

## STEREOLOGICAL ANALYSIS OF HISTOLOGIC COMPONENTS IN TRANSITION ZONE OF NORMAL AND HYPERPLASTIC HUMAN PROSTATES

MAURÍCIO A. CHAGAS, MÁRCIO A. BABINSKI, WALDEMAR S. COSTA,  
RONALDO DAMIÃO, FRANCISCO J.B. SAMPAIO

Division of Urology, Urogenital Research Unit, Biomedical Center, State University of Rio de Janeiro, RJ, Brazil

### ABSTRACT

**Objectives:** To determine the volumetric density (Vv) of the stromal components (connective tissue and smooth muscle cells) in normal and hyperplastic prostate samples.

**Material and Methods:** The prostates were obtained from 8 patients with clinical symptoms and histopathologic diagnosis of BPH who had been submitted to open prostatectomy. Controls consisted of the transitional zone of prostates obtained from necropsies of 8 adults aged 18 to 30 years. Collagen and smooth muscle cells were evidenced with Gomori's trichrome. The Vv of these components was determined on 25 random fields per prostate using the point-count method with an M-42 grid test system.

**Results:** The Vv in control and BPH samples, respectively, were: connective tissue:  $40.59 \pm 4.59$  and  $54.34 \pm 5.91$  (significant difference); smooth muscle cells:  $23.87 \pm 1.74$  and  $30.69 \pm 4.69$  (significant difference).

**Conclusions:** The results confirm the hypothesis of an increase in the smooth muscle fibers and in the connective tissue. The observation of such modifications in the stromal composition in HPB seems to be important in the choice of the best therapeutic process available.

**Key words:** prostate; prostatic hyperplasia; histology; quantitative morphometry  
**Braz J Urol, 27: 26-31, 2001**

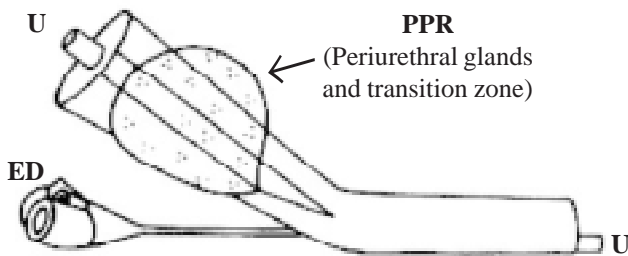
### INTRODUÇÃO

A hiperplasia prostática benigna (HPB) caracteriza-se por um crescimento tumoral que resulta na hiperplasia do estroma e do tecido glandular, em arranjo nodular (1). A HPB é a afecção mais comum da próstata e é o tumor benigno mais comum no homem. A prevalência de HPB histológica em estudos de autópsia cresce de aproximadamente 20% em homens de 41 a 50 anos, até 50% em homens de 51 a 60 anos e acima de 90% em homens com mais de 80 anos. Embora a evidência clínica da doença seja menos comum, os sintomas de obstrução também estão relacionados à idade. Aos 55 anos de idade, em torno 25% dos homens terão sintomas miccionais obstrutivos, e aos 75 anos, 50% dos homens relatam diminuição da força e calibre do jato urinário. Aproximadamente 50% dos homens com menos de 60 anos

que são submetidos à cirurgia para HPB podem ter uma forma hereditária da doença. Esta forma parece ser uma herança autossômica dominante e os parentes em primeiro grau destes pacientes possuem um risco 4 vezes maior (2-4).

De acordo com a divisão anatômica de McNeal (Figura-1), os nódulos hiperplásicos originam-se na região pré-prostática (glândulas periuretrais e zona de transição da próstata) e comprimem as demais regiões (5). Na grande maioria dos casos, a HPB consiste em um aumento da zona de transição (5,6).

O estroma da próstata é basicamente formado por fibras musculares lisas associado a tecido conjuntivo (com marcante presença de fibras colágenas, fibras elásticas e fibroblastos), vasos sanguíneos e linfáticos. No entanto, não há uma unanimidade entre os pesquisadores se o principal elemento envolvi-



**Figure 1** - Lateral view of a schematic drawing of the prostate after withdrawing of the anterior, peripheral and central zones, leaving evidenced the transition zone. U = urethra, ED = ejaculatory duct, PPR = pre-prostatic region (modified from ref. 5).

Vista lateral de um esquema da próstata no qual foram retirados a zona anterior, a zona periférica e a zona central, deixando evidenciada somente a zona de transição.

do no aumento da próstata é de origem epitelial (ductos ou os alvéolos prostáticos) (7) ou proveniente da proliferação de células do estroma (8,9). Neste último caso, discute-se ainda se a predominância é das fibras musculares lisas (10) ou das fibras colágenas/fibroblastos (11).

Numerosos trabalhos, utilizando métodos de quantificação, foram realizados sobre os diferentes componentes prostáticos, mas as comparações eram geralmente feitas ou entre diferentes amostras de HPB (12,13) ou entre HPB e câncer prostático (14) ou entre HPB e próstatas fetais (15). Poucos relatos, comparando a HPB com próstatas de adultos normais, foram encontrados na literatura.

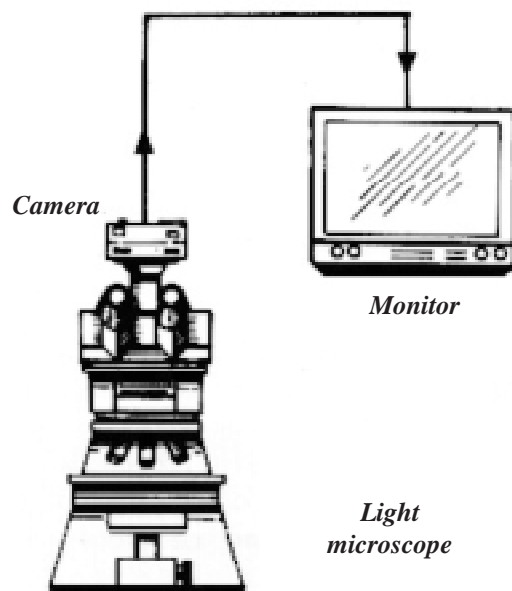
O presente estudo tem como objetivo comparar, através de dados quantitativos, os componentes histológicos da próstata normal e hiperplásica, tomando-se como orientação anatômica precisa a zona de transição.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de tecido prostático da zona de transição foram coletadas de 8 pacientes entre 63 e 79 anos, com diagnóstico de HPB, e submetidos à prostatectomia aberta. O material controle consistiu de 8 próstatas obtidas em necropsias de indivíduos de 18 a 30 anos, mortos de causa violenta. As próstatas do grupo controle sofreram uma primeira clivagem de onde foram retirados apenas fragmentos da zona de transição. O material foi fixado em líquido de

Bouin e posteriormente processado para inclusão em parafina. Todas as amostras foram coradas inicialmente com hematoxilina-eosina e examinadas por um patologista para diagnóstico anatomopatológico.

De cada próstata foram retirados 5 fragmentos que originaram 5 cortes diferentes. De cada corte foram analisados 5 campos aleatórios, perfazendo um total de 25 áreas teste analisadas em cada próstata. Os cortes obtidos foram corados pelo tricrômico de Gomori para evidenciar o colágeno, que se cora em verde em contraste marcante com as fibras musculares lisas, que ficam coradas em tons de vermelho. As imagens para análise foram obtidas em aumento de 400x em um microscópio óptico Olympus acoplado a uma câmara de vídeo Sony CCD, sendo a imagem dos campos microscópicos transferidas para um monitor Sony KX14-CP1 (Figura-2). Os dados foram obtidos pelo método de contagem de pontos, superpondo-se um sistema teste M-42 (16,17) sobre a tela do monitor (Figura-3). De acordo com o princípio estereológico, a distribuição por área é proporcional a distribuição por volume, quando a região considerada é homogênea.



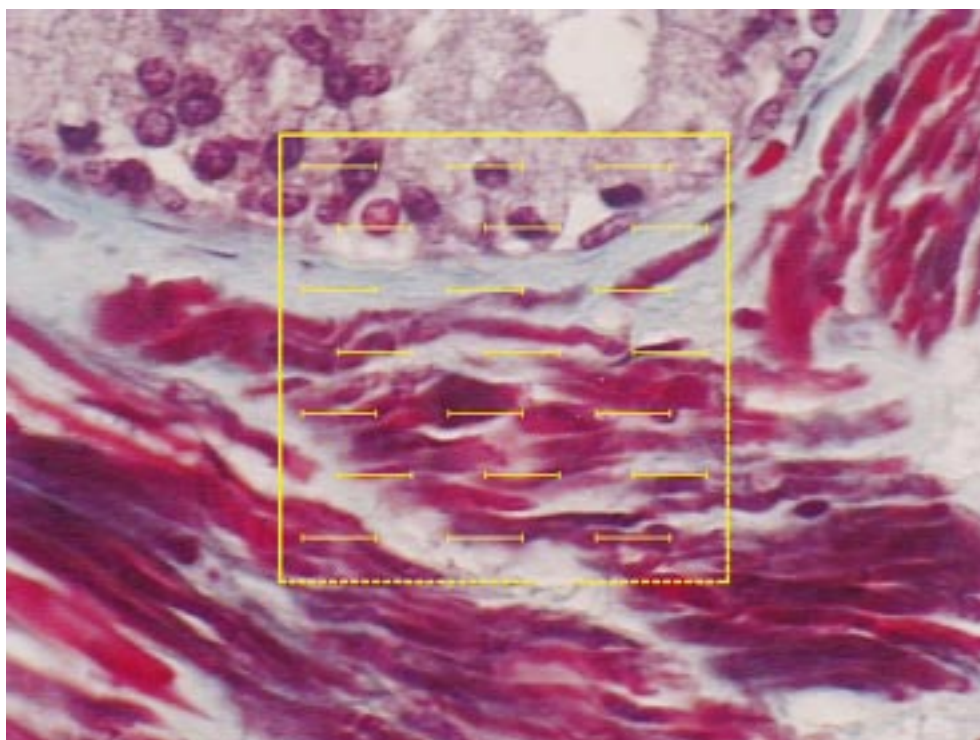
**Figure 2** - General outline of a video microscope and its accessories (modified from ref. 16).

Esquema geral de um vídeo-microscópio e seus acessórios (modificado de ref. 16).

O tratamento estatístico utilizado para estudar os 2 grupos foi o teste “t” de Student, não pareado, em software Origin 5.0 (Microcalc Software), considerando-se um  $p < 0.05$  como significativo.

## DISCUSSÃO

Um conhecimento preciso dos constituintes teciduais da HPB parece importante para o en-



**Figure 3** - M-42 test system applied on a digitalized image (Gomori's trichrome, X400).

Sistema teste M-42 aplicado sobre uma imagem digitalizada (Tricrômico de Gomori, X400).

## RESULTADOS

Os resultados são apresentados na tabela e na figura-4.

tendimento da gênese desta patologia, bem como para escolha da melhor terapêutica, entre os diversos métodos disponíveis. Diferentes estudos desenvolvidos em nosso laboratório, utilizando-se méto-

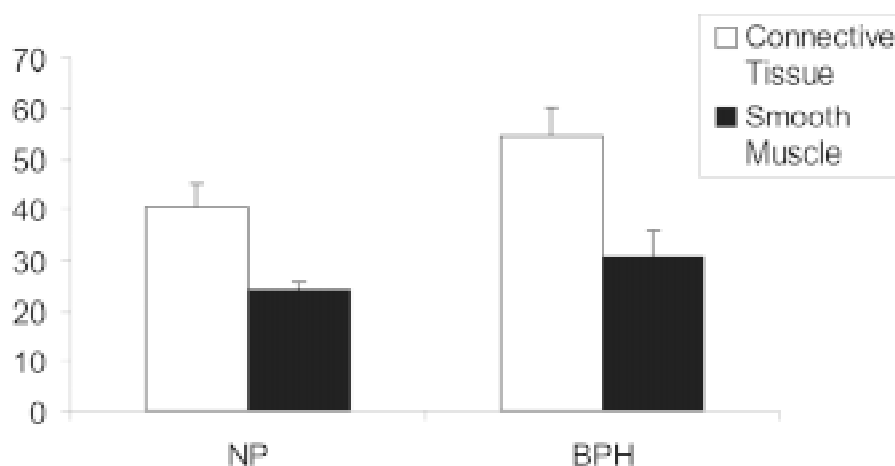
**Table** - Results of the quantitative evaluation of the prostatic stroma in eight patients.

Resultados da avaliação quantitativa do estroma prostático, em oito pacientes.

Prostate	Mean (%)		SD ( $\pm$ )	
	NP	BPH	NP	BPH
Connective Tissue	40.59	54.34	4.59	5.91
Smooth Muscle	23.87	30.69	1.74	4.69

NP = normal prostate; BPH = benign prostatic hyperplasia; SD = standard deviation.

## STEREOLOGICAL ANALYSIS OF THE PROSTATE



**Figure 4** - Graphic demonstrating the results of volumetric density of the prostatic stroma components. The error bars represent the standard deviation. The difference between groups is significant ( $p < 0.05$ ). NP = normal prostate, BPH = benign prostatic hyperplasia.

Gráfico mostrando os resultados da densidade volumétrica dos constituintes do estroma prostático. As barras de erro representam o desvio padrão. A diferença entre os dois grupos é significativa ( $p < 0.05$ ). NP = próstata normal, BPH = hiperplasia prostática benigna.

dos imuno-histoquímicos, para a demonstração dos diferentes elementos do estroma mostraram que métodos de coloração tradicionais, que ressaltam de forma conspícua o tecido conjuntivo (como os tricrômicos de Gomori, Mallory ou Masson) (17) são adequados para a morfometria, pois produzem um contraste importante entre os elementos colágenos e as fibras musculares. Um contraste maior facilita a identificação precisa do local onde se localizam os pontos nos campos que foram analisados quando se utiliza o método estereológico. A utilização de métodos tricrômicos na análise estereológica foi previamente utilizada por Ichianagi (12) e Ishigooka (11). Shapiro et al. (10) estudaram próstatas com hiperplasia e usando dupla marcação enzimática e análise de imagens, descreveram a densidade média da área dos seguintes parâmetros: músculo liso = 39%, tecido conjuntivo = 38%, epitélio = 12% e lúmen glandular = 11%.

Deering et al. (9) estudaram 30 glândulas de pacientes portadores de HPB, cujo material foi obtido por cirurgia (prostatectomia aberta ou ressecção transuretral) ou biópsia. Esses autores consideram que a composição histológica da próstata pode ser um fator que altere a resposta terapêu-

tica, e em conseqüência modificaria a conduta medicamentosa. Nesse trabalho, os autores consideraram o estroma como um todo, não quantificando separadamente os seus diferentes componentes, como foi feito no presente estudo. Estes autores encontraram uma percentagem de 65.4% de estroma nas próstatas com hiperplasia benigna, e relataram que não houve diferença na percentagem de estroma em relação ao método utilizado para obtenção do material.

Em nosso estudo, verificou-se um aumento significativo de 28.57% nas fibras musculares lisas e de 33.88% no tecido conjuntivo das próstatas hiperplásicas em relação ao grupo controle. Estes dados parecem confirmar a hipótese de que a maior densidade volumétrica das fibras musculares lisas encontradas na HPB, deve-se certamente a uma proliferação celular elevada. De fato, em cultura de células de estroma, a proporção de células de músculo liso está aumentada na HPB em relação às próstatas normais (18).

Estes achados têm importante significado clínico, pois mostrou-se recentemente em pacientes com HPB, uma estreita relação entre a densidade de músculo liso e o fator de resistência uretral (19).

Além disso, Caine (20) relata um aumento no tônus das fibras musculares lisas das próstatas hiperplásicas, o que levaria a obstrução urinária.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos confirmam a hipótese de um aumento do estroma na HPB, que é estatisticamente significativo tanto na quantidade de fibras musculares lisas quanto em tecido conjuntivo. Estas modificações da composição histológica normal, principalmente no componente muscular, possivelmente alteram as propriedades morfo-funcionais da próstata, sendo um fator importante a ser considerado na avaliação da sintomatologia obstrutiva em humanos, assim como para escolha da melhor terapêutica a ser utilizada.

---

*Pesquisa realizada em parte com suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)*

## REFERÊNCIAS

1. Billis A: Uropatologia da Próstata. Goiânia, Editora Universidade Federal de Goiânia, pp.33-68, 1997.
2. Barry SJ, Isaacs JT: The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol*, 132: 474-477, 1984.
3. Barry MJ: Epidemiology and natural history of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am*, 17: 495-507, 1990.
4. Sanda MG: Genetic susceptibility of benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, 152: 115, 1994.
5. Sampaio FJB: Neoplasia prostática: conceitos anatômicos fundamentais para a compreensão da patologia benigna e maligna. *J Bras Urol*, 18: 121-125, 1992.
6. McNeal JE: Benign Prostatic Hyperplasia. In: Sterenberg SS (ed.), *Histology for Pathologists*, 2nd ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, pp.997-1017, 1997.
7. McNeal JE: Origin and evolution of benign prostatic enlargement. *Invest Urol*, 15: 340-345, 1978.
8. Barstch G, Muller HR; Oberholzer M, Rohr HP: Light microscopic stereological analysis of the normal human prostate and of benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, 122: 487-491, 1979.
9. Deering RE, Choongkittaworn M, Bigler SA, Aramburu E, King J, Brawer, MK Morphometric quantitation of stroma in human benign prostatic hyperplasia. *Urology*, 44: 64-70, 1994.
10. Shapiro E, Hartanto V, Perlman EJ, Tang R, Wang B, Lepor H: Morphometric analysis of pediatric and nonhyperplastic prostate glands: evidence that bph is not a unique stromal process. *The Prostate*, 33: 177-182, 1997.
11. Ishigooka M, Hayami S, Hashimoto T, Suzuki Y, Katoh T: The relative and total volume of histological components in benign prostatic hyperplasia: relationships between histological components and clinical findings. *Prostate*, 29: 77-82, 1996.
12. Ichiiyanagi O, Sasagawa I, Ishigooka M, Suzuki Y, Nakada T: Morphometric analysis of symptomatic benign prostatic hyperplasia with and without bladder outlet obstruction. *Urol Res*, 28, 29-32, 2000.
13. Shapiro E, Becich MJ, Hartanto V, Lepor H: The relative proportion of stromal and epithelial hyperplasia is related to the development of symptomatic benign prostate hyperplasia. *The Journal of Urology*, 147: 1293-1297, 1992.
14. Nakada T, Kubota Y: Connective tissue protein in the prostate gland. *International Urology and Nephrology*, 26: 183-187, 1994.
15. Bierhoff E, Walljasper U, Hofmann D, Vogel J, Wernert N, Pfeifer, U: Morphological analogies of fetal prostate stroma and stromal nodules in BPH. *The Prostate*, 31: 234-240, 1997.
16. Monteiro Leal, LH: Fundamentos de Microscopia. Rio de Janeiro, EdUERJ, 59-69, 2000.
17. Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF: Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biol*, 30: 23-38, 1966.
18. Sensibar JA, Pruden SJ, Kasjanski RZ, Rademaker A, Lee C, Grayhack JT, Kozlowski

- JM: Differential growth rates in stromal cultures of human prostate derived from patients of varying ages. *Prostate*, 38: 110-117, 1999.
19. Ichiyanagi O, Sasagawa I, Suzuki Y, Ishigooka M, Nakada T: Relation between urethral elasticity and bladder outlet obstruction and histologic composition of the prostate in patients with benign prostatic hyperplasia. *Urology*, 53: 1149-1153, 1999
20. Caine M: The present role of alpha-adrenergic blockers in the treatment of benign prostatic hypertrophy. *J Urol*, 136: 1, 1986.

---

*Received: October 16, 2000*

*Accepted after revision: January 12, 2001*

---

**Correspondence address:**

Dr. Waldemar S. Costa  
Unidade de Pesquisa Urogenital  
Av. 28 de Setembro, 87, fundos, FCM, térreo  
Rio de Janeiro, RJ, 20551-030, Brazil  
Fax: + + (55) (21) 587-6121  
E-mail: waldemar@uerj.br