



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Edilaine Farias Alves

**Análise histológica e quantitativa dos componentes acinares e
estromais das zonas da próstata humana normal**

Rio de Janeiro

2018

Edilaine Farias Alves

Análise histológica e quantitativa dos componentes acinares e estromais das zonas da próstata humana normal

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Sistema Urogenital.

Orientadora: Prof.^a Dra. Carla Braga Mano Gallo

Coorientador: Prof. Dr. Waldemar Silva Costa

Rio de Janeiro

2018

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

A474 Alves, Edilaine Farias.

Análise histológica e quantitativa dos componentes acinares e estromais das zonas da próstata humana normal / Edilaine Farias Alves. – 2018.
80 f.

Orientadora: Carla Braga Mano Gallo.

Coorientador: Waldemar Silva Costa.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas.

1. Próstata – Teses. 2. Histologia - Teses. 3. Imuno-histoquímica. 4. Células acinares. I. Gallo, Carla Braga Mano. II. Costa, Waldemar Silva. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 616.65

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Edilaine Farias Alves

**Análise histológica e quantitativa dos componentes acinares e estromais das zonas da
próstata humana normal**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Sistema Urogenital.

Aprovada em 31 de janeiro de 2018.

Orientadora: Prof.^a Dra. Carla Braga Mano Gallo
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Coorientador: Prof. Dr. Waldemar Silva Costa
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora: _____
Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Luciano Alves Favorito
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Marcelo Abidu Figueiredo
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceber a vida, por ter me sustentado e me dado sabedoria para desfrutar de todas as oportunidades.

Agradeço aos meus pais, Expedito e Eronilde, minha base e exemplo, por todo amor, carinho, apoio, torcida, suporte, incentivo constante e por sempre estarem ao meu lado, colaborando para minha caminhada até aqui. Sem vocês não teria chegado até aqui. Estendo meus agradecimentos a toda a minha família pelo carinho.

Ao Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, por sempre prezar a qualidade do curso e pela oportunidade de participar deste programa e pelos ensinamentos durante meu mestrado, que contribuíram para esta dissertação.

Aos meus orientadores, Profa. Dra. Carla Braga Mano Gallo e Prof. Dr. Waldemar Silva Costa, pelos quais eu tenho o maior apreço. Agradeço pela orientação, confiança, pelos ensinamentos que instigaram minhas reflexões e contribuíram para meu crescimento pessoal, profissional/científico, e cultural, e pelos momentos de descontração. Vocês são minha inspiração!

Ao Dr. Bruno Marroig, pela amizade, confiança, pelos ensinamentos e por toda a ajuda depositados a mim.

A Profa. Dra. Bianca Martins Gregório, ao Prof. Dr. Diogo Benchimol de Souza e ao Prof. Dr. Luciano Alves Favorito, docentes da Unidade de Pesquisa Urogenital, pelos ensinamentos que contribuíram para minha vida acadêmica.

Aos amigos que fiz na Unidade de Pesquisa Urogenital, Priscila, Marcello, Roger, Aline, Pamella, Carina, Fabiana, Gabriela, Rômulo, Michele, Suelen, Flávia, pelos quais dividi muitos momentos alegres. Agradeço pela amizade, parceria, apoio, incentivo, companheirismo e por estarem sempre prontos a ajudar quando preciso.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro, sendo o último na forma de Bolsa de Mestrado Nota 10 - processo E-26/200.133/2017.

Construí amigos, enfrentei derrotas, venci obstáculos, bati na porta da vida e disse-lhe: Não
tenho medo de vivê-la!

Augusto Cury

RESUMO

ALVES, Edilaine Farias. *Análise histológica e quantitativa dos componentes acinares e estromais das zonas da próstata humana normal*. 2018. 80f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Introdução. McNeal dividiu a próstata humana em 3 grandes zonas anatômicas: zona periférica (ZP), zona central (ZC) e zona de transição (ZT). Cada uma destas zonas seria diferente biológica e histologicamente. A zona periférica e a zona de transição apresentam um significado clínico e estão associadas ao câncer de próstata e a hiperplasia prostática benigna, respectivamente. **Objetivos.** Caracterizar, qualitativa e quantitativamente, os componentes que constituem as zonas da próstata. **Material e métodos.** Foram analisadas 19 amostras de cada uma das zonas da próstata obtidas de necrópsias de jovens com idade entre 18 e 32 anos e com sistema urogenital íntegro. As amostras foram fixadas em formalina tamponada 4%, e processadas para inclusão em parafina. De cada amostra foram feitos cortes de cinco micrômetros de espessura. Os cortes foram corados por técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas para identificação dos componentes acinares e estromais de cada zona. Foram feitas fotomicrografias para as análises morfométricas realizadas com o *software* ImageJ utilizando-se uma técnica computacional baseada na segmentação de cores. Os dados foram analisados por *one-way* ANOVA e pós-teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$ como estatisticamente significativo, utilizando o *software* GraphPad Prism 6. **Resultados.** As fibras colágenas apresentaram-se em maior número na ZT (+40,26%; $p=0,0230$) quando comparada com a ZP. As fibras musculares também apresentaram-se em maior número na ZT (+47,05%; $p=0,0120$) quando comparada com a ZP. As fibras do sistema elástico apresentaram diferença estatística na ZT quando comparada com a ZP (+84,61%; $p=0,0012$) e quando comparada com a ZC (+61,66%; $p=0,0074$). Os nervos apresentaram diferença estatística na ZC (-42,86%; $p=0,0107$) quando comparada com a ZP. A altura do epitélio apresentou-se menor na ZT quando comparada com a ZP (-30,17%; $p=0,0034$) e quando comparada a ZC (-25,01%; $p=0,0330$). **Conclusão.** Nossos dados quantitativos sobre os diferentes elementos que constituem o estroma prostático normal nos permitiram mostrar as diferenças entre as zonas prostáticas. Este estudo estabeleceu padrões para parâmetros normais e pode ser usado em comparações posteriores na análise histopatológica.

Palavras-chave: Próstata normal. Histologia. Componentes acinares. Componentes estromais.

Zonas da próstata. Histomorfometria. Imuno-histoquímica.

ABSTRACT

ALVES, Edilaine Farias. *Histological and quantitative analyses of the stromal and acinar components of normal human prostate zones*. 2018. 80f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Background: McNeal divided the human prostate into three major anatomical areas: the peripheral zone (PZ), the central zone (CZ), and the transition zone (TZ). Each of these areas is biologically and histologically distinct. The PZ and TZ have clinical significance and are associated with prostate cancer (PC) and benign prostatic hyperplasia (BPH), respectively. **Objective:** To quantitatively and qualitatively analyse the parenchymal and stromal components that constitute the different prostate zones. **Methods:** We assessed 19 samples from each prostate zone. The samples were obtained from necropsies of young people between 18 and 32 years of age with intact urogenital tracts. The samples were fixed in 4% buffered formalin and processed for paraffin embedding. Sections with a thickness of 5 micrometres were obtained from each sample. The sections were stained using histochemical and immunohistochemical techniques to identify the acinar and stromal components of each zone. Photomicrographs were obtained for morphometric analysis using an algorithm based on colour segmentation. Data were analysed using one-way analysis of variance (ANOVA) with the Bonferroni post-test. Differences with $p < 0.05$ were regarded as statistically significant. **Results:** Collagen fibres were more numerous in the TZ (+40.26%; $p = 0.0230$) than in the PZ. Muscle fibres were also more numerous in the TZ (+47.05%; $p = 0.0120$) than in the PZ. Elastic system fibres in the TZ significantly differed from those in the PZ (+84.61%; $p = 0.0012$) and the CZ (+61.66%; $p = 0.0074$). Similarly, nerves in the PZ (-42.86%; $p = 0.0107$) significantly differed from nerves in the CZ. Epithelial height was lower in the TZ than in the PZ (-30.17%; $p = 0.0034$) and the CZ (-25.01%; $p = 0.0330$). **Conclusion:** Our objective, quantitative data regarding the various elements that constitute the normal prostate stroma allowed us to reveal differences among prostate zones. This study established patterns for normal parameters and may be used for posterior comparisons in histopathological analysis.

Keywords: Prostate. Histology. Acinar components. Stromal components. Prostate zones. Histomorphometry. Immunohistochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Desenho esquemático da localização da próstata no sistema reprodutor masculino por Vesalius.....	13
Figura 2 – Localização anatômica da próstata.....	17
Figura 3 – Suprimento arterial e drenagem venosa da próstata.....	18
Figura 4 – Histologia da próstata normal.....	19
Figura 5 – Epitélio das glândulas tubuloalveolares da próstata.....	21
Figura 6 – Regiões das glândulas prostáticas.....	21
Figura 7 – Divisão anatômica da próstata proposta por Lowsley.....	25
Figura 8 – Divisão anatômica da próstata proposta por McNeal.....	28
Figura 9 – Nova terminologia de divisão da próstata.....	32
Figura 10 – Nova terminologia de divisão da próstata em lóbulos.....	32
Tabela 1 – Idades dos indivíduos.....	34
Figura 11 – Quantificação das fibras colágenas e fibras musculares lisas utilizando a técnica computacional baseada em segmentação de cores, <i>software</i> ImageJ.....	38
Figura 12 – Utilização do recurso <i>color segmentation</i> para quantificar as fibras colágenas e fibras musculares lisas, <i>software</i> ImageJ.....	39
Figura 13 – Apresentação do resultado da área ocupada pelas fibras colágenas e fibras musculares lisas e a máscara gerada pelo <i>software</i> ImageJ.....	40
Figura 14 – Apresentação do resultado da área ocupada pelas fibras do sistema elástico e a máscara gerada pelo <i>software</i> ImageJ.....	41
Figura 15 – Apresentação do resultado da área ocupada pelos vasos sanguíneos e a máscara gerada pelo <i>software</i> ImageJ.....	42
Figura 16 – Apresentação do resultado da área ocupada pelos nervos e a máscara gerada pelo <i>software</i> ImageJ.....	43
Figura 17 – Mensurando a área do ácino prostático, <i>software</i> ImageJ.....	44
Figura 18 – Apresentação do resultado da área acinar pela ferramenta “ <i>freehand selections</i> ”, <i>software</i> ImageJ.....	45
Figura 19 – Mensurando a altura do epitélio prostático, <i>software</i> ImageJ.....	46

Figura 20 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a predominância de cor vermelha.....	49
Tabela 2 – Parâmetros acinares e estromais das zonas da próstata. Acinares: área acinar e altura do epitélio. Estromais: fibras colágenas, fibras musculares lisas, fibras do sistema elástico, vasos sanguíneos e nervos.....	50
Figura 21 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a disposição de fibras colágenas.....	51
Figura 22 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a disposição de fibras musculares lisas.....	52
Figura 23 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a disposição de fibras do sistema elástico.....	53
Figura 24 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a imunomarcção de vasos sanguíneos.....	54
Figura 25 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a imunomarcção de nervos.....	55
Figura 26 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a área do ácino prostático.....	56
Figura 27 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a altura do epitélio prostático.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.	Antes de Cristo
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
CAAE	Certificado de apresentação para apreciação ética
CaP	Câncer de próstata
CEP/HUPE	Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Rio de Janeiro
DAB	3,3 diaminobenzidina tetrahydrocloridro
DHT	Di-hidrotestosterona
HPB	Hiperplasia prostática benigna
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes
PSA	Antígeno prostático específico
PBS/BSA	<i>Phosphate buffered saline / Bovine serum albumin</i>
Ref	Referência
TRIS-EDTA	<i>Trisaminomethane-ethylenediaminetetraacetic acid</i>
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
ZC	Zona central
ZP	Zona periférica
ZT	Zona de transição

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
%	Porcentagem
n	Número
=	Igual
\pm	Mais ou menos
μm	Micrômetro
β	Beta
pH	Potencial de Hidrogênio
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
$^{\circ}$	Marca registrada
μm^2	Micrômetro quadrado
<	Menor
nm	Nanômetro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	13
1	REVISÃO DA LITERATURA	15
1.1	Embriologia da próstata	15
1.2	Anatomia da próstata	16
1.3	Histologia da próstata	19
1.4	Conceito de lóbulo prostático	23
1.4.1	<u>Divisão em lóbulos proposta por Lowsley</u>	24
1.5	Divisão zonal proposta por McNeal	26
1.5.1	<u>Zona Periférica</u>	29
1.5.2	<u>Zona Central</u>	29
1.5.3	<u>Zona de Transição</u>	30
1.6	Uma nova terminologia	31
2	OBJETIVOS	33
3	MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1	Procedimentos histológicos	35
3.2	Imuno-histoquímica	35
3.3	Histomorfometria	36
3.3.1	<u>Análise dos componentes estromais das diferentes zonas da próstata</u>	37
3.3.1.1	Quantificação das fibras colágenas e fibras musculares lisas.....	37
3.3.1.2	Quantificação das fibras do sistema elástico.....	41
3.3.1.3	Quantificação dos vasos sanguíneos.....	42
3.3.1.4	Quantificação dos nervos.....	43
3.3.2	<u>Análise dos componentes acinares das diferentes zonas da próstata</u>	44
3.3.2.1	Quantificação da área acinar.....	44
3.3.2.2	Quantificação da altura do epitélio.....	45
3.4	Análise estatística	46
4	RESULTADOS	48
4.1	Análise qualitativa	48
4.1.1	<u>Colágeno</u>	48
4.2	Análise quantitativa	50

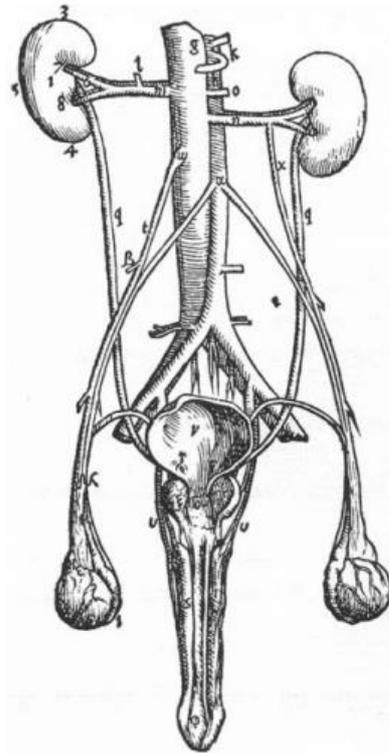
4.2.1	<u>Fibras colágenas</u>	51
4.2.2	<u>Fibras musculares lisas</u>	52
4.2.3	<u>Fibras do sistema elástico</u>	53
4.2.4	<u>Vasos sanguíneos</u>	54
4.2.5	<u>Nervos</u>	55
4.2.6	<u>Área do ácino prostático</u>	56
4.2.7	<u>Altura do epitélio prostático</u>	57
5	DISCUSSÃO	58
	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62
	ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética.....	67
	ANEXO B - Aprovação do Comitê de Ética (Emenda).....	71
	ANEXO C – Artigo <i>Prostate</i> doi.org/10.1002/pros.23472.....	76

INTRODUÇÃO

O termo “próstata” é derivado da palavra grega *prohistani*, pois corresponde à localização da glândula em frente à bexiga. Este termo foi empregado pela primeira vez por Herófilus de Calcedônia, em 335 a.C., um anatomista grego considerado o pai da anatomia (Gardiner et al., 2000; Bay e Bay, 2010).

Em 1543, Andreas Vesalius publicou observações descrevendo a próstata como sendo um só órgão do sistema urogenital masculino (Dauge et al., 1999) (Figura 1).

Figura 1 – Desenho esquemático da localização da próstata no sistema reprodutor masculino por Vesalius



Fonte: Marx & Karenberg, 2009.

Riolan foi o primeiro a descrever e ilustrar o aumento da próstata tendo como consequência a obstrução da bexiga. O trabalho foi publicado na Opera Anatomica em 1649 (Oesterling, 1991; Alonso-Magdalena et al., 2009). Samuel Collins, em 1685, mostrou a importância clínica deste acontecimento (Zuckerman, 1936; Timms, 2008).

A próstata é uma glândula sexual acessória encontrada exclusivamente em mamíferos e essencial para a função reprodutiva (Kumar & Majumder, 1995; Marker et al., 2003; Lee et al., 2011). Seu desenvolvimento, crescimento, manutenção estrutural e funcional se dá em resposta aos hormônios androgênicos, potenciais estimuladores da diferenciação e do crescimento do epitélio e do estroma prostáticos (Gnanapragasam et al., 2000; Marker et al., 2003; Fujikawa et al., 2005; Lee et al., 2011). O início do seu desenvolvimento ocorre durante a décima semana de gestação em resposta ao estímulo da di-hidrotestosterona (DHT) - hormônio proveniente da conversão metabólica da testosterona através da ação da enzima 5 α -redutase, localizada no seio urogenital (Berman et al., 2012).

A divisão da próstata em regiões começou com Lowsley (1912) que, estudando embriões humanos, propôs a sua divisão em cinco lóbulos: anterior, posterior, dois laterais e um central. Um novo conceito de divisão da próstata humana foi proposto por McNeal (1968). Ao longo do tempo, este conceito inicial foi modificado pelo próprio McNeal (1981a; 1981b; 1988). Propôs a divisão da próstata em três grandes zonas anatômicas: zona periférica (ZP), zona central (ZC) e zona de transição (ZT), que seriam diferentes biológica e histologicamente.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Embriologia da próstata

A próstata humana é formada por aproximadamente 70% de elementos glandulares, formados a partir de evaginações do endoderma da uretra prostática e 30% de elementos estromais derivados do mesoderma circunjacente (Kierszenbaum, 2008; Chung et al., 2012).

A formação da próstata ocorre durante a décima semana gestacional em resposta ao estímulo da DHT (Lowsley, 1912; Cunha et al., 1987; Berman et al., 2012). Seu desenvolvimento normal é dependente da ação da testosterona através do receptor de androgênio. A testosterona necessita ser convertida em DHT na glândula prostática, por ação da enzima 5 α -redutase, para sua atividade completa (Stanworth & Jones, 2008). A exposição a esses andrógenos é importante, pois impulsiona a diferenciação da próstata e seu crescimento no embrião (Berman et al., 2012).

A próstata origina-se do seio urogenital e seu crescimento é regulado por uma complexa interação entre o epitélio e estroma prostáticos (Saldanha et al., 2000; Lee et al., 2011). Esta interação é importante para controlar a morfogênese da glândula, a homeostase celular e a remodelação tecidual durante o desenvolvimento embrionário e a idade adulta (Guo et al., 2015).

A próstata cresce como cordões epiteliais sólidos que posteriormente se ramificam e canalizam como parte de um sofisticado programa de morfogênese de ramificação (Berman et al., 2012).

A próstata fetal é uma pequena massa, dividida em dois lóbulos laterais. Consiste em um número de túbulos com pequenos ramos encaixados em um estroma de tecido conjuntivo rico em células musculares lisas (Griffiths, 1889).

Durante os últimos meses de vida intrauterina, foi observada uma proliferação do epitélio da mucosa interna da próstata, provavelmente decorrente de hormônios maternos circulantes, particularmente o estrogênio. Após o nascimento as mudanças aumentam e persistem por uma a quatro semanas tornando-se estáveis até quatro meses; durante os demais meses há poucas mudanças, ocorrendo somente um aumento no número de ácinos. Por volta do décimo ano de vida, o epitélio dos ácinos se torna mais proeminente, mas ainda não há secreção. Na puberdade ocorre um rápido aumento no tamanho dos ácinos quando aparece a

secreção. A glândula assume, então, a sua forma definitiva presente no indivíduo adulto (Franks, 1953).

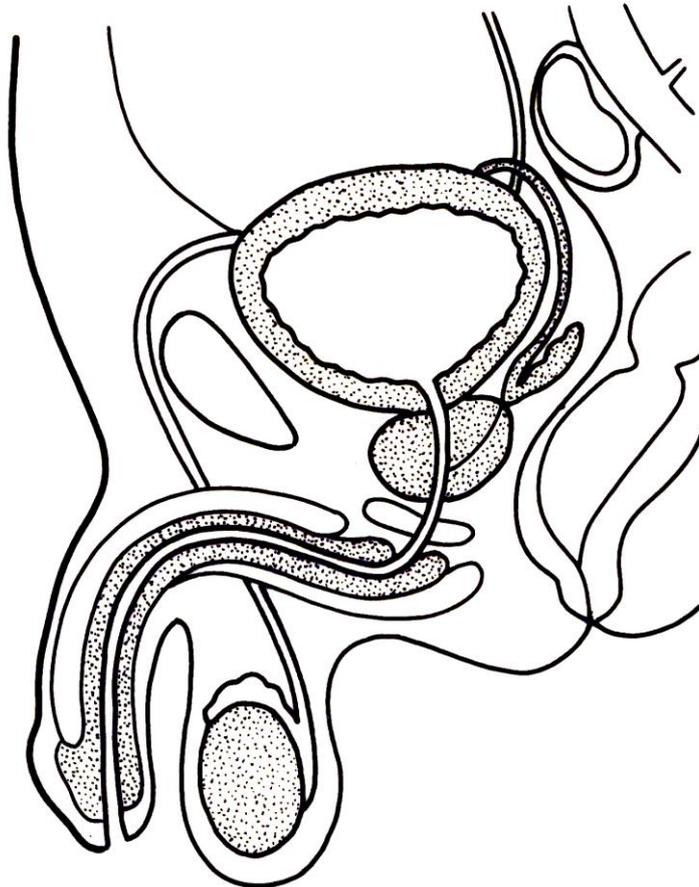
Cuneo, em 1911 e Franks, em 1954, descreveram a próstata sendo dividida em duas zonas: uma denominada mucosa interna que foi formada pelas glândulas de Albarran, e a outra denominada mucosa externa, sobre toda a glândula prostática (Dauge et al., 1999).

1.2 Anatomia da próstata

A próstata é um órgão compacto, fibromuscular e glandular pesando aproximadamente 20g (Marker et al., 2003; Tanagho & Lue, 2014). Está localizada na cavidade pélvica, inferior à bexiga, posterior à sínfise púbica e anterior ao reto. Circunda o primeiro segmento uretral chamado de uretra prostática (Figura 2) (Amin et al., 2010; Lee et al., 2011).

A glândula prostática apresenta uma base, um ápice, uma face anterior, face posterior e duas faces inferolaterais. Superiormente, a base está intimamente relacionada com o colo da bexiga e a uretra prostática penetra na região central da base; inferiormente o ápice está em contato com a fásia na superfície superior do diafragma urogenital; a face anterior é separada da sínfise púbica pela gordura retroperitoneal no espaço retropúbico; a face posterior é triangular e plana e repousa sobre a superfície anterior do reto, estando separada desta pelo septo retoprostático (fásia de Denonvilliers); as faces inferolaterais unem-se à face anterior, estão relacionadas com o músculo levantador do ânus e repousam acima do diafragma urogenital (Lee et al., 2011; Favorito & Sampaio, 2014; Moore et al., 2014).

Figura 2 – Localização anatômica da próstata



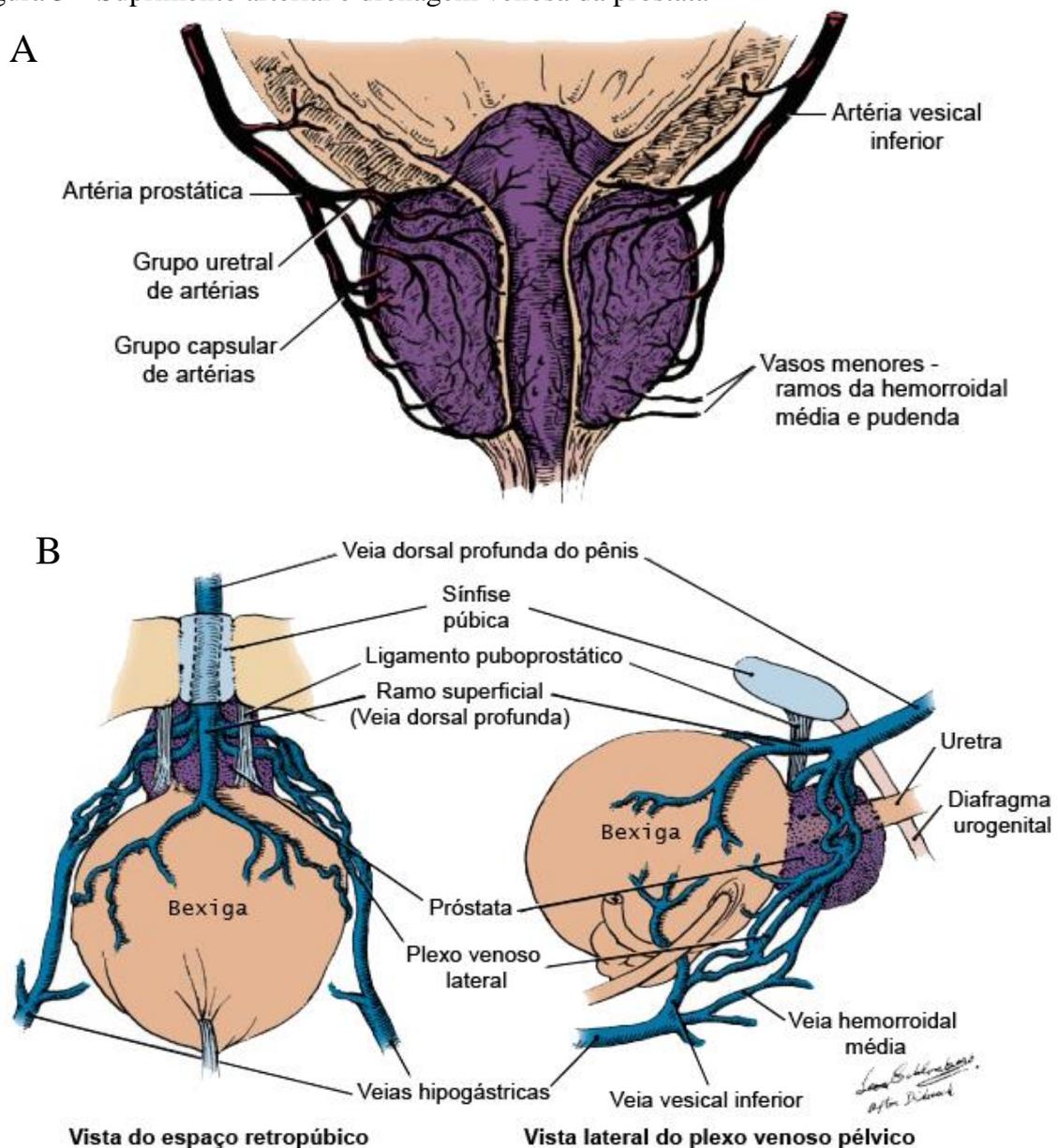
Legenda: Desenho esquemático mostrando a localização da próstata.
Fonte: Favorito & Sampaio, 2014.

A função da próstata é produzir secreções essenciais para o desempenho dos espermatozoides, fornecendo-lhes condições ideais de sobrevivência e viabilidade. As secreções prostáticas são ricas em proteínas, enzimas, lipídios, amilases, ácido cítrico, fosfatase ácida, fibrinolizina, zinco, dentre outras substâncias (Kumar & Majumder, 1995; Lilja, 2003; Gartner & Hiatt, 2003; Kierszenbaum, 2008). Estas secreções dão suporte à fertilidade masculina e protegem o trato urinário inferior de infecção, sendo assim consideradas um importante componente do líquido seminal (Lilja, 2003).

Além das substâncias mencionadas anteriormente, a próstata também produz um importante marcador funcional: o antígeno prostático específico (PSA). É produzido quase exclusivamente pelo epitélio glandular e tem como função solubilizar o esperma após a ejaculação. Quando encontra-se elevado em níveis sanguíneos pode indicar HPB, prostatite e CaP (Stenman et al., 1999; Balk et al., 2003; Kierszenbaum, 2008; Lilja et al., 2008).

O suprimento sanguíneo arterial da próstata é derivado de ramos da artéria ílica interna que são as artérias vesical inferior, pudenda interna e retal média, sendo o fornecimento arterial mais comum da próstata proveniente da artéria vesical inferior (Figura 3A). A drenagem venosa é feita através de veias que drenam para o plexo periprostático, e estão conectadas com a veia dorsal profunda do pênis e com as veias ilíacas internas (Figura 3B). É inervada pelos nervos simpáticos e parassimpáticos do plexo hipogástrico inferior (Lee et al., 2011; Chung et al., 2012; Tanagho & Lue, 2014).

Figura 3 – Suprimento arterial e drenagem venosa da próstata



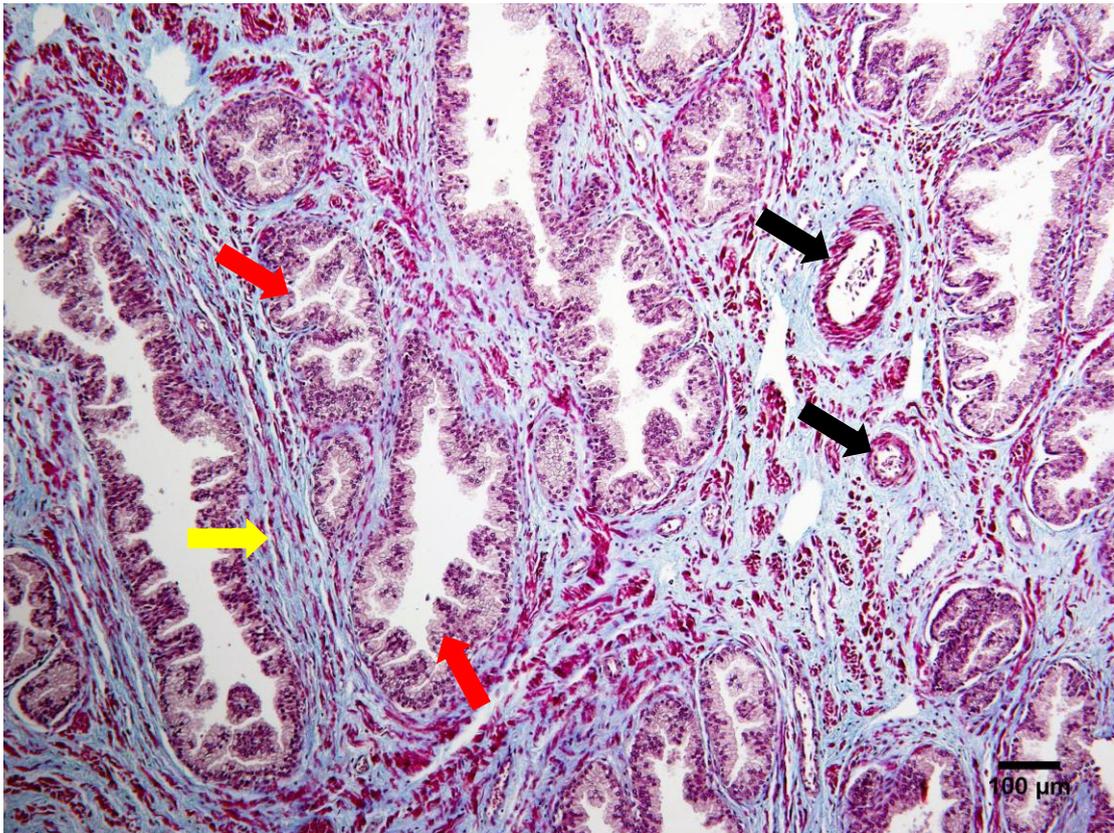
Legenda: Esquemas mostrando os suprimentos arterial e venoso da próstata. (A) Suprimento arterial da próstata mais comum proveniente da artéria vesical inferior, (B) plexo venoso pélvico mostrando a relação dos ramos venosos com os ligamentos puboprostáticos.

Fonte: Chung et al., 2012 (traduzidos por Alves, E.F., 2017).

1.3 Histologia da próstata

A próstata é composta de epitélio glandular, arranjado em ácinos e ductos, e de estroma, constituído por tecido fibromuscular e uma matriz proteica (Figura 4) (Srougi et al., 2010; Lee et al., 2011; Chung et al., 2012).

Figura 4 – Histologia da próstata normal



Legenda: Fotomicrografia mostrando a composição histológica da próstata: o epitélio, formado pelos ácinos (setas vermelhas) e ductos (setas pretas), e o estroma (seta amarela).

Nota: Fotomicrografia da ZP da próstata, tricrômico de Masson, objetiva de 10x. A barra de escala representa 100 µm.

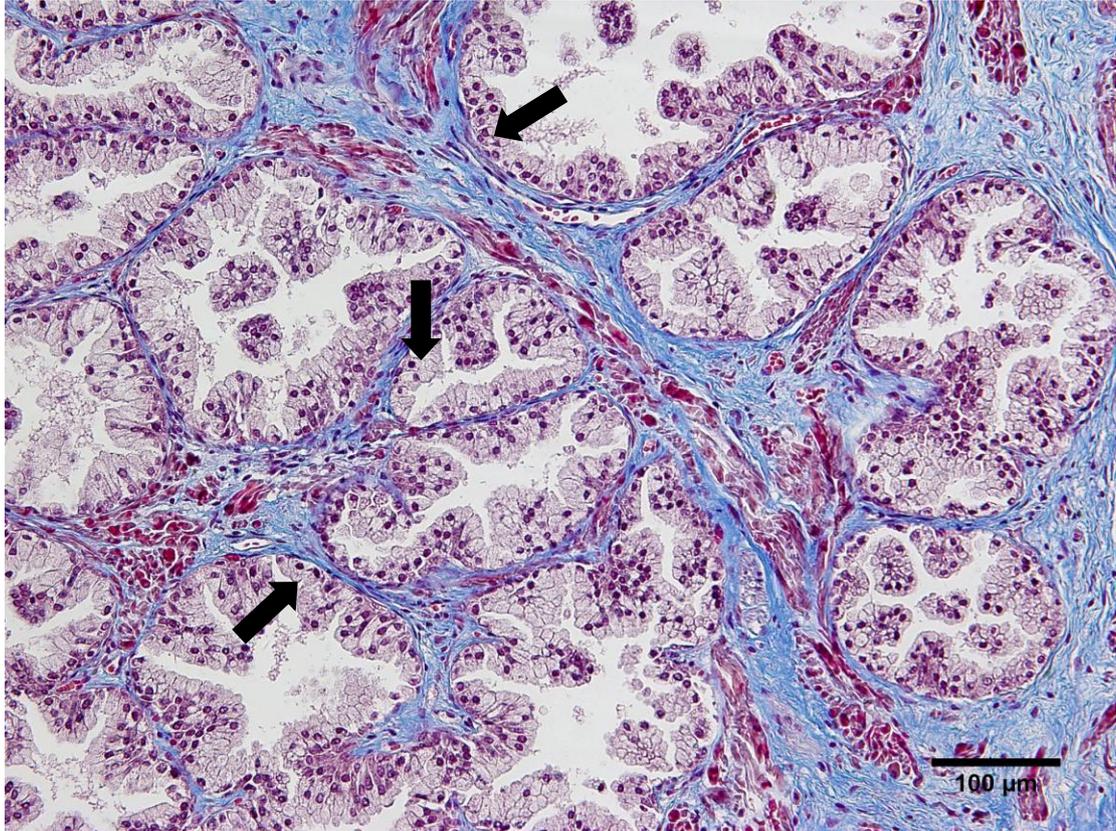
Fonte: Alves, E.F., 2017.

A glândula prostática é envolvida por uma cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado, também conhecido como tecido fibroelástico rico em músculo liso e altamente vascularizado contendo septos que penetram na glândula e a dividem em lóbulos ou zonas (Cormack, 2003; Gartner & Hiatt, 2003; Junqueira & Carneiro, 2013a).

É constituída por um conjunto de 30 a 50 glândulas tubuloalveolares ramificadas, formadas por um epitélio cuboide ou pseudoestratificado colunar, dependendo do seu nível de atividade secretora (Figura 5). As células são ricas em retículo endoplasmático granular, aparelho de Golgi, numerosos grânulos de secreção e lisossomos, organelas responsáveis pela síntese e empacotamento de proteínas. Cada glândula é circundada por um estroma fibromuscular e tem um sistema de ductos ramificados que desembocam na uretra prostática (Cormack, 2003; Gartner & Hiatt, 2003; Chung et al., 2012; Junqueira & Carneiro, 2013a).

As glândulas prostáticas estão organizadas em três regiões distintas: glândulas da mucosa, glândulas da submucosa, e glândulas ramificadas compostas periféricas, denominadas glândulas principais. As glândulas da mucosa são mais curtas, estão associadas à mucosa uretral e são as únicas que comumente crescem, causando a HPB. As glândulas da submucosa são intermediárias e estão dispostas periféricamente às glândulas da mucosa. As glândulas principais, por sua vez, são as maiores e as mais numerosas e tem maior probabilidade de transformação maligna (Figura 6) (Cormack, 2003; Gartner & Hiatt, 2003; Kierszenbaum, 2008).

Figura 5 – Epitélio das glândulas tubuloalveolares da próstata

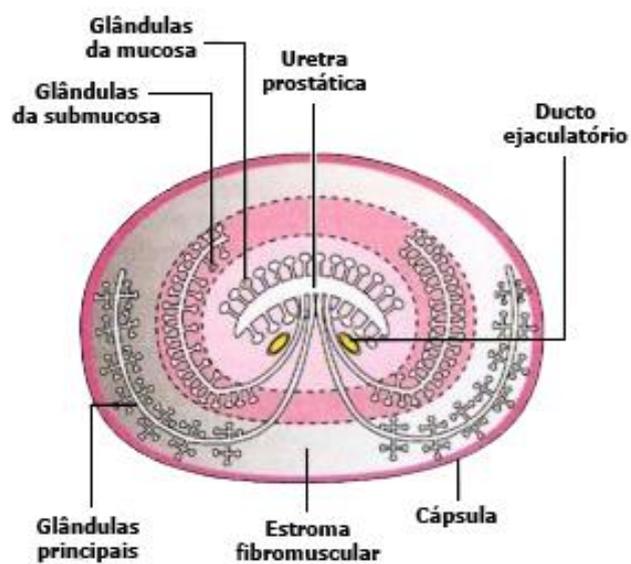


Legenda: Fotomicrografia mostrando o epitélio das glândulas tubuloalveolares da próstata (setas) formado de células cuboides ou colunares.

Nota: Fotomicrografia da ZP da próstata, tricrômico de Masson, objetiva de 20x. A barra de escala representa 100 μm .

Fonte: Alves, E.F., 2017.

Figura 6 – Regiões das glândulas prostáticas



Legenda: Esquema das três regiões das glândulas e do estroma prostático em relação à uretra prostática e ducto ejaculatório.

Fonte: Kierszenbaum, 2008.

O epitélio glandular possui quatro tipos celulares: células secretoras, basais, neuroendócrinas e transicionais. Cada uma destas células possui características específicas.

- a) As células secretoras são o tipo celular mais abundante do epitélio glandular, de aspecto colunar com margens não definidas, apresentando citoplasma abundante, núcleo basal e grânulos secretores. São responsáveis pela produção da enzima fosfatase ácida e do PSA, além de serem ricas em receptores de androgênio (Srougi et al., 2010);
- b) As células basais são em menor número, estão localizadas junto à membrana basal dos ácinos, tem forma arredondada, citoplasma escasso e margens bem definidas. Acredita-se que são as precursoras das células secretoras e que sua proliferação talvez tenha papel relevante no desenvolvimento da HPB e no CaP. Sugere-se também que estas células podem ter papel no transporte de material entre as células epiteliais secretoras e o espaço extracelular, e na função reguladora das células epiteliais colunares (Cunha et al., 1987; Srougi et al., 2010);
- c) As células neuroendócrinas são o tipo celular menos numerosas do epitélio prostático e estão dispersas entre as células epiteliais dos ácinos e ductos. Embora sua função ainda não seja totalmente conhecida, sabe-se que são capazes de secretar peptídeos, serotonina, hormônio tireoestimulante, calcitonina e somatostatina, que possivelmente tem papel regulador no crescimento, desenvolvimento, proliferação, diferenciação e secreção de células epiteliais (Bostwick et al., 2008; Srougi et al., 2010);
- d) As células transicionais estão localizadas nos ductos excretorios próximos à luz uretral e podem dar origem às neoplasias epiteliais da próstata (Srougi et al., 2010).

Na fase embrionária é possível identificar outro tipo celular, a célula intermediária, que na próstata adulta só pode ser identificada por meio de técnicas imunohistoquímicas. Especula-se que esta célula seja o compartimento alvo da carcinogênese prostática e da célula pluripotente. Ela se originaria da célula basal e daria origem à célula secretora ou luminal (Saldanha et al., 2000).

O estroma prostático contribui com 45 a 54% do peso da próstata. É composto por tecido conjuntivo com fibras colágenas, fibras elásticas e fibroblastos, células musculares lisas, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos. As células epiteliais dos ácinos e ductos apoiam-se sobre uma membrana basal formada por colágeno do tipo IV e V, glicosaminoglicanos, polissacarídeos e glicolipídios. A membrana basal representa uma interface entre as células epiteliais e o estroma propriamente dito, constituído por colágeno

tipo I e III, matriz proteica e células especializadas (fibroblastos, células musculares e neuroendócrinas). Os fibroblastos e as células musculares lisas são os tipos celulares predominantes (Deering et al., 1994; Chagas et al., 2002; Srougi et al., 2010).

1.4 Conceito de lóbulo prostático

A descrição de Everad Home em 1806 do lóbulo médio, também conhecido como terceiro lóbulo foi o primeiro conceito sugerido para a divisão da próstata e logo incorporado pela comunidade médica. Esta descrição foi aceita pela maioria dos anatomistas e cirurgiões (Selman, 2011).

No século 19, Cruveilhier não considerava a denominação de lóbulo médio a mais correta, pois esta região era uma porção isolada. Para ele o termo correto deveria ser o de porção mediana como citado por Thompson (1857). Griffiths (1889) observou que esta região era independente e, em alguns casos, poderia estar presente e bem definida no momento da puberdade e na vida adulta antes do aumento da próstata. No entanto, em outros casos, poderia ser muito pequena ou ainda ausente. Para Jores, em 1894, o lóbulo médio deveria ser considerado apenas como uma comissura glandular conectando os dois lobos laterais e não como uma estrutura independente (Lowsley, 1912).

Ainda no século 19, pesquisadores como Cruveilhier e Testut explicaram que a próstata era formada de vários lobos, enquanto que Cloquet e Sappey diziam que era uma única zona (Dauge et al., 1999). Mais tarde, Jores e Albarran descreveram as glândulas submucosas encontradas no colo da bexiga, usadas por alguns pesquisadores para explicar o desenvolvimento do lóbulo médio (Selman, 2011).

Mansell Moullin, em 1895, afirmou que a próstata não era um órgão urinário, pois suas glândulas surgem da uretra acima das aberturas dos ductos de Wolffian e Mullerian. Para Moullin, a existência do lóbulo médio dependia da medida em que ocorreu o deslocamento das glândulas prostáticas durante seu desenvolvimento em cada indivíduo, ou seja, enquanto as glândulas estavam restritas ao seio prostático, não havia porção média; se, em alguns casos, elas eram deslocadas para a bexiga, ocupando a linha média e permanecendo na parede posterior da uretra, formando, assim, uma porção mais ou menos visível (Lowsley, 1912).

Em 1901, Pallin descobriu que a musculatura da glândula prostática estava se desenvolvendo no quarto mês de vida, mas no sexto mês os ductos ejaculatórios não sugeriam a presença de músculo liso (Lowsley, 1912).

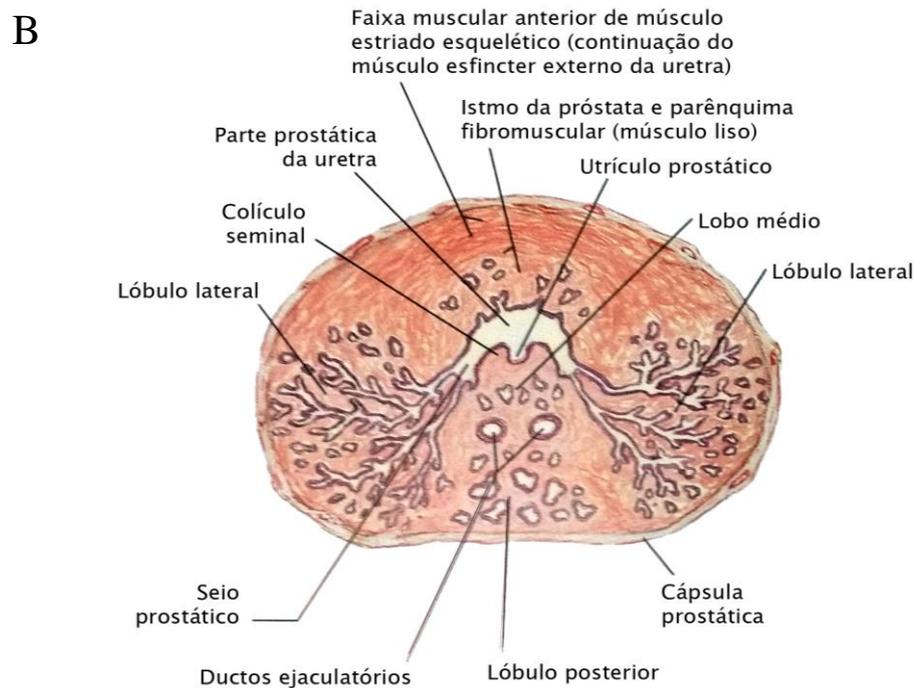
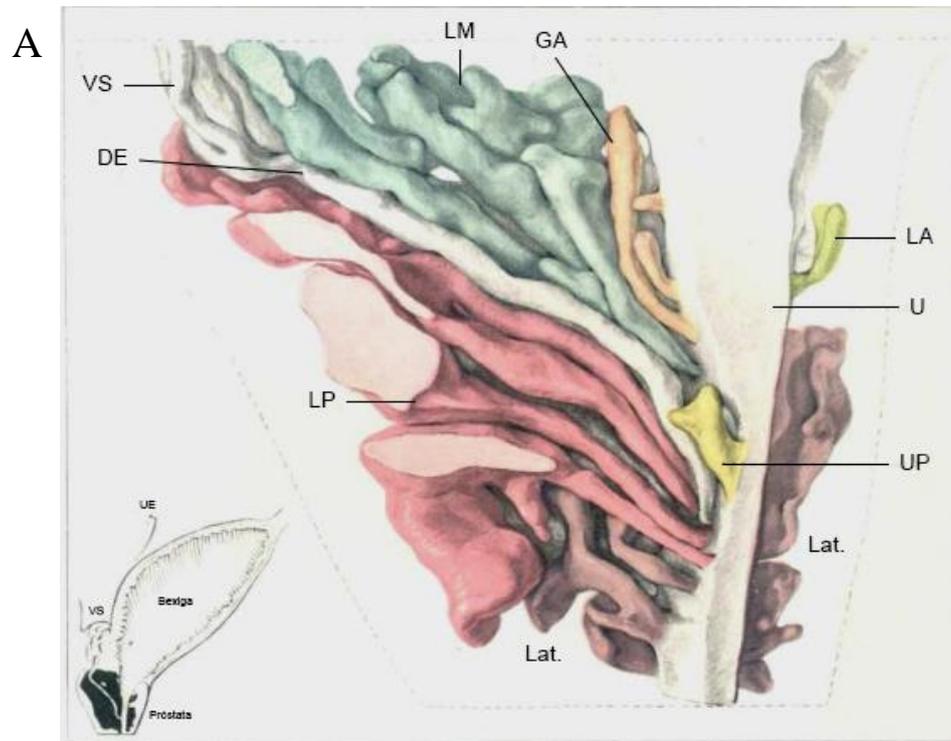
Crandon (1902) concordava com a divisão da próstata em lóbulos e mostrou que a glândula apresentava um lóbulo lateral em cada lado da base e uma porção média compreendida entre os ductos ejaculatórios e o colo da bexiga.

1.4.1 Divisão em lóbulos proposta por Lowsley

Lowsley (1912), estudando a próstata de embriões humanos em diferentes fases do desenvolvimento fetal, observou que ela era homogênea e que continha subdivisões lobulares evidentes. Com isso, Lowsley propôs o primeiro conceito de divisão da próstata em cinco lóbulos com túbulos independentes sendo embriologicamente diferentes. Estes lóbulos se desenvolviam aproximadamente na décima segunda semana de vida intrauterina na parede da uretra posterior. O lóbulo anterior ou istmo era grande até a sexta semana intrauterina, contendo tecido fibromuscular e pouca quantidade de tecido glandular. Parecia diminuir de tamanho, se tornando muito pequeno ao nascimento. O lóbulo posterior era uma estrutura independente, palpável a partir do exame retal constituído por doze túbulos, no qual os ductos terminavam abaixo dos ductos ejaculatórios na parede posterior da uretra. Os lóbulos laterais estavam ao lado de cada uretra e formavam a maior parte da próstata. O lóbulo médio era constituído por cerca de nove ou dez túbulos. Encontrava-se entre a bexiga e os ductos ejaculatórios e estava intimamente relacionado ao colo da bexiga. Quando havia crescimento de túbulos dos lóbulos laterais, o lóbulo médio poderia apresentar-se ausente (Figura 7) (Lowsley, 1912; 1915).

Mesmo não sendo aparente em próstatas humanas de adultos, a divisão de Lowsley baseada em lóbulos permaneceu aceita durante décadas influenciando pesquisadores e sendo usada como padrão para descrever a anatomia prostática em muitos livros médicos (Timms, 2008; Selman, 2011).

Figura 7 – Divisão anatômica da próstata proposta por Lowsley



Legenda: Ilustrações da próstata dividida em lóbulos proposta por Lowsley. (A) Vista sagital em objetivo de 14x da reconstrução do modelo de cera de uma próstata de recém-nascido mostrando os lóbulos descritos por Lowsley, reproduzido de Lowsley (1912). Lat. = ramos anteriores dos lóbulos laterais; LP = lóbulo posterior; DE = ducto ejaculatório; VS = vesícula seminal; LM = túbulos do lóbulo médio; GA = glândulas de Albarran; LA = túbulos do lóbulo anterior; U = uretra; UP = utrículo prostático; UE = ureter esquerdo. (B) Corte transversal da próstata mostrando os lóbulos descritos por Lowsley, reproduzido de Netter (2008).

Fonte: Lowsley, 1912 (traduzido por Alves, E.F., 2017); Netter, 2008.

Franks, em 1954, foi um dos principais críticos de Lowsley, tendo publicado uma forte crítica com relação ao conceito de lóbulos, pois não conseguiu identificar em seus estudos os limites lobulares na próstata. Franks dividiu a próstata em três regiões: glândula externa, glândula mucosa interna e glândula submucosa interna (McNeal, 1980).

Devido as suas observações sobre câncer, para Franks esta patologia poderia surgir em qualquer local dos lóbulos posteriores, laterais e médios, nos quais ele se referia como glândula externa. A glândula interna foi descrita como composta do tecido imediatamente ao redor da uretra, subdividindo-a em um grupo de pequenas glândulas mucosas (glândula mucosa interna) e um sistema de ducto um pouco maior de glândulas submucosas que estavam mais afastadas da uretra (glândula submucosa interna). A glândula interna foi identificada como sendo o local exclusivo de origem da HPB. Além disso, Franks considerou as glândulas periuretrais como parte da próstata, enquanto que na descrição de Lowsley elas foram excluídas. A descrição de Franks poderia ser aceita, porém não era anatomicamente precisa, além de algumas observações coincidirem com as de Lowsley (McNeal, 1980).

O conceito de divisão em lóbulos foi aceito durante muito tempo, porém foi substituído pelo conceito zonal, mais frequentemente usado e aceito atualmente.

1.5 Divisão zonal proposta por McNeal

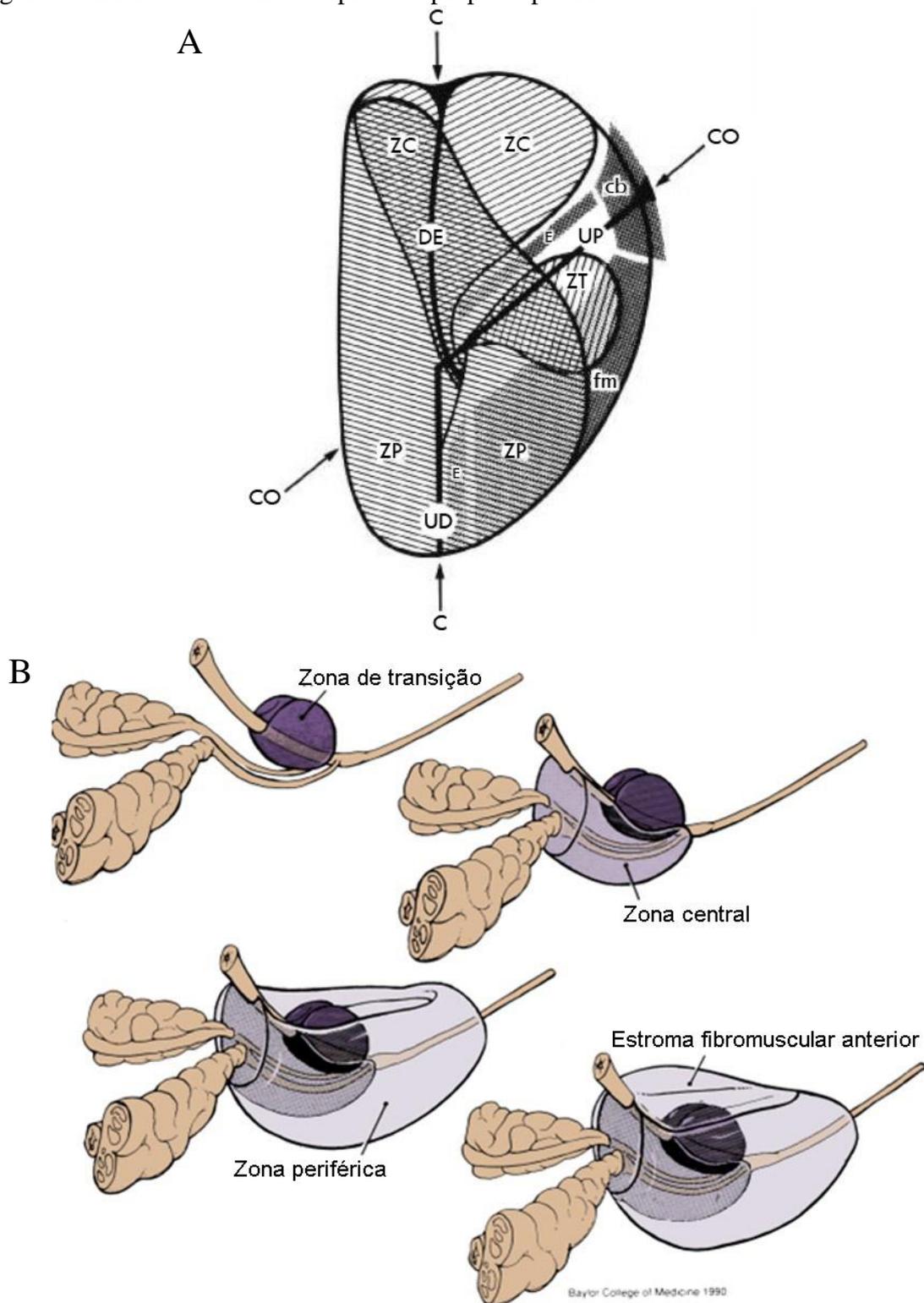
Em 1968, John E. McNeal descreveu a próstata como um órgão histologicamente homogêneo. Conceituou sua divisão anatômica em zonas, visto que não havia lobação externa da próstata humana em adultos. Outros determinantes, tais como: variação nas características histológicas, sistema de ductos e relação com a uretra e ductos ejaculatórios contribuíram para a determinação de zonas (McNeal, 1968; 1981a; 1981b; 1988).

Primeiramente, a partir de um exame microscópico, McNeal observou a presença de duas zonas separadas, a zona periférica e a zona central. Em 1972, além de identificar duas novas áreas de investigação, as glândulas periuretrais (zona periuretral) e o esfíncter pré-prostático, ele confirmou a presença das zonas periférica e central. Neste trabalho, McNeal também identificou que a HPB originava-se de nódulos presentes nas glândulas periuretrais que, apesar da identificação da zona, não deveriam ser consideradas parte da próstata (McNeal, 1972).

McNeal, depois de identificar a localização da HPB, introduziu um novo conceito zonal da próstata. Ele identificou a zona de transição, uma região separada das glândulas periuretrais e descrita de acordo com a anatomia ductal. Assim sendo, a zona de transição foi definida como sendo o local principal de desenvolvimento da hiperplasia (McNeal, 1978).

Em 1981, McNeal concluiu que a próstata é um órgão heterogêneo e identificou uma região não glandular, chamada de estroma fibromuscular anterior, aparentemente sem importância para a função prostática e patologia (McNeal, 1981b). Com isso, ele concluiu que a próstata humana continha quatro zonas anatômicas, com conceitos histológicos, biológicos e sistemas ductais distintos: ZP, ZC, ZT e estroma fibromuscular anterior. A ZP corresponde a 70% da próstata glandular, sendo a zona de maior incidência de carcinomas; a ZC corresponde a 25% da próstata glandular; a ZT corresponde a 5% da próstata glandular, sendo o local exclusivo de desenvolvimento de HPB; e o estroma fibromuscular anterior, uma região inteiramente não glandular constituída por tecido conjuntivo e muscular denso, contínuo com o músculo detrusor da bexiga, e que origina-se do músculo liso do colo da bexiga ao redor do meato uretral interno, não tendo importância aparente para a função e patologia prostáticas (Figura 8) (McNeal, 1968; McNeal, 1981a; McNeal, 1981b; McNeal, 1988, Srougi et al., 2010).

Figura 8 – Divisão anatômica da próstata proposta por McNeal



Legenda: Esquemas da divisão anatômica da próstata proposta por McNeal em quatro regiões: zona de transição, zona central, zona periférica e estroma fibromuscular anterior. (A) Diagrama sagital da próstata reproduzido de McNeal (1988). C = plano coronal; CO = plano coronal oblíquo; ZC = zona central; ZP = zona periférica; ZT = zona de transição; DE = ducto ejaculatório; UP = segmento uretral prostático proximal; UD = segmento uretral prostático distal; E = esfíncter pré-prostático; cb = colo da bexiga; fm = estroma fibromuscular anterior. (B) Esquema da próstata reproduzido de Chung et al. (2012).

Fonte: McNeal, 1988; Chung et al., 2012 (traduzidos por Alves, E.F., 2017).

1.5.1 Zona Periférica

A ZP constitui 70% de todo o tecido glandular. Está situada na face posterolateral da próstata, além de ser o local onde cerca de 70% dos carcinomas acontecem (McNeal, 1988; Srougi et al., 2010; Lee et al., 2011; Peng et al., 2015).

O estroma da ZP é mais abundante e de tecido frouxo (McNeal, 1968; 1988). Os ácinos, assim como os ductos, são geralmente de 0,15 a 0,3mm de diâmetro, simples, pequenos e redondos a ovais (McNeal, 1981a; McNeal, 1988; Saldanha et al., 2000; Bostwick et al., 2008). O epitélio é constituído de células colunares simples uniformes, espaçadas e pálidas, com núcleos pequenos e escuros e localização basal (McNeal, 1968; 1981a; 1981b). Possui ondulações proeminentes no contorno glandular que aparentemente previnem a expansão dos lúmens como reservatórios secretores, sendo um critério importante para o diagnóstico de muitos tipos de carcinomas prostáticos (McNeal, 1988).

Esta região é derivada do seio urogenital, e representada por uma fileira dupla de ductos que irradiam lateralmente do recesso posterolateral da parede da uretra e se estendem desde o ápice da próstata, não mantendo relação anatômica com o colículo seminal (McNeal, 1981a; McNeal, 1981b; McNeal, 1988; Lee et al., 2011).

1.5.2 Zona Central

A ZC constitui 25% do tecido glandular, tem forma piramidal e está localizada perto da base da próstata, com seu ápice na região proximal do colículo seminal, sua base sob o colo vesical (McNeal, 1968; McNeal, 1981a; Srodon & Epstein, 2002; Srougi et al., 2010). Acompanha e envolve os ductos ejaculatórios, que apresentam camada dupla ou pseudoestratificada de epitélio com uma faixa de tecido glandular lateral a cada ducto (McNeal, 1968; Saldanha et al., 2000; Selman, 2011). O seu limite lateral se funde com o limite proximal da ZP (McNeal, 1981b).

O estroma da ZC é denso, composto por feixes compactos, e se funde com o estroma adjacente do esfíncter pré-prostático e do estroma fibromuscular anterior (McNeal, 1988). Possui composição glandular homogênea, no qual os ácinos e os ductos são maiores, de até 0,6mm de diâmetro, complexos, de forma poligonal com contornos irregulares e projeções

intraluminares salientes (McNeal, 1968; McNeal, 1988; Saldanha et al., 2000; Bostwick et al., 2008; Amin et al., 2010). O epitélio é constituído por células colunares, com altura variável e núcleos maiores e mais pálidos, deslocados para níveis variáveis de membrana basal (McNeal, 1981a; 1981b). Possui glândulas com morfologia semelhante à das vesículas seminais, sugerindo, então, que esta região poderia ser derivada embriologicamente dos ductos de Wolf, o que explicaria a baixa incidência de carcinomas (McNeal, 1981a; Srougi et al., 2010; Lee et al., 2011).

Acredita-se que a ZC faz parte do sistema de ductos de Wolf (McNeal, 1981b). É uma faixa vertical de tecido glandular, cujos ductos originam-se nos ductos ejaculatórios e se ramificam diretamente para a base da próstata ao longo deles. Correm lateralmente aos ductos da ZP, que são mais proximais e separados por uma camada estreita de estroma (McNeal, 1981a; 1988). À medida que os ductos se expandem em direção à base da próstata, estes e os ácinos se tornam progressivamente maiores e mais elaborados (McNeal, 1988).

1.5.3 Zona de Transição

A ZT constitui 5% do tecido glandular. Consiste em dois lóbulos pequenos independentes, e está situada ao redor da parte proximal da uretra, sendo uma pequena faixa de tecido formada por glândulas cujos ductos desembocam proximal e imediatamente junto do colículo seminal (McNeal, 1978; McNeal, 1988; Srougi et al., 2010; Selman, 2011).

Apesar de pequena, esta região é o principal local de desenvolvimento da HPB, que ocorre em 50% dos homens com mais de 50 anos de idade e em 95% dos homens acima dos 70 anos. Além disso, nesta região também se desenvolve cerca de 20% dos casos de CaP (Srougi et al., 2010; Junqueira & Carneiro, 2013a). Muitas vezes, devido a esta condição, esta região aumenta com o estroma fibromuscular anterior para um tamanho considerável, diminuindo o restante da próstata (Bostwick et al., 2008). Especula-se que a patogênese da HPB deriva de interações indutivas entre o tecido glandular e o estroma (McNeal, 1981b).

O estroma da ZT é predominantemente fibromuscular (Lee et al., 2011). Esta região é bem semelhante à ZP; possui poucos ácinos, de tamanho menor e arredondado, com células colunares de arranjo regular e núcleos basais, ductos e ácinos de diâmetro pequeno, sendo entre 0,15 e 0,3mm (McNeal, 1981a; McNeal, 1988; Amin et al., 2010).

Na próstata embrionária, a ZT assemelha-se à ZP quanto à origem do seio urogenital, quanto ao epitélio com suas glândulas simples, pequenas e redondas e quanto à dupla fileira disposta lateralmente que vai prosseguir ao longo do segmento proximal da uretra. No entanto, na próstata adulta há modificações morfológicas, como pequenos ductos de tamanhos quase microscópicos e estrutura muito simplificada e que é denominada glândula periuretral (McNeal, 1981b; Bostwick et al., 2008).

Os ductos da ZT saem do recesso posterolateral da parede da uretra em um único ponto, apenas proximal ao ponto de angulação uretral e na borda inferior do esfíncter pré-prostático terminando no estroma fibromuscular anterior. Estendem-se lateralmente ao redor da parte distal do esfíncter e se curvam profundamente anteriormente (McNeal, 1988).

1.6 Uma nova terminologia

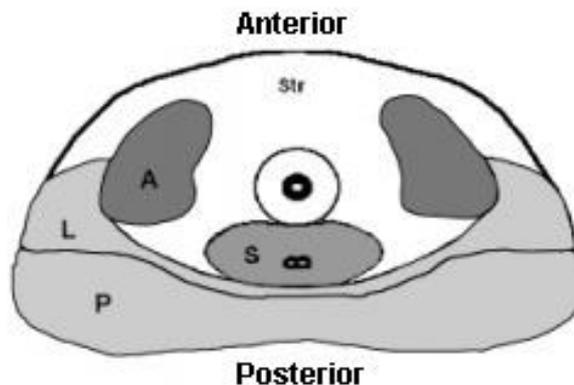
Uma nova terminologia foi recomendada para a divisão anatômica da próstata. Wendell-Smith (2000) revisou os termos anatômicos utilizados por McNeal e observou que estes não se baseavam na nomenclatura anatômica determinada pelo Comitê Federativo de Terminologia Anatômica da Federação Internacional de Associações de Anatomistas. Sendo assim, foi proposto que o termo lóbulo fosse usado para identificar as subdivisões nomeadas a partir da posição anatômica. Portanto, as novas terminologias seriam as seguintes (Figuras 9 e 10):

- a) a ZC, se colocada em relação aos ductos ejaculatórios, seria referida como lóbulo superomedial (Wendell-Smith, 2000);
- b) a ZT, se colocada em relação à região proximal da uretra prostática, seria referida como lóbulo anteromedial (Wendell-Smith, 2000);
- c) a ZP, se colocada externamente e abaixo dos lóbulos superomedial e anteromedial, seria referida como inferoposterolateral, dividida em dois lóbulos: lóbulo inferolateral e lóbulo posterolateral (Wendell-Smith, 2000);
- d) o lóbulo inferoposterior forma um cone vertical oco junto com o lóbulo inferolateral, e está situado posterior à uretra e inferior aos ductos ejaculatórios, sendo palpável ao exame retal digital (Wendell-Smith, 2000; Moore et al., 2014).

As diferenças histológicas entre os lóbulos inferoposterior e inferolateral não foram confirmadas, além de não terem sido relatadas diferenças quanto à patologia particular (Wendell-Smith, 2000). O estroma fibromuscular anterior seria referido como istmo da próstata, situado anteriormente à uretra, sendo uma região fibromuscular e que contém pouco ou nenhum tecido glandular (Figura 10) (Moore et al., 2014).

Esta nova terminologia, assim como a descrição de Lowsley, também não foi aceita pela comunidade clínico-científica porque as subdivisões lobulares não eram facilmente identificadas. Sendo assim, a descrição mais utilizada atualmente é a proposta por McNeal.

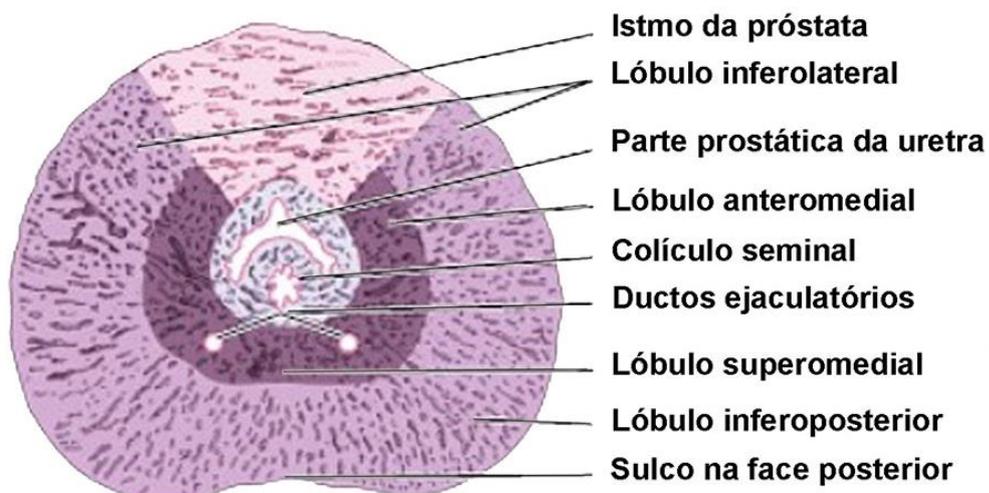
Figura 9 – Nova terminologia de divisão da próstata



Legenda: Divisão anatômica da próstata proposta por Wendell-Smith, com vista de corte transversal acima do colículo seminal. A = lóbulo anteromedial; S = lóbulo superomedial; L = lóbulo inferolateral; P = lóbulo inferoposterior.

Fonte: Wendell-Smith, 2000.

Figura 10 – Nova terminologia de divisão da próstata em lóbulos



Legenda: Divisão anatômica da próstata com vista de corte transversal.

Fonte: Moore et al., 2014.

2 OBJETIVOS

Analisar, quantitativa e qualitativamente, os componentes acinares (área do ácino e altura do epitélio) e estromais (fibras colágenas, fibras musculares lisas, fibras do sistema elástico, vasos sanguíneos e nervos) que constituem as diferentes zonas da próstata normal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (CEP/HUPE) CAAE: 43571115.2.0000.5259, com o parecer de número 2.217.034 (Anexos A e B) e realizado na Unidade de Pesquisa Urogenital.

Foram analisadas amostras das diferentes zonas de 19 próstatas (n=19) obtidas de necrópsias, realizadas no período de até 24 horas após o óbito, de indivíduos com idade entre 18 e 32 anos ($23,21 \pm 4,71$ anos) (Tabela 1) e com sistema urogenital íntegro. As amostras foram provenientes de doações para estudo do acervo do anatômico do Departamento de Anatomia do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG) do Centro Biomédico da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Tabela 1 – Idades dos indivíduos

Amostra	Idade	Amostra	Idade
1	25 anos	11	22 anos
2	32 anos	12	23 anos
3	18 anos	13	24 anos
4	18 anos	14	25 anos
5	18 anos	15	25 anos
6	18 anos	16	28 anos
7	19 anos	17	28 anos
8	19 anos	18	30 anos
9	19 anos	19	30 anos
10	20 anos		

Fonte: Alves, E.F., 2017.

3.1 Procedimentos histológicos

Após a coleta, as amostras foram fixadas em formalina tamponada a 4%, permanecendo no fixador por um período mínimo de 24 horas. As diferentes regiões da próstata foram identificadas e, de cada uma, retiradas amostras que foram submetidas a técnicas histológicas de rotina, desidratadas em álcool e clarificadas em xilol na processadora Leica TP 1020 (Solms, Alemanha), para posterior inclusão em parafina no aparelho Leica EG 1150 H (Solms, Alemanha). Após a inclusão, foram realizados cortes histológicos de cada amostra com 5 μm de espessura no micrótomo Leica RM2125 RT (Solms, Alemanha). Os cortes foram corados pelas seguintes técnicas histoquímicas: Hematoxilina-Eosina, tricrômico de Masson, Picrosirius e resorcina-fucsina de Weigert com prévia oxidação. Os cortes corados pelo tricrômico de Masson foram utilizados para análise do tecido conjuntivo, das fibras musculares lisas, e para mensurar a área acinar e a altura do epitélio. Os cortes corados pelo Picrosirius e observados sob luz polarizada foram utilizados para análise qualitativa da organização do colágeno. Os cortes corados pela resorcina-fucsina de Weigert com prévia oxidação foram utilizados para análise das fibras do sistema elástico.

3.2 Imuno-histoquímica

Foram realizados cortes histológicos de cada amostra das diferentes zonas da próstata, com 5 μm de espessura no micrótomo Leica RM2125 RT (Solms, Alemanha), montados em lâminas silanizadas para a realização dos estudos imuno-histoquímicos.

A imunomarcagem foi realizada utilizando-se os anticorpos primários anti-CD31 na diluição 1:35 (Abcam, policlonal, Ref: ab28364, Cambridge, EUA) para caracterização dos vasos sanguíneos e anti-tubulina β III na diluição 1:100 (Abcam, monoclonal, Ref: ab78078, UK) para caracterização dos nervos. A recuperação antigênica foi realizada com tampão ácido etilenodiamino tetra-acético (TRIS-EDTA), pH 9,0, *overnight* por 12 horas a 60°C. O bloqueio da atividade da peroxidase endógena foi realizado com solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 3% em metanol durante 15 minutos e incubados à temperatura ambiente com 10% de soro de cabra para bloqueio das reações inespecíficas (Histostain[®]-Plus Kit, Invitrogen, cat. no. 85-9643, Camarillo, CA, EUA). Os cortes foram incubados com os

anticorpos primários anti-CD31 e anti-tubulina β III, ambos diluídos em tampão fosfato salino/albumina sérica bovina (PBS/BSA 1%). Foi feita a incubação com anticorpo secundário e a reação foi amplificada a partir do sistema biotina-estreptavidina (Invitrogen, cat. no. 85-9643, Camarillo, CA, EUA). As seções foram reveladas com 3,3 diaminobenzidina tetrahydroclorido-DAB (Invitrogen, cat. no. 85-9643, Camarillo, CA, EUA) e contra coradas com Hematoxilina de Harris. Simultaneamente, foi feito o controle negativo, onde o anticorpo primário foi substituído por PBS/BSA 1%.

3.3 Histomorfometria

As análises foram realizadas utilizando-se fotomicrografias obtidas com resolução de 2040x1536 pixels, em um microscópio (Olympus BX51, Tóquio, Japão) equipado com uma câmera digital (Olympus DP71, Tóquio, Japão). Para cada análise, as fotomicrografias foram capturadas e salvas sob as mesmas condições.

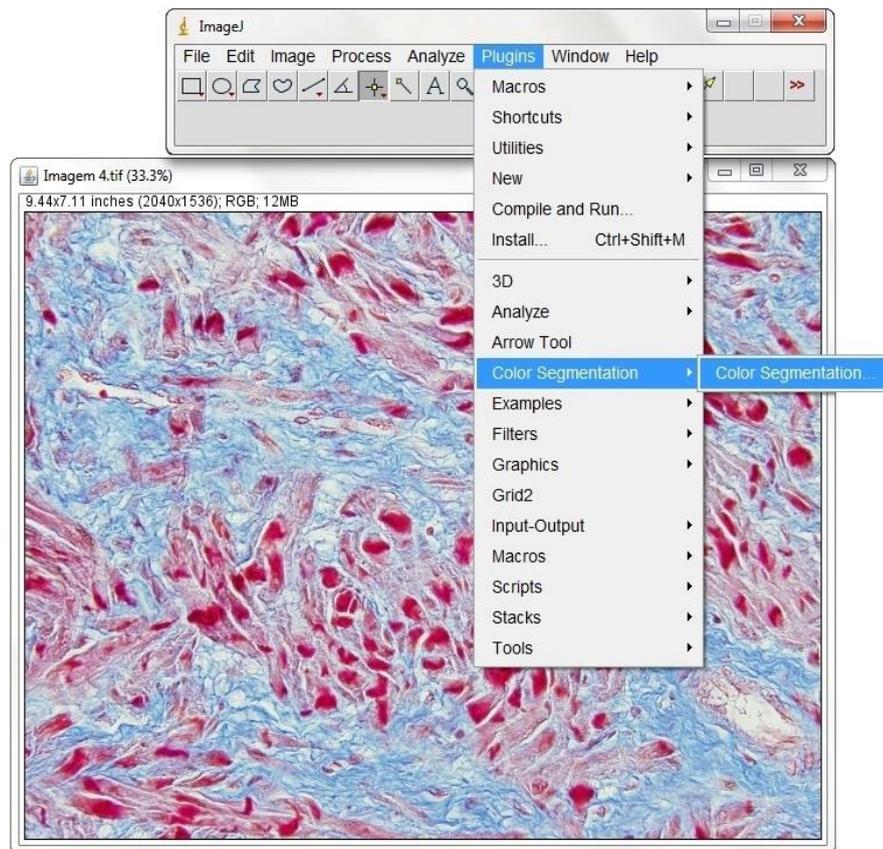
As análises morfométricas foram realizadas com os seguintes aumentos: 100x – para avaliação da área acinar, dos vasos sanguíneos e nervos; 200x – para avaliação da altura do epitélio; 400x – para avaliação do tecido conjuntivo e das fibras musculares lisas; e 600x – para avaliação das fibras do sistema elástico. Para análise do sistema elástico, foram observados dez campos aleatórios de cada região, totalizando 30 campos analisados na próstata e para as demais análises morfométricas, foram observados cinco campos aleatórios de cada região, totalizando 15 campos analisados na próstata. As mensurações foram realizadas com o *software* ImageJ[®] (versão 1.47t, *Image Processing and Analysis in Java*, NIH, Bethesda, Maryland, EUA).

3.3.1 Análise dos componentes estromais das diferentes zonas da próstata

3.3.1.1 Quantificação das fibras colágenas e fibras musculares lisas

Para as análises quantitativas das fibras colágenas e fibras musculares lisas foram utilizadas fotomicrografias dos cortes corados pela técnica histoquímica de tricrômico de Masson, capturadas com aumento de 400x, sendo analisados cinco campos aleatórios de cada região, totalizando 15 campos analisados na próstata. Foi utilizada uma técnica computacional baseada em segmentação de cores, utilizando-se o *software* ImageJ, carregado com seu próprio *plugin Color Segmentation* (<https://imagej.nih.gov/ij/>), para identificação do espaço ocupado pelas fibras colágenas e fibras musculares lisas. Estas áreas foram determinadas em porcentagem de acordo com a gama de cores selecionadas. Após selecionar as opções *plugins, color segmentation, color segmentation* (Figura 11), a janela *color segmentation* nos mostra as linhagens a serem demarcadas (em *cluster identification*). Com a ferramenta “*point*” foram selecionados os tons de cores a serem analisados (Figura 12). Após os tons serem marcados, a opção *run* gera uma máscara e em *cluster identification*, a área ocupada pelas fibras colágenas e fibras musculares lisas é fornecida em forma de porcentagem (Figura 13). É importante ressaltar que dependendo da versão ou configuração do *software* ImageJ, a opção *color segmentation* pode estar dentro da opção *plugins, analyze*.

Figura 11 – Quantificação das fibras colágenas e fibras musculares lisas utilizando a técnica computacional baseada em segmentação de cores, *software* ImageJ

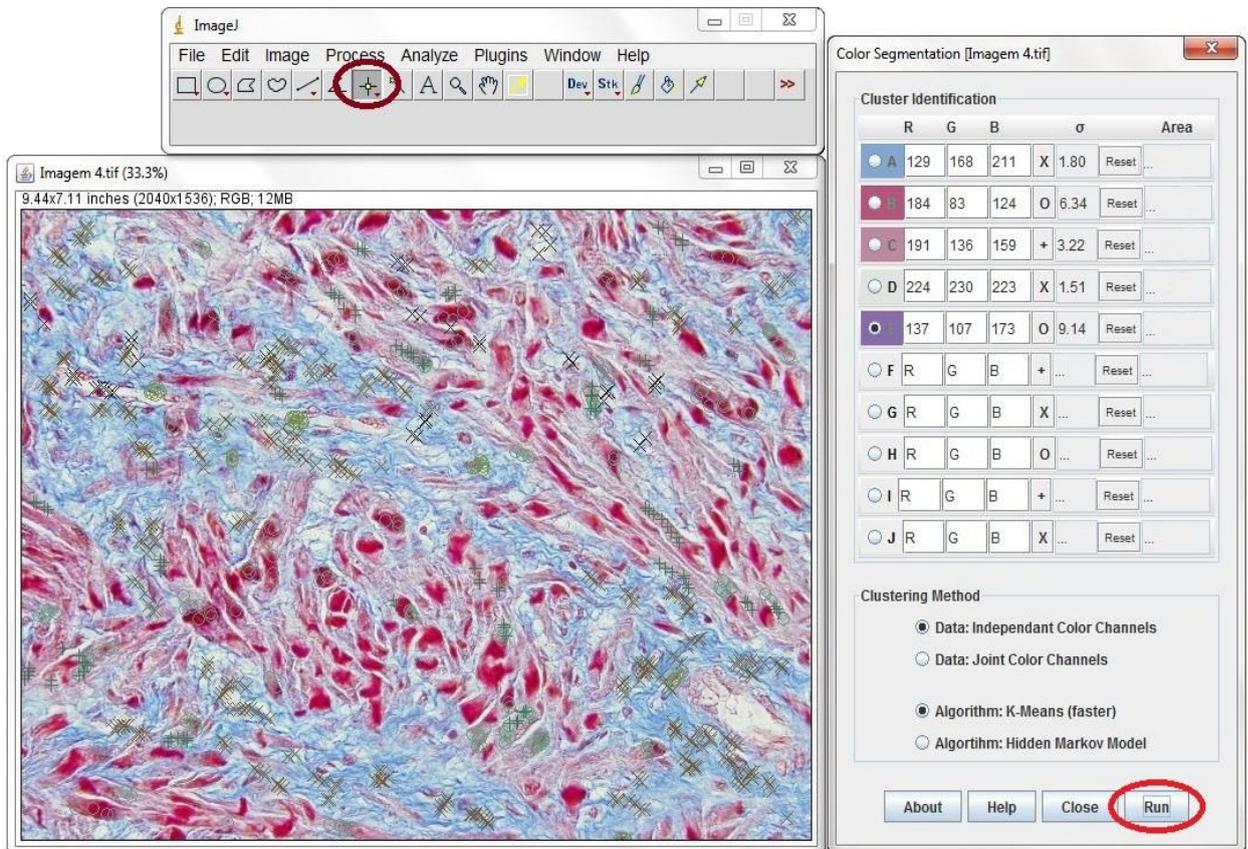


Legenda: Clicamos nas opções *plugins*, *color segmentation*, *color segmentation* para análise dos componentes estromais das zonas da próstata utilizando a técnica computacional baseada em segmentação de cores.

Nota: Fotomicrografia da ZP da próstata, objetiva de 40x, aberta no *software* ImageJ.

Fonte: Alves, E.F. 2017.

Figura 12 – Utilização do recurso *color segmentation* para quantificar as fibras colágenas e fibras musculares lisas, *software* ImageJ

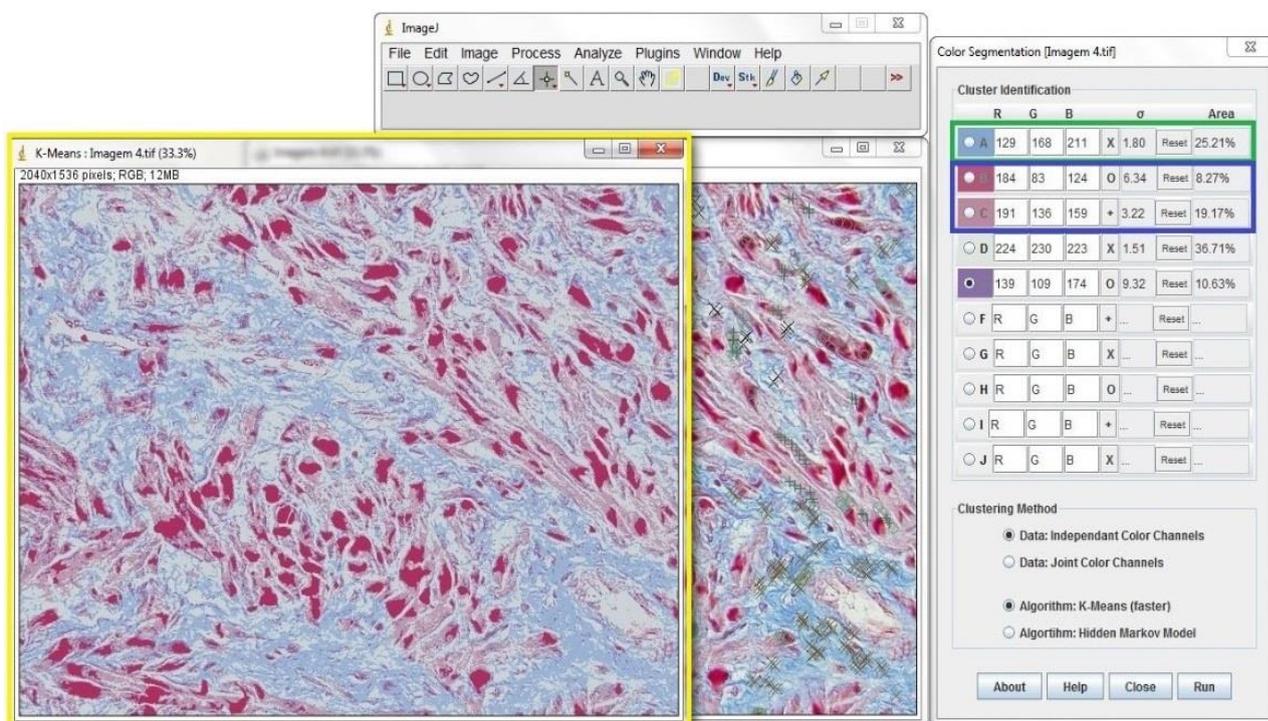


Legenda: O círculo em marrom indica a ferramenta “*point*”, utilizada para selecionar os tons de cores a serem analisados. A janela *color segmentation* nos permite realizar a seleção por gama de cores RGB, podendo ser controlado o desvio padrão. A opção *run* (círculo em vermelho) foi selecionada para gerar a máscara da fotomicrografia analisada.

Nota: Fotomicrografia da ZP da próstata, objetiva de 40x, aberta no *software* ImageJ.

Fonte: Alves, E.F. 2017.

Figura 13 – Apresentação do resultado da área ocupada pelas fibras colágenas e fibras musculares lisas e a máscara gerada pelo *software* ImageJ



Legenda: Com a seleção de cores realizadas, a porcentagem referente a cada cor é mensurada e, conseqüentemente, a quantidade percentual aferida. Após a seleção, foi gerada pelo *software* uma máscara (retângulo amarelo) indicando na janela *color segmentation* a área ocupada pelas fibras colágenas e fibras musculares lisas. Para obter a porcentagem da área das fibras colágenas somente a primeira linhagem (retângulo verde), representada pela cor azul, foi utilizada. Para obter a porcentagem da área das fibras musculares lisas somente a segunda e terceira linhagens (retângulo azul), representadas pela cor vermelha, foram utilizadas. As outras linhagens só foram selecionadas para gerar a máscara.

Nota: Fotomicrografia da ZP da próstata, objetiva de 40x, aberta no *software* ImageJ.

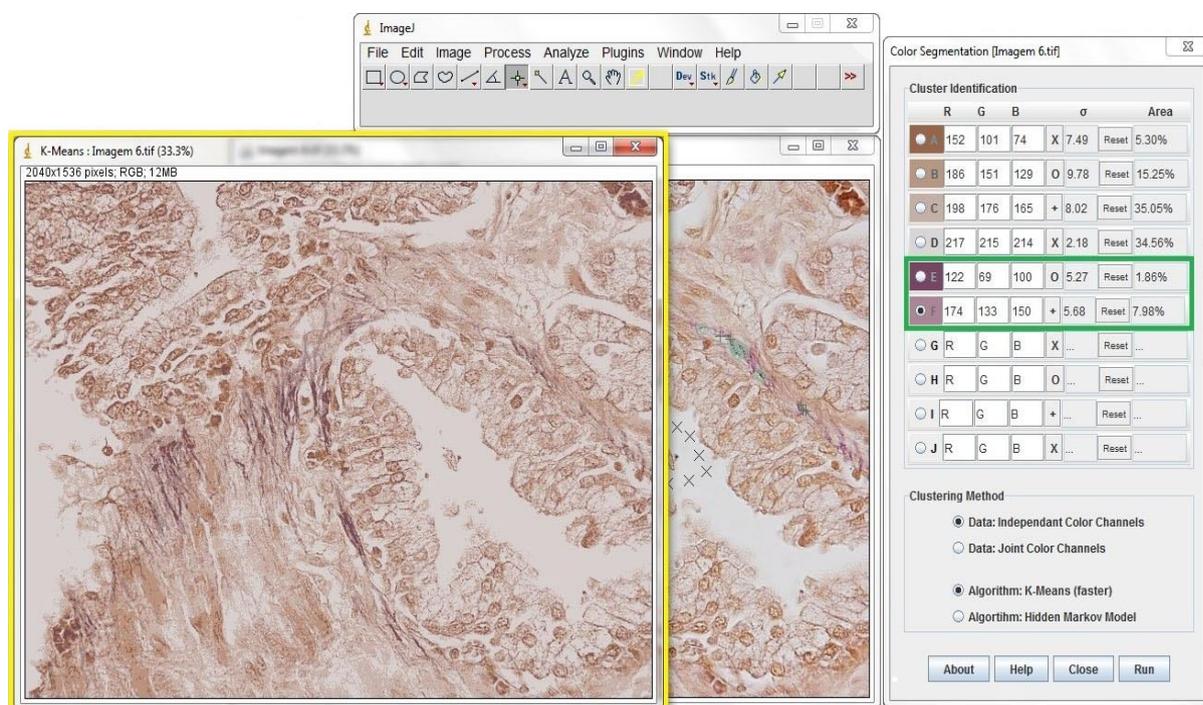
Fonte: Alves, E.F. 2017.

3.3.1.2 Quantificação das fibras do sistema elástico

Para as análises quantitativas das fibras do sistema elástico foram utilizadas fotomicrografias dos cortes corados pela técnica histoquímica de resorcina-fucsina de Weigert com prévia oxidação, capturadas com aumento de 600x, sendo analisados dez campos aleatórios de cada região, totalizando 30 campos analisados na próstata.

Para esta análise também foi utilizada a técnica computacional baseada em segmentação de cores, utilizando-se o *software* ImageJ, carregado com seu próprio *plugin* *Color Segmentation* (<https://imagej.nih.gov/ij/>), para identificação do espaço ocupado pelas fibras do sistema elástico. Após selecionar as opções *plugins* e *color segmentation* e com a ferramenta “*point*” selecionar os tons de cores a serem analisados, a opção *run* gera a máscara e a área ocupada pelas fibras do sistema elástico é fornecida em forma de porcentagem, em *cluster identification* (Figura 14).

Figura 14 – Apresentação do resultado da área ocupada pelas fibras do sistema elástico e a máscara gerada pelo *software* ImageJ



Legenda: Após clicar nas opções *plugins*, *color segmentation*, *color segmentation* e realizar a seleção por gama de cores RGB (como mostrado nas Figuras 5 e 6), foi gerada pelo *software* uma máscara (retângulo amarelo) indicando na janela *color segmentation* a área ocupada pelas fibras do sistema elástico. Para obter a porcentagem da área das fibras do sistema elástico somente as duas últimas linhas (retângulo verde), representadas pela cor roxa, foram utilizadas. As outras linhas só foram selecionadas para gerar a máscara.

Nota: Fotomicrografia da ZC da próstata, objetiva de 60x, aberta no *software* ImageJ.

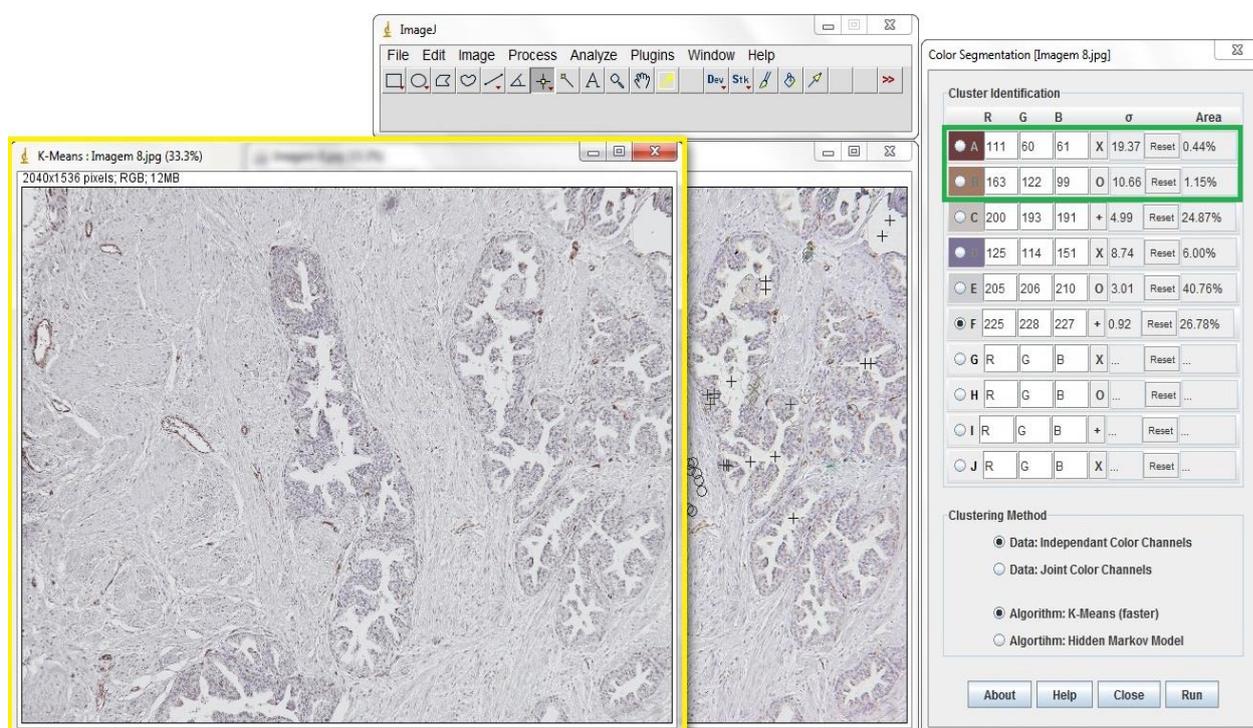
Fonte: Alves, E.F. 2017.

3.3.1.3 Quantificação dos vasos sanguíneos

Para as análises quantitativas dos vasos sanguíneos (anti-CD31) foram utilizadas fotomicrografias dos cortes marcados pelo método de imuno-histoquímica, capturadas com aumento de 100x, sendo analisados cinco campos aleatórios de cada região, totalizando 15 campos analisados na próstata.

Para esta análise também foi utilizada a técnica computacional baseada em segmentação de cores, utilizando-se o *software* ImageJ, carregado com seu próprio *plugin* *Color Segmentation* (<https://imagej.nih.gov/ij/>), para identificação do espaço ocupado pelos nervos. Após selecionar as opções *plugins* e *color segmentation* e com a ferramenta “*point*” selecionar os tons de cores a serem analisados, a opção *run* gera a máscara e a área ocupada pelos vasos sanguíneos é fornecida em forma de porcentagem, em *cluster identification* (Figura 15).

Figura 15 – Apresentação do resultado da área ocupada pelos vasos sanguíneos e a máscara gerada pelo *software* ImageJ



Legenda: Após clicar nas opções *plugins*, *color segmentation*, *color segmentation* e realizar a seleção por gama de cores RGB (como mostrado nas Figuras 5 e 6), foi gerada pelo *software* uma máscara (retângulo amarelo) indicando na janela *color segmentation* a área ocupada pelos vasos sanguíneos. Para obter a porcentagem da área dos vasos sanguíneos somente as duas primeiras linhagens (retângulo verde), representadas pela cor acastanhada, foram utilizadas. As outras linhagens só foram selecionadas para gerar a máscara.

Nota: Fotomicrografia da ZC da próstata, objetiva de 10x, aberta no *software* ImageJ.

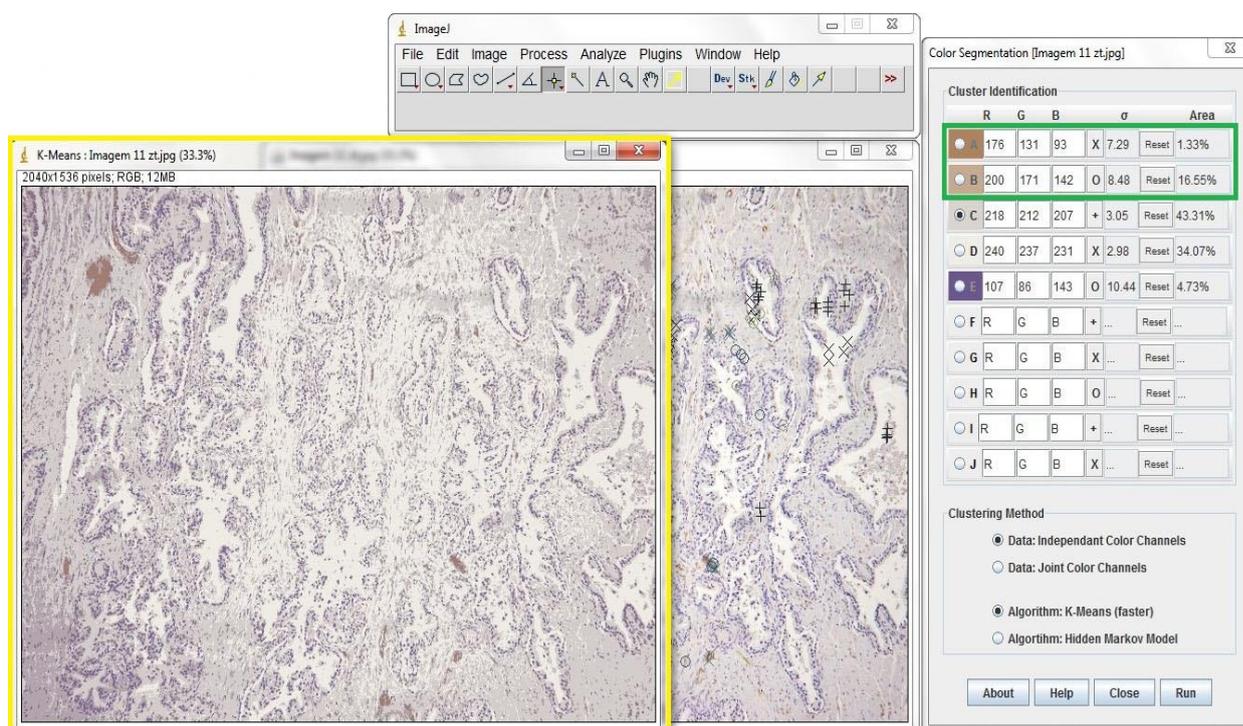
Fonte: Alves, E.F. 2017.

3.3.1.4 Quantificação dos nervos

Para as análises quantitativas dos nervos (anti-tubulina β III) foram utilizadas fotomicrografias dos cortes marcados pelo método de imuno-histoquímica, capturadas com aumento de 100x, sendo analisados cinco campos aleatórios de cada região, totalizando 15 campos analisados na próstata.

Para esta análise também foi utilizada a técnica computacional baseada em segmentação de cores, utilizando-se o *software* ImageJ, carregado com seu próprio *plugin* *Color Segmentation* (<https://imagej.nih.gov/ij/>), para identificação do espaço ocupado pelos nervos. Após selecionar as opções *plugins* e *color segmentation* e com a ferramenta “*point*” selecionar os tons de cores a serem analisados, a opção *run* gera a máscara e a área ocupada pelos nervos é fornecida em forma de porcentagem, em *cluster identification* (Figura 16).

Figura 16 – Apresentação do resultado da área ocupada pelos nervos e a máscara gerada pelo *software* ImageJ



Legenda: Após clicar nas opções *plugins*, *color segmentation*, *color segmentation* e realizar a seleção por gama de cores RGB (como mostrado nas Figuras 5 e 6), foi gerada pelo *software* uma máscara (retângulo amarelo) indicando na janela *color segmentation* a área ocupada pelos nervos. Para obter a porcentagem da área dos nervos somente as duas primeiras linhagens (retângulo verde), representadas pela cor acastanhada, foram utilizadas. As outras linhagens só foram selecionadas para gerar a máscara.

Nota: Fotomicrografia da ZT da próstata, objetiva de 10x, aberta no *software* ImageJ.

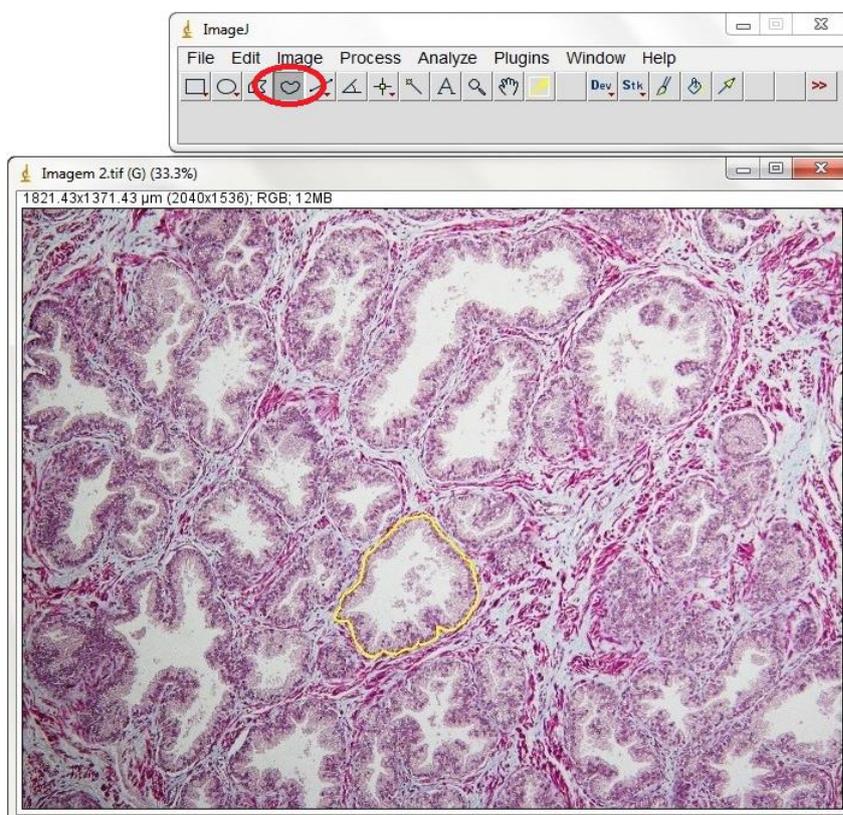
Fonte: Alves, E.F. 2017.

3.3.2 Análise dos componentes acinares das diferentes zonas da próstata

3.3.2.1 Quantificação da área acinar

Para as análises quantitativas da área acinar das zonas da próstata foram utilizadas fotomicrografias dos cortes corados pelo tricrômico de Masson, capturadas com aumento de 100x, sendo analisados cinco campos aleatórios de cada região, totalizando 15 campos analisados na próstata. A ferramenta “*freehand selections*” foi utilizada para circundar a área do ácino prostático. Esta ferramenta possibilita o contorno do ácino e, conseqüentemente, o cálculo da área da região delimitada, após calibração do software. Ao terminar a marcação da área desejada foram selecionadas as opções *analyze, measure*. A janela *results* nos forneceu o valor referente à área do ácino em μm^2 (Figuras 17 e 18).

Figura 17 – Mensurando a área do ácino prostático, *software ImageJ*

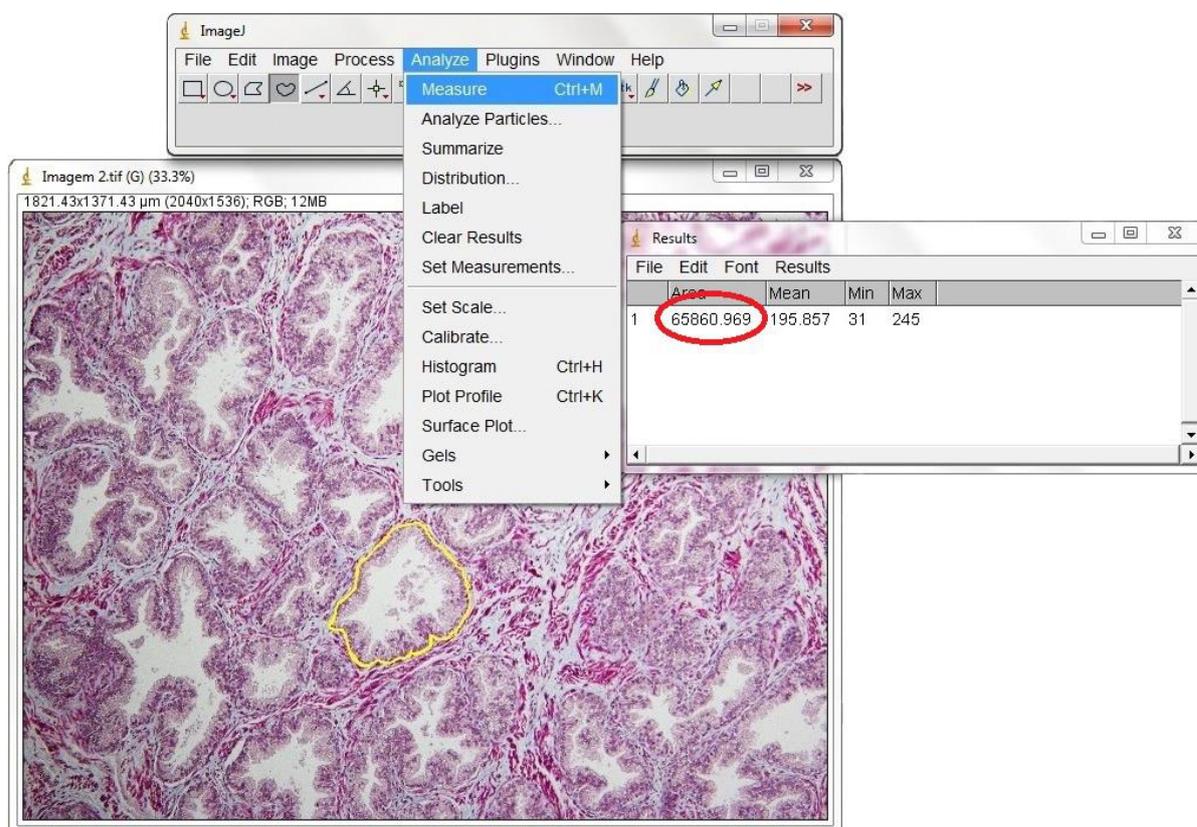


Legenda: O círculo em vermelho indica a ferramenta “*freehand selections*”, utilizada para circundar a área acinar das zonas da próstata (em amarelo).

Nota: Fotomicrografia da ZP da próstata, objetiva de 10x, aberta no *software ImageJ*.

Fonte: Alves, E.F. 2017.

Figura 18 – Apresentação do resultado da área acinar pela ferramenta “*freehand selections*”, *software ImageJ*



Legenda: Após selecionar as opções *analyze e measure*, a janela *results* nos fornece o resultado da área delimitada em μm^2 (círculo em vermelho, 65860.969), após calibração.

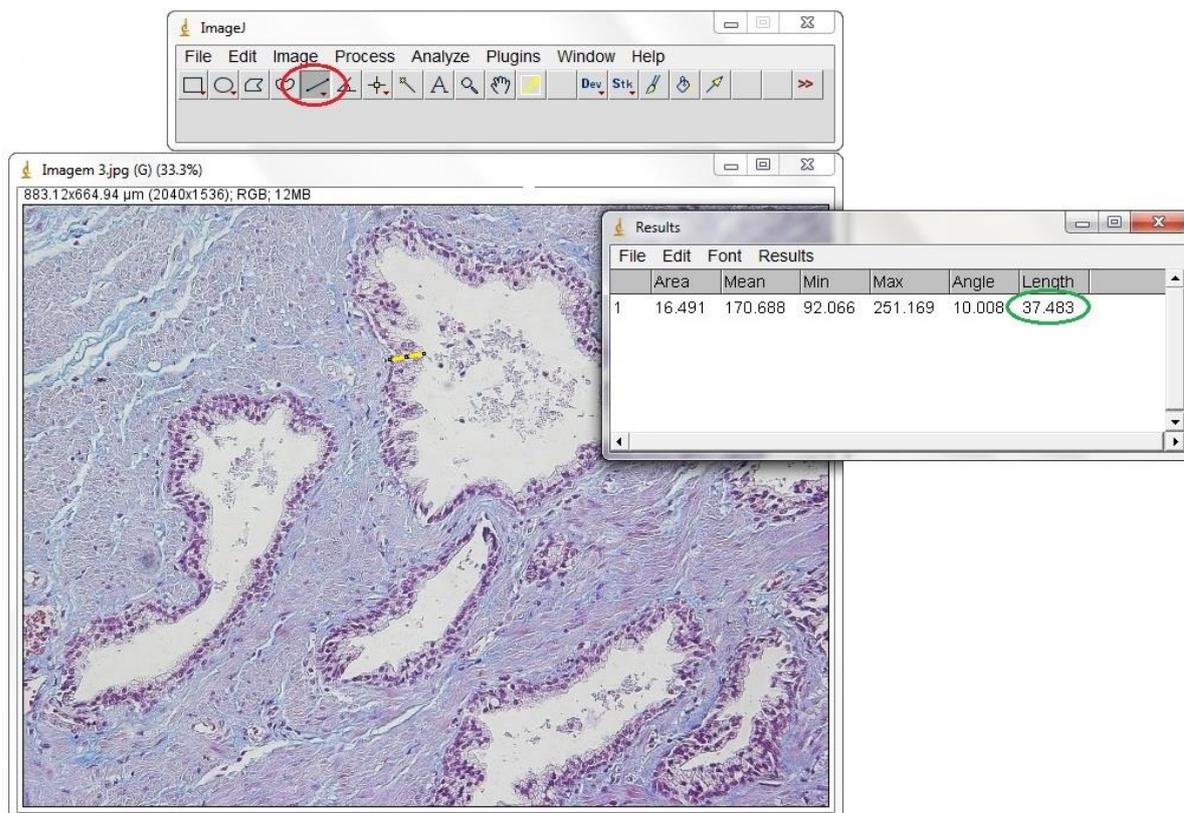
Nota: Fotomicrografia da ZP da próstata, objetiva de 10x, aberta no *software ImageJ*.

Fonte: Alves, E.F. 2017.

3.3.2.2 Quantificação da altura do epitélio

Para as análises quantitativas da altura do epitélio das zonas da próstata foram utilizadas fotomicrografias dos cortes corados pelo tricrômico de Masson, capturadas com aumento de 200x, sendo analisados cinco campos aleatórios de cada região, totalizando 15 campos analisados na próstata. A ferramenta “*straight line selections*” foi utilizada para medir a altura do epitélio prostático. Foram feitas três medidas aleatórias no epitélio prostático após calibração, traçando uma linha reta desde a célula basal até a célula mais próxima ao lúmen, e ao terminar cada marcação da distância desejada foram selecionadas as opções *analyze, measure*. A janela *results* nos forneceu o valor referente à altura do epitélio em μm^2 (Figura 19).

Figura 19 – Mensurando a altura do epitélio prostático, *software* ImageJ



Legenda: O círculo em vermelho indica a ferramenta "*straight line selections*", utilizada para medir a altura do epitélio das zonas da próstata. Após traçar uma linha reta (destacada pela cor amarela), e após selecionar as opções *analyze* e *measure*, a janela *results* nos fornece o resultado da mensuração da altura do epitélio prostático delimitada em μm (círculo verde, 37.483), após calibração.

Nota: Fotomicrografia da ZT da próstata, objetiva de 20x, aberta no *software* ImageJ.

Fonte: Alves, E.F. 2017.

3.4 Análise estatística

Todos os dados foram testados para a curva de distribuição normal e homogeneidade de variância por meio do teste de *Kolmogorov-Smirnov*, com análise de variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Bonferroni. Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão, considerando $p < 0,05$ como estatisticamente significativos. Todas as análises foram realizadas com o *software GraphPad Prism 6* para Windows (versão 6.01, *GraphPad Software*, San Diego, Califórnia, EUA).

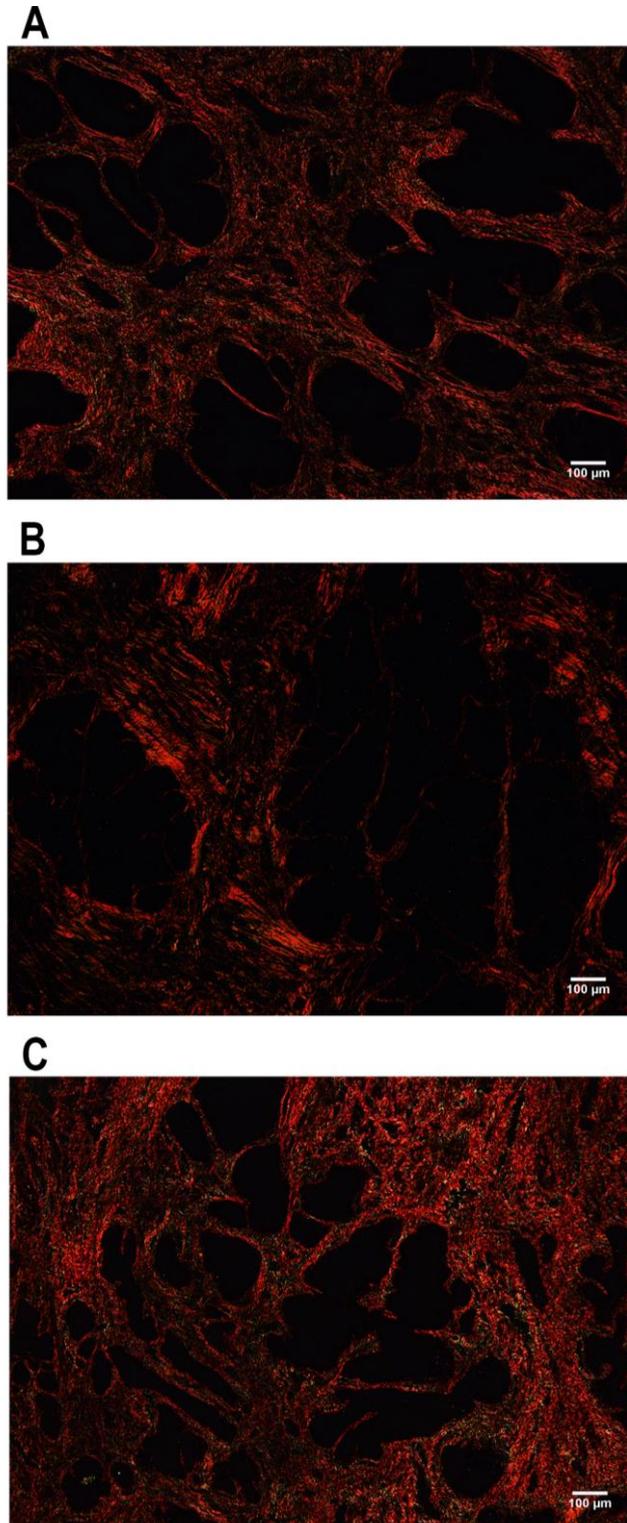
4 RESULTADOS

4.1 Análise qualitativa

4.1.1 Colágeno

A análise qualitativa dos cortes corados pelo Picrosirius e observados sob luz polarizada mostrou uma predominância da cor vermelha que indica preferencialmente fibras colágenas, cujo comprimento é indefinido e o diâmetro varia de 1 a 20 μm . É formada por fibrilas colágenas que medem 280 nm de comprimento e 1,5 nm de espessura, com diâmetro variável de 20 a 90 nm (Junqueira & Carneiro, 2013b). Elas caracterizam fibras espessas e que neste método indicam com uma boa margem de segurança tratar-se do colágeno tipo I. Essas fibras mostraram distribuição homogênea em todas as regiões (Figura 20).

Figura 20 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a predominância de cor vermelha



Legenda: Fotomicrografias de colágeno nas zonas da próstata. Em (A) zona periférica (ZP), (B) zona central (ZC), (C) zona de transição (ZT). As fotomicrografias observadas sob luz polarizada mostram a predominância de colágeno em vermelho em todas as zonas.

Nota: Picosirius, 100x. As barras de escala representam 100 µm.

Fonte: Alves, E.F., 2017.

4.2 Análise quantitativa

A análise quantitativa dos componentes acinares e estromais prostáticos apresentou diferenças estatísticas entre as regiões (Tabela 2, Figuras 21-27).

Tabela 2 – Parâmetros acinares e estromais das zonas da próstata. Acinares: área acinar e altura do epitélio. Estromais: fibras colágenas, fibras musculares lisas, fibras do sistema elástico, vasos sanguíneos e nervos

	ZP	ZC	TZ	Valor de p
Fibras colágenas (%)	22,70 ± 5,00 ^a	24,96 ± 6,30 ^{ab}	31,84 ± 9,96 ^b	0,0266
Fibras musculares lisas (%)	14,07 ± 4,72 ^a	18,57 ± 6,18 ^{ab}	20,69 ± 4,91 ^b	0,0110
Fibras do sistema elástico (%)	12,54 ± 3,04 ^a	14,32 ± 3,65 ^a	23,15 ± 10,36 ^b	0,0010
Vasos sanguíneos (%)	1,75 ± 1,17	1,51 ± 0,74	1,82 ± 1,28	0,6628
Nervos (%)	0,35 ± 0,16 ^a	0,20 ± 0,10 ^b	0,23 ± 0,18 ^{ab}	0,0088
Área acinar (µm²)	38,79 ± 14,72	41,25 ± 18,94	33,22 ± 10,41	0,3388
Altura do epitélio (µm)	32,98 ± 6,16 ^a	30,71 ± 6,62 ^a	23,03 ± 5,58 ^b	0,0044

Legenda: ZP = zona periférica; ZC = zona central; ZT = zona de transição.

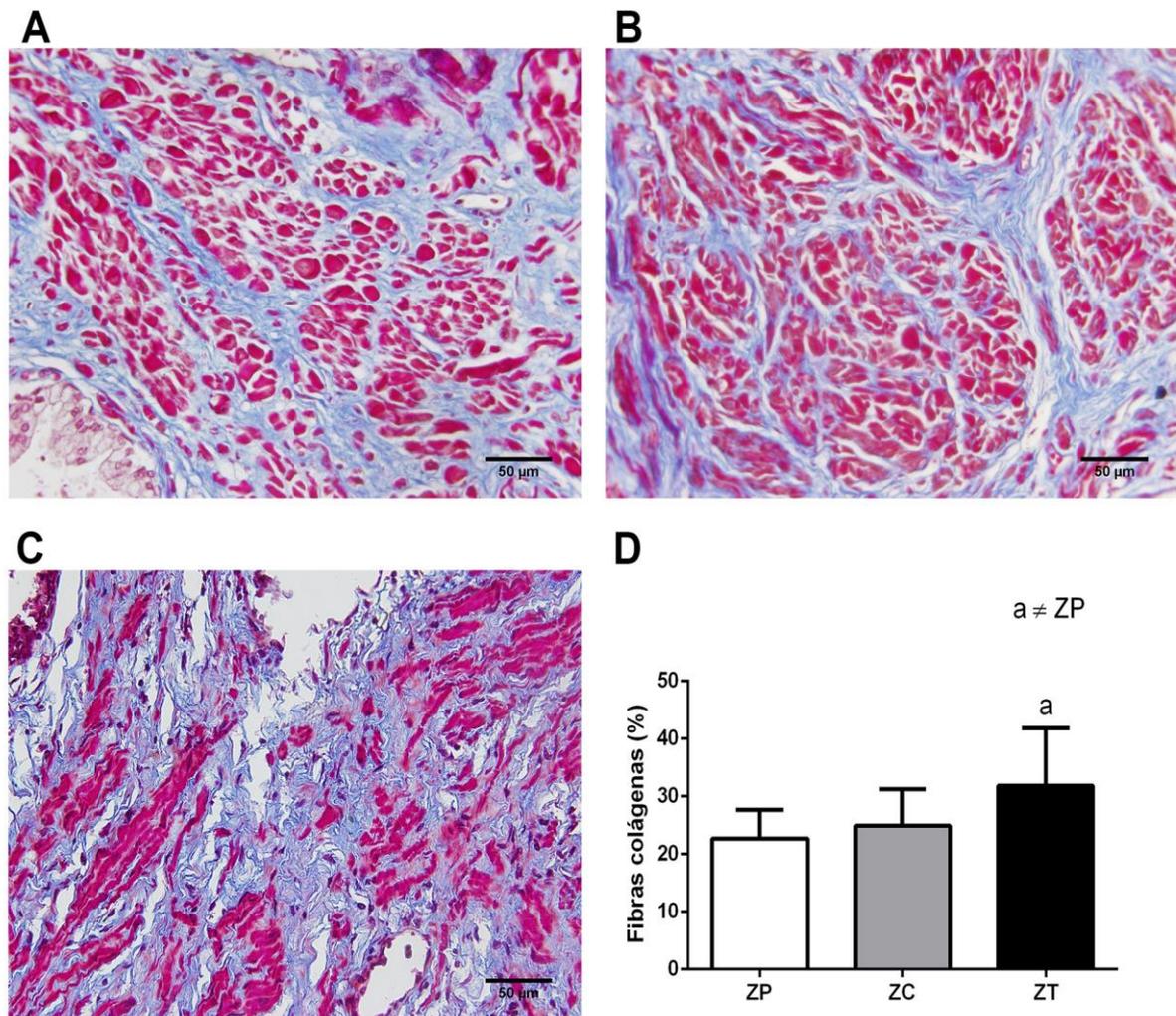
Nota: Os dados foram expressos como média ± desvio padrão. As diferenças foram testadas por análise de variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Bonferroni, $p < 0,05$. $a \neq b$, indica diferença estatística.

Fonte: Alves, E.F., 2017.

4.2.1 Fibras colágenas

A análise das fibras colágenas na ZP ($22,70 \pm 5,00$) e na ZC ($24,96 \pm 6,30$) não apresentou diferença estatística quando comparadas entre si, assim como ZT ($31,84 \pm 9,96$) e ZC. No entanto, a ZT difere significativamente da ZP nesta mesma análise, sendo $p=0,0230$ (Tabela 2, Figura 21).

Figura 21 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a disposição de fibras colágenas



Legenda: Fotomicrografias do tecido conjuntivo nas zonas da próstata. Em (A) zona periférica (ZP), (B) zona central (ZC), (C) zona de transição (ZT), (D) gráfico da porcentagem de fibras colágenas. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As diferenças foram testadas por análise de variância (*one-way ANOVA*) e pós-teste de Bonferroni, $p < 0,05$. [a] indica diferença estatística para ZP.

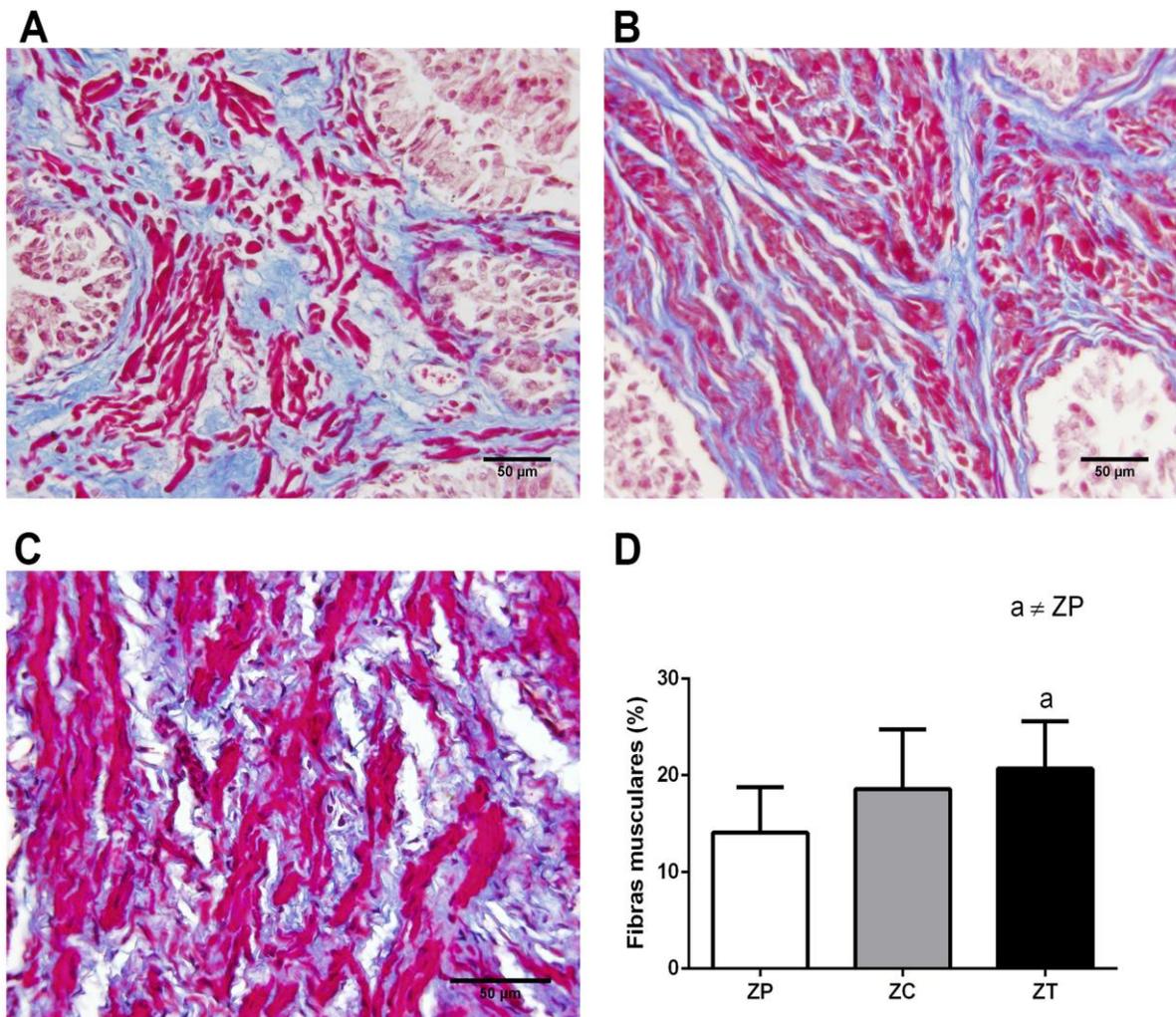
Nota: Tricrômico de Masson, 400x. As barras de escala representam 50 μm .

Fonte: Alves, E.F., 2017.

4.2.2 Fibras musculares lisas

A análise de fibras musculares na ZP ($14,07 \pm 4,72$) e na ZC ($18,57 \pm 6,18$) não apresentou diferença estatística quando comparadas entre si, semelhante à ZT ($20,69 \pm 4,91$) quando comparada com a ZC. No entanto, ZT apresentou diferença estatística quando comparada com a ZP, sendo $p=0,0120$ (Tabela 2, Figura 22).

Figura 22 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a disposição de fibras musculares lisas



Legenda: Fotomicrografias das fibras musculares nas zonas da próstata. Em (A) zona periférica (ZP), (B) zona central (ZC), (C) zona de transição (ZT), (D) gráfico da porcentagem de fibras musculares. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As diferenças foram testadas por análise de variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Bonferroni, $p < 0,05$. [a] indica diferença estatística para ZP.

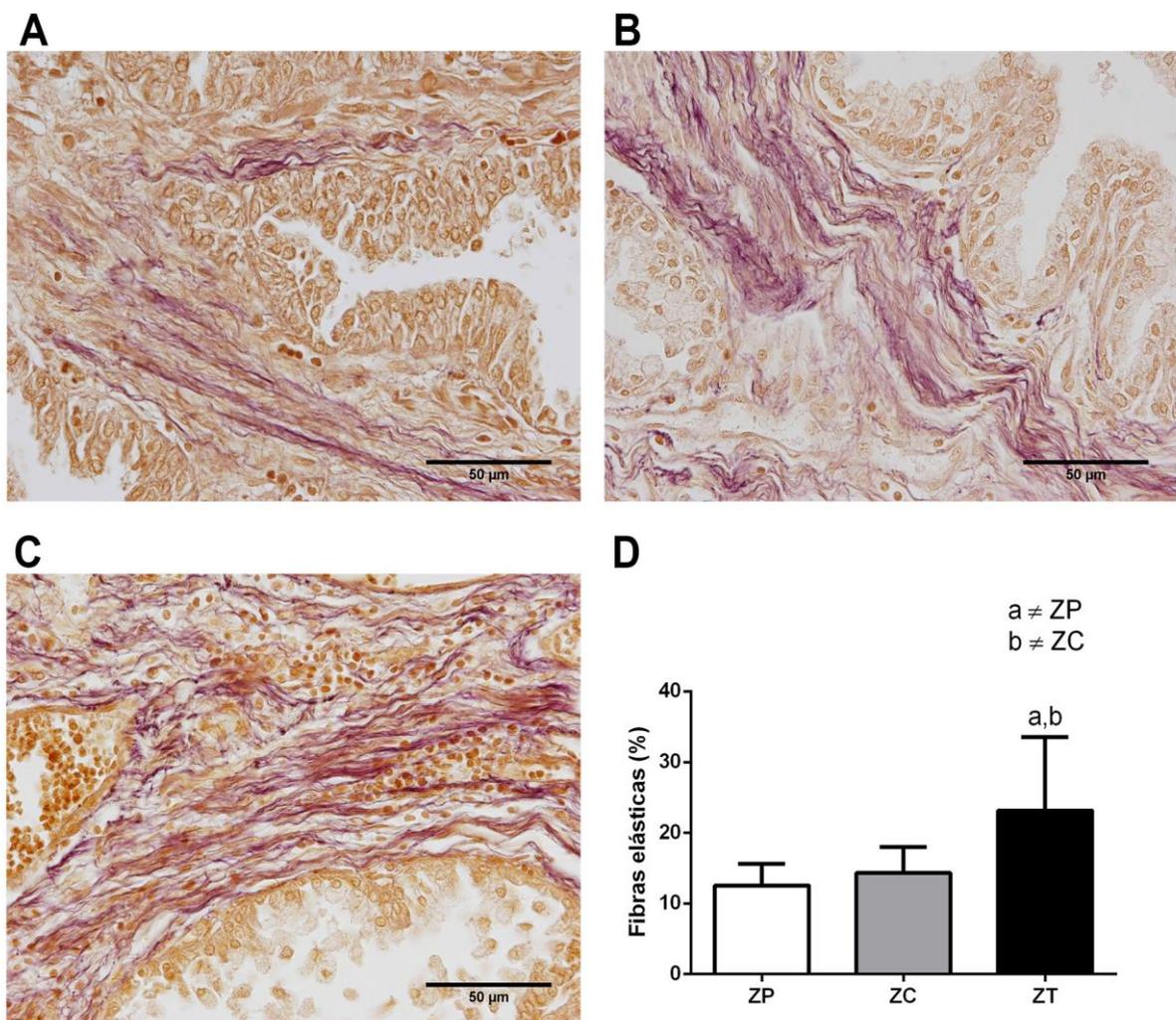
Nota: Tricrômico de Masson, 400x. As barras de escala representam 50 μm .

Fonte: Alves, E.F., 2017.

4.2.3 Fibras do sistema elástico

As fibras do sistema elástico não apresentaram diferença estatística em ZP ($12,54 \pm 3,04$) e ZC ($14,32 \pm 3,65$) quando comparadas entre si. Porém, estas fibras apresentaram maior número na ZT ($23,15 \pm 10,36$) quando comparada com a ZP ($p=0,0012$) e com a ZC ($p=0,0074$) (Tabela 2, Figura 23).

Figura 23 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a disposição de fibras do sistema elástico



Legenda: Fotomicrografias das fibras do sistema elástico nas zonas da próstata. Em (A) zona periférica (ZP), (B) zona central (ZC), (C) zona de transição (ZT), (D) gráfico da porcentagem de fibras elásticas. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As diferenças foram testadas por análise de variância (*one-way ANOVA*) e pós-teste de Bonferroni, $p < 0,05$. [a] indica diferença estatística para ZP; [b] indica diferença estatística para ZC.

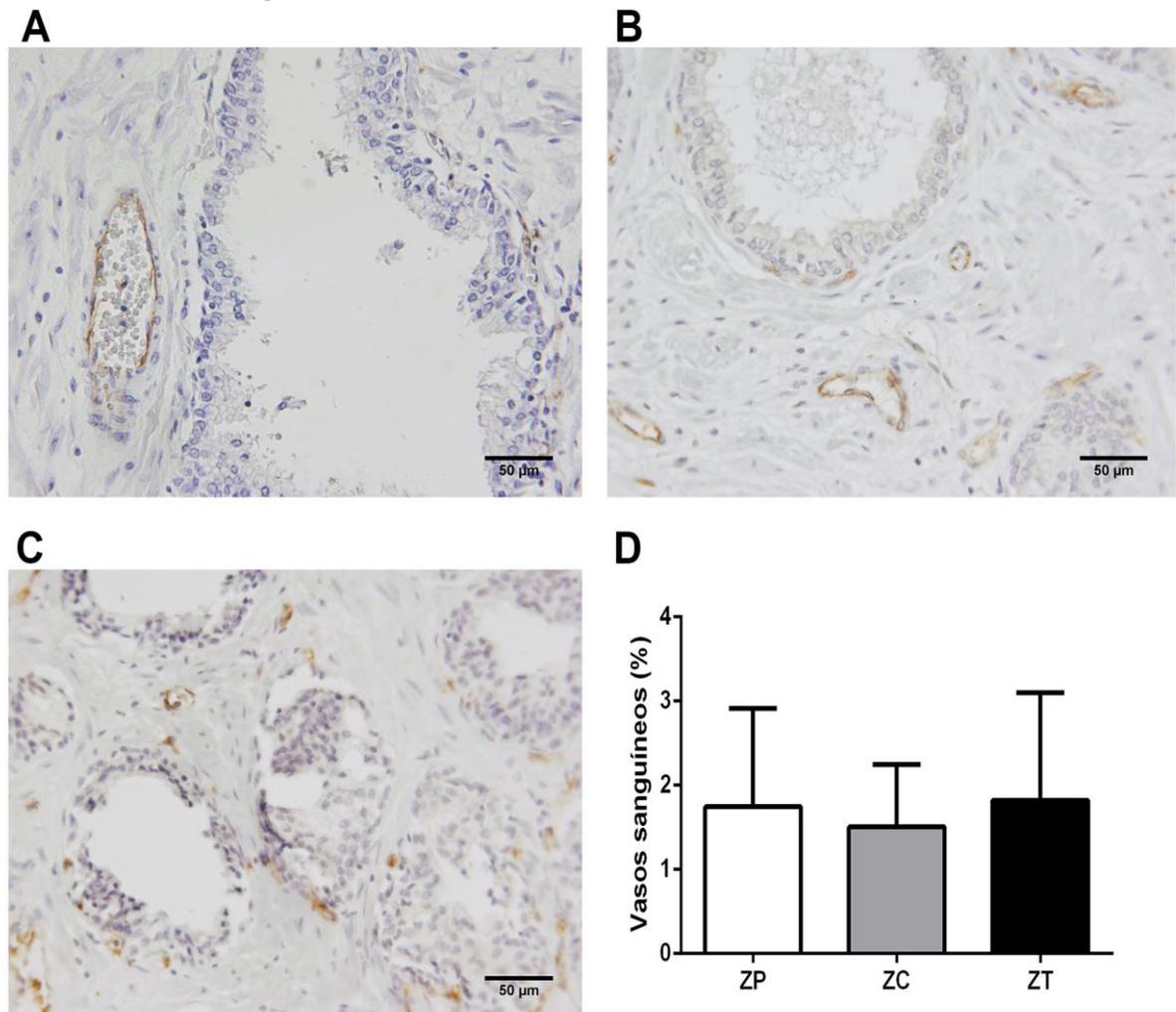
Nota: Resorcina-fucsina de Weigert com prévia oxidação, 600x. As barras de escala representam 50 μm .

Fonte: Alves, E.F., 2017.

4.2.4 Vasos sanguíneos

Não houve diferença estatística na análise quantitativa de vasos sanguíneos entre as regiões estudadas, sendo $p=0,6628$ (Tabela 2, Figura 24).

Figura 24 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a imunomarcagem de vasos sanguíneos



Legenda: Fotomicrografias da imunomarcagem de vasos sanguíneos nas zonas da próstata. Em (A) zona periférica (ZP), (B) zona central (ZC), (C) zona de transição (ZT), (D) gráfico da porcentagem de vasos sanguíneos. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As diferenças foram testadas por análise de variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Bonferroni, $p<0,05$.

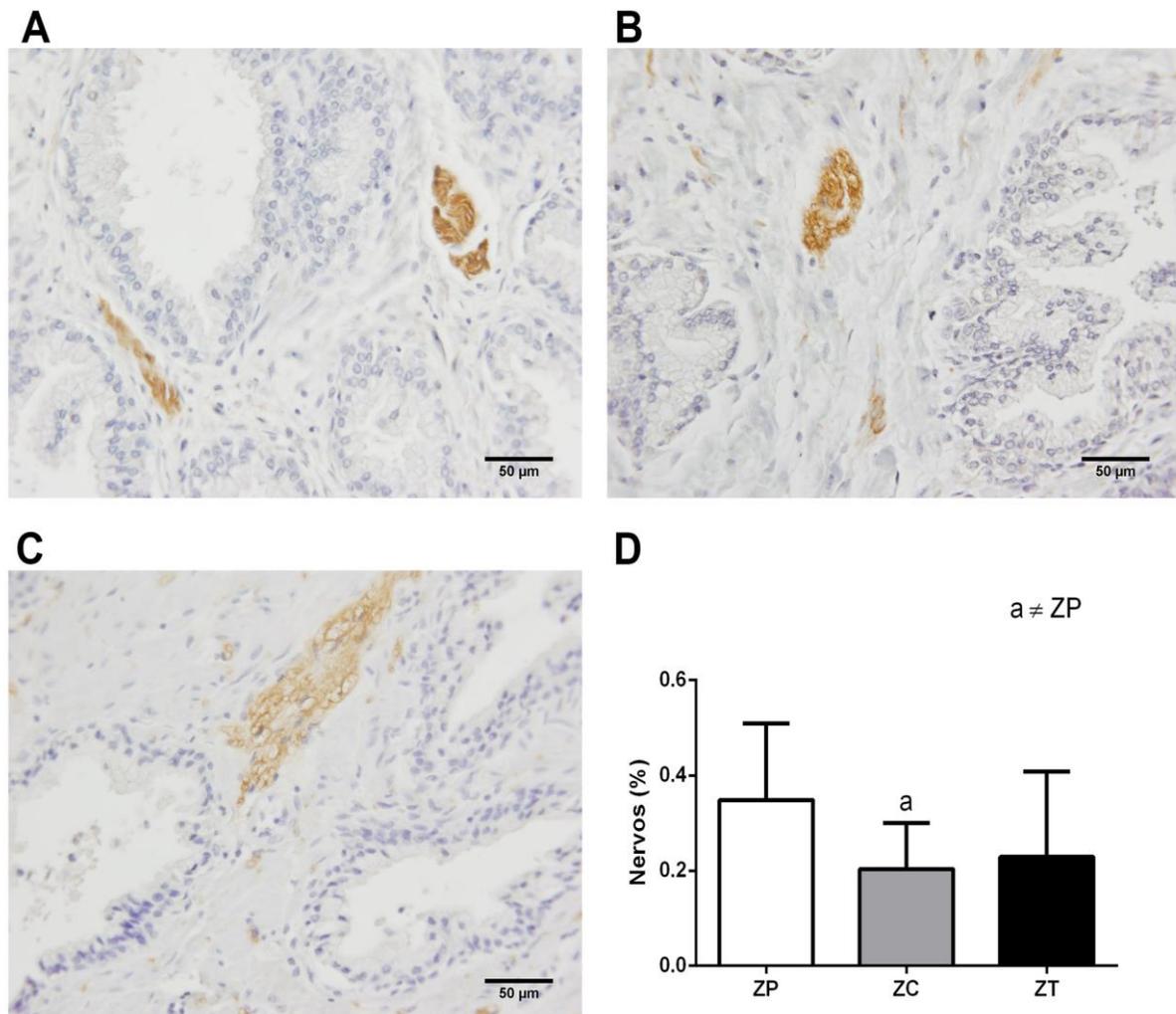
Nota: Imuno-histoquímica de anti-CD31, 400x. As barras de escala representam 50 µm.

Fonte: Alves, E.F., 2017.

4.2.5 Nervos

Com relação aos nervos, ZP ($0,35\pm 0,16$) e ZT ($0,23\pm 0,18$) não apresentaram diferença entre si, assim como ZC ($0,20\pm 0,10$) e ZT. No entanto, ZC apresentou diferença quando comparada com a ZP, sendo $p=0,0107$ (Tabela 2, Figura 25).

Figura 25 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a imunomarcação de nervos



Legenda: Fotomicrografias da imunomarcação de nervos nas zonas da próstata. Em (A) zona periférica (ZP), (B) zona central (ZC), (C) zona de transição (ZT), (D) gráfico da porcentagem de nervos. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As diferenças foram testadas por análise de variância (*one-way ANOVA*) e pós-teste de Bonferroni, $p < 0,05$. [a] indica diferença estatística para ZP.

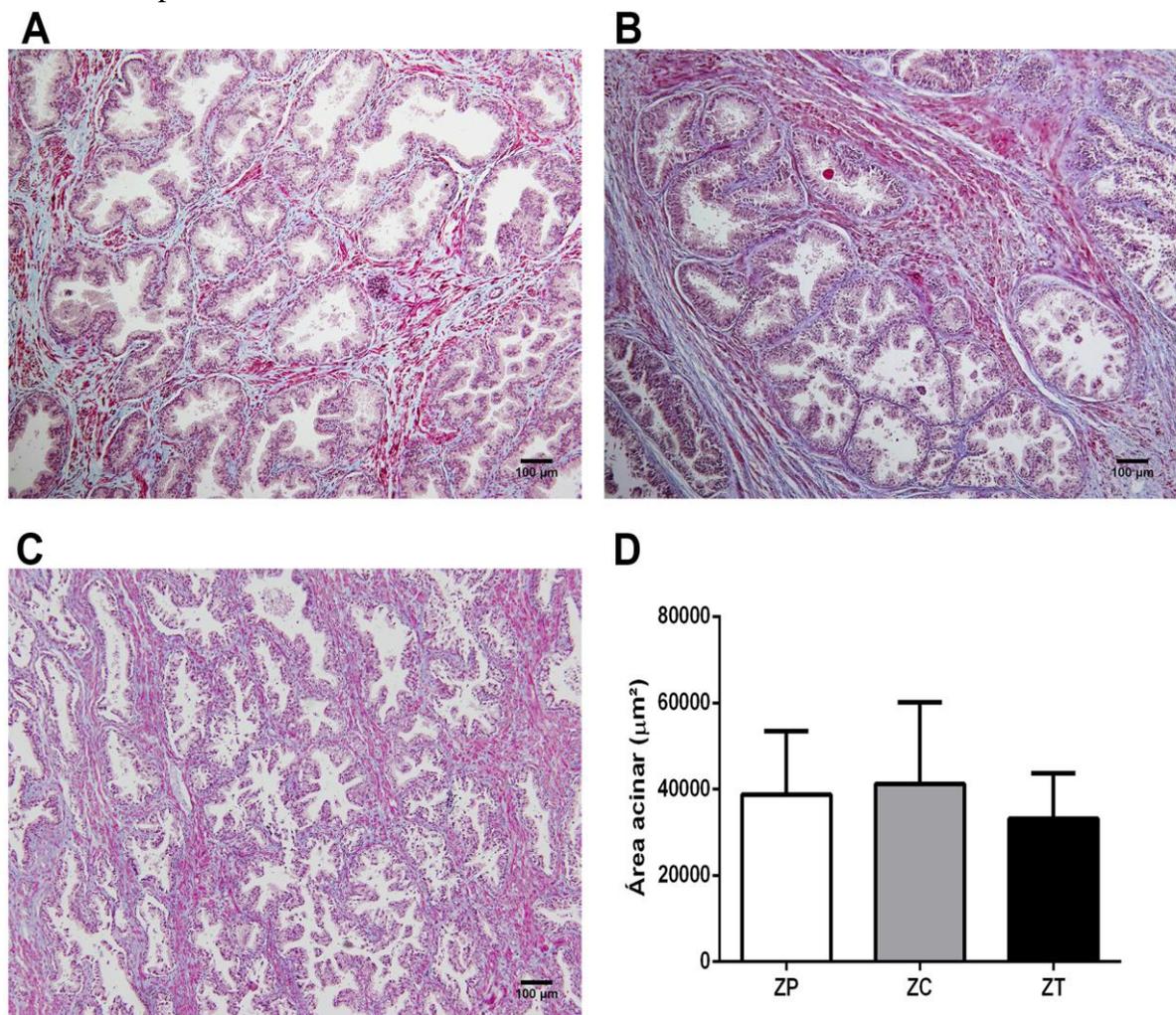
Nota: Imuno-histoquímica de anti-tubulina β III, 400x. As barras de escala representam 50 μ m.

Fonte: Alves, E.F., 2017.

4.2.6 Área do ácino prostático

Não houve diferença na área acinar entre as regiões estudadas, sendo $p=0,3388$ (Tabela 2, Figura 26).

Figura 26 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a área do ácino prostático



Legenda: Fotomicrografias mostrando a área do ácino nas zonas da próstata. Em (A) zona periférica (ZP), (B) zona central (ZC), (C) zona de transição (ZT), (D) gráfico da área acinar. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As diferenças foram testadas por análise de variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Bonferroni, $p < 0,05$.

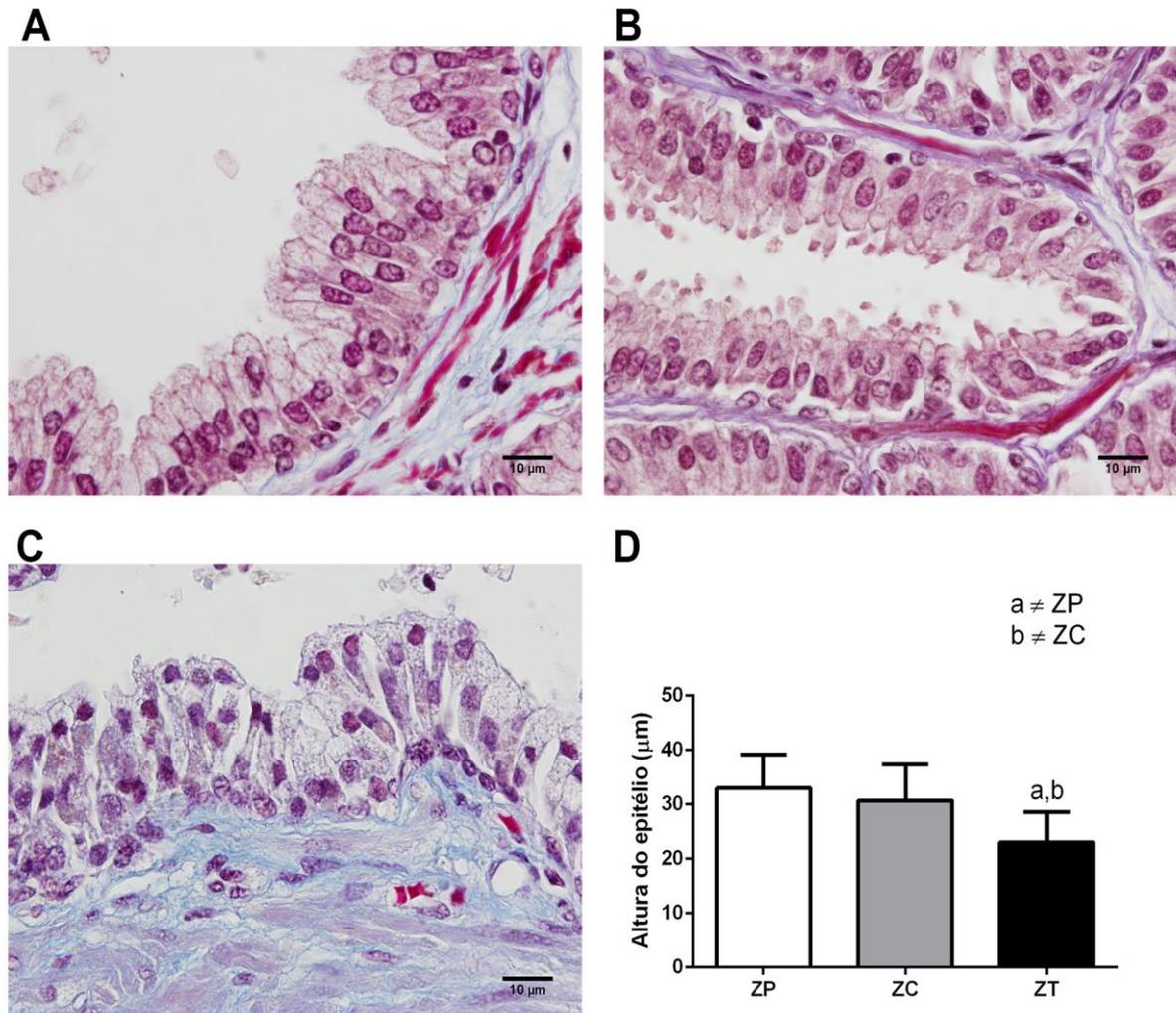
Nota: Tricrômico de Masson, 100x. As barras de escala representam 100 μm .

Fonte: Alves, E.F., 2017.

4.2.7 Altura do epitélio prostático

Em relação à altura do epitélio, ZP ($32,98 \pm 6,16$) e ZC ($30,71 \pm 6,62$) não apresentaram diferença entre si. A ZT ($23,03 \pm 5,58$) apresentou menor altura do epitélio quando comparada com ZP ($p=0,0034$) e ZC ($p=0,0330$) (Tabela 2, Figura 27).

Figura 27 – Fotomicrografias das diferentes zonas da próstata mostrando a altura do epitélio prostático



Legenda: Fotomicrografias mostrando o epitélio prostático. Em (A) zona periférica (ZP), (B) zona central (ZC), (C) zona de transição (ZT), (D) gráfico da altura do epitélio prostático. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As diferenças foram testadas por análise de variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Bonferroni, $p < 0,05$. [a] indica diferença estatística para ZP; [b] indica diferença estatística para ZC.

Nota: Tricrômico de Masson, 1000x. As barras de escala representam 10 μ m.

Fonte: Alves, E.F., 2017.

5 DISCUSSÃO

A divisão da próstata descrita por McNeal (1968) foi amplamente adotada por ser mais consistente do que a divisão tradicional proposta por Lowsley (1912).

Além da divisão em ZP, ZC e ZT, McNeal apontou também para o significado clínico da ZP e da ZT, associadas ao CaP e a HPB, respectivamente (McNeal, 1968). O CaP foi observado na ZP em mais de 70% dos casos estudados (McNeal, 1988; Lee et al., 2011) e a HPB, em sua quase totalidade, observada na ZT (Babinski et al., 2003; Laczkó et al., 2005).

Urologistas e patologistas, a partir de estudos macro e microscópicos da próstata, identificaram sua relação com o desenvolvimento do CaP e HPB (Hammerich et al., 2009). Entretanto, as bases funcionais, os mecanismos moleculares subjacentes e as razões pelas quais estas doenças se encontram preferencialmente associadas a estas regiões ainda não foram determinadas (Laczkó et al., 2005; Jiang & Xia, 2012). Todavia, para que se possa hipotetizar uma possível associação entre zonas da próstata e as doenças próprias de cada região, é importante caracterizar, o mais detalhadamente possível, o substrato morfológico, estroma e parênquima, sob o qual se apoiam esta preferência. Um conhecimento da histologia da próstata poderia, portanto, auxiliar no tratamento adequado das patologias prostáticas (Deering et al., 1994).

A determinação dos elementos estromais e parenquimais que constituem as zonas da próstata aumenta de importância ao se postular uma possível associação entre as zonas e o surgimento de alterações microscópicas nas diferentes patologias. O presente trabalho vem se somar às pesquisas de Chagas et al. (2002) e Babinski et al. (2003), desenvolvidas na Unidade de Pesquisa Urogenital da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, e de outros pesquisadores como Zhang et al. (2003), Laczkó et al. (2005), Powell et al. (2005) e Amin et al. (2010), que também analisaram algumas das características estudadas neste trabalho.

Fortes evidências indicam que o estroma prostático é multifuncional e desempenha um papel importante no crescimento e na diferenciação da próstata, bem como na regulação das funções prostáticas (Zhang et al., 2003). Considerando-se o caso da HPB, foi identificado que o crescimento da próstata é mais estromal que parenquimal (Bartsch et al., 1979; McNeal, 1990; Deering et al., 1994; Cardoso et al., 2000; Chagas et al., 2002). Essa constatação prévia nos levou a analisar, usando métodos quantitativos com um mínimo de viés, os vários componentes do parênquima e estroma que poderiam fornecer uma base morfológica para propostas terapêuticas.

A caracterização do colágeno foi realizada usando o método de Picrosirius, que embora não seja definitivo para uma caracterização precisa como métodos imunohistoquímicos, é suficiente e adequado para determinar as fibras colágenas mais espessas (de cor avermelhada), que podem ser consideradas como colágeno tipo I. As fibras colágenas mais finas que aparecem de cor esverdeada foram, pelas mesmas razões, consideradas como colágeno tipo III (fibras reticulares) (Junqueira et al., 1979a; Junqueira et al., 1979b). Em todos os cortes analisados das diferentes zonas observou-se birrefringência vermelha ou vermelho alaranjado, indicando uma predominância do colágeno tipo I. Essa observação mostrou que as regiões prostáticas diferem em relação à quantidade de colágeno, mas não ao tipo de colágeno.

A análise quantitativa de fibras colágenas mostrou que a ZC e a ZP não apresentaram diferença estatística entre elas. Essa semelhança caracteriza as duas zonas em que o CaP se desenvolve com mais frequência (McNeal et al., 1988; Srodon & Epstein, 2002; Cohen et al., 2008). Verificou-se que a ZT mostrou diferença significativa quando comparada com a ZP. Resultados semelhantes foram obtidos em outros trabalhos, tais como os estudos de Amin et al. (2010), que analisaram o componente colágeno nas três regiões, e Chagas et al. (2002), que analisaram o colágeno somente da ZT. Zhang et al. (2003) observaram que a quantidade de fibras colágenas acompanhava a diminuição das fibras musculares no CaP e sugeriram que as características dos componentes estromais estavam associadas a ocorrência desta patologia.

As fibras musculares estão fortemente envolvidas no desenvolvimento e progressão da HPB e CaP (Leimgruber et al., 2011). Na HPB foi descrito um aumento das células musculares lisas. Este fenômeno provavelmente é devido à proliferação e a mioidiferenciação de células estromais. No CaP, essas células diminuem significativamente, transformando-se em fibroblastos e miofibroblastos, que desempenham papéis fundamentais na progressão desta patologia (Zhang et al., 2003; Leimgruber et al., 2011). Os resultados da análise quantitativa das fibras musculares mostraram semelhança aos obtidos por Chagas et al. (2002), Zhang et al. (2003), e Amin et al. (2010).

Zhang et al. (2003) mostraram em seu estudo que as células musculares lisas constituíam-se no principal componente estromal. É importante notar que estas células foram as menos numerosas na ZP, justamente a zona de maior ocorrência do CaP. Essas observações levaram os autores citados a sugerir que o CaP ocorre com maior frequência em locais onde as fibras musculares encontram-se esparsas. De forma consistente, no presente estudo a menor porcentagem de fibras musculares foi na ZP.

São poucos os estudos sobre o papel das fibras elásticas e dos seus receptores na HPB e na invasão tumoral no CaP (Costa et al., 2004; Krušlin et al., 2015). A desorganização das fibras elásticas intratumorais no estroma do CaP já foi relatada (McNeal, 1988; Krušlin et al., 2015). Em nosso estudo, o maior número de fibras do sistema elástico foi encontrado na ZT. Zhang et al. (2003) observaram a presença das fibras elásticas muito nítidas somente nesta região. Estas fibras podem ter sido secretadas por células musculares, que também eram as mais numerosas nessa região quando comparada com as outras regiões.

A análise dos nervos mostrou diferença significativa apenas entre a ZC e a ZP. Estudos anteriores observaram menor inervação na ZT do que na ZP (Powell et al., 2005; Bostwick et al., 2014). Ainda com menor área de nervos, a ZT apresentou uma maior área de nervos na próstata normal que na próstata hiperplásica (Bostwick et al., 2014). Powell et al. (2005) observaram que o aumento nos nervos na ZP pode estar envolvido na carcinogênese. Esse achado pode ser associado a alta quantidade de nervos encontrada na ZP no presente estudo.

Com relação à altura do epitélio, a ZC e a ZP apresentaram as mesmas características. Como essas zonas são morfológicamente semelhantes, podemos supor que ambas as regiões apresentam as mesmas condições para o desenvolvimento do CaP.

CONCLUSÃO

Nossos dados quantitativos sobre os diferentes elementos que constituem o estroma e a altura do epitélio prostático normal nos permitiram mostrar as diferenças entre as zonas prostáticas. Este estudo estabeleceu padrões para parâmetros normais e pode ser usado para comparações posteriores na análise histopatológica.

REFERÊNCIAS

- Alonso-Magdalena P, Brössner C, Reiner A, Cheng G, Sugiyama N, Warner M, et al. A role for epithelial-mesenchymal transition in the etiology of benign prostatic hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(8):2859-63;
- Amin M, Khalid A, Tazeen N, Yasoob M. Zonal anatomy of prostate. *Ann King Edward Med Uni*. 2010;16(3):138-42;
- Babinski MA, Chagas MA, Costa WS, Sampaio FJ. Prostatic epithelial and luminal area in the transition zone acini: morphometric analysis in normal and hyperplastic human prostate. *BJU Int*. 2003;92(6):592-6;
- Balk SP, Ko YJ, Bubley GJ. Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol*. 2003;21(2):383-91;
- Bartsch G, Müller HR, Oberholzer M, Rohr HP. Light microscopic stereological analysis of the normal human prostate and of benign prostatic hyperplasia. *J Urol*. 1979;122(4):487-91;
- Bay NS, Bay BH. Greek anatomist herophilus: the father of anatomy. *Anat Cell Biol*. 2010;43(4):280-3;
- Berman DM, Rodriguez R, Veltri RW. Development, molecular biology, and physiology of the prostate. In: Wein AJ, editor-in-chief; Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. *Campbell-Walsh Urology*. 10 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2012. p. 2533-69;
- Bostwick DG, Hull D, Ma J, Hossain D. Nonneoplastic diseases of the prostate. In: Bostwick DG, Cheng L, editors. *Urologic Surgical Pathology*. 3 ed. Philadelphia: Elsevier; 2014. p. 350-407;
- Bostwick DG, Qian J, Hossain D. Non-neoplastic diseases of the prostate. In: Bostwick DG, Cheng L, editors. *Urologic Surgical Pathology*. 2 ed. Philadelphia: Elsevier; 2008. p. 381-442;
- Cardoso LEM, Costa WS, Sampaio FJB. Stromal modifications in benign prostatic hyperplasia as evidenced by glycosaminoglycan composition. *BJU Int*. 2000;26:630-4;
- Chagas MA, Babinski MA, Costa WS, Sampaio FJ. Stromal and acinar components of the transition zone in normal and hyperplastic human prostate. *BJU Int*. 2002;89(7):699-702;
- Chung BI, Sommer G, Brooks JD. Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. In: Wein AJ, editor-in-chief; Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. *Campbell-Walsh Urology*. 10 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2012. p. 33-70;
- Cohen RJ, Shannon BA, Phillips M, Moorin RE, Wheeler TM, Garrett KL. Central zone carcinoma of the prostate gland: a distinct tumor type with poor prognostic features. *J Urol*. 2008;179(5):1762-7; discussion 7;

Cormack DH. Sistema Reprodutor Masculino. In: Cormack DH, editor. Fundamentos de Histologia. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p. 335-48;

Costa WS, de Carvalho AM, Babinski MA, Chagas MA, Sampaio FJ. Volumetric density of elastic and reticular fibers in transition zone of controls and patients with benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2004;64(4):693-7;

Crandon LR. I. The Pathogenesis and Pathological Anatomy of Enlarged Prostate. *Ann Surg*. 1902;36(6):813-46;

Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS, Mee S, Bigsby RM, Higgins SJ, et al. The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr Rev*. 1987;8(3):338-62;

Dauge MC, Delmas V, Potier M. [The anatomic lobulation of the prostate, a controversial description]. *Morphologie*. 1999;83(260):5-14;

Deering RE, Bigler SA, King J, Choongkittaworn M, Aramburu E, Brawer MK. Morphometric quantification of stroma in human benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 1994;44(1):64-70;

Favorito LF, Sampaio FJB. Anatomia da Próstata e Vesículas Seminais. In: Favorito LF, Sampaio FJB, editors. Morfologia Urogenital Aplicada à Urologia Pediátrica. 1 ed. Rio de Janeiro; 2014. p. 116-29;

Franks LM. Benign nodular hyperplasia of the prostate: a review. *Ann R Coll Surg Engl*. 1953;14(2):92-106;

Fujikawa S, Matsuura H, Kanai M, Fumino M, Ishii K, Arima K, et al. Natural history of human prostate gland: morphometric and histopathological analysis of Japanese men. *Prostate*. 2005;65(4):355-64;

Gardiner RA, Chambers SK, Williams SG, Yaxley J, Samaratinga H, Frydenberg M. Prostate Cancer - Part One: Detection. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com; 2000;

Gartner LP, Hiatt JL. Sistema Reprodutor Masculino. In: Gartner LP, Hiatt JL, editors. *Tratado de Histologia em Cores*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p. 401-18;

Gnanapragasam VJ, McCahy PJ, Neal DE, Robson CN. Insulin-like growth factor II and androgen receptor expression in the prostate. *BJU Int*. 2000;86(6):731-5;

Griffiths J. Observations on the Anatomy of the Prostate. *J Anat Physiol*. 1889;23(Pt 3):374-86;

Guo JH, Zhou J, Zhao Y, Liu PY, Yao HJ, Da J, et al. Normal peripheral prostate stromal cells stimulate prostate cancer development: roles of c-kit signal. *Am J Transl Res*. 2015;7(3):502-12;

Hammerich KH, Ayala GE, Wheeler TM. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. Cambridge: Cambridge University Press; 2009. p. 1-10;

Jiang Q, Xia SJ. Zonal differences in prostate diseases. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125(9):1523-8;

Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. A simple and sensitive method for the quantitative estimation of collagen. *Anal Biochem*. 1979a;94(1):96-9;

Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J*. 1979b;11(4):447-55;

Junqueira LC, Carneiro J. Aparelho Reprodutor Masculino. In: Junqueira LC, Carneiro J, editors. *Histologia Básica*. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013a. p. 411-26;

Junqueira LC, Carneiro J. Tecido Conjuntivo. In: Junqueira LC, Carneiro J, editors. *Histologia Básica*. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013b. p. 89-118;

Kierszenbaum AL. Transporte e Maturação de Espermatozóides. In: Kierszenbaum AL, editor. *Histologia e Biologia Celular - Uma Introdução à Patologia*. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008. p. 601-16;

Krušlin B, Ulamec M, Tomas D. Prostate cancer stroma: an important factor in cancer growth and progression. *Bosn J Basic Med Sci*. 2015;15(2):1-8;

Kumar VL, Majumder PK. Prostate gland: structure, functions and regulation. *Int Urol Nephrol*. 1995;27(3):231-43;

Laczkó I, Hudson DL, Freeman A, Feneley MR, Masters JR. Comparison of the zones of the human prostate with the seminal vesicle: morphology, immunohistochemistry, and cell kinetics. *Prostate*. 2005;62(3):260-6;

Lee CH, Akin-Olugbade O, Kirschenbaum A. Overview of prostate anatomy, histology, and pathology. *Endocrinol Metab Clin N Am*. 2011;40(3):565-75, viii-ix;

Leimgruber C, Quintar AA, Sosa LD, García LN, Figueredo M, Maldonado CA. Dedifferentiation of prostate smooth muscle cells in response to bacterial LPS. *Prostate*. 2011;71(10):1097-107;

Lilja H, Ulmert D, Vickers AJ. Prostate-specific antigen and prostate cancer: prediction, detection and monitoring. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(4):268-78;

Lilja H. Biology of prostate-specific antigen. *Urology*. 2003;62(5 Suppl 1):27-33;

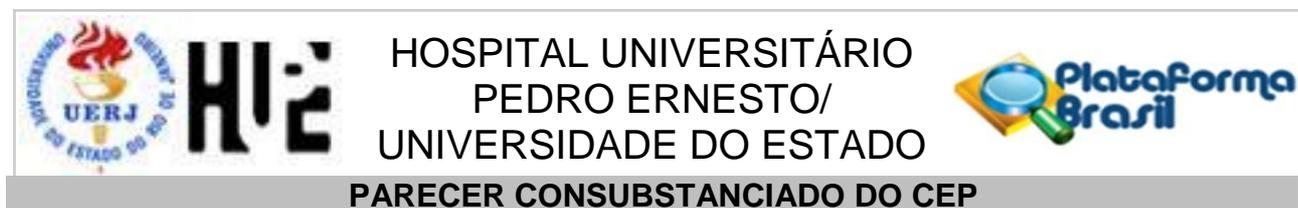
Lowsley OS. The development of the human prostate gland with reference to the development of other structures at the neck of the urinary bladder. *Am J Anat*. 1912;13:299-349;

Lowsley OS. The prostate gland in old age. *Ann Surg*. 1915;62(6):716-37;

- Marker PC, Donjacour AA, Dahiya R, Cunha GR. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Dev Biol.* 2003;253(2):165-74;
- Marx FJ, Karenberg A. History of the term prostate. *Prostate.* 2009;69:208-13;
- McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. *Am J Surg Pathol.* 1988;12(12):897-906;
- McNeal JE. Anatomy of the prostate: an historical survey of divergent views. *Prostate.* 1980;1(1):3-13;
- McNeal JE. Normal and pathologic anatomy of prostate. *Urology.* 1981a;17(Suppl 3):11-6;
- McNeal JE. Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol.* 1988;12(8):619-33;
- McNeal JE. Origin and evolution of benign prostatic enlargement. *Invest Urol.* 1978;15(4):340-5;
- McNeal JE. Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. *Urol Clin North Am.* 1990;17(3):477-86;
- McNeal JE. Regional morphology and pathology of the prostate. *Am J Clin Pathol.* 1968;49(3):347-57;
- McNeal JE. The prostate and prostatic urethra: a morphologic synthesis. *J Urol.* 1972;107(6):1008-16;
- McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate. *Prostate.* 1981b;2(1):35-49;
- Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. *Pelve e Péríneo.* In: Moore KL, Dalley AF, Agur AMR, editors. *Moore Anatomia Orientada para a Clínica.* 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2014;
- Netter FH. *Pelve e Péríneo.* In: Netter FH, editor. *Atlas de Anatomia Humana.* 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008. p. 351-417;
- Oesterling JE. The origin and development of benign prostatic hyperplasia. An age-dependent process. *J Androl.* 1991;12(6):348-55;
- Peng Y, Chen Q, Gu M, Chen Y, Zhang M, Zhou J, et al. Human Stromal Cells in the Peripheral Zone of the Prostate Promote Tumorigenesis of Prostatic Cancer Stem Cells through Up-regulation of C-Kit Expression. *J Cancer.* 2015;6(8):776-85;
- Powell MS, Li R, Dai H, Sayeeduddin M, Wheeler TM, Ayala GE. Neuroanatomy of the normal prostate. *Prostate.* 2005;65(1):52-7;
- Saldanha LB, Cavalcanti FBC, Arap S. *Anatomia e Histologia da Próstata.* In: Saldanha LB, Cavalcanti FBC, Arap S, editors. *Atlas de Patologia da Próstata.* São Paulo: Sarvier; 2000. p. 1-6;

- Selman SH. The McNeal prostate: a review. *Urology*. 2011;78(6):1224-8;
- Srodon M, Epstein JI. Central zone histology of the prostate: a mimicker of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol*. 2002;33(5):518-23;
- Srougi M, Dall'Oglio M, Antunes AA. Hiperplasia Prostática Benigna (HPB): Aspectos Morfológicos e Fisiopatológicos. In: Srougi M, Dall'Oglio M, Antunes AA, editors. *Hiperplasia Prostática Benigna*. São Paulo: Atheneu; 2010. p. 25-35;
- Stanworth RD, Jones TH. Testosterone for the aging male; current evidence and recommended practice. *Clin Interv Aging*. 2008;3(1):25-44;
- Stenman UH, Leinonen J, Zhang WM, Finne P. Prostate-specific antigen. *Semin Cancer Biol*. 1999;9(2):83-93;
- Tanagho EA, Lue TF. Anatomia do sistema geniturinário. In: McAninch, JW, Lue TF, editors. *Urologia Geral de Smith e Tanagho*. 18 ed. Porto Alegre: AMGH; 2014. p. 1-16;
- Thompson H. Some Observations on the Anatomy and Pathology of the Adult Prostate, founded upon Fifty Preparations of the Organ, dissected by the Author, and accompanying the Paper; with Two Plates. *Med Chir Trans*. 1857;40:77-106.3;
- Timms BG. Prostate development: a historical perspective. *Differentiation*. 2008;76(6):565-77;
- Wendell-Smith C. Terminology of the prostate and related structures. *Clin Anat*. 2000;13(3):207-13;
- Zhang Y, Nojima S, Nakayama H, Jin Y, Enza H. Characteristics of normal stromal components and their correlation with cancer occurrence in human prostate. *Oncol Rep*. 2003;10(1):207-11;
- Zuckerman S. The Endocrine Control of the Prostate: (Section of Urology). *Proc R Soc Med*. 1936;29(12):1557-68.

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Caracterização quantitativa e qualitativa dos componentes acinares e estromais das zonas da próstata

Pesquisador: Edilaine Farias Alves

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 43571115.2.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto

Patrocinador Principal: FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.090.780

Data da Relatoria: 08/04/2015

Apresentação do Projeto:

Os estudos de John E. McNeal a partir de novos parâmetros analisados sugeriu que a próstata fosse dividida em 3 zonas: periférica, central e transição. Cada região com sua morfologia e histologia própria. A zona periférica (ZP) constitui 70% da glândula e é o local onde surgem quase todos os carcinomas; a zona central (ZC) constitui 25% da glândula, sendo considerada uma região resistente a doenças; a zona de transição (ZT) constitui 5% da glândula, sendo o principal sítio de hiperplasia prostática benigna. Este trabalho tem como objetivo caracterizar quantitativamente e qualitativamente as características histológicas e histomorfológicas das diferentes zonas. Serão analisadas 19 amostras das diferentes zonas da próstata obtidas de indivíduos do acervo do anatômico da Universidade do Estado do Rio de Janeiro catalogados no decorrer de anos e doados para estudo. Após processamento e preparação dos cortes, serão realizadas técnicas histoquímicas e imunohistoquímicas específicas para identificação e análise de parênquima e componentes estromais de cada zona.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

Fax: (21)2264-0853

E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 1.090.780

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Caracterizar na próstata humana normal, quantitativamente e qualitativamente, as características histológicas e histomorfológicas das diferentes zonas propostas por John E. McNeal.

Objetivo Secundário:

- Analisar e quantificar morfometricamente os componentes do parênquima prostático (área acinar e altura do epitélio) em cada região; - Analisar e quantificar, por meio de estudos histoquímicos e imuno-histoquímicos, os diferentes componentes do estroma prostático (fibras colágenas, músculo liso e sistema elástico) em cada região; - Analisar e quantificar, por meio de estudos histoquímicos e imuno-histoquímicos, a percentagem de vasos sanguíneos e nervos em cada região; - Analisar e quantificar, por meio de estudos imuno-histoquímicos, a expressão dos proteoglicanos sindecan, biglican e decorin em cada região.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Nenhum risco pode ser oferecido, já que as próstatas foram provenientes de cadáveres.

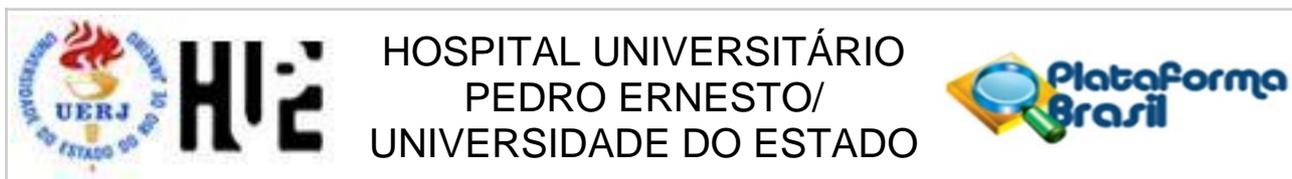
Benefícios:

Este trabalho poderá ser utilizado em futuras análises histopatológicas e normatizar condutas terapêuticas, sendo importante no tratamento dos males que acometem a próstata.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa será quantitativa e qualitativa. A análise quantitativa será realizada com o software Image J® (Image Processing and Analysis in Java) versão 1.47 (NIH, Bethesda, Maryland, USA), usando as seguintes ferramentas: - diferenciação de cor: para quantificação das fibras colágenas e musculares;- ferramenta mão livre: para a avaliação de área acinar e lúmen;- ferramenta "straightline": para determinar a altura do epitélio;- grade de 100 pontos: para quantificação da percentagem de fibras elásticas, vasos sanguíneos, nervos e proteoglicanos. A análise estatística será realizada com o software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego,).

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 1.090.780

California, USA), aplicando o teste t de Student para comparação das médias e a análise de variância “one-way” ANOVA. Os resultados serão expressos como média \pm desvio padrão, considerando p 0,05 como significativos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatória estão de acordo com a legislação pertinente e devidamente assinado pelos responsáveis.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado. O trabalho pode ser realizado da fora como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: 1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais e anuais referentes ao andamento da pesquisa ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

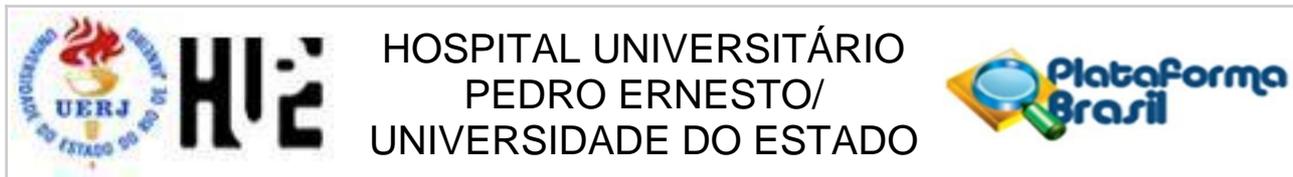
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

Fax: (21)2264-0853

E-mail: cep-hupe@uerj.br



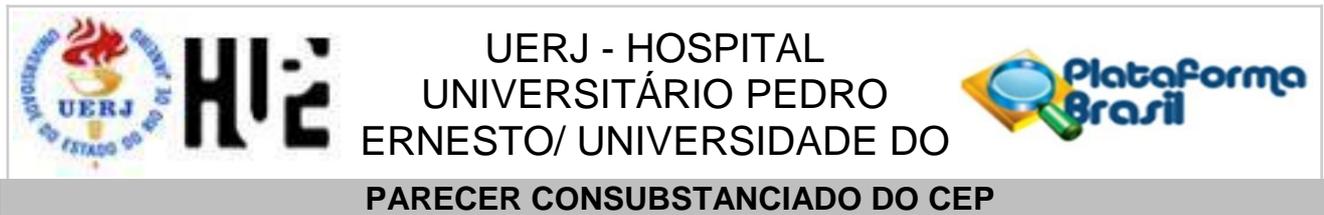
Continuação do Parecer: 1.090.780

RIO DE JANEIRO, 02 de Junho de 2015

Assinado por:
MICHELLE QUARTI MACHADO DA ROSA
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

ANEXO B - Aprovação do Comitê de Ética (Emenda)



DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização quantitativa e qualitativa dos componentes acinares e estromais das zonas da próstata

Pesquisador: Edilaine Farias Alves

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 43571115.2.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto

Patrocinador Principal: FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.217.034

Apresentação do Projeto:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Objetivo da Pesquisa:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Justificativa da Emenda:

Solicitação de prorrogação de aprovação do projeto para agosto de 2018, devido ao fato de que houve retardo na disponibilização de verba para anticorpos. Portanto, para concluir o projeto, falta realizar as imunomarcações de proteoglicanos e as respectivas análises histomorfométricas, análises estatísticas e avaliação dos resultados.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.217.034

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A emenda apresenta todas informações necessárias para avaliação ética.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A emenda apresenta todas informações necessárias para avaliação ética. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, a Emenda pode ser enquadrada na categoria – APROVADO

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_962783 E1.pdf	14/07/2017 12:56:18		Aceito
Outros	Justificativa para Ausência de TCLE - Edilaine F. Alves.pdf	21/03/2015 20:34:12		Aceito
Folha de Rosto	Folha de Rosto Pl. Brasil - Edilaine F. Alves FS.pdf	21/03/2015 20:29:20		Aceito
Outros	Declaração de Ciência - Edilaine F. Alves.pdf	20/03/2015 12:02:16		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Pl. Brasil - Projeto Edilaine F. Alves.pdf	18/03/2015 13:18:24		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.217.034

RIO DE JANEIRO, 14 de Agosto de 2017

Assinado por:
DENIZAR VIANNA ARAÚJO
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com

Received: 6 September 2017 | Accepted: 4 December 2017
 DOI: 10.1002/pros.23472

ORIGINAL ARTICLE

WILEY **The Prostate**

Histological and quantitative analyzes of the stromal and acinar components of normal human prostate zones

Edilaine F. Alves | Bruno Leonardo M. de Freitas Ribeiro | Waldemar S. Costa |
 Carla B. M. Gallo  | Francisco J. B. Sampaio

Urogenital Research Unit, State University of
 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Correspondence

Carla B. M. Gallo, BSc, PhD, Urogenital
 Research Unit, State University of Rio de
 Janeiro, UERJ, Av. 28 de Setembro, 87,
 Fundos, Vila Isabel, Rio de Janeiro 20551-030,
 Brazil.
 Email: manogallo.c@gmail.com

Background: McNeal divided the human prostate into three major anatomical areas: the peripheral zone (PZ), the central zone (CZ), and the transition zone (TZ). Each of these areas is biologically and histologically distinct. The PZ and TZ have clinical significance and are associated with prostate cancer (PC) and benign prostatic hyperplasia (BPH), respectively. Therefore, the objective of the present study was to quantitatively and qualitatively analyze the parenchymal and stromal components that constitute the different prostate zones.

Methods: We assessed 19 samples from each prostate zone. The samples were obtained from necropsies of young people between 18 and 32 years of age with intact urogenital tracts. The samples were fixed in 4% buffered formalin and processed for paraffin embedding. Sections with a thickness of five micrometres were obtained from each sample. The sections were stained using histochemical and immunohistochemical techniques to identify the acinar and stromal components of each zone. Photomicrographs were obtained for morphometric analysis using an algorithm based on color segmentation. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) with the Bonferroni post-test. Differences with $P < 0.05$ were regarded as statistically significant.

Results: Collagen fibres were more numerous in the TZ (+40.26%; $P = 0.0230$) than in the PZ. Muscle fibres were also more numerous in the TZ (+47.05%; $P = 0.0120$) than in the PZ. Elastic system fibres in the TZ significantly differed from those in the PZ (+84.61%; $P = 0.0012$) and the CZ (+61.66%; $P = 0.0074$). Similarly, nerves in the PZ (-42.86%; $P = 0.0107$) significantly differed from nerves in the CZ. Epithelial height was lower in the TZ than in the PZ (-30.17%; $P = 0.0034$) and the CZ (-25.01%; $P = 0.0330$).

Conclusion: Our objective, quantitative data regarding the various elements that constitute the normal prostate stroma allowed us to reveal differences among prostate zones. This study established patterns for normal parameters and may be used for posterior comparisons in histopathological analysis.

KEYWORDS

prostate, prostate zones, stroma

1 | INTRODUCTION

The human prostate has two histological components: the fibromuscular stroma and the glandular or epithelial component.^{1,2} Its development, growth, and structural maintenance occur in response to androgenic hormones, potential differentiation, and growth stimulators of the epithelium and prostatic stroma.^{3–6}

The division of the prostate into lobes or regions was first proposed by Lowsley⁷ based on examinations of human embryos. He suggested that the prostate should be divided into five lobes: an anterior lobe, a posterior lobe, two lateral lobes, and one middle lobe.

A new perspective and concept regarding the prostate's anatomical division were later proposed by McNeal,⁸ who further modified this concept over time.^{2,9,10} In 1981, he suggested the division of the prostate into three major anatomical areas that were biologically and histologically distinct: the peripheral zone (PZ), the central zone (CZ), and the transition zone (TZ). The PZ corresponds to 70% of the prostate and is the zone with the highest incidence of carcinomas; the CZ corresponds to 25% of the prostate; and the TZ corresponds to 5% of the prostate and is the exclusive site of the development of benign prostatic hyperplasia (BPH).⁸ Based on the work of Deering et al.,¹¹ knowledge of the histological characteristics of the prostate could modify therapeutic responses and could therefore influence treatment choices for diseases that affect this organ. The functional bases and molecular mechanisms underlying these diseases remain unknown.¹²

Given that individuals older than 40 years of age are likely to develop BPH and/or prostate cancer (PC), numerous studies have been conducted to elucidate causes of these diseases.

The objective of this study was to qualitatively and quantitatively characterize the prostatic elements that constitute each zone and the morphological features that distinguish these zones, with the objective of providing a basis for elucidating the pathological factors that affect the prostate.

2 | MATERIALS AND METHODS

The study was approved by the Research Ethics Committee of the State University Rio de Janeiro (CEP/HUPE; CAAE: 43571115.2.0000.5259).

Samples from different areas of the prostate were acquired from 19 individuals between 18 and 32 years of age (23.21 ± 4.71 years) with an intact urogenital tract that was obtained during a necropsy performed up to 24 h after death.

2.1 | Histological procedures

The samples were fixed in 4% buffered formalin and remained in the fixative for 24–48 h. The different regions of the prostate were identified, and samples from each zone were excised and processed for paraffin embedding. From each sample, histological sections with a

thickness of 5 μm were obtained and stained using histochemical and immunohistochemical techniques.

The sections were stained with haematoxylin and eosin (H&E) to assess tissue integrity. Masson's trichrome staining was used to analyze collagen and smooth muscle fibres and to measure acinar area and epithelial height. Picrosirius-stained sections were observed under polarized light to assess overall collagen. Sections stained using Weigert's resorcin-fuchsin with prior oxidation were used to analyze elastic tissue fibres.

2.2 | Immunohistochemistry

Immunostaining was performed with anti-CD31 (1:35, Abcam, polyclonal, ref: ab28364, Cambridge) and anti- β -tubulin (1:100, Abcam, monoclonal, ref: ab78078, UK) primary antibodies to characterize blood vessels and nerves, respectively. Antigen retrieval was performed in ethylenediamine tetra-acetic acid buffer, pH 9.0, overnight for 12 h at 60°C. Endogenous peroxidase activity was blocked using 3% hydrogen peroxide solution in methanol for 15 min, and sections were incubated at room temperature with 10% goat serum to block non-specific reactions (Histostain®-Plus Kit, Invitrogen, cat. no. 85-9643, Camarillo, CA). The sections were incubated with anti-CD31 and anti- β -tubulin primary antibodies diluted in phosphate-buffered saline/1% bovine serum albumin (PBS/1% BSA). Incubation with secondary antibody was performed, and the resulting reaction was amplified using the biotin-streptavidin system (Invitrogen, cat. no. 85-9643). The sections were developed using 3,3'-diaminobenzidine tetrachloride (DAB) (Invitrogen, cat. no. 85-9643) and stained with Harris haematoxylin. A negative control in which the primary antibody was replaced with PBS/1% BSA was concurrently prepared.

2.3 | Histomorphometric analyses

Histomorphometric analyses were performed using photomicrographs obtained with a microscope (Olympus BX51, Tokyo, Japan) equipped with a digital camera (Olympus DP71, Tokyo, Japan) with a resolution of 2040 pixels \times 1536 pixels.

Elastic tissue fibres were observed in 10 random fields in each region, for a total of 30 fields. For other quantitative analyses, five random fields in each region were observed, for a total of 15 fields. Analyses were performed using ImageJ® 1.47t software (Image Processing and Analysis in Java, NIH, Bethesda, MD), with the color segmentation technique utilized to analyze stromal components. To evaluate acinar components, the free hand tool was used to delimit the acinar area, and the straight-line tool was used to assess epithelial height.

2.4 | Statistical analysis

All data were tested for normal distribution and homogeneity of variance using the Kolmogorov-Smirnov test, and one-way analysis of variance (ANOVA) and the Bonferroni post-test were performed. The

results were expressed as the means \pm standard deviation, and differences with $P < 0.05$ were regarded as statistically significant. All analyzes were performed using GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA).

3 | RESULTS

Quantitative analyzes of acinar and stromal prostatic components revealed significant differences among the examined regions (Table 1, Figure 1).

When comparing the PZ and the TZ, we observed significant differences in quantities of collagen (PZ = 22.70 ± 5.00 and TZ = 31.84 ± 9.96 ; $P = 0.0230$), smooth muscle (PZ = 14.07 ± 4.72 and TZ = 20.69 ± 4.91 ; $P = 0.0120$), and elastic fibres (PZ = 12.54 ± 3.04 and TZ = 23.15 ± 10.36 ; $P = 0.0012$) as well as epithelial height (PZ = 32.98 ± 6.16 and TZ = 23.03 ± 5.58 ; $P = 0.0034$).

When comparing the CZ and the TZ, we observed significant differences in quantities of elastic fibres (CZ = 14.32 ± 3.65 and TZ = 23.15 ± 10.36 ; $P = 0.0074$) and epithelial height (CZ = 30.71 ± 6.62 and TZ = 23.03 ± 5.58 ; $P = 0.0330$).

When comparing the PZ and the CZ, we observed significant differences in quantities of nerves (PZ = 0.35 ± 0.16 and CZ = 0.20 ± 0.10 ; $P = 0.0107$).

Quantitative analyzes of the acinar area and vessels revealed no significant differences among the PZ, the CZ, and the TZ.

4 | DISCUSSION

The prostate division described by McNeal⁶ was widely adopted because it was more consistent than the traditional division proposed by Lowsley.⁷

In addition to dividing the prostate into the CZ, the TZ, and the PZ, McNeal also characterized the clinical significance of the PZ and the TZ, which are associated with PC and BPH, respectively.⁸ In published findings, PC was observed in the PZ in $>70\%$ of cases,² whereas BPH was mostly observed in the TZ.^{12,13}

Urologists and pathologists have sought to deepen macro- and microscopic studies of the prostate gland and identify relationships between this gland and the development of PC and BPH.¹⁴ However, the reasons why these pathologies are preferentially associated with the aforementioned regions have not yet been determined.¹⁵

Determination of the stromal and parenchymal elements that constitute the prostate zones is important when postulating a possible association between specific zones and the appearance of microscopic modifications. The present work adds to research by Chagas et al,¹⁶ Babinski et al,¹³ Zhang et al,¹⁷ Laczkó et al,¹² Powell et al,¹⁸ and Amin et al,¹⁹ who also analyzed some of the characteristics examined here.

There is extremely strong evidence to indicate that the prostatic stroma is multifunctional and plays important roles in prostate growth and differentiation as well as the regulation of prostatic functions.¹⁷ Studies on the growth of the prostate in BPH have shown that this growth is more stromal than parenchymal.^{1,11,14,20,21} Therefore, we sought to analyze, using quantitative methods with a minimum of bias, various components of the parenchyma and stroma that could provide a morphological basis for therapeutic responses.

Our analysis of collagen fibres showed that the CZ and the PZ did not significantly differ with respect to these fibres. Coincidentally, this similarity characterizes the two zones where PC develops more frequently.^{22,23} In contrast, the TZ significantly differed from the PZ. Similar results have been obtained in other studies, such as investigations by Amin et al,¹⁹ who analyzed the collagen component in all three regions, and Chagas et al,¹⁶ who analyzed collagen only in the TZ.

Muscle fibres are strongly involved in the development and progression of BPH and PC.²⁴ In BPH, an increase in smooth muscle cells has been observed; this phenomenon is likely attributable to the proliferation and myo-differentiation of stromal cells. In PC, these cells significantly decrease, transforming into fibroblasts and myofibroblasts, which play fundamental roles in the progression of this pathology.^{17,24} The results of the quantitative analysis of muscle fibres were similar to those obtained by Chagas et al,¹⁶ Zhang et al,¹⁷ and Amin et al.¹⁹ Zhang et al¹⁷ suggested that PC occurs most frequently in locations with sparse muscle fibres. Consistently, in the present study,

TABLE 1 Acinar and stromal parameters of prostate zones

	PZ	CZ	TZ	P-value
Collagen fibres (%)	22.70 ± 5.00^a	24.96 ± 6.30^{ab}	31.84 ± 9.96^b	0.0266
Smooth muscle fibres (%)	14.07 ± 4.72^a	18.57 ± 6.18^{ab}	20.69 ± 4.91^b	0.0110
Fibres of the elastic system (%)	12.54 ± 3.04^a	14.32 ± 3.65^a	23.15 ± 10.36^b	0.0010
Blood vessels (%)	1.75 ± 1.17	1.51 ± 0.74	1.82 ± 1.28	0.6628
Nerves (%)	0.35 ± 0.16^a	0.20 ± 0.10^b	0.23 ± 0.18^{ab}	0.0088
Acinar area (μm^2)	38.79 ± 14.72	41.25 ± 18.94	33.22 ± 10.41	0.3388
Epithelial height (μm)	32.98 ± 6.16^a	30.71 ± 6.62^a	23.03 ± 5.58^b	0.0044

PZ, peripheral zone; CZ, central zone; TZ, transition zone. Data are expressed as the means \pm standard deviation. One-way ANOVA and the Bonferroni post hoc test, $P < 0.05$.

a \neq b, and such differences are significant.

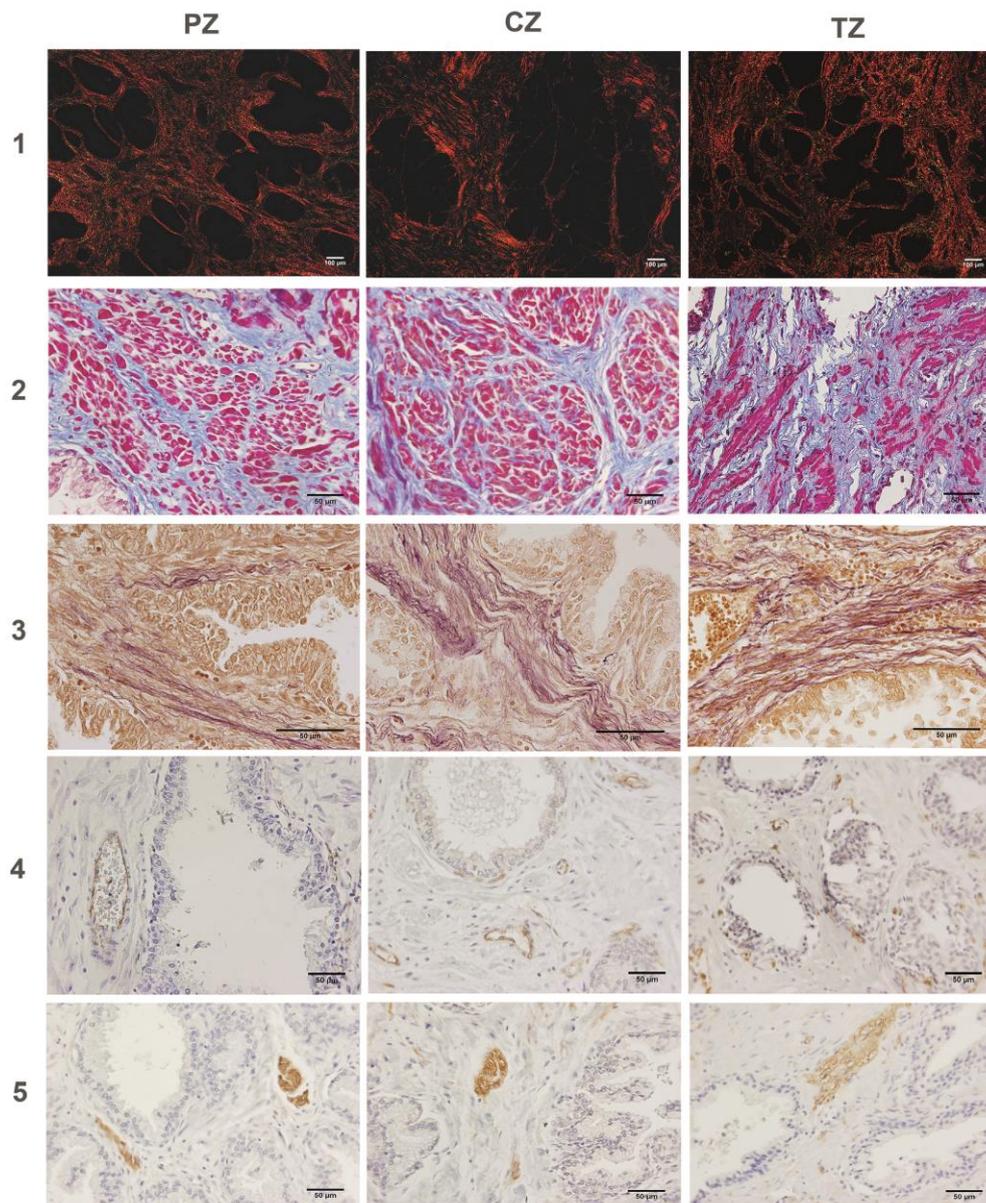


FIGURE 1 Photomicrographs of the components of normal human prostate zones. PZ, peripheral zone; CZ, central zone and TZ, transition zone. (1) Overall distribution of collagen, Picosirius under polarized light, 100 \times ; (2) Collagen fibres and muscle fibres, Masson's trichrome, 400 \times ; (3) Elastic system fibres, Weigert's resorcin-fuchsin with prior oxidation, 600 \times ; (4) Immunostaining of blood vessels, immunohistochemistry with anti-CD31, 400 \times ; (5) Immunostaining of nerves, immunohistochemistry with anti- β III-tubulin, 400 \times

the lowest percentage of muscle fibres was in the PZ, the region with the highest incidence of PC.

Few studies have reported on the role of elastic fibres and their receptors in BPH and in tumor invasion in PC.^{25,26} The disorganization of

intratumoural elastic fibres in the stroma of PC has previously been reported.^{2,26} In our study, the largest number of elastic system fibres was found in the TZ; these fibres may have been secreted by muscle cells, which were also more numerous in this region than in other regions.

Our analysis of nerves showed a statistically significant difference only between the CZ and the PZ. Powell et al¹⁸ observed less innervation of the TZ than of the PZ. Based on the same study, an increase in nerves in the PZ may be involved in carcinogenesis. This finding may explain the high quantities of nerves found in the PZ in the present study.

With respect to epithelial height, the CZ and the PZ showed the same characteristics. Because these zones are morphologically similar, both regions feature the same conditions for the development of PC.

5 | CONCLUSIONS

In conclusion, our objective, quantitative data on the different elements that constitute the normal prostatic stroma allowed us to identify the differences between the prostate zones. This study established patterns for normal parameters and may be used for posterior comparisons in histopathological analysis.

ORCID

Carla B. M. Gallo  <http://orcid.org/0000-0001-8233-1476>

REFERENCES

- Bartsch G, Müller HR, Oberholzer M, Rohr HP. Light microscopic stereological analysis of the normal human prostate and of benign prostatic hyperplasia. *J Urol*. 1979;122:487-491.
- McNeal JE. Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol*. 1988;12:619-633.
- Gnanapragasam VJ, McCahy PJ, Neal DE, Robson CN. Insulin-like growth factor II and androgen receptor expression in the prostate. *BJU Int*. 2000;86:731-735.
- Marker PC, Donjacour AA, Dahiya R, Cunha GR. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Dev Biol*. 2003;253:165-174.
- Fujikawa S, Matsuura H, Kanai M, et al. Natural history of human prostate gland: morphometric and histopathological analysis of Japanese men. *Prostate*. 2005;65:355-364.
- Lee CH, Akin-Olugbade O, Kirschenbaum A. Overview of prostate anatomy, histology, and pathology. *Endocrinol Metab Clin N Am*. 2011;40:565-575.
- Lowsley OS. The development of the human prostate gland with reference to the development of other structures at the neck of the urinary bladder. *Am J Anat*. 1912;13:299-349.
- McNeal JE. Regional morphology and pathology of the prostate. *Am J Clin Pathol*. 1968;49:347-357.
- McNeal JE. Normal and pathologic anatomy of prostate. *Urology*. 1981;17:11-16.
- McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate. *Prostate*. 1981;2:35-49.
- Deering RE, Bigler SA, King J, Choongkittaworn M, Aramburu E, Brawer MK. Morphometric quantification of stroma in human benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 1994;44:64-70.
- Laczko I, Hudson DL, Freeman A, Feneley MR, Masters JR. Comparison of the zones of the human prostate with the seminal vesicle: morphology, immunohistochemistry, and cell kinetics. *Prostate*. 2005;62:260-266.
- Babinski MA, Chagas MA, Costa WS, Sampaio FJ. Prostatic epithelial and luminal area in the transition zone acini: morphometric analysis in normal and hyperplastic human prostate. *BJU Int*. 2003;92:592-596.
- Hammerich KH, Ayala GE, Wheeler TM. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. In: Hricak H, Scardino P, eds. *Prostate Cancer*. Cambridge: Cambridge University Press; 2009:1-10.
- Jiang Q, Xia SJ. Zonal differences in prostate diseases. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125:1523-1528.
- Chagas MA, Babinski MA, Costa WS, Sampaio FJ. Stromal and acinar components of the transition zone in normal and hyperplastic human prostate. *BJU Int*. 2002;89:699-702.
- Zhang Y, Nojima S, Nakayama H, Jin Y, Enza H. Characteristics of normal stromal components and their correlation with cancer occurrence in human prostate. *Oncol Rep*. 2003;10:207-211.
- Powell MS, Li R, Dai H, Sayeeduddin M, Wheeler TM, Ayala GE. Neuroanatomy of the normal prostate. *Prostate*. 2005;65:52-57.
- Amin M, Khalid A, Tazeen N, Yasooob M. Zonal anatomy of prostate. *Ann King Edward Med Uni*. 2010;16:138-142.
- McNeal JE. Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. *Urol Clin North Am*. 1990;17:477-486.
- Cardoso LEM, Costa WS, Sampaio FJB. Stromal modifications in benign prostatic hyperplasia as evidenced by glycosaminoglycan composition. *BJU Int*. 2000;26:630-634.
- Srodon M, Epstein JI. Central zone histology of the prostate: a mimicker of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol*. 2002;33:518-523.
- Cohen RJ, Shannon BA, Phillips M, Moorin RE, Wheeler TM, Garrett KL. Central zone carcinoma of the prostate gland: a distinct tumor type with poor prognostic features. *J Urol*. 2008;179:1762-1767.
- Leimgruber C, Quintar AA, Sosa LD, García LN, Figueredo M, Maldonado CA. Dedifferentiation of prostate smooth muscle cells in response to bacterial LPS. *Prostate*. 2011;71:1097-1107.
- Costa WS, de Carvalho AM, Babinski MA, Chagas MA, Sampaio FJ. Volumetric density of elastic and reticular fibers in transition zone of controls and patients with benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2004;64:693-697.
- Krušlin B, Ulamec M, Tomas D. Prostate cancer stroma: an important factor in cancer growth and progression. *Bosn J Basic Med Sci*. 2015;15:1-8.

How to cite this article: Alves EF, de Freitas Ribeiro BLM, Costa WS, Gallo CBM, Sampaio FJB. Histological and quantitative analyzes of the stromal and acinar components of normal human prostate zones. *The Prostate*. 2018;78:289-293. <https://doi.org/10.1002/pros.23472>