

ASPECTE STRUCTURALE ALE STROMEI DIN PROSTATA NORMALĂ

*Globo T.¹, Globo L.², Pelin E.¹, Șaptefrați L.¹

¹Catedra de histologie, citologie și embriologie, ²Catedra de anatomie a omului
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

*Corresponding author: tatiana.globo@usmf.md

Abstract

STRUCTURAL FEATURES OF THE NORMAL PROSTATIC STROMA

The prostate is an organ extensively studied in recent years, particularly related to the prostate cancer. In fact, cancer is not just a disorder caused by uncontrolled cell growth. Malignancy also includes loss of normal tissue architecture, genetic changes and stromal changes. The human prostate is composed of two compartments: epithelial part (secretory acini and ducts) and stroma. Prostatic stroma has a complex structure and consists of two basic components: specific cellular component and the extracellular matrix. Each component has importance in the induction process and maintaining of local homeostasis that could contribute to malignant or benign transformation processes. In this review, we will focus our attention on studying of stromal microenvironment in normal conditions.

Key words: stroma, smooth muscle cells, mast cells, fibroblasts, macrophages.

Prostata reprezintă un organ intens studiat în ultimii ani, în context cu leziunile proliferative benigne și maligne. Aceasta este compusă din două compartimente: *compartimentul epitelial*, care include glandele exocrine cu structurile ductale asociate, și *stroma*. Termenul de stromă definește scheletul de susținere al oricărui organ și este alcătuită din țesut conjunctiv [1]. Cuiha consideră că termenul este un termen inexact care se referă doar la „componenta neepitelială” a unui organ [2]. Stroma prostatică are o structură complexă și este alcătuită din două componente fundamentale: componenta celulară specifică și matricea extracelulară. Fiecare componentă, la rândul său, are importanța sa în procesele de inducție, de menținere a homeostaziei locale, respectiv ar putea contribui în procesele de transformare malignă sau benignă. Matricea extracelulară este formată din fibre și componenta amorfă, denumită și substanță fundamentală [3, 4, 5]. Componenta celulară a stromei este reprezentată de fibroblaste, celulele musculare netede, mastocite și alte celule imune.

Fibroblastele sunt localizate printre celulele musculare netede ale stromei fibromusculare a prostatei. Frecvent formează un singur strat periacinar sau se găsesc în nemijlocita vecinătate cu celulele epiteliale. Unele studii arată că acest strat poate fi discontinuu, deoarece prezența fibroblastelor periacinare nu a fost detectată în jurul tuturor acinilor. Evident, vizualizarea acestor celule în preparatele histologice poate depinde și de planul de secțiune [6].

În normă, fibroblastul asigură permanenta reînnoire a țesutului conjunctiv îmbătrânit prin: a) recunoașterea și degradarea țesutului conjunctiv îmbătrânit; b) sinteza componentelor fibrilare ale țesutului conjunctiv (fibre de colagen, elastina) și a componentelor amorfe [7]. În condiții patologice, fibroblastele au rolul de a reconstrui matricea extracelulară degradată sub acțiunea agenților etiologici. Această reconstrucție se realizează în 3 faze: migrarea fibroblastelor din zonele învecinate; activarea și proliferarea fibroblastelor din focar; sinteza unei noi matrice extracelulare (sinteza componentelor fibrilare și amorfe) [8]. Migrarea se realizează sub acțiunea unor factori nespecifici (chemoattractanți pentru fibroblaste – fragmente degradate) și specifici (PDGF, FGF – din macrofage). În principiu, migrarea fibroblastelor până în centrul focarului inflamator se realizează prin emiterea de pseudopode și fixarea lor de structurile tri/tetrapeptidice aflate în componența colagenului. Până la periferia focarului inflamator fibroblastele folosesc acest substrat de fixare, dar în focar acest suport nu mai există. Sub influența aceluiași factori (eliberați din centrul focarului) fibroblastele se activează suplimentar și secretă o matrice de migrare cu care se înconjoară (rudiment de țesut conjunctiv). În continuare fibroblastele se deplasează până la capătul matricei. Ajunși în centrul focarului, fibroblastele își definitivează activarea sub acțiunea factorului de creștere transformat (TGF) eliberat din macrofage. Aceștia încep să sintetizeze un colagen nou (de exemplu colagen tip I în cancerul de prostată) și componenta amorfă. Din acest moment începe maturarea matricei în sens invers spre periferia focarului. Fibroblastele pot regla producerea de colagen. În lipsa acestui sistem de reglare s-ar produce o mare cantitate de colagen, ajungându-se la

fibroza leziunii respective [9]. Fibroblastele cultivate din prostată sintetizează factorul de creștere FGF-like care stimulează creșterea numărului lor și este considerat a fi important în dezvoltarea hiperplaziei benigne de prostată.

Celula musculară netedă (SMC). În zonele cu țesut intact, SMC formează un strat relativ gros (de la cinci la șapte celule) în jurul structurilor epiteliale. Practic, toate structurile acinare sunt înconjurată de celule musculare netede alungite, care se conectează lateral între ele. Această strânsă legătură între ele duce la formarea mănunchiurilor compacte. Celulele sunt de dimensiuni mari, forma fusiformă, înconjurată de o membrană bazală comună. Nucleii sunt mari și alungiți, cu repartizarea periferică a heterocromatinei, prezintă și nucleoli proeminenți. Între fasciculele de celule musculare se localizează matricea extracelulară compusă în principal din fibrile de colagen și fibre elastice.

Cunha și colaboratorii (1996) au prezentat dovezi ce vorbesc despre un echilibru ce există între celulele epiteliale secretorii și celula musculară netedă din prostata umană. În baza acestor observații s-a propus că, interacțiunile paracrine între cele două tipuri de celule sunt pierdute în timpul neoplaziei epiteliale. SMC sunt activate în hiperplazia benignă de prostată și adoptă un fenotip de celulă implicată activ în sinteză [10]. Multiple studii raportează o predominare netă în stroma tumorală a fibroblastelor, care în condiții de normă cantitativ sunt mult reduse. Aceasta vorbește despre faptul că unele SMC sunt supuse procesului de dediferențiere, cu adoptarea unui fenotip fibroblastic [11]. S-a presupus că 'fibroblastele activate,' ar putea reprezenta într-adevăr SMC dediferențiat [12; 13; 14]. Cu toate acestea, comportamentul SMC în carcinoamele de prostata nu este pe deplin cunoscut. La momentul dat cresc continuu numărul cercetărilor ce demonstrează implicarea SMC în controlul structurii și funcției celulelor epiteliale prostatice.

Macrofagele reprezintă o populație heterogenă de celule cu origine mieloidă. Macrofagele provin din monocite și ulterior suferă diferențierea specifică în funcție de factorii locali din țesut [15]. Sunt recunoscute două modele distincte: macrofagele de tip 1 clasic activate (M1) și macrofagele alternativ activate de tip 2 (M2). Ca răspuns la acțiunea semnalelor emise de activitatea bacteriană sau IFN, macrofagele se adaptează la fenotipul M1 care este, în special, conceput pentru a atrage și a activa celulele sistemului imun.

Caracteristicile importante ale macrofagelor M1 sunt expresia iNOS, ROS și formarea de NK și a citokinelor stimulative IL-12. Macrofagele M1 pot fagocita și distruge celulele țintă. Macrofagele M2 se formează ca răspuns la acțiunea, de exemplu, IL-4 sau IL-13 [16, 17], și sunt asociate cu producție crescută de IL-10, IL-1b, VEGF și metaloproteinazelor matriceale (MMP). Macrofagele M2 sunt implicate în special în procesele de vindecare a rănilor și reacțiile antiparazitare [18]. Mai mult, macrofagele sunt celule prezentatoare de antigen (APC), care exprimă clasa I și clasa II de molecule de histocompatibilitate cu rol stimulator/inhibitor în procesul diferențierii celulelor T, deși cu eficiență mai mică decât celulele dendritice.

Macrofagele prezintă o plasticitate crescută. Acestea se pot adapta micromediului sub acțiunea directă exercitată de către proteinele reglatoare semnal [16, 19, 20, 21]. În plus, macrofagele complet diferențiate M1 și M2 *in vitro*, de asemenea, pot fi redirecționate spre fenotipul funcțional opus prin tratarea celulelor cu citokine [22].

Mastocitele sunt prezente în toate zonele prostatei. Acestea sunt bine conturate, de formă ovală, cel mai frecvent, cu nucleu oval-rotund și citoplasmă granulată. În ariile interglandulare, destul de frecvent, mastocitele prezintă o formă mai alungită, și se găsesc în apropiere de membrana bazală la interfața stromei cu epiteliul glandular. Mastocitele sunt prezente și în axul pliului glandular. Localizarea predominantă a mastocitelor este în ariile periglandulare, de-alungul vaselor sanguine și printre celulele stromale ale prostatei. Mastocitele din ariile periglandulare prezintă un grad mai crescut de degranulare, comparativ cu cele din ariile interglandulare.

Mastocitele sunt prezente în aproape toate sistemele de organe, inclusiv sistemul pulmonar, piele, inima, tractul gastro-intestinal, etc. [24, 25, 26, 27]. O serie de studii anterioare au arătat că mastocitele în condiții normale, și mai ales în neoplaziile diverselor organe, variază între ele ca fenotip, conținut de mediatori, și răspuns la diverși stimuli [24, 25, 26, 27]. În ultimii ani mastocitele sunt cercetate pentru implicarea lor în promovarea angiogenezei, remodelarea tisulară, și imunomodularea stromei în multe

cancere umane [28] și murine. Mastocitele pot exercita roluri pro-sau anti-tumorale, în funcție de tipul tumorii, de celulele vecine cu care interacționează [28].

Mastocitele pot fi recunoscute uneori doar pe criterii morfologice, datorită granulelor citoplasmice mari sau identificate specific prin colorații histochemice, cu relativă ușurință, folosind metode ce exploatează metacromazia sau afinitatea crescută în pH acid a aminelor biogene (preponderent heparina) pentru coloranți cationici, după cum urmează: albastru de toluidină (purpuriu), albastru alcian safranină, metoda Csaba (purpuriu spre roșu), azur A (roșu), tionină (albastru sau roșu), fucsina-aldehidă (galben spre brun). Ocazional, se mai practică metode histo-enzimatice, precum cloroacetat-esteraza cu Fast blue RR (albastru închis) sau cu pararosanilina (roz intens spre roșu) sau, și mai rar, imunohistochimie (triptază, chimază și CD 117/c-kit) [28].

Mastocitele sunt celule de dimensiuni medii, diametrul celular fiind dependent de țesutul în care sunt studiate. Astfel în țesutul conjunctiv lax diametrele maxime se încadrează între 5 și 25 μm, în perețele gastric între 8 și 32 μm, [29], iar în uter și piele pot ajunge la diametre de 50 μm [30]. Pe preparatele de concentrate mastocitare diametrele sunt în medie de 13 μm, datorită deshidratării și degranulării prin timpii fizico-chimici ai prelucrării tehnice [31]. Nucleul este întotdeauna unic, cu diametrul mediu de 5-8 μm, localizat central, iar raportul cu citoplasma este întotdeauna subunitar. Are forma rotundă sau ovoidală și poate fi mascat de granulele citoplasmice. Nucleul are aspect constant heterocromatic, asimetric cu cromatina dispusă în blocuri mari. Nucleolul se observă doar incidental. Mitozele în mastocitele adulte au fost observate doar excepțional. Mastocitele prezintă la nivelul plasmalemei numeroși receptori cum ar fi integrinele, care mediază interrelația cu alte celule, dar și cu matricea extracelulară. În afară de integrine pe suprafața mastocitului au mai fost identificați și alți receptori ca c-kit pentru SCF, chemokin – CXC receptori pentru IL-8 și receptori pentru fracțiunile complementului C3a și C5a. La momentul actual se deosebesc două subpopulații de celule mastocitare:

1. Celule mastocitare membranelor mucoase care sunt caracterizate prin prezenta triptazei și absența chimazei.
2. Celulele mastocitare ale țesutului conjunctiv care conțin atât chimaza cât și triptaza.

Aceste două subpopulații de celule au o origine comună – provin din celulele mezenchimale stromale din măduva osoasă. Maturizarea celulelor mastocitare și creșterea numărului lor este reglat de o serie de factori de creștere și citokine. Factorii care stimulează dezvoltarea celulelor mastocitare, sint: interleukina-3, -4, -8, -9, -10, și factor de creștere a nervilor [32]. Maturizarea mastocitelor are loc în locația lor finală. Asupra diferențierii și creșterii celulelor mastocitare are un efect de reglare micromediul celular, inclusiv fibroblastele, celulele epiteliale, limfocitele, și interleukinele produse de limfocite. Principalul factor care contribuie la stimularea proliferării și dezvoltării celulelor mastocitare, se numește factorul stem celular (CSF). Împreună cu (CSF), există încă un grup de citokine, care influențează dezvoltarea celulelor precursore a mastocitelor, prin receptorii corespunzători de pe membrana plasmatică a lor. CSF și /sau forma sa solubilă este factorul chemotactic pentru celulele mastocitare și a precursorilor acestora. (CSF) nu numai cauzează aderența celulelor mastocitare la alte celule și componente ale matricei extracelulare, dar, de asemenea, contribuie la proliferarea lor, sprijină diferențierea lor, maturarea și funcția [32]. Mastocitele au capacitatea de a secreta substanțe biologice active ca răspuns la acțiunea unor stimuli imunologici sau nonimunologici. Dependent de mecanismul lor de activare și intensitatea stimulului, mastocitele pot elibera din granule o mare varietate de mediatori și/sau citokine [33]. Eliberarea de mediatori din granule este mediată de receptorii specifici de pe membrana mastocitului, FcεRI, cu mare afinitate pentru IgE [34].

Matricea extracelulară (ECM) este compusă dintr-o colecție mare de componente distincte, inclusiv proteine, glicoproteine, proteoglicani, și polizaharide cu diverse proprietăți fizice și biochimice [35]. Structural, la formarea componentelor matricei extracelulare contribuie: membrana bazală (produsă în comun de către celulele epiteliale, endoteliale și stromale) și matricea interstițială (secretată, în primul rând, de celule stromale).

Membrana bazală este un component specializat al ECM, compact și mai puțin poros decât matrice interstițială. Ea conține colagenul de tip IV, laminină, fibronectina, proteine joncționale, cum ar fi nidogen și entactina care fac legătura colagenului cu alte componente proteice. În contrast, matrice

interstițială este bogată în collagen fibrilar, proteoglicani, și diverse glicoproteine, cum ar fi tenascina C și fibronectina și este astfel foarte încărcat, hidratat, și contribuie în mare măsură la rezistența, la întinderea țesuturilor [36].

De reținut, anumite proprietăți caracteristice ale ECM îi conferă o importanță deosebită în dezvoltare și boală. În primul rând, proprietățile ECM nu sunt independente; mai degrabă ele sunt interconectate. Prin urmare, atunci când ECM devine rigidă: de exemplu, în condiții patologice, proprietățile sale biomecanice se modifică, și celulele răspund la această schimbare prin exercitarea semnificativă a diferitor tipuri de forță [37]. În plus, matricea rigidă schimbă, de asemenea, alte proprietăți fizice ale ECM, de exemplu, interacțiunea celulelor cu ECM. Astfel, dispunerea liniară a mănunchiurilor de collagen, care sunt destul de rigide, potențează migrarea celulelor, în timp ce o rețea densă de fibre rigide împiedică migrarea, cu excepția cazului când metaloproteinazele matriciale (MMP) sunt simultan activate [36]. În al doilea rând, ECM este foarte dinamic, în mod constant are loc remodelarea acestuia în diverse etape embrionare și postnatale.

Dinamica ECM poate rezulta în modificările absolute în cantitate sau compoziția ECM. Alternativ, dinamica ECM poate să nu reprezinte doar modificări compoziționale ale componentelor sale, ci implica modul în care componentele individuale a ECM sunt secretate, depuse, și dispuse spațial. În cele din urmă, una dintre caracteristicile cele mai importante ale interacțiunilor celulă-ECM este faptul că aceasta interacțiune este reciprocă. Pe de o parte, celulele sunt în mod constant formate, distruse, sau re-aranjate ceea ce impune componentele ECM la o transformare continuă. Pe de altă parte, pentru că ECM reglează comportamentul diverselor celule, orice modificare a ECM, ca răspuns la activitățile celulare, la rândul său va influența celulele adiacente și modifica comportamentul lor [38]. Acest mecanism de feedback de control între celule și ECM permite celulelor și țesuturilor să se adapteze rapid la mediul lor.

Concluzii

Stroma are un rol crucial în diferențierea și creșterea epitelului a glandei prostatice. Modificările în stroma pot iniția dezvoltarea de hiperplazie benignă de prostată, iar interacțiunile epitelio-stromale pot avea un rol în progresia malignă.

Bibliografie

1. Webster's Medical Desk Dictionary, Merriam-Webster Inc. 1986, p 681.
2. Cunha G.R., Hayward S.W., Dahiya R., Foster B.E.: Smooth Muscle-Epithelial Interactions in Normal and Neoplastic Prostatic Development. *Acta Anat.*,1996; 155: 63-72.
3. Aumuller G. Morphologic and endocrine aspects of prostatic function. *Prostate*, 1983; 4:195-214.
4. Laczko I, Hudson DL, Freeman A, et al: Comparison of the zones of the human prostate with the seminal vesicle: Morphology, immunohistochemistry, and cell kinetics. *Prostate*, 2005; 62:260-266.
5. Long RM, Morrissey C, Fitzpatrick JM, Watson RW: Prostate epithelial cell differentiation and its relevance to the understanding of prostate cancer therapies. *Clin Sci (Lond)*, 2005; 108:1-11.
6. Augsten, M., C. Hägglöf, E. Olsson, C. Stolz, P. Tsagozis, T. Levchenko, M.J. Frederick, A. Borg, P. Micke, L. Egevad, and A. Ostman. CXCL14 is an autocrine growth factor for fibroblasts and acts as a multi-modal stimulator of prostate tumor growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009;106:3414-3419.
7. Öhlund D., Elyada E., Tuveson D. Fibroblast heterogeneity in the cancer wound. *JEM* vol. 211 no. 8, 2014; 1503-1523.
8. Bhowmick, N.A., A. Chytil, D. Plieth, A.E. Gorska, N. Dumont, S. Shappell, M.K. Washington, E.G. Neilson, and H.L. Moses. TGF- β signaling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adjacent epithelia. *Science*. 2004. 303:848-851.
9. Erez, N., Truitt M., Olson P., Arron S.T., and Hanahan D. Cancer-Associated Fibroblasts Are Activated in Incipient Neoplasia to Orchestrate Tumor-Promoting Inflammation in an NF- κ B-Dependent Manner. *Cancer Cell*. 2010, 17:135-147
10. Bruenger A, Bartsch G, Hollinger BE, Holly B, Rohr HP. Smooth muscle cell of the canine prostate in spontaneous benign hyperplasia, and steroid-induced hyperplasia in estrogen or tamoxifen- treated dogs. *J Urol* 1983. 130:1208-1210.

11. Cunha G.R., Hayward S.W., Dahiya R., Foster B.E.: Smooth Muscle-Epithelial Interactions in Normal and Neoplastic Prostatic Development. *Acta Anat.*,1996; 155: 63-72.
12. Tremblay G. Stromal aspects of breast carcinoma. *Exp Mol Pathol* 1979. 31:248–260.
13. Van den Hooff A. Stromal involvement in malignant growth. *Adv Cancer Res.* 1981; 50:159–196.
14. Tuxhorn JA, Ayala GE, Smith MJ, Smith VC, Dang TD, Rowley DR., Reactive stroma in human prostate cancer: induction of myofibroblast phenotype and extracellular matrix remodeling. *Clin Cancer Res.* 2002, 8:2912–2923.
15. Steinman RM, Idoyaga J: Features of the dendritic cell lineage. *Immunol Rev* 2010, 234:5-17.
16. Gordon S, Martinez FO: Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity* 2010, 32:593-604.
17. Mantovani A, Sica A: Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. *Curr Opin Immunol* 2010, 22:231-237.
18. Kreider T, Anthony RM, Urban JF Jr, Gause WC: Alternatively activated macrophages in helminth infections. *Curr Opin Immunol* 2007, 19:448-453.
19. Biswas SK, Mantovani A: Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 2010, 11:889-896.
20. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A: Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002, 23:549-555.
21. Mosser DM, Edwards JP: Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol* 2008, 8:958-969.
22. Stout RD, Jiang C, Matta B, Tietzel I, Watkins SK, Suttles J: Macrophages sequentially change their functional phenotype in response to changes in microenvironmental influences. *J Immunol* 2005, 175:342-349.
23. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res.* 2006 Jan 15;66(2):605-12.
24. Galli SJ. Biology of disease: new insights into “the riddle of the mast cells”: microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab Invest.* 1990; 62:5-33.
25. Galli SJ. New concepts about the mast cell. *N Engl J Med.* 1993; 328:257-265.
26. Dvorak AM. Human mast cells. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 1989;114:1-107.
27. Weidner N, Austen KF. Ultrastructural and immunohistochemical characterization of normal mast cells at multiple body sites. *J Invest Dermatol.* 1991;96:26S-31S.
28. Theoharides TC, Conti P. Mast cells: the Jekyll and Hyde of tumor growth. *Trends Immunol* 2004;25:235–41
29. Chan JK, Loizzi V, Magistris A, Hunter MI, Rutgers J, DiSaia PJ, Berman ML. Mast cell density, angiogenesis, blood clotting, and prognosis in women with advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 2005, 99:20–25.
30. Kaminska R, Helisalmi P, Harvima RJ et al. Focal dermal–epidermal separation and fibronectin cleavage in basement membrane by human mast cell tryptase. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 567–573
31. Lippert U, Zachmann K, Henz BM, Neumann C. Human T lymphocytes and mast cells differentially express and regulate extra- and intracellular IL-8 chemokine receptors (CXCR1 and CXCR2), *Exp Dermatol*, 2004, 13:520-525
32. Ghiara P, Boraschi D, Scapigliati G, Taddei C and Tagliabue A. In vitro generated mast cells express natural cytotoxicity against tumor cells. *Immunology*, 1985, 55:317-224.
33. Diaconu NC, Kaminska R, Naukkarinen A, Harvima RJ, Harvima IT. The increase in tryptase- and chymase-positive mast cells is associated with partial inactivation of chymase and increase in protease inhibitors in basal cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007; 21: 908-915.
34. Lazaar AL, Plotnick MI, Kucich U et al. Mast cell chymase modifies cell–matrix interactions and inhibits mitogen-induced proliferation of human airway smooth muscle cells. *J Immunol* 2002; 169: 1014–1020.
35. Ozbek S et al, The evolution of extracellular matrix, *Mol Biol Cell.* 2010; 21:4300-4305.
36. Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. *Dev Cell.* 2010 Jun 15;18(6):884-901.
37. Yu H., Mouw J. K., Weaver V. M. Forcing form and function: biomechanical regulation of tumor evolution. *Trends Cell Biol.* 2010; 21, 47–56).
38. Butcher D. T., Alliston T., Weaver V. M. A tense situation: forcing tumour progression. *Nat. Rev. Cancer* 9, 2009, 108–122.