



Mapeamento dos receptores esteróides e estrutura da glândula de coagulação de camundongos MDX

Lorencini, R. M; Favaro, W. J; V. H. A. Cagnon



INTRODUÇÃO

A glândula de coagulação produz secreções fundamentais para o processo reprodutivo de diferentes espécies, incluindo os roedores (Cavazos, 1975).

A interação epitélio-estroma tem papel primordial na manutenção da estrutura e bem como altera o funcionamento das diferentes glândulas sexuais acessórias (Ekman, 2000). O desequilíbrio desta da interação favorece a formação de carcinoma nesses órgãos (Cunha et al., 2002).

Atualmente, as proteínas de adesão como as distroglicanas (DG) vêm sendo apontadas como tendo importante participação nos diferentes tipos de cânceres, incluindo o prostático. A DG é uma proteína integral de membrana que interage com proteínas extracelulares que garantindo a adesão responsável pela interação entre matriz extracelular e o compartimento citoplasmático

As diferentes glândulas sexuais acessórias masculinas são andrógenos-dependentes sendo a morfogênese, manutenção da atividade funcional e a morfologia, proliferação e diferenciação das células dependentes da presença constante desses hormônios circulantes (Cunha et al., 2002; Imamov et al., 2005). Sabe-se do papel dos andrógenos, através da ativação de seus receptores, na iniciação e progressão do câncer prostático (Heinlein and Chang, 2004).

Os estrógenos, que possuem efeitos anti-androgênicos, também participam do funcionamento e ou desencadeamento de lesões das glândulas sexuais acessórias. Conjuntamente a testosterona, influenciam os níveis normais do órgão quanto às alterações patológicas (Bianco et al., 2002).

O camundongo mdx possui degeneração muscular característica de distrofia muscular (Bulfield et al., 1984), pois apresentam o gene da distrofia localizado na região Hq Bpa do cromossomo X e são afetados pela doença os animais machos e as fêmeas homocigóticas, que se apresentam viáveis e férteis (Bulfield et al., 1984; Engel & Armstrong, 1994).

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Considerando-se a complexidade e importância da distrofia muscular de Duchenne e seus efeitos sobre diferentes órgãos e tecidos corpóreos e provavelmente o comprometimento do processo reprodutivo desses animais. O presente estudo caracterizou a estrutura e a distribuição e intensidade de reatividade dos receptores androgênicos, estrogênicos (α , β) e alfa distroglicana (α -DG) na glândula de coagulação de camundongos da linhagem MDX, bem como sua correlação com a patogênese do órgão.

MATERIAIS E MÉTODOS

06 camundongos machos mdx e 06 camundongos C57BL10/Uni com 90 dias foram divididos em 2 grupos: mdx e controle com posterior retirada das glândulas de coagulação para análise de microscopia de luz, utilizando-se as colorações de Hematoxilina-Eosina, Tricrômico de Masson, Prata Amoniacal e Resorcina Fucsina de Weigert e análise morfométrica. Para a imunohistoquímica/HRP avaliou-se os antígenos alfa distroglicana, e os receptores de andrógeno (AR) e estrógenos (ERs) α e β .

RESULTADOS

Fig1

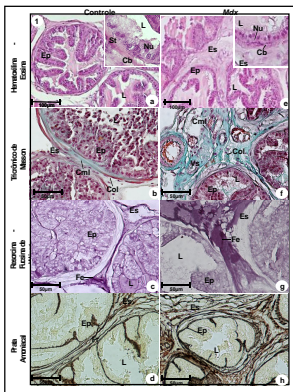


Fig2

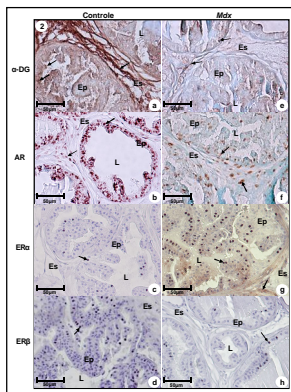


Fig. 1 - Fotomicrografias do epitélio secretor da glândula de coagulação dos animais dos grupos controle (a, b, c, d) e mdx (e, f, g, h). (a) Mucosa pregueada dos acinos prostáticos; inset: epitélio secretor composto por células colunares com núcleos evidentes (Nu) e células basais (Cb). (b) Estroma composto por fibras colágenas (Col) delgadas e curtas adjacentes ao epitélio e entre as células musculares lisas (Cml). (c) Fibras elásticas (Fe) subjacentes ao epitélio. (d) Estroma com fibras reticulares (Fr) dispostas na base do epitélio. (e) Acinos prostáticos pouco pregueados; inset: epitélio secretor atrofico composto por células cubicas com núcleos evidentes (Nu) e células basais (Cb). (f) Estroma hipertrofico com abundantes fibras colágenas (Col) e células musculares lisas (Cml) distribuídas por toda a extensão estromal, além de vasos sanguíneos (Vs). (g) Fibras elásticas (Fe) abundantes e onduladas distribuídas por toda a extensão estromal. (h) Fibras reticulares (Fr) aumentadas em quantidade e espessura, distribuídas por toda a extensão estromal. Em a - h, Ep - epitélio secretor, L - lúmen e Es - estroma.

Fig. 2 - Fotomicrografias de imunohistoquímica da glândula de coagulação dos animais dos grupos controle (a, b, c, d) e mdx (e, f, g, h). (a) Intensa imunoreatividade para α -DG (setas) tanto no epitélio secretor quanto no estroma da glândula. (b) Intensa imunoreatividade de AR (setas) e ausente marcação no estroma. (c) Intensa imunoreatividade de ER β no epitélio secretor (seta) e ausente marcação no estroma. Em a - d, Ep - epitélio secretor, L - lúmen e Es - estroma. (e) Fraca imunoreatividade para α -DG (setas) tanto no epitélio secretor quanto no estroma da glândula. (f) Fraca imunoreatividade de AR (setas) no núcleo das células epiteliais secretoras e intensa nas células estromais. (g) Intensa imunoreatividade de ER α no epitélio secretor (setas) e fraca reatividade no estroma. (h) Moderada imunoreatividade de ER β no epitélio secretor (seta) e ausente marcação no estroma. Em e - h, Ep - epitélio secretor, L - lúmen e Es - estroma.

Tabela 1 - Média e desvio padrão das diferentes variáveis avaliadas nos grupos experimentais Controle e mdx

Variável	Grupo Controle	Grupo MDX
Área epitelial (μm^2)	115438 \pm 2447 a	58157 \pm 11427 b
Área estromal (μm^2)	148745 \pm 1379 a	179942 \pm 11452 b
Altura (μm)	18,609 \pm 2,052 a	8,589 \pm 0,807 b

a e b são diferentes em nível de 5% de significância

Tabela 2 - Análise qualitativa da distribuição da imunoreatividade do AR, α -DG, ER α e ER β na glândula de coagulação nos animais dos diferentes grupos experimentais.

Grupos	AR		-DG	
	Epitélio	Estroma	Epitélio	Estroma
Controle	+++	++	+++	+++
Mdx	+	+++	+	+

Grupos	ER		ER β	
	Epitélio	Estroma	Epitélio	Estroma
Controle	+	-	+++	-
Mdx	+++	+	++	-

Intensa (+++), Moderada (++) , Fraca (+)

CONCLUSÃO E DISCUSSÃO

As glândulas de coagulação dos animais MDX apresentaram hipertrofia estromal e atrofia epitelial quando comparadas às dos animais controles. Dessa forma, os atuais resultados relacionados à hipertrofia estromal, caracterizado pelo aumento dos elementos fibrilares como as fibras de colágenos, reticulares e elásticas indicam o papel ativo no estroma glandular bem como o acúmulo de colágeno entre as células musculares lisas sugere o envolvimento dessas células na remodelação da matriz extracelular, que possivelmente está ocorrendo no estroma dos animais do grupo MDX decorrente do desbalanço hormonal.

Com relação aos receptores de hormônios esteróides (AR, ER α e ER β) caracterizou-se decréscimo de AR, ER β e aumento de ER α nos animais MDX, além de distribuição diferencial nos compartimentos glandulares considerando-se os dois grupos experimentais. É sabido que na próstata normal, o ER α tem ocorrência preponderante no compartimento estromal e contribui para a proliferação epitelial, assim como para a formação dos ductos na morfogênese da glândula (Omoto et al., 2005). Já o ER β , ocorre no epitélio e regula a proliferação celular atuando como receptor antiproliferativo, além de estar envolvido no processo de diferenciação celular e regulação da apoptose (Imamov et al., 2004).

Já para a molécula de adesão distroglicana, em particular, a α -DG, observou-se decréscimo na reatividade dessa molécula nos animais MDX. Segundo Haz, 2004, a redução na expressão das distroglicanas acarreta perda da função de adesão, causando aberrante interação entre a célula e a matriz extracelular resultando em aumento da motilidade e das propriedades invasivas. Esse trabalho apontou a distroglicana como importante fator de propriedades anti-tumorigênicas para células epiteliais.

A interação epitélio-estroma é reconhecida fundamentalmente para a homeostase das glândulas sexuais acessórias, destacando-se a próstata (Grobstein, 1975; Bissel et al., 1982). A interrupção desse equilíbrio, tal como observada na privação de andrógeno, leva a desordens fisiológicas, morfológicas e bioquímicas (Okuda et al., 1991).

Assim, de acordo com os presentes resultados pode-se concluir que o desequilíbrio dos hormônios esteróides e a imunoreatividade diferencial dos receptores hormonais nos compartimentos da glândula de coagulação, verificado nos camundongos MDX, certamente indicam desorganização no microambiente da glândula de coagulação apontando o desequilíbrio das sinalizações parácrinas glandular, culminando na perturbação da função glandular. Além disso, pode-se concluir que a atrofia epitelial verificada nos camundongos MDX compromete a integridade estrutural do órgão, podendo-se sugerir tal mudança estrutural como proveniente das alterações moleculares nos receptores de hormônios esteróides nesse órgão.

Alinda, a diminuição de α -DG apontou o enfraquecimento da interação célula-célula e célula-matriz extracelular, o que também é fator prejudicial à estabilidade organizacional da glândula de coagulação. Assim sendo, pode-se sugerir que a glândula de coagulação de camundongos MDX é alvo de risco ao desenvolvimento e progressão de lesões danosas nesse órgão.

REFERÊNCIAS

BIANCO, J.F.; HANDELSMAN D. J.; FERSEN J. S.; RISBRIDGE G.P. Direct response of the murine prostate gland and seminal vesicles to estradiol. *Endocrinology*, 2002. **142**, p. 4922-4933.

ENDOCRINOLOGY. 2002. BULFIELD, G.; SILLER, W.G.; WIGHT, P.A.; MOORE, K.J. X-chromosome linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.81, n.4, p.1189-1192, 1984.

CAVAZOS, F. Fine structure and functional correlates of male accessory sex glands of rodents. In Washington Roy O. Greep, Edwin B. Astwood Handbook of Physiology. *American Physiological Society*, p. 353-381, 1975.

CUNHA, G.R.; RISBRIDGE, G.; WANG, H.; YOUNG, P. Evidence that epithelial mesenchymal estrogen receptor- α mediates effects of estrogen on prostatic epithelium. *Develop Biol.*, v.229, p.432-442, 2002.

EKMAN, P. The prostate as an endocrine organ: androgens and estrogens. *Postale*, 10, 14-19, 2000.

ENGEL, A.G. & ARMSTRONG, C.F. *Myology Basic and Clinical*. McGraw-Hill, second edition, p.1134-1187, 1994.

IMAMOV, O.; SHIM C.J.; WARNER, M.; GUSTAFSSON, J.A. Estrogen receptor beta in health and disease. *Biology of Reproduction*, v.72, p. 866-871, 2005.

HEINLEIN, C.A. and CHANG, C. (2004). Androgen receptor in prostate cancer. *Endocr. Rev.* 25, 276-308.

OKUDA, Y.; FUJISAWA, M.; MURSUMOTO, S.; KAMIDONO, S. Testosterone dependent regulation of the enzymes involved in DNA synthesis in the rat ventral prostate. *J. Urol.* Jan;145(1):188-91, 1991.

OMOTO, Y.; IMAMOV, O.; WARNER, M.; GUSTAFSSON, J.A. Estrogen receptor alpha and imprinting of the neonatal mouse ventral prostate by estrogen. *Proc Natl Acad Sci U S A*, Feb 1;102(6):1269-70, 2005.