, G.Q.; HOLTERHUS, P.M.; DAMMSHÄUSER, I.; HOFFBAUER, G.; AUMÜLLER, G. 1992. Estrogen-induced morphological and immunohistochemical changes in stroma and epithelium of rat ventral prostate. **Prostate** **21**: 183-199.

Legendas das Figuras

Figuras 1 e 2: Fig. 1 - Visão geral da próstata feminina do gerbilo *Meriones unguiculatus*, mostrando a disposição das glândulas (g) e ductos (d) ao redor da uretra (u). Observe que os ductos estão inseridos na musculatura que envolve a uretra. Coloração: hematoxilina-eosina (HE). Aumento: 110x. Fig. 2 - Detalhe do epitélio prostático (ep), evidenciando os tipos celulares que o compõem: células de secreção apócrina (setas) e merócrina (m), e células basais (seta grossa). Células secretoras merócrinas claras (c), com núcleos grandes e claros, podem ser vistas ao lado de células merócrinas escuras. Coloração: HE. Aumento 860x.

Figuras 3 – 7: Fig. 3 - Distribuição das fibras colágenas (setas) entre os ácinos prostáticos (g) e ao redor da glândula. Uretra (u). Coloração: picrossírius-hematoxilina. Aumento: 270x. Fig. 4 - Disposição das fibras colágenas (co) associadas às fibras musculares lisas (fml) na base do epitélio (ep). Coloração: picrossírius-hematoxilina. Aumento: 725x. Fig. 5 - Associação das fibras colágenas (co) às fibras musculares estriadas esqueléticas (fme) na base do epitélio (ep). Coloração: tricrômico de Masson. Aumento: 580x. Fig. 6 - Distribuição das finas e sinuosas fibras reticulares (setas) que delimitam e contornam as fibras musculares lisas na base do epitélio (ep). Coloração: reticulina de Gömöri. Aumento: 725x. Fig. 7 - Detalhe das escassas fibras elásticas no estroma glandular (e). Fibras musculares estriadas esqueléticas (fme) são vistas na base do epitélio. Coloração: resorcina-fucsina Weigert. Aumento: 725x.

Figuras 8 – 11: Fig. 8 – Ultra-estrutura do epitélio prostático, onde podem ser observados os principais tipos celulares da glândula prostática feminina. Em contato com o lúmen estão as

células secretoras apócrina (1) e merócrina (2). As células intermediárias (3) estão localizadas entre as células secretoras e as basais. As células basais (4) estão em contato com a lâmina basal (LB). Aumento: 3000x. Fig. 9 - Detalhe das células secretoras mostrando as principais diferenças entre células apócrinas (A) e merócrinas (M). Células apócrinas possuem abundante retículo endoplasmático rugoso (RE) nas regiões supranuclear e apical, além de várias mitocôndrias (MT), vesículas (VS) e grânulos secretores. O Complexo de Golgi é formado por sáculos membranosos de organização paralela (CG). Observe na célula de secreção apócrina a presença de um “bleb” apical (seta) e do núcleo (N) com nucléolo (NU) evidente. Células merócrinas diferem das apócrinas por não exibirem retículo endoplasmático rugoso nas regiões apical e supranuclear e por não formarem protuberâncias apicais do tipo “blebs”. Aumento: 8400x. Fig. 10 - Células de posição intermediária (I) da próstata feminina com citoplasma denso e regular. Na região supranuclear são observadas vesículas secretoras (VS), RER (RE) pouco desenvolvido e mitocôndrias (MT). O ápice celular não toca o lúmen da glândula. Núcleo (N), colágeno (CO), lúmen (LU). Aumento: 3900x. Fig. 11 - Corte sagital da célula basal. As células basais são menores do que as secretoras e possuem um citoplasma pobre em organelas, exceto RER (RE) e mitocôndrias (MT), que são abundantes. Vesículas e grânulos secretores estão ausentes. Observe a grande quantidade de poros nucleares (setas) no envoltório nuclear. Aumento: 11600x.

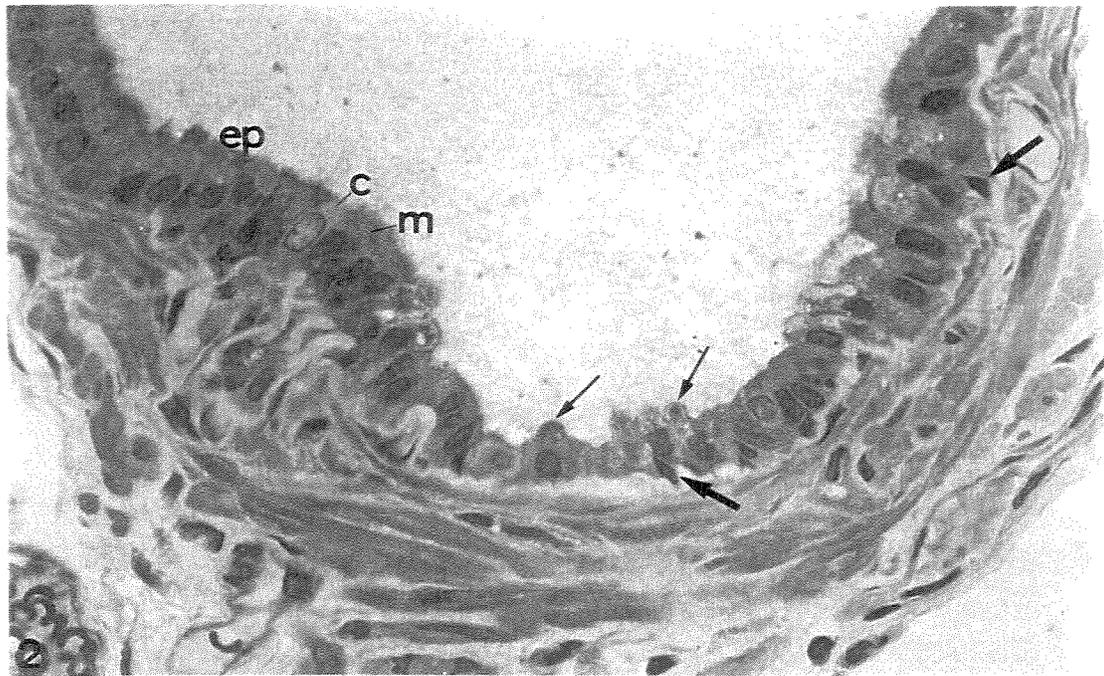
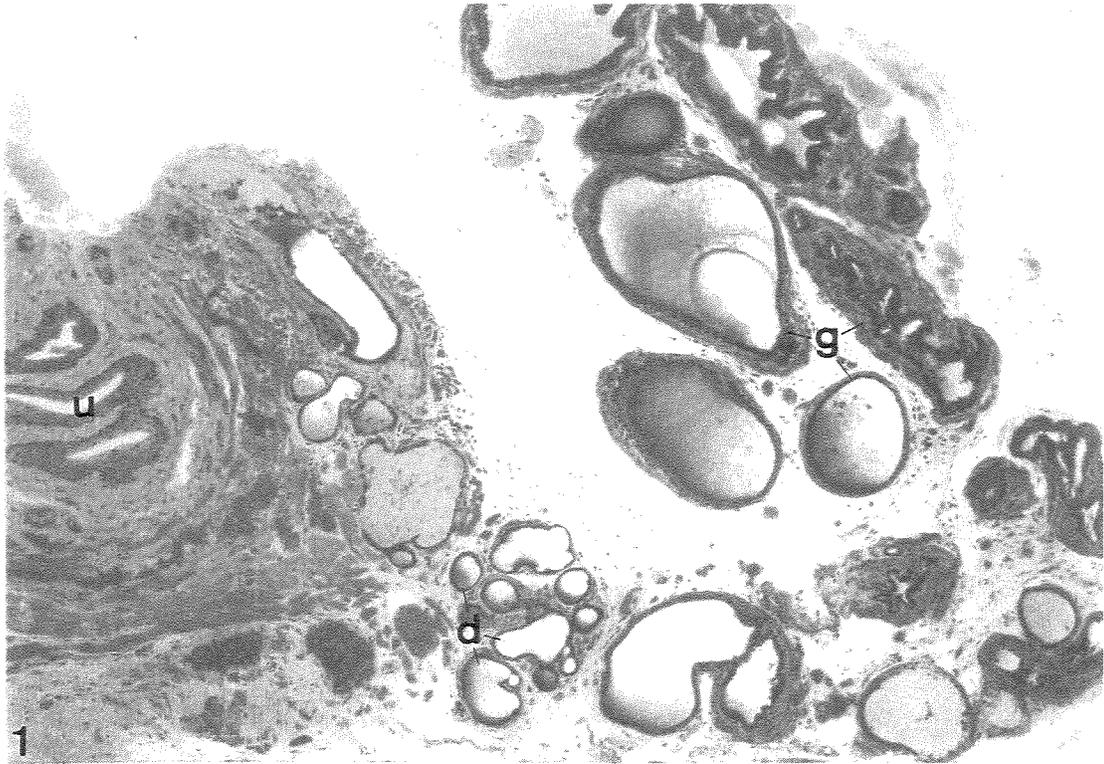
Figuras 12 e 13: Fig. 12 - Citoplasma basal de células secretoras com uma grande quantidade de RER (RE) e mitocôndrias ovais (MT). O núcleo (N) possui uma delicada cromatina dispersa e uma escassa e densa cromatina condensada (setas). Interdigitações (cabeça seta) são vistas no limite entre duas células vizinhas. Aumento: 11600x. Fig. 13 - Visão detalhada de parte do citoplasma de duas células fenotipicamente distintas: as células secretoras merócrinas principais ou

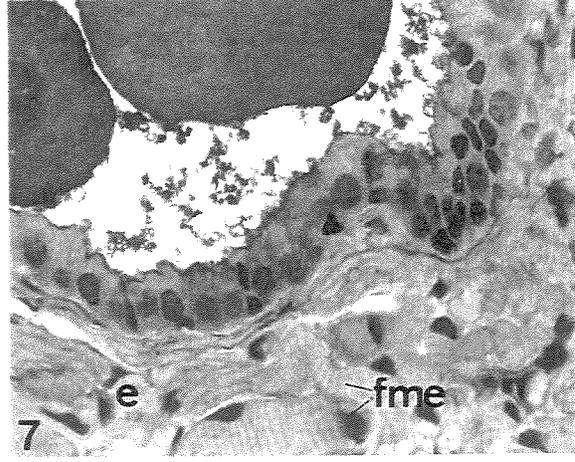
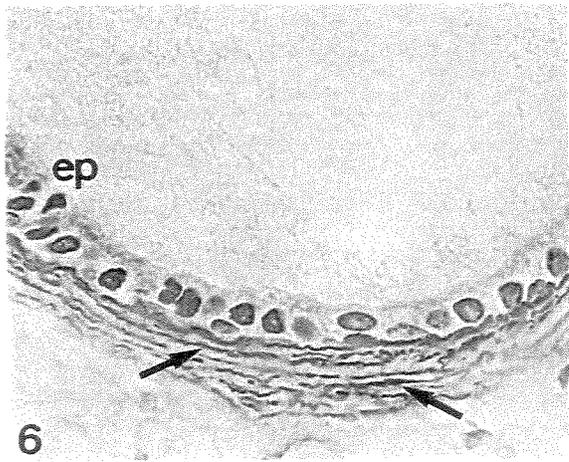
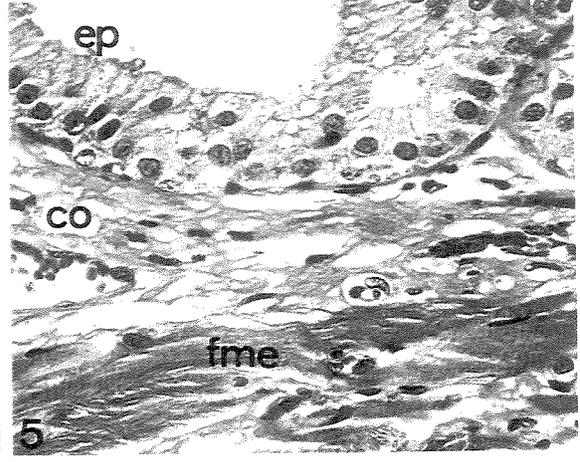
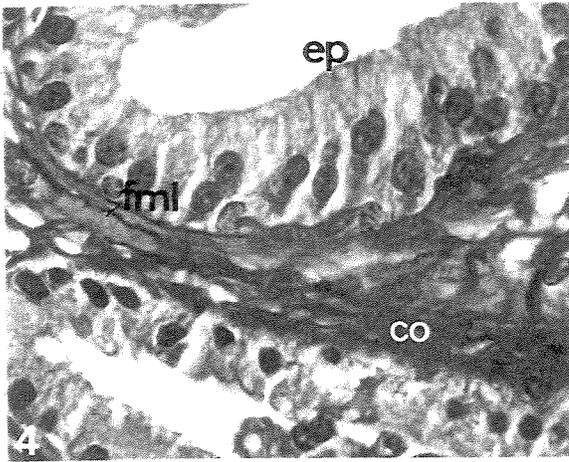
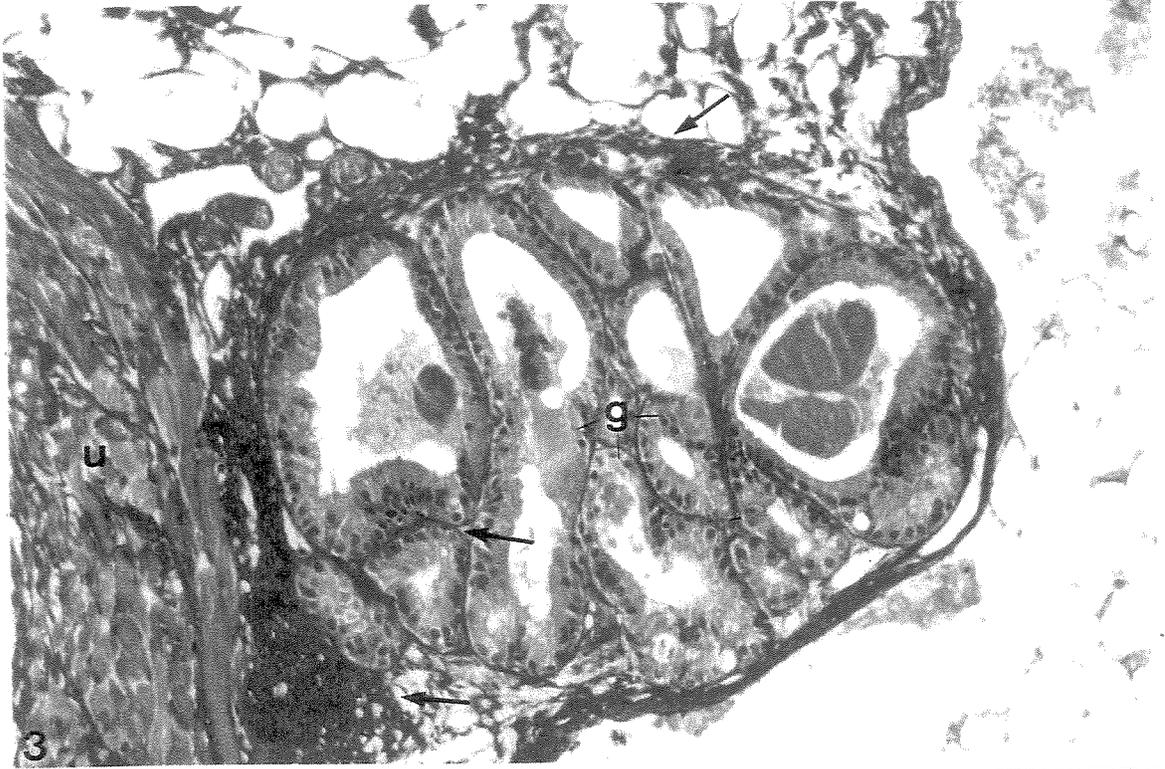
escuras (M) e as células merócrinas claras (MC). As células claras são menos numerosas e possuem um citoplasma repleto de vesículas secretoras (VS), de diversas densidades e tamanhos. As mitocôndrias (MT) são abundantes, ovais e com poucas cristas. Pilhas de Golgi (CG) bem desenvolvidas são encontradas entre as vesículas secretoras. Células merócrinas principais possuem um citoplasma mais uniforme, com poucas vesículas secretoras e Complexo de Golgi menos desenvolvido. As mitocôndrias são muito numerosas e idênticas às das células claras. Junções aderentes podem ser vistas unindo estes tipos celulares (setas). Aumento: 25000x.

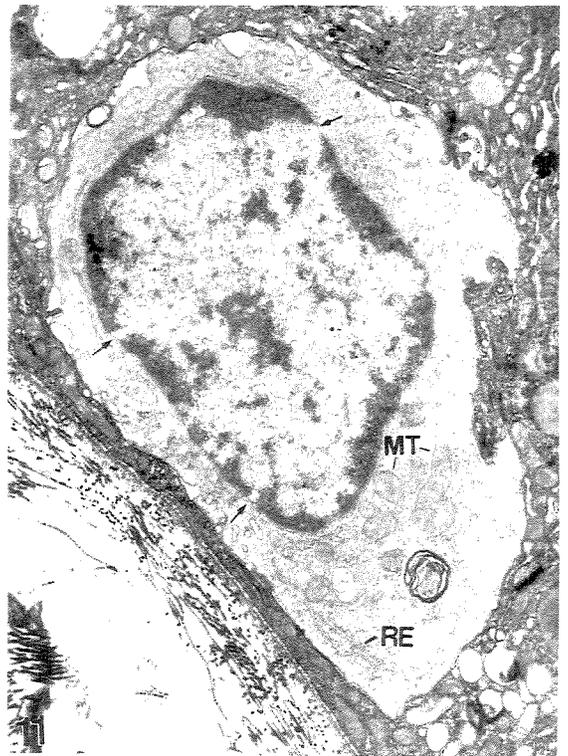
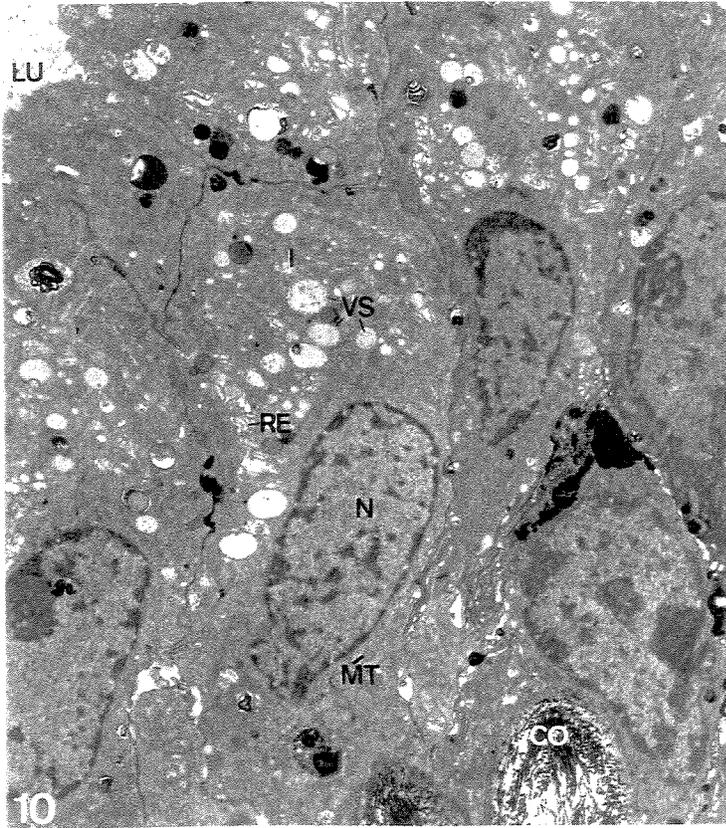
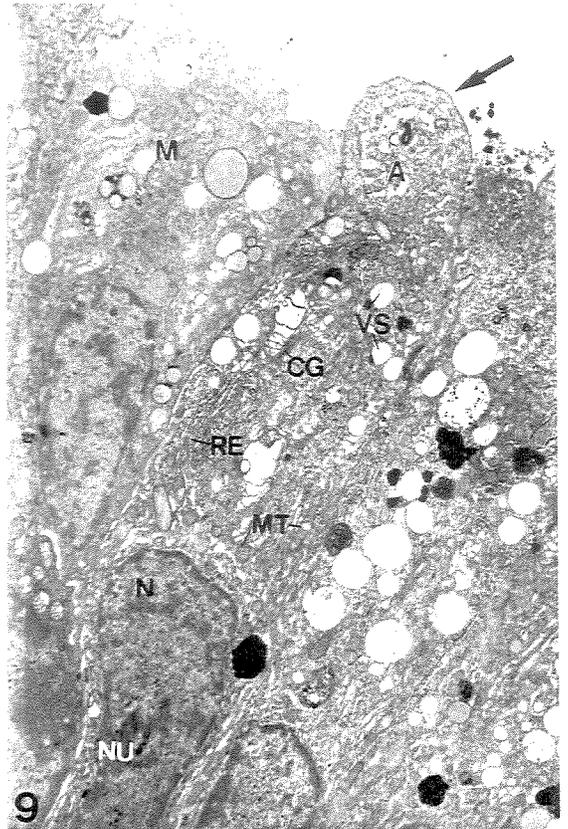
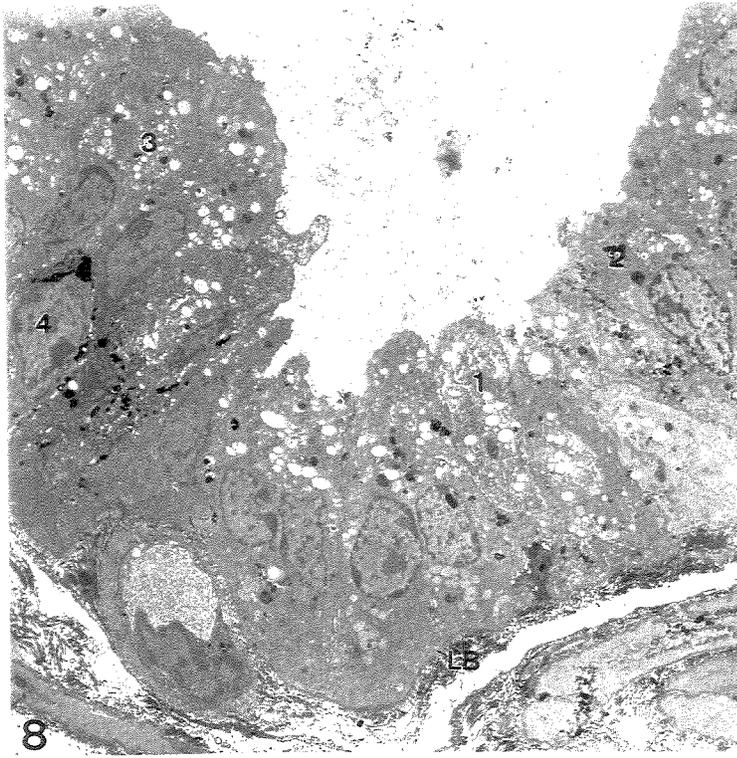
Figuras 14 – 20: Fig. 14 - Visão geral do estroma (E), logo abaixo do epitélio prostático (EP). Feixes de fibras colágenas se inserem entre os vasos sanguíneos (V) e as células musculares lisas (CM). O núcleo (N) da célula muscular é grande e irregular, e geralmente acompanha a forma da célula. Aumento: 5600x. Fig. 15 - Fibroblasto (F) próximo à membrana basal (MB), que separa o epitélio (EP) do estroma (E). Fibras do sistema elástico (setas) podem ser observadas dentro de cavidades formadas por prolongamentos do fibroblasto. Muitas fibras colágenas dispostas transversalmente podem ser vistas ao redor do fibroblasto. O citoplasma do fibroblasto possui muitas mitocôndrias e vesículas de secreção e o seu núcleo (N) é irregular e alongado. Aumento: 9300x. Figs. 16 e 17 - Detalhe das cavidades formadas pelos prolongamentos do fibroblasto. Na figura 16, o conteúdo das cavidades corresponde as microfibrilas. Aumento: 25000x. Na figura 17, abundante elastina preenche quase que totalmente a cavidade. Aumento: 19400x. Fig. 18 - Disposição das fibras elásticas ao redor de uma célula muscular lisa (CM). Uma grande quantidade de microfibrilas (setas) se dispõem em torno de uma massa amorfa de elastina (EL). Feixes de fibras colágenas (CO) são vistas próximas as fibras elásticas. Aumento: 32300x. Fig. 19 - Detalhe do prolongamento de um fibroblasto. Na região periférica do citoplasma, muitas vesículas de

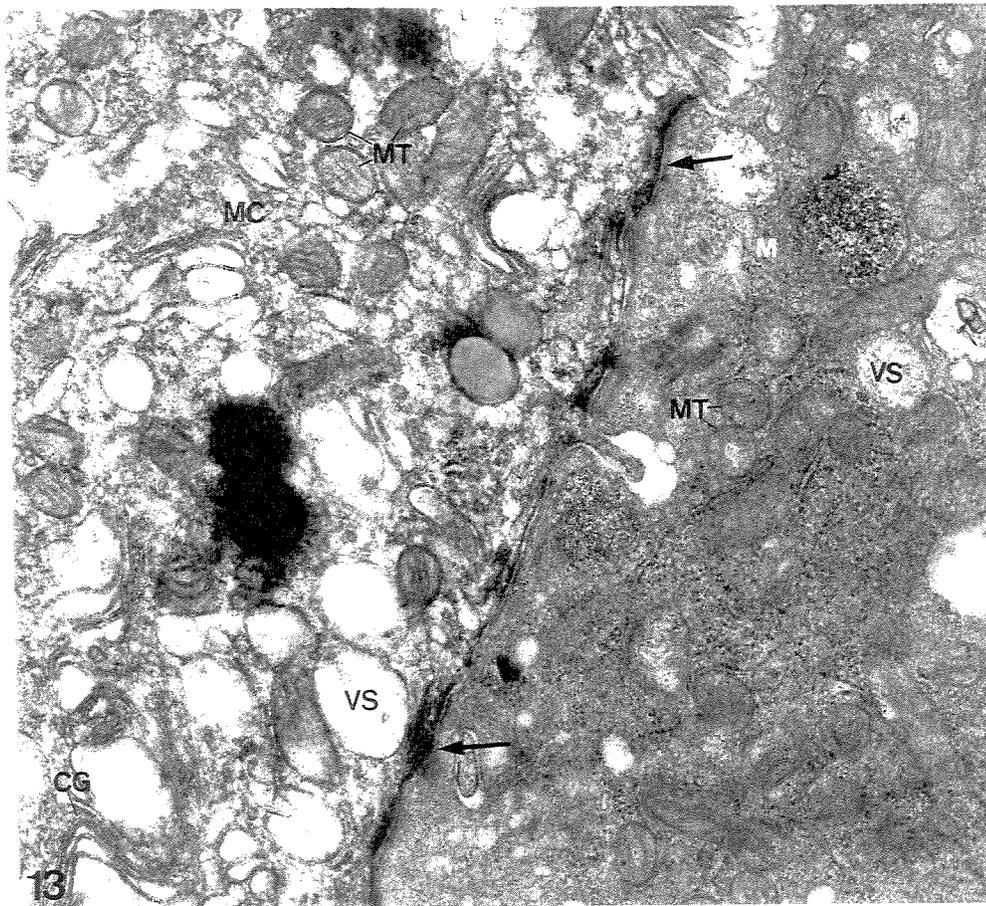
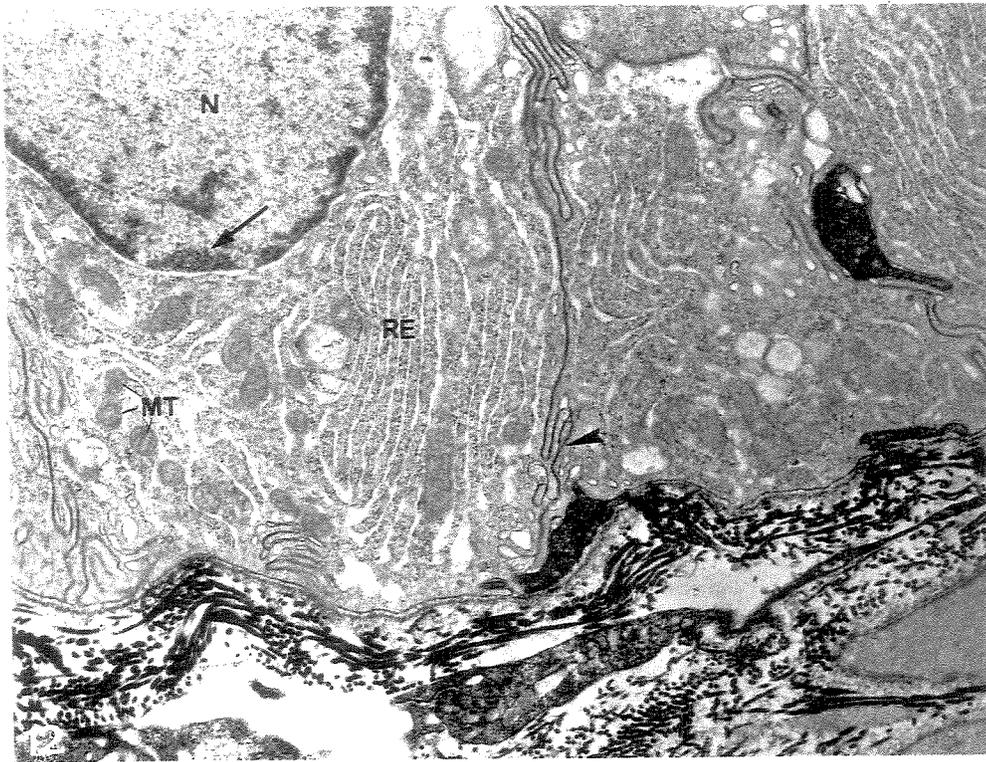
secreção são observadas, sendo que algumas delas estão se fundindo com a membrana plasmática. Fibras elásticas (EL) e feixes de fibras colágenas (CO) são vistas na base do prolongamento do fibroblasto. Aumento: 32300x. Fig. 20 - Detalhe de uma célula muscular circundada por fibras colágenas (CO) e elásticas (seta). Uma rede de sáculos alongados e achatados do Golgi (cabeça de seta), juntamente com o seu sistema de vesículas, pode ser observada no citoplasma da célula muscular. Mitocôndrias e RER também podem ser observados. O núcleo (N) da célula muscular é irregular e possui pouca cromatina periférica condensada e muita cromatina dispersa. Aumento: 23200x.

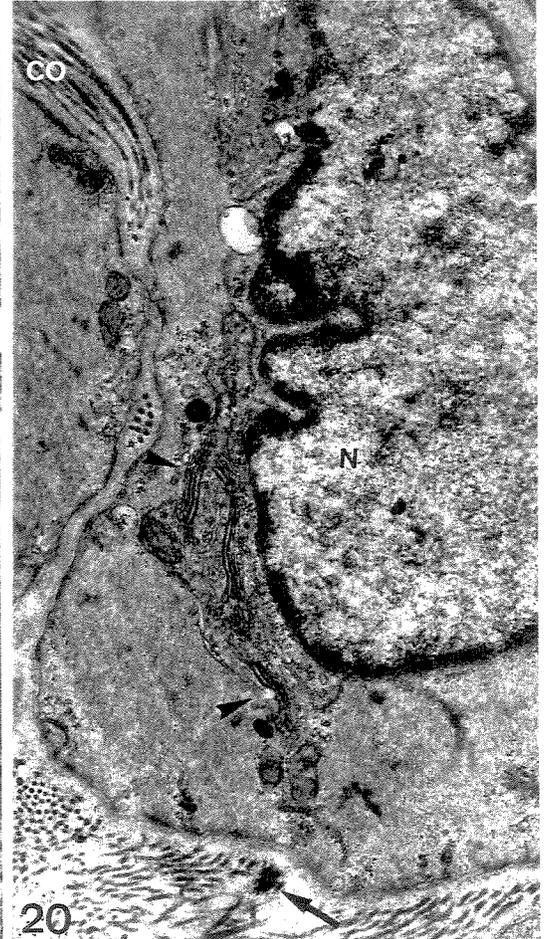
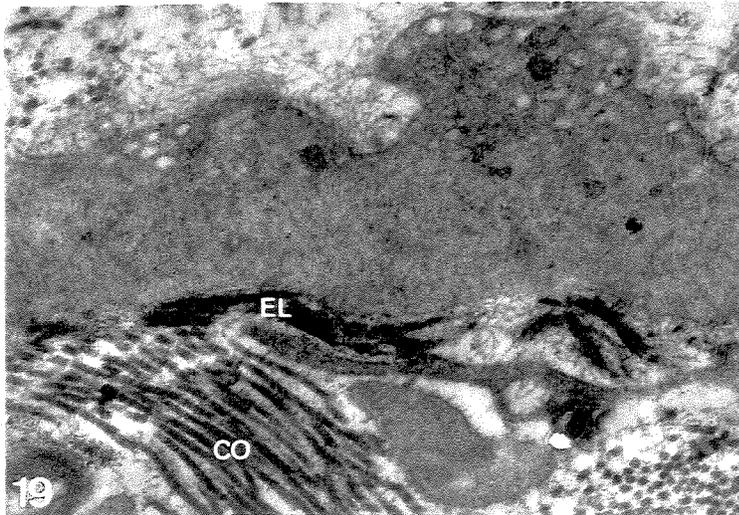
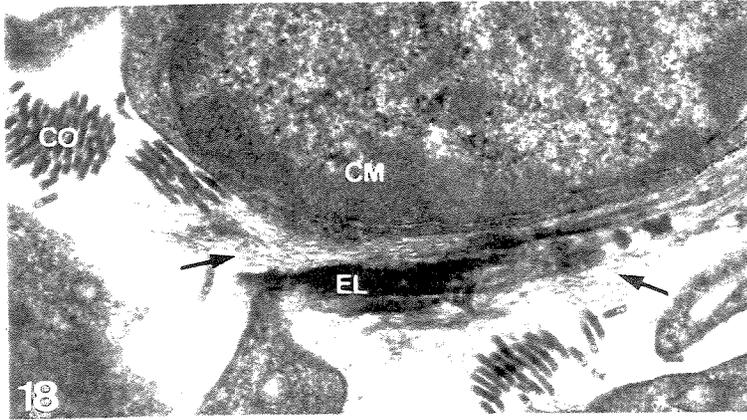
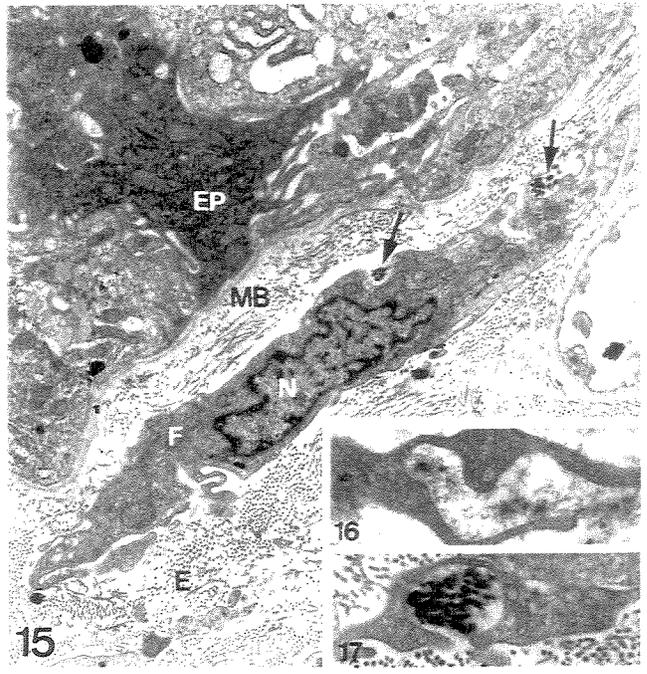
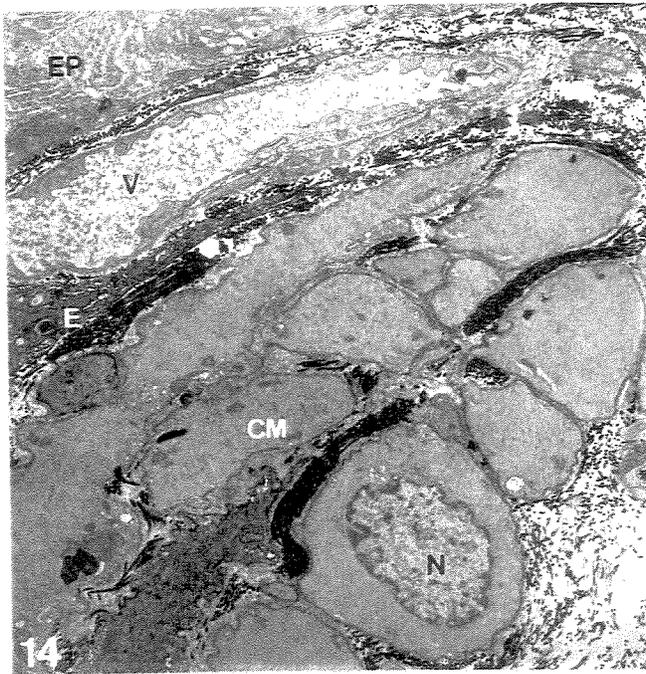
Figura 21: Esquema representativo da ultra-estrutura da próstata feminina do gerbilo *Meriones unguiculatus* mostrando os principais constituintes epiteliais e estromais. (1) célula apócrina; (2A) célula merócrina clara; (2B) célula merócrina; (3) célula de posição intermediária; (4) célula basal; (VS) vesícula secretora; (RE) retículo endoplasmático rugoso; (CG) Complexo de Golgi; (B) bleb apical; (d) desmossomo; (fc) fibrila colágena; (Lb) lâmina basal; (c) capilar; (Fb) fibroblasto; (FM) fibra muscular; (fe) fibra elástica.











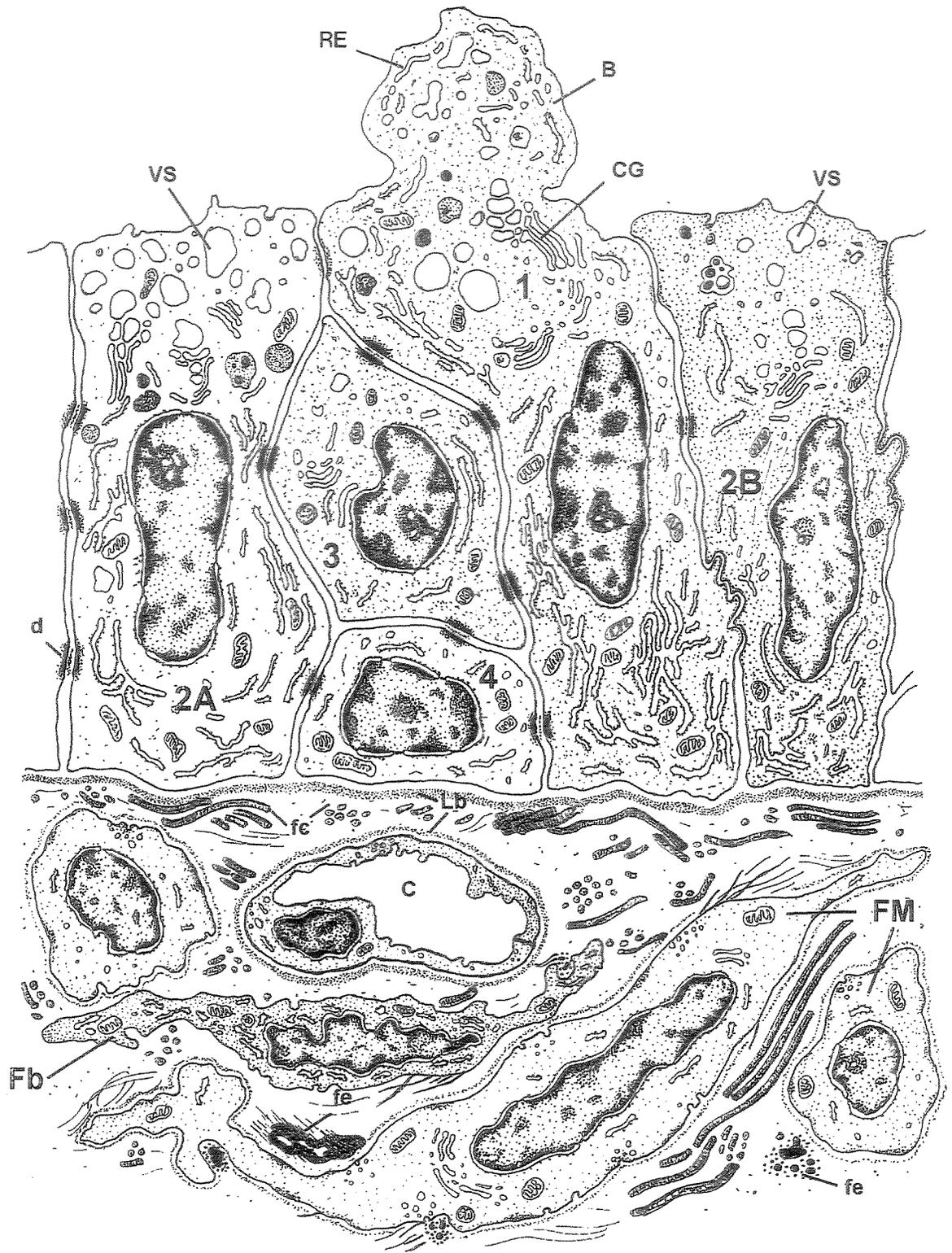


Figura 21

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO EXPERIMENTAL DE TESTOSTERONA SOBRE OS COMPONENTES TECIDUAIS EM PRÓSTATAS DE FÊMEAS DO GERBILO (*Meriones unguiculatus*).

Fernanda Cristina Alcantara dos Santos¹

Adriana Barbosa dos Santos²

Sebastião Roberto Taboga^{3*}

¹Departamento de Biologia Celular – IB – UNICAMP, Campinas, SP – Caixa Postal 6109 - CEP 13084-971.

²Departamento de Ciências da Computação e Estatística – IBILCE – UNESP, São José do Rio Preto, SP – CEP 15084-000.

³Departamento de Biologia – IBILCE – UNESP, São José do Rio Preto, SP.

Título Resumido: Efeitos da testosterona sobre a próstata de fêmeas.

Palavras-chave: próstata feminina; citoquímica, ultra-estrutura, estereologia, interação epitélio-estroma

***Endereço para Correspondência**

Departamento de Biologia - Rua Cristóvão Colombo, 2265 – Jardim Nazareth – São José do Rio Preto, SP – CEP 15054-000

Resumo

A próstata feminina do gerbilo *Meriones unguiculatus* é morfologicamente semelhante à próstata feminina humana, sendo formada por um epitélio secretor maduro, diferenciado e funcionalmente ativo em secretar um produto de caráter glicoprotéico. No entanto, ela permanece pouco desenvolvida durante toda a vida do indivíduo, devido aos baixos estímulos androgênicos apresentados pelo organismo feminino. Com base nestas afirmativas, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da administração experimental de testosterona sobre os componentes teciduais da próstata feminina do gerbilo. As análises morfológica e morfométrica dos resultados demonstraram que a testosterona induziu o desenvolvimento inicial da próstata feminina, promovendo significativas alterações no compartimento epitelial da glândula. Nas fases finais do tratamento houve um cessar e declínio deste desenvolvimento, onde observou-se que as características estruturais das próstatas tratadas com testosterona por um período prolongado assemelham-se às características apresentadas pela próstata normal. Deste modo, os resultados indicam que a testosterona exerceu um efeito positivo inicial sobre a próstata feminina e que fatores endógenos de proteção podem estar relacionados com a menor eficácia da ação hormonal nas fases finais do tratamento.

Introdução

Os andrógenos desempenham um significativo papel na regulação e desenvolvimento do aparelho urogenital feminino, sendo que seus receptores têm sido identificados em vários órgãos, como ovários, oviduto e útero (Staub & Beer, 1997).

Estudos imunohistoquímicos demonstram que os receptores para andrógenos também estão presentes na próstata feminina humana, podendo estar relacionados com a manutenção da fisiologia e estrutura desta glândula no organismo feminino (Wernet et al., 1992; Zaviacic et al., 2000).

No organismo masculino, os andrógenos regulam o crescimento, a diferenciação e a morte celular programada das células prostáticas. Junto a outros tipos de hormônios, tais como o estrógeno e a prolactina, a testosterona tem sido implicada na função prostática, tanto durante o período embrionário quanto na próstata adulta (Wernet et al., 1988; Nevalainen et al., 1997).

A próstata feminina do gerbilo adulto é morfológicamente semelhante ao lobo ventral da próstata de machos pós-púberes. Ela é uma glândula madura e funcionalmente ativa, capaz de sintetizar constantemente uma secreção de caráter glicoprotéico (Taboga e Santos, 2000). No entanto, a próstata feminina é um órgão pouco desenvolvido devido à carência de estímulos androgênicos (Zaviacic et al., 2000; Santos et al., 2002), uma vez que no organismo feminino é produzido apenas 5% do total de andrógenos sintetizados diariamente pelo organismo masculino (Staub & Beer, 1997).

Com base nestas afirmativas, o objetivo deste trabalho foi induzir o desenvolvimento da próstata feminina adulta do gerbilo, por meio da administração experimental de testosterona, a fim de avaliar os efeitos dos andrógenos sobre os compartimentos epitelial e estromal da glândula.

Material e Métodos

Tratamento experimental

Trinta fêmeas adultas do gerbilo *Meriones unguiculatus*, com três meses de idade, foram utilizadas neste estudo. Destas, 24 receberam a administração intradérmica do hormônio e 6 foram mantidas como controle. Os animais receberam uma dose de 0,25ml de cipionato de testosterona (Deposteron – Novaquímica/Sigma) a uma concentração de 25mg/ml, em intervalos de 48 horas, segundo adaptação do método de Pollard & Luckert (1987). O hormônio foi administrado por um intervalo de 21 dias, sendo que grupos de seis animais foram sacrificados com 3, 7, 14 e 21 dias de tratamento.

Análise morfológica

A uretra, contendo grande parte do tecido prostático, foi removida do organismo do animal previamente anestesiado por inalação de éter. Parte do material foi imediatamente fixada por imersão em líquido de Bouin durante 24 horas. Em seguida, os tecidos foram lavados em água corrente, desidratados em etanol, clarificados em xilol e, então, incluídos em paraplast (Histosec, Merck) e seccionados a 4 μ m em micrótomo rotativo automático (Leica). A outra parte do material foi fixada em Karnovsky (solução de paraformaldeído 5% e glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato Sørensen pH 7,2 – 0,1M) durante 24 horas. Depois, os tecidos foram desidratados em etanol, incluídos em historesina (Leica historesin embedding kit) e seccionados a 3 μ m. Para o estudo morfológico geral da glândula, os cortes histológicos foram corados pelas técnicas da

hematoxilina-eosina (Behmer et al., 1976) e do azul de toluidina (Mello e Vidal, 1980). Da mesma forma, a distribuição das fibras colágenas no estroma foi revelada pelas técnicas do picrossírius-hematoxilina (Junqueira et al., 1979) e do tricrômico de Masson (Behmer et al., 1976). As fibras reticulares puderam ser observadas por meio da coloração pela reticulina de Gömöri (Behmer et al., 1976), enquanto que as fibras elásticas foram coradas pela resorcina-fucsina de Weigert (modificado de Goldfisher et al., 1983). Para evidenciar os núcleos das células prostáticas para a contagem de mitoses, utilizou-se a reação de Feulgen para DNA (Mello e Vidal, 1980). Finalmente, para a localização de secreções de caráter glicoprotéico na glândula prostática feminina, utilizou-se da técnica de coloração pelo ácido periódico & Schiff – P.A.S. (Behmer et al., 1976). A análise e documentação fotográfica dos cortes histológicos foram realizadas em microscópio de luz convencional (Zeiss - Jena).

Análise morfométrico-estereológica

Três formas de quantificação foram empregadas para a realização desta análise. Em primeiro lugar, quantificou-se a frequência relativa de cada um dos compartimentos teciduais que compõem a próstata feminina. Posteriormente, foi quantificado o número de perfis de ácinos por glândula prostática e, em seguida, a porcentagem de células em divisão por ácino.

Para a avaliação da frequência relativa dos componentes teciduais das próstatas femininas normais e tratadas, os cortes histológicos foram submetidos ao sistema-teste de arranjo triangular M168, segundo Weibel et al. (1978), com 168 pontos no sistema (Huttunen et al., 1981). Para esta análise, 20 campos de lâminas coradas pela técnica da hematoxilina-eosina foram aleatoriamente selecionados. A frequência relativa foi calculada de acordo com os pontos do sistema-teste que

tocavam os componentes analisados, ou seja, epitélio, lúmen e estroma. A partir dos dados obtidos para cada campo analisado, foi realizado o cálculo percentual da frequência relativa dos três componentes teciduais da glândula.

A quantificação do número de perfis de ácinos por próstata foi efetuada com o propósito de avaliar o desenvolvimento da glândula durante todas as fases do tratamento. Para isso, cinco cortes histológicos de cada etapa do tratamento, provenientes da região central de órgãos distintos, foram submetidos à coloração pela técnica da hematoxilina-eosina e, em seguida, analisados e quantificados em microscópio óptico (Zeiss-Jenaval).

Para a quantificação do índice percentual de proliferação celular, os cortes histológicos de todas as fases do tratamento foram submetidos à reação de Feulgen, com a finalidade de se evidenciar apenas os núcleos prostáticos. Desta forma, foi encerrada a área de 10 ácinos e, em seguida, realizada a contagem do número total de núcleos presentes em cada ácino, observando-se quantos deles estavam em divisão celular. A partir destes dados, foi efetuado o cálculo percentual da frequência relativa de mitoses no epitélio prostático.

A análise estatística de todos os dados coletados foi realizada em planilhas e gráficos do software Statistica 6.0 (Copyright©StatSoft, Inc. 1984-1996). Os testes de hipóteses utilizados para a averiguação da significância foram os de Kruskal-Wallis, Anova, Tukey para comparações múltiplas e o teste de medianas. O nível de significância adotado para estes testes foi o de 5% ($p \leq 0,05$).

Resultados

Análise morfológica

Nos cortes analisados, observou-se que a próstata feminina estabelece um íntimo contato com a parede da uretra, principalmente nas suas porções mediana e distal. Ela é formada por um pequeno conjunto de glândulas e ductos, entremeados por uma matriz músculo-fibrosa (Fig. 1).

Na próstata feminina normal, as glândulas são revestidas por um epitélio que pode variar de cúbico baixo a prismático moderadamente alto (Figs. 2 e 3). Estas glândulas geralmente encerram um volumoso lúmen, no qual ficam armazenados os produtos de secreção (Figs. 7 e 8).

À microscopia de luz, foram identificados dois tipos distintos de células epiteliais: as células secretoras e as basais (Fig. 3).

As células secretoras estão em contato com o lúmen da glândula e são as predominantes no epitélio prostático. Elas possuem um volumoso núcleo basal e um abundante citoplasma acidófilo, que cora-se intensamente pela eosina. Na próstata normal também foram observadas células secretoras cromófobas, que são denominadas de células claras.

As células basais localizam-se entre a membrana basal e as células secretoras. Elas são menores e menos numerosas do que as células secretoras e possuem um formato elíptico e irregular.

O estroma prostático é bem irrigado por vasos sanguíneos e formado por fibras musculares, colágenas, reticulares e elásticas.

As fibras musculares lisas são muito alongadas e formam várias camadas que circunscrevem os ácinos prostáticos (Figs. 2 e 3). As fibras musculares estriadas esqueléticas são

pouco numerosas e foram vistas isoladamente ou formando aglomerados que se posicionam na base das glândulas e, principalmente, dos ductos (Figs. 4 e 6).

As fibras colágenas são as mais abundantes do estroma prostático. Elas foram observadas como finas fibrilas que se associam formando uma espessa camada que se deposita entre os espaços interacinários. (Fig. 4). Estas fibras estabelecem um íntimo contato com as fibras musculares lisas e estriadas esqueléticas.

As fibras reticulares (Fig. 5) são finas e sinuosas, sendo observadas na base do epitélio prostático, sempre em associação com as fibras musculares lisas.

As fibras elásticas são escassas e distribuem-se espaçadamente pelo estroma prostático. Elas podem se concentrar em regiões próximas aos ductos, onde foram vistas em associação com as fibras musculares estriadas esqueléticas (Fig. 6).

A glândula prostática produz constantemente uma secreção de caráter glicoprotéico, que foi evidenciada pela técnica do P.A.S. Por este método, intensas marcações foram observadas no lúmen da glândula e na região apical das células secretoras (Figs. 7 e 8).

Várias alterações morfológicas foram observadas nos compartimentos epitelial e estromal das glândulas prostáticas femininas após a administração experimental de testosterona.

Com apenas 3 dias de tratamento, observou-se que ocorreu um notável aumento na altura do epitélio prostático, que apresentou uma variação entre prismático alto e colunar pseudoestratificado (Figs. 9, 10 e 11). As células basais tornaram-se mais freqüentes e volumosas. As células secretoras passaram a exibir uma vasta área cromófoba em seu citoplasma supranuclear, que corresponde à área ocupada pelo complexo de Golgi e seu sistema de vesículas de transporte (Fig. 11). Uma das alterações epiteliais mais evidentes desta fase foi o surgimento de arcos intraepiteliais nos ácinos prostáticos (Figs. 10 e 12). Estes arcos possuem um aspecto

vesicular e formam-se entre duas camadas celulares do epitélio. Na maioria dos casos a camada celular inferior tem sua superfície apical voltada para a vesícula, enquanto que a camada celular superior tem sua superfície basal voltada para a vesícula e a apical voltada para o lúmen glandular. Células basais não foram observadas em nenhuma das camadas celulares que envolvem estes arcos intraepiteliais.

Aos 7 dias de tratamento o volume da glândula foi muito aumentado (Fig. 16). O epitélio manteve-se pronunciadamente alto, formando várias ondulações e exibindo uma grande quantidade de volumosos arcos intraepiteliais (Fig. 17 e 18). Várias células secretoras claras foram observadas nesta etapa (Fig. 17).

As características morfológicas apresentadas pelas próstatas tratadas com testosterona por 14 dias se assemelham com as características das próstatas tratadas por 7 dias (Fig. 23 e 24). No compartimento epitelial, a única diferença observada entre estas fases foi que aos 14 dias havia uma maior quantidade de células secretoras claras (Fig. 25).

Na última fase do tratamento (21 dias), as características histológicas apresentadas pelo epitélio prostático foram totalmente diferentes das características apresentadas pelo epitélio glandular das próstatas das demais fases de administração do hormônio (3, 7 e 14 dias).

As células epiteliais apresentaram-se consideravelmente mais baixas (Figs. 31 e 32), apesar de terem mantido uma grande área supranuclear cromófoba, que é correspondente à região ocupada pelo complexo de Golgi (Fig. 33). O número de células claras, que é reduzido na próstata normal, tornou-se muito elevado aos 21 dias de tratamento (Figs. 32 e 37). Arcos intraepiteliais não foram observados em nenhuma das glândulas observadas nesta fase.

Durante o tratamento hormonal, a técnica do P.A.S. permitiu identificar uma grande quantidade de secreção de caráter glicoprotéico no citoplasma supranuclear das células secretoras

e no lúmen glandular (Figs. 15, 22, 30, 36 e 37). Células claras, quando submetidas a este teste citoquímico, coraram-se intensamente pelo reativo de Schiff, assumindo um aspecto granular (Fig. 26).

Com relação ao compartimento estromal, este tornou-se sucessivamente mais denso, apresentando um maior número de células, fibras e vasos sanguíneos.

O número e espessura das fibras musculares lisas e estriadas esqueléticas (Figs. 11, 17, 18, 22 e 27) cresceu muito, principalmente nos 14 primeiros dias de tratamento. Neste período, as fibras musculares lisas organizam-se em várias camadas que circunscrevem os ácinos, enquanto que as estriadas esqueléticas situam-se ao redor dos ductos e em porções mais profundas do estroma. Aos 21 dias de tratamento percebeu-se que ocorreu uma evidente diminuição destas fibras, que passaram a formar uma fina camada muscular disposta na base do epitélio. (Fig. 32).

As fibras colágenas (Figs. 12, 19 e 27) apresentaram um alto grau de desenvolvimento, principalmente no sétimo dia de administração hormonal, no qual observou-se uma grande deposição destas fibras na base do epitélio (Fig. 19).

A partir do sétimo dia de tratamento as fibras reticulares (Figs. 13, 20, 28 e 34) tornaram-se mais sinuosas e numerosas, passando a ocupar vastas áreas do estroma. Estas fibras podem variar muito em espessura, sendo que as mais espessas acompanham as ondulações formadas pelo epitélio (Fig. 20). Em todas as fases do tratamento, as fibras reticulares foram observadas na base do epitélio e em associação com as fibras musculares lisas, formando um arcabouço que confere suporte mecânico à glândula prostática.

Embora não tenham apresentado um aumento aparente em número, durante todo o tratamento as fibras elásticas (Figs. 14, 21, 29 e 35) tornaram-se mais espessas, dispondo-se em orientações variadas na base dos ácinos e, principalmente, dos ductos.

Análise morfométrico-estereológica

Análise da frequência relativa dos componentes teciduais da próstata feminina

Os resultados obtidos a partir da avaliação morfométrica de cada um dos 20 campos selecionados de próstatas normais e tratadas podem ser observados por intermédio da interpretação da tabela 1 e da figura 38.

Na próstata normal, o componente tecidual que demonstrou uma maior frequência foi o estroma, que ocupa uma fração de volume médio de 40,60%, mínimo de 19,06% e máximo de 63,10%, com desvio padrão (DP) de 13,48%.

O compartimento epitelial da próstata normal foi o que apresentou uma menor frequência relativa, abrangendo um volume médio de 27,50%, mínimo de 15,74% e máximo de 47,02%, com DP de 9,82%.

O volume relativo de lúmen na próstata normal apresentou uma frequência média de 31,90%, mínima de 13,69% e máxima de 61,31%, com DP de 13,78%.

Nas duas primeiras fases de administração de testosterona, observa-se que ocorreu um sucessivo aumento da frequência relativa de epitélio. Aos três dias de tratamento o epitélio sofreu um intenso desenvolvimento, passando a ocupar um volume médio de 38,72%, mínimo de 20,24% e máximo de 63,09%, com DP de 12,05%. No sétimo dia de tratamento essa frequência aumentou ainda mais, atingindo um volume médio de 46,34%, mínimo de 25% e máximo de 63,69%, com DP de 10,20%. Porém, nas fases finais de tratamento ocorreu um cessar do desenvolvimento epitelial, seguido por um intenso declínio, que foi observado principalmente no 21º dia de administração do hormônio.

Aos 14 dias de tratamento, observou-se que a frequência média de epitélio sofreu uma diminuta queda, atingindo 43,04%, com DP de 13,38%. Nesta fase a frequência mínima foi de 20,24% e a máxima de 66,67%. A menor frequência epitelial foi observada no 21º de tratamento, no qual a área de ocupação alcançou um valor médio de 26,34%, mínimo de 13,69% e máximo de 44,05%, com DP de 9,01%. Essas frequências epiteliais apresentadas pelas glândulas tratadas por 21 dias aproximam-se das observadas na próstata normal.

A análise de variância (Anova) revelou que as alterações sofridas pelo compartimento epitelial durante o período de tratamento com testosterona foram altamente significativas, com $p = 0,0000001$. A aplicação do teste paramétrico de Tukey demonstrou que existem diferenças de significância entre os grupos, com $p = 0,0147$ no 3º dia de tratamento e com $p \leq 0,0003$ no 7º e 14º dias. Não foram observadas diferenças significativas entre o grupo tratado por 21 dias e o grupo controle ($p=0,9974$), e entre os grupos tratados por 7 e 14 dias ($p = 0,8769$). Os dados relativos aos testes de significância aplicados podem ser observados na tabela 1.

Na tabela 1 também estão representados os dados numéricos referentes à mediana de cada um dos componentes analisados em toda as fases do tratamento hormonal. Na amostragem utilizada, observou-se que ocorreu uma distribuição simétrica dos dados, onde os valores das medianas aproximam-se das médias. Deste modo, a mediana representa um dado importante, pois além de fornecer um valor numérico próximo à média, ela não é influenciada pelos valores extremos da amostragem.

No lúmen prostático ocorreu o processo inverso ao ocorrido no epitélio, sendo que o seu volume relativo sofreu uma grande redução nas duas primeiras etapas do tratamento. Aos 3 dias de tratamento a fração de volume de lúmen apresentou uma frequência média de 17,97%, mínima de 5,36% e máxima de 36,09%, com DP de 9%. No 7º dia nota-se que este volume

diminui ainda mais, atingindo uma frequência média de 14,88%, mínima de 2,98% e máxima de 35,72%, com DP de 8,12%.

Nas fases finais de tratamento o volume relativo de lúmen cresceu muito, restabelecendo um volume maior do que o ocupado pela próstata normal. No 14º observa-se uma frequência média de 16,97%, mínima de 1,80% e máxima de 44,64%, com DP de 13,28%. Na última etapa do tratamento (21 dias) a frequência de lúmen atingiu um valor médio de 42,70%, mínimo de 17,26% e máximo de 67,26%, com DP de 12,82%.

Quanto ao estroma, este não sofreu modificações significativas durante todo o período de tratamento, mantendo sua fração de volume pouquíssimo alterada. A análise de variância (Anova) revela que $p = 0,0502$ e utilizando-se o teste da mediana o valor de $p = 0,267$, o que comprova a não significância das alterações sofridas pelo estroma prostático durante todo o período de tratamento.

Uma vez não ocorrendo alterações significativas no estroma prostático, torna-se desnecessária a aplicação de testes de hipóteses para a averiguação da significância das modificações sofridas pelo lúmen, pois o aumento/diminuição sofrido pelo epitélio tem como consequência a diminuição/aumento do lúmen prostático. O comportamento dos componentes teciduais durante o experimento está ilustrado na figura 38.

Quantificação do número médio de ácinos por glândula prostática

A análise do número médio de ácinos por glândula, em todas as fases de administração hormonal, revelou que a testosterona induziu o aumento do número de ácinos, principalmente nas duas primeiras etapas do tratamento.

Na próstata normal (Fig. 1) o número de perfis de ácinos é pequeno, podendo variar entre 7 e 14 unidades. Já as próstatas tratadas por 3 dias (Fig. 9) comportam de 21 a 29 ácinos, enquanto que as tratadas por 7 dias (Fig 16) apresentam de 35 a 48 ácinos.

Nas fases finais do tratamento observa-se que ocorre um gradual declínio no número de perfis de ácinos por glândula. Próstatas submetidas a 14 dias de tratamento (Fig. 23) possuem de 19 a 30 ácinos, enquanto que as tratadas por 21 dias (Fig. 31) apresentam de 14 a 20 ácinos.

Quando se comparam estes grupos através de suas medianas, observa-se grandes diferenças entre eles, sendo que a próstata normal apresenta um número mediano de 13 ácinos, enquanto que as próstatas tratadas por 3, 7, 14 e 21 dias apresentam números medianos respectivamente iguais a 24, 37, 25, e 19 ácinos. A aplicação do teste de Kruskal-Wallis demonstra que estas diferenças apresentadas entre os grupos analisados são altamente significativas com $p = 0,0009$.

Análise da proliferação celular no epitélio prostático

Na figura 39 observa-se a ocorrência de divisões celulares no epitélio das próstatas femininas tratadas com testosterona, e a representação gráfica da análise descritiva dos dados.

A análise da próstata normal demonstrou que a ocorrência de divisão celular no epitélio é baixa, variando entre 0,65% e 1,26%.

Nas próstatas tratadas pela testosterona por 3 dias (Fig. 39 B e C) ocorreu uma maior oscilação no percentual de proliferação celular, sendo que estes valores variaram entre 0,92% e 3,64%.

As taxas percentuais de proliferação celular das demais fases de tratamento aproximaram-se da taxa apresentada pela próstata normal, não sofrendo grandes variações. Aos 7 dias de tratamento (Fig. 39D) a taxa de divisão celular variou entre 0,74% e 2,44%, aos 14 dias (Fig. 39E) entre 0,71% e 1,74%, e aos 21 dias (Fig. 39F) entre 0,77% e 1,43%.

Desta forma, não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre as medianas de proliferação celular em todas as fases do tratamento, sendo que no teste das medianas $p = 0,5739$ e no de Kruskal-Wallis $p = 0,1975$. Portanto, como pode ser observado pela análise do gráfico 39A, a diferença entre os 5 grupos é dada pela variabilidade da amostra.

Pelo comportamento dos grupos em relação à variabilidade, que é medida através da análise do desvio padrão, percebe-se que aos 3 dias de tratamento (DP = 1,11%) ela supera em até 4 vezes os resultados obtidos para os demais grupos (DP controle = 0,25%, 7 dias = 0,50%, 14 dias = 0,22% e 21 dias = 0,23%). Em função disso, as principais diferenças que se observam em relação ao percentual de divisão celular dos ácinos analisados são decorrentes da variabilidade apresentada pela amostra e não dos valores medianos.

Discussão

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que o estímulo androgênico provocou importantes alterações na próstata feminina do gerbilo *Meriones unguiculatus*.

As principais alterações observadas através da metodologia empregada envolvem o compartimento epitelial da glândula, que apresentou um comportamento diferenciado em cada uma das fases do tratamento hormonal.

Aos 3 dias de tratamento, ocorreu uma acentuada proliferação celular no epitélio prostático, no qual observou-se uma alto índice de divisões celulares, principalmente nos pequenos e novos ácinos em formação. O maior percentual de divisões celulares em ácinos recém-formados e, portanto, com menor número de células, foi o responsável pela grande variabilidade percentual demonstrada pela análise estatística dos dados numéricos da amostra.

Em consequência desta acentuada proliferação celular, aos 7 dias de tratamento ocorreu uma notável hipertrofia da próstata feminina, que foi demonstrada pela quantificação do número de ácinos por glândula, cujo teste estatístico revelou ser altamente significativa. Ao lado desta hipertrofia glandular, o epitélio prostático sofreu um grande desenvolvimento, no qual suas células tornaram-se muito altas e volumosas, exibindo uma vasta área cromófoba em seu citoplasma supranuclear. Esta área cromófoba corresponde à região ocupada pelo complexo de Golgi e seu sistema vesicular, que também é observado na próstata masculina normal do gerbilo adulto (Zanetoni, 2002) e de outros roedores (Smith, et al., 1978; Gross & Didio, 1987), o que reflete a alta atividade secretora apresentada por estas células.

A transição do epitélio prostático de cúbico ou prismático baixo, para prismático alto ou colunar pseudoestratificado, associado ao intenso desenvolvimento das células epiteliais, iniciou-se no 3º dia de tratamento e manteve-se até o 14º dia. A análise estatística da frequência relativa dos componentes teciduais prostáticos no referido período demonstrou que a área de ocupação epitelial sofreu um significativo acréscimo, chegando a ocupar, aos 7 dias de tratamento, quase que o dobro da área epitelial presente na próstata normal. Em contraste a este desenvolvimento epitelial, neste período a área média de lúmen reduziu-se a menos da metade, enquanto que as alterações sofridas pelo estroma não mostraram-se estatisticamente significativas.

Os arcos intraepiteliais observados com frequência no epitélio das próstatas tratadas com testosterona por 3, 7 e 14 dias, são semelhantes ao padrão pseudocribiforme de neoplasia intraepitelial, encontrados também na próstata masculina do gerbilo (Vicent et al., 1978, 1979). Epitélios com este aspecto de organização são passíveis de evoluir para um estado adenocarcinomatoso invasivo. Porém, nas próstatas tratadas com testosterona por 21 dias não observou-se a formação destes arcos ou de qualquer outra forma de alteração, o que sugere que o tratamento continuado promova a regressão deste caráter neoplásico.

Dois tipos celulares são observados com maior frequência no epitélio secretor tratado com testosterona por 3, 7 e 14 dias. Um deles é a célula basal, que é a célula tronco responsável pela manutenção da população celular do epitélio prostático (Zavciac et al., 2000). Estudos imunocitoquímicos envolvendo a próstata masculina humana revelaram a existência de receptores para testosterona nas células basais (Wernet et al., 1992; Steers, 2001). Desta forma, o estímulo androgênico certamente induziu a proliferação destas células, que por sua vez promoveram a proliferação das células secretoras. As células claras, que são ativas nos processos de secreção, porém raras no epitélio da próstata feminina normal (Santos et al., 2002), também tornaram-se gradualmente mais numerosas durante o tratamento hormonal. Isso indica que a expressividade e manutenção destas células sejam reguladas pelos níveis de testosterona circulante.

Embora o estroma prostático não tenha apresentado alterações estatisticamente significativas durante a administração hormonal, ele tomou-se sucessivamente mais denso, sendo composto por um maior número de células, fibras e vasos sanguíneos. A proliferação e aumento da atividade das fibras musculares no organismo feminino após a exposição aos andrógenos são fatores comprovados (Staub & Beer, 1997). Deste modo, o acúmulo de fibras colágenas, elásticas e reticulares nas próstatas tratadas com testosterona foi decorrente da proliferação e acentuada

atividade das fibras musculares lisas e estriadas esqueléticas, uma vez que elas são ativas na produção destes elementos da matriz extracelular.

Pela análise morfológica e morfométrico-estereológica das próstatas tratadas com testosterona por 21 dias, percebeu-se que ocorreu um declínio no desenvolvimento glandular. Nesta fase, o comportamento dos componentes teciduais prostáticos e o número de ácinos por glândula aproximam-se dos dados referentes à próstata normal, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre estas fases. Morfologicamente, os ácinos prostáticos desta fase são revestidos por um epitélio cúbico baixo, porém secretoriamente mais ativo do que o epitélio da próstata normal. O número de células claras manteve-se acentuado, enquanto que as células basais mostraram-se pouco freqüentes. No estroma, as fibras musculares lisas e estriadas esqueléticas sofreram uma grande redução, embora os componentes fibrilares da matriz extracelular tenham-se mantido inalterados. Desta forma, a redução da altura do epitélio, acompanhada da diminuição do número de células basais e de fibras musculares, representa indícios de que o estímulo androgênico perdeu sua efetividade e eficácia no final do tratamento.

Com base nestes resultados, pode-se concluir que a administração experimental de testosterona promoveu o desenvolvimento e maior atividade secretora da próstata feminina, principalmente na primeira semana de tratamento. Tudo indica que a exposição contínua a altos níveis de andrógenos ative sistemas protetores endógenos capazes de regular o balanço hormonal a situações mais próximas do normal, bloqueando, em consequência, parte do estímulo androgênico sobre a próstata feminina, nas fases finais do tratamento. Deste modo, complexos enzimáticos como a aromatase, que é capaz de converter testosterona à estrógeno (Andó et al., 2001; Bulun et al., 2001; Lephart et al., 2001; Kamat et al., 2002), podem ter uma participação ativa neste processo. Além disso, novas questões a respeito dos processos fisiológicos que

mantém a próstata funcionalmente ativa no organismo feminino devem ser levantadas, visto que existem indícios de que outros hormônios, tais como o estrógeno e a prolactina, estejam envolvidos na manutenção homeostática da próstata masculina (Smith et al., 1978; Nevalainen et al., 1997; Reiter et al., 1999).

Agradecimentos

Parte deste trabalho teve auxílio financeiro da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Proc. nº 00/11648-1), e bolsa CAPES para FCAS.

Referências Bibliográficas

- ANDÓ, S.; SIRIANNI, R.; FORASTIERI, P.; CASABURI, I.; LANZINO, M. 2001. Aromatase expression in prepuberal Sertoli cells: effect of thyroid hormone. **Mol and Cell Endoc**, 178: 11-21.
- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E.M.C. & NETO, A.G.F. 1976. **Manual de práticas para histologia normal e patológica**. EDART-EDUSP, SP.329p.
- BULUN, S.E.; YANG, S.; FANG, Z.; GURATES, B.; TAMURA, M. 2001. Role of aromatase in endometrial disease. **J. Steroid Biochem. Mol. Biology**, 79: 19-25.
- GOLDFICHER S, COLTOFF-SCHILLER B, SCHWARTZ E, BLUMENFELD OO, 1983. Ultrastructure and staining properties of aortic microfibrils (oxytalan). **J Histochem Cytochem** 31: 382-390.

- GROSS, S.A. & DIDIO, L.J.A. 1987. Comparative morphology of the prostate in adult male and female of *Praomys (mastomys) natalensis* studies with electron microscopy. **J. Submicrosc. Cytol.**, **19 (1)**: 77-84.
- HUTTUNEN, E., ROMPPANEN, T. & HELMINEN, H.J., 1981. A histoquantitative study on the effects of castration on the rat ventral prostate lobe. **J. Anatomy**, **3**: 357-370
- 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.
- KAMAT, A.; HINSHELWOOD, M.; MURRY, B. A. AND MEDELSON, C.R. 2002. Mechanisms in tissue-specific regulation of estrogen biosynthesis in humans. **Trends in Endoc 7 Metab.**, **13 (3)**: 122-128.
- LEPHART, E. D.; LUND, T.D.; HORVATH, T. L. 2001. Brain androgen and progesterone metabolizing enzymes: biosynthesis, distribution and function. **Brain Res. Rev.**, **37**: 25-37.
- MELLO MLS, VIDAL BC, 1980. Práticas de biologia celular. Edgard Blücher-Funcamp, Campinas,. 71p.
- NEVALAINEN, M.T.; VALVE, E.M.; ANHONEN, T.; YAGI, A. 1997. Androgen-dependent expression of prolactin in rat prostate epithelium in vivo and organ culture. **FASEB J**, **11**: 1297-1307.
- POLLARD, M. AND LUCKERT, P.H. 1987. Autochthonous prostate adenocarcinomas in lobund-wistar rats: a model system. **Prostate**, **11**: 219-227.
- REITER, E.; HENNUY, B.; BRUYNINX, M.; CORNET, A. 1999. Effects of pituitary hormones on the prostate. **Prostate**, **38**:159-165.

- SANTOS, F.C.A.; GÓES, R.M.; TABOGA, S.R. Caracterização estrutural, citoquímica e ultra-estrutural dos compartimentos epitelial e estromal da próstata feminina do gerbilo (*Meriones unguiculatus*). Submitted to Cell. Tiss. Research.
- SMITH, A. F.; LANDON, G.V.; GHANADIAN, R.; CHISHOLM, G.D. 1978. The ultrastructure of the male and female prostate of *Praomys (Mastomys) natalensis*. **Cell Tiss. Res.**, **190**: 539-552.
- STAUB, N.L. and BEER, M.D. 1997. The role of androgens in female vertebrates. **Gen. Compar. Endocrinology**, **108**: 1-24.
- STEERS, W.D. 2001. 5 α -reductase activity in the prostate. **Urology**, **58**: 17-24.
- TABOGA, S.R. & SANTOS, F.C.A. 2000. Structural and ultrastructural characterization of the prostate in the female gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Anais do SIMEC 2000**, Angra dos Reis, Sessão P4, p.42.
- VICENT, A. L.; ASH, L. R. 1978. Further observations on spontaneous neoplasms in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. **Laboratory Animal Science**, **28 (3)**: 297-300.
- VICENT, A.L.; GARY, E.R.; WILLIAM, A.S. 1979. The pathology of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): A Review. **Laboratory Animal Science**, **29 (5)**: 645-651
- WEIBEL, E.R., 1978. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. **Laboratory Investigation** **12**, 131-155.
- WERNET, N.; GERDES, J.; LOY,V.; SEITZ, G.; SCHERR, O.; DHOM,G. 1988. Invertigations of the estrogen (ER-ICA-test) and progesterone receptor in the prostate and prostatic carcinoma on immunohistochemical basis. **Virchows Archiv Pathol** **412**: 387-391
- WERNET, N.; ALBRECHT, M.; SESTERHENN, I. 1992. The “female prostate”: localion, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. **Eur Urology** **22**,64-69

- ZANETONI, C. 2002. Alterações na próstata relacionadas com o envelhecimento do esquilo da Mongólia (*Meriones unguiculatus*): Aspectos estruturais, histoquímicos e ultra-estruturais. Tese de Mestrado, Unicamp, Campinas, SP. 61p.
- ZAVIACIC, M.; JAKUBOVSKÁ, V.; BREZA, J. 2000. Ultrastructure of the normal adult human female prostate gland (Skene's gland). *Anat Embriol (Berl)* 201(1): 51-61.

Legendas das Figuras

Figuras 1 - 8: *Cortes histológicos da próstata feminina normal.* Fig. 1 – Visão geral da próstata feminina (g) próxima à musculatura envolvente (m) da uretra (u). Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento: 75x. Fig. 2 – Detalhe das glândulas prostáticas exibindo um epitélio cúbico baixo (ep) e um lúmen volumoso, no qual se depositam os produtos de secreção (*). Vaso sanguíneo (seta), estroma (e). Coloração: Hematoxilina-Eosina (HE). Aumento: 230x. Fig. 3 – detalhe do epitélio prostático, com suas células secretoras (seta) e basais (cabeça de seta). Fibras musculares lisas (fml) são observadas na base do epitélio. Coloração: HE. Aumento: 725x. Fig. 4 – Distribuição das fibras colágenas (co) na base do epitélio (ep). As fibras colágenas associam-se às fibras musculares lisas (seta) e estriadas esqueléticas (seta dupla). Coloração: Picrossírius-Hematoxilina. Aumento: 725x. Fig. 5 – Disposição das finas e sinuosas fibras reticulares (setas) na base do epitélio (ep). Coloração: Reticulina de Gömöri. Aumento: 725x. Fig. 6 – Fibras elásticas (setas) próximas à um ducto e em associação com fibras musculares estriadas esqueléticas (fme). Coloração: Resorcina-Fucsina de Weigert. Aumento: 580x. Figs 7 e 8 – Coloração pela técnica do P.A.S. que evidencia as secreções de caráter glicoprotéico no lúmen glandular (*) e na região apical do epitélio (setas). Aumento 7: 90x e 8: 725x.

Figuras 9 a 22.

Figuras 9 - 15: *Cortes histológicos das próstatas femininas tratadas com testosterona por 3 dias.* Fig. 9 – Visão geral da próstata feminina (g) ao lado da uretra (u). Os ácinos são mais numerosos e o epitélio começa a apresentar ondulações. Coloração: HE. Aumento: 75x. Fig. 10 – Detalhe de um ácino prostático corado pela Hematoxilina-Eosina. Observe a presença de arcos intraepiteliais (setas).

Aumento: 180x. Fig. 11 – Detalhe do epitélio prostático, no qual podem ser observadas as células secretoras (setas) e as células basais (cabeça de seta). Na região supranuclear do citoplasma são observadas vastas áreas cromóforas que correspondem às áreas ocupadas pelo Complexo de Golgi e seu sistema de vesículas (*). No estroma, uma grande quantidade de fibras musculares lisas (fm) distribui-se em camadas na base do epitélio. Coloração: HE. Aumento: 725x. Fig. 12 – Distribuição das delicadas fibrilas colágenas (co) no estroma prostático (e). Um arco intraepitelial (seta) em estado inicial de formação pode ser observado no epitélio (ep). Coloração: Picrossírius-Hematoxilina. Aumento: 580x. Fig. 13 – Disposição das fibras reticulares na base do epitélio (setas). Coloração: Reticulina de Gömöri. Aumento: 580x. Fig. 14 – Detalhe das fibras elásticas na base de um ducto. Vaso (v) Coloração: Resorcina-Fucsina Weigert. Aumento: 900x. Fig. 15 – Marcação da secreção glicoprotéica na região supranuclear da célula secretora (seta). Coloração: P.A.S. Aumento: 900x. **Figuras 16 - 22:** *Cortes histológicos da próstata feminina tratada com testosterona por 7 dias.* Fig. 16 – Visão geral da próstata feminina (g) ao lado da musculatura que envolve a uretra (u). Note o grande desenvolvimento apresentado pela próstata feminina. Coloração: HE. Aumento: 75x. Fig. 17 – Detalhe dos ácinos prostáticos, onde pode ser observada a formação de arcos intraepiteliais em estágio avançado de formação (seta). Células secretoras claras podem ser vistas em contato com o lúmen glandular (cabeça de seta). No estroma, as fibras musculares lisas (fm) organizam-se em várias camadas que circunscrevem os ácinos. Coloração: HE. Aumento: 230x. Fig. 18 – Arco intraepitelial entre duas camadas de epitélio (seta). Fibras musculares lisas (fm) situam-se na base do epitélio. Coloração: HE. Aumento: 725x. Fig. 19 – Distribuição das fibras colágenas (co) no estroma prostático. Nesta fase as fibras colágenas são muito abundantes, ocupando todos os espaços interepiteliais do estroma. Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento: 580x. Fig. 20 – Arranjo das fibras reticulares (setas) na base do epitélio. Estas fibras

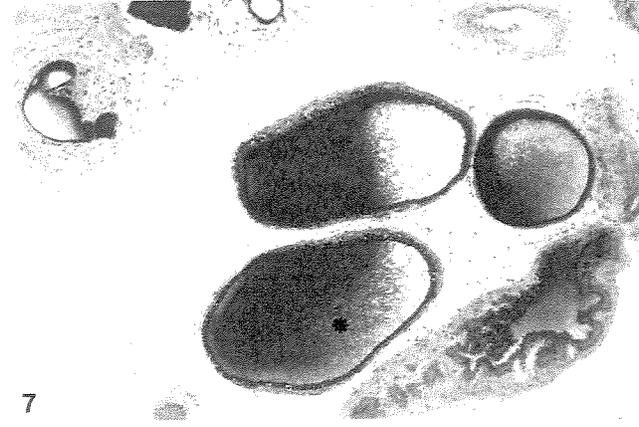
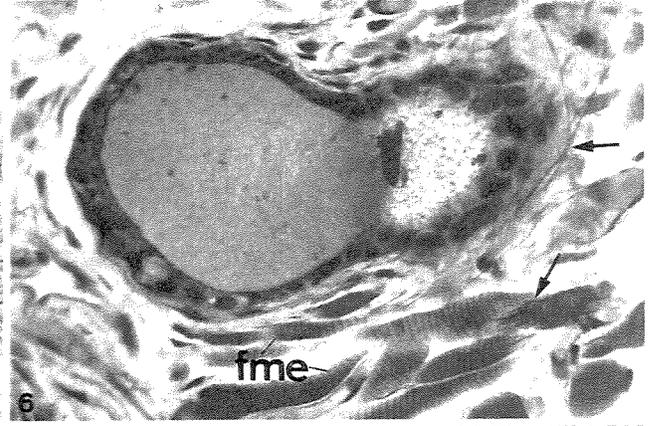
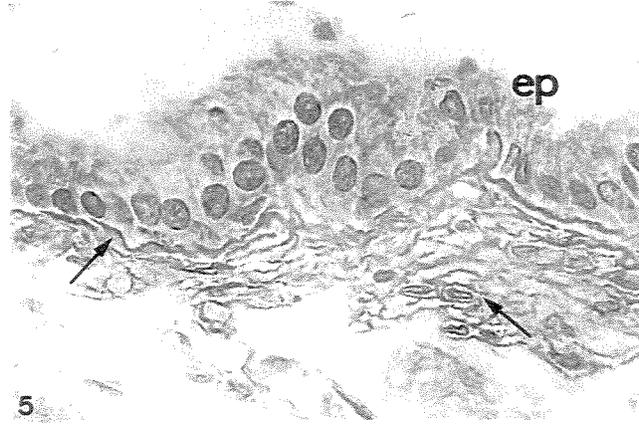
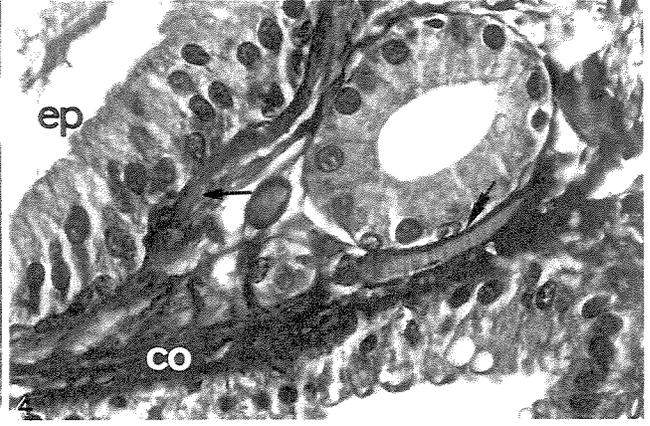
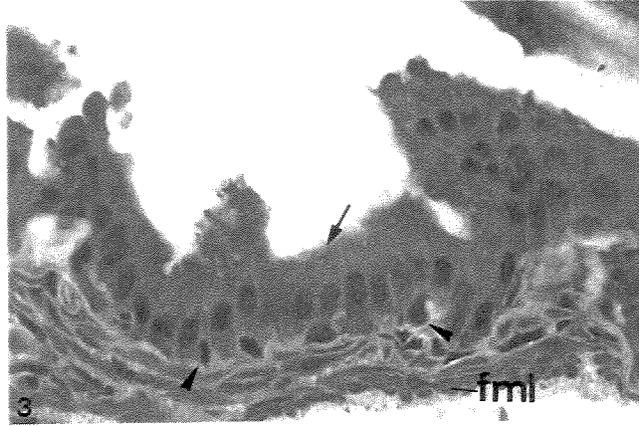
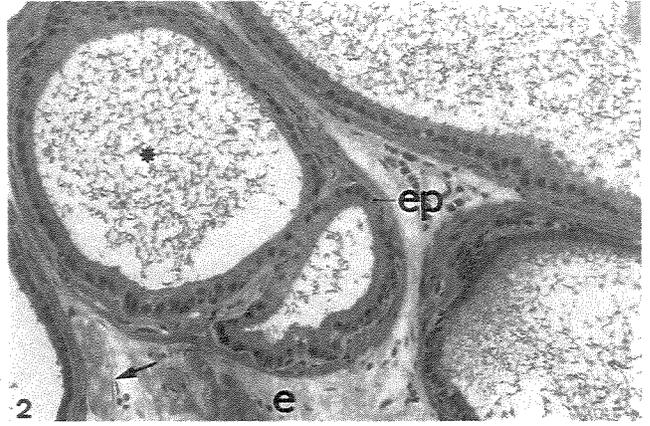
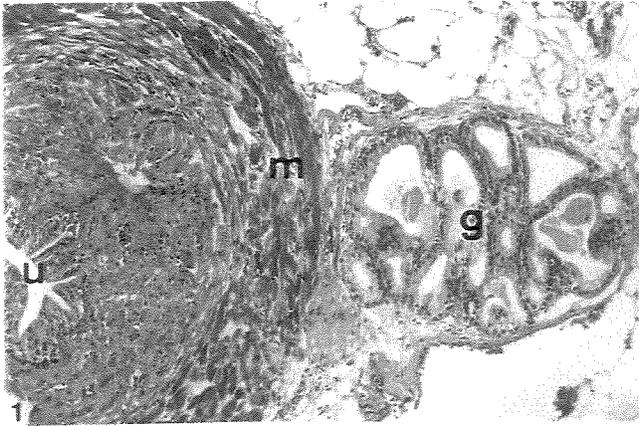
apresentam espessuras variáveis, sendo que as mais espessas acompanham as ondulações formadas pelo epitélio. Coloração: Reticulina de Gömori. Aumento: 580x. Fig. 21 – Disposição das fibras elásticas no estroma prostático. Nesta fase as fibras elásticas apresentam um maior espessamento e sinuosidade. Coloração: Resorcina-Fucsina de Weigert. Aumento: 725x. Fig. 22 – Secreção prostática no lúmen glandular (*) e no citoplasma supranuclear das células secretoras claras (seta). Observe a fibra muscular estriada esquelética (fme) nas proximidades do ácino. Coloração: P.A.S. Aumento: 580x.

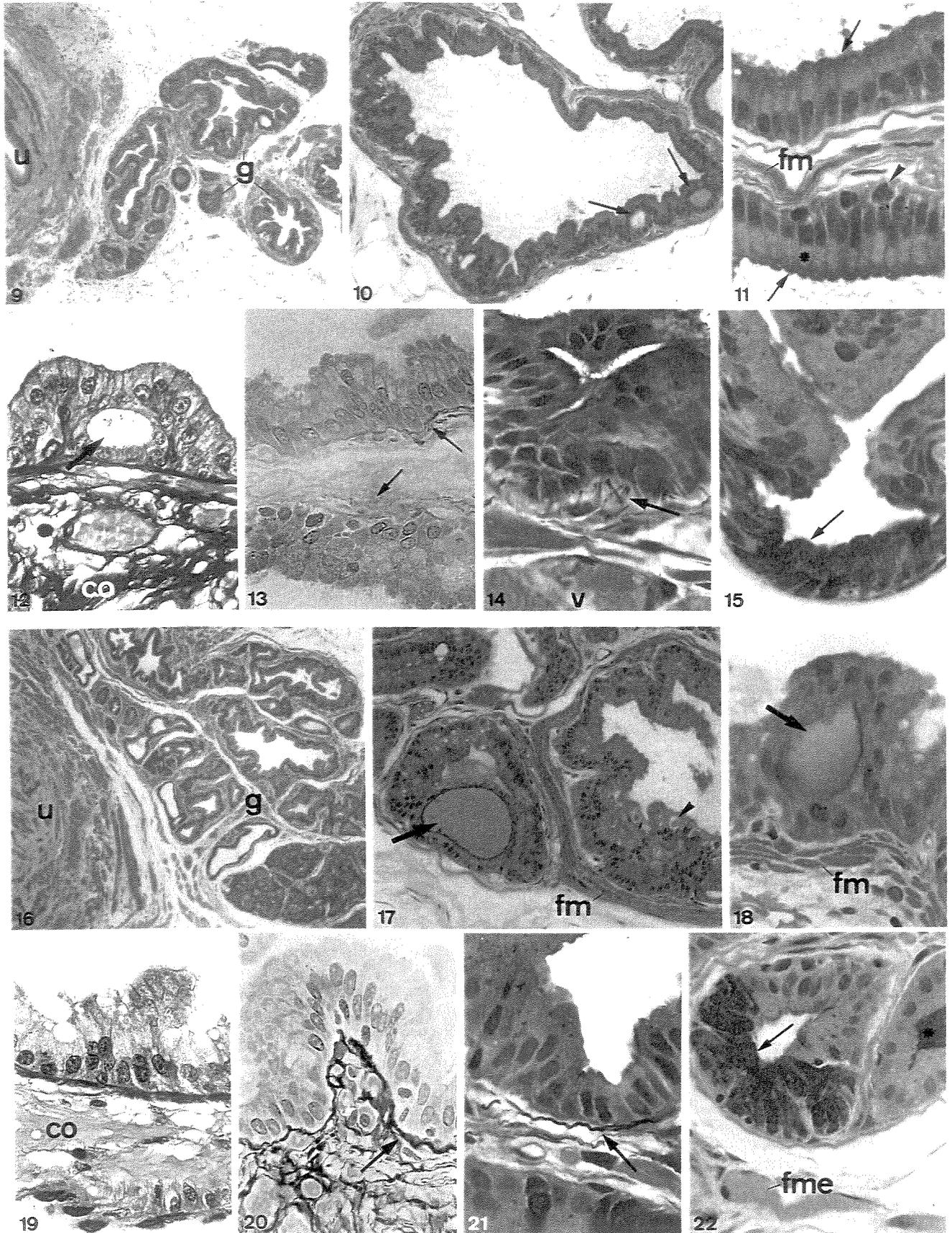
Figuras 23 a 37.

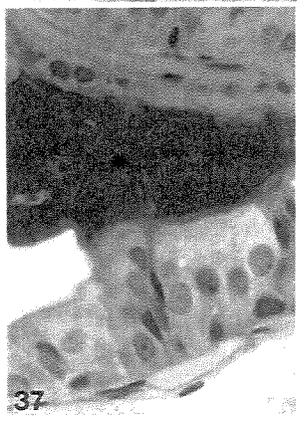
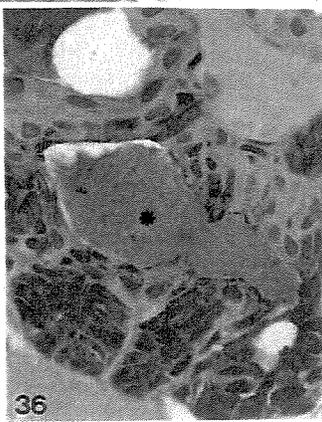
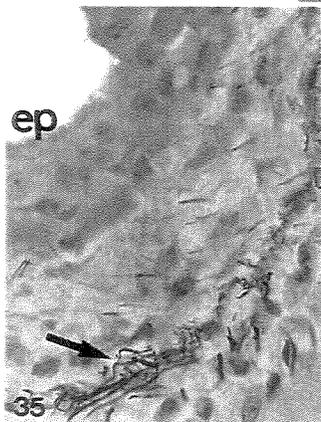
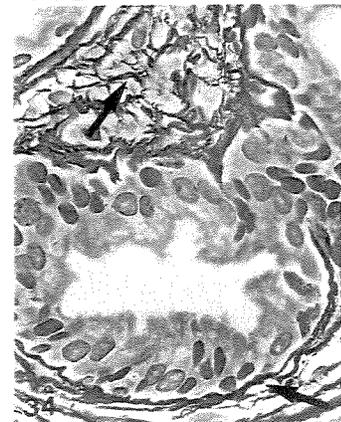
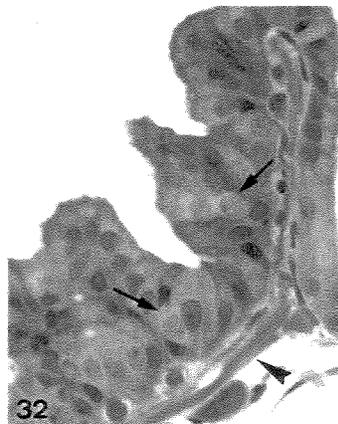
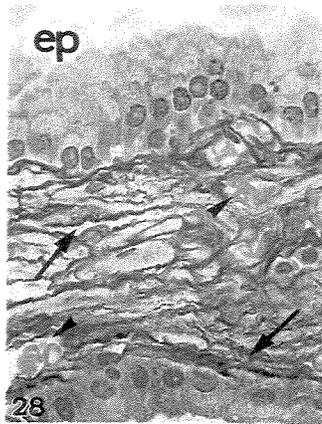
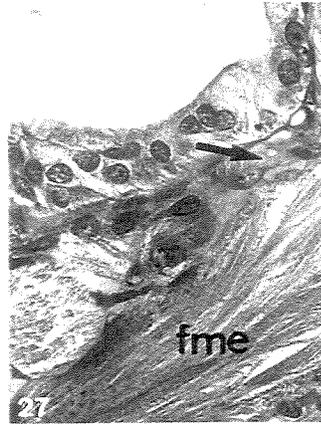
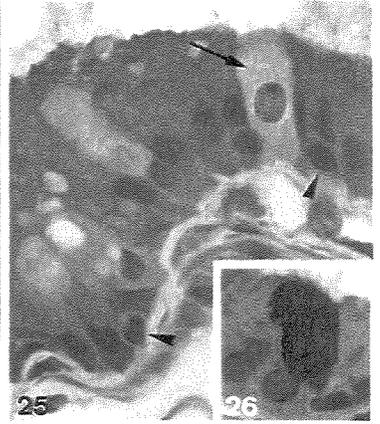
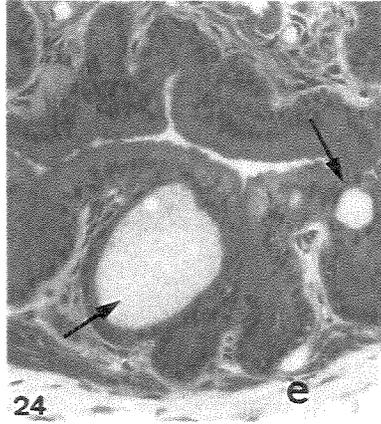
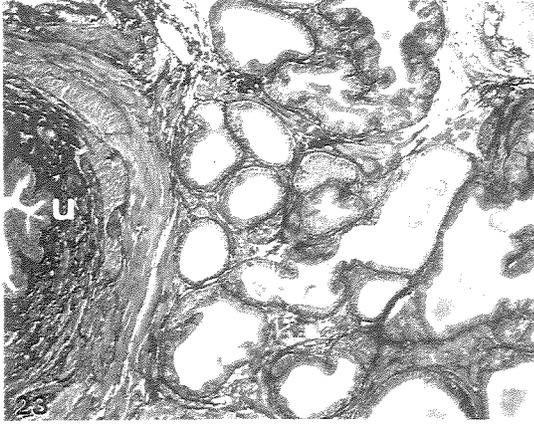
Figuras 23 - 30: *Cortes histológicos das próstatas femininas tratadas com testosterona por 14 dias.* Fig. 23 – Visão geral da próstata feminina ao lado da uretra (u). A próstata se mantém desenvolvida nesta fase. Coloração: Picrossírius-Hematoxilina. Aumento: 75x. Fig. 24 – Detalhe de um ácino prostático com a formação de arcos intraepiteliais de diferentes tamanhos (setas). Coloração: HE. Aumento: 290x. Fig. 25 – Epitélio prostático com várias células basais (cabeça de seta) e células claras (seta). As células claras possuem citoplasma e núcleo volumosos. Coloração: HE. Aumento: 900x. Fig. 26 – Detalhe de uma célula secretora com o citoplasma repleto de secreção de caráter glicoprotéico. Coloração: P.A.S. Aumento: 900x. Fig. 27 – Disposição das fibras colágenas (seta) e musculares estriadas esqueléticas (fme) no estroma prostático. Nesta fase ocorre um grande desenvolvimento das fibras musculares estriadas. Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento: 580x. Fig. 28 – Fibras reticulares (setas) posicionadas nos espaços interacinares. Estas fibras são finas, sinuosas e muito abundantes nesta fase, se organizando em diversas camadas paralelas na base do epitélio (ep). Vasos de pequeno calibre são encontrados entremeados às fibras (cabeça de seta). Coloração: Reticulina de Gömori. Aumento: 580x. Fig. 29 – Visão de um ducto circundado

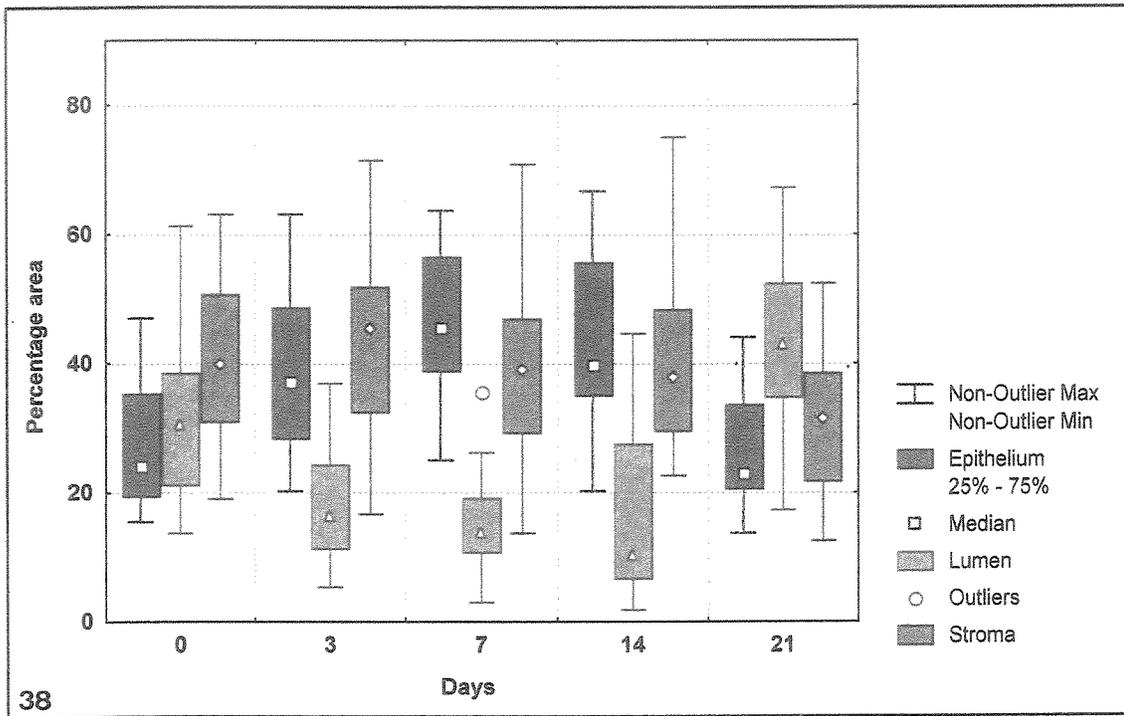
por finas e delicadas fibras elásticas (setas). Estas fibras dispõem-se espaçadamente em diversas direções. Coloração: Resorcina-Fucsina de Weigert. Aumento: 580x. Fig. 30 – Células secretoras claras coradas intensamente pelo reativo de Schiff. Coloração: P.A.S. Aumento: 900x. **Figuras 31 - 37:** *Cortes histológicos da próstata feminina tratada com testosterona por 21 dias.* Fig. 31 – Visão geral das porções glandular (g) e ductal (d) da próstata feminina. Observe a delgada camada epitelial (seta) que encerra um abundante lúmen prostático. Coloração: HE. Aumento: 120x. Fig. 32 – Detalhe do epitélio prostático contendo uma grande quantidade de células secretoras claras (setas). Fibra muscular lisa (cabeça de seta). Coloração: HE. Aumento: 580x. Fig. 33 – Detalhe do epitélio demonstrando a grande área cromófoba correspondente à região ocupada pelo Complexo de Golgi (*). Coloração: Azul de Toluídina. Aumento: 725x. Fig. 34 – Distribuição das sinuosas fibras reticulares (setas) que formam camadas concêntricas ao redor do ácino prostático. Coloração: Reticulina de Gömori. Aumento: 580x. Fig. 35 – Disposição variada das fibras elásticas (setas) no estroma prostático. Epitélio (ep). Coloração: Resorcina-Fucsina de Weigert. Aumento: 580x. Fig. 36 - Marcação da secreção prostática no lúmen da glândula (*) e no citoplasma supranuclear das células secretoras claras. A grande quantidade de marcações reflete o grande número de células secretoras claras nesta fase. Coloração: P.A.S. Aumento: 360x. Fig. 37 – Secreção glicoprotéica no lúmen da glândula (*). Coloração: P.A.S. Aumento: 580x.

Figura 38. *Representação gráfica em Box Plot de medianas da frequência relativa dos compartimentos teciduais das próstatas femininas tratadas pela testosterona.* O epitélio, lúmen e o estroma estão representados sequencialmente em cada uma das fases do tratamento. Os dias indicam o tempo de administração do hormônio, onde 0 = controle. As plotagens referem-se aos 20 campos prostáticos medidos em cada fase do experimento.









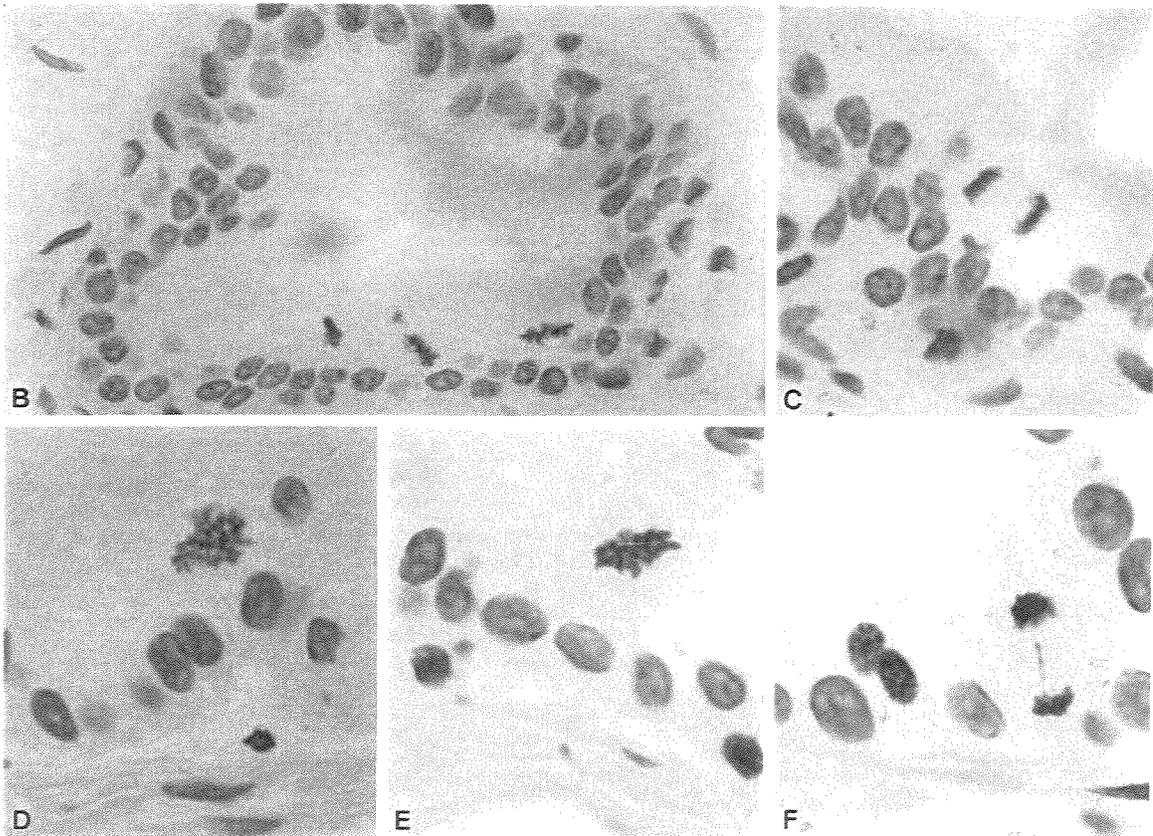
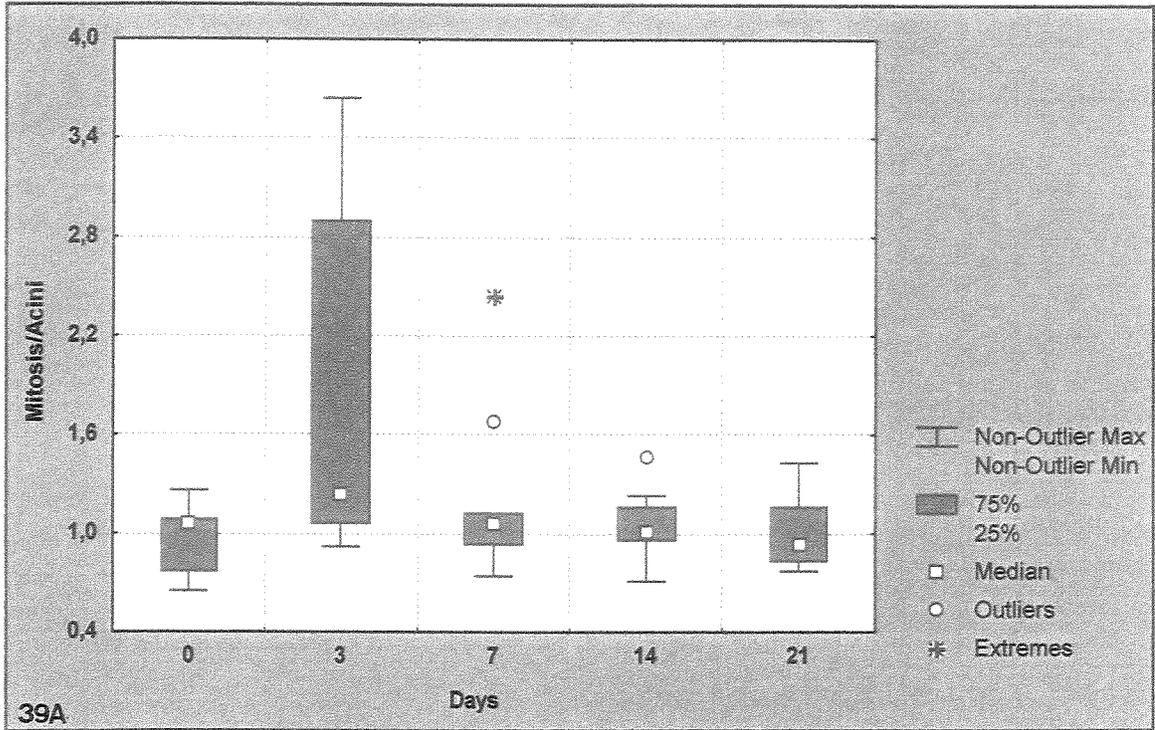


Tabela 1. Dados da estatística descritiva, referentes à frequência relativa dos compartimentos teciduais da próstata feminina do gerbilo durante todas as fases do tratamento. EP = epitélio, LU = lúmen, ES = estroma, T = testosterona. * alterações altamente significativas com $p = 0,0000001$. a,b,c = superíndices diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos.

		Controle	3 dias T	7 dias T	14 dias T	21 dias T
Média	EP*	27,50 ^a	38,72 ^b	46,34 ^c	43,04 ^c	26,34 ^a
	LU	31,90	17,97	14,88	16,97	42,71
	ES	40,60	43,31	38,78	40	30,95
Mediana	EP	24,11	36,91	45,54	39,59	22,92
	LU	30,6	16,07	13,70	12,59	42,48
	ES	38,46	43,38	38,44	37,80	31,25
Mínimo	EP	15,74	20,24	25	20,24	13,69
	LU	13,69	5,36	2,98	1,80	17,26
	ES	19,06	16,67	13,69	22,62	12,5
Máximo	EP	47,02	63,09	63,69	66,67	44,05
	LU	61,31	36,09	35,72	44,64	67,26
	ES	63,10	71,43	70,83	75	52,38
Desvio padrão	EP	9,82	12,05	10,20	13,38	9,01
	LU	13,78	9	8,12	13,28	12,82
	ES	13,48	14,07	14,11	13,55	10,76
Erro padrão	EP	2,20	2,70	2,28	2,99	2,01
	LU	3,08	2,01	1,82	2,97	2,87
	ES	3,01	3,14	3,16	3,03	2,41

1. A próstata de fêmeas adultas do gerbilo *Meriones unguiculatus* possui uma localização parauretral, podendo ser considerada morfológicamente semelhante à próstata feminina humana e homóloga à próstata ventral do gerbilo macho e de outros roedores, sendo formada por um pequeno conjunto de ácinos e ductos inseridos em um tecido conjuntivo rico em células, fibras e vasos sanguíneos.
2. O epitélio secretor da próstata feminina é constituído por células secretoras e basais. As células secretoras exibem uma vasta quantidade de organelas como retículo endoplasmático rugoso, Complexo de Golgi e mitocôndrias, além de inúmeras vesículas secretoras polimórficas. Estas características demonstram a intensa atividade secretora destas células na glândula.
3. O estroma da próstata feminina é muito abundante, apresentando uma grande quantidade de fibroblastos e de células musculares estriadas esqueléticas e lisas, que sintetizam continuamente os elementos da matriz extracelular. Dentre estes elementos destacam-se as fibras colágenas, reticulares e elásticas, que distribuem-se na base do epitélio dos ácinos e ductos.
4. A presença de um epitélio secretor diferenciado, capaz de sintetizar continuamente uma secreção de caráter glicoprotéico, constitui uma forte evidência da atividade funcional e da

maturidade da próstata feminina. No entanto, ela mantém-se pouco desenvolvida durante toda a vida do indivíduo devido à carência dos estímulos androgênicos.

5. A próstata feminina sofreu um intenso desenvolvimento no início da administração de testosterona, chegando a quase quadruplicar seu número médio de ácinos e ductos.
6. Na 1^o semana de tratamento, a testosterona provocou um significativo desenvolvimento da área relativa de epitélio prostático. No entanto, aos 21 dias de tratamento ocorreu uma sucessiva regressão do epitélio, que praticamente restabeleceu sua área inicial de ocupação. O estroma prostático não sofreu alterações significativas em sua frequência relativa durante o período de administração hormonal. Contudo, ele tornou-se mais denso, apresentando uma maior quantidade de fibras, células e vasos sanguíneos.
7. As características morfológicas da próstata feminina na etapa final do tratamento aproximaram-se das características da próstata normal, indicando que a ação androgênica tornou-se menos efetiva ao fim do experimento. Isso sugere que a exposição contínua a altos níveis de testosterona pode ter ativado sistemas reguladores endógenos, no sentido de restabelecer o equilíbrio hormonal interno do organismo, o que conseqüentemente diminuiu o estímulo androgênico sobre a próstata feminina.

- CARVALHO, H.F. & LINE, S.R.P. 1996. Basement membrane associated changes in the rat ventral prostate following castration. **Cell Biol. Int.**, **20**: 809-819.
- DODSON, M.K.; CLIBY, W.A.; PETTAVEL, P.P.; KEENEY, G.L.; PODRATZ, K.C. 1995. Female urethral adenocarcinoma: evidence for more than one tissue of origin? **Gynecol Oncol**, **59(3)**:352-357.
- DROLLER, M.J. 1997. Medical approaches in the management of prostatic disease. **Br. J. Urol.**, **79**:42-52.
- GHANADIAN, R.; LEWIS, J.G. and CHISHOLM, G.D. 1977. Androgen concentration in prostate and serum of the female and female *Praomys* (*Mastomys*) *Natalensis*. **Invest Urol** **15**: 212-214.
- GROSS, S.A. & DIDIO, L.J.A. 1987 Comparative morphology of the prostate in adult male and female of *Praomys* (*mastomys*) *natalensis* studies with electron microscopy. **J. Submicrosc. Cytol.**, **19 (1)**: 77-84.
- HAYWARD, S.W., ROSEN, M.A. & CUNHA, G.R. 1997. Stromal-epithelial interactions in the normal and neoplastic prostate. **Br J Urol**, **79 (Suppl)**: 18-26.
- JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. 1999. **Histologia Básica**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 8ed., 433p.
- KARR, J.F.; KANTOR, J.A.; HAND, P.H.; EGGENSPERGER, D.L. & SCHOLM, J. 1995. The presence of prostate-specific antigen-related genes in primates and the expression of recombinant human prostate-specific antigen in a transfected murine cell line. **Cancer Res.**, **55**: 2455-2462.

- MOORE, K.L. 1990. **Fundamentos da embriologia humana**. Editora Manole, São Paulo, 194p.
- MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N.; SHIOTA, K. 2002. **Atlas de embriologia clínica**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2ª edição, 284p.
- POLLEN, J. J. & DREILINGER, A., 1984. Immunohistochemical identification of prostatic acid phosphatase and prostate specific antigen in female periurethral glands. **Urology** 23: 303-304
- PRICE, D. 1963. Comparative aspects of development and structure in the prostate. **Nat. Can. Inst. Monogr.**, 12: 1-27.
- REESE, J.H.; McNEAL, J.E.; REDWINE, E.A.; SAMLOFF, I.M. & STAMEY, T.A. 1986. Differential distribution of pepsinogen II between the zones of the human prostate and seminal vesicle. **J. Urol.**, 136: 1148-1152.
- ROSAI, J. 1996. Male reproductive system. In: J. Rosai ed. **Ackerman's Surgical Pathology**. Mosby-Year, INC., 8ed., St.Louis-USA, 1: 1221-1256.
- ROSS, M.H.; REITH, E.J. & ROMRELL, L.J. 1993. **Histologia - Texto e Atlas**. Panamericana, 2ed, RJ., 779p.
- SHEHATA, R. 1975. Female prostate in *Arvicantihis niloticus* and *Meriones hybicus*. **Acta Anat.**, 92: 513-523.
- SHEHATA, R. 1980. Female prostate and urethral glands in the home rat, *Rattus norvegicus*. **Acta Anat.**, 107: 286-288.
- STAUB, N.L. and BEER, M.D. 1997. The role of androgens in female vertebrates. **Gen. Compar. Endocrinology**, 108: 1-24.

- TEPPER, S.L.; JAGIRDAR, J.; HEATH, D.; GELLER, S.A. 1984. Homology between the female paraurethral (Skene's) glands and the prostate. *Arch Pathol Lab Med*, **108(5)**: 423-425.
- UZOARU, I.; AKANG, E.E.; AGHADIUNO, P.U.; NADIMPALLI, V.R. 1992. Benign cystic ovarian teratomas with prostatic tissue: a report of two cases. *Teratology*, **45(3)**:235-239.
- WERNET, N.; ALBRECHT, M.; SESTERHENN, I. 1992. The "female prostate": location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. *Eur Urology* **22**,64-69.
- ZAVIACIC, M.; DANIHEL, L.; RUZICKOVÁ, J.; ITOH, Y.; OKUTANI, R.; KAWAI, T. 1997a. Immunohistochemical localization of human protein 1 in the female prostate (Skene's Gland) and the male prostate. *Histochem J*, **29(3)**: 219-227.
- ZAVIACIC, M., RUZICKOVÁ, J.; BLAZEKOVÁ, T.; ZAVIACIC, T.; ITOH, Y.; OKUTANI, R.; KAWAI, T. 1997b. Immunohistochemical distribution of rabbit polyclonal antiurinary protein 1 antibody in the female (Skene's) and male prostate: new marker for neuroendocrine cells? *Acta Histochem*, **99(3)**: 267-275.
- ZAVIACIC, M.; ABLIN, R.J. 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(1)**:131-142.
- ZAVIACIC, M.; ZAJICHOVÁ, M.; BLAZEKOVÁ, J., DONÁROVÁ, L. 2000a. Weight, size, macroanatomy, and histology of the normal prostate in the adult human female: a minireview. *Journal of Histotechnology*, **23(1)**: 61-69.
- ZAVIACIC, M.; JAKUBOVSKÁ, V.; BREZA, J. 2000b. Ultrastructure of the normal adult human female prostate gland (Skene's gland). *Anat Embriol (Berl)* **201(1)**: 51-61.