

## Hiperplasia Prostática Inducida con Testosterona y con Testosterona más 17 Beta-estradiol en Ratas Castradas

CARLOS GONZALEZ, YGNA OYOLA, PAUL HERRERA

*Estudiantes del tercer año de Medicina Humana, Facultad de Medicina de San Fernando*

### RESUMEN

La hiperplasia prostática benigna tiene una etiología aún desconocida, postulándose que el estradiol (E2) esté posiblemente implicado. El objetivo de este trabajo fue determinar la acción del E2 en la proliferación prostática inducida en ratas castradas. El diseño fue experimental aleatorizado en 3 grupos independientes (para 8 ratas) durante 4 semanas; el 1ro, control sin tratamiento; el 2do, castrado y tratado con enantato de testosterona (ET); y el 3ro, castrado y tratado con ET más hemisuccinato de 17 beta-estradiol. La valoración de la diferencia de los pesos prostáticos fue hecha mediante una prueba U; los hallazgos histológicos, con microscopía de luz. Verificamos un mayor incremento de los pesos prostáticos del 3er grupo con respecto al segundo, (estadísticamente en el límite de la significancia,  $P=0,05$ ). De igual manera, histológicamente, el aumento en la secreción y la hiperplasia fue notoria en el 3er grupo respecto a los 2 primeros. Concluimos que el E2 sinergiza la acción proliferativa de la testosterona sobre la próstata, involucrándosele posiblemente en la génesis de la hiperplasia prostática benigna.

*Palabras Claves: Hiperplasia prostática benigna, testosterona, estradiol.*

### TESTOSTERONE AND TESTOSTERONE PLUS 17 BETA-ESTRADIOL PROSTATIC HYPERPLASIA INDUCED IN CASTRATED RATS

#### ABSTRACT

Benign prostatic hyperplasia etiology is still unknown. It is believed that estradiol (E2) is involved. The objective of this study was to determine the E2 action in the prostatic proliferation induced in castrated rats. The experimental was randomized in 3 independent groups during 4 weeks; the first one, control without treatment; the second one, castrated and testosterone enantate (TE) treated; and the third one, castrated and TE plus 17 beta-estradiol hemisuccinate treated. Weight prostatic difference was studied with the U test, histology with light-microscopy. Weight prostatic difference between the second and third groups was in the significance limit ( $P=0.05$ ). Histologically increase in secretion and hyperplasia was noted in the third group. We concluded that E2 synergizes testosterone proliferating action upon the prostate and this could account for benign prostatic hyperplasia genesis.

*Key words: Benign prostatic hyperplasia, testosterone, estradiol.*

### INTRODUCCIÓN

La hiperplasia prostática benigna (HPB) o hiperplasia nodular (1) es una afección cuyo inicio frecuentemente se encuentra alrededor de los 40 años (2-5), con una incidencia del 23% (2). Durante la quinta década de la vida las dos terceras partes de los hombres presentan indicios histológicos de HPB (1). Conforme

avanza la edad habrá un incremento gradual en el peso prostático (2-5) y, así, a los 90 años la HPB tiene una prevalencia del 88% (2,5).

La HPB se caracteriza por la formación de voluminosos nódulos bien delimitados por una pseudocápsula, en la región periuretral (tejido preprostático) (1,4-6) de los lóbulos laterales y medio de la próstata (6), lo que trae frecuentemente consigo obstrucción parcial o total de la uretra (1).

No se conoce con certeza la etiología de la HPB; a pesar de ello se sugiere que su aparición depende de los niveles de andrógenos y estrógenos (1,4,6,7). Estos últimos aumentan con la edad (1,4,6) y quizás sinergicen la acción proliferativa de los

#### Correspondencia:

Carlos Alberto González Müller  
Calle El Prado 129-133 Urb. Las Viñas de la Molina.  
La Molina, Lima 12 - Perú

primeros (3,4,8-10). Lo anterior ha sido demostrado experimentalmente en perros castrados y últimamente también en ratas (11) administrando andrógenos y estrógenos.

En base a lo anteriormente señalado, procuramos en el presente trabajo evaluar el efecto del estradiol en la hiperplasia prostática inducida por testosterona

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales:

Se utilizaron 8 ratas albinas machos (entre 200 a 250 g) obtenidas de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (U.N.M.S.M.), Lima, Perú; agrupándolas de la siguiente manera:

- Grupo I: Dos ratas controles sin ningún tratamiento
- Grupo II: Tres ratas castradas que recibieron un tratamiento de ET a partir del segundo día de la castración durante cuatro semanas
- Grupo III: Tres ratas castradas que recibieron un tratamiento de ET y hemisuccinato de 17 beta estradiol (HE2) a partir del segundo día de la castración por cuatro semanas.

Los animales fueron alojados y alimentados en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la U.N.M.S.M.

### Fármacos:

Diluciones de Eutocol de 0,2mg/ml, y de Testoviron®Depot de 100mg/ml. El Eutocol (ampolla de 200mg en 10ml de agua bidestilada, Laboratorios Farmaindustria S.A., Lima, Perú), es el nombre comercial que en nuestro medio tiene el HE2, el cual será utilizado como factor estrogénico; mientras el Testoviron®Depot (ampolla de 250mg en 1ml de solución oleosa, Schering Farmaceutica Perunana S.A., Lima, Perú), es el nombre comercial que en nuestro medio tiene el ET, el cual será utilizado como factor androgénico. Las diluciones fueron hechas en el Centro de Investigación de Biología Andina.

### Procedimiento:

Las ratas se agruparon como líneas arriba se describe. Las del 2do y 3er grupo fueron castradas y 2 días después se comenzó el tratamiento farmacológico. El tratamiento con las diluciones de HE2 y ET tendieron a mantener concentraciones diarias de 1 mg de T y de 0,01 mg de 17 beta-E2 (11), según correspondió a cada grupo. Para ello a ambos grupos se aplicó 6 dosis de la dilución de ET vía intraperitoneal: la primera, en el 1er día (día 1) de tratamiento (2 días después de la castración), de 0,12 ml (12 mg de ET); las 5 restantes, el 4to, 9no, 15to, 20mo, y 26to día de tratamiento, de 0,06 ml (6 mg de ET). El 3er grupo además requirió de la aplicación de la dilución de HE2 vía intraperitoneal, para lo cual la dosificación fue diaria, el 1er día fue de 0,1 ml (0,02 mg de HE2) y los restantes de 0,05 ml (0,01 mg de HE2) diariamente por 28 días. Hacia el 28vo día (4ta semana de iniciado el tratamiento), se procede a la prostatectomía (a los

3 grupos) para inmediatamente pesar las próstatas y hacer la preparación tisular. Al momento del análisis histológico se desconocía por parte del examinador el grupo experimental de procedencia.

### Estadística:

Se determinó las medias de los pesos prostáticos de los grupos experimentales y la desviación estándar correspondiente a cada uno de ellos. Se procedió a la determinación de la significancia estadística de la diferencia entre los pesos prostáticos del 2do y 3er grupos, mediante una prueba no paramétrica: la prueba U.

## RESULTADOS

Extraímos las próstatas sin incluir la uretra ni las glándulas coagulantes, próstata anterior (?). En el grupo control las próstatas eran anulares con una parte anterior bilobulada (próstata ventral), y una lateral y posterior delgada, (próstata dorsolateral (?); así se forma un ojal donde corresponde la uretra. La superficie fue rojo grisácea, su consistencia era blanda. El 2do grupo presentó próstatas con morfología semejante al grupo control sólo que más grandes, debido al aumento de tamaño de la próstata ventral comparada con la próstata dorsolateral, la cual también creció pero menos que en el grupo control. Finalmente en el 3er grupo, los hallazgos en cuanto a morfología de las próstatas no variaron mucho con respecto a los anteriores grupos excepto por el tamaño, en este caso aún más grande: la próstata ventral había crecido notablemente y también, siempre en menor magnitud, la próstata dorsolateral. La luz de la uretra prostática en los grupos con tratamiento farmacológico, era pequeña, mucho menor que aquella observada en los controles.

### Pesos prostáticos:

La diferencia entre las medias de los pesos prostáticos de los 3 grupos es notoria especialmente entre el 3er grupo y el 1ro (1178 respecto a 254 mg). Se encontró que la diferencia en pesos prostáticos entre el 2do y 3er grupos, estaba en el límite de la significación,  $P=0,05$  (Tabla 1).

### Hallazgos histopatológicos:

La próstata de rata podemos dividirla en dos componentes: el parénquima acinar, el lumen que contiene la secreción, y el estroma que comprende el resto y que limita con el componente anterior por la membrana basal. Los acinis prostáticos del grupo control tuvieron epitelio glandular cúbico simple y en algunas zonas cilíndrico simple en su porción proximal. En su porción distal, se apreciaron las proyecciones papiliformes propias de esta región; los núcleos eran basales. El epitelio es pseudoestratificado y en algunas zonas cilíndrico simple. En el estroma hubo predominio de fibroblastos. En resumen, la arquitectura prostática era normal (?) (Fig 1 y 2). En el 2do grupo encontramos que la porción proximal de los acinis prostáticos se hallaba dilatada con gran cantidad de secreción; el epitelio

Tabla I.- Influencia del enantato de testosterona y del enantato de testosterona más hemisuccinato de 17 beta-estradiol en el peso prostático

Grupo Tratamiento	Número de animales	Peso prostático (media ± ER*)
I Ninguno	2	254±14,14
II Castración más ET	3	695±139,19**
III Castración más ET más HE2	3	1 178±248,31**

ER: error estándar

ET: Enantato de Testosterona

HE2: Hemisuccinato de 17 beta-estradiol

\*:P=0,05 respecto al grupo castrado y tratado con ET (prueba U)

era cúbico simple variando a plano simple en algunas zonas; se aprecia además una leve hiperplasia. La porción distal mostraba leve hiperplasia con un aumento del número de proyecciones papiliformes hacia la luz acinar. A nivel del estroma un discreto incremento de fibroblastos, el estroma fue más abundante que el grupo control (Fig. 3 y 4). En el 3er grupo la porción proximal de los acinis prostáticos estaba muy dilatada con francos quistes glandulares con abundante contenido secretorio, su epitelio era cúbico simple con tendencia al plano simple. La porción distal de los acinis prostáticos hipertróficos y con epitelio glandular marcadamente hiperplásico, con una luz acinar irregular producto del aumento del número de proyecciones epiteliales hacia la misma (Fig. 5). También se observó una metaplasia escamosa con focos en la porción distal. En este grupo hubo un marcado predominio glandular, siendo así el grupo en el cual la relación epitelio-estromal es mayor. A nivel estromal con un discreto incremento de fibroblastos (Fig. 6).

Por último, hay que señalar que en la porción distal de los acinis prostáticos de los grupos que recibieron tratamiento farmacológico, presentaban algunas células epiteliales glandulares con un citoplasma espumoso en la parte apical celular, que fueron más frecuentes en el tercer grupo, lo cual evidenció un aumento de la actividad secretoria por sobre el tejido control, en el cual también puede verse estas células pero con menor frecuencia.

### DISCUSIÓN

El modelo animal que más se ha utilizado en el estudio etiológico de la hiperplasia prostática es el modelo canino, debido a que éste es el único animal que al igual que el hombre desarrolla con la edad una hiperplasia prostática benigna espontánea (5, 8, 10). Pocos han sido los investigadores que se han apartado de este modelo tradicional. Recientemente Murakoshi et al emplearon un modelo animal de rata castrada

administrando Testosterona (T) y 17 beta-E2 (11). En este estudio tomamos como modelo animal a la rata pero utilizamos para la inducción de hiperplasia al ET más el HE2. El modelo canino seguido en la mayoría de investigaciones utilizaron andrógenos tales como la T, la dihidrotestosterona, el androstenediol diluidos en trioleína, descrito inicialmente por Walsh, P. y Wilson, J. (9), y estrógeno como el E2 diluido también en esta sustancia. La utilización del ET se basó en las observaciones realizadas por Karr et al (12), quienes lo utilizaron en mandriles; mientras en la revisión efectuada de la literatura no encontramos referencia trascendente de la utilización de HE2. El modelo utilizado en este estudio tiene a su favor el ser poco costoso e inducir eficazmente los efectos deseados, por lo cual debería ser tomado en cuenta en investigaciones futuras al respecto.

Este estudio involucraría a los estrógenos en la etiología de la hiperplasia prostática benigna. Así al analizar histológicamente las próstatas, el predominio creciente encontrado de la parte glandular por sobre la estromal en los grupos control, castrado tratado con ET y con ET más HE2 nos llevó a concluir que este último tiene una acción sinergizante de la proliferación inducida por el ET sobre la parte glandular. No podemos determinar si este aumento está acompañado con un aumento estromal que sea menor que el producido en la parte glandular, y que dé la apariencia final de un aumento neto de esta última parte por sobre la primera. Bartsch et al, 1987 en un modelo animal de perro establecieron que el tratamiento con 5 alfa-dihidrotestosterona o 5 alfa-androstano-3 alfa-17 beta-diol en combinación con 17 beta-E2 inducía un aumento de 4 veces la parte glandular y un aumento de 2 veces el tejido estromal (8).

La forma más grosera de verificar los hallazgos histológicos que el HE2 sinergizó la acción proliferativa del ET fue la determinación del peso prostático en los tres grupos, donde el aumento en el grupo castrado y tratado con HE2 más ET fue notable. Esto último también encontrado por Murakoshi et al, 1992 en su estudio (13), e incluso en aquellos trabajos que utilizaron perros (8-10, 13). En consecuencia existe evidencia suficiente para afirmar que el factor estrogénico estaría implicado en la proliferación exagerada de la próstata en la HPB, situación que no puede ser explicada solo por el factor androgénico, pero lo que todavía no está claro es el mecanismo por el cual el primero influye sobre el segundo.

Una hipótesis posible sería que el E2 actúa a nivel primariamente estromal (14), donde hay más receptores de estrógeno que en parénquima acinar (2, 6, 15, 16) particularmente en la zona periuretral. Esto se presentaría especialmente en las células musculares lisas (14) y produciría un aumento en el número de receptores para andrógenos (8). Los andrógenos activan los mecanismos proliferativos (14) produciendo una mayor cantidad de factores de crecimiento (2, 6, 17) inicialmente el fibroblástico, hasta que se logre un desbalance epitelio estromal que favorezca al estroma, y que estimule la liberación del factor de crecimiento epitelial (2, 17, 18). En el epitelio glandular el blanco de este factor

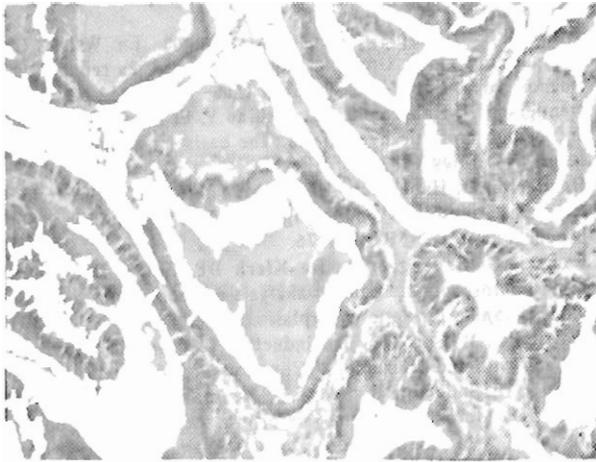


Fig. 1.- Grupo I: Porción glandular distal prostática (200X, HE).

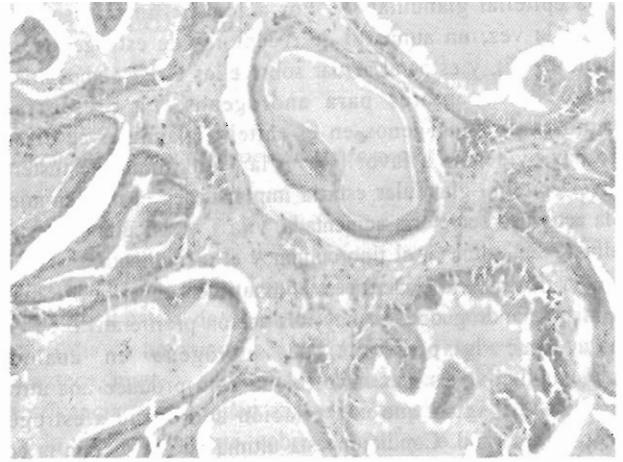


Fig. 2.- Grupo I: Porción ductal proximal prostática (200X, HE).

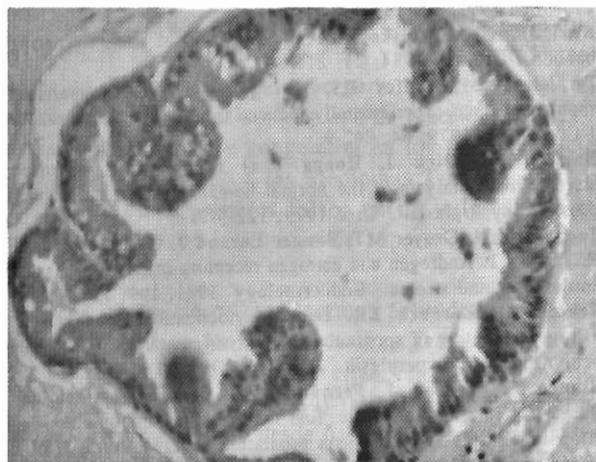


Fig. 3.- Grupo II: Porción glandular distal prostática (400X, HE).

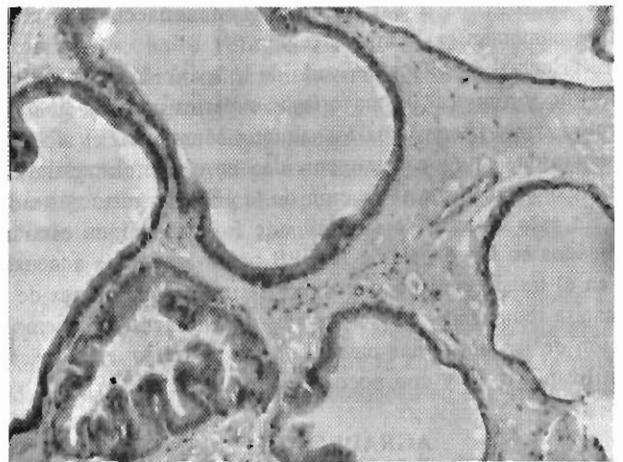


Fig. 4.- Grupo II: Porción ductal proximal prostática (200X, HE).

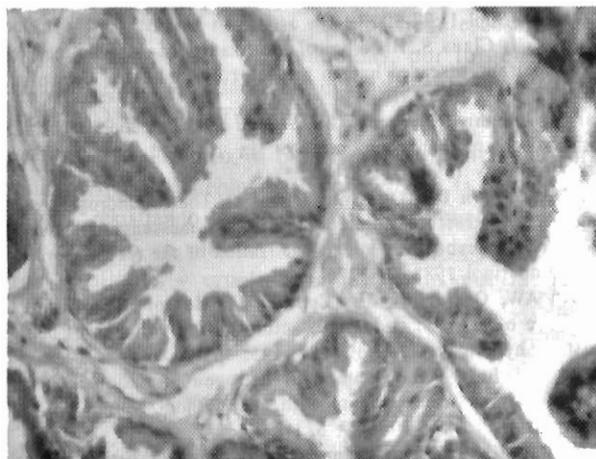


Fig. 5.- Grupo III: Porción glandular distal prostática (400X, HE).

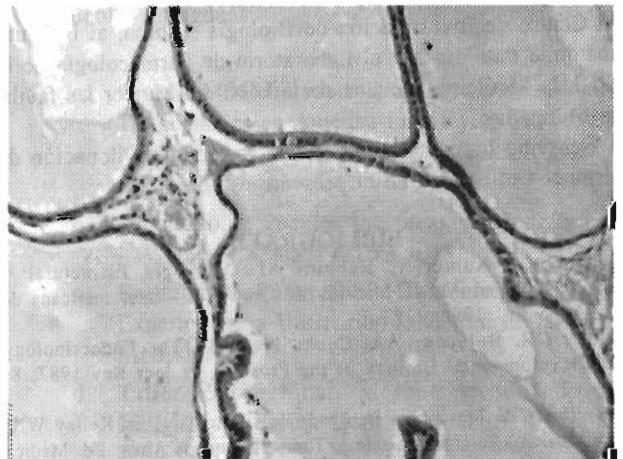


Fig. 6.- Grupo III: Porción ductal proximal prostática (200X, HE).

sería la célula basal (<sup>13</sup>), la cual se sugiere que se transforme en célula epitelial glandular (<sup>2</sup>). Por algún mecanismo se produciría, a la vez, un aumento de receptores de estrógenos en el epitelio (<sup>2,16,20</sup>), y estos al actuar sobre ellos el E2 aumentarían el número de receptores para andrógenos. La presencia de receptores de andrógenos en el epitelio glandular se discute, pero hay evidencia a favor (<sup>2,21,22</sup>); la 5 alfa-dihidrotestosterona a nivel epitelial glandular estaría implicada en el mantenimiento de la actividad secretoria aumentada, y la T y el 5 alfa-androstano-3 alfa-17 beta-diol en el tipo celular y el crecimiento.

Esta posible explicación es compatible con el hecho que al administrar andrógeno sólo hay una acción proliferativa. Se debe señalar que la presencia de andrógeno en cualquier modelo inductivo es necesario (el E2 solo produce una atrofia prostática), al igual que una relación andrógeno a estrógeno menor a la normal. Condición esta última que se da con la edad avanzada (<sup>1,3,6,23</sup>), además se ha visto que en la hiperplasia prostática benigna en la región periuretral prostática hay aumento de la actividad de la aromatasa (<sup>6</sup>), enzima que transforma andrógenos a estrógenos, y en consecuencia estos últimos aumentan en la misma región (<sup>24</sup>).

El principal problema derivado de la aparición de la HPB es la obstrucción uretral, la mayoría de expertos no considera esta afección como premaligna (<sup>1</sup>), aunque Murakoshi et al, 1992 evidenciaron mayor carcinogenicidad en el epitelio glandular prostático luego de la inducción de la HPB en ratas castradas (<sup>14</sup>). En este estudio se sugiere que los estrógenos estarían implicados en la génesis de la HPB por lo que sería adecuado que en el tratamiento no quirúrgico se utilice inhibidores de la aromatasa reduciendo así los niveles de estrógeno sin alterar la función de las hormonas masculinas. Este tratamiento se está ya utilizando (<sup>7,25</sup>) y con pocos efectos colaterales (<sup>25</sup>).

#### AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. David Díaz por la evaluación histopatológica, así como a las Dras. Elizabeth González y Luz Oyola, miembros permanentes del Centro de Investigación de Biología Andina, por brindar los ambientes de dicho centro.

Al Centro de Investigación de Biología Andina, al Instituto de Anatomía Patológica y al Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la U.N.M.S.M, por las facilidades otorgadas.

A Schering Farmacéutica Peruana S.A., por la donación de los fármacos utilizados en el presente estudio.

#### BIBLIOGRAFIA

- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Patología Estructural y Funcional. 4a ed. Vol II. Madrid: Mc Graw-Hill - Interamericana de España, S.A., 1990: 1173-6.
- Cunha GR, Dojacour AA, Cooke PS et al. The Endocrinology and Developmental Biology of the Prostate. *Endocr Rev* 1987; 8: 338-62.
- Brendler CB. Trastornos Benignos de la Próstata. En Kelley WN, eds. Medicina Interna. 2a reimp. Tomo II. Buenos Aires: Id. Médica Panamericana, 1991: 2 87-8.
- Wilson JD. The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Am J Med* 1980; 68: 745-56.
- Walsh PC. Hiperplasia prostática benigna. En Walsh, Gittes, Perlmutter, Stamey. Urología Campbell. 5a ed. 2a reimp. Tomo 2. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 1991: 1352-68.
- Henderson D, Habernicht UF, Nishino Y, El Etreby MF. Estrogens and benign prostatic hyperplasia: The basis for aromatase inhibitor therapy. *Steroids* 1987; 50: 219-33.
- Henderson D, Habernicht UF, Nishino Y, Kerb U, El Etreby MF. Aromatase inhibitors and benign prostatic hyperplasia. *J Steroid Biochem* 1986; 25(5B): 867-76.
- Bartsch G, Bruengger A, De Klerk DP, Coffey DS, Rohr HP. Light-microscopic stereologic analysis of spontaneous and steroid-induced canine prostatic hyperplasia. *J Urol* 1987; 137: 552-8.
- Walsh PC, Wilson JD. The induction of prostatic hypertrophy in the dog with androstenediol. *J Clin Invest* 1976; 57: 1093-7.
- Tunn UW, Schering B, Senge T, Neumann F, Schwerkert HU, Rohr HP. Morphometric analysis of prostate in castrated dogs after treatment with androstenediol, estradiol, and cyproterone acetate. *Invest Urol* 1981; 18: 289-92.
- Murakoshi M, Tagawa M, Inada R, Suzuki M. Effect of testosterone, and testosterone plus estrogen, in the castrated rat ventral prostate -histopathological and immunocytochemical studies-. *Tokai J Exp Clin Med* 1992; 17: 133-7.
- Karr JP, Kim U, Resko JA et al. Induction of benign prostatic in baboons. *Urology* 1984; 23: 276-89.
- De Klerk DP, Coffey DS, Ewing LL et al. Comparison of spontaneous and experimentally induced canine prostatic hyperplasia. *J Clin Invest* 1979; 64: 842-9.
- Bartsch G, Frick J, Ruegg I et al. Electron microscopic stereological analysis of the normal human prostate and of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1979; 122: 481-6.
- Jung Testas I, Groyer MT, Bruner Lorand J, Hechter O, Baulieu EE, Robel P. Androgen and estrogen receptors in rat ventral prostate epithelium and stroma. *Endocrinology* 1981; 109: 1287-9.
- Schulze H, Barrack ER. Immunocytochemical localization of estrogen receptors in spontaneous and experimentally induced canine benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 1987; 11: 145- 62.
- Blanco E, Moreno J, Fernández C, Begara F, Hermida J, Resel L. Implicaciones de los factores de crecimiento en la etiopatogenia de la hiperplasia prostática benigna. *Actas Urol Esp* 1994; 18 Supl: 359-64.
- Griffiths K, Eaton CL, Harper ME, Peeling B, Davies P. Steroid hormones and the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* 1991; 20 (Supl 1): 68-77.
- Bosch R. Pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* 1991; 20 (Supl 1): 27-30
- Schulze H, Claus S. Histological localization of estrogen receptors in normal and diseased human prostates by immunocytochemistry. *Prostate* 1990; 16: 331-43
- Sar M, Lubahn DB, French FS, Wilson EM. Immunohistochemical localization of androgen receptor in rat and human tissues. *Endocrinology* 1990; 127: 3180-6.
- Tan JA, Joseph DR, Quarmby VE et al. The rat androgen receptor: primary structure, autoregulation of its messenger ribonucleic acid, and immunocytochemical localization of the receptor protein. *Mol Endocrinol* 1988; 2: 1276-85.
- Partin AW, Oesterling JE, Epstein JI, Horton R, Walsh PC. Influence of age and endocrine factors on the volumen of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1991; 145: 405-9.
- Stone NN, Fair WR, Fishman J. Estrogen formation in human prostatic tissue from patients with and without benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 1986; 9: 311-8.
- Oesterling JE. Endocrine therapies for symptomatic benign prostatic hyperplasia. *Urology* 1994; 43 (2 Supl): 7-16.