

QUANTITATIVE MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE PROSTATE EPITHELIUM OF PATIENTS WITH BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA

MÁRCIO A. BABINSKI, MAURÍCIO A. CHAGAS, HERCÍLIO P. DA LUZ, MÁRIO J.S. PEREIRA, WALDEMAR S. COSTA, FRANCISCO J.B. SAMPAIO

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

ABSTRACT

Purpose: To analyze the modifications in prostatic glands, using as morphometric parameter the number of acini and the height of the epithelial cell layer, comparing samples of prostates obtained from patients with benign prostatic hyperplasia (BPH) with normal prostates (NP) from young adults.

Material and Methods: Samples were obtained from eight patients aged 63 to 79 years, submitted to open prostatectomy due to prostatic enlargement and obstructive clinical symptoms. A histopathologic analysis confirmed the diagnosis of BPH in all specimens. Controls consisted of the transitional zone of prostates obtained during necropsy of 8 adults aged 18 to 30 years. The samples were stained by hematoxylin-eosin and Gomori's trichrome. The epithelial layer area as well as the maximum, mean and minimum heights were determined on 25 random fields per prostate, comprising about 228.9 acini per prostate. We counted and measure 3663 acini in the two groups, using histomorphometrical software. The data was then analyzed by GraphPad InStat Software.

Results: There was a significant decrease in the maximum (23.59%), mean (27.99%), and minimum (30.38%) epithelium heights. The control data and the BPH samples, respectively, were: 1)- 0.0252 ± 0.0069 (mm) and 0.0178 ± 0.0023 (mm) for the epithelium area ($p < 0.05$), 2)- 55.20 ± 5.78 (μm) and 42.18 ± 3.84 (μm) for the maximum height ($p < 0.05$), 3)- 9.58 ± 1.71 (μm) and 6.67 ± 1.45 (μm) for the minimum height ($p < 0.05$), 4)- 27.72 ± 3.20 (μm) and 19.96 ± 2.07 (μm) for the mean epithelium height ($p < 0.05$).

Conclusions: The modifications in the height of the epithelial cell layer are significant, with its decrease suggesting changes in the secretory activity of the epithelium cells of the hyperplastic prostates compared to the secretion of normal prostates.

Key words: prostate; prostatic hyperplasia; epithelium; morphometry

Braz J Urol, 27: 348-352, 2001

INTRODUÇÃO

A arquitetura histológica da próstata é centrada em dois componentes principais: o estroma fibromuscular e o componente glandular ou parenquimatoso (1). A hiperplasia prostática benigna (HPB) é um crescimento tecidual destes elementos histológicos que acarretam profundas modificações na organização da próstata (2).

As doenças do aparelho reprodutor masculino, embora não estejam restritas à próstata,

tem neste órgão o seu componente mais afetado. Evidências histológicas de HPB estão presentes em aproximadamente 90% das biópsias da glândula, realizadas em indivíduos após 60 anos, fazendo dessa doença uma inevitável consequência da idade (3).

Recentemente tem havido um aumento no interesse por tratamentos não invasivos. Esse tratamento tem como alvo os diferentes elementos histológicos que compõem a próstata (1,4). Um conhecimento mais preciso dos constituintes teciduais e suas alterações na HPB contribui não somente para

o entendimento da gênese desta patologia como para a escolha da melhor terapêutica entre os diversos métodos disponíveis (1).

São poucos os trabalhos encontrados na literatura que utilizam métodos de histomorfometria na análise dos diferentes elementos histo-arquiteturais da próstata humana. Os poucos estudos quantitativos mostraram comparações realizadas entre HPB e câncer prostático (5) ou entre diferentes amostras de HPB (6-8) ou ainda entre HPB e próstatas fetais (9), sem no entanto, comparar os resultados obtidos em HPB com próstatas normais. Persiste ainda uma grande divergência sobre o principal elemento tecidual envolvido no crescimento prostático. Se ele é de origem epitelial (ductos ou ácinos prostáticos) (10,2) ou proveniente da proliferação de células do estroma. Este último conceito é o mais aceito atualmente (11,12).

Um estudo estereológico recente, levado a efeito em nosso laboratório (13), corrobora os achados de outros pesquisadores (11,12,14,15) sobre um aumento significativo do estroma (tecido muscular e tecido conjuntivo). Este estudo difere dos demais por ter realizado a comparação de amostras de tecido prostático analisando exclusivamente a zona de transição da próstata.

O presente trabalho tem por objetivo quantificar e determinar as mudanças estruturais ocorridas nos ácinos das glândulas hiperplásicas e comparar com ácinos da zona de transição de próstatas de indivíduos jovens.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de tecido prostático da zona de transição de próstatas hiperplásicas foram coletadas de 8 pacientes cujas idades variaram entre 63 e 79 anos (idade média de 72 anos), submetidos a prostatectomia aberta. Todos esses pacientes apresentavam sintomatologia obstrutiva e diagnóstico histopatológico de HPB, excluindo assim a presença de qualquer foco de neoplasia maligna na amostra estudada. O material controle consistiu de 8 próstatas obtidas em autópsias de indivíduos jovens normais com idade entre 18 a 30 anos (idade média de 22),

vítimas de morte traumática. Durante a autópsia, verificou-se que a “*causa mortis*” não implicava em comprometimento dos órgãos urogenitais.

Foi estabelecido um critério de tempo entre a hora da morte e a retirada do material. No grupo controle esse período não excedeu 6 horas. Durante a retirada das amostras da zona de transição das próstatas do grupo controle respeitou-se as orientações anatômicas propostas por McNeal et al. (16). Logo após a sua retirada, os fragmentos da zona de transição das próstatas do grupo controle sofreram uma primeira clivagem e foram fixados em Bouin por 24 horas. Em seguida foram desidratados em soluções crescentes de álcoois, clarificados em xilol e incluídos em parafina. Todas as amostras de HPB foram coradas com hematoxilina-eosina e examinadas por um patologista para a detecção de focos neoplásicos.

De cada próstata foram retirados 5 fragmentos, que originaram 5 cortes diferentes de 5 μm de espessura, sendo corados pelo tricrômico de Gomori. De cada corte foram analisados e medidos todos os ácinos de 5 campos diferentes perfazendo um total de 25 áreas teste analisadas em cada próstata.

Aquisição e Análise de Imagens

As imagens para análise foram obtidas em aumento de 40 vezes em um microscópio óptico Olympus acoplado a uma câmera de vídeo Sony CCD, sendo as imagens dos campos microscópicos transferidas para um monitor Sony KX14-CP1.

Após a seleção e ajuste focal das imagens no monitor de vídeo, estas eram convertidas em sinais digitais e transferidas para um computador. Para a análise quantitativa utilizou-se o software Image Pro-plus (Media Cybernetics). Este programa semi-automático possibilitou circunscrever os limites basais e luminais do epitélio (Figure). Os parâmetros morfométricos estabelecidos foram:

- A área total do epitélio (ATE) em μm^2 , convertidos para mm:

$\text{ATE (mm)} = \text{LB} - \text{SL}$, onde $\text{LB} (\mu\text{m}^2) = \text{limite basal}$ e $\text{SL} (\mu\text{m}^2) = \text{superfície luminal}$

- As alturas epiteliais máxima (AEmax), mínima (AEmin) e média (AEme), (Figure).

Os dados obtidos foram analisados no software Graphpad InStat (Graphpad). Utilizou-se o

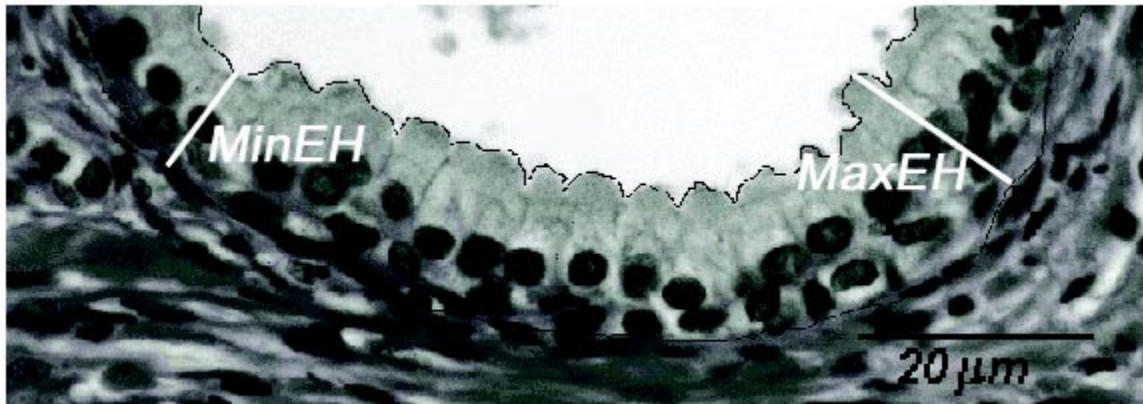


Figure - Histologic section demonstrating the method of obtaining linear measurements in the epithelium of the prostatic acini (hematoxylin-eosin, X 400). MinEH = minimum epithelial height, MaxEH = maximum epithelial height.

teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar-se se os dados encontravam-se dentro da distribuição normal, e o teste “t” não pareado para demonstrar a diferença entre os grupos de próstata normal e com HPB, e determinar se essa diferença era significativa. Considerou-se um $p < 0.05$ como significativo.

RESULTADOS

No presente trabalho, em média, foram contados e medidos o epitélio de 5.2 ácidos por mm^2 nas próstatas com HPB e 4.37 ácidos por mm^2 no grupo controle. Nossos achados mostraram uma diminuição significativa de 29.37% (Table-1) na área ocupada pelo epitélio nos ácidos com HPB. As alturas dos epitélios revelaram também um decréscimo

Table 1 - Total area of the acinar epithelium in the transition zone (TZ) of the prostate, in normal prostates (NP) and in benign prostatic hyperplasia (HPB). Eight patients were studied in each group.

Prostate (TZ)	Epithelial Area (mm)
Groups	Mean \pm SD
BPH	0.0178 \pm 0.0023*
NP	0.0252 \pm 0.0069

* $p = 0.0126$, as compared to NP.

significativo nos ácidos hiperplásicos. Os dados mostraram uma redução de 30.38% para a menor altura epitelial e de 23.59% para a maior altura. A altura média foi reduzida em 27.99% (Table-2). Além disso, a observação dos cortes de HPB mostraram que a maioria dos ácidos hiperplásicos apresentavam em seu interior grânulos que se condensam em concreções (corpora amilacea), o que não foi observado nas próstatas do grupo controle.

DISCUSSÃO

Trabalhos qualitativos e quantitativos sobre HPB normalmente não levam em consideração o fato de que a próstata é um órgão histologicamente heterogêneo. Autores que fizeram estudos morfométricos sobre o componente epitelial (15,17) coletaram amostras aleatoriamente sem levar em consideração as diferenças existentes entre as distintas regiões prostáticas. As análises levadas a efeito no presente trabalho referem-se exclusivamente à zona de transição, reduzindo em muito a possibilidade de alteração dos dados devido a componentes histológicos de outras regiões.

McNeal (10) e Price et al. (2), propõem que as formações nodulares encontradas na HPB também se encontram relacionadas a modificações do parênquima prostático. Isto é confirmado por Iczkowski & Bostwick (4) que descreveram

qualitativamente alterações histopatológicas encontradas no epitélio. Apesar de se conhecer o comprometimento do componente epitelial foram encontrados poucos trabalhos na literatura consultada, contendo dados morfométricos a respeito do epitélio em particular e dos ácinos como um todo, da zona de transição da próstata (4,10,15). Nossos dados indicam uma diminuição significativa da área total ocupada pelo epitélio sugerindo fortemente uma alteração no mecanismo secretor destas células. Tal fato é corroborado por Cohen et al. (18,19) que realizaram análises qualitativas sobre o comportamento glandular em próstatas com câncer e HPB e demonstraram, nessas patologias, a presença do glicosaminoglicano (GAG) queratan sulfato sendo produzidos pelas células epiteliais. Como este GAG representa um dos principais componentes das concreções prostáticas (19) é possível supor que exista uma relação entre estas modificações de natureza morfológica assinaladas no presente trabalho e a secreção prostática.

Table 2 - Height of the acinar epithelium in the transition zone (TZ) of the prostate in normal prostates (NP) and in benign prostatic hyperplasia (HPB). Eight patients were studied in each group. It was calculated the maximum epithelial height, the minimum epithelial height and the mean between the maximum and minimum heights for each group.

Prostate (TZ)	Epithelial Height (µm)
Groups	Mean ± SD
BPH (minimum)	6.67 ± 1.45**
NP (minimum)	9.58 ± 1.71
BPH (maximum)	42.18 ± 3.84*
NP (maximum)	55.2 ± 5.78
BPH (mean)	19.96 ± 2.07*
NP (mean)	27.72 ± 3.20

* $p = 0.0001$; ** $p = 0.0025$, as compared to the respective NP values.

CONCLUSÕES

A diminuição significativa da altura e da área ocupada pelo epitélio no ácino hiperplásico é um fenômeno constante. As modificações na secreção de

ácinos em próstatas com HPB, descritas na literatura, encontram um respaldo morfológico nos achados do presente trabalho.

Financiamento: CNPq, FAPERJ.

O presente trabalho refere-se aos resultados preliminares da dissertação de mestrado de Márcio A. Babinski, financiado pela Universidade do Vale do Itajaí, para realizar Pós-graduação em Morfologia na UERJ.

REFERÊNCIAS

1. Cadeddu JA, Pearson JD, Lee BR, Landis P, Partin AW, Epstein JI, Carter HB: Relationship between changes in prostate-specific antigen and the percent of prostatic epithelium in men with benign prostatic hyperplasia. *Urology*, 45: 5, 1995.
2. Price H, McNeal JE, Stamey TA: Evolving patterns of tissue composition in benign prostate hyperplasia as a function of specimen size. *Hum Pathol*, 21:578-585,1990.
3. Walden PD, Leftkowitz GK, Ficazzola M, Gitlin J, Lepor H: Identification of genes associated with stromal hyperplasia and glandular atrophy of the prostate by mRNA differential display. *Exp Cell Res*, 245: 19-26, 1998.
4. Iczowsky KA, Bostwick DG: Prostate biopsy interpretation: current concepts. *Urol Clin North Am*, 26: 435-465, 1999.
5. Nakada T, Kubota Y: Connective tissue protein in the prostate gland. *Int Urol Nephrol*, 26: 183 - 187, 1994.
6. 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. *J Urol*, 147:1293-1297, 1992.
7. Marks LS, Treiger B, Dorey FJ, Fu YS, DeKernion JB: Morphometry of the prostate: I. Distribution of tissue components in hyperplastic glands. *Urology*, 44: 486-492, 1994.

8. Ichiyanagi 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.
9. Bierhoff E, Walljasper U, Hofmann D, Vogel J, Wernert N, Pfeifer U: Morphological analogies of fetal prostate stroma and stromal nodules in BPH. *Prostate*, 31: 234-240, 1997.
10. McNeal JE: Origin and evolution of benign prostatic enlargement. *Invest Urol*, 15: 340-345, 1978.
11. 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.
12. 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.
13. Chagas MA, Babinski MA, Costa WS, Damião R, Sampaio FJB: Stereological analysis of histologic components in transition zone of normal and hyperplastic human prostates. *Braz J Urol*, 27: 26-31, 2001.
14. 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.
15. 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. *Prostate*, 33: 177-182, 1997.
16. McNeal JE: *Histology for Pathologists*. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 2nd ed., pp. 997-1017, 1997.
17. Eri LM, Svindland A: Can prostate epithelial content predict response to hormonal treatment of patients with benign prostatic hyperplasia? *Urology*, 56: 261-266, 2000.
18. Cohen RJ, McNeal JE, Edgar SG, Robertson T, Dawkins HJS: Characterization of cytoplasmic secretory granules (PSG) in prostatic epithelium and their transformation-induced loss in dysplasia and adenocarcinoma. *Hum Pathol*, 29: 1488-1494, 1998.
19. Cohen RJ, McNeal JE, Redmond SL, Meehan K, Thomas R, Wilce M, Dawkins HJS: Luminal contents of benign and malignant prostatic glands: correspondence to altered secretory mechanisms. *Hum Pathol*, 31: 94-100, 2000.

Received: May 22, 2001

Accepted after revision: July 25, 2001

Correspondence address:

Dr. Waldemar S. Costa
 Unidade de Pesquisa Urogenital
 Av. 28 de Setembro, 87, fundos, FCM, térreo
 20551-030, Rio de Janeiro, RJ, Brazil
 Fax: ++ (55) (21) 2587-6121
 E-mail: waldemar@uerj.br