

# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,  
o texto completo desta tese será  
disponibilizado somente a partir  
de 10/03/2024



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de São José do Rio Preto

Luiz Henrique Alves Guerra

**A influência do consumo de óleo de coco na próstata de Gerbilos de  
Mongólia durante o envelhecimento e seu impacto na hiperplasia prostática  
benigna**

São José do Rio Preto

2022

Luiz Henrique Alves Guerra

**A influência do consumo de óleo de coco na próstata de Gerbilos de  
Mongólia durante o envelhecimento e seu impacto na hiperplasia prostática  
benigna**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Patrícia Simone Leite  
Vilamaior

Coorientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marília de Freitas Calmon

São José do Rio Preto

2022

G934i

Guerra, Luiz Henrique Alves

A influência do consumo de óleo de coco na próstata de Gerbilos de Mongólia durante o envelhecimento e seu impacto na hiperplasia prostática benigna / Luiz Henrique Alves Guerra. -- São José do Rio Preto, 2022

127 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Patrícia Simone Leite Vilamaior

Coorientadora: Marília de Freitas Calmon

1. Morfologia. 2. Próstata. 3. Envelhecimento. 4. Hiperplasia prostática benigna. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Luiz Henrique Alves Guerra

**A influência do consumo de óleo de coco na próstata de Gerbilos de  
Mongólia durante o envelhecimento e seu impacto na hiperplasia prostática  
benigna**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Patrícia Simone Leite Vilamaior  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto  
Orientadora

Prof. Dr. Marcio Alberto Torsoni  
UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Carolina Panis  
UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Raquel Fantin Domeniconi  
UNESP – Câmpus de Botucatu

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cleida Aparecida de Oliveira  
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

São José do Rio Preto  
10 de março de 2022

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu porto seguro, que sempre me inspirou a conquistar novos mares, minha mãe Sueli.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luiz e Sueli, por dedicarem a maior parte de suas vidas em prol da minha educação, por todo afeto e princípios transferidos a mim e por sonharem com um futuro lindo para aquele bebê que entrou na vida de deles em 1989. Também agradeço ao meu irmão, Matheus, pelo incentivo e socorro em todas as vezes que precisei.

Aos meus tios Maria Inez e Alair, por me acolherem como um filho em todos esses anos, pelo carinho, companheirismo e torcida. Agradeço também aos meus primos Leonardo e Nicole, os quais tenho como meus irmãos, por todo respeito e paciência em dividir o lar e os pais de vocês comigo.

À minha orientadora Profa. Dra. Patrícia Simone Leite Vilamaior pela oportunidade, confiança, paciência e o conhecimento transferido a mim em todos esses anos. Obrigado por acreditar em mim, rir e sofrer junto comigo nessa jornada. Especialmente, agradeço pela amizade construída, a qual levarei comigo por toda a vida.

À minha coorientadora Profa. Dra. Marília de Freitas Calmon, por me receber e sempre me socorrer no Laboratório de Estudos Genômicos. Agradeço pela disponibilidade, paciência, ensinamentos e amizade.

Ao Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga, por abrir as portas e me receber todos os dias com um sorriso no rosto no laboratório de Microscopia e Microanálise. Obrigado por sempre me incentivar e por todos os ensinamentos. A convivência em todos esses anos resultou em mim, uma profunda admiração e amizade.

Aos membros da comissão examinadora do Exame de Qualificação, Profa. Dra. Fernanda Cristina Alcântara dos Santos e Profa. Dra. Valéria Helena Alves Cagnon Quitete, pelas correções e sugestões na análise dos resultados prévios da tese.

Aos membros titulares e suplentes da comissão examinadora Prof. Dr. Marcio Alberto Torsoni, Profa. Dra. Carolina Panis, Profa. Dra. Raquel Fantin Domeniconi, Profa. Dra. Cleida Aparecida de Oliveira, Profa. Dra. Ana Paula da Silva Perez, Profa. Dra. Ana Claudia Polli Lopes e Profa. Dra. Giovana Rampazzo Teixeira pela disponibilidade em participar do exame de defesa, por se dedicarem na leitura e pelas contribuições para o enriquecimento deste estudo.

Ao programa de Pós-Graduação em Biociências, ao departamento de Biologia e à Seção Técnica de Pós-Graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço.

Às minhas “irmãs acadêmicas” Nayara e Fernanda, que sempre me ajudaram em todas as etapas desse trabalho. Obrigado por me socorrerem sempre e por serem muitas vezes minha agenda pessoal e meus protocolos. Agradeço por todas as gargalhadas, mesmo nos momentos de desespero, que amenizaram todas as angústias que fazem parte do percurso do curso de doutorado.

As minhas amigas e colaboradoras Silvana e Ellen, pela amizade, por acreditarem em mim, terem paciência e por todas as parcerias e contribuições ao logo desses anos.

Aos colegas, que estão ou que já passaram pelo LMM e por outros laboratórios do IBILCE: Ágata, Ariele, Bruno, Carol Negrin, Carolzona, Guilherme Campos, Gustavo, Julia, Juliana, Luana, Mariana, Maria Letícia, Simone, Thalles e Vanessa. Obrigado pela ajuda e muitos cafés

e almoços, que fizeram da rotina no laboratório sempre momentos divertidos. Em especial aos amigos Carol Bedolo e Julia, pelos desabafos e prontidão em me ajudar sempre que precisei.

Aos meus coorientandos, Mariele e Vitor, por me ensinarem tanto, pela confiança, paciência e por toda ajuda durante a realização dos meus experimentos. Foi uma honra poder fazer parte da formação de vocês.

Ao técnico Luiz Roberto Falleiros Junior pelo auxílio em diversas etapas do trabalho, pela amizade e por tornar a rotina no laboratório mais divertida.

À Stella e Profa. Mariella Freitas pela colaboração nas análises do estresse oxidativo e à profa. Dra. Fátima de Souza e à Raquel pela permissão e auxílio no uso do espectrofotômetro.

Às professoras Dra. Paula Rahal, Dra. Eliane Gonçalves e Dra. Mary Itoyama que, em meio a tantas portas fechadas que encontrei no Instituto, abriram as portas de seus laboratórios e me receberam com carinho. O exemplo das senhoras sempre será lembrado por mim do exercício da minha profissão.

À minha querida amiga Ana Gauy, por sempre me apoiar, estar sempre do meu lado desde o primeiro ano da graduação e por toda disponibilidade na realização de experimentos e contribuição no artigo extra dessa tese.

Ao meu amigo Guilherme, por todas as tentativas em tantos experimentos mirabolantes, quase sempre sem sucesso e por sempre me encorajar em sair da minha zona de conforto. Obrigado pelas viagens, cafés e jantares especiais, por sempre me apoiar e pela revisão do inglês dos capítulos desse trabalho.

Aos meus amigos Wesley, Adriano, Safi, Jéssica, Daniel e Gustavo, por estarem sempre comigo nesses anos, por todas as cervejas (necessárias!!), conversas até altas horas e por compreenderem minha ausência em muitos momentos.

Aos amigos que fiz quando trabalhei como caixa de supermercado no começo do doutorado, Bianca, Marcos, Edjan e Rô, por me apoiarem em um momento muito difícil na realização desse trabalho. Agradeço por desculparem minha ausência sem mesmo compreender o porquê dela e por todos os momentos divertidos.

Às minhas amigas Larissa e Marília, por fazerem parte da minha vida, por toda amizade, incentivo e pela torcida que vocês sempre tiveram pelo meu sucesso. Agradeço por sempre estarem prontas pra me socorrer e por entenderem tantas vezes minha ausência.

Aos meus amigos de Buritama, que sempre brigarem comigo por não estar presente, Renata, Douglas, Monise e Gilson. Obrigado pela amizade, apoio e por tantos momentos divertidos.

À minha família, meus avós, tios e primos, por sempre me apoiarem e pela prontidão em me ajudar ao longo desses anos.

Ao Prof. Dr. Peter James Harris pela revisão final, da língua inglesa, dos manuscritos gerados nesse estudo.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse concluído.

## EPÍGRAFE

"Não sei o que possa parecer aos olhos do mundo, mas aos meus pareço apenas ter sido como um menino brincando na praia, e me distraíndo de vez em quando encontrando uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita do que o comum, enquanto o grande oceano da verdade estava ainda por ser descoberto diante de mim..."

(BREWSTER, 1855, p 405)

## RESUMO

A próstata é uma glândula altamente responsiva a alterações hormonais e conseqüentemente ao envelhecimento, uma vez que indivíduos idosos apresentam níveis diminuídos de andrógenos. Uma das respostas da próstata frente ao processo de envelhecimento é o desenvolvimento de hiperplasia prostática benigna (HPB). Essa patologia é altamente relacionada com aumento de inflamação e de estresse oxidativo e esses, por sua vez, aumentam durante o envelhecimento. O uso de terapias alternativas como tratamento para a HPB vem crescendo e tem demonstrado efeitos benéficos à próstata, sem os danosos efeitos colaterais das drogas sintéticas comumente utilizadas. Algumas propriedades do óleo de coco, como antioxidante e anti-inflamatória fazem dele um candidato para o tratamento alternativo de doenças prostáticas, e ainda esse óleo se mostrou capaz de interferir na HPB induzida por testosterona. Entretanto, até o momento, não havia nenhum estudo detalhado sobre o efeito do consumo do óleo de coco durante o envelhecimento e das respostas morfofisiológicas na próstata. Sendo assim, o presente trabalho avaliou os efeitos do consumo de óleo de coco durante o envelhecimento na morfologia prostática, bem como seus efeitos na HPB espontânea e sua relação com fatores intimamente associados a essa doença como o processo inflamatório e o estresse oxidativo. Para tal foram utilizados gerbilos machos adultos submetidos a três diferentes condições experimentais: animais que não receberam nenhum tratamento durante um ano (grupo IC), animais que receberam água (0,1ml), em dias alternados, durante um ano (grupo GC) e animais que receberam óleo de coco 0,1ml), em dias alternados, durante um ano (grupo CO) e as administrações foram via gavagem. Foram realizadas análises morfológicas, morfométricas, estereológicas, imuno-histoquímicas, sorológicas, da expressão de proteínas, citocinas e avaliação do estresse oxidativo na próstata ventral. Os resultados mostraram que a manipulação dos animais no procedimento de gavagem durante o envelhecimento agravaram as lesões prostáticas, aumentaram a expressão de receptores hormonais e aumentam a espessura e a proliferação de células do estroma muscular. Esse procedimento também interferiu na população de macrófagos e na expressão de citocinas pró-inflamatórias, metaloproteinases, além de aumentar o estresse oxidativo. Já o consumo de óleo de coco atenuou ou inibiu essas alterações relacionadas ao envelhecimento e intensificadas pelo procedimento de gavagem. Assim, o consumo de óleo de coco durante o envelhecimento resultou em efeitos favoráveis ao uso desse óleo como agente fitoterápico no tratamento de HPB.

**Palavras-chave:** Próstata. Envelhecimento. Hiperplasia. Óleo de coco. Gerbilos.

## ABSTRACT

The prostate gland is highly responsive to hormonal changes and thus to aging since elderly individuals present lower androgen concentrations. One of the prostate responses to the aging process is the development of benign prostatic hyperplasia (BPH). This pathology is closely linked to increases in inflammation and oxidative stress, and these both increase during aging. The employment of alternative therapies as BPH treatment has been growing and has shown positive effects on the prostate, without the harmful secondary effects caused by the commonly available synthetic drugs. Some coconut oil properties, such as antioxidant and anti-inflammatory properties make it a candidate for alternative therapy to treat prostate diseases, and this oil has been shown to interfere with testosterone-induced BPH. However, until now, there was no detailed study about the effect of coconut oil consumption over aging and the morpho-physiological responses on the prostate. Thus, the present study assessed the effects of coconut oil consumption throughout aging on the prostatic morphology, as well as its effects on naturally occurring BPH and its interaction with factors closely associated with this disease, such as the inflammatory process and oxidative stress. For this purpose, adult male gerbils were submitted to three different experimental conditions: animals without any treatment for one year (IC group), animals which received water (0.1ml), every other day, for one year (CG group), and animals which received coconut oil 0.1ml), every other day, for one year (CO group). We performed a series of analyses of morphological, morphometric, stereological, immunohistochemical, serological, protein, and cytokine expression and evaluation of oxidative stress in the ventral prostate. The results showed that animal handling in the gavage procedure throughout aging aggravated the prostatic lesions, increased the hormone receptor expression, and increased the thickness and the proliferation of the muscular stroma. This procedure also influenced the macrophage population and the expression of pro-inflammatory cytokines, metalloproteinases, in addition to increasing oxidative stress. Coconut oil consumption, in contrast, attenuated or inhibited these age-related alterations intensified by the gavage procedure. Thus, coconut oil consumption over aging resulted in supportive data for the use of this oil as a phytotherapeutic agent in the HPB treatment.

**Keywords:** Prostate. Ageing. Hyperplasia. Coconut oil. Gerbil.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Introdução

Figura 1 – Posição anatômica da próstata	16
Figura 2 – Desenho esquemático do complexo prostático e lobos prostáticos de rato isolados	17
Figura 3 – Esquema ilustrativo e fotomicrografias do ácino e epitélio prostático	19
Figura 4 – Esquema dos principais componentes do estroma	19
Figura 5 – Esquema da ação de andrógenos e de fatores de crescimento na proliferação e na morte celular prostática	21
Figura 6 – Complexo prostático do Gerbilo da Mongólia adulto em esquema e órgão fresco	24

### Artigo 1

Figura 1 – Lesões prostáticas observadas em gerbilos idosos	49
Figura 2 – Componentes fibrilares dos tecidos da próstata	50
Figura 3 – Análise da incidência e multiplicidade das lesões na próstata de Gerbilo da Mongólia	50
Figura 4 – Imuno-histoquímica, frequência de células positivas para e índice de proliferação de fosfo-histona H3 e TUNEL	51
Figura 5 – Imuno-histoquímica, frequência de células positivas e densidade relativa do receptor de andrógeno	52
Figura 6 – Imuno-histoquímica, frequência de células positivas e densidade relativa do receptor de estrógeno beta	53
Figura 7 – Imuno-histoquímica, frequência de células positivas e densidade relativa do receptor de estrógeno alfa	54

### Artigo 2

Figura 1 – Secções histológicas da próstata de gerbilo e quantificação de focos inflamatórios	78
Figura 2 – Imuno-histoquímica de macrófagos F4/80, CD68, CD163, a ciclo-oxigenase 2 e STAT-3-fosfatada	79
Figura 3 – Quantificação de células positivas para macrófagos F4/80, CD68, CD163, a ciclo-oxigenase 2 e STAT-3-fosfatada	80

Figura 4 – Concentração de Interleucina-6 e Fator de Necrose Tumoral alfa	81
Figura 5 – Densidade relativa de metaloproteinases 2, 3 e 9	81

### Artigo 3

Figura 1 – Secções e crio-secções da próstata de gerbilos; Quantificação de lipídios intracelulares e lipofuscina	93
Figura 2 – Enzimas antioxidantes e índices de estresse oxidativo	94

### Anexo

Figura 1 – Histologia e ultraestrutura da próstata de gerbilos jovens	124
Figura 2 – Histologia e ultraestrutura da próstata de gerbilos adultos	125
Figura 3 – Histologia e ultraestrutura da próstata de gerbilos idosos	126
Figura 4 – Esquema das principais características morfológicas de gerbilos em três períodos do tempo de vida	127

## LISTA DE TABELAS

### Artigo 1

Tabela 1 – Parâmetros biométricos e endócrinos de gerbilos dos diferentes grupos experimentais 47

Tabela 2 – Parâmetros morfológicos de Gerbilos da Mongólia dos diferentes grupos experimentais 48

### Artigo 3

Tabela 1 – Perfil lipídico dos diferentes grupos experimentais 92

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	Receptor de andrógeno
CML	Células musculares lisas
CP	Câncer de próstata
DHT	Di-hidrotestosterona
ERO	Espécie reativa de oxigênio
ER $\alpha$	Receptor de estrógeno tipo alfa
ER $\beta$	Receptor de estrógeno tipo beta
HPA	Hipotalâmico-pituitário-adrenal
HPB	Hiperplasia prostática benigna
HPG	Hipotalâmico-pituitário-gonadal
MEC	Matriz extracelular
MMP	Metaloproteinase
PAP	Fosfatase ácida prostática
PIN	Neoplasia intraepitelial
PSA	Antígeno prostático específico

## SUMÁRIO

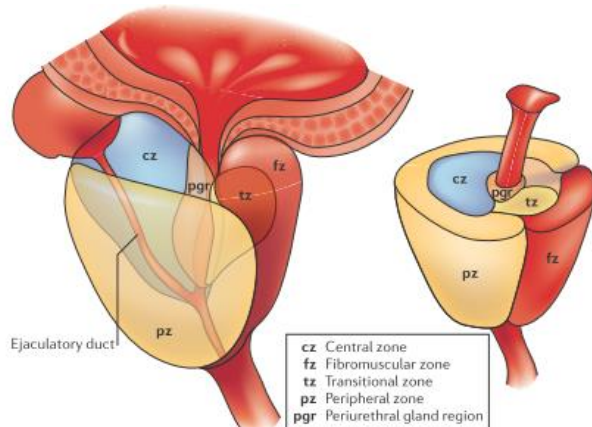
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1	<b>A Próstata</b> .....	16
1.1.1	Características gerais .....	16
1.1.2	Controle hormonal .....	20
1.2	<b>Hiperplasia Prostática Benigna</b> .....	21
1.2.1	Inflamação .....	22
1.2.2	Estresse Oxidativo .....	22
1.2.3	Estresse Psicológico .....	23
1.3	<b>Gerbilo da Mongólia</b> .....	23
1.4	<b>Fitoterapia</b> .....	25
1.4.1	Óleo de coco .....	25
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	26
<b>3</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	27
<b>4</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	28
4.1	<b>Objetivo Geral</b> .....	28
4.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	28
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	29
5.1	<b>Capítulo 1 – Artigo 1.</b> .....	30
5.2	<b>Capítulo 2 – Artigo 2.</b> .....	55
5.3	<b>Capítulo 3 – Artigo 3.</b> .....	82
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO</b> .....	95
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	96
	<b>ANEXO</b> .....	105

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A Próstata

### 1.1.1 Características gerais

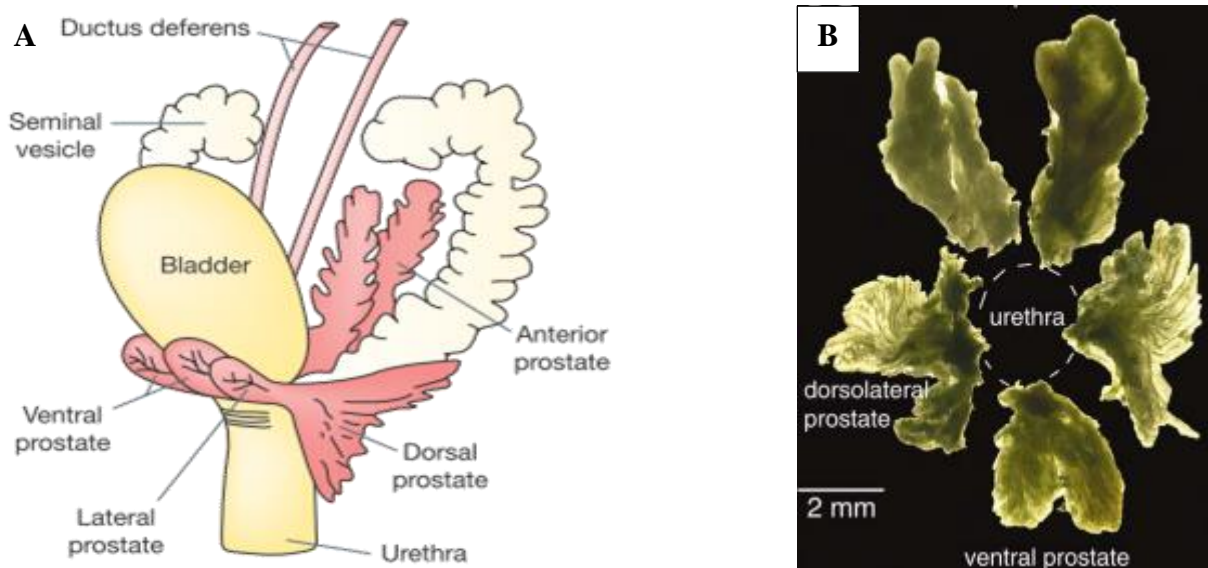
Um dos resultados da evolução do sistema reprodutivo e da competição de espermatozoides como pressão seletiva foi o surgimento da próstata (RAMM; PARKER; STOCKLEY, 2005). A próstata é órgão do sistema genital masculino é do tipo glandular e sua secreção é fundamental para o sucesso reprodutivo (MARKER et al., 2003a), uma vez que garante aos espermatozoides condições ideais de sobrevivência e viabilidade durante e após a ejaculação (TABOGA; VILAMAIOR; GÓES, 2009). Nas últimas décadas diversos estudos têm revelado que essa glândula não é exclusiva do organismo masculino, sendo encontrada em fêmeas de diversos mamíferos, incluindo humanos (SANTOS; TABOGA, 2006; WHIPPLE, 2002). No homem e na maioria dos animais, este órgão é localizado próximo ao colo da bexiga e à uretra, possui um componente glandular e um muscular (Fig.1) que permite realizar sua função de produzir e liberar a maior fração do fluido seminal (ALUKAL; LEPOR, 2016; UNTERGASSER; MADERSBACHER; BERGER, 2005).



**Figura 1.** Posição anatômica da próstata, localizada abaixo da bexiga e circundando a uretra. Em humanos, a próstata é dividida em zona central (cz), transicional (tz) e periférica (pz), além das regiões fibromuscular (fz) e periuretral (pgr). Fonte: Modificado de (VERZE; CAI; LORENZETTI, 2016) .

A próstata apresenta morfologia variável entre as classes de mamíferos, em roedores, por exemplo, lobos distintos bilateralmente simétricos compõem o complexo prostático que circunda a uretra na base da bexiga, são designados como o lobos ventral, lateral, dorsal e ainda, associados às glândulas seminais, o lobo anterior ou glândula coaguladora (PRICE, 1963) (Fig. 2). O lobo ventral é o componente mais utilizado do complexo prostático em estudos para compreender a biologia da próstata (JESIK; HOLLAND; LEE, 1982). Essa preferência deve-

se ao seu tamanho, à sua sensibilidade à ação de andrógenos, e maior incidência de hiperplasia e outras lesões nesta região da próstata (BANERJEE et al., 1998; SHAPPELL et al., 2004).

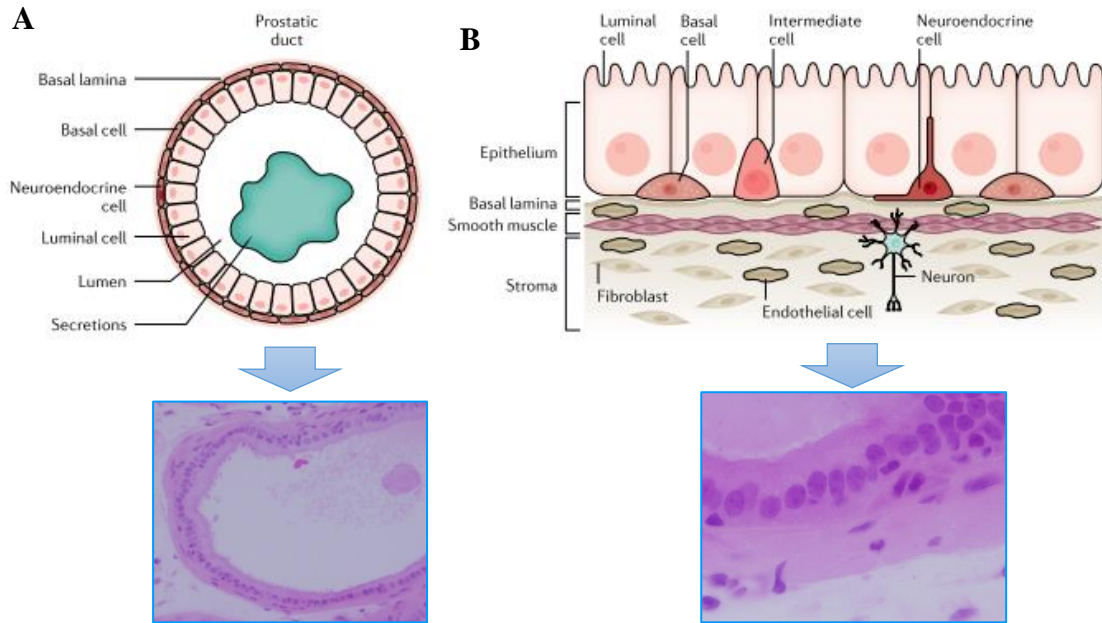


**Figura 2.** A: Desenho esquemático do complexo prostático de rato circundando a bexiga. B: Lobos prostáticos de rato isolados. Fonte: (AHMAD; SANSOM; LEUNG, 2008; MARKER et al., 2003b)

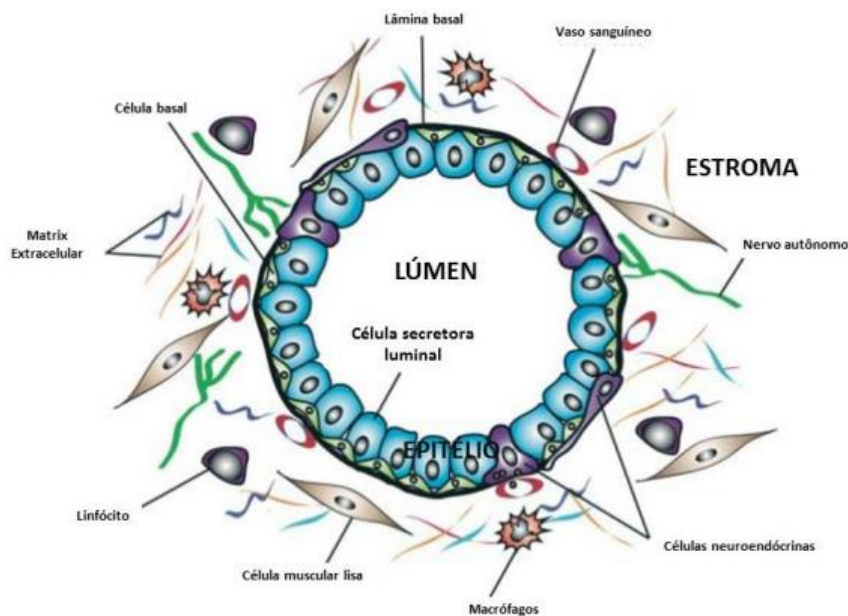
A próstata é classificada histologicamente como uma glândula túbulo-acinar composta, formada pelos compartimentos epitelial e estromal, que apresentam funções e populações celulares distintas, mas conservadas entre diferentes espécies como roedores, morcegos e humanos (ALBERNAZ et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2016; VERZE; CAI; LORENZETTI, 2016). A atividade secretora da próstata ocorre principalmente na porção alveolar, entretanto os ductos também podem secretar alguns componentes para o conteúdo final da secreção prostática (REESE et al., 1986). A secreção é sintetizada em um epitélio, organizado em ácinos, composto de quatro tipos de células: basal, secretora, intermediária e neuroendócrina que são dependentes de hormônios esteroides e reagem diferentemente a cada um. As células secretoras são os tipos mais frequentes e a elas compete a síntese e secreção de proteínas como o antígeno prostático específico (PSA) e a fosfatase ácida prostática (PAP) (MARKER et al., 2003b; RISBRIDGER; TAYLOR, 2006). Na maioria dos mamíferos, as células basais se localizam entre o epitélio secretor e a membrana basal e são fonte progenitora das células secretoras, já

as células neuroendócrinas são pouco frequentes e podem ser diferenciadas por técnicas específicas de coloração (MARKER et al., 2003a; REBELLO et al., 2021). Apesar das células secretoras, basais e as neuroendócrinas diferirem quanto à regulação hormonal, todas estão envolvidas na secreção de proteínas e substâncias de baixo peso molecular que também compõem o fluido prostático (BONKHOF; REMBERGER, 1998). As células epiteliais são separadas do estroma por uma lâmina basal (CZYŻ; SZPAK; MADEJA, 2012) (Fig3).

Os ácinos secretores e ductos são envolvidos por um estroma conjuntivo ricamente vascularizado (DE CARVALHO; TABOGA; VILAMAIOR, 1997). O estroma prostático consiste em um arranjo complexo de células musculares lisas (CML), que sofrem contração no processo de ejaculação (ROSS; PAWLINA, 1979), e fibroblastos imersos em uma matriz extracelular (MEC) (TUXHORN; AYALA; ROWLEY, 2001). Além de desempenhar um papel estrutural a CML e os fibroblastos são essenciais para a manutenção da homeostase da próstata, uma vez que produzem fatores autócrinos e parácrinos que regulam diversos processos fisiológicos no estroma (MARKER et al., 2003a; ROCHEL et al., 2007b). A atividade dessas células estromais mantém a estrutura básica da MEC sintetizando proteoglicanos (KOFOED et al., 1990), componentes de fibras colágenas e elásticas (DE CARVALHO; TABOGA; VILAMAIOR, 1997; VILAMAIOR et al., 2000) e metaloproteinases de MEC (MMPs) (KIANI et al., 2020) (Fig.4). Neste compartimento também se encontram células fagocitárias, como macrófagos e células endoteliais vasculares, além de telócitos, um tipo celular que faz intercomunicação entre as células estromais e participa do desenvolvimento e manutenção da próstata (SANCHES et al., 2017, 2021). O epitélio e o estroma compartilham características comuns em diferentes animais, independentemente de variações anatômicas da glândula, sendo assim, é possível fazer homologias e analogias morfo-funcionais entre animais de laboratório e o homem (PRICE, 1963).



**Figura 3. A:** Na parte superior é mostrado o esquema ilustrativo do ácino prostático composto por células epiteliais (indicadas como células luminais), basais, e neuroendócrinas dispostas sobre uma lâmina basal, e a secreção é armazenada no lúmen; na parte inferior é mostrado um ácino em um corte histológico da próstata de Gerbilo da Mongólia corado com HE. **B:** Esquema do epitélio secretor composto por células epiteliais (células luminais), basais, intermediárias e neuroendócrinas. Abaixo do epitélio é mostrado a lâmina basal e o estroma contendo células musculares lisas, fibroblastos e células endoteliais. Abaixo é mostrado o epitélio e estroma em um corte histológico da próstata de Gerbilo da Mongólia corado com HE. Fonte:Arquivo pessoal e (REBELLO et al., 2021) modificado.



**Figura 4.** Esquema dos principais componentes do estroma e do epitélio. Fonte: Modificado de (BARRON; ROWLEY, 2012)

## Conclusions

The prostate undergoes morphological changes throughout the life span. Recognizing these changes enables possible abnormalities to be diagnosed. Two histochemical techniques, Oil red O and Gömöri - Halmi, provide evidence for two ageing markers: the accumulation of lipid droplets and lipofuscin granules, respectively. The application of simple histochemical techniques can spotlight many of these morphological changes that occur throughout life, representing a useful and accessible tool in studies of ageing, in which the gerbil prostate is a suitable model for understanding the aspects involved in the ageing process.

**Acknowledgments:** The authors thank Mr Luiz Roberto Falleiros, Jr and all the researchers from the Laboratory of Microscopy and Microanalysis of IBILCE/UNESP for technical assistance. They are also grateful to Dr Ana Carolina dos Santos Gauy for assistance with graphic design and Professor Peter James Harris for the English language revision of the present paper. We acknowledge the financial support of Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES; Grant number: 001.

## References

- ALEXANDRE, S., SANTOS, A., CAROLINA, A., CAMARGO, L., CONSTANTINO, F. B., COLOMBELLI, K. T., MARCOS, L., PORTELA, F., FIORETTO, M. N., VIEIRA, C. S., PADILHA, P. M., OLIVEIRA, M. B. DE, LUIS, S., CARVALHO, R. F., JUSTULIN, L. A. & PAULO, S. (2020). Identification of potential molecular pathways involved in prostate carcinogenesis in offspring exposed to maternal malnutrition. 12, 1–25.
- ANGRIMANI, D. S. R., BRITO, M. M., RUI, B. R., NICHI, M. & VANNUCCHI, C. I. (2020). Reproductive and endocrinological effects of Benign Prostatic Hyperplasia and finasteride therapy in dogs. *Scientific Reports* 10, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71691-7>.
- BEHMER, O. A., TOLOSA, E. M. C. DE & FREITAS NETO, A. G. (1976). *Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica*. Washington, H. (Ed.). São Paulo: EDART-São Paulo Livraria Editora Ltda.

BIANCHI-FRIAS, D., VAKAR-LOPEZ, F., COLEMAN, I. M., PLYMATE, S. R., REED, M. J. & NELSON, P. S. (2010). The effects of ageing on the molecular and cellular composition of the prostate microenvironment. *PLoS ONE* 5, 1–16.

BRENNICK, J. B., O'CONNELL, J. X., DICKERSIN, G. R. & YOUNG, R. H. (1994). Lipofuscin Pigmentation (So-Called "Melanosis") of the Prostate. *The American Journal of Surgical Pathology* 18. [https://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/1994/05000/Lipofuscin\\_Pigmentation\\_\\_So\\_Called\\_\\_Melanosis\\_\\_of.3.aspx](https://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/1994/05000/Lipofuscin_Pigmentation__So_Called__Melanosis__of.3.aspx).

BRILEY, S. M., JASTI, S., MCCRACKEN, J. M., HORNICK, J. E., PRITCHARD, M. T. & DUNCAN, F. E. (2017). mammalian ovary. 152, 245–260.

CAMPOLINA-SILVA, G. H., WERNECK-GOMES, H., MARIA, B. T., BARATA, M. C., TORRES, M. J., CONTRERAS, H. R., MAHECHA, G. A. B. & OLIVEIRA, C. A. (2020). Targeting Wistar rat as a model for studying benign, premalignant and malignant lesions of the prostate. *Life Sciences* 242, 117149. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117149>.

CAMPOS, S. G. P., ZANETONI, C., SCARANO, W. R., VILAMAIOR, P. S. L. & TABOGA, S. R. (2008). Age-related histopathological lesions in the Mongolian gerbil ventral prostate as a good model for studies of spontaneous hormone-related disorders. *International Journal of Experimental Pathology* 89, 13–24.

DE CARVALHO, H. F., VILAMAIOR, P. S. L. & TABOGA, S. R. (1997). Elastic system of the rat ventral prostate and its modifications following orchietomy. *Prostate* 32, 27–34.

CHAN, J. K. C. (2014). The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology. *International Journal of Surgical Pathology* 22, 12–32.

COLEMAN, R. (2011). Picrosirius red staining revisited. *Acta Histochemica* 113, 231–233.

CORONA, G., VIGNOZZI, L., RASTRELLI, G., LOTTI, F., CIPRIANI, S. & MAGGI, M. (2014). Benign prostatic hyperplasia: A new metabolic disease of the ageing male and its correlation with sexual dysfunctions. *International Journal of Endocrinology* 2014.

CORRADI, L. S., CAMPOS, S. G. P., SANTOS, F. C. A., VILAMAIOR, P. S. L., GÓES, R. M. & TABOGA, S. R. (2009). Long-term inhibition of 5-alpha reductase and aromatase changes the cellular and extracellular compartments in gerbil ventral prostate at different postnatal ages. *International Journal of Experimental Pathology* 90, 79–94.

CORRADI, L. S., GÒES, R. M., CARVALHO, H. F. & TABOGA, S. R. (2004). Inhibition of 5- $\alpha$ -reductase activity induces stromal remodeling and smooth muscle de-differentiation in adult gerbil ventral prostate. *Differentiation* 72, 198–208.

CROWELL, P. D., GIAFAGLIONE, J. M., HASHIMOTO, T. & GOLDSTEIN, A. S. (2020). Distinct cell-types in the prostate share an ageing signature suggestive of metabolic reprogramming. *American journal of clinical and experimental urology* 8, 140–151. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32929410><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC7486537>.

CUNHA, G. R., HAYWARD, S. W., DAHIYA, R. & FOSTER, B. A. (1996). Smooth muscle-epithelial interactions in normal and neoplastic prostatic development. *Acta anatomica* 155, 63–72.

CUSTODIO, A. M. G., SANTOS, F. C. A., CAMPOS, S. G. P., VILAMAIOR, P. S. L., GÓES, R. M. & TABOGA, S. R. (2008). Ageing effects on the mongolian gerbil female prostate (Skene's paraurethral glands): Structural, ultrastructural, quantitative, and hormonal evaluations. *Anatomical Record* 291, 463–474.

CUSTODIO, A. M. G., SANTOS, F. C. A., CAMPOS, S. G. P., VILAMAIOR, P. S. L., OLIVEIRA, S. M., GÓES, R. M. & TABOGA, S. R. (2010). Disorders related with ageing in the gerbil female prostate (Skene's paraurethral glands). *International Journal of Experimental Pathology* 91, 132–143.

DAYAN, D., HISS, Y., HIRSHBERG, A., BUBIS, J. J. & WOLMAN, M. (1989). Are the polarization colors of Picrosirius red-stained collagen determined only by the diameter of the fibers? *Histochemistry* 93, 27–29.

FELDMAN, A. T. & WOLFE, D. (2014). Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.) 1180, 31–43.

GEORGAKOPOULOU, E. A., TSIMARATOU, K., EVANGELOU, K., FERNANDEZ, M. P. J., ZOUMPOURLIS, V., TROUGAKOS, I. P., KLETSAS, D., BARTEK, J., SERRANO, M. & GORGOULIS, V. G. (2013). Specific lipofuscin staining as a novel biomarker to detect replicative and stress-induced senescence. *A PORTA EA. 2002. Pigments in Ageing: An Overview. Ann N Y Acad Sci, 959(1):57–65 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb02083.x.method applicable in cryo-prese. Ageing 5, 37–50. https://www.ageing-us.com/article/100527.*

GÖMÖRI, G. (1937). Silver Impregnation of Reticulum in Paraffin Sections. *The American journal of pathology* 13, 993-1002.5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19970363><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1911151>.

JARA, M., CARBALLADA, R. & ESPONDA, P. (2004). Age-induced apoptosis in the male genital tract of the mouse. *Reproduction* 127, 359–366.

JUNQUEIRA, L. C. U., COSSERMELLI, W. & BRENTANI, R. (1978). Differential Staining of Collagens Type I, II and III by Sirius Red and Polarization Microscopy. *Archivum histologicum japonicum* 41, 267–274.

KÖNIG, J., OTT, C., HUGO, M., JUNG, T., BULTEAU, A.-L., GRUNE, T. & HÖHN, A. (2017). Mitochondrial contribution to lipofuscin formation. *Redox Biology* 11, 673–681. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231717300423>.

KOOPMAN, R., SCHAART, G. & HESSELINK, M. K. (2001). Optimisation of oil red O staining permits combination with immunofluorescence and automated quantification of lipids. *Histochemistry and Cell Biology* 116, 63–68.

LATTOUF, R., YOUNES, R., LUTOMSKI, D., NAAMAN, N., GODEAU, G., SENNI, K. & CHANGOTADE, S. (2014). Picosirius Red Staining: A Useful Tool to Appraise Collagen Networks in Normal and Pathological Tissues. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 62, 751–758.

LEE, C. H., AKIN-OLUGBADE, O. & KIRSCHENBAUM, A. (2011). Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 40, 565–575.

DE MAGALHÃES, J. P. (2013). How ageing processes influence cancer. *Nature Reviews Cancer* 13, 357–365. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc3497>.

MAH, C. Y., NASSAR, Z. D., SWINNEN, J. V. & BUTLER, L. M. (2020). Lipogenic effects of androgen signaling in normal and malignant prostate. *Asian Journal of Urology* 7, 258–270.

MAHMOODI, M., ZHANG, S., SALIM, S., HOU, J. S. & GARCIA, F. U. (2006). Lipofuscin pigment can be used as a prognostic marker in prostatic adenocarcinoma. *Annals of Diagnostic Pathology* 10, 257–262.

- MATEUS, P. A. M., KIDO, L. A., SILVA, R. S., CAGNON, V. H. A. & MONTICO, F. (2019). Association of anti-inflammatory and antiangiogenic therapies negatively influences prostate cancer progression in TRAMP mice. *Prostate* 79, 515–535.
- MCPHERSON, S. J., ELLEM, S. J. & RISBRIDGER, G. P. (2008). Estrogen-regulated development and differentiation of the prostate. *Differentiation* 76, 660–670.
- MITRA, R., LE, T. T., GORJALA, P. & GOODMAN, O. B. (2017). Positive regulation of prostate cancer cell growth by lipid droplet forming and processing enzymes DGAT1 and ABHD5. *BMC Cancer* 17, 1–12.
- MONTES, G. S. & JUNQUEIRA, L. C. (1991). The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 86 Suppl 3, 1–11.
- MORRISSEY, C., BUSER, A., SCOLARO, J., SULLIVAN, J. O., MOQUIN, A. M. Y. & TENNISWOOD, M. (2002). Ageing Sprague-Dawley Rats. 23.
- MÜNTZING, J. (1980). Androgen and collagen as growth regulators of the rat ventral prostate. *The Prostate* 1, 71–78.
- PEGORIN DE CAMPOS, S. G., ZANETONI, C., GÓES, R. M. & TABOGA, S. R. (2006). Biological behavior of the gerbil ventral prostate in three phases of postnatal development. The anatomical record. Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology 288, 723–733.
- PEGORIN DE CAMPOS, S. G., ZANETONI, C., GÓES, R. M. & TABOGA, S. R. (2006). Biological behavior of the gerbil ventral prostate in three phases of postnatal development. *Anatomical Record - Part A Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 288, 723–733.
- PINTO-FOCHI, M. E., NEGRIN, A. C., SCARANO, W. R., TABOGA, S. R. & GÓES, R. M. (2016). Sexual maturation of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): A histological, hormonal and spermatic evaluation. *Reproduction, Fertility and Development* 28, 815–823.
- PRATT, R. L. (2009). Are we throwing histology out with the microscope? A look at histology from the physician's perspective. *Anatomical Sciences Education* 2, 205–209.
- PUCHTLER, H. & WALDROP, F. S. (1978). Silver impregnation methods for reticulum fibers and reticulin: A re-investigation of their origins and specificity. *Histochemistry* 57, 177–187.

RASTRELLI, G., VIGNOZZI, L., CORONA, G. & MAGGI, M. (2019). Testosterone and Benign Prostatic Hyperplasia. *Sexual Medicine Reviews* 7, 259–271. <https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2018.10.006>.

REN, X., ZHANG, T., CHEN, X., WEI, X., TIAN, Y., LI, G., ZHANG, X., ZHANG, W., YOU, Z., WANG, S. & QIN, C. (2020). Early-life exposure to bisphenol A and reproductive-related outcomes in rodent models: A systematic review and meta-analysis. *Ageing* 12, 18099–18126.

ROEHRBORN, C. G. (2008). Pathology of benign prostatic hyperplasia. *International Journal of Impotence Research* 20.

ROMAN, M., WROBEL, T. P., PANEK, A., PALUSZKIEWICZ, C. & KWIA TEK, W. M. (2020). Lipid droplets in prostate cancer cells and effect of irradiation studied by Raman microspectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1865, 158753. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158753>.

ROSS, R. (1973). The elastic fiber. A review. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 21, 199–208.

DOS SANTOS, F. C. A., CARVALHO, H. F., GÓES, R. M. & TABOGA, S. R. (2003). Structure, histochemistry, and ultrastructure of the epithelium and stroma in the gerbil (*Meriones unguiculatus*) female prostate. *Tissue & cell* 35, 447–457.

SILVA, J. A. F., BRUNI-CARDOSO, A., AUGUSTO, T. M., DAMAS-SOUZA, D. M., BARBOSA, G. O., FELISBINO, S. L., STACH-MACHADO, D. R. & CARVALHO, H. F. (2018). Macrophage roles in the clearance of apoptotic cells and control of inflammation in the prostate gland after castration. *Prostate* 78, 95–103.

TABOGA, S. R. & DE CAMPOS VIDAL, B. (2003). Collagen fibers in human prostatic lesions: Histochemistry and anisotropies. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology* 35, 11–16.

TABOGA, S. R. & VIDAL, B. DE C. (2003). Collagen fibers in human prostatic lesions: histochemistry and anisotropies. *Journal of submicroscopic cytology and pathology* 35, 11–16.

TERMAN, A. & BRUNK, U. (2006). Damage Is a Result of Normal Metabolism Accumulate Because Their. *Ageing* 8, 197–204.

TERMAN, A. & BRUNK, U. T. (1998). Lipofuscin: Mechanisms of formation and increase with age. *Apmis* 106, 265–276.

TERMAN, A. & BRUNK, U. T. (2004). Lipofuscin. *The international journal of biochemistry & cell biology* 36, 1400–1404.

UNTERGASSER, G., MADERSBACHER, S. & BERGER, P. (2005). Benign prostatic hyperplasia: Age-related tissue-remodeling. *Experimental Gerontology* 40, 121–128.

VERZE, P., CAI, T. & LORENZETTI, S. (2016). The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nature Reviews Urology* 13, 379–386. <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2016.89>.

VILAMAIOR, P. S., FELISBINO, S. L., TABOGA, S. R. & CARVALHO, H. F. (2000). Collagen fiber reorganization in the rat ventral prostate following androgen deprivation: a possible role for smooth muscle cells. *The Prostate* 45, 253–258.

VILAMAIOR, PATRCIA S L, FELISBINO, S. L., TABOGA, S. R. & CARVALHO, H. F. (2000). Collagen fiber reorganization in the rat ventral prostate following androgen deprivation: A possible role for smooth muscle cells. *Prostate* 45, 253–258.

VILAMAIOR, P. S. L., TABOGA, S. R. & CARVALHO, H. F. (2005). Modulation of smooth muscle cell function: Morphological evidence for a contractile to synthetic transition in the rat ventral prostate after castration. *Cell Biology International* 29, 809–816.

VILAMAIOR, P. S. L., TABOGA, S. R. & CARVALHO, H. F. (2006). Postnatal growth of the ventral prostate in Wistar rats: A stereological and morphometrical study. *Anatomical Record - Part A Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 288, 885–892.

WANG, Y., GOULART, R. A. & PANTANOWITZ, L. (2011). Oil red O staining in cytopathology. *Diagnostic cytopathology* 39, 272–273.

WICK, M. R. (2012). Histochemistry as a tool in morphological analysis: A historical review. *Annals of Diagnostic Pathology* 16, 71–78.

WICK, M. R. (2019). The hematoxylin and eosin stain in anatomic pathology—An often-neglected focus of quality assurance in the laboratory. *Seminars in Diagnostic Pathology* 36, 303–311. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740257019300619>.