

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS
SÃO JOSÉ DO RIO PRETO – SP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

SABRINA SANTOS ROCHEL

VARIAÇÕES REGIONAIS E EFEITOS DA
CASTRAÇÃO NOS LOBOS DORSAL E VENTRAL DA
PRÓSTATA DO GERBILO DA MONGÓLIA (*Meriones
unguiculatus*)

Orientadora: **Prof^a. Dr^a. Rejane Maira Góes**
Co-orientadora: **Prof^a Dr^a Patrícia Simone Leite Vilamaior**

Dissertação apresentada ao Instituto
de Biociências, Letras e Ciências
Exatas, Universidade Estadual
Paulista, para obtenção do título de
Mestre em Biologia Animal.

DATA DA DEFESA: 22/02/2006

Banca Examinadora

TITULARES:

PROF^a. DR^a. REJANE MAIRA GÓES
(ORIENTADORA)

PROF. DR. CLASSIUS DE OLIVEIRA

PROF. DR. MARCELO MARTINEZ

SUPLENTES:

PROF^a. DR^a. MARIA TERCÍLIA VILELA DE AZEREDO OLIVEIRA

PROF^a. DR^a. MARIA ASTRIDE SAAD CORRADI

*“É melhor tentar e falhar,
a preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda que em vão,
a sentar-se nada fazendo até o final.*

*Eu prefiro na chuva caminhar,
do que em dias tristes, em casa me esconder.*

*Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver.”*

Martin Luther King

DEDICO

Aos meus pais, Helio e Evangelina, que com seu amor incondicional me fizeram acreditar que podia ir além...

Aos meus irmãos Fernando e Bruna, que sempre estiveram ao meu lado, dando força, carinho e amor...

Ao meu amor e companheiro Elison, meu maior incentivador, que com seu amor e apoio me ajudou chegar até aqui...

Agradeço:

A Deus por toda inspiração concedida, por toda força dada nos momentos difíceis e por tantas bênçãos derramadas que me fizeram acreditar que quando desejamos verdadeiramente a realização de um sonho é possível.

À minha orientadora, prof^a Dr^a Rejane Maira Góes, pelos valiosos ensinamentos transmitidos durante esses dois anos, pela paciência, persistência e principalmente por ter confiado que eu seria capaz.

Ao prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga, por me acolher em seu laboratório e compartilhar humildemente seus conhecimentos, que sem dúvida foram de enorme importância para a realização deste trabalho.

À prof^a Dr^a Patrícia Simone Leite Vilamaior, pelo cuidado e atenção na análise prévia da tese e pelas valiosas contribuições e sugestões, imprescindíveis na finalização deste trabalho.

Antecipadamente aos professores Dr. Classius de Oliveira e Dr. Marcelo Martinez, por aceitarem compor a banca examinadora.

Aos professores Sebastião Roberto Taboga e Maria Astride Saad Corradi, pelas valiosas sugestões trazidas no exame de qualificação e que contribuíram grandemente para a finalização deste trabalho.

À professora Dr^a Maria Tercília Villela de Azevedo Oliveira, por ter me orientado no estágio de docência e por humildemente compartilhar seus conhecimentos, engrandecendo ainda mais minha formação pessoal e profissional.

À prof. Dr^a Eliane Gonçalves de Freitas, pelo exemplo de profissional, pela amizade e pela confiança depositada em diversas situações.

Ao técnico Luiz Roberto Falleiros Júnior, o super técnico, não apenas pelos incontáveis auxílios prestados, muitos de última hora, mas também pelo companheirismo, amizade e alegria, e por fazer do laboratório muito mais do que um local de trabalho.

Aos colegas do laboratório, Sérgio, Fernanda Alcântara, Lara, Cristiane, Cláudia Pacheco, Renato, Guilherme, Manoel, Ricardo, Daniel, Fernanda Egydio, Marcela e Rodrigo, pelas inúmeras dicas, ajudas e por transformarem o ambiente de trabalho num local agradável e alegre.

À Silvana e ao Wellerson, pelas conversas, pelas risadas fora de hora, pelos momentos de descontração e por tornarem a ida ao laboratório uma diversão.

À Ana Maria e à Dani pelas ajudas no trabalho de laboratório, pelas conversas, conselhos e pelo incentivo.

Às amigas Mãe e Ana Lúcia, pela amizade recente, porém sincera, e por estarem sempre prontas a ouvir e aconselhar.

Aos muitos amigos da Biologia Animal, pela convivência agradável durante esses dois anos, pelas risadas, churrascos e momentos de descontração.

Às amigas de república Mariana (Pink), Sabrina, Valéria e Tayana, pela amizade, pelo companheirismo, pela alegria e por fazerem do SPA minha segunda casa.

À CAPES pela bolsa concedida e à FAPESP pelo apoio financeiro destinado a esse trabalho.

Enfim, a todos que, de uma maneira ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

Agradeço especialmente:

Aos meus pais, meus maiores exemplos de vida, por compreenderem minha ausência e por sempre me amarem e me apoiarem em cada decisão minha.

Ao meu irmão Fernando e minha cunhada Ana Cláudia, que sempre estiveram presentes apesar da distância, me incentivando e dando força para continuar o caminho.

À minha irmã Bruna, que além de irmã é minha melhor amiga e companheira, pela força, pela alegria, pelas inúmeras histórias e por sempre torcer pelo meu sucesso.

À minha avó Maria de Lourdes, a Vó Lurdinha, por sempre me receber com entusiasmo e alegria a cada volta para casa.

Ao meu amor, Elison, meu anjo, por ter compartilhado comigo cada passo dessa jornada sempre com paciência, compreensão e palavras de incentivo e apoio, apesar da distância que nos separava.

A todos vocês que sempre torceram pelo meu sucesso,

MUITO OBRIGADA!!!

*“Não devemos ter medo dos confrontos...
até os planetas se chocam,
e do caos nascem as estrelas.”*

Charles Chaplin

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	21
RESULTADOS	22
ARTIGO 1 – ASPECTOS ANATÔMICOS E HISTOLÓGICOS DA PRÓSTATA DO GERBILO DA MONGÓLIA <i>MERIONES</i> <i>UNGUICULATUS</i>	23
ARTIGO 2 – EFEITO PROGRESSIVO DA CASTRAÇÃO SOBRE O ESTROMA DOS LOBOS DORSAIS E VENTRAIS DA PRÓSTATA DO GERBILO <i>MERIONES UNGUICULATUS</i>	40
CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

VARIAÇÕES REGIONAIS E EFEITOS DA CASTRAÇÃO NOS LOBOS DORSAL E VENTRAL DA PRÓSTATA DO GERBILO DA MONGÓLIA (*Meriones unguiculatus*)

RESUMO

No presente estudo foram propostas duas análises a respeito do complexo prostático do gerbilo *Meriones unguiculatus*. A primeira consistiu em examinar, com uso de técnicas de microdissecção, microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, a estrutura anatômica e histológica dos lobos prostáticos, bem como caracterizar as suas possíveis diferenças regionais. Os resultados mostram que o complexo prostático de gerbilos normais, ao contrário do descrito em trabalhos anteriores, apresenta quatro pares de lobos distintos: ventrais, dorsais, dorsolaterais e anteriores ou glândulas coaguladoras. Com exceção da glândula coaguladora, estes lobos diferem quanto ao grau de ramificação e dimensões das unidades túbulo-acinares, aspecto da secreção e organização estromal. Todos, porém, apresentam, além dos ductos principais, três regiões histologicamente distintas e designadas de acordo com a localização em relação à uretra. A segunda proposta consistiu em avaliar comparativamente o efeito progressivo da castração cirúrgica entre os lobos ventrais e dorsais, com ênfase para as alterações em alguns componentes estromais, como as células musculares lisas, fibras colágenas e os proteoglicanos de condroitim sulfato. Assim, os complexos prostáticos de machos adultos intactos (grupo controle) ou submetidos à castração cirúrgica 7, 14 e 21 dias antes (grupos castrados) foram caracterizados com base em critérios histológicos, estereológicos e imunocitoquímicos, em nível de microscopia de luz. Vários sinais da falta de andrógenos, tais como pregueamento e atrofia epitelial, diminuição do lúmen acinar e aumento do componente estromal, foram detectados para ambos os lobos, em especial após 14 dias de ablação androgênica. Estas alterações coincidem com uma redistribuição dos proteoglicanos de condroitim sulfato e sua aparente diminuição. A atrofia epitelial ocorre mais rapidamente no lobo ventral em comparação com o dorsal, onde a remodelação estromal é mais drástica. Em conclusão, tanto as características estruturais como a resposta à falta de andrógenos apontam para diferenças marcantes intra e interlobulares no complexo prostático do gerbilo, as quais devem ser consideradas em estudos experimentais.

REGIONAL VARIATIONS AND CASTRATION EFFECT ON DORSAL AND VENTRAL LOBES OF THE MONGOLIAN GERBIL PROSTATE
(Meriones unguiculatus)

ABSTRACT

In this study, two analyses about the prostatic complex of the gerbil *Meriones unguiculatus* were suggested. The first one consisted in examine, using microdissection techniques, light and scanning electron microscopies, the anatomical and histological structure of the prostatic lobes, and to characterize its possible regional differences. The results show that the prostatic complex of normal gerbils, in contrast of previously described, presents four pairs of distinct lobes: ventral, dorsal, dorsolateral and anterior or coagulating gland. Except for the coagulating gland, these lobes differ on the ramification degree and tubuloacinar units dimension, secretion aspect and stromal organization. All of them, however, present, besides the principal ducts, three histologically distinct regions, named according to the localization in relation to the urethra. The second proposal of the work consisted in evaluate comparatively the progressive effect of castration between the ventral and dorsal lobes, with emphasis to the alterations in some stromal components, such as smooth muscle cells, collagen fibers and chondroitin sulphate proteoglycans. Thus, the prostatic complexes of intact adult males (control group) or submitted to surgical castration 7, 14 and 21 days before (castrated groups) were characterized based on histologic, stereologic and immunohistochemical criteria, using light microscopy. Some signals of the androgen lack, such as epithelial atrophy and infolding, lumen reduction and stromal increase, were detected in both lobes, especially after 14 days of androgen suppression. These alterations coincide with redistribution on chondroitin sulphate proteoglycans and its apparent decrease. The epithelial atrophy occurs faster on the ventral lobe comparing to the dorsal lobe, where the stromal remodeling is more drastic. In conclusion, both structural characteristics and the answer to the lack of androgen points to remarkable inter and intralobular differences of the gerbil prostatic complex, which must be considered in experimental studies.

INTRODUÇÃO

A próstata é uma glândula acessória do sistema genital masculino de mamíferos que contribui com a maior parte do volume do sêmem. Sua secreção consiste de uma ampla variedade de produtos, entre eles íons, lipídios, proteínas, substâncias imunossupressoras e antiinflamatórias que, em conjunto, conferem as propriedades específicas do sêmem e contribuem para a sobrevivência dos espermatozoides (Guyton, 1984; Vilamaior, 2003). A sua notável complexidade estrutural explica-se, pelo menos em parte, pelo papel biológico relacionado à síntese e ao acúmulo de secreção e também à rápida expulsão do fluido prostático. Assim, o componente glandular desse órgão é formado por unidades secretoras do tipo túbulo-acinares, que funcionam como reservatórios distensíveis, envoltas pelo componente estromal, com propriedades contráteis (Nemeth e Lee, 1996).

Em primatas, durante o desenvolvimento embrionário e diferenciação pós-natal do órgão, as unidades glandulares, originadas a partir de brotamentos do epitélio do seio urogenital, fundem-se formando um órgão compacto com regiões embriologicamente distintas (Price, 1963; McNeal, 1997). Dessa forma, na próstata de humanos são reconhecidas três regiões, designadas de zona de transição periuretral (ZT), zona periférica (ZP) e zona central (ZC). Esta última circunda a uretra na região em que os ductos ejaculatórios desembocam na uretra. Possui unidades glandulares amplas e complexas e mostram uma camada epitelial irregular, pregueada e estratificada. A ZT é composta por lóbulos glandulares com ductos mais curtos quando comparados àqueles encontrados na ZP e é geralmente separada desta por uma faixa de tecido rico em fibras colágenas. A ZP contém a maior parte do tecido glandular na próstata normal, correspondendo a aproximadamente 75% do volume do órgão em condições normais. A ZP localiza-se predominantemente nas porções posteriores e laterais da glândula, estendendo-se ao ápice e circundando a ZC em direção à base (Price, 1963; McNeal, 1997).

Em roedores, os brotamentos epiteliais formados durante o desenvolvimento embrionário dão origem a lobos prostáticos que se mantêm isolados (Price, 1963; McNeal, 1997). Portanto, nessas espécies observa-se um complexo prostático

formado por lobos ventrais, dorsais, laterais e lobos anteriores (Price, 1963; Sugimura *et al.*, 1986). Esses lobos prostáticos são compostos por um complexo sistema de ductos que partem da uretra e terminam distalmente em muitos ramos próximos à cápsula.

Existe uma ampla literatura acerca da estrutura do complexo prostático de roedores utilizados como modelos experimentais, como o rato e o camundongo, e sobre os fatores envolvidos na regulação funcional de cada um dos componentes glandulares. Estudos sobre a morfogênese ductal em ratos adultos, baseados em experimentos de digestão com colagenase, associados a microdissecção, revelam um padrão de ramificação ductal característico para cada lobo prostático e mais acentuado no lobo ventral em comparação com os lobos laterais e dorsais (Sugimura *et al.*, 1986; Hayashi *et al.*, 1991). O conteúdo da secreção também é específico para cada lobo (Jesik *et al.*, 1982; Lee *et al.*, 1985; Sugimura *et al.*, 1986; Lee *et al.*, 1990; Hayashi *et al.*, 1991, Chow *et al.*, 1992; Kinbara e Cunha, 1996). A principal proteína secretada pelo lobo ventral da próstata de ratos é uma proteína tetramérica conhecida como *proteína prostática ligada a esteróide* ou α -*proteína*. A próstata ventral também secreta citrato, espermina, espermidina e uma proteína que se liga à espermina. Já os lobos dorsolaterais da próstata são o principal sítio de secreção de frutose e de acúmulo de zinco (Kinbara e Cunha, 1996).

Análises dos ductos prostáticos de rato em toda sua extensão demonstram que a morfologia epitelial e estromal varia ao longo do eixo distal-proximal com implicações para a capacidade secretória e proliferativa (Prins *et al.*, 1992; Nemeth e Lee, 1996; Banerjee *et al.*, 1998). A camada epitelial dos ductos prostáticos varia de colunar alta, ativamente sofrendo proliferação celular e com um estroma adjacente composto predominantemente de fibroblastos na sua extremidade distal até cúbico ou colunar baixo cuja função secretora ainda não está clara, na região intermediária (Nemeth e Lee, 1996; Farnsworth, 1999).

Uma drástica diminuição na secreção prostática e aumento da morte celular por apoptose tem sido descritos para a próstata ventral de ratos, indicando que esta região é mais sensível à privação androgênica (Banerjee *et al.*, 1995). Além disso, esta região do complexo prostático torna-se atrófica com o envelhecimento animal, não exibindo hiperplasia mesmo após administração de testosterona por longos períodos

(Kyprianou e Isaacs, 1989; Reznik *et al.*, 1981). Em contraste, os lobos dorsais e laterais sofrem, durante o envelhecimento animal, um aumento no tamanho em decorrência do surgimento de hiperplasia epitelial espontânea ou induzida pela administração crônica de testosterona (Banerjee *et al.*, 1994; 1998). Com base nesses estudos e em outras evidências (Yamashita *et al.*, 1996) um certo grau de homologia tem sido sugerido entre os lobos do complexo prostático de alguns roedores e as zonas da próstata humana. Os lobos dorsais e laterais da próstata do rato parecem ser homólogos à zona periférica da próstata humana, o lobo anterior provavelmente representa a zona central, enquanto não existem evidências de homologia com a próstata ventral do rato (Yamashita *et al.*, 1996). Apesar disso, o lobo ventral tem sido o componente mais estudado do complexo prostático de roedores de laboratório, o que se explica, pelo menos em parte, pela sua alta responsividade aos andrógenos (Reznik *et al.*, 1981; Kyprianou e Isaacs, 1987; Banerjee *et al.*, 1995; Carvalho e Line, 1996; Carvalho *et al.*, 1997a).

Histologia prostática

Conforme mencionado anteriormente, a próstata é uma glândula composta, de morfologia túbulo-acinar ramificada, cujo epitélio glandular é formado por três tipos celulares fenotipicamente distintos: as células basais, as secretoras ou luminais e as neuroendócrinas (Peehl, 1996; Shappel, 2005).

As **células basais** são células com formato alongado, dispostas ao longo da lâmina basal e abaixo das células luminais. Em condições normais apresentam maior capacidade proliferativa em comparação com as células luminais, conforme evidenciado pela maior expressão de antígenos associados à proliferação celular, como a proteína nuclear p63 (Bonkhoff *et al.*, 1994; Signoretti *et al.*, 2000). Além disso, após a castração de ratos, as células luminais sofrem uma drástica atrofia, enquanto as células basais persistem inalteradas, além de aumentarem sua taxa de proliferação para reconstituir o epitélio glandular quando há reposição de andrógeno (Peehl, 1996). Análises imunocitoquímicas mostram que essas células expressam as citoqueratinas CK5 e CK14, marcadores de células epiteliais indiferenciadas (em atividade proliferativa) (Hudson *et al.*, 2001). Com base nesses achados tem sido

atribuído a esse tipo celular um papel na regeneração do epitélio glandular e sugerido que pelo menos parte dessa população de células tenha propriedades de células-tronco (Peehl, 1996; Signoretti *et al.*, 2000).

As **células epiteliais luminais** são as mais abundantes e responsáveis pela secreção do fluido prostático, cujo citoplasma exibe características ultra-estruturais compatíveis com a secreção protéica, tais como grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi bem desenvolvido (Shappel, 2005). Essas células, geralmente cilíndricas, e diferenciadas, além de expressarem atividade para enzimas específicas, como a fosfatase ácida prostática (Custódio *et al.*, 2004) e antígeno prostático específico – PSA, podem ser identificadas pela expressão seletiva de citoqueratinas CK8 e CK18 (Hudson *et al.*, 2001; Van Leenders e Schalken, 2003).

Uma pequena porcentagem de células **neuroendócrinas** também tem sido descrita para o epitélio prostático da maioria das espécies estudadas. Essas células são diferencialmente marcadas das demais por responderem positivamente à reação histoquímica de impregnação por prata e à reação imunocitoquímica a anticorpos anti-cromogranina A (Signoretti *et al.*, 2000). Em nível ultra-estrutural elas são reconhecidas por possuírem grânulos de secreção centrais densos (Shappel, 2005). A relação entre o desenvolvimento das células neuroendócrinas e as células basais ou luminais é desconhecida, porém tem sido sugerido que o fenótipo neuroendócrino representa um caminho alternativo de diferenciação das células tronco precursoras. Assim, uma célula basal poderia tanto se diferenciar em célula neuroendócrina ou em célula luminal secretora. Se essa hipótese for válida, pouco se sabe sobre os fatores que podem estar envolvidos na regulação do desenvolvimento desses dois padrões alternados de diferenciação (Peehl, 1996).

O estroma da próstata é rico em fibras colágenas e elásticas e seus principais constituintes celulares são as **células musculares lisas** e os **fibroblastos**. Também podem ser encontradas mastócitos, células endoteliais e pericitos, juntamente com terminações nervosas e gânglios sensitivos (Farnsworth, 1999; Vilamaior, 2003).

Os **fibroblastos** desempenham um importante papel na manutenção da homeostasia prostática, pois produzem um grande número de fatores de

crescimento de ação autócrina e parácrina. Além disso, também produzem um ambiente adequado composto de colágeno (Müntzing, 1981), fibras elásticas (Carvalho *et al.*, 1996), proteoglicanos (Kofoed *et al.*, 1990; Terry e Clark, 1996 a, b) e microfibrilas (Carvalho *et al.*, 1997b), entre outras macromoléculas (Vilamaior *et al.*, 2000; Vilamaior, 2003). Já a **célula muscular lisa** constitui o componente predominante do estroma prostático, representando 22% do volume total da próstata humana (Shapiro *et al.*, 1992), e predominando ao redor dos ductos, onde encontram-se em íntimo contato com a membrana basal das células epiteliais. Já na próstata ventral de ratos, as CML ocupam cerca de 5% do volume total da glândula e cerca de 14% do estroma (Antoniolli *et al.*, 2004). A principal função dessas células corresponde à contração do órgão durante a ejaculação, permitindo que o conteúdo de secreção acumulado seja eliminado na uretra. Porém acredita-se que as células musculares lisas também estejam envolvidas na regulação da estrutura e da função epitelial, produzindo fatores regulatórios responsáveis pela homeostase do órgão (Cunha *et al.*, 1986; Vilamaior, 2003).

A distribuição das células estromais varia conforme a porção ductal, passando de quase exclusivamente fibroblastos na porção distal, à quase totalmente células musculares na região próxima à uretra. Acompanhando essa distribuição celular, as funções desempenhadas pelo estroma também diferem quanto à posição. A porção distal produz exclusivamente fator de crescimento de fibroblasto (bFGF), enquanto que o estroma da base uretral emite apenas fator de crescimento de transformação β (TGF β). O estroma prostático é retratado como tendo funções de promover suporte mecânico ao epitélio adjacente e de alguma forma elaborar fatores de crescimento, os quais modulam atividades secretórias e proliferativas, ambas dentro da população celular estromal (através de estímulos autócrinos) e transmitida por secreção parácrina ao epitélio (Farnsworth, 1999).

A matriz extracelular nas interações epitélio/estroma

A matriz extracelular (MEC) consiste de uma complexa mistura de componentes protéicos, proteoglicanos e glicoproteínas adesivas que propiciam suporte mecânico às células e tecidos e contribuem ativamente para suas

propriedades funcionais (Hay, 1991; Pupa *et al.*, 2002). As variadas macromoléculas da matriz extracelular atuam cooperativamente para regular uma ampla gama de processos celulares, tais como migração, adesão, proliferação, diferenciação e morte. Esses aspectos do comportamento celular são essenciais para o desenvolvimento, a maturação e a homeostase dos órgãos (Hay, 1991; Alberts *et al.*, 2004). Assim, de maneira geral, pode-se considerar que a ação dos componentes celulares do estroma sobre o epitélio ocorre tanto pela produção de fatores parácrinos como de componentes da matriz extracelular que, então, modulam a função epitelial (Hay, 1991; Lin e Bissel, 1993; Farnsworth, 1999; Alberts *et al.*, 2004).

Vários estudos têm procurado avaliar quais os mecanismos específicos pelos quais os componentes da matriz extracelular regulam as interações entre o estroma e o epitélio da próstata (Lin e Bissel, 1993; Carvalho *et al.*, 1997 a, b; Vilamaior *et al.*, 2000). Estudos em humanos e roedores têm mostrado que, em condições normais, o estroma prostático é rico em fibras colágenas (compostas por colágeno tipo I), fibras reticulares (compostas por colágeno tipo III) e fibras elásticas (Bloom & Fawcett, 1994; Borges *et al.*, 2005). Esses componentes fibrosos são drasticamente remodelados em diferentes situações como na queda de andrógenos causada pela castração (Vilamaior *et al.*, 2000), pela administração de finasterida (Corradi *et al.*, 2004) e na instalação de lesões patológicas (Vilamaior *et al.*, 2003; Taboga e Campos Vidal, 2003).

O papel dos proteoglicanos para o funcionamento estromal da próstata também tem sido investigado, embora em menor grau. Os proteoglicanos são moléculas híbridas, de grande diversidade estrutural, que possuem pelo menos uma cadeia de glicosaminoglicano sulfatado ligado covalentemente a um “core” protéico (Iozzo, 1998). Os glicosaminoglicanos, por sua vez, são polímeros lineares de unidades dissacarídicas repetitivas (Alberts *et al.*, 2004). Entre as principais categorias de glicosaminoglicanos sulfatados destacam-se os dermatans, os queratans, os condroitins e os heparans sulfato (Alberts *et al.*, 2004). Um amplo espectro de funções específicas tem sido atribuído às diferentes famílias de proteoglicanos, as quais estão envolvidas com as propriedades estruturais e biomecânicas da matriz extracelular e também com processos dinâmicos da vida celular, como o reconhecimento, o crescimento, a diferenciação e a proliferação (Ruoslahti, 1989).

Até o momento, quatro tipos de glicosaminoglicanos foram descritos para a próstata humana normal, sendo o condroitim e o dermatam sulfato predominantes (DeKlerk, 1983). Variações na quantidade e nos tipos de glicosaminoglicanos foram relatadas ao longo do climatério de cobaias (Horsfall *et al.*, 1994), indicando que as alterações hormonais, aparentemente, influenciam a quantidade desses compostos. Em ratos, a expressão de glicosaminoglicanos é alterada após a castração, com aumento progressivo da síntese de dermatam e heparam sulfato e diminuição da síntese de condroitim sulfato (Kofoed *et al.*, 1990; Fernandes, 2000). Ainda não é claro, contudo, como essas alterações nos proteoglicanos afetam a fisiologia estromal.

Ação dos andrógenos na próstata

A função secretora do epitélio prostático é regulada por andrógenos, que participam na diferenciação e na manutenção do estado ativo da glândula (Cunha *et al.*, 1985; Donjacour e Cunha, 1993; Nemeth e Lee, 1996).

Porém, alguns estudos mostram que as células estromais também são necessárias para a organização arquitetural do epitélio da próstata, e não apenas o estímulo androgênico, pois mesmo na presença de andrógenos a organização epitelial e a função glandular são perdidas se as células estromais não estiverem presentes (Hayward *et al.*, 1992). Isso indica, então, que o estroma provavelmente é o primeiro alvo da ação dos andrógenos, sendo a reação do epitélio mediada por fatores estromais (Sugimura *et al.*, 1986; Cunha, 1994; Nemeth e Lee, 1996). Segundo Cunha (1994), os andrógenos não agem diretamente mediando o crescimento das células prostáticas epiteliais, mas ao invés disso, atuam nas células prostáticas estromais e as estimulam a secretar fatores de crescimento que, então, agem sobre a proliferação das células epiteliais (Peehl, 1996). Além disso, durante o desenvolvimento embrionário o mesênquima do seio urogenital e o estroma da próstata em formação apresentam grandes quantidades de receptores androgênicos, enquanto tanto o seio urogenital quanto os brotos prostáticos não apresentam níveis detectáveis desses receptores (Donjacour e Cunha, 1988). Isso sugere que a ação de andrógenos na morfogênese prostática deve ser indireta, atuando via estroma, uma vez que parte significativa do crescimento epitelial (que é dependente do estímulo

androgênico) ocorre na fase em que as células epiteliais não apresentam receptores para andrógenos. (Donjacour e Cunha, 1988). A dependência androgênica faz da próstata um excelente modelo para estudos que visam elucidar as interações epitélio-estroma e os mecanismos celulares e moleculares que modulam esta relação (Donjacour e Cunha, 1988; Zhao *et al.*, 1994; Lee, 1996; Farnsworth, 1999; Vilamaior *et al.*, 2000).

A privação androgênica induz uma série de alterações nos diferentes componentes do complexo prostático, levando a um processo atrófico conhecido como regressão prostática. Estudos morfológicos e bioquímicos têm evidenciado que a remodelação estromal que segue a supressão androgênica é variável entre os lobos prostáticos (Kiplesund *et al.*, 1988; Holterhus *et al.*, 1993; Terry e Clark, 1996 a, b). As mudanças atróficas ocorrem preferencialmente nas terminações em fundo de saco das unidades glandulares e progridem no sentido proximal à uretra (Sugimura *et al.*, 1986), sendo caracterizada por drástico remodelamento nos componentes estromais, com alterações significativas na membrana basal, nos sistemas elástico e colagênico (Carvalho e Line, 1996; Carvalho *et al.*, 1997a, b; Vilamaior *et al.*, 2000).

Dessa forma, procuramos caracterizar as alterações causadas pela castração sobre o compartimento estromal dos lobos prostáticos, avaliando principalmente o efeito da falta de andrógenos na distribuição dos componentes da matriz extracelular, especialmente os proteoglicanos de condroitim sulfato. Essas análises são de fundamental importância para uma interpretação mais abrangente do impacto das diferentes situações de manipulação hormonal, utilizadas como alternativa nos tratamentos de doenças da próstata (Webster e Leibovich, 2005), entre elas o câncer prostático, sobre a morfologia e a função da próstata.

Características do modelo experimental

Os gerbilos, também conhecidos com esquilos da Mongólia, são roedores da família Muridae, subfamília Gerbillinae (McKenna e Bell, 1997), provenientes das regiões áridas da China e Mongólia (Schwentker, 1963). Introduzidos por Vitor Schwentker, nas Américas, em 1954, como nova proposta de animal experimental, ficaram durante muito tempo nas limitações dos Estados Unidos como animais de

excelência para a pesquisa biomédica (Robinson, 1974). Nas últimas décadas, esses animais vem sendo gradativamente introduzidos nos biotérios das universidades brasileiras e têm assumido importante papel nos experimentos biológicos e biomédicos, juntamente com outras espécies clássicas como *Rattus norvegicus* (rato) e *Mus musculus* (camundongo).

De anatomia similar à do rato e camundongo, os gerbilos adultos de ambos os sexos variam entre 11,5 e 14,5 cm de comprimento corpóreo. Os machos adultos pesam em torno de 100g enquanto as fêmeas adultas pesam valores próximos a 85g (Kramer, 1964). A grande vantagem desses animais sobre os outros roedores citados para estudos experimentais reside no fato deles serem consideravelmente menores que os ratos, mas essencialmente maiores que os camundongos e hamsters (Williams, 1974). Esses animais tem sido amplamente utilizados para estudos de natureza didático-científica, principalmente pelo fato de terem comportamento dócil em cativeiro. Outra característica importante a ser considerada sobre esses roedores é a facilidade de manutenção no biotério, pois, por serem de origem desértica, apresentam micção infrequente.

Na pesquisa científica é cada vez maior a utilização dos gerbilos na experimentação biomédica, principalmente nas áreas da imunologia (Jeffers *et al.*, 1984; Nawaa *et al.*, 1994) e fisiologia (Muller e Nielsen, 1979) e também em estudos sobre o sistema genital (Santos *et al.*, 2003; Corradi *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2004; Segatelli *et al.*, 2004). Os estudos a respeito do sistema genital masculino dessa espécie têm descrito as relações dos ductos das glândulas acessórias com a uretra (Williams, 1974; Pinheiro *et al.*, 2004) e os efeitos de bloqueios ou manipulações hormonais sobre a organização estrutural do lobo prostático ventral (Corradi *et al.*, 2004; Oliveira, 2005).

OBJETIVOS

Os objetivos do presente estudo foram:

- Caracterizar, com uso de técnicas de microdissecção, microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, a anatomia e histologia dos diferentes lobos prostáticos de gerbilos machos da espécie *Meriones unguiculatus*, atentando para as diferenças intralobulares existentes.

- Avaliar os efeitos da castração cirúrgica sobre os lobos dorsal e ventral da próstata do gerbilo, com base em critérios histológicos, estereológicos e imunocitoquímicos, analisando as alterações estromais e a distribuição dos proteoglicanos de condroitim sulfato.

RESULTADOS

Os resultados encontram-se organizados em dois manuscritos de artigos científicos originais, que serão vertidos para o inglês e submetidos a revistas específicas da área.

(Artigo 01)

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOLÓGICA
DOS LOBOS PROSTÁTICOS DO GERBILO DA
MONGÓLIA *Meriones unguiculatus***

RESUMO

Análises da morfogênese dos ductos prostáticos em roedores têm apontado para importantes variações estruturais entre os lobos do complexo prostático, bem como para as heterogeneidades regionais intralobares. Este estudo teve como objetivo avaliar a organização estrutural do complexo prostático do gerbilo da Mongólia *Meriones unguiculatus*, com ênfase para as características histológicas dos lobos ventral e dorsal e para as possíveis diferenças regionais intralobares. O complexo prostático de gerbilos adultos foi processado convencionalmente para análise em microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e também submetido a experimentos de digestão com colagenase seguida de microdissecção. Os experimentos de microdissecção permitiram verificar que o complexo prostático deste roedor é formado por 4 pares de lobos associados à uretra pélvica e situados à base da bexiga, os quais são designados de acordo com a posição anatômica em dorsais, dorsolaterais, ventrais e anteriores ou glândulas coaguladoras. Embora os lobos ventrais, dorsais e dorsolaterais possam ser classificados como glândulas compostas tubulares ramificadas, importantes diferenças histológicas foram detectadas entre eles. O lobo dorsal é o mais desenvolvido, exibe um padrão paralelo e pouco ramificado de organização das unidades glandulares. Estas, exibem lúmen acinar amplo, secreção com aspecto vesiculoso e basófilo sendo envoltas por abundante estroma fibromuscular. Ao contrário, o lobo ventral possui maior grau de ramificação das unidades glandulares, as quais exibem menor diâmetro e secreção acidófila. Além disso, diferenças histológicas intralobares são encontradas tanto no lobo ventral como no dorsal, permitindo reconhecer quatro segmentos distintos denominados com relação à proximidade com a uretra de segmento *ductal*, *proximal*, *intermediário* e *distal*. Em conclusão, o complexo prostático do gerbilo se assemelha ao de outros roedores como o rato e o camundongo, pois exibe quatro pares de lobos com nítidas diferenças intralobares, mas ao contrário destes últimos, os componentes mais desenvolvidos no gerbilo são os lobos dorsais.

INTRODUÇÃO

A próstata dos roedores é uma glândula tubuloacinar composta, situada na base da bexiga, em íntima associação com o segmento inicial da uretra. Nos roedores, de maneira distinta do que ocorre em muitos grupos de mamíferos, esse órgão mantém no adulto uma organização lobar, sendo diferenciados quatro pares de lobos, designados de ventrais, laterais, dorsais e anteriores segundo a posição anatômica (Price e Williams-Ashman, 1961). Os lobos prostáticos são compostos por um complexo sistema de ductos que partem da uretra e terminam distalmente em ramos próximos à cápsula (Jesik *et al.*, 1982). Com o uso de experimentos de digestão com colagenase seguidos de microdissecção tem sido possível identificar com clareza o grau de ramificação dos ductos prostáticos do rato e do camundongo, o que permitiu constatar que este padrão de ramificação é específico para cada lobo (Hayashi *et al.*, 1991; Sugimura *et al.*, 1986 a, b). Estudos comparativos entre os lobos prostáticos de uma mesma espécie têm demonstrado que eles diferem não apenas com relação ao padrão de ramificação e organização estrutural, mas também quanto ao conteúdo secretado (Price e Williams-Ashman, 1961; Jesik *et al.*, 1982; Hayashi *et al.*, 1991; Chow *et al.*, 1992; Kinbara e Cunha, 1996), à sensibilidade aos andrógenos (Banerjee *et al.*, 1994; Banerjee *et al.*, 1995) e a incidência de hiperplasia e neoplasias (Reznik *et al.*, 1981; Banerjee *et al.*, 1998).

O gerbilo *Meriones unguiculatus* é um roedor da família Muridae, subfamília Gerbillinae (McKenna e Bell, 1997), nativo das regiões áridas da Mongólia e China. Por tratar-se de um animal de fácil manuseio em condições de laboratório, ele vem sendo amplamente utilizado em estudos experimentais nas mais diversas áreas como a imunologia (Jeffers *et al.*, 1984; Nawaa *et al.*, 1994), a fisiologia (Muller e Nielsen, 1979) e a morfologia (Aoki Komori *et al.*, 1994; Pinheiro *et al.*, 2003). Esse pequeno roedor tem sido escolhido como um excelente modelo animal para o estudo da próstata da fêmea, uma vez que esse órgão é mais volumoso que em outros roedores (Santos *et al.*, 2003). Assim como ocorre para outros roedores (Vilamaior *et al.*, 2000; Fernandes, 2000), o lobo ventral é o componente mais investigado do complexo prostático de gerbilos machos quanto aos aspectos histológicos (Campos, 2006) e também quanto aos efeitos da supressão de andrógenos (Corradi *et al.*, 2004;

Oliveira, 2005). Entretanto, não existem estudos que relatem em detalhes a organização histológica e anatômica do complexo prostático dessa espécie, o que dificulta a comparação com outros roedores e o desenvolvimento de estudos experimentais. Assim, o presente estudo teve como objetivo fazer uma descrição do complexo prostático do gerbilo da Mongólia, com vistas às possíveis variações inter e intralobares.

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo experimental

Foram utilizados 15 gerbilos machos adultos da espécie *Meriones unguiculatus* (Muridae, Gerbillinae), com idades entre 18 e 24 semanas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central do Instituto de Biologia da Unesp de Botucatu - SP e mantidos no biotério do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Unesp de São José do Rio Preto, em condições adequadas de luminosidade (12h claro : 12h escuro) e temperatura (24°C) e alimentados com ração Purina para roedores e água disponibilizada *ad libitum*. O manuseio e o tratamento dos animais ocorreram segundo as instruções estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Para a coleta do complexo prostático, os gerbilos foram anestesiados com CO₂ e rapidamente sacrificados por deslocamento cervical.

Microscopia de Luz (ML)

Para análise em microscopia de luz o complexo contendo os lobos prostáticos de 5 animais foi seccionado no sentido sagital mediano ou no sentido transversal e fixado por imersão em formaldeído 4% recém preparado em tampão fosfato, pH 7.2, durante 24 horas, sendo, seqüencialmente desidratados e processados para inclusão em Paraplast (Histosec - Merck) e Historesina (Leica). Cortes histológicos em Paraplast (4µm de espessura) ou Historesina (3µm de espessura) foram corados com Hematoxilina e Eosina e com o tricrômico de Gömöri. As imagens histológicas foram digitalizadas com uso de microscópio

Olympus acoplado à câmera de vídeo Sony e ao sistema analisador de Imagens - Image-Pro-Pus ©Media Cybernetics.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os complexos prostáticos de outros 5 animais foram processados para análise em MEV. Os lobos dorsais e ventrais, isolados do tecido adiposo adjacente, foram fixados em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M (pH 7,2), durante duas horas, e, após lavagem em tampão, foram pós-fixados em solução de Tetróxido de Ósmio 2% em tampão fosfato 0,1M (pH 7,2), por mais duas horas. Os fragmentos foram desidratados em uma série gradual de etanol e submetidos à secagem em aparelho de ponto crítico em CO₂ líquido (Balzers, CPD-010), cobertos com uma camada de ouro (Ion Sputter - Balzers SCD-040) e analisados em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol, modelo 5200.

Experimentos de digestão enzimática seguida de microdisseção

Nestes experimentos foram utilizados 5 animais. Após a remoção do complexo prostático associado aos músculos uretrais e à uretra, todo o complexo foi submetido à digestão enzimática com colagenase a 1% em solução salina (25°C), durante 5 a 10 min. e, então, dissecados cuidadosamente para a separação dos lobos e do sistema de ductos e a seguir fixado com Solução de Karnovsky. A documentação foi realizada com microscópio estereoscópico Olympus acoplado à câmera fotográfica digital.

RESULTADOS

Aspectos anatômicos do complexo prostático

À semelhança do encontrado em outros roedores, o complexo prostático do gerbilo da Mongólia é formado por 4 pares de lobos associados à uretra na base da bexiga (Fig. 1). Os experimentos de microdissecção após a digestão com colagenase (Fig. 1C, D), juntamente com a análise histológica permitiram constatar que, embora o grau de ramificação fosse variável entre os lobos prostáticos desse roedor, todos podem ser classificados como glândulas tubulo-acinares compostas ramificadas.

Os pares de lobos situados anteriormente, designados de glândulas coaguladoras, encontram-se aderidos à menor curvatura da vesícula seminal (Fig. 1A, B). Seus túbulos são pouco ramificados e dispostos paralelamente entre si.

Os lobos ventrais (Fig. 1A, C) apresentam-se intimamente ligados entre si na região mediana, formando uma estrutura aproximadamente oval, com cerca de 3 a 5 mm de largura. A microdissecção após tratamento com colagenase dos lobos prostáticos em associação com a análise histológica permitiu verificar que cada lobo ventral exibe de dois a três ductos principais (Fig. 2B), os quais se ramificam intensamente formando uma estrutura composta, com um grau de ramificação maior ao encontrado nos demais lobos.

Um terceiro componente do complexo prostático exibe uma disposição dorsolateral, visto que unidades glandulares originam-se dorsalmente e se direcionam para região ventral, onde exibem íntima associação com o lobo ventral (Fig. 1B-D). Estes diferem do lobo ventral devido ao maior tamanho das unidades tubulares e também à aparência mais opaca da secreção (Fig. 1).

Os lobos dorsais são os componentes mais volumosos de todo o complexo prostático, assumindo um formato de borboleta (7-10 mm de largura) devido à sua fusão parcial na região mediana (Fig. 1B, D). Essa região do complexo prostático é facilmente diferenciada das demais, não apenas pelo formato, mas também pelas maiores dimensões das unidades secretoras tubulares e seu arranjo paralelo.

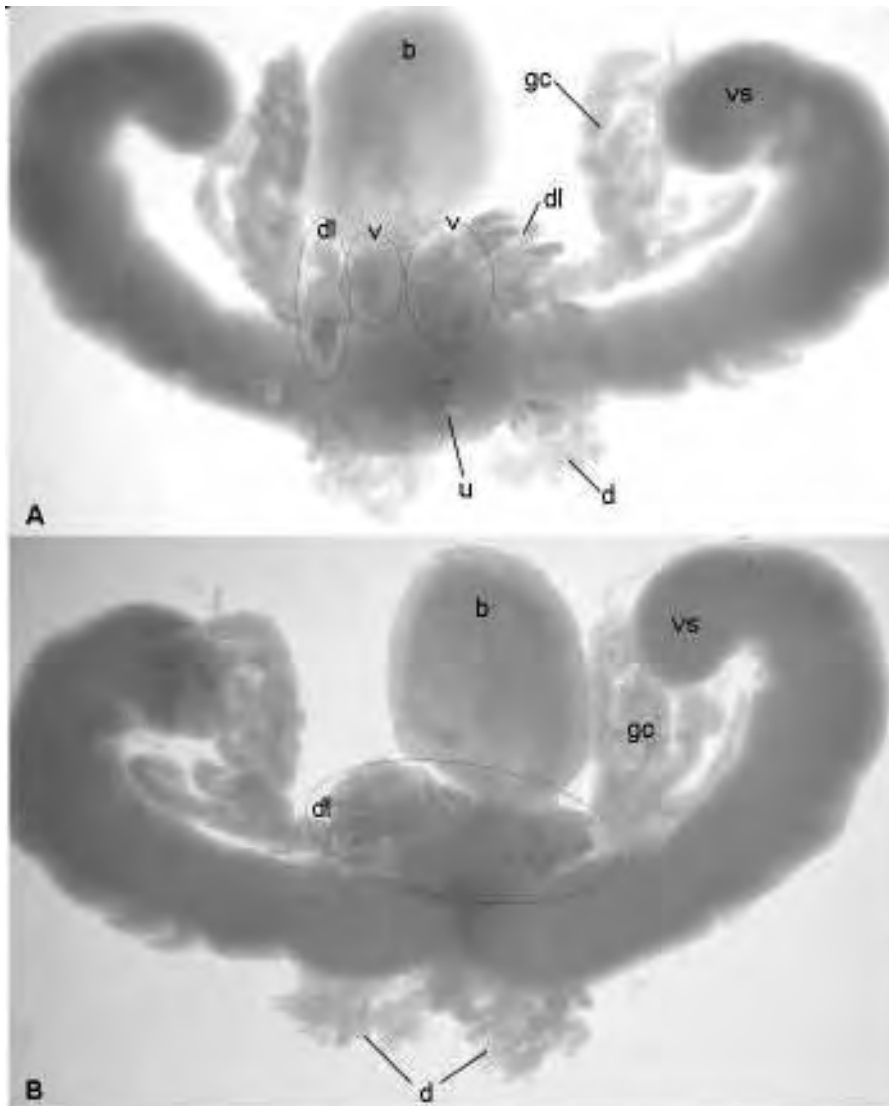


Figura 1: Vista ventral (A) e dorsal (B) do complexo do complexo prostático do gerbilo da Mongólia após digestão com colagenase e microdissecção, sendo possível visualizar as regiões correspondentes aos lobos dorsais (d), ventrais (v), dorsolaterais (dl) e glândulas coaguladoras (gc), situados na base da bexiga circundando a uretra. Legenda: b - bexiga; d – lobo dorsal; dl – lobo dorsolateral; gc – glândula coaguladora; u – uretra; v – lobo ventral; vs – vesícula seminal.

Caracterização histológica e variações intralobares

A análise histológica dos diferentes lobos prostáticos permitiu constatar variações histológicas marcantes ao longo das unidades glandulares, permitindo reconhecer quatro segmentos intralobares (Figs. 2 e 3). O **segmento ductal** corresponde à região dos ductos principais, localizados proximalmente à uretra, e imersos no músculo uretral. (Fig. 2B, C). Possuem lúmen com pequeno diâmetro,

epitélio de revestimento simples cúbico ou colunar baixo. O **segmento proximal** é uma região de transição, com organização tubular e características intermediárias entre os ductos principais e a porção secretora de localização intermediária (Fig. 2). Neste local o epitélio glandular exibe alto grau de pregamento e o lúmen apresenta-se reduzido (Fig. 3C, F). O **segmento intermediário** é a região mais volumosa dos lobos, com lúmen amplo, geralmente repleto de secreção e possui epitélio glandular sem pregas (Figs. 2A, C e 3B, E). Já o **segmento distal** corresponde às terminações em fundo de saco das unidades glandulares, as quais exibem uma constituição acinar, com epitélio simples colunar apoiado sobre uma espessa camada de estroma fibromuscular (Figs. 2A, C e 3A, D).

As análises microscópicas revelaram importantes diferenças entre os lobos dorsais e ventrais da próstata com relação às dimensões das unidades secretoras, altura epitelial, aspecto da secreção e organização estromal (Figs. 3 e 4). Assim, enquanto o lobo dorsal apresenta células epiteliais mais baixas e sua secreção exibe um aspecto basófilo e vesiculoso (Fig. 3D-F), os lobos ventrais e laterais possuem secreção de aspecto homogêneo e levemente acidófila após a coloração com HE (Fig. 3A-C). Em microscopia eletrônica de varredura, a secreção dos lobos ventrais também exibe um aspecto homogêneo enquanto no lobo dorsal ela parece ser composta de inúmeras vesículas (Fig. 4). Em todos os lobos, os segmentos proximal e distal possuem epitélio mais alto, região subepitelial mais desenvolvida e pouco corada e maior abundância de células musculares, em comparação com a região intermediária (Fig. 3). Além disso, tanto em microscopia de luz como em microscopia eletrônica de varredura é possível constatar que na região intermediária do lobo dorsal o estroma é mais espesso, as células musculares lisas são mais abundantes e apresentam um arranjo mais compacto em comparação com a mesma região dos outros lobos (Figs. 3B, E e 4). Assim, os lobos ventrais exibem estroma mais frouxo com maior quantidade de tecido intersticial e maior riqueza de fibras colágenas (Figs. 3 e 4; Tabela 1).

Tabela 01: Análise semi-quantitativa dos componentes estromais (fibras musculares e tecido conjuntivo) nas diferentes regiões dos lobos ventral e dorsal da próstata do gerbilo.

	VENTRAL		DORSAL	
	Fibras Musculares	Tecido conjuntivo	Fibras musculares	Tecido conjuntivo
Distal	++	++	+++	+++
Intermediária	+	+	++	+
Proximal	+++	+++	++++	++

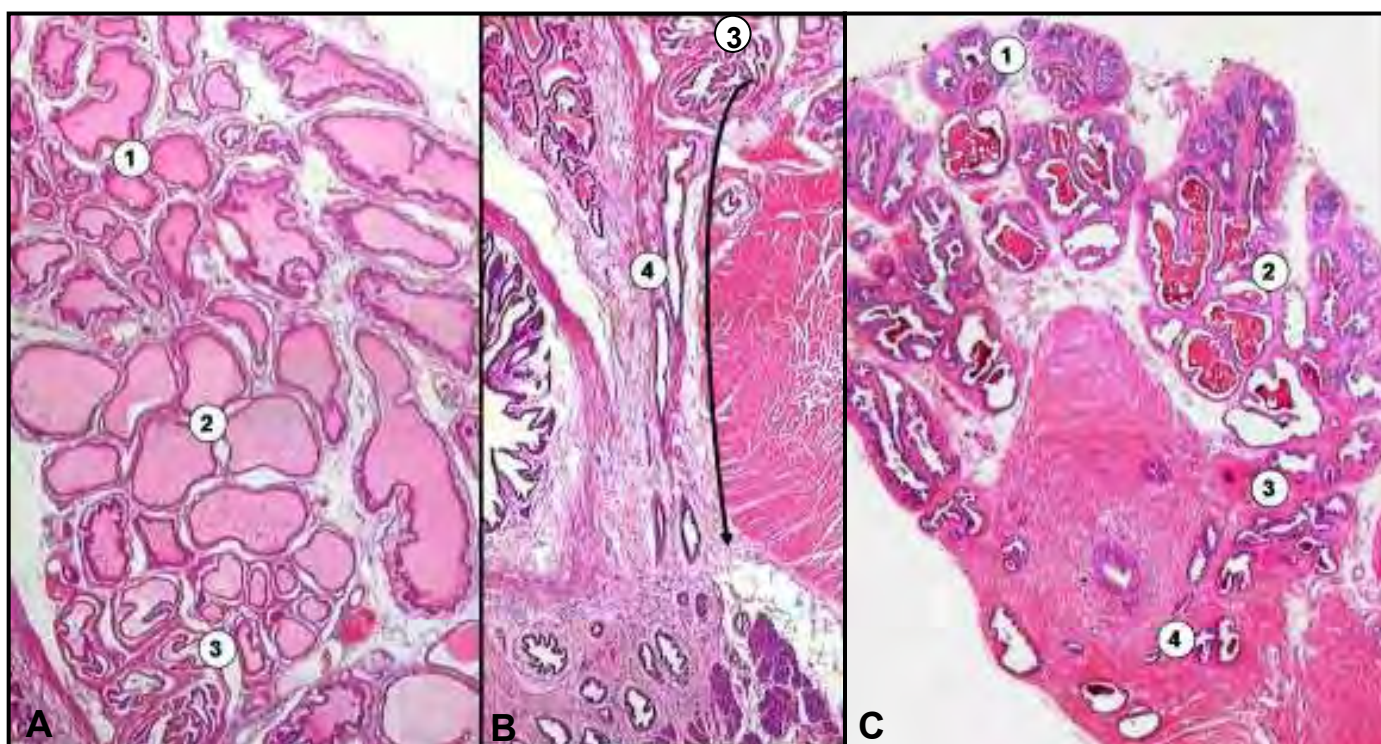


Figura 2: Cortes histológicos em parafina corados com HE mostrando os segmentos distal (1), intermediário (2), proximal (3) e ductal (4) dos lobos ventral (A e B) e dorsal (C) da próstata do gerbilo da Mongólia. Note que esses segmentos diferem quanto ao tamanho das unidades tubulares, tipo de epitélio e densidade estromal. Em B, a seta curva indica o caminho do ducto principal do lobo ventral em direção à uretra. Aumento: 40X.

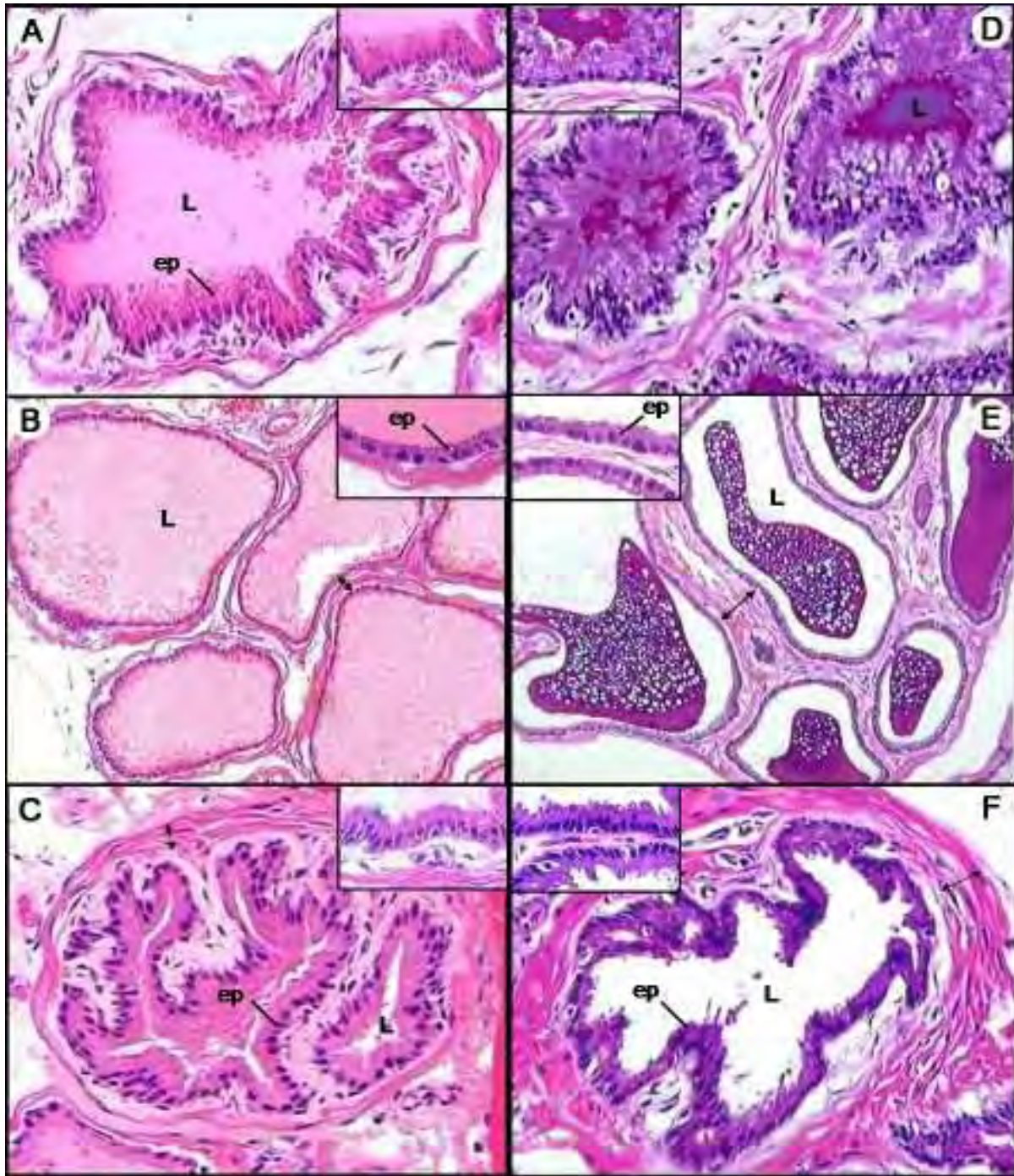


Figura 3: Unidades tubuloacinares dos segmentos intralobares ventrais (A-C) e dorsais (D-F) em cortes de parafina corados com HE, sendo possível observar as diferenças epiteliais e estromais em detalhe. A *região distal* (A, D) apresenta epitélio colunar alto com leve pregueamento epitelial e abundante tecido conjuntivo; a *região intermediária* (B, E) possui unidades acinares maiores, com lúmen mais amplo e epitélio cúbico com estroma adjacente predominantemente muscular; a *região proximal* (C, F) apresenta lúmen reduzido devido ao alto grau de pregueamento epitelial e um espesso estroma fibromuscular. É possível notar que, em todas as regiões, a camada estromal é mais espessa no lobo dorsal (seta de duas cabeças). Legenda: L – lúmen; ep – epitélio. Aumentos: A, C, D e F – 200X; B e E – 100X. Detalhes: 400X

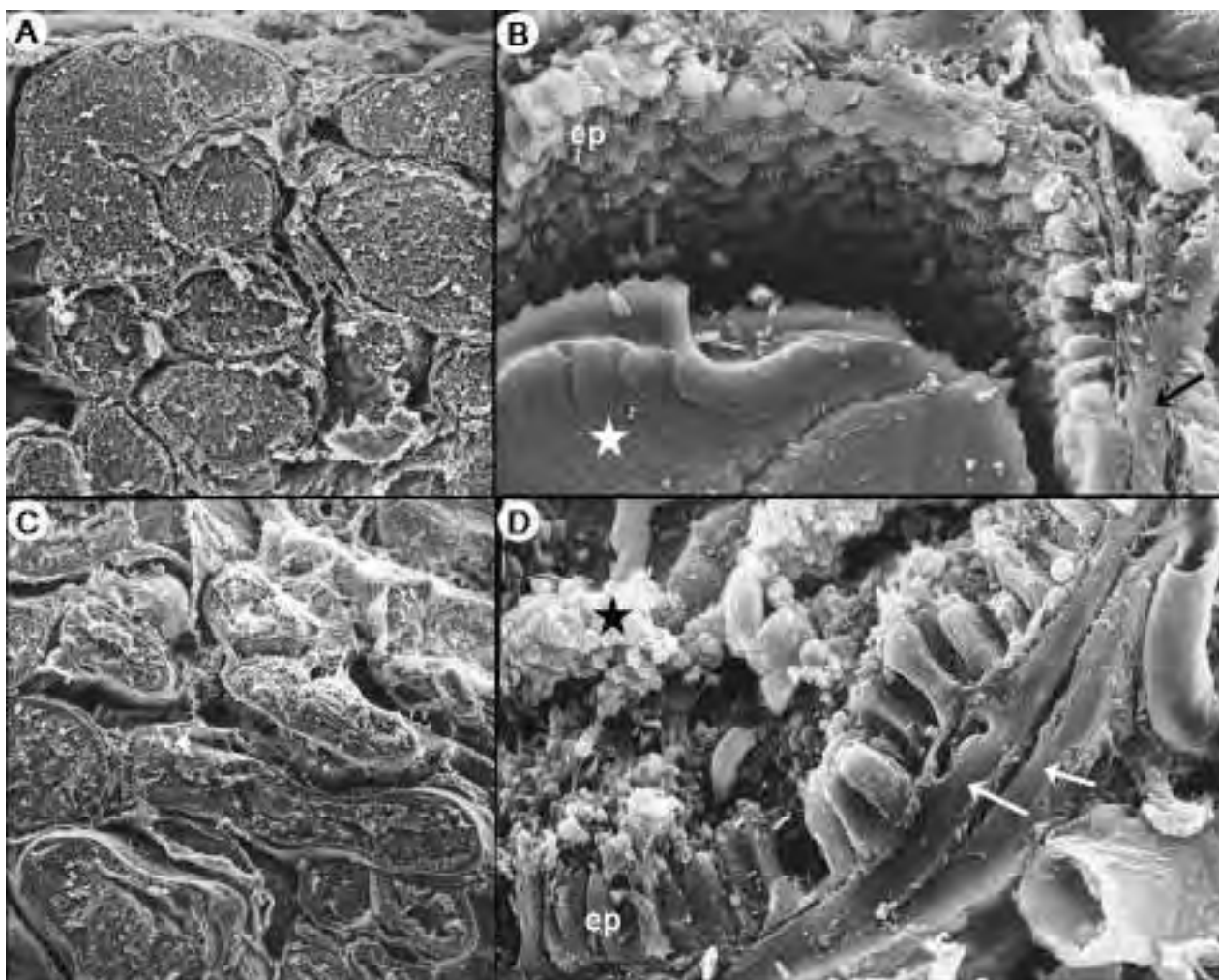


Figura 4: Aspecto geral e detalhes da região intermediária dos lobos prostáticos ventral (A, B) e dorsal (C, D) de gerbilos machos adultos observados sob microscopia eletrônica de varredura. É possível notar que a secreção do lobo ventral apresenta aspecto homogêneo e liso enquanto que, no lobo dorsal, é formada por inúmeras vesículas, e que a camada muscular do estroma é mais espessa no lobo dorsal em comparação com o lobo ventral. Legenda: ep – epitélio; estrela – secreção; setas – camada muscular. Aumentos: A, C – 100X; B, D – 1000X.

DISCUSSÃO

A próstata do gerbilo *Meriones unguiculatus*, assim como a de outros roedores, é composta de pares de lobos distintos, denominados segundo a posição que ocupam ao redor da uretra prostática em ventrais, dorsolaterais, dorsais e anteriores (ou glândula coaguladora). Cada lobo é formado por um complexo sistema de ductos que partem da uretra e terminam distalmente em muitos ramos próximos à cápsula (Price e Williams-Ashman, 1961; Kinbara e Cunha, 1996). No gerbilo o lobo dorsal é o mais volumoso, ocupando a maior parte da glândula. Isso difere do que é observado em outros roedores, como o rato, onde o lobo dorsal é menos desenvolvido e o ventral cerca de 50% do volume total do complexo prostático (Hayashi *et al.*, 1991).

No presente estudo, a separação das unidades glandulares pelo tratamento com collagenase seguido de microdissecção forneceu novas informações a respeito da organização do complexo prostático deste roedor, pois possibilitou diferenciar com clareza o local onde as unidades glandulares se associam com o músculo uretral, além de diferenciá-las segundo o padrão de ramificação e aspecto morfológico. Assim, a microdissecção parcial da próstata do gerbilo revelou a existência de um grupo de túbulos que surgem dorsalmente e se ramificam lateralmente, circundando a uretra e se posicionando junto aos lobos ventrais. Devido à sua localização, esses ductos parecem constituir os verdadeiros lobos dorsolaterais, semelhantes aos descritos para a cobaia e para as demais espécies de roedores (Banerjee *et al.*, 1994; Horsfall *et al.*, 1994).

A existência de um lobo dorsolateral verdadeiro na próstata do gerbilo merece atenção particular, uma vez que outros autores (Williams 1974; Pinheiro *et al.*, 2003) descrevem a próstata do gerbilo como constituída apenas pelas glândulas coaguladoras (lobos anteriores), lobos ventrais e dorsais. De acordo com Kinbara e Cunha (1996), no rato, o plano de separação do lobo dorsolateral em dorsais e laterais é difícil de discernir, sendo freqüentemente considerados uma estrutura única; porém, quando analisados cuidadosamente, lobos laterais e dorsais podem ser identificados e individualizados. No caso do gerbilo, os lobos dorsais são

prontamente diferenciados do dorsolateral, existindo dificuldade de separação dos lobos dorsolateral e ventrais no material a fresco. Além disso, neste animal o lobo dorsolateral é histologicamente bastante semelhante ao ventral. Segundo Sugimura *et al.* (1986a) os ductos da porção lateral da próstata de camundongos têm sua origem junto aos ramos dorsais e se prolongam ventro-lateralmente, circundando a uretra e em direção à próstata ventral, o que faz com que o padrão de ramificação da próstata lateral e as demais características histológicas se assemelhem ao dos lobos ventrais. Uma vez que as análises morfológicas realizadas até o momento indicam que estas observações também se aplicam ao lobo dorsolateral do gerbilo da Mongólia, investigações a respeito do desenvolvimento ontogenético dos lobos prostáticos do gerbilo estão sendo realizadas com o objetivo de esclarecer os mecanismos responsáveis pela morfogênese deste componente lobar, e qual a sua efetiva contribuição para a fisiologia prostática desta espécie.

Diversos autores têm demonstrado a existência de variações regionais intralobares, tanto para o lobo dorsal quanto para o ventral na próstata de outros roedores. DeKlerk e Coffey (1978) e Sugimura *et al.*, (1986 a, b) descreveram que as células epiteliais e estromais de diferentes regiões dos lobos prostáticos respondem diferentemente à privação e estimulação androgênica, sugerindo, dessa forma uma heterogeneidade funcional dentro do lobo. Sendo assim, além dos ductos principais, nos lobos prostáticos de vários roedores estudados até o momento têm sido reconhecidas três regiões morfológica e funcionalmente distintas, denominadas *distal*, *intermediária* e *proximal* de acordo com a posição que ocupam em relação à uretra (Banerjee *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1990; Shabsigh *et al.*, 1999). Nemeth e Lee (1996) descreveram que diferenças regionais ocorrem ao longo do sistema de ductos do lobo prostático ventral de ratos, tanto no epitélio acinar como no compartimento estromal. Estes autores sugerem que o epitélio responde de diferentes formas ao mesmo nível de andrógeno circulante, com respostas variando desde a proliferação até morte celular, e que a atividade das células epiteliais é ditada pelo componente estromal. Assim, os eventos de secreção, proliferação e morte celular ocorrem em níveis diferentes em cada região (Lee *et al.*, 1990; Nemeth e Lee, 1996). Em ratos, a região distal apresenta epitélio colunar simples, com células epiteliais altas, núcleos apicais e indícios de atividade proliferativa e síntese de DNA. A região intermediária

apresenta células em estado diferenciado, capazes de secretar proteínas, uma vez que exibem células colunares com núcleo basal e citoplasma apical livre. Já a região proximal apresenta epitélio simples cúbico, com uma camada muscular espessa e indícios de morte celular. Nossas análises revelam um padrão similar de organização histológica para o gerbilo, e, embora os dados exclusivamente morfológicos não permitam inferir sobre o papel de cada região para a fisiologia lobar, é muito provável que estas diferenças histológicas sejam responsáveis por uma maior atividade proliferativa no segmento distal e maior capacidade secretória e de armazenamento na região intermediária. Por sua vez, as regiões mais proximais, além de desempenharem um papel coletor, conduzindo o conteúdo produzido nas demais regiões até sua liberação na uretra prostática, também podem estar envolvidas em modificações bioquímicas do conteúdo a ser secretado, adicionando, retirando ou modificando seus componentes.

CONCLUSÕES

Nossas análises demonstram que, além dos lobos anteriores, ventrais e dorsais, o complexo prostático do gerbilo da Mongólia também possui lobos dorsolaterais. Ao contrário de outros modelos de roedores amplamente utilizados para o estudo da próstata, como o camundongo e o rato, o gerbilo apresenta os lobos dorsais mais desenvolvidos que os ventrais, diferindo destes pelo maior tamanho, pela organização paralela das unidades ducto-acinares, que são pouco ramificadas, e pelo aspecto da secreção basófila e densa, além de apresentarem diferenças quanto à densidade estromal.

À semelhança de outros murinos, os lobos prostáticos deste pequeno roedor apresentam nítidas diferenças regionais, podendo ser reconhecidos, além dos ductos principais, três segmentos histologicamente distintos, denominados de distais, intermediários e proximais com base na posição que ocupam em relação à uretra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aoki-Komori S, Sayto TR, Takahashi KW, Tanigushi K. 1994. Lectin histochemical studies on the scent gland in the hamster and Mongolian gerbil. **Jikken Dobutsu**, **43(2)**: 181-190.
- Banerjee PP, Banerjee S, Dorsey R, Zirkin BR, Brown TR. 1994. Age and lobe-specific responses of Brown Norway rat prostate to androgen. **Biol. Reprod.** **51**: 675-684.
- Banerjee PP, Banerjee S, Tilly KI, Tilly JL, Brown TR, Zirkin BR. 1995. Lobe-specific apoptotic cell death in rat prostate after androgen ablation by castration. **Endocrinology** **136(10)**: 4368-4376.
- Banerjee PP, Banerjee S, Lay JM, Strandberg JD, Zirkin BR. 1998. Age-dependent and lobe-specific spontaneous hyperplasia in the brown Norway rat prostate. **Biol. Reprod.**, **59**: 1163-1170.
- Campos SGP. 2006. Desenvolvimento pós-natal da próstata ventral do gerbilo *Meriones unguiculatus* e alterações histopatológicas associadas ao envelhecimento. 101f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – **Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas**, Campinas.
- Chow PH, Chan CW, Cheng LYL. 1992. Contents of fructose, citric acid, acid phosphatase, proteins and electrolytes in secretions of the accessory sex glands of the male golden hamster. **Int. J. Androl.** **16**: 41-45.
- Corradi LS, Góes RM, Carvalho HF, Taboga SR. 2004. Inhibition of 5- α -reductase activity induces stromal remodeling and smooth muscle de-differentiation in adult gerbil ventral prostate. **Differentiation** **72(5)**: 198-208.
- DeKlerk D, Coffey DS, 1978. Quantitative determination of prostatic epithelial and stromal hyperplasia by a new technique: biomorphometrics. *Invest. Urol.*, **16**: 240-45.
- Fernandes JKH. 2000. Caracterização dos glicosaminoglicanos da próstata ventral, glândula de coagulação e vesícula seminal de ratos: efeitos da castração. 43f. Tese

(Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Hayashi N, Sugimura Y, Kamamura J, Doncajour AA, Cunha GR. 1991. Morphological and functional heterogeneity in the rat prostatic gland. **Biol. Reprod.**, **45**: 308-321.
- Horsfall DJ, Mayne K, Skinner JM, Saccone GT, Marschall VR e Tilley WD. 1994. Glycosaminoglycans of guinea pig prostate fibromuscular stroma: influence of estrone and androgen on levels and location of chondroitin sulfate. **Prostate** **25**: (6) 320-32.
- Jeffers GW, Klei TR, Enright FM. 1984. Activation of the jird (*Meriones unguiculatus*) macrophages by the filarial parasite *Brugia pahangi*. **Infect. Immun.**, **43(1)**: 43-48.
- Jesik CJ, Holland JM, Lee C. 1982. An anatomic and histologic study of the rat prostate. **Prostate**, **3**: 81-97.
- Kinbara H, Cunha GR. 1996. Ductal heterogeneity in rat dorsal-lateral prostate. **Prostate**, **28**: 58-64.
- Lee C, Sensibar J, Kudek S, Hiipakka R, Liao S. 1990. Prostatic ductal system in rats: regional variation in morphological and ductal activities. **Biol. Reprod.** **43**: 1079-1086.
- McKenna M, Bell SK. 1997. Classification of Mammals above the species level. **Columbia University Press**. New York. 631p.
- Muller M, Nielsen JT. 1979. Effect of superior cervical ganglionectomy on monoamine content in the epithalamic area of the Mongolian gerbil – a fluorescence histochemical study. **Cell Tissue Res.**, **201(1)**: 1-9.
- Nawa Y, Horii Y, Okada M, Arizono N. 1994. Histochemical and cytochemical characterizations of mucosal and connective tissue mast cells of Mongolian gerbils. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, **104(3)**: 249-254.
- Nemeth JA, Lee C. 1996. Prostatic ductal system in rats: regional variation in stromal organization. **Prostate**, **28**: 124-128.

- Oliveira SM. 2005. A próstata ventral do gerbilo frente às diferentes formas de castração e subsequente reposição hormonal por testosterona. 65f. Tese (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – **Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas**, Campinas.
- Pinheiro PFF, Almeida CCD, Segatelli TM, Martinez M, Padovani CB, Martinez FE. 2003. Structure of the pelvic and penile urethra – relationship with the ducts of the sex accessory glands of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **J. Anat.**, **202**: 431-444.
- Price D, Williams-Ashman HG. 1961. The accessory reproductive glands of mammals. In: Young WC (ed). “Sex and internal secretions”, 3^aed. **Baltimore: Williams and Wilkins**, pp 366-448.
- Reznik G, Hamlin MH, Ward JM, Stinson SF. 1981. Prostatic hyperplasia and neoplasia in aging F344 rats. **Prostate**, **2(3)**: 261-268.
- Santos FCA., Carvalho HF, Góes RM, Taboga SR. 2003. Ultrastructural characterization of secretory cell in the gerbil female prostate. **Tissue Cell**, **34**: 273-282.
- Shabsigh A, Tanji N, D’agati V, Burchardt T, Burchardt M, Hayek O, Shabsigh R, Buttyan R. 1999. Vascular anatomy of the rat ventral prostate. **Anat. Rec.** **256**: 406-411.
- Sugimura Y, Cunha GR, Donjacour AA. 1986a. Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate. **Biol. Reprod.**, **34**: 961-971.
- Sugimura Y, Cunha GR, Donjacour AA. 1986b. Morphological and histological study of castration-induced degeneration and androgen-induced regeneration in the mouse prostate. **Biol. Reprod.**, **34**: 973-983.
- Vilamaior PSL, Felisbino SL, Taboga SR, Carvalho HF. 2000. Collagen fiber reorganization in the rat ventral prostate following androgen deprivation: A possible role for smooth muscle cells. **Prostate**, **45(3)**: 235-238.
- Williams WM. 1974. The Anatomy of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Tumblebrook Farm, Inc.**, West Brookfield, Mass. 107p.

(Artigo 02)

**EFEITO PROGRESSIVO DA CASTRAÇÃO SOBRE OS
LOBOS DORSAIS E VENTRAIS DA PRÓSTATA DO
GERBILO *Meriones unguiculatus***

RESUMO

A supressão de andrógenos causa um processo de involução conhecido como regressão prostática, alterando o epitélio, estroma e os mais diversos constituintes da matriz extracelular. Este trabalho teve como objetivo caracterizar os efeitos progressivos da falta de testosterona sobre os lobos dorsais e ventrais da próstata do gerbilo *Meriones unguiculatus*, com ênfase para as alterações em alguns componentes do estroma como as células musculares lisas, as fibras colágenas e os proteoglicanos de condroitim sulfato. Os animais foram divididos em grupo controle (animais intactos) e grupos castrados bilateralmente 7, 14 e 21 antes. Além da análise histológica, foram efetuadas análises estereológicas para determinação de variações no volume relativo dos principais componentes de cada lobo, bem como reações imunocitoquímicas para localização de proteoglicanos de condroitim sulfato. Assim como em outros roedores, vários sinais de regressão prostática foram observados para ambos os lobos, tais como a atrofia e pregueamento epitelial, diminuição do volume secretado e remodelação estromal. A atividade secretora é afetada mais rapidamente no lobo ventral e um aumento das células musculares lisas ocorre para ambos os lobos. Em tempos superiores a duas semanas de castração o lobo dorsal mostra nítidos sinais de remodelação estromal, com um aumento do volume relativo de fibras colágenas. A análise da distribuição do condroitim sulfato aponta para uma maior concentração destas moléculas no lobo ventral em comparação com o dorsal, evidenciando sua distribuição na base do epitélio, ao redor células musculares lisas e de vasos sanguíneos. Em tempos curtos após a castração esses proteoglicanos se concentram nas regiões de pregas epiteliais, diminuindo em tempos maiores de castração. Nossos resultados indicam que o processo de remodelação estromal que ocorre durante a regressão dos lobos prostáticos do gerbilo são acompanhadas de redistribuição e diminuição dos proteoglicanos de condroitim sulfato. Conclui-se, também, que embora a atividade epitelial seja afetada mais rapidamente no lobo ventral, o lobo dorsal pode ser considerado um bom modelo para o estudo da remodelação estromal.

INTRODUÇÃO

A influência dos andrógenos sobre a organização estrutural e fisiologia da próstata é um fato bem conhecido. Assim, sabe-se que a supressão de andrógenos leva a um processo de involução conhecido como regressão prostática, caracterizado principalmente pela atrofia epitelial e diminuição progressiva do volume da glândula (Lee, 1996).

A princípio o epitélio foi considerado o principal alvo de ação dos andrógenos na próstata. Entretanto, nas últimas décadas, várias linhas de evidência indicam que os andrógenos atuam primeiramente sobre as células do estroma prostático, sendo a atividade epitelial, em grande parte, mediada por fatores estromais (Cunha *et al.*, 1985; Sugimura *et al.*, 1986; Nemeth e Lee, 1996).

Embora existam algumas variações entre as espécies, o estroma prostático de mamíferos é composto por células musculares lisas e fibroblastos dispersos entre elementos da matriz extracelular (Ross *et al.*, 1993). Além de secretar fatores solúveis, as células do estroma prostático produzem uma complexa gama de componentes da matriz extracelular, entre os quais se destacam os colágenos fibrilares tipo I e III (Lodish *et al.*, 2002), colágenos microfibrilares tipo VI (Carvalho *et al.*, 1997a), componentes do sistema elástico (Carvalho *et al.*, 1997b) e proteoglicanos (Kofoed *et al.*, 1990). Uma série de estudos tem procurado esclarecer qual a participação destas macromoléculas no controle da função prostática, tendo como base o fenômeno de regressão prostática causada pela castração (Carvalho e Line, 1996; Carvalho *et al.*, 1997 a, b; Vilamaior *et al.*, 2000). Estas análises microscópicas indicam que os componentes fibrosos do estroma prostático sofrem uma drástica remodelação após a queda de andrógenos (Vilamaior *et al.*, 2000). Por outro lado, uma grande dificuldade tem sido encontrada para identificar as alterações que ocorrem na distribuição dos proteoglicanos, nestas situações, existindo uma escassez de informações sobre sua possível contribuição no processo de involução prostática (Fernandes, 2000).

O presente estudo descreve os efeitos progressivos da castração cirúrgica sobre os lobos dorsais e ventrais da próstata do gerbilo da Mongólia *Meriones*

unguiculatus, com ênfase para as alterações nos componentes estromais, em especial, os proteoglicanos de condroitim sulfato.

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo experimental

Foram utilizados gerbilos machos adultos da espécie *Meriones unguiculatus* (Muridae, Gerbillinae) com idades entre 18 e 24 semanas, fornecidos pelo Biotério Central da Unesp de Botucatu, SP. Os experimentos foram realizados pelo menos uma semana após a chegada dos animais no biotério do Ibilce em São José do Rio Preto, onde eles foram mantidos em condições adequadas de luminosidade (12h claro: 12h escuro) e temperatura (24°C) e alimentados com ração Purina para roedores e água *ad libitum*. O manuseio e tratamento dos animais ocorreram segundo as instruções estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação animal.

Orquiectomia e coleta

Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais (n=6) correspondentes a gerbilos intactos (grupo controle) e submetidos à castração (grupos castrados) 7, 14 e 21 dias antes. A remoção bilateral de ambos os testículos com os epidídimos associados foi realizada via incisão escrotal sob anestesia com ketamina (800µl/kg) e xilazina (200µl/kg).

Os animais foram sacrificados por inalação de CO₂ para a retirada do complexo prostático, o qual foi cuidadosamente dissecado para remoção do tecido adiposo associado, das vesículas seminais e glândulas coaguladoras. O conjunto contendo os lobos ventrais, dorsolaterais e dorsais associados à uretra foi imerso em solução fixadora, pesado imediatamente e, então, seccionado no sentido mediano sagital ou no sentido transversal à uretra. Foi determinado o peso relativo desse conjunto.

Processamento histológico e estereológico

Os fragmentos a serem analisados em microscopia de luz foram fixados por imersão em formaldeído 4% recém preparado em tampão fosfato, pH 7,2, durante 24 horas, sendo, seqüencialmente, processados para inclusão em Paraplast (Histosec - Merck) e Historesina Plus (Leica). Cortes de Paraplast (4 μ m de espessura) ou de Historesina (3 μ m de espessura) foram corados com HE e tricrômico de Gömöri.

As análises em microscopia de luz, bem como a obtenção dos dados estereológicos, foram efetuadas com o uso de microscópio Olympus acoplado à câmera de vídeo Sony e ao sistema analisador de Imagens - Image-Pro-Pus ©Media Cybernetics.

A análise estereológica para determinação das frações volumétricas dos principais componentes teciduais dos lobos prostáticos (*epitélio e lúmen acinar, células musculares lisas, áreas ricas em fibras colágenas e demais componentes estromais*) foi efetuada com base em cortes histológicos em historesina submetidos à coloração pelo tricrômico de Gömöri (Behmer *et al.*, 1976). Para tanto foram utilizados no mínimo 3 cortes histológicos transversais do complexo prostático de cada grupo, e escolhidas apenas as regiões correspondentes à porção intermediária dos lobos. Para cada corte histológico foram digitalizados 15 campos microscópicos contíguos, no aumento de 200x. A porcentagem de cada componente tecidual em cada campo microscópico foi determinada após a aplicação do retículo de Weibel de 168 pontos (Weibel, 1963), pela contagem do número de intersecções do retículo que sobrepuham cada compartimento tecidual (Huttunen *et al.*, 1981). Os dados quantitativos obtidos a partir da análise estereológica foram analisados pela one-way ANOVA e pelo teste de Tukey para comparações múltiplas, usando o programa Statistica 6.0 (Copyright©Statsoft, Inc. 1984-1996).

Imunocitoquímica

Reações imunocitoquímicas foram efetuadas com o uso de um anticorpo primário monoclonal produzido em camundongos anti condroitim CS-56 (Sigma),

que reconhece proteoglicanos contendo cadeias de condroitim sulfato na forma nativa (Daugaard *et al.*, 1991).

A reação imunocitoquímica consistiu, em resumo, das seguintes etapas: após a hidratação, os cortes em paraplast foram lavados por 15min, em tampão PBS, e imersos em solução de metanol contendo 3% de peróxido de hidrogênio, por 50min, com uma troca. Foram, então, incubados em PBS contendo 1% de BSA e soro de cavalo na diluição 1:500, lavados em PBS e incubados em PBS contendo 1% de BSA e os anticorpos primários na diluição 1:100. A incubação com mAb CS-56 foi realizada durante 1h a temperatura ambiente. Após duas lavagens de 15min em tampão, os sítios de ligação dos anticorpos primários foram detectados com base no complexo avidina-biotina utilizando-se o “Kit” do Sistema Universal Novostain Super ABC (Novocastra Laboratories, United Kingdom). Assim, os cortes foram incubados, por 30min ou 1h, em PBS contendo 1:100 de soro de cavalo e 1:100 do anticorpo secundário conjugado com biotina, lavados seqüencialmente em tampão (três banhos de 15min), e incubados em PBS contendo o complexo avidina-peroxidase biotinilada na diluição 1: 100, por 45min. Após lavagem em tampão, por duas vezes de 10min, os mesmos foram tratados com solução de peróxido de hidrogênio 0,02% e diaminobenzidina 0,1%, em PBS. Nestas condições um tempo de revelação de 6 min foi padronizado para os cortes histológicos do grupo controle e então aplicado ao grupo castrado. Antes da montagem os cortes foram contracolorados com Methil-Green.

RESULTADOS

Efeitos gerais da castração

A queda de andrógenos levou a uma redução progressiva do peso úmido (Fig. 1A) e do peso relativo (Fig. 1B) do conjunto dos lobos prostáticos do gerbilo da Mongólia. Assim, a média do peso relativo deste complexo passou de 0,3g, no grupo controle, para 0,19g após 14 dias e para 0,14g após 21 dias de castração, reduzindo 36% e 53% respectivamente (Fig. 1B).

A análise histológica dos efeitos da castração nas diferentes sub-regiões dos lobos ventrais e dorsais indicou uma atrofia crescente da região distal que praticamente desaparece 14 dias após a orquiectomia. Portanto, as demais avaliações morfológicas e quantitativas foram centralizadas na porção intermediária dos lobos.

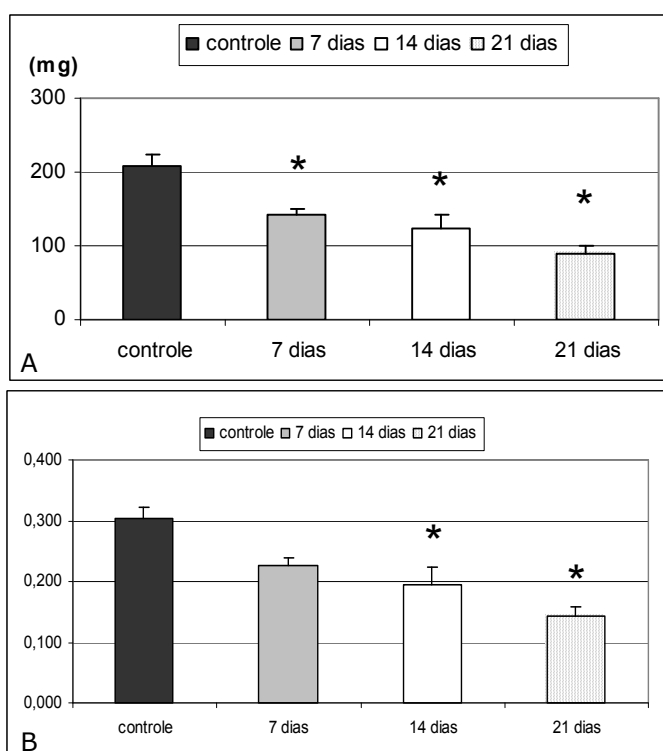


Figura 1: Peso úmido (A) e peso relativo (B) do conjunto dos lobos prostático de gerbilos intactos (controle) e submetidos à castração bilateral 7, 14 e 21 dias antes. Ambos os parâmetros apontam para a diminuição exponencial do complexo prostático. Os asteriscos (*) indicam diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle, segundo o teste de Tukey.

Lobo Ventral

Segundo a análise histológica, após uma semana de castração os ácinos da região intermediária do lobo ventral da próstata de *Meriones unguiculatus* permanecem com tamanho semelhante aos do grupo intacto (Fig. 3A, B), porém ocorre uma redução significativa na altura das células epiteliais, que passam de colunares a cúbicas (Fig. 3E, F). A redução no volume relativo do componente epitelial 7 dias após a castração foi comprovada pela análise estereológica (Fig. 2A). Embora a altura epitelial tenha se mantido baixa, Em períodos de tempo maiores que 7 dias após a castração (Fig. 3G, H), o volume epitelial relativo não variou significativamente com relação ao controle (Fig. 2A).

A análise histológica revelou, ainda, que, neste lobo, os sinais de involução se tornam mais evidentes a partir de duas semanas de castração, quando se observa uma maior retração acinar, pregueamento epitelial e aumento da densidade estromal (Fig. 3C, D, G, H). Embora na região intermediária o volume estromal tenha aumentado discretamente com a castração, houve um rearranjo dos seus componentes, com aumento do estroma fibromuscular após 21 dias de castração (Fig. 3D, H). Observou-se que, nos animais intactos o estroma ocupa 34,76% do volume do lobo ventral, aumentando para 42,8% após duas semanas de castração e para 45,4% após três semanas, sendo que esse aumento no volume estromal ocorreu principalmente devido a um aumento no volume ocupado pelas células musculares lisas (Fig. 2A) que no grupo controle ocupavam $12,47 \pm 5,3\%$ e após 14 dias de castração aumentaram para $21\% \pm 10\%$ após 14 dias de castração e $22,8 \pm 8,5\%$ após 21 dias.

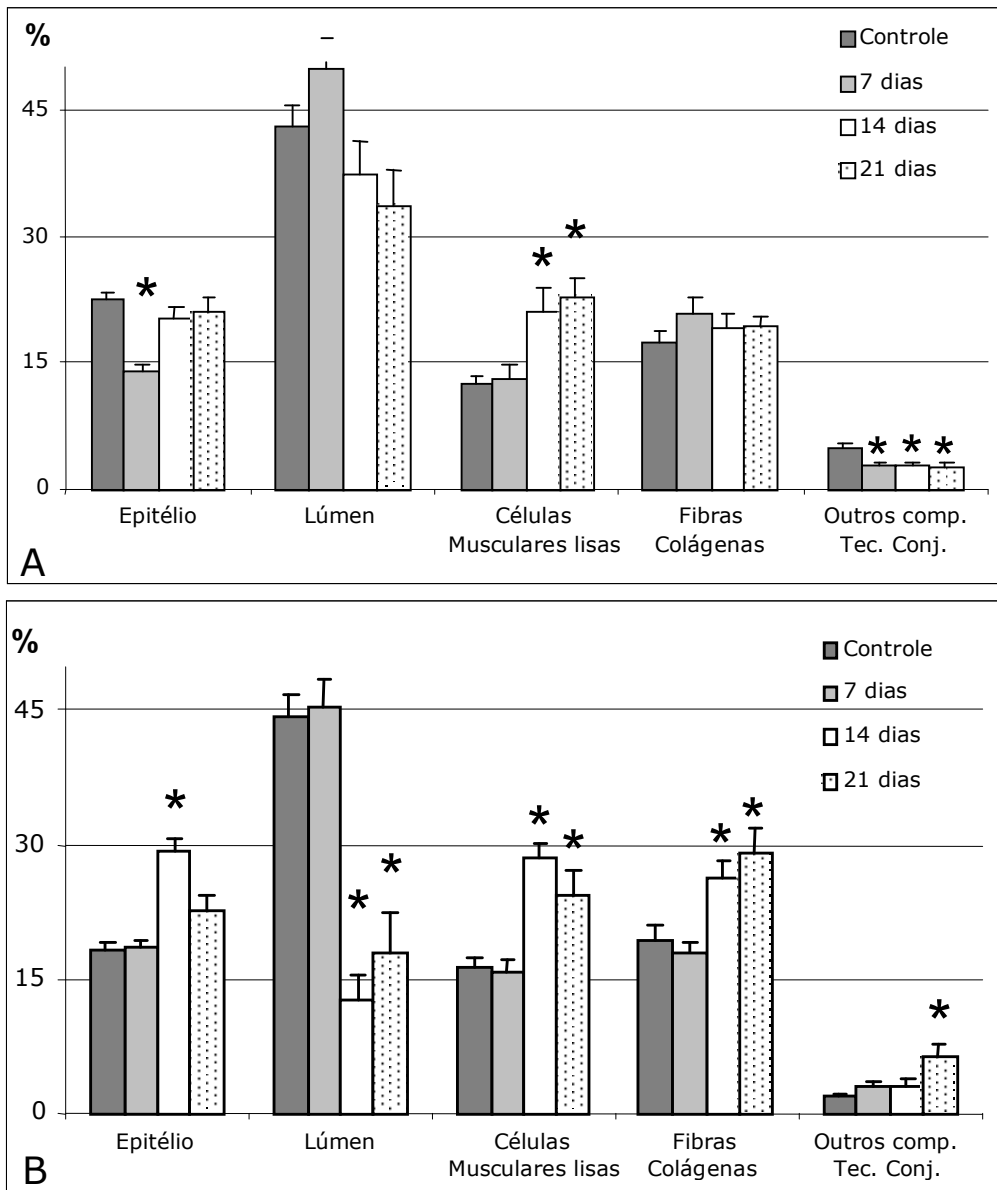


Figura 2: Variações no volume relativo de diferentes componentes teciduais do lobo ventral (A) e dorsal (B) de gerbilos controle e submetidos à castração bilateral 7, 14 e 21 antes. Os asteriscos (*) indicam as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle, segundo o teste de Tukey.

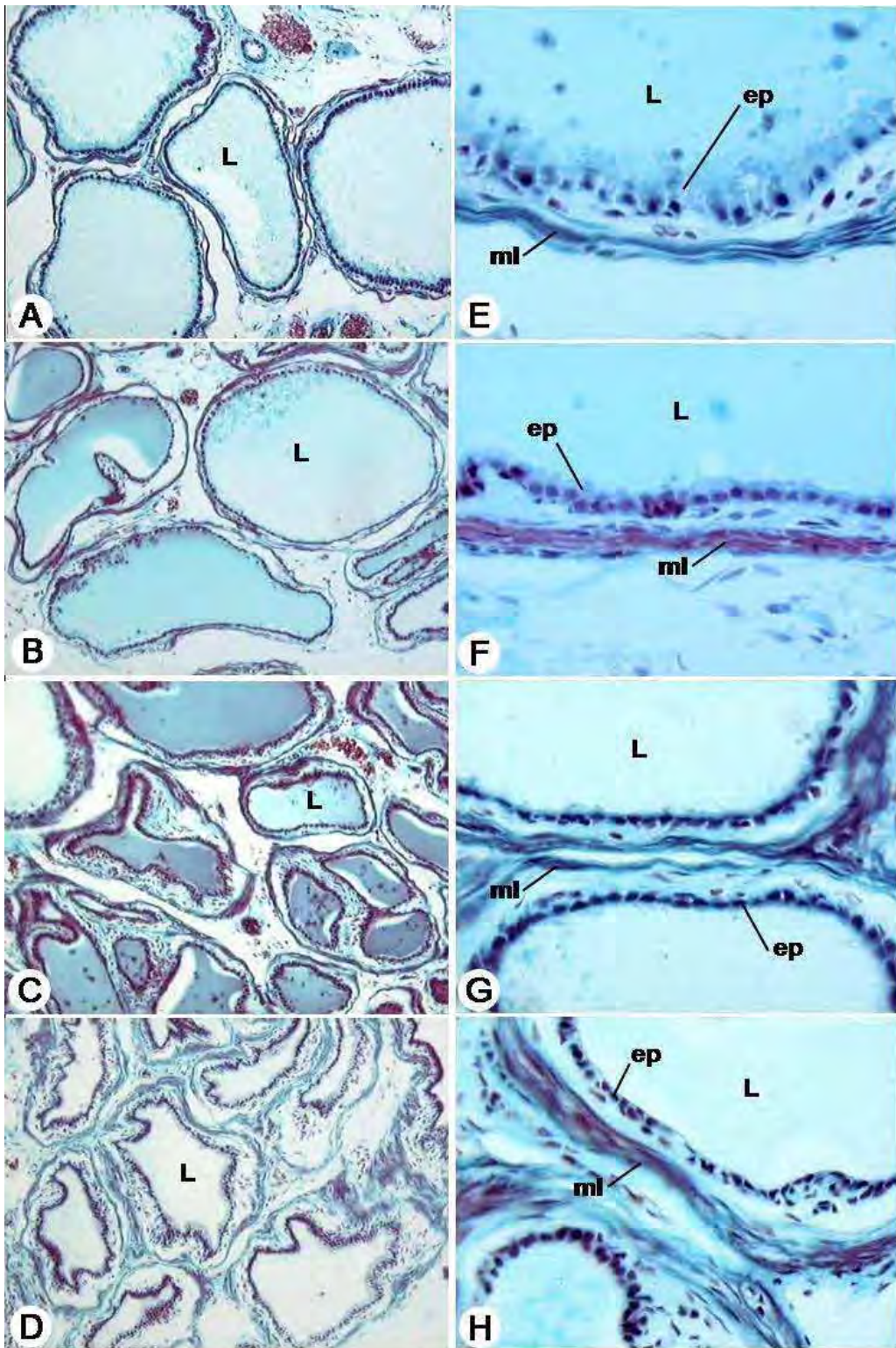


Figura 3. Cortes em parafina corados com Tricrômico de Gömori mostrando a porção intermediária do lobo ventral da próstata de gerbilos intactos (A, E), e submetidos à castração 7 (B, F), 14 (C, G) e 21 (D, H) dias antes. Em visão panorâmica (A-D), note que a diminuição do lúmen acinar, o pregueamento epitelial e aumento da densidade estromal são mais nítidos 14 dias após a castração. Nos detalhes do epitélio acinar e estroma subjacente, observam-se a atrofia do epitélio secretor e maior abundância de células musculares lisas. Legenda: ep – epitélio; L – lúmen; ml – célula muscular lisa. Aumentos: A-D: 40X; E-H: 400X.

Lobo Dorsal

De modo semelhante ao verificado para o lobo ventral, no lobo dorsal as alterações histológicas causadas pela castração tornam-se mais evidentes a partir da segunda semana (Fig 4C, G). Quando avaliadas as alterações no volume relativo dos principais componentes do órgão, verifica-se que a resposta à queda de andrógenos é mais drástica no lobo dorsal em comparação com o ventral (Fig. 2B). De acordo com essa análise, o volume do estroma no lobo dorsal aumenta de 37,5% para 58% duas semanas após a castração e para 59,6% após três semanas.

Nesse lobo o aumento do volume estromal é devido a um aumento na quantidade de células musculares lisas e também de fibras colágenas (Figs. 2B e 4G, H), uma vez que o volume ocupado pelas células musculares lisas sofreu uma elevação de 75% após 14 dias de castração e o volume correspondente às fibras colágenas aumentou 36% nesse mesmo período.

O aumento do volume estromal é acompanhado por uma retração no componente acinar, cujos ácinos sofrem redução em tamanho, conseqüentemente diminuindo a área ocupada pelo lúmen, que reduz cerca de 71% após 14 dias de castração. Além disso, duas semanas após a castração, verificou-se um grande pregueamento epitelial, com aumento de 60% do volume ocupado pelas células epiteliais (Fig. 2B).

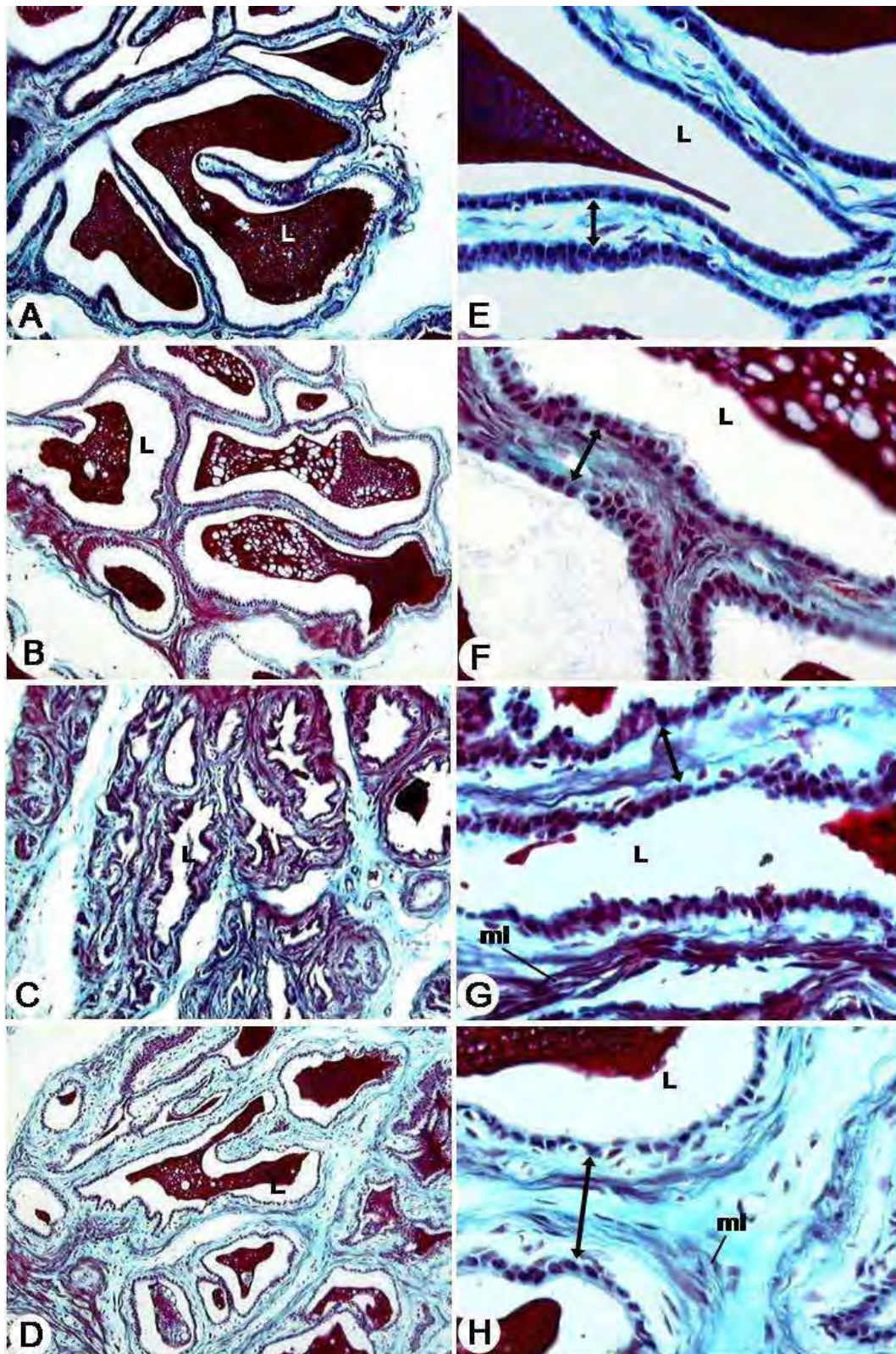


Figura 4. Cortes histológicos em parafina corados com Tricrômico de Gömori mostrando a porção intermediária do lobo dorsal da próstata de gerbilos intactos (A, E) e submetidos à castração bilateral 7 (B, F), 14 (C, G) e 21 (D, H) dias antes. Após 2 e 3 semanas ocorre retração acinar e aumento do estroma interacinar (seta de duas cabeças). Legenda: L – lúmen; ml – célula muscular lisa. Aumentos: A-D: 40X; E-H: 400X.

Efeito da castração sobre os GAGs

A avaliação da ocorrência e distribuição de condroitim sulfato no lobo ventral de animais controles, com reações imunocitoquímicas baseadas no uso do anticorpo monoclonal CS-56, revelou uma marcação intensa nas regiões do estroma próximas ao epitélio, em especial nas proximidades da membrana basal, ao redor das células musculares lisas e dos vasos sanguíneos (Fig. 5A, E, I, M). Uma menor marcação deste glicosaminoglicano foi observada para lobo dorsal, onde eles foram encontrados em maior quantidade no estroma interacinar ou formando acúmulos logo abaixo do epitélio glandular (Fig. 6A, E, I, M).

Na próstata ventral de animais castrados sete dias antes observa-se uma intensa marcação imunocitoquímica na porção subepitelial, indicando um acúmulo de condroitim sulfato nesta região (Fig. 5B, F, J, N). Também se observa uma intensa marcação devido à presença destes glicosaminoglicanos no estroma subepitelial das regiões das pregas epiteliais que se formaram (Fig. 5N) após a castração. No entanto, à medida que o tempo de privação androgênica aumenta, nota-se que a distribuição desse glicosaminoglicano passa a ser mais difusa, com uma diminuição na concentração do condroitim sulfato nas regiões subepiteliais, de modo que, após 14 dias de castração, sua distribuição se torna mais uniforme (Fig. 5G, O) e assume aspecto fragmentado, após 21 dias (Fig. 5H, P).

Com relação ao lobo dorsal, as diferenças na distribuição de condroitim sulfato são notadas apenas após 14 dias de castração, quando acúmulos destas moléculas são encontrados entre as células musculares lisas do estroma fibromuscular e em focos associados à base do epitélio (Fig. 6G, O). Após 21 dias de supressão de andrógenos, esta marcação se torna mais difusa e também assume aspecto fragmentado (Fig. 6H, P).

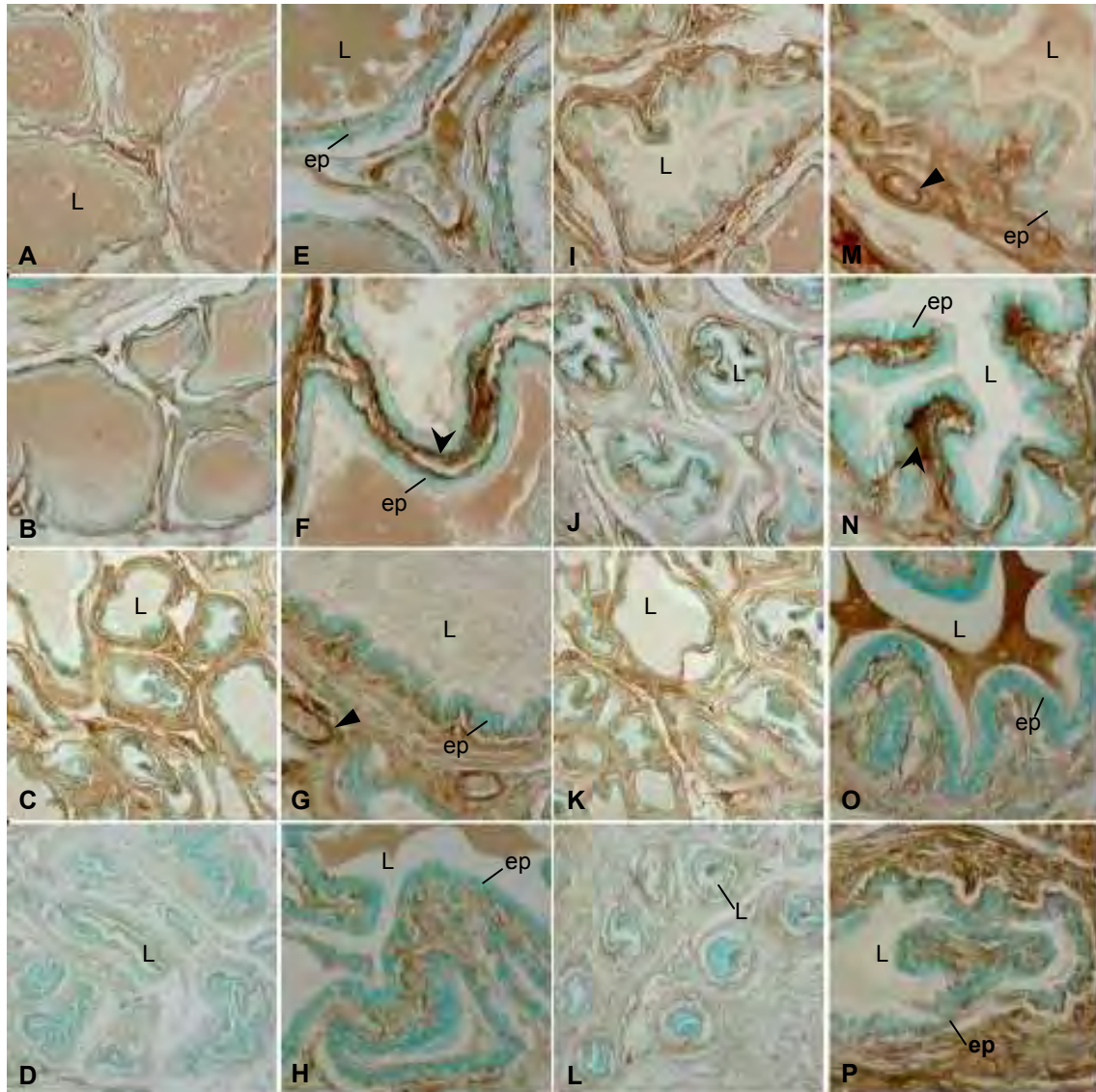


Figura 5: Cortes histológicos em parafina submetidos à reação imunocitoquímica para identificação de condroitim sulfato mostrando a distribuição desse composto na região intermediária (A-H) e proximal (I-P) do lobo ventral da próstata de gerbilos intactos (A, E, I, M) e após 7 (B, F, J, N), 14 (C, G, K, O) e 21 dias (D, H, L, P) de castração. Legenda: cabeça de seta pequena – vaso sanguíneo; cabeça de seta grande – acúmulos de CS; ep – epitélio; L – lúmen. Aumentos: A-D, I-L – 100X; E-H, M-P – 400X.

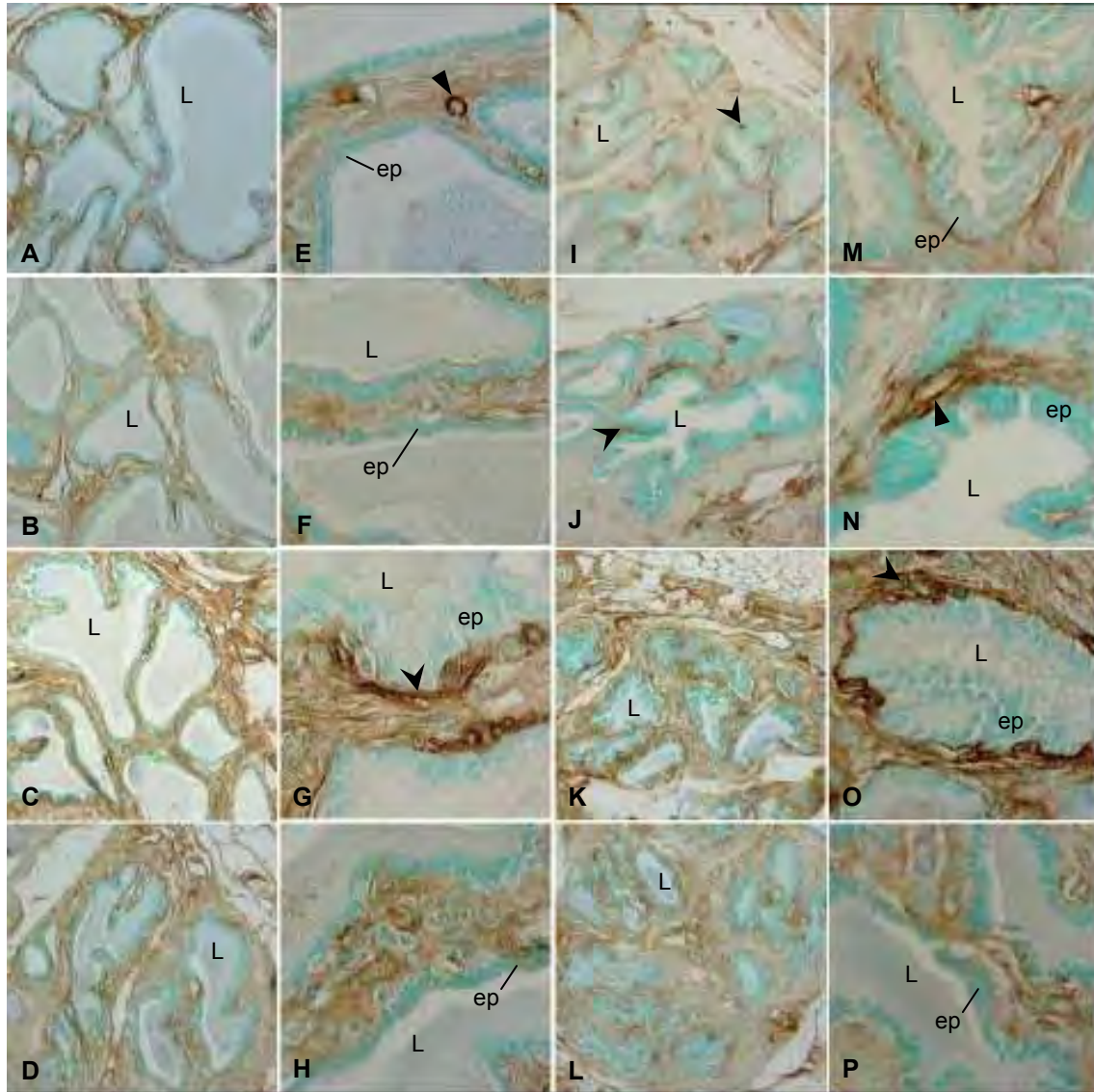


Figura 6: Cortes histológicos em parafina submetidos à reação imunocitoquímica para identificação de condroitim sulfato mostrando a distribuição desse composto na região intermediária (A-H) e proximal (I-P) do lobo dorsal da próstata de gerbilos intactos (A, E, I, M) e após 7 (B, F, J, N), 14 (C, G, K, O) e 21 dias (D, H, L, P) de castração. Legenda: cabeça de seta pequena – vaso sanguíneo; cabeça de seta grande – acúmulos de CS; ep – epitélio; L – lúmen. Aumentos: A-D, I-L – 100X; E-H, M-P – 400X.

DISCUSSÃO

Os lobos dorsais e ventrais de roedores diferem estruturalmente, quanto ao tipo de proteínas secretadas e quanto à sensibilidade hormonal (Prins e Birch, 1993; Banerjee *et al.*, 1995; Jesik *et al.*, 1982; Lee *et al.*, 1985; Hayashi *et al.*, 1991; Chow *et al.*, 1992). O lobo ventral tem sido o componente mais estudado do complexo prostático de roedores de laboratório, em parte devido a sua alta responsividade aos andrógenos (Kyprianou e Isaacs, 1987; Reznik *et al.*, 1981; Banerjee *et al.*, 1995; Carvalho e Line, 1996; Carvalho *et al.*, 1997a). Uma drástica diminuição na secreção prostática e aumento da morte celular por apoptose tem sido descritos para a próstata ventral de ratos, indicando que esta região é mais sensível à privação androgênica (Banerjee *et al.*, 1995).

Três semanas após a castração os lobos prostáticos do gerbilo da Mongólia reduziram mais da metade do seu peso. Este processo de involução é semelhante ao descrito para o rato (Sugimura *et al.*, 1986; Vilamaior *et al.*, 2000; Antonioli *et al.*, 2004), sendo caracterizado por diminuição do tamanho acinar e atrofia epitelial, que na espécie estudada se torna mais nítido após duas semanas de castração. Segundo Terry e Clark (1996a), os efeitos da castração no peso prostático podem ser atribuídos aos seguintes fatores: *i*) diminuição na síntese de proteínas; *ii*) aumento nos níveis das enzimas degradativas, tais como ribonuclease (Engel *et al.*, 1980), catepsina D (Wilson *et al.*, 1991; Sensibar *et al.*, 1990), catepsina B (Guenette *et al.*, 1994) e colagenase (Müntzing, 1981), o que leva à morte celular programada; e *iii*) diminuição na quantidade de secreção protéica armazenada. Segundo Antonioli *et al.* (2004), a depleção androgênica por castração química ou cirúrgica leva a uma involução prostática marcante e, apesar de ainda existir cerca de 5% de testosterona residual circulante após a orquiectomia, produzida periféricamente pela glândula adrenal, essa testosterona residual é insuficiente para manter a homeostase do órgão, o que explica as significativas alterações no epitélio prostático e nos compartimentos estromais.

A comparação do processo de involução entre os lobos do gerbilo da Mongólia mostrou que o lobo ventral apresenta uma diminuição na altura do

epitélio glandular e no seu volume logo com uma semana de castração, o que não é verificado para o lobo dorsal. Tal observação pode sugerir uma maior necessidade androgênica das células epiteliais do lobo ventral em comparação com o dorsal para a manutenção da sua atividade secretora, conforme tem sido constatado para outros roedores (Banerjee *et al.*, 1995). Entretanto, o acompanhamento do processo de involução indicou que, ao fim da segunda e terceira semana de castração, o volume luminal, que indiretamente representa o volume secretado, diminui drasticamente apenas no lobo dorsal. Esses dados são indicativos de que o lobo dorsal é também bastante responsivo à falta de andrógenos. Além disso, ao analisarmos em pormenores as alterações estromais nestes dois lobos prostáticos em tempos superiores a duas semanas de castração constata-se que o aumento do compartimento estromal em ambos os lobos decorre de um aumento no volume relativo de células musculares lisas e que no caso do lobo dorsal é também causado por aumento do volume correspondente às fibras colágenas. Segundo Vilamaior *et al.*, (2000) em suas análises da regressão prostática do rato, as células musculares lisas têm suas características alteradas (forma e função) após ablação androgênica, passando a exercer funções predominantemente sintéticas a contráteis. Dessa forma essas células passam a se envolver na síntese e secreção de MEC, bem como atuam na remodelação ativa dos componentes fibrilares do estroma, podendo ser esse um dos motivos que levaram a um aumento no volume de fibras colágenas do estroma no lobo ventral de ratos, o que também se aplica para o lobo dorsal do gerbilo. Também tem sido descrito para a próstata ventral de ratos uma ondulação progressiva e crescente das fibras colágenas e sua maior associação com as células musculares lisas após a castração, sugerindo um papel ativo dessas células na reorganização da matriz extracelular (Vilamaior *et al.*, 2000).

A análise de cortes histológicos corados com HE e com tricrômico de Gömori mostrou que a castração no gerbilo não leva a alterações fenotípicas marcantes nas células, nem remodelação drástica dos componentes estromais para nenhum dos lobos investigados, mas que as alterações observadas são principalmente causadas pela retração do órgão como um todo. Entretanto, métodos para identificação de componentes colagênicos e da membrana basal estão sendo efetuados para uma maior compreensão das interações envolvidas com a involução prostática.

Os proteoglicanos são moléculas abundantemente distribuídas nos tecidos, constituídas de uma proteína central ligada covalentemente à cadeias laterais de glicosaminoglicanos (Iida *et al.*, 1997; Iozzo, 1998). Eles desempenham uma grande variedade de papéis fundamentais na fisiologia das células e tecidos, e, distúrbios em seu metabolismo podem produzir uma ampla variedade de alterações patológicas (McNeal, 1997). Entre os proteoglicanos de CS incluem-se moléculas bem conhecidas, tais como o versican, biglican, agrecan, lumican e decorin, os quais apresentam um número variável de cadeias deste GAG associadas (Iozzo, 1998). Algumas destas moléculas têm sido identificadas na próstata (Bode-Lesniewska *et al.*, 1996) onde têm sido implicadas na regulação da proliferação celular e na progressão do câncer prostático (Ricciardelli *et al.*, 1999; Cardoso *et al.*, 2004).

A análise imunocitoquímica utilizada nesse estudo permitiu constatar que o condroitim sulfato distribuiu-se principalmente na região subepitelial do estroma prostático do lobo ventral do gerbilo, próximo à membrana basal, à semelhança do que tem sido descrito para o rato (Terry e Clark, 1996a; Fernandes, 2000) e cobaia (Horsfall *et al.*, 1994). Entretanto, tanto no lobo ventral do gerbilo como no dorsal verificou-se a expressão destes proteoglicanos também entre as células musculares lisas do estroma, porém com uma marcação mais intensa no gerbilo em comparação com os animais acima mencionados.

Nossos dados imunocitoquímicos apontam para uma diminuição na concentração dos proteoglicanos contendo condroitim sulfato no estroma de ambos os lobos prostáticos, após a castração. Uma redução da expressão de condroitim sulfato também tem sido descrita previamente por Horsfall *et al.* (1994) para a próstata de ratos castrados, o que é acompanhado de aumento na expressão de dermatam sulfato. Outros estudos mostram que a expressão de glicosaminoglicanos da próstata é regulada por andrógenos e que deve haver diferenças lobo específicas nessa regulação, pois, Segundo Terry e Clark (1996a), os lobos dorsais e laterais parecem estar sob um mecanismo regulatório distinto quando comparados ao lobo ventral. Além disso, a administração de testosterona é capaz de reverter o efeito da castração, sugerindo que a expressão ou o metabolismo dos proteoglicanos de CS é, então, dependente de andrógenos (Terry e Clark, 1996 a, b; Fernandes, 2000). Kofoed *et al.* (1990) também observaram que as concentrações de GAGs na vesícula

seminal e na próstata de rato são alteradas após a castração, mas que podem ser revertidas com a reposição de andrógenos. Segundo Terry e Clark (1996a), a castração reduz o conteúdo total dessas moléculas, pois a falta de andrógenos ocasiona uma diminuição das enzimas envolvidas na síntese dos GAGs bem como promove um aumento nas enzimas de degradação dessas moléculas. Estudos realizados com aorta de coelhos demonstraram que a castração afeta tanto a síntese quanto a degradação dos GAGs. A atividade de enzimas envolvidas na produção dos precursores de GAGs, tais como L-glutamina, D-frutose-6-fosfatase, aminotransferases, desidrogenases e fosforilases, diminui com a castração, mas aumenta após tratamento com testosterona. Além disso, a atividade de enzimas degradativas de GAGs, tais como β -glucuronidase, β -hexosaminidase, catepsina e hialuronidase, aumenta após a castração e diminui com a administração de testosterona (Sandhyavathi Bai e Kurup, 1976).

Maiores níveis de CS são encontrados em tecidos durante a proliferação celular (Toole e Gross, 1971). Cardoso *et al.* (2004), estudando tecidos prostáticos humanos que apresentam HPB (hiperplasia prostática benigna) constatou que o CS aumenta grandemente na HPB e concentra-se ao redor das células musculares lisas adjacentes. Essa expressão aumentada é específica para esse glicosaminoglicano, enquanto que outros componentes da membrana basal não são afetados, tais como colágeno tipo IV, perlecan e laminina, e isso deve ser resultado dos efeitos regulatórios de fatores locais que estão ativos na HPB. Uma maior quantidade de versican tem sido relacionada a um prognóstico ruim para a reincidência do câncer de próstata (Ricciardelli *et al.*, 1999). Isso ocorre devido às suas propriedades, que antagonizam a adesão das células a matriz extracelular adjacente, o que facilita a migração de células tumorais. Com base nestas informações, a diminuição do CS ao longo do processo de involução prostática poderia ser relacionado à diminuição da proliferação celular.

CONCLUSÕES

Os sinais de regressão devido à queda de andrógenos observados para o gerbilo são semelhantes aos descritos previamente para outros modelos experimentais – atrofia e pregueamento epitelial, aumento e remodelação estromal. Os dados histológicos e estereológicos referentes a estes sinais mostram que ambos os lobos, dorsal e ventral respondem negativamente à queda de andrógenos. No lobo ventral a falta de andrógenos afeta principalmente a atividade secretora enquanto que no lobo dorsal ocorre uma remodelação estromal mais drástica, com alterações no volume do estroma fibromuscular e das fibras colágenas.

A análise da distribuição do condroitim sulfato, com o uso de técnicas imunocitoquímicas, em tempos progressivos após a castração, apontam para uma maior concentração destas moléculas na base do epitélio, ao redor das células musculares lisas e de vasos sanguíneos, e nas regiões de pregas epiteliais no período de maior resposta à falta de andrógeno. Mostram, ainda, uma redistribuição deste glicosaminoglicano em tempos prolongados em ambos os lobos prostáticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antoniolli E, Della-Colleta HHM, Carvalho HF. 2004. Smooth muscle cell behavior in the ventral prostate of castrated rats. **Journal of Andrology** **25(1)**: 50-56.
- Banerjee PP, Banerjee S, Tilly KI, Tilly JL, Brown TR, Zirkin BR. 1995. Lobe-specific apoptotic cell death in rat prostate after androgen ablation by castration. **Endocrinology** **136(10)**: 4368-4376.
- Behmer OA, Tolosa EMC, Neto AGF. 1976. Manual de práticas para histologia normal e patológica. **EDART-EDUSP, SP**. 329p.
- Bode-Lesniewska B, Dours-Zimmermann MT, Odermatt BF, Briner J, Heitz PU, Zimmermann DR (1996) Distribution of the large aggregating proteoglycan versican in adult human tissues. **J. Histochem. Cytochem.** **44**: 303-312.
- Cardoso LEM; Falcão PG, Sampaio FJB. 2004. Increased and localized accumulation of chondroitin sulphate proteoglycans in the hyperplastic human prostate. **Bju International** **93**: 532-538.
- Carvalho HF, Line SRP. 1996. Basement membrane associated changes in the rat ventral prostate following castration. **Cell. Biol. Int.** **20(19)**: 809-819.
- Carvalho HF, Vilamaior PSL, Taboga SR. 1997a. Elastic system of the rat ventral prostate and its modification following orchiectomy. **Prostate** **32(1)**: 27-31.
- Carvalho HF, Taboga SR, Vilamaior PSL. 1997b. Collagen type VI is a component of the extracellular matrix microfibril network of the prostate stroma.** *Tissue & Cell* **29(2)**: **163-170**.
- Cunha GR, Bigsby RM, Coople PS, Sugimura Y. 1985. Stromal-epithelial interactions in adult organs. **Cell Diff.**, **17**: 137-148.
- Chow PH, Chan CW, Cheng LYL. 1992. Contents of fructose, citric acid, acid phosphatase, proteins and electrolytes in secretions of the accessory sex glands of the male golden hamster. **Int. J. Androl.** **16**: 41-45.
- Daugaard S, Strange L, Schiodt T. 1991. Immunohistochemical staining for chondroitin-sulphate and keratan sulphate. An evaluation of two monoclonal antibodies. **Histochemistry**, **95**: 585-589.

- Engel G, Lee C, Grayhack JT. 1980. Acid ribonuclease in rat prostate during castration-induced involution. **Biol. Reprod.** **22**: 827-831.
- Fernandes JKH. 2000. Caracterização dos glicosaminoglicanos da próstata ventral, glândula de coagulação e vesícula seminal de ratos: efeitos da castração. Campinas. p. 43. Tese (Mestrado) – **Instituto de Biologia, UNICAMP**.
- Guenette RS, Mooibroek M, Wong K, Wong P, Tenniswood M. 1994. Cathepsin B, a cysteine protease implicated in metastatic progression, is also expressed during regression of the rat prostate and mammary glands. **Eur. J. Biochem.** **226**: 311-321.
- Hayashi N, Sugimura Y, Kamamura J, Doncajour AA, Cunha GR. 1991. Morphological and functional heterogeneity in the rat prostatic gland. **Biol. Reprod.** **45**: 308-321.
- Horsfall DJ, Mayne K, Skinner JM, Saccone GT, Marschall VR e Tilley WD. 1994. Glycosaminoglycans of guinea pig prostate fibromuscular stroma: influence of estrone and androgen on levels and location of chondroitin sulfate. **Prostate** **25(6)**: 320-32.
- Huttunen E, Romppanen T, Helminen HJ. 1981. A histoquantitative study on the effects of castration on the rat ventral prostate lobe. **Journal of Anatomy** **132**: 357-370.
- Iida S, Suzuki K, Matsuoka K, Takazono I, Shimada A, Inoue M, Yahara J, Noda S. 1997. Analysis of glycosaminoglycans in human prostate by high-performance liquid chromatography. **British Journal of Urology** **79**: 763-769.
- Iozzo RV. 1998. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. **Annu. Rev. Biochem.** **67**: 609-652.
- Jesik CJ, Holland JM, Lee C. 1982. An anatomic and histologic study of the rat prostate. **Prostate**, **3**: 81-97.
- Kofoed JA, Tumilash OR, Curbelo HM, Fernandez Lemos SM, Arias NH e Houssay AB. 1990. Effects of castration and androgens upon prostatic proteoglycans in rats. **Prostate** **16(2)**; 93-102.

- Kyprianou N, Isaacs JT. 1987. Quantal relationship between prostatic dihydrotestosterone and prostatic cell content: critical threshold concept. **Prostate 11**: 41-50.
- Lee C. 1996. Role of androgen in prostate growth and regression: Stromal-Epithelial interaction. **The Prostate Supplement 6**: 52-56.
- Lee C, Tsai Y, Harrison HH, Sensibar J. 1985. Proteins of the rat prostate: preliminary characterization by two-dimensional electrophoresis. **Prostate 7**: 171-182.
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. 2002. *Biologia celular e molecular*, 4ed. **Revinter**, 1084p.
- McNeal JE. 1997. Prostate. In: *Histology for Pathologists*. 2^a Ed. Philadelphia, **Lippincott-Raven Publishers**. 997-1017.
- Muntzing J. 1981. Collagen synthesis and breakdown in the rat ventral prostate. **Prog. Clin. Biol. Res. 75A**: 137-144.
- Nemeth JA, Lee C. 1996. Prostatic ductal system in rats: regional variation in stromal organization. **Prostate 28**: 124-128.
- Prins GS, Birch L. 1993. Neonatal estrogen exposure u-regulates estrogen receptor expression in the developing and adult rat prostate lobes. **Endocrinology, 138(5)**: 1801-1809.
- Reznik G, Hamlin MH, Ward JM, Stinson SF. 1981. Prostatic hyperplasia and neoplasia in aging F344 rats. **Prostate, 2(3)**: 261-268.
- Ricciardelli C, Quinn DI, Raymond WA, McCaul K, Sutherland PD, Stricker PD, Grygiel JJ, Sutherland RL, Marshall VR, Tilley WD, Horsfall DJ. 1999. Elevated levels of peritumoral chondroitin sulphate are predictive of poor prognosis in patients treated by radical prostatectomy for early-stage prostate cancer. **Cancer research 59**: 2324-2328.
- Ross MH, Reith EJ, Romrell LJ. 1993. *Histologia – texto e atlas*. 2^aed. **Panamericanas**, São Paulo, 779p.

- Sandhyavathi Bai, L, Kurup PA. 1976. Sex hormones and metabolism of glycosaminoglycans. 1. Effect of orchietomy and administration of testosterone in rabbits. **Metabolism**, **25**: 1535-1543.
- Sensibar JA, Liu XX, Patai B, Alger B, Lee C. 1990. Characterization of castration-induced cell death in the rat prostate by immunohistochemical localization of cathepsin D. **Prostate (NY)** **16**: 263-276.
- Sugimura Y, Cunha GR, Donjacour AA. 1986. Morphological and histological study of castration-induced degeneration and androgen-induced regeneration in the mouse prostate. **Biol. Reprod.**, **34**: 973-983.
- Terry DE, Clark AF. 1996a. Glycosaminoglycans in the three lobes of the rat prostate following castration and testosterone treatment. **Biochem. Cell Biol.** **74**: 653-658.
- Terry DE, Clark AF. 1996b. Influence of testosterone on chondroitin sulphate proteoglycan in the rat prostate. **Biochem. Cell Biol.** **74**: 645-651.
- Toole BP, Gross J. 1971. The extracellular matrix of the regenerating new limb: synthesis and removal of hyaluronate prior to differentiation. **Dev. Biol.** **25**: 57-77.
- Vilamaior PSL, Felisbino SL, Taboga SR, Carvalho HF. 2000. Collagen fiber reorganization in the rat ventral prostate following androgen deprivation: A possible role for smooth muscle cells. **Prostate**, **45(3)**: 235-238.
- Weibel ER. 1963. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. **Lab. Invest**, **12**: 131-155.
- Wilson MJ, Whitaker, JN, Sinha AA. 1991. Immunocytochemical localization of cathepsin D in rat ventral prostate: evidence for castration-induced expression of cathepsin D in basal cells. **Anat. Rec.** **229**: 321-233.

CONCLUSÕES GERAIS

- O complexo prostático do gerbilo *Meriones unguiculatus* é constituído por 4 pares de lobos: ventrais, dorsais, dorso-laterais e anteriores, assemelhando-se a outros roedores; porém os lobos dorsais são os mais desenvolvidos nesta espécie.
- Os lobos prostáticos do gerbilo apresentam diferenças regionais intralobulares, podendo ser reconhecidos, além dos ductos principais, três segmentos histologicamente distintos, denominados de distais, intermediários e proximais com base na posição que ocupam em relação à uretra.
- Tanto o lobo ventral como o lobo dorsal respondem negativamente à queda de andrógenos, porém no lobo ventral a atividade secretora é mais afetada enquanto que no lobo dorsal o componente estromal sofre uma drástica remodelação, com alterações no volume ocupado pelas células musculares lisas e fibras colágenas.
- Os proteoglicanos de condroitim sulfato da próstata do gerbilo encontram-se localizados preferencialmente na base do epitélio, ao redor das células musculares lisas e de vasos sanguíneos, e sofrem uma redistribuição, com aparente redução, após tempos prolongados de castração. Além disso, neste animal o lobo ventral apresenta maior concentração destas moléculas em comparação com o lobo dorsal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 2004. Molecular biology of the cell. 4thed. **Garland Science**, 1463 p.
- Antoniolli E, Della-Colleta HHM, Carvalho HF. 2004. Smooth muscle cell behavior in the ventral prostate of castrated rats. **Journal of Andrology** **25(1)**: 50-56.
- Banerjee PP, Banerjee S, Dorsey R, Zirkin BR, Brown TR. 1994. Age and lobe-specific responses of Brown Norway rat prostate to androgen. **Biol. Reprod.** **51**: 675-684.
- Banerjee PP, Banerjee S, Tilly KI, Tilly JL, Brown TR, Zirkin BR. 1995. Lobe-specific apoptotic cell death in rat prostate after androgen ablation by castration. **Endocrinology** **136(10)**: 4368-4376.
- Banerjee PP, Banerjee S, Lay JM, Strandberg JD, Zirkin BR. 1998. Age-dependent and lobe-specific spontaneous hyperplasia in the brown Norway rat prostate. **Biol. Reprod.** **59**: 1163-1170.
- Bloom ER, Fawcett DW. 1994. A textbook of histology. 20^aed. **Chapman & Hall**. New York, 964p.
- Bonkhoff H., Stein U. & Remberger K. 1994. Multidirectional differentiation in the normal, hyperplastic, and neoplastic human prostate: simultaneous demonstration of cell-specific epithelial markers. **Human Pathol.** **25**: 42-46.
- Borges LF, Taboga SR, Gutierrez OS. 2005. Simultaneous observation of collagen and elastin in normal and pathological tissues: analysis of Sirius-red-stained sections by fluorescence microscopy. **Cell and Tissue Research** **320(3)**: 551-552
- Carvalho HF, Line SRP. 1996. Basement membrane associated changes in the rat ventral prostate following castration. **Cell Biol. Int.** **20(19)**: 809-819.
- Carvalho HF, Vilamaior PSL, TABoga SR. 1996. The elastic system of the rat ventral prostate and its modifications following orchiectomy. **Prostate**, **16**: 93-102.
- Carvalho HF, Vilamaior PSL, Taboga SR. 1997a. Elastic system of the rat ventral prostate and its modification following orchiectomy. **Prostate** **32(1)**: 27-31.

- Carvalho HF, Taboga SR, Vilamaior PSL. 1997b. Collagen type VI is a component of the extracellular matrix microfibril network of the prostate stroma. Tissue & Cell 29(2): 163-170.**
- Chow PH, Chan CW, Cheng LYL. 1992. Contents of fructose, citric acid, acid phosphatase, proteins and electrolytes in secretions of the accessory sex glands of the male golden hamster. **Int. J. Androl. 16:** 41-45.
- Corradi LS, Góes RM, Carvalho HF, Taboga SR. 2004. Inhibition of 5- α -reductase activity induces stromal remodeling and smooth muscle de-differentiation in adult gerbil ventral prostate. **Differentiation 72(5):** 198-208.
- Cunha, G.R. (1994) Role of mesenchymal–epithelial interactions in normal and abnormal development of the mammary gland and prostate. **Cancer, 47:** 1030–1044.
- Cunha GR, Bigsby RM, Coople PS, Sugimura Y. 1985. Stromal-epithelial interactions in adult organs. **Cell Diff., 17:** 137-148.
- Cunha GR, Donjacour AA, Sugimura Y. 1986. Stromal-epithelial interactions and heterogeneity of proliferative activity within the prostate. **Biochem. Cell Biol. 64(6):** 608-614.
- Custódio AMG, Góes RM, Taboga SR. 2004. Acid phosphatase activity in gerbil (*Meriones unguiculatus*) prostate: comparative study in female and male glands during postnatal development. **Cell Biol. Int., 28(5):** 335-344.
- DeKlerk DP. 1983. The glycosaminoglycans of normal and hyperplastic prostate. **Prostate 4:** 73-81.
- Donjacour AA, Cunha GR. 1988. The effect of androgen deprivation on branching morphogenesis in the mouse prostate. **Dev. Biol., 128:** 1-14.
- Donjacour AA, Cunha GR. 1993. Assisment of protein secretion in tissue recombinants made of urogenital sinus mesenchyme and urothelin from normal and androgen-intensive mice. **Endocrinology, 132:** 2342-2350.
- Farnsworth WE. 1999. Prostate stroma: Phisiology. **Prostate 38:** 60-72.
- Fernandes JKH. 2000. Caracterização dos glicosaminoglicanos da próstata ventral, glândula de coagulação e vesícula seminal de ratos: efeitos da castração. 43f. Tese

- (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – **Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas**, Campinas.
- Guyton AC. 1984. Tratado de Fisiologia Médica. 6ed. **Interamericana**. Rio de Janeiro.
- Hay ED. 1991. Cell biology of the extracellular matrix. 2nd ed. **Plenum**, New York.
- Hayashi N, Sugimura Y, Kamamura J, Doncajour AA, Cunha GR. 1991. Morphological and functional heterogeneity in the rat prostatic gland. **Biol. Reprod.** **45**: 308-321.
- Hayward SW, Rosen MA, Cunha GR. 1992. Stromal-epithelial interactions in the normal and neoplastic prostate. **J. Urol.**, **79(Suppl.)**: 18-26.
- Holtherhus PM, Zhao GQ, Aumüller G. 1993. Effects of androgen deprivation and estrogen treatment on the structure and protein expression on the rat coagulating gland. **Anat. Rec.**, **235**: 223-232.
- Horsfall DJ, Mayne K, Skinner JM, Saccone GT, Marschall VR e Tilley WD. 1994. Glycosaminoglycans of guinea pig prostate fibromuscular stroma: influence of estrone and androgen on levels and location of chondroitin sulfate. **Prostate** **25**: (6) 320-32.
- Hudson DL, Guy AT, Fry P, O'hare MJ, Watt FM, Masters JNR. 2001. Epithelial cell differentiation pathways in the human prostate: identification of intermediate phenotypes by heratin expression. **J. Histochem. Cytochem.**, **49(2)**: 271-278.
- Iozzo RV. 1998. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. **Annu. Rev. Biochem.** **67**: 609-652.
- Jeffers GW, Klei TR, Enright FM. 1984. Activation of the jird (*Meriones unguiculatus*) macrophages by the filarial parasite *Brugia pahangi*. **Infect. Immun.**, **43(1)**: 43-48.
- Jesik CJ, Holland JM, Lee C. 1982. An anatomic and histologic study of the rat prostate. **Prostate**, **3**: 81-97.
- Kiplesund KM, Halgunset J, Fjósne HE, Sunde A. 1988. Light microscopic morphometric analysis of castration effects in the different lobes of the rat prostate. **Prostate**, **13**: 221-232.

- Kinbara H, Cunha GR. 1996. Ductal heterogeneity in rat dorsal-lateral prostate. **Prostate 28**: 58-64.
- Kofoed JA, Tumilash OR, Curbelo HM, Fernandez Lemos SM, Arias NH e Houssay AB. 1990. Effects of castration and androgens upon prostatic proteoglycans in rats. **Prostate 16(2)**; 93-102.
- Kramer AWJr. 1964. Body and organ weights and linear measurements of the Mongolian Gerbil. **Anatomical Records, 150(4)**: 343-347.
- Kyprianou N, Isaacs JT. 1987. Quantal relationship between prostatic dihydrotestosterone and prostatic cell content: critical threshold concept. **Prostate 11**: 41-50.
- Kyprianou N, Isaacs JT. 1989. Expression of transforming growth factor B in the rat ventral prostate during castration-induced programmed cell death. **Mol. Endocrinol. 3**: 1515-1522.
- Lee C. 1996. Role of androgen in prostate growth and regression: stromal-epithelial interaction. **Prostate, 6**: 52-56.
- Lee C, Sensibar J, Kudek S, Hiipakka R, Liao S. 1990. Prostatic ductal system in rats: regional variation in morphological and ductional activities. **Biol. Reprod. 43**: 1079-1086.
- Lee C, Tsai Y, Harrison HH, Sensibar J. 1985. Proteins of the rat prostate: preliminary characterization by two-dimensional electrophoresis. **Prostate 7**: 171-182.
- Lin CQ, Bissel MJ. 1993. Multi-faceted regulation of cell differentiation by extracellular matrix. **FASEB J. 7(9)**: 737-743.
- McKenna M, Bell SK. 1997. Classification of Mammals above the species level. **Columbia University Press**. New York. 631p.
- McNeal JE. 1997. Prostate. In: Histology for Pathologists. 2^a Ed. Philadelphia, **Lippincott-Raven Publishers**. 997-1017.
- Muller M, Nielsen JT. 1979. Effect of superior cervical ganglionectomy on monoamine content in the epithalamic area of the Mongolian Gerbil – a fluorescence histochemical study. **Cell Tissue Res., 201 (1)**: 1-9.

- Müntzing J. 1981. Androgen and collagen as growth regulators of the rat ventral prostate. **Prostate 1**: 71-78.
- Nawa Y, Horii Y, Okada M, Arizono N. 1994. Histochemical and cytochemical characterizations of mucosal and connective tissue mast cells of Mongolian gerbils. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, **104(3)**: 249-254.
- Nemeth JA, Lee C. 1996. Prostatic ductal system in rats: regional variation in stromal organization. **Prostate 28**: 124-128.
- Oliveira SM. 2005. A próstata ventral do gerbilo frente às diferentes formas de castração e subsequente reposição hormonal por testosterona. 65f. Tese (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – **Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas**, Campinas.
- Peehl DM. 1996. Cellular biology of prostatic growth factors. **The prostate supplement 6**: 74-78.
- Pinheiro PFF, Almeida CCD, Segatelli TM, Martinez M, Padovani CB, Martinez FE. 2003. Structure of the pelvic and penile urethra – relationship with the ducts of the sex accessory glands of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **J. Anat.**, **202**: 431-444.
- Price D. 1963. Comparative aspects of development and structure in the prostate. **Nat. Can. Inst. Monogr.**, **12**: 1-27.
- Prins GS, Cooke PS, Birch L., Donjacour AA, Yalcinkaya TM, Siiteri P.K., Cunha G.R. 1992. Androgen receptor expression and 5 α -reductase activity along the proximal-distal axis of the rat prostatic duct. **Endocrinology**, **130(5)**: 3066-3073.
- Pupa SM, Menard S, Forti S, Tagliabue E. 2002. New insights into role of extracellular matrix during tumor onset and progression. **J. Cell Phys.**, **192**: 259-257.
- Reznik G, Hamlim MH, Ward JM, Stinson SF. 1981. Prostatic hyperplasia and neoplasia in aging F344 rats. **Prostate**, **2(3)**: 261-268.
- Robinson DG. 1974. The anatomy of the Mongolian Gerbil. **Publishers Foreword**, USA, p. V.
- Ruoslahti E. 1989. Proteoglycans in cell regulation. **J. Biol. Chem.**, **264**: 13369-13372.

- Santos FCA., Carvalho HF, Góes RM, Taboga SR. 2003. Ultrastructural characterization of secretory cell in the gerbil female prostate. **Tissue Cell**, **34**: 273-282.
- Schwentker V. 1963. The gerbil - a new laboratory animal. **Veterinarian**, **6(4)**: 5-9.
- Segatelli TM, Faça LR, Pinheiro PFE, Almeida CCD, Martinez M, Martinez FE. 2004. Spermatogenic cycle length and spermatogenic efficiency in the gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Journal of Andrology**, **25(6)**: 872-880.
- Shapiro E, Hartanto V, Becich MJ, Lepor H. 1992. The relative proportion of stromal and epithelial hyperplasia is related to the development of symptomatic BPH. **J. Urol.** **147**: 1293-1297.
- Shappel, S. Anatomic Considerations: Man vs. Mouse. Vanderbilt University. Disponível em: <http://emice.nci.nih.gov/emice/mouse_models/organ_models/prostate_models/man_vs_mouse/anatomic_considerations>. Acesso em: 30 nov. 2005.
- Signoretti S, Waltrengny D, Dilks J, Isaac B, Lin D, Garraway L, Yang A, Montironi R, McKenon F, Loda M. 2000. p63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development. **Am. J. Pathol.** **157(6)**: 1769-1775.
- Sugimura Y, Cunha GR, Donjacour AA. 1986. Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate. **Biol. Reprod.**, **34**: 961-971.
- Taboga SR, de Campos Vidal, B. 2003. Collagen fibers in human prostatic lesions: histochemistry and anisotropies. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, **35(1)**: 11-16.
- Terry DE, Clark AF. 1996a. Influence of testosterone on chondroitin sulphate proteoglycan in the rat prostate. **Cell Biology**, **74**: 645-651.
- Terry DE, Clark AF. 1996b. Glycosaminoglycans in the three lobes of the rat prostate following castration and testosterone treatment. **Biochem. Cell Biol.**, **74**: 653-658.
- Van Leenders GJLH, Schalken JA. 2003. Epithelial cell differentiation in the human prostate epithelium: implications for the pathogenesis and therapy of prostate cancer. **Critical Review in Oncology/Hematology**, **46(1)**: 3-10.

- Vilamaior PSL. 2003. Regulação hormonal e interações células-matriz extracelular na próstata ventral de ratos. 91f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – **Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas**, Campinas.
- Vilamaior PSL, Suzigan S, Carvalho HF, Taboga SR. 2003. Structural characterization and distribution of elastic system fibers in the human prostate and some prostatic lesions. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, **20(2)**: 101-107.
- Vilamaior PSL, Felisbino SL, Taboga SR, Carvalho HF. 2000. Collagen fiber reorganization in the rat ventral prostate following androgen deprivation: A possible role for smooth muscle cells. **Prostate**, **45(3)**: 235-238.
- Webster WS, Leibovich BC. 2005. Exisulind in the treatment of prostate cancer. **Expert. Rev. Anticancer Ther. Dec**; **5(6)**: 957-962.
- Williams WM. 1974. The Anatomy of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Tumblebrook Farm, Inc.**, West Brookfield, Mass. 107p.
- Yamashita A, Hayashi N, Sugimura Y, Cunha GR, Kawamura J. 1996. Influence of Diethylstilbestrol, Leuproelin (a luteinizing hormone-releasing hormone analog), Finasteride (a 5 α -reductase inhibitor), and castration on the lobar subdivisions of the rat prostate. **Prostate**, **29**: 1-14.
- Zhao GQ, Holterhus PM, Dammshäuser I, Hoffbauer G, Aümüller G. 1994. Estrogen-induced morphological and immunohistochemical changes in stroma and epithelium of rat ventral prostate. **Prostate**, **21**: 183-199.