



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**EVALUACION DE LOS EFECTOS DE DOS EXTRACTOS  
ESTANDARIZADOS DE *SERENOA REPENS*, SOBRE LA HIPERPLASIA  
PROSTATICA BENIGNA EN EL PERRO**

**RENATO ORLANDO GARCIA CABRERA.**

**Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas**

**PROFESOR GUIA: DR. MIGUEL MORALES SEGURA.**

**SANTIAGO, CHILE  
2004**

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**EVALUACION DE LOS EFECTOS DE DOS EXTRACTOS ESTANDARIZADOS  
DE *SERENOA REPENS*, SOBRE LA HIPERPLASIA PROSTATICA BENIGNA EN  
EL PERRO**

**RENATO ORLANDO GARCIA CABRERA.**

**Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas**

**NOTA FINAL: \_\_\_\_\_**

		<b>NOTA</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PROFESOR GUÍA</b>	<b>DR. MIGUEL MORALES</b>		_____
<b>PROFESOR CONSEJERO</b>	<b>DR. LUIS TELLO</b>		_____
<b>PROFESOR CONSEJERO</b>	<b>DR. JULIO LARENAS</b>		_____

**SANTIAGO, CHILE  
2004**

*A M<sup>a</sup> Isabel, por su apoyo y comprensión.*

*A mis padres, por su paciencia y dedicación.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Quisiera expresar mis profundos agradecimientos a todos los funcionarios de Carabineros de Chile, en especial al Dr. Juan Carlos Tapia y su 7<sup>mo</sup> Escuadrón de Perros Policiales, que con su incondicional apoyo lograron que este largo proyecto pudiera concretarse en un arduo camino de incertidumbre. Además de agradecer la colaboración del Dr. Carlos González que con su paciencia y profesionalismo, pudo apoyar en las labores de diagnóstico histopatológico.*

*Conjuntamente agradecer las gestiones de mi Profesor Guía, Miguel Morales S. que con su reconocido entusiasmo, pudo comprender todos los altos y bajos que este proyecto sufrió, sin embargo, me hizo mantener la decisión a finalizar este trabajo. Igualmente agradezco las labores realizadas por el Dr. Luis Tello, que siempre entregó toda su disposición, de sus alumnos y funcionarios para colaborar decididamente en mi trabajo de tesis. Además de recordar y agradecer a la Dra. Nora Chován que colaboró desinteresadamente en los inicios de mi trabajo de tesis.*

*En especial, quiero expresar los agradecimientos a mi padre Jorge García G. que financió este trabajo colaborando desinteresadamente en todas las etapas de el.*

*A Rodrigo Pavez (Ing. Agr.), cuya ayuda en el desarrollo del proyecto fue esencial para su término.*

*A todos mis familiares y amigos que me brindaron apoyo en todo momento, quienes aportaron todo lo posible en el cumplimiento de esta anhelada meta.*

## INDICE

<b>RESUMEN.</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>2. REVISION BIBLIOGRAFICA.</b> .....	<b>5</b>
ANATOMÍA, HISTOLOGÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA GLÁNDULA PROSTÁTICA. ....	5
SIGNOS CLÍNICOS DE LA HPB EN EL PERRO. ....	10
DIAGNÓSTICO DE LA HPB. ....	11
FISIOPATOLOGÍA DE LA HPB. ....	16
TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA EN EL PERRO. .....	21
<i>Estrógenos.</i> .....	21
<i>Antiandrógenos.</i> .....	22
<i>Bloqueadores de receptores androgénicos o antiandrógenos puros.</i> .....	23
<i>Inhibidores de la síntesis de andrógenos.</i> .....	23
<i>Inhibidores de la 5<math>\alpha</math> reductasa.</i> .....	24
<i>Progestágenos.</i> .....	26
<i>Extractos estandarizados de Serenoa repens (ELSR).</i> .....	29
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>35</b>
OBJETIVO GENERAL.....	35
OBJETIVOS ESPECÍFICOS. ....	35
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>36</b>
ANIMALES.....	36
GRUPOS EXPERIMENTALES .....	36
<i>Grupo experimental 1</i> .....	36
<i>Grupo experimental 2</i> .....	37
<i>Grupo experimental 3:</i> .....	37

FÁRMACOS.....	37
INSTRUMENTOS DE EVALUACIÓN Y DE TOMA DE MUESTRA.....	37
MUESTREO Y PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO DE DATOS.....	40
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>43</b>
GRUPO EXPERIMENTAL 1: <i>SERENOA REPENS</i> 480 MG/ANIMAL/DÍA.....	43
GRUPO EXPERIMENTAL 2: <i>SERENOA REPENS</i> 1440 MG/ANIMAL/DÍA. ....	46
GRUPO EXPERIMENTAL 3: ACETATO DE MEGESTROL 0.5 MG/KG/DÍA.....	49
ANÁLISIS DE VARIANZA.....	52
<i>Variable: Volumen Prostático</i> .....	52
<i>Variable: Altura Epitelial.</i> .....	53
CONTRASTE <i>T DE BONFERRONI.</i> ....	55
ANÁLISIS DESCRIPTIVO.....	57
<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>60</b>
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>64</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>65</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>78</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PORCIÓN SAPONIFICABLE Y NO-SAPONIFICABLE DEL EXTRACTO DE <i>S. REPENS</i> .....	30
TABLA 2.A. VARIACIÓN DEL VOLUMEN PROSTÁTICO PRE Y POST TRATAMIENTO – GRUPO 1	43
TABLA 2.B. VALORES ESTADÍSTICOS DE LA VARIABLE VOLUMEN PROSTÁTICO- GRUPO 1 ....	43
TABLA 2.C. VARIACIÓN DE LA ALTURA ACINAR PROSTÁTICA PRE Y POST TRATAMIENTO – GRUPO 1 .....	44
TABLA 2.D. VALORES ESTADÍSTICOS DE LA VARIABLE ALTURA ACINAR PROSTÁTICA - GRUPO 1 .....	45
TABLA 3.A. VARIACIÓN DEL VOLUMEN PROSTÁTICO PRE Y POST TRATAMIENTO – GRUPO 2	46
TABLA 3.B. VALORES ESTADÍSTICOS DE LA VARIABLE VOLUMEN PROSTÁTICO - GRUPO 2 ...	46
TABLA 3.C. VARIACIÓN DE LA ALTURA ACINAR PROSTÁTICA PRE Y POST TRATAMIENTO – GRUPO 2 .....	47
TABLA 3.D. VALORES ESTADÍSTICOS DE LA VARIABLE ALTURA ACINAR PROSTÁTICA - GRUPO 2 .....	47
TABLA 4.A. VARIACIÓN DEL VOLUMEN PROSTÁTICO PRE Y POST TRATAMIENTO – GRUPO 3	49
TABLA 4.B. VALORES ESTADÍSTICOS DE LA VARIABLE VOLUMEN PROSTÁTICO - GRUPO 3 ...	49
TABLA 4.C. VARIACIÓN DE LA ALTURA ACINAR PROSTÁTICA PRE Y POST TRATAMIENTO – GRUPO 3 .....	50
TABLA 4.D. VALORES ESTADÍSTICOS DE LA VARIABLE ALTURA ACINAR PROSTÁTICA - GRUPO 3 .....	51
TABLA 5.A. PROMEDIO DE LAS VARIACIONES POR GRUPO – VARIABLE VOLUMEN PROSTÁTICO .....	52
TABLA 5.B. ANÁLISIS DE VARIANZA – VARIABLE VOLUMEN PROSTÁTICO .....	53
TABLA 6.A. PROMEDIO DE LAS VARIACIONES POR GRUPO – VARIABLE ALTURA ACINAR PROSTÁTICA.....	53
TABLA 6.B. ANÁLISIS DE VARIANZA- VARIABLE ALTURA ACINAR PROSTÁTICA.....	54

TABLA 7.A. PROMEDIO DE LAS VARIACIONES POR GRUPO – VARIABLE ALTURA ACINAR PROSTÁTICA.....	55
TABLA 7.B. COMPARACIÓN ENTRE TRATAMIENTOS MEDIANTE CONTRASTE T DE BONFERRONI .....	56
TABLA 8. RESULTADO DE LAS VARIABLES CLÍNICAS - <i>SERENOA REPENS</i> 480 MG/ANIMAL/DÍA .....	57
TABLA 9 RESULTADO DE LAS VARIABLES CLÍNICAS - <i>SERENOA REPENS</i> 1440 MG/ANIMAL/DÍA. ....	58
TABLA 10 RESULTADO DE LAS VARIABLES CLÍNICAS - ACETATO DE MEGESTROL 0,55 MG/KG .....	59

### ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. EFECTO DEL TRATAMIENTO DE 480 MG/ANIMAL/DÍA DE SR <sub>1</sub> SOBRE EL VOLUMEN PROSTÁTICO.....	44
FIGURA 2. EFECTO DEL TRATAMIENTO DE 480 MG/ANIMAL/DÍA DE SR <sub>1</sub> SOBRE LA ALTURA ACINAR PROSTÁTICA .....	45
FIGURA 3. EFECTO DEL TRATAMIENTO DE 1440 MG/ANIMAL/DÍA DE SR <sub>2</sub> SOBRE EL VOLUMEN PROSTÁTICO.....	47
FIGURA 4. EFECTO DEL TRATAMIENTO DE 1440 MG/ANIMAL/DÍA DE SR <sub>2</sub> SOBRE LA ALTURA ACINAR PROSTÁTICA. ....	48
FIGURA 5. EFECTO DEL TRATAMIENTO DEL 0,5 MG/KG/DÍA DE ACETATO DE MEGESTROL SOBRE EL VOLUMEN PROSTÁTICO.....	50
FIGURA 6. EFECTO DEL TRATAMIENTO DE 0,5 MG/KG/DÍA DE ACETATO DE MEGESTROL SOBRE LA ALTURA ACINAR PROSTÁTICA. ....	51
FIGURA 7. % VARIACIÓN – VOLUMEN PROSTÁTICO.....	52
FIGURA 8. % DE VARIACIÓN – ALTURA ACINAR PROSTÁTICA. ....	54

## **RESUMEN.**

Con el propósito de estudiar la eficacia clínica y el efecto histopatológico de dos extractos lipoesterólicos de *Serenoa repens* (ELSR) y acetato de megestrol (AM) sobre la hiperplasia prostática benigna canina (HPB), se utilizaron 21 perros de raza ovejero alemán, con un rango de edad entre los 3 y 11 años, divididos en tres grupos de 7 animales cada uno, los cuales recibieron dos dosis distintas de ELSR y AM respectivamente. El criterio de selección incluyó un examen clínico mediante la palpación rectal, examen ecotomográfico y evaluación histopatológica del tejido prostático biopsiado mediante guía ecográfica.

Una vez finalizado el tratamiento de ocho semanas para los grupos que recibieron el ELSR y de 30 días para el AM, todos los grupos mostraron diferencias significativas en relación a las mediciones previas al tratamiento, tales como, morfometría prostática ecotomográfica, altura acinar prostática y evidencia de la reducción de la sintomatología asociada a la HPB.

## ABSTRACT

In this research, 21 german shepherd dogs between 3 and 11 years were used, who were divided into three groups each one composed by seven animals, they received two doses of ELSR and acetate megestrol (AM) respectively in order to study the clinical efficacy of two liposterolic *Serenoa repens* (ELSR) on two male dogs who suffers from benign prostatic hyperplasy (HPB) and to compare the clinical and histopathological result by using acetate megestrol.

The selection criteria included a clinical examination by rectum palpation, ecotomographic examination and hystopathological evaluation of the biopsy practised over the prostatic tissue done by ecographic guide.

Once the eight - week treatment was finished for the groups which received the ELSR and 30 days for the AM, all of groups shew important differences in relation to the meassurements made before the treatment, such as, ecotomographic prostatic morphometry, protastic acinus height and sintomathology associated to the HPB.

## 1. INTRODUCCIÓN

Una de las enfermedades más frecuentes en el varón adulto es la llamada Hiperplasia Prostática Benigna (HPB). Por esta razón se ha constituido en un problema de salud importante en todo el mundo debido a que afecta cerca de un 50% de los varones que tienen más de 50 años de edad y a un 80% cuando sobrepasa los 80 años (Vargas, 1997).

De las patologías que afectan a la especie canina sobresalen las del tracto reproductivo, y dentro de esta última las alteraciones prostáticas. La HPB es un cambio estructural que se produce por el envejecimiento de los perros no castrados (Barsanti y Finco, 1994).

Los medicamentos utilizados en el hombre para el tratamiento de la HPB, como la doxazosina, prazosina, finasteride y otros, poseen importantes efectos adversos, donde éste último incluso altera la determinación del antígeno prostático. Esto alienta la búsqueda de nuevos medicamentos que contribuyan a aliviar esta patología. En perros, la HPB también es de gran incidencia y se necesitan nuevas terapias que no afecten su calidad de vida y reproductiva.

Los extractos liposterólicos del *Serenoa repens* son una buena alternativa y existen diversos estudios clínicos que avalan sus efectos terapéuticos en el tratamiento de los síntomas asociados a la HPB en humanos (Wilt *et al.*, 1998; Al-Shukri *et al.*, 2000). Sin embargo, es necesario disponer de estudios que relacionen las variaciones en los síntomas con cambios del tamaño o volumen prostático, y que puedan contribuir a clarificar los mecanismos de acción atribuidos al ELSR. En perros, son escasos los estudios al respecto.

La HPB se inicia en perros de uno a dos años de edad, aumenta su prevalencia linealmente, de modo que hacia los seis años están afectados el 60% de estos animales y a los nueve años de edad un 95% de ellos (Klausner *et al.*, 1997).

En la medicina veterinaria se han implementado diversas alternativas terapéuticas a través del tiempo, siendo las de principal uso los progestágenos sintéticos e inhibidores de la 5 $\alpha$ -reductasa. La alternativa quirúrgica como la castración ha sido considerada beneficiosa para la resolución de la HPB en el perro, sin embargo son evidentes los efectos que este procedimiento tiene sobre los animales en edad reproductiva. El tratamiento médico de la HPB en el ser humano se ha orientado al uso de medicamentos más inocuos como son los fitofármacos.

En medicina veterinaria hoy en día, no se dispone de un gran número de estudios realizados *in vivo*, que demuestren a cabalidad los efectos de estos fitofármacos sobre la patología prostática del perro. Barsanti *et al.*(2000) mediante la implementación de un protocolo de dos dosis de un ELSR (300 mg/día y 1500 mg/día por 3 meses) no evidenciaron diferencias significativas como respuesta al tratamiento. Este estudio significó para nosotros una base para comparar la eficacia real de estos extractos sobre la HPB, con dosis y regímenes de administración similares a las empleadas por estos investigadores.

## **2. REVISION BIBLIOGRÁFICA.**

### **Anatomía, Histología y Fisiología de la Glándula Prostática.**

La próstata es la única glándula sexual accesoria del macho canino, es un órgano bilobulado con un tabique mediano sobre la superficie dorsal (Selcer, 1995). Se localiza normalmente en el espacio retroperitoneal, en la porción caudal de la vejiga en el área del cuello vesical y envolviendo a la uretra proximal, donde sus conductos penetran la uretra a lo largo de toda su extensión. Sólo su porción craneodorsal está recubierta por el peritoneo, relacionándose dorsalmente a una banda fibrosa que la pone en contacto con el recto y ventralmente es cubierta por tejido adiposo que la relaciona con la sínfisis púbica y la pared abdominal (García *et al.*, 1992; Selcer, 1995). La posición de la próstata en el abdomen caudal depende de la edad del animal, la distensión vesical y el estado de progresión de la patología (Gordon, 1961). En los neonatos hasta los dos meses de edad, la próstata ocupa una posición intrabdominal y luego de perder el remanente uracal la próstata se localiza totalmente dentro de la entrada pélvica (Dorfman y Barsanti, 1995). Durante la vida adulta, su tamaño aumenta y su polo craneal se desarrolla, de modo que en los perros intactos mayores de 5 años de edad la mayor parte de la próstata es abdominal (Gordon, 1961). El tamaño y peso de la próstata varía según la raza, la edad y el peso del animal, considerándose al examen radiográfico un tamaño normal cuando no sobrepasa la medida que equivale al 70% de la distancia entre el promontorio del sacro y el borde craneal del pubis (Feeney *et al.*, 1987). El volumen de la glándula prostática va cambiando en relación directa al desarrollo sexual del animal. Entre los 4 y 16 meses de edad la próstata crece a un nivel constante, lo que se corresponde con el tiempo en que la testosterona aumenta, hasta alcanzar la concentración estándar en un macho adulto (Barsanti y Finco, 1992).

El volumen prostático en mL<sup>3</sup> puede ser estimado al examen ecotomográfico aplicando la siguiente fórmula:  $((\text{Largo} \times \text{Ancho} \times \text{Alto}) / 2,6) + 1,8$ . A pesar de existir diferentes estudios que buscan medir la próstata canina, aún no se ha determinado el tamaño normal, el cual varía con el tamaño corporal, la edad y la raza del animal (Johnston *et al.*, 2000).

La glándula prostática comienza a desarrollarse hacia la sexta semana de gestación, a partir de células germinales ubicadas simétricamente a ambos lados de la uretra pélvica. El tejido epitelial crece y se va diferenciando en tejido glandular, compuesto por acinos glandulares dispuestos en forma radiada y que se abren hacia el ducto uretral. El tejido conectivo y músculo liso, se encuentran rodeando y sosteniendo el tejido glandular, dándole un aspecto ovoideo, y finalmente, una cápsula fibrosa rodea a la glándula externamente (Barsanti y Finco, 1992; Dorfman y Barsanti, 1995).

Las células del epitelio glandular alveolar son de dos tipos:

Epitelio secretor del fluido prostático.

Epitelio basal, localizado a lo largo de la membrana basal y que al parecer correspondería a las células precursoras del epitelio secretor (Barsanti y Finco, 1992).

Histológicamente la glándula presenta diferencias con relación a su epitelio y la distancia de este con la porción uretral de la próstata. En la porción uretral es más bien bajo y cuboidal, con un amplio recambio celular. Zonas más profundas de la próstata evidencian un epitelio columnar alto, mitóticamente inactivo, mientras que hacia la zona capsular el epitelio que también es alto y columnar mantiene una activa división celular. (Johnston *et al.*, 2001a). Las causas de la heterogenicidad regional en el crecimiento, diferenciación y muerte celular, a pesar de la exposición a los mismos niveles circulantes de andrógenos es aún discutida (Lee, 1996).

Además el epitelio columnar de los ductos glandulares se transforma en epitelio de transición en los ductos excretores que se abren hacia la uretra (Barsanti y Finco, 1992; Dorfman y Barsanti, 1995).

Antes de la madurez sexual, el estroma fibromuscular predomina sobre el tejido glandular, razón que se invierte posteriormente. El mayor desarrollo de la glándula prostática ocurre entre las 20 y 32 semanas de edad, tiempo en el cual la concentración de testosterona plasmática aumenta (Barsanti y Finco, 1992; Dorfman y Barsanti, 1995).

La vascularización arterial de la próstata es establecida por intermedio de la rama caudal de la arteria urogenital, que emite las siguientes ramas, la arteria rectal media, pequeña, y a menudo es representada por varias ramas que surgen de la pared dorsal de la arteria prostática, la rama uretral que normalmente surge de la cara ventrocaudal de la arteria prostática, irrigando la porción caudal de la próstata y la uretra adyacente, y la arteria prostática propiamente tal, la cual asume la continuación ventrocaudal de la rama caudal de la arteria urogenital. Esta última rama pasa a la cara dorsolateral del extremo caudal de la próstata, proporcionando varias ramas que penetran en la superficie lateral y otras que irrigan el segmento prostático de la uretra (Ghoshal, 1982). De esta manera en el tejido prostático canino se definen claramente tres áreas de irrigación, la capsular, la parenquimatosa y la región uretral (Stefanov *et al.*, 2000).

La inervación prostática está constituida por el plexo pelviano que es una red fibrosa densa sobre la cara ventrolateral del pliegue rectogenital. El plexo pelviano está bien desarrollado y recibe fibras principalmente de los tres segmentos sacros a través de los nervios pelvianos a lo largo de sus raíces ventrales. Antes de entrar en el plexo forman uno o dos troncos que se anastomosan con los nervios hipogástricos. A través de los plexos secundarios el plexo pelviano inerva los órganos contenidos en toda la cavidad pélvica (Dellmann y McClure, 1982). Ocasionalmente los nervios espláncnicos lumbares sexto y

séptimo contribuyen en la inervación de la glándula prostática dado por la unión de algunas fibras al plexo pelviano mediante el nervio hipogástrico (Yonese *et al.*, 2000).

En el canino, el fluido seminal presenta características muy particulares en su composición bioquímica, ya que no posee fructosa ni ácido cítrico, lo cual se debería al hecho de que no existe un aporte de las vesículas seminales ni de las glándulas bulbouretrales a la secreción seminal. La secreción normal es clara, serosa y se caracteriza por la presencia de enzimas proteolíticas, fosfatos y glucoronidasas, las cuales están en una menor cantidad que en la composición seminal humana. La secreción prostática constituye la tercera fracción del eyaculado, llegando a representar hasta el 95% del volumen seminal total (Barsanti y Finco, 1992; Dorfman y Barsanti, 1995). Contiene un polipéptido complejo en base de zinc, termoestable, hidrosoluble y de bajo peso molecular. Este polipéptido se denomina factor antibacteriano prostático (PAF), dado que posee un amplio espectro de acción antibacteriana (Dorfman y Barsanti, 1995). En el ser humano la cuantificación de ciertas proteínas prostáticas de secreción como el antígeno prostático específico (APS), puede ser utilizado para el diagnóstico y valoración de los tratamientos en la enfermedad prostática, pero en el perro no ha sido consistentemente evidenciada en el suero ni el plasma seminal (Johnston *et al.*, 2001a).

En el perro se ha identificado la proteína llamada “arginina esterasa”, que representa el 90% de las proteínas encontradas en el plasma seminal (Dube *et al.*, 1986; Bell *et al.*, 1995; Frenette *et al.*, 1987). Esta enzima es expresada en el plasma seminal 1000 veces más que en hígado, músculo o páncreas (Johnston *et al.*, 2001a) y presenta una homología genética de un 73% con respecto al APS humano (Dube *et al.*, 1995).

Las concentraciones plasmáticas y seminales de arginina esterasa se encuentran elevadas en perros con HPB en relación a perros normales intactos, pero no difieren significativamente con casos de prostatitis y neoplasias (Dube *et al.*, 1986; Juniewicz *et al.*, 1990; Bell *et al.*, 1995). Por lo tanto es de esperar nuevas investigaciones que orienten aún más y así asignar a esta proteína fines diagnósticos certeros (Gobello *et al.*, 2002)

El pH del fluido prostático se encuentra en el rango cercano a 6,4. En contraste al hombre, el líquido prostático no se alcaliniza ante la presencia de una infección, manteniéndose en rangos ácidos, característica de gran importancia en el momento de la difusión de ciertas drogas hacia la glándula prostática (Barsanti y Finco, 1992; Krawiec, 1994; Dorfman y Barsanti, 1995).

En esta especie, el semen se compone de tres fracciones, la primera es clara y de reducido volumen (0,1-2 mL), siendo producto del tracto uretral y de la glándula prostática (Dorfman y Barsanti, 1995). La segunda fracción es blanquecina y densa, producto del gran número de espermatozoides que posee, su volumen es un poco mayor a la fracción anterior (0,1-4 mL). Tanto la primera como la segunda fracción son eyaculadas durante los primeros tres minutos, mientras que la última y mayor fracción (1-16 mL), que corresponde al fluido prostático, se secreta en los siguientes 35 minutos (Barsanti y Finco, 1992).

La producción del fluido prostático es constante e inferior a 1 mL/h, y es secretado a la porción proximal de la uretra. Si no existe micción o eyaculación durante periodos prolongados, la presión uretral aumenta y desplaza el fluido cranealmente hacia la vejiga, produciéndose un reflujo prostático (Barsanti y Finco, 1992; Dorfman y Barsanti, 1995).

A pesar que los fluidos provenientes de la próstata son constituyentes del semen, aportando un medio ambiente óptimo para la supervivencia y motilidad espermática, no son esenciales para la fertilidad. Cualquier alteración prostática afectará la capacidad reproductiva del individuo sólo en un grado menor, debido principalmente a una disminución del libido y a la presencia de componentes inflamatorios en la secreción prostática que afectan directamente la calidad seminal (Root y Johnston, 1994).

En individuos castrados, las secreciones prostáticas están inhibidas, inversamente a la administración de testosterona que las estimula, de este modo estos animales podrían estar predispuestos a infecciones del tracto urinario inferior y reproductivo, debido a que las

concentraciones de zinc en el fluido prostático se encuentran altamente relacionadas a la producción del andrógeno testicular (Cowan *et al.*, 1991).

### **Signos Clínicos de la HPB en el Perro.**

La HPB se puede considerar como un hallazgo incidental durante un examen clínico de rutina y sólo llegará a producir signología evidente si la prostatomegalia aumenta. La mayor parte de los perros con HPB no presentan signos clínicos. Al examen físico, la próstata no es dolorosa, está aumentada de tamaño y generalmente mantiene su forma simétrica. Su consistencia varía de normal a irregularidad ligera (Barsanti y Finco, 1997; Johnston *et al.*, 2001a).

El signo más representativo de la HPB es el tenesmo, asociándose a la intromisión e impactación de la próstata sobre el recto en el canal pélvico (Kay, 1996; Johnston *et al.*, 2001a).

Si el crecimiento prostático es pronunciado, la obstrucción de la uretra puede generar disuria, signo inusual en el canino a diferencia del hombre, dado que en el perro la uretra se reviste de menor tejido prostático, producto que la hiperplasia se produce básicamente hacia el exterior de la glándula. Empero, la presentación de este signo se observa en hiperplasia glandular con base inflamatoria crónica, habiendo o no prostatomegalia (Johnston *et al.*, 2001a).

Estudios revelan al examen histopatológico que el mayor grado de hiperplasia se encuentra en la porción externa (*Corpus prostatae*), sin mayor compromiso de la porción interna (*Pars disseminata distalis*) donde se observa una moderada hiperplasia glandular y proliferación fibromuscular sin afectar la integridad del epitelio de la uretra prostática ni la viabilidad de la misma (Peña y Dominguez, 1997).

La hematuria y el exudado prepucial sanguinolento se observa con frecuencia en la mayor parte de las enfermedades prostáticas. Sin embargo, en animales con HPB no complicada, este signo se hace poco evidente hasta que no se presente una prostatomegalia marcada. El exudado uretral hemorrágico no séptico puede manifestarse de manera intermitente o persistente. Concomitante a estos signos la presentación de hematoespermia puede resultar cercano al 70% de los casos (Barsanti y Finco, 1997; Kay, 1996; Johnston *et al.*, 2001a).

### **Diagnóstico de la HPB.**

A veces la localización y definición de la etiología de las enfermedades prostáticas constituye un verdadero desafío. El método ideal para el diagnóstico debería localizar la enfermedad y ayudar a descartar otras regiones del tracto urinario y reproductivo como posibles sitios de origen de la afección. En la HPB no se afectan los datos hematológicos ni los parámetros de la bioquímica sérica (Kay, 1996).

Estudios demuestran que la HPB es la enfermedad prostática más comúnmente diagnosticada en el perro y sin predisposición por razas (Read y Bryden, 1995).

La posición de la próstata depende de la distensión vesical, de la edad y la conformación del perro, así como del aumento del tamaño patológico de la próstata. Una próstata inmadura o involucionada en un perro castrado puede ser demasiado pequeña para visualizarse en radiografías (Slatter, 1995).

La próstata se localiza ventral al recto y dorsal al pubis, a nivel medio del canal pélvico. Es globular, con una media de 2 a 3 cm. de diámetro. La uretra pasa a través de ella por la porción céntrica. Ocupa un espacio en la pelvis entre el recto y la vejiga. El grado de distensión de la vejiga afecta a la posición prostática, de tal manera que si la vejiga está

distendida, desplaza cranealmente a la próstata hacia el abdomen, mejorando su visualización radiológica y ecotomográfica (Lasaosa, 1992).

Las radiografías abdominales de escrutinio confirman un crecimiento prostático leve a moderado. Al presentarse un aumento que determine la desituación hacia la cavidad abdominal, la próstata aparece en la radiografía como una masa relativamente densa, de contornos lisos, anterior y ventral con respecto al borde pélvico, en la posición que normalmente ocupa la vejiga, la cual, a su vez, se desplaza hacia craneal, pudiendo ser difícil distinguir entre ambas estructuras, debiendo recurrir a agentes de contraste como es la uretrografía retrógrada (Lasaosa, 1992; Johnston *et al.*, 2001a).

La ultrasonografía, más que una alternativa independiente, se plantea como un complemento a las técnicas de laboratorio y su uso es cada vez más frecuente en el diagnóstico y tratamiento de patologías prostáticas (Cartee *et al.*, 1990).

La ultrasonografía es más informativa y sensible que la radiología para detectar una enfermedad prostática intraparenquimatosas, pero ninguna de las dos es específica para investigar la causa subyacente. Con esta técnica se evalúan tamaño forma, simetría, ecogenicidad y áreas cavitacionales (Slatter, 1995).

La forma de la glándula prostática normal varía de elipsoide a redonda, pero siempre debe ser simétrica. Esta simetría se evalúa favorablemente en el plano transversal de la glándula (Cartee y Rowels, 1983).

La característica de bilobulación no siempre aparece en el estudio sonográfico, identificándose una imagen bilobulada principalmente en el plano transversal (Finn y Wrigley, 1991).

Al plano longitudinal, la uretra se visualiza como una estructura lineal anecoica en el plano dorsal de la glándula (Cartee y Rowels, 1983; Finn y Wrigley, 1991).

Los márgenes de la glándula prostática normal deberían ser lisos y continuos. A diferencia del humano, la cápsula no aparece como una estructura individual de gran ecogenicidad (Finn y Wrigley, 1991).

La glándula prostática normal muestra una ecogenicidad variable, mostrando un parénquima homogéneo de textura fina. La arquitectura normal presenta áreas pequeñas anecoicas, menores a 0,5 cm de diámetro. Estas áreas se interpretan como acumulaciones de fluido prostático en los ductos, o bien como tejido glandular con alta cantidad de fluido. Pueden estar presentes en un diagnóstico precoz de hiperplasia prostática benigna (Cartee y Rowels, 1983; Finn y Wrigley, 1991).

Una próstata anormal por lo general presenta un aumento de tamaño, sin embargo en ciertas patologías cirróticas esta tiende a mantener su tamaño o incluso disminuir. Su forma y simetría sólo se altera ante procesos neoplásicos, quísticos y abscedativos (Finn y Wrigley, 1991).

La ecogenicidad de la glándula prostática es la primera característica ecográfica que se altera ante un proceso patológico, el aumento de la ecogenicidad de la glándula aparece como resultado de procesos fibróticos, debido a la inflamación crónica de la glándula, neoplasias e hipertrofia glandular, mientras que la disminución de la ecogenicidad se ha descrito principalmente en procesos inflamatorios agudos (Finn y Wrigley, 1991).

Se identifican patologías quísticas cuando el parénquima de la glándula presenta lesiones focales o multifocales de diferente forma, tamaño y regularidad, las cuales se visualizan como estructuras circunscritas, anecoicas y a veces septadas. Las patologías sólidas son más bien difusas, y su parénquima se aprecia hiperecogénico debido a procesos de mineralización (Finn y Wrigley, 1991).

No se han podido relacionar claramente las características ecográficas con estudios de cultivos bacterianos de lesiones prostáticas quísticas, pero se ha establecido que los aspirados de quistes, con un diámetro menor a 1 cm no presentan desarrollo de colonias. Los de dimensiones mayores de 2 cm. Presentan generalmente desarrollo bacteriano, tanto grampositivo como gramnegativo (Ling *et al.*, 1990).

Pueden ser diagnosticados por medio de estudios ecotomográficos los signos más evidentes de patologías prostáticas, como son el aumento de volumen de la glándula, hiperplasia glandular, cambios quísticos, fibrosis secundarias a inflamación, abscesos, mineralizaciones y cambios infiltrativos (Hager *et al.*, 1985; Finn y Wrigley, 1991).

Los signos ecográficos específicos asociados a patologías prostáticas preestablecidas, requieren de un estudio complementario citológico e histopatológico para establecer el diagnóstico definitivo. Presente esta situación, la técnica de aspirado prostático se utilizará ante procesos quísticos y la biopsia ante la presencia de masas sólidas o difusas (Cartee y Rowels, 1983; Finn y Wrigley, 1991).

Producto del desarrollo de la técnica ultrasonografía, la toma de biopsia se ha visto beneficiada por el uso de guía ecográfica, que permite dirigir la aguja de biopsia al sitio indicado. Las muestras obtenidas se pueden emplear en estudios bacteriológicos y exámenes histopatológicos (Ling *et al.*, 1990).

La biopsia percutánea y la aspiración con aguja fina han llegado a ser técnicas de rutina en la práctica de pequeños animales, debido a la posibilidad de monitorear el procedimiento durante su realización, a la capacidad de alcanzar lesiones en distintos planos de profundidad, a la rapidez y mínima invasividad, seguridad en la obtención de la muestra y al mayor número de muestras positivas (Léveillé *et al.*, 1993).

El abordaje de la glándula prostática con esta técnica se lleva a cabo por vía transabdominal o transperineal, siendo el primero más común que el segundo cuando las próstatas son de gran tamaño y se ubican netamente en el abdomen (Finn y Wrigley, 1991).

El sitio a puncionar en la superficie abdominal se selecciona basándose en la imagen ecotomográfica, la profundidad se define por medio del cursor que despliega el equipo. La aguja se introduce paralela a la posición del transductor, formando un ángulo que variará con la profundidad del tejido a biopsiar (Finn y Wrigley, 1991). La aguja de biopsia es visulizada desde el principio, como una estructura hiperecogénica, móvil y lineal (Finn y Wrigley, 1991).

Los instrumentos esenciales para la realización de esta técnica son las agujas de biopsia, capaces de obtener una muestra de tejido suficiente para el estudio histopatológico, ya sean de disparo automático, de manejo libre por el operador y otras directamente asociadas al transductor, permitiendo la realización de la biopsia guiada y ecotomografía con una sola mano (Léveillée *et al.*, 1993; Finn y Wrigley, 1991).

Con la aguja de disparo automático, la biopsia se realiza a medida que la aguja va avanzando hacia la profundidad deseada, encontrando el tejido blanco. Cuando se utiliza una pistola de disparo automático se debe ubicar la aguja en el tejido adecuado, antes de que sea disparada para obtener la muestra. Características propias del parénquima prostático, especialmente su hiperecogenicidad con respecto al resto de los órganos abdominales, hace más difícil la visualización de la aguja. Las complicaciones de este procedimiento dependerán de la experiencia del operador, el tipo de biopsia a realizar y de la naturaleza de la lesión. Sin embargo, estas son menos frecuentes que las generadas al realizar la técnica sin guía ecográfica, donde los beneficios sobrepasan de manera clara y certera al riesgo del procedimiento (Hager *et al.*, 1985).-

Dentro de las complicaciones más frecuentes encontradas se citan hemorragias post biopsia en el sitio de punción, sepsis o peritonitis debido a la punción de procesos sépticos,

hematuria persistente y, en menor grado, diseminación de células cancerosas por el recorrido realizado por la aguja (Léveillé *et al.*, 1993).

### **Fisiopatología de la HPB.**

La HPB es una condición de tipo benigna que se relaciona directamente con la edad del individuo, asociándose de manera primordial a una variación de la relación andrógenos-estrógenos y principalmente a una estimulación sostenida de la 5 $\alpha$ - dihidrotestosterona (DHT) sobre los componentes glandulares y del estroma, por lo que requiere la funcionalidad testicular para que esta se produzca (Barsanti y Finco, 1992; Dorfman y Barsanti, 1995; Bell *et al.*, 1995; Ewing *et al.*, 1983).

Los estrógenos también contribuyen de manera importante al desarrollo de la HPB durante el envejecimiento de los perros machos. Los valores séricos de estrógenos permanecen constantes, en tanto que disminuyen las concentraciones de testosterona y DHT alterando la relación andrógenos-estrógenos, siendo estos últimos los que inducen receptores a DHT nucleares y en consecuencia aumentar la sensibilidad de la próstata a DHT (Barsanti y Finco, 1994; Kawakami *et al.*, 2001). De este modo se ha demostrado la dependencia dosis dependiente del crecimiento prostático con la concentración sérica de estrógenos, desencadenando en muchos casos una metaplasia escamosa concomitante a la HPB (Rhodes L *et al.*, 2000; Johnston *et al.*, 2001a).

El peso prostático es correlacionado positivamente con las concentraciones intraprostáticas de DHT, pero este incremento de las concentraciones no ha sido demostrado consistentemente en animales con HPB (Ewing *et al.*, 1983)

Más del 80 % de los perros no castrados sobre 5 años de edad presentan la HPB, donde el volumen prostático se ve incrementado de 2 a 6,5 veces por sobre lo normal en perros de igual peso y condición (Laroque *et al.*, 1995; Johnston *et al.* 2000).

Los andrógenos tienen diferentes funciones durante distintas etapas de la vida. En el transcurso de la etapa embrionaria, estas hormonas virilizan las vías urogenitales del embrión, estimulando y desarrollando el sistema wolffiano y de los genitales externos del feto. La secreción de andrógenos desde la pubertad en adelante está regulada por la participación de la hormona luteinizante (ICSH) sobre las células testiculares de Leydig o intersticiales, incrementando la producción de AMPc que incrementa la actividad de varias enzimas de la vía esteroidogénica, entre ellas la enzima de desdoblamiento de la cadena lateral del colesterol hacia la formación de andrógenos (Miller, 1998). La testosterona no sólo se sintetiza en las células intersticiales de los testículos, sino también en pequeñas cantidades por los ovarios y la corteza adrenal de ambos sexos, siendo regulada la producción adrenal por la acción de la corticotrofina (ACTH). Las moléculas precursoras a la testosterona derivadas del colesterol son la deshidroepiandrosterona y la androstenodiona, las cuales pueden secretarse desde las gónadas y de la corteza adrenal en ambos sexos y posteriormente en el hígado convertirse a testosterona (Rang *et al.*, 1994a). Los metabolitos de la DHT, como son el  $5\alpha$ -androstano- $3\alpha$ ,  $17\beta$  diol y androsterona. Son moléculas muy débiles que no pueden actuar de manera directa como hormonas a concentraciones fisiológicas, y en la actualidad se cree, que son andrógenos únicamente al grado que se convierten en testosterona (Wilson, 1996). Sin embargo Ding *et al.* (1998) consideran principalmente al  $5\alpha$ -androstano- $3\alpha$ ,  $17\beta$  diol como posibles inductores y amplificadores de la patología prostática. Estos andrógenos, unidos a la globulina ligadora de hormonas sexuales, la cual presenta receptores en la membrana prostática, permiten un aumento de la respuesta androgénica, mediada por un incremento de las concentraciones de AMPc intracelular, activando la protein-kinasa A, que aumentaría la transcripción y expresión de receptores androgénicos en la célula prostática ((Ikonen *et al.* 1994; Nakhla *et al.*, 1995; Ding *et al.*, 1998).

El epitelio secretor de la glándula prostática expresa niveles altos de receptores androgénicos y la mantención de su estructura y funcionalidad en el perro adulto ha demostrado ser dependiente de la acción androgénica. Estos receptores también se

encuentran en el epitelio fibro-muscular de la glándula (Choong *et al.* 1998). La distribución de los receptores androgénicos es preferentemente en la región ventral de la próstata canina (Lu *et al.*, 2001).

En todos los mamíferos la testosterona circulante es metabolizada por la 5 $\alpha$ -reductasa hacia 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT), pero aún sólo ha sido identificada en tejido de humanos, primates no humanos, caninos, ratas y ratones (Liang *et al.*, 1985; Span *et al.*, 2000; Russell y Wilson, 1994). Esta enzima presenta dos isoenzimas, la tipo I y tipo II, expresadas por distintos cromosomas. En la próstata humana, el epitelio secretor expresa sólo la isoenzima tipo I, mientras que el tejido fibromuscular ambas isoenzimas (Bruchovsky *et al.*, 1996)

Estudios realizados por Murakoshi *et al.* (2000) en la próstata canina demuestran mediante técnicas de inmunotinción la presencia de las dos isoformas de 5 $\alpha$ -reductasa. La inmunoreactividad para la 5 $\alpha$ -reductasa tipo I se presentó exclusivamente en el tejido glandular secretor, y en el tejido fibromuscular la inmunoreactividad fue positiva para la isoforma tipo II. En el canino la secuencia aminoacídica de estas isoenzimas es homologable a las humanas en un 83% para la Tipo I y en un 88% en la Tipo II (Span *et al.*, 2000).

La DHT regula el crecimiento prostático debido a que es un metabolito con mayor potencia androgénica, debido a una afinidad mucho mayor que la testosterona con el receptor androgénico específico presente en las células prostáticas (Wilson, 1996; Grino *et al.*, 1990). Este receptor intracelular específico, unido al núcleo y principalmente a elementos reguladores sobre los cromosomas, induce un aumento de la actividad de polimerasas del ARN y un incremento de ARNm específico para los procesos de síntesis proteica (Rang *et al.* 1994b).

La castración reduce el volumen e induce atrofia de los elementos del estroma y del epitelio glandular, debido a una disminución en la metabolización androgénica. Los

andrógenos controlan tanto el crecimiento como la diferenciación celular, sin embargo los mecanismos de cómo alterarían la maquinaria celular, y principalmente de esto dos procesos es aún desconocido (Waltregny *et al.*, 2001). El tamaño prostático post castración se reduce en un 50% alrededor de la 3ª semana y un 70% cerca de la 9ª semana posterior a ella (Barsanti y Finco, 1995; Johnston *et al.*, 2001a). Las concentraciones séricas de DHT descienden en un 98 % posterior a la cirugía y la descarga uretral sanguinolenta muestra una completa resolución hacia las 4 semanas posteriores a este procedimiento (Johnston *et al.*, 2001a).

Se afirma además que los perros con HPB no contienen más DHT, sino que presentan mayor número de receptores a este metabolito activo de la testosterona (Klausner *et al.* 1997; Dube *et al.*, 1981).

Este proceso patológico se describe en el hombre y el canino. En el primero la HPB es caracterizada por presentar un patrón estromal en la porción periuretral de la próstata, mientras que en el perro la presentación es más bien de tipo glandular y difuso, afectando el volumen y peso de la próstata directamente. La HPB canina ocurre en dos fases, glandular y compleja. En perros menores de cinco años de edad la HPB es glandular y se caracteriza por el crecimiento simétrico de la próstata; las células secretoras están aumentadas en número y tamaño. Esta proliferación es principalmente epitelial, con invasión mínima de estroma. La hiperplasia compleja que se observa en perros mayores de cinco años y se distingue por el crecimiento asimétrico de la próstata, con áreas de hiperplasia glandular entremezcladas con zonas de atrofia. Los cambios en la estructura glandular se traducen en una marcada proliferación del epitelio y del estroma, asociada a la presentación de quistes intraparenquimatosos (Coffey y Walsh, 1990).

Mahapokai *et al.* (2000) mediante un estudio en grupos de perros de distintas edades, concluyeron que los efectos androgénicos difieren sobre los distintos tipos celulares que componen el acino prostático. De importancia es el efecto manifestado sobre las células basales precursoras del epitelio secretor en perros de edad avanzada, las cuales se

mantienen constantes en número luego de ser sometidos estos a la castración. Esto no ocurre en perros jóvenes, validando aún más la predisposición que los animales tienen al aumentar la edad.

Acompañando a este cambio histológico de la HPB, en la región periglandular y ocasionalmente en el estroma se produce una marcada infiltración linfocitaria, predominantemente de linfocitos T, y en menor cantidad linfocitos B (Mahapokai *et al.*, 2001). Se considera además que los elementos del estroma prostático también pueden contribuir a la patogenia de la HPB. Existen amplias conexiones entre el estroma prostático, la membrana basal, el citoesqueleto de células epiteliales y su núcleo. El estroma prostático tiene propiedades inductoras parecidas a las embrionarias y se ha demostrado que las alteraciones del estroma estimulan la función y proliferación de células basales precursoras de las células epiteliales (Klausner *et al.*, 1997; Lee, 1996; Chevalier *et al.*, 1991). Estas conexiones dependerían de factores inductores autocrinos y paracrinos como las endotelinas, secretadas por el epitelio secretor para estimular su propio crecimiento (Ishizaka *et al.*, 1999).

Giri e Ittmann (2001) evidenciaron en cultivos celulares primarios de células epiteliales y del estroma prostático una estrecha relación en la proliferación celular, efecto atribuido a la participación de la interleuquina 8 (IL-8) inducida por lipopolisacárido.

La IL-8 producida por las células epiteliales, es una potente inductora del Factor de Crecimiento Fibroblástico (FGF-b) por parte de las células del estroma, el cual es un factor mitogénico del epitelio secretor y estroma en el desarrollo de la HPB en el hombre (Begun *et al.*, 1995; Lawson, 1997).

Paubert-Braquet *et al.* en 1998, determinaron que este factor influye exclusivamente sobre las células epiteliales secretoras de la próstata, no ejerciendo su acción mitogénica sobre las células basales del acino prostático.

Otro factor mitogénico es el Factor de Crecimiento Epidermal (EGF), expresado y secretado por las células en crecimiento. La regulación genética para la expresión de estos factores peptídicos implica la participación directa de hormonas esteroidales, tales como la progesterona, estrógenos y glucocorticoides, además de hormonas tiroideas, siendo los andrógenos los de mayor implicancia en la expresión de estos factores y sus receptores específicos (Sciarra 1995; Pascall, 1997).

Las hormonas hipotalámicas como la oxitocina y la prolactina también juegan un rol importante en el metabolismo y desarrollo de la patología prostática. Por ejemplo, se observó que en próstatas de ratas las condiciones de hiperprolactinemia inducen un amplio desarrollo celular glandular e inflamatorio, evidenciándose además una reducción en el grado de apoptosis de estas células en proliferación y un aumento de la expresión de receptores androgénicos (Costello *et al.*, 2000; Van Coppenolle *et al.* 2001; Odoma *et al.*, 1985). La oxitocina por su parte incrementa directamente la acción de la  $5\alpha$ -reductasa, y de esta manera ayudar el desarrollo de la HPB (Nicholson y Jenkin, 1995)

### **Tratamiento Farmacológico de la Hiperplasia Prostática Benigna en el Perro.**

Se han implementado diversas terapias a través del tiempo, siendo hoy en día los de mayor uso los antiandrógenos como son los progestágenos sintéticos o la flutamida, además de inhibidores de la  $5\alpha$ -reductasa. La alternativa quirúrgica como la castración ha sido considerada benéfica para la resolución de la HPB en el perro, sin embargo, cabe resaltar los efectos que este procedimiento tiene sobre perros en edad reproductiva.

### **Estrógenos.**

La terapia estrogénica oral y parenteral ha demostrado reducir el tamaño prostático y los signos asociados a la HPB. Los estrógenos inducen atrofia prostática, ejercen un control de retroalimentación en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, disminuyendo la producción de

la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), de hormona folículo estimulante (FSH) y de testosterona sérica a niveles de castración (Barsanti y Finco, 1997).

La estrogénoterapia en dosis pequeñas actúa reduciendo principalmente el tamaño prostático, pero es posible que no tenga efecto sobre los quistes intraparenquimatosos (Barsanti y Finco, 1997). Dosis de 0,2-1 mg de Dietilbestrol por 2 a 3 días PO durante 3 a 4 semanas, reduce de manera significativa la capacidad secretora de la próstata durante 2 meses (Johnston *et al* 2000).

Los potenciales efectos colaterales de estos fármacos deben ser comparados con sus beneficios clínicos en cada caso antes de asumir la decisión de prescribirlos. La leucocitosis inicial con desviación a la izquierda es seguida por una marcada mielosupresión, resultando en una anemia intensa, trombocitopenia y leucopenia. Aunque los estrógenos en dosis reducidas disminuyen el tamaño glandular, la administración repetida y sobredosificada puede inducir un crecimiento del estroma fibromuscular, metaplasia escamosa y éstasis secretorio. Estas modificaciones pueden generar un mayor grado de predisposición para la formación de quistes, prostatitis bacteriana y abscedación, por lo que su recomendación para el tratamiento hoy en día, ha sido reemplazada por otros medicamentos (Barsanti y Finco, 1997; Berry *et al.*, 1986).

### **Antiandrógenos.**

Las antiandrógenos son considerados como las sustancias que bloquean la síntesis de andrógenos o inhiben la acción de estas hormonas en las células efectoras (Wilson, 1996; Estévez, 2001). Todos los antiandrógenos conocidos interfieren con los efectos de los andrógenos, sin embargo, debido a sus diferentes mecanismos de acción los efectos biológicos de estos fármacos y su impacto sobre las hormonas plasmáticas, particularmente la testosterona, es muy diferente (Estévez, 2001). Se clasifican en cuatro grupos de acuerdo a su acción:

### **Bloqueadores de receptores androgénicos o antiandrógenos puros.**

Se les denomina antiandrógenos puros, de características químicas no esteroideas y sin efectos antigonadotróficos. Por ejemplo la flutamida, es un antiandrógeno no esterooidal desprovisto de otra actividad hormonal, potente inhibidor competitivo a dihidrotestosterona en los receptores androgénicos. Los tratamientos basados en este medicamento demuestran un alza de las concentraciones de testosterona sérica y LH, asociado al alza de gonadotrofinas, debido al bloqueo de la retroalimentación inhibitoria sobre el hipotálamo, donde también se ejerce su efecto (Wilson, 1996; Goldfien, 1999a; Marchetti y Labrie, 1988). Dosis de 5 mg/kg/día PO por siete semanas consecutivas reducen notablemente los diámetros prostáticos, luego de 14 días de uso (Cartee *et al.*, 1990). No se evidencian cambios en la libido, producción espermática y fertilidad. La hiperplasia tiende a recurrir a las diez semanas de cesado el tratamiento (Barsanti y Finco, 1997).

Los efectos adversos más comunes en el ser humano se refieren a la inducción de hepatopatía toxica reversible en algunos casos y en otros insuficiencia hepática progresiva como consecuencia del uso de dosis terapéuticas, limitando su uso para el tratamiento de la HPB en el perro (Wilson, 1996; Goldfien, 1999b).

### **Inhibidores de la síntesis de andrógenos.**

Representados mayoritariamente por los análogos agonistas de la GnRH, como son el Decapeptil, Leuprolida, Buserelina, Nafarelina, Deslorelina e Histrelina, todos con una potencia mayor que la GnRH, debido a una menor proteólisis y mayor afinidad por receptores a GnRH (Ascoli y Segaloff, 1996).

La administración continua de análogos de GnRH suprime la liberación de gonadotrofinas al desensibilizar los gonadotropos, lo que origina una supresión de la secreción de esteroides gonadales, semejante a lo que ocurre en la castración; suprimiendo la esteroidogénesis y gametogénesis de manera reversible (Ascoli y Segaloff, 1996). Los resultados obtenidos post administración de estos compuestos, se caracteriza por presentar

dos fases, que se explican netamente por los mecanismos inductores propios del medicamento. En un comienzo, que comprende la primera semana de tratamiento, los niveles de testosterona sérica en los machos tratados aumenta sustantivamente, declinando drásticamente a niveles de castración en los siguientes siete días de tratamiento. Los niveles de dihidrotestosterona intraprostática se reducen en un 70 a 95 % (Lacoste *et al.*, 1989a).

El uso de estos compuestos en animales sólo se ha implementado de manera experimental en el desarrollo de investigaciones para el tratamiento de cáncer prostático en humanos. La administración parenteral de soluciones de depósito o de implantes, determina atrofia epididimal, testicular y prostática, debido a que las concentraciones de testosterona decrecen a concentraciones de castración (Cukierski *et al.*, 2001; Okada *et al.*, 1994).

Los antimicóticos de la clase imidazol, como el Ketoconazol debido a sus propiedades farmacológicas, tienen como efecto secundario la capacidad para inhibir la síntesis suprarrenal y gonadal de esteroides. Este compuesto inhibe las enzimas citocromo P450<sub>sc</sub>, encargada de romper la cadena lateral del colesterol, la 17  $\alpha$  hidroxilasa y 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa, implicadas en la biosíntesis de hormonas esteroidales. El uso de estos compuestos es limitado debido a la escasa reducción que tienen sobre la biosíntesis androgénica específicamente (Lacoste *et al.*, 1989b; Krawiec y Heflin, 1992; Goldfien, 1999a).

### **Inhibidores de la 5 $\alpha$ reductasa.**

Debido a que la conversión de testosterona en dihidrotestosterona es esencial para lograr los efectos androgénicos deseados, la inhibición de la enzima 5  $\alpha$  reductasa debe bloquear de modo selectivo el efecto androgénico en los tejidos en los cuales la producción continua de dihidrotestosterona es preponderante (Wilson 1996; Goldfien, 1999a).

El azasteroide finasteride es un inhibidor competitivo que bloquea de manera preferencial la isoenzima tipo II, y en un menor grado la isoenzima tipo I (Wilson, 1996; Cohen *et al.*, 1995).

El finasteride administrado por vía oral, reduce las concentraciones séricas y prostáticas de DHT, fuera de afectar las concentraciones séricas de testosterona, cortisol, estradiol, hormona luteinizante, prolactina y TSH en el hombre con HPB (Johnston, 2000; Shibata *et al.* 2001).

Estudios realizados en perros con HPB espontánea, demuestran que a dosis de 0,1 a 0,5 mg/kg SID, PO por 16 semanas consecutivas, reducen el diámetro prostático en un 20% y el volumen prostático en un 43%, debido a una reducción significativa del estroma y epitelio glandular, además de una reducción de un 58% en las concentraciones séricas de DHT, sin afectar las concentraciones séricas de testosterona. Los signos asociados a la HPB como son la constipación, tenesmo y la presencia de sangre en el fluido seminal disminuyeron después de la primera semana de tratamiento (Cohen *et al.*, 1995; Laroque *et al.*, 1995; Johnston *et al.*, 2000; Sirinarumitr *et al.*, 2001).

Kamolpatana en 1998 trabajó en células prostáticas obtenidas de la tercera fracción del eyaculado, demostrando que la involución prostática en perros con HPB espontánea se debe a procesos apoptóticos (Johnston *et al.*, 2000).

El tratamiento con finasteride en el perro con HPB, reduce de manera significativa el volumen seminal, pero no afecta la composición de éste, manteniendo constante el espermiograma, histología testicular y la fertilidad (Iguer-Ouada y Verstgen, 1997; Johnston *et al.*, 2000;). Aunque este fármaco tiene muy poco efecto en la libido puede causar anomalías fetales si se encuentra en el semen (Barsanti y Finco, 1997).

Es importante señalar que en el hombre el finasteride reduce en un 50% la determinación del antígeno prostático sérico (PSA), interfiriendo en diagnóstico precoz del

cancer prostático, lo que ha limitado fuertemente su uso hoy en día para el tratamiento de la HPB (Guess *et al.*, 1993)

### **Progestágenos.**

Los progestágenos sintéticos como la medroxiprogesterona, el acetato de megestrol, el melengestrol, la clormadinona acetato, la altrenogestona, el norgestomet y proligestona entre otros, más resistentes que la progesterona a la metabolización, presentan diversas potencias y duración del efecto farmacológico. Sus principales usos están asociados a planes de control o supresión del estrógeno y ovulación según la especie, para reducir la pérdida embrionaria en la gestación temprana y avanzada, sincronización de celos y como promotores del crecimiento en especies de abasto, incrementando el consumo de alimento y reduciendo la actividad física. De igual manera el acetato de megestrol se indica para trastornos dermatológicos felinos como la dermatitis miliar, seborrea focal, alopecia endocrina, queratopatía proliferativa y granuloma eosinofílico (Thompson, 1995; Gosselin y Chalifoux, 1981).

Llamados antiandrógenos esteroideos, inhiben la  $5\alpha$  reductasa, inducen apoptosis y suprimen la secreción de gonadotropinas y por lo tanto disminuyen las concentraciones de testosterona plasmática. Entre estas, las más utilizadas para el tratamiento de la HPB en el perro se encuentran al megestrol acetato, medroxiprogesterona y clormadinona acetato (Shibata *et al.*, 2001).

La administración SC de de 3-4 mg/kg de medroxiprogesterona de depósito cada 4 semanas demuestra una disminución sérica de las concentraciones séricas de testosterona y una disminución en el número de receptores androgénicos en la glándula prostática (Bamberg-Thelen y Linde-Forsberg, 1993). La próstata disminuye su tamaño en un lapso de 4 a 7 semanas post administración, observándose recidivas a los 10 meses de iniciado el tratamiento (Bamberg-Thelen y Linde-Forsberg, 1993; Johnston *et al.*, 2000). La medroxiprogesterona no causa alteraciones en la calidad seminal, la libido, tamaño y consistencia testicular a las dosis terapéuticamente sugeridas, pero la administración de

dosis mayores a 20 mg /kg SC por una sola vez producen una rápida y significativa reducción del volumen, recuento y motilidad espermática como también alteraciones en su morfología. Este efecto es rápido, lo que mantiene las concentraciones de LH normales, sugiriéndose una acción directa de la medroxiprogesterona sobre la maduración espermática directamente a nivel del epidídimo (England, 1997; Johnston *et al.*, 2001b).

Su uso es limitado para una terapia sostenida en el tiempo, debido a los potenciales efectos inductores de diabetes mellitus, hipotiroidismo en un pequeño porcentaje y la formación de nódulos en la línea mamaria (Bamberg-Thelen y Linde-Forsberg, 1993; Johnston *et al.*, 2000; Johnston *et al.*, 2001b). Al examen histopatológico se describen efectos directos sobre la glándula adrenal, atrofia severa de la zona fascicular y reticular como también hepatopatía inducida por esteroides en la gran mayoría de los animales tratados (Selman *et al.*, 1995; Selman *et al.*, 1997).

La evaluación de la administración de clormadinona acetato a dosis entre 0,03 a 0,3 mg/kg/día PO por seis meses consecutivos en perros con HPB espontánea, producen una marcada atrofia del epitelio glandular prostático, no así del tejido fibromuscular. Para ambos tejidos se evidencia una marcada reducción del número de receptores androgénicos en adición a la fuerte inhibición de la 5  $\alpha$  reductasa tipo I y II. Por otra parte se demuestra que la clormadinona acetato a estas dosis no afecta la estructura ni funcionalidad testicular y adrenal, respondiendo activamente ambas estructuras a estímulos de por LH y ACTH (Murakoshi *et al.*, 1998; Murakoshi *et al.*, 2000; Murakoshi *et al.*, 2001).

Sin embargo estudios más antiguos de Kawakami *et al* en 1993, demuestran que el uso de dosis mayores de 2 mg/kg por 4 semanas produce un descenso en el recuento y motilidad espermática y un aumento de anormalidades. Otros estudios indican que una terapia corta de 7 días a dosis de 2 mg/kg/día PO reduce notablemente el volumen prostático, cercano al 80%, incluso posterior a los tres meses de iniciado el tratamiento sin manifestaciones de efectos adversos al igual que con dosis más reducidas (Orima *et al.*, 1995). Esta aplicación en conjunto a la implantación subcutánea de clormadinona acetato

(10 mg/kg) proporcionan una alternativa terapéutica en el tratamiento de la HPB, resolviendo en una semana de tratamiento los signos clínicos como la disuria y hematuria, incluso una reducción del tamaño prostático cercano al 40 % a las 40 semanas de terminado el tratamiento. Los efectos adversos más recurrentes se demuestran histopatológicamente, con una marcada reducción de las células germinales y diámetros de los túbulos seminales hasta las 24 semanas de finalizado el tratamiento. Con este esquema las concentraciones de LH se mantienen sin fluctuaciones considerables (Kawakami *et al.*, 1998).

El acetato de megestrol, molécula utilizada décadas atrás en medicina humana para la terapéutica antineoplásica endometrial, mamaria y prostática, ha demostrado ser efectivo para tratar los trastornos asociados a la HPB en el perro (Padilla *et al.*, 1990; Rang *et al.*, 1994c; Goldfien, 1999b). La administración oral de 0,5 mg/kg/SID por 4 semanas resuelve todos los síntomas relacionados a la HPB (Klausner *et al.*, 1997).

Los mecanismos de acción del acetato de megestrol se ejercen mediante un “feedback” negativo sobre la glándula hipófisis, efecto que reduce la secreción de gonadotrofinas y las concentraciones séricas de testosterona circulantes; además inhibe competitivamente la unión de la DHT a sus receptores intracelulares, reduce la expresión de estos receptores y reduce directamente la acción de la 5 $\alpha$  reductasa, disminuyendo las concentraciones intraprostáticas de DHT (Johnston *et al.*, 2001a; Klausner *et al.*, 1997; Geller *et al.*, 1982).

Estudios demuestran que la administración de 2 mg/kg PO por 7 días de acetato de megestrol, evidentemente superiores a las terapéuticas no afecta la calidad seminal. A dosis de 4 mg/kg PO por 7 días, el volumen seminal se ve levemente disminuido y se presenta un pequeño porcentaje de defectos morfológicos en los espermatozoides. (England, 1997; Johnston *et al.*, 2001b).

Los efectos adversos más comunes en perros tratados incluyen ganancia de peso y polifagia a las primeras semanas de tratamiento (Johnston *et al.*, 2001b). Esto se explicaría

debido a la significativa reducción de moléculas anorexígenas como la IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 y TNF- $\alpha$  (Mantovani *et al.*, 1995; Loprinzi *et al.*, 1993).

Diversos estudios demuestran las propiedades similares a glucocorticoides del acetato de megestrol que, administrado a dosis moderadas induce supresión secundaria de la corteza adrenal, ya que afecta la liberación de CRH, provocando cambios funcionales y morfológicos de la glándula adrenal, reflejados en una reducción sostenida de los niveles plasmáticos de ACTH y cortisol no así de los niveles basales de FSH, LH, TSH y T<sub>4</sub> libre, lo que indica una normalidad en la función hipofisaria (Naing *et al.*, 1999; el Etreby *et al.*, 1987).

Ensayos realizados en felinos, demuestran que adicionalmente a los efectos supresores del acetato de megestrol sobre la corteza adrenal debido a la propiedad glucocorticoide intrínseca de esta molécula (Peterson, 1987; Poyet y Labrie, 1985), se menciona que al ser administrado por largos periodos de tiempo, se induce un estado progresivo de intolerancia a la glucosa, con un incremento significativo de las concentraciones plasmáticas de esta e insulina, y un decremento del “clearance” de estas, proceso que puede persistir hasta cuatro semanas de retirado el tratamiento (Church *et al.*, 1994).

### **Extractos estandarizados de *Serenoa repens* (ELSR).**

El tratamiento médico de la HPB en el ser humano se ha orientado al uso de medicamentos que junto con poseer una eficacia adecuada signifiquen la menor cantidad de efectos secundarios posibles.

*Serenoa repens* o *Sabal serrulata* es una palma que pertenece a la familia *Areceae*, cuyo nombre inicial deriva del botánico Sereno Watson y del latín *repens* – arrastrado. Esta planta es una palma arbustiva de baja altitud, de crecimiento horizontal y ramificado con tallos de 1,8 a 3 metros de longitud como promedio, pudiendo llegar hasta los 6 metros. Su fruto de estructura ovoide de 2 a 3 cm de diámetro, es de color verde – amarillo que antes

de la maduración se torna azulado negruzco. Esta palma es nativa de las regiones del sur de Norteamérica, incluyendo las regiones de Carolina del Sur, Louisiana, Georgia y el estado de Florida. Es una especie nativa que servía de alimento a las especies animales salvajes de la zona. Además era cultivada por indígenas para obtener sus frutos y así curar trastornos urinarios como la cistitis, uretritis y prostatitis entre otras dolencias (Bombardelli y Morazzoni, 1997).

Estos procedimientos de fitoterapia incluso han sido descritos desde el siglo XV A.C. en la cultura egipcia. Hoy por hoy a manera de ejemplo, este agente fitoterápico representa el 50% de la medicación para trastornos prostáticos en Italia. En Alemania y Austria se utiliza en un 90% para el alivio de los síntomas de intensidad media a moderada del tracto urinario bajo asociados a la HPB del hombre (Wilt *et al.*, 1998).

La porción utilizada de la palma corresponde a los frutos maduros, cuya estructura es más bien fibrosa, con una cáscara muy gruesa, y en menor grado una pulpa interna, rica en lípidos, almidón, polisacáridos, manitol y pequeñas cantidades de ceramidas y esfingolípidos. Los lípidos contenidos en el fruto del *S. repens* son constituidos por ácidos grasos libres (75%) y grasas neutras (25%) (Bombardelli y Morazzoni, 1997)

Todos los ELSR presentes en los preparados comerciales se obtienen principalmente por dos procesos, extracción por solubilización en hexano o por condiciones hiper-críticas de CO<sub>2</sub>, mediante condiciones de presión, temperatura y concentración de CO<sub>2</sub>. de manera controlada. Estos extractos purificados presentan tres subgrupos, la porción saponificable que contiene los ácidos grasos, la porción no saponificable conteniendo a los fitoesteroles y la porción hidrofílica que contiene los carbohidratos, amino ácidos y polisacáridos (Bombardelli y Morazzoni, 1997).

**Tabla 1. Composición química de la porción saponificable y no-saponificable del extracto de *S. repens***

<b>Ácidos Grasos</b>	<b>Contenido (%)</b>	<b>Alcoholes Grasos y Esteroles</b>	<b>Contenido (%)</b>

<b>Ácidos Grasos Totales</b>	93,5	<b>Alcoholes Grasos</b>	0,2
Saturados	59,8	Hexacosanol	0,017
Ácido caproico	1,5	Octacosanol	0,146
Ácido caprílico	2,3	Tetracosanol	0,004
Ácido caprico	2,5	Triacotanol	0,033
Ácido láurico	30,2		
Ácido mirístico	12	Esteroles	0,32
Ácido palmítico	9,5	Campesterol	0,07
Ácido esteárico	1,8	Estigmasterol	0,03
Insaturados	33,7	B- Sitosterol	0,22
Ácido oleico	28,5		
Ácido linoleico	4,6		
Ácido linolénico	0,6		

**Ácidos grasos, alcoholes y esteroides detectados en el extracto del fruto de *S. repens* preparado en condiciones hiper-críticas de CO<sub>2</sub> a 45°C/220 bar.**

El valor medicinal del *S. repens* sobre patologías del tracto urinario bajo en el hombre ha sido reportado en la literatura médica desde el año 1800 (Wilt *et al.*, 1998).

### **Aspectos Farmacodinámicos**

Los mecanismos de acción precisos atribuidos al ELSR aún no se han elucidado completamente, sin embargo existen evidencias provenientes de estudios realizados *in vitro* como en *in vivo*, que demuestran su acción antiandrogénica al inhibir la 5 $\alpha$  reductasa y receptores citosólicos a andrógenos en la célula prostática; efectos antiproliferativos y antiinflamatorios (Levin y Das, 2000).

El extracto ejerce una inhibición no-competitiva para ambas isoenzimas de la 5 $\alpha$  reductasa. Weisser *et al* en el año 1996, al trabajar con tejido prostático humano, epitelio y

estroma por separado, comprobaron que el ELSR redujo la actividad de la enzima reductora de testosterona obteniendo resultados de inhibición de hasta un 52% en epitelio y un 45% en estroma. Este estudio atribuye la actividad inhibidora a la porción saponificable del extracto utilizado, que contiene mayoritariamente los ácidos láurico, oleico, mirístico y palmítico, mientras que la porción no-saponificable e hidrofílica muestran una actividad despreciable y nula sobre la  $5\alpha$  reductasa. De la fracción saponificable, se demostró que sobre el epitelio y estroma no presentan actividad significativa el ácido oleico y el ácido palmítico, mientras que el ácido mirístico y láurico ejercen una potente inhibición de la actividad de esta enzima

Raynaud *et al* (2002) confirmaron la acción de la porción saponificable del extracto, lo que se logró mediante la clonación y expresión de ambas isoenzimas en una línea celular específica. Adicionalmente, se concluyó que el ácido oleico y linoléico ejercían efectos inhibitorios sobre la isoenzima tipo I, pero muy pobre sobre la tipo II. El ácido palmítico y el ácido esteárico confirmaron su inactividad para ambas isoenzimas, mientras que el ácido láurico y mirístico confirmaron su actividad inhibitoria sobre ambas isoenzimas.

Por consiguiente, esta inhibición no competitiva sobre la  $5\alpha$ -reductasa determina una reducción de los niveles intraprostáticos de DHT que ha sido demostrada en múltiples estudios. Di Silverio *et al* (1998), evidenciaron en humanos que posterior al tratamiento de 320 mg/día de ELSR por 3 meses consecutivos, las concentraciones de DHT intraprostática disminuyeron significativamente en relación a las muestras de pacientes no tratados, en las regiones, subcapsular, intermedia y periuretral. Esta disminución de las concentraciones de DHT intraprostática se determinó especialmente en la región periuretral, cercana al 70%, en comparación a un promedio del 50% para las otras dos regiones de la próstata.

Estudios *in vitro* realizados por Sultan *et al* (1984), mediante el cultivo de células fibroblásticas de tejido prepucial humano, demostraron que el ELSR ejerce un efecto antiandrogénico al inhibir competitivamente los complejos nucleares a DHT. Carilla *et al* (1984) comprobaron esta acción directamente en células prostáticas de la rata, demostrando

una vez más que el extracto inhibe competitivamente la acción de los andrógenos en su receptor intracelular.

En adición a las propiedades antes mencionadas, se han descrito influencias no hormonales sobre los factores del crecimiento prostático, los cuales desempeñan un rol importante en el desarrollo de la HPB. Di Silverio *et al* (1998), observaron además que el ELSR determina una reducción en la secreción del Factor de Crecimiento Epidermal (EGF) expresado y secretado por las células en proliferación, principalmente en la porción periuretral e intermedia de la próstata humana. Estos resultados se obtuvieron posterior al tratamiento oral de 320 mg/día por tres meses consecutivos.

Paubert-Braquet *et al* (1998), mediante estudios en cultivos de tejido prostático humano, comprobaron el efecto inhibitorio que consigue el ELSR en la replicación del epitelio glandular, al suprimir la actividad del Factor Básico de Crecimiento Fibroblástico (b-FGF), empero, los mecanismos de como el extracto suprime esta actividad es aún desconocido.

Ensayos *in vitro* realizados por Breu *et al* (1992), mostraron que el ELSR produce una inhibición de la biosíntesis de metabolitos del ácido araquidónico. Esta acción se debe a una inhibición dual de la fracción saponificable del extracto sobre las vías de las enzimas ciclooxigenasa y la 5-lipooxigenasa. Las fracciones no saponificable e hidrofílica no presentan actividad sobre estas enzimas.

Estudios más recientes establecieron que el ELSR tiene una propiedad antiinflamatoria. Paubert-Braquet *et al* (1997), realizaron estudios en polimorfos nucleares activados por un ionóforo de calcio para la producción de leucotrieno B<sub>4</sub>. Pequeñas concentraciones del extracto demostraron inhibir no competitivamente a la 5-lipooxigenasa y ciclooxigenasa, logrando de esta manera reducir la síntesis de estos metabolitos del ácido araquidónico.

La actividad antiinflamatoria ha sido demostrada *in vivo* por Tarayre *et al* (1983), reduciendo en cobayos la magnitud del eritema inducido por luz ultravioleta y la capilaridad incrementada inducida por histamina en ratas.

Los estudios realizados por Di Silverio *et al* (1992) demostraron que en los individuos tratados con 160 mg/día por tres meses se reduce notablemente la cantidad de receptores intranucleares a estrógenos en el tejido prostático.

Los ELSR ejercen una potente inhibición no competitiva sobre los receptores a prolactina, interfiriendo en los proceso de transducción de señal en tejido ovárico de hamsters chinos (Vacher *et al*, 1995). Por otra parte estudios realizados por Van Coppenolle *et al* (2000), compruebaron en un modelo de ratas en estado de hiperprolactinemia, que el extracto reduce significativamente el crecimiento prostático lateral, el cual es asociado a este estado hormonal.

### **Aspectos Farmacocinéticos**

Debido a la compleja composición del ELSR, estudios farmacocinéticos no han sido aún ampliamente desarrollados. Las concentraciones plasmáticas fueron medidas en pacientes jóvenes, que luego de la administración de 320 mg totales PO, alcanzaron un *peak* promedio de 2,6 mg/L a las 1,5 h post administración (Plosker y Brogden, 1996).

Chevalier *et al* (1997), nos demostraron mediante estudios en ratas que, posterior a la administración oral de ácido oleico-C<sup>14</sup>, ácido láurico-C<sup>14</sup> y sitosterol-C<sup>14</sup>, la distribución de radioactividad de estos compuestos fue detectada preferentemente en la próstata, excediendo considerablemente a las encontradas en otros tejidos del aparato genito-urinario, al igual que en el hígado y cerebro.

### **Tolerabilidad**

Numerosos estudios demuestran que el uso del ELSR en el hombre carece de efectos adversos, además no modifica los valores del Antígeno Prostático Específico (PSA). Cercano al 3% de los pacientes han manifestado trastornos gastrointestinales leves, como náuseas, que se resuelve al administrar las cápsulas en conjunto con el alimento. Los estudios demuestran además que no se produce disfunción eréctil ni afecta la libido. Los valores de bioquímica sanguínea se mantienen normales (Tasca *et al.*, 1985; Carraro *et al.*, 1996).

### **3. OBJETIVOS**

#### **Objetivo General.**

Evaluar la respuesta clínica sobre la hiperplasia prostática benigna en perros tratados con dos extractos liposterólicos de *S. repens* y acetato de megestrol.

#### **Objetivos Específicos.**

1. Comparar la respuesta clínica e histopatológica al administrar dos dosis diferentes de dos ELSR y acetato de megestrol.
2. Comparar la respuesta clínica e histopatológica de los ELSR versus el acetato de megestrol.
3. Cuantificar y comparar la altura del epitelio acinar prostático hiperplasiado, antes y después del tratamiento con los ELSR y el acetato de megestrol.
4. Cuantificar y comparar el volumen prostático, antes y después del tratamiento con los ELSR y el acetato de megestrol.
5. Determinar la variación de la sintomatología asociada a la HPB, antes y después del tratamiento con los dos ELSR y acetato de megestrol.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Animales**

Los animales en este estudio fueron seleccionados del 7<sup>mo</sup> Escuadrón de Perros Policiales pertenecientes a Carabineros de Chile.

El estudio consideró perros machos intactos, sanos al exámen general, que presentaran signos clínicos de la HPB, como tenesmo, trastornos en la micción (disuria, hematuria, anuria) y aumento prostático a la palpación rectal. La selección definitiva de los pacientes se realizó posterior a la biopsia bajo guía ecográfica y confirmación del estudio histopatológico. Durante la experiencia los animales recibieron alimento balanceado de calidad *premium* y entrenamiento diario con un régimen de luz natural.

### **Grupos Experimentales**

En este estudio participaron 21 perros, de condición física homogénea en talla y peso, que fueron separados aleatoriamente en tres subgrupos de n=7. Cada subgrupo recibió un tratamiento diferente y la respuesta anotada fue el % de disminución del volumen prostático y de la altura epitelial prostática. A cada grupo se le realizó una evaluación ecográfica e histopatológica antes y después del tratamiento con ELSR y acetato de megesterol (Ver anexos n° 1, 2 y 3).

La evolución de los signos clínicos para cada individuo, fue recopilada en una Tabla de Evaluación Subjetiva, antes y después del tratamiento (Ver anexo n°5).

#### **Grupo experimental 1**

Cada individuo fue tratado PO con 480 mg/día de un ELSR (**SR<sub>1</sub>**), dividido en dos dosis, por un periodo de 8 semanas.

## **Grupo experimental 2**

Cada individuo fue tratado PO con 1440 mg/día ,de un ELSR (**SR<sub>2</sub>**), dividido en dos dosis, por un periodo de 8 semanas.

## **Grupo experimental 3:**

Cada individuo de este grupo fue tratado PO con 0,5 mg/kg/día de acetato de megestrol por un periodo de 30 días.

## **Fármacos.**

Los fármacos utilizados corresponden a dos extractos de *Serenoa repens* (**SR<sub>1</sub>** y **SR<sub>2</sub>**) contenidos en cápsulas blandas de 160 mg, tamaño 6-oval con una estandarización informada por los laboratorios titulares de un 85 a 95 % de ácidos grasos disponibles. Ambas presentaciones corresponden a dos marcas comerciales autorizadas por el ISP, las cuales se mantendrán en reserva para no interferir en la interpretación de los resultados y evitar análisis de índole comercial externos al presente estudio.

Además se empleó acetato de megestrol (Non Pet<sup>®</sup> de laboratorios Drag Pharma Invetec), presente en comprimidos ranurados de 20 mg cada uno.

Para los procedimientos de recolección de muestras se utilizó Imalgene<sup>®</sup> del laboratorio Merial, Dormonid<sup>®</sup> 0,5% del laboratorio Roche y Atropina sulfato 0,1% del laboratorio Biosano.

## **Instrumentos de evaluación y de toma de muestra.**

Cada paciente que presentó signos de patología prostática, se ingresó al estudio para la realización del examen ecotomográfico, para lo cual, se depiló la región abdominal desde el apéndice xifoides hasta la región inguinal, principalmente en el área periprepucial.

Durante el examen ecotomográfico, el paciente fue colocado en posición decúbito dorsal, sobre una estructura en V que facilitó el manejo del animal para la exploración ecotomográfica.

Para la realización del examen ecotomográfico se utilizó un equipo de ultrasonido Piemedical 300S Pandion Vet Doppler Flow-Color. Las imágenes obtenidas fueron registradas en una impresora térmica de alta resolución marca Mitsubishi, modelo PAV-40, con papel termosensible Fuji Fii 210, monocromático.

La aplicación de un gel en la superficie corporal fue necesaria para la eliminación de la interfase de aire que se produce entre el transductor y la piel del paciente, para posteriormente proceder a ejecutar la técnica descrita por Finn y Wrigley (1991), en la cual primeramente se ubica el transductor sobre la cicatriz umbilical, reconociendo de esta manera la vejiga urinaria, la cual se explora en dos dimensiones, longitudinal y transversal. Posteriormente, la técnica se desarrolla deslizando el transductor hacia caudal recorriendo el cuello vesical, cerca del cual se puede apreciar el polo craneal de la glándula prostática y de esta manera acceder a toda la glándula.

Para la obtención de la biopsia prostática se tuvo en consideración los patrones ecográficos descritos por Tello *et al* (1995), tales como, aumento de volumen, uniformidad, hiperecogenicidad, hallazgos hipo o anecoicos, focales o multifocales, de paredes lisas con reforzamiento posterior con diámetros menores a 1,5 cm, además de aumento de la ecogenicidad del resto de la glándula debido a la proliferación y fibrosis del tejido glandular y/o conectivo de la próstata. Este procedimiento se realizó mediante un protocolo anestésico vía parenteral basado en la asociación de ketamina 5 mg/kg, midazolam 0,2

mg/kg y atropina 0,04 mg/kg. Cada observación de la evaluación ecotomográfica de la glándula prostática fue anotada en un protocolo descrito en el Anexo n° 4.

Una vez lograda la inducción anestésica, al paciente se le preparó bajo condiciones de asepsia la zona de exploración. La biopsia se obtuvo mediante el abordaje transabdominal y parapeneano por medio de agujas de disparo automático marca Autovac® (19 cm x 1 mm). Posteriormente la muestra obtenida para su conservación y traslado al laboratorio fue fijada en una solución de formalina tamponada al 10% para el estudio histopatológico correspondiente, mediante procesos de deshidratación, fijación y tinción en hematoxilina-eosina que establecieron el diagnóstico definitivo.

El estudio histopatológico consideró para todos los grupos un estudio morfométrico asistido por un software, mejorando la evaluación de los cambios ocurridos previo y post tratamiento.

La evaluación de resultados mediante análisis morfométrico computacional se aplicó para evaluar específicamente la altura del epitelio acinar prostático. Para cumplir este objetivo se digitalizaron las imágenes del tejido prostático en campos de 675x200X por muestra, con una resolución de 512 x 480 pixeles, mediante una videocámara montada en un microscopio óptico y conectada a un computador con un software Image-Pro Plus® (MediaCybernetics,USA). Cada muestra fue evaluada en tres puntos, midiendo en micrones la altura acinar prostática.

La evaluación de los síntomas clínicos asociados a la HPB, como son la disuria y tenesmo se realizó mediante la observación visual de ellos, considerando una escala de intensidad de una cruz, dos cruces, tres cruces y como no determinada, anotadas pre y post tratamiento para cada animal. Para ello se completó una ficha de observación (Ver anexo n° 4). Mediante una escala colorimétrica se evaluó el síntoma hematuria, realizado con tiras reactivas para orina Teco Diagnostics URS-9®, pre y post tratamiento para cada animal, anotadas las mediciones según escala presente en el anexo n° 5.

## **Muestreo y Procesamiento Estadístico de Datos.**

Para llevar a cabo el experimento se eligió el diseño completamente aleatorio, con efectos fijos (designación de tratamientos). El procedimiento para realizar el diseño se describe de la siguiente manera:

En cada uno de los tratamientos se realizó la evaluación previa ( $T_0$ ) para medir volumen prostático ( $\text{cm}^3$ ) y altura del epitelio acinar prostático ( $\mu\text{m}$ ). Una vez finalizado cada uno de los tratamientos se realizó una segunda medición ( $T_1$ ).

Previo a cada tratamiento y realizado el estudio ecotomográfico con la finalidad de determinar el volumen prostático, se determinó la obtención de biopsias para cada animal. A cada grupo se les administró un tratamiento diferente descrito anteriormente. Al final del período de administración se evaluaron nuevamente los animales, obteniéndose una segunda lectura de volumen prostático y altura del epitelio acinar prostático. De este modo, se dispuso de dos conjuntos de observaciones para volumen prostático y de dos conjuntos de observaciones para altura del epitelio. Los conjuntos de datos no son independientes; se basan en los mismos animales tomados en diferentes momentos y; por lo tanto, están naturalmente emparejados.

Dada esta situación, se realizó un estudio de las diferencias entre pre-tratamiento y post tratamiento. Con ello se obtuvo una diferencia de poblaciones  $D = T_0 - T_1$ . Además, con la finalidad de homogeneizar los datos, la diferencia se analizó como porcentaje con respecto a  $T_0$ . El valor medio de la diferencia  $D$  es el promedio de la diferencia de los valores medios de  $T_0$  y  $T_1$ . (Ver fórmula).

Para estudiar el efecto de cada uno de los tratamientos, se estudió el contraste  $T$  para datos emparejados. El estadístico para contrastar esta hipótesis basado en la muestra de diferencias que:

$$\frac{\bar{D} - 0}{S_D / \sqrt{n}}$$

$\bar{D}$ : valor medio de las diferencias de  $T_0$  y  $T_1$ .

$S_D$ : desviación estándar de la muestra de diferencias.

$T_0$ : medición pre tratamiento.

$T_1$ : medición post tratamiento.

$n$ : número de individuos.

que sigue una distribución t con 6 grados libres.

Hipótesis nula es  $H_0: D \leq 0$

Hipótesis alternativa  $H_1: D > 0$

Después de finalizados los tratamientos se anotó para cada unidad experimental lo siguiente:

- Porcentaje (%) de disminución del volumen prostático.
- Porcentaje (%) de disminución de la altura del epitelio acinar prostático.

Los tres subgrupos consideraron muestras aleatorias independientes extraídas de las poblaciones de pacientes que recibieron los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente.

Con la finalidad de estudiar si existían diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó el siguiente contraste:

- Hipótesis nula = no hay diferencias en la respuesta media entre los tres tratamientos ( $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ ).
- Hipótesis alternativa = al menos un tratamiento es diferente de los otros ( $H_1: \mu_i \neq \mu_j$ , para algún  $i$  y  $j$ ).

Para realizar este contraste se utilizó un ANOVA basado en el diseño previamente establecido.

Posterior al ANOVA se realizó un Contraste T de Bonferroni, en el caso donde se detectara diferencias significativas entre los tratamientos.

## 5. RESULTADOS

Grupo experimental 1: *Serenoa Repens* 480 mg/animal/día.

**Tabla 2.a. Variación del Volumen Prostático Pre y Post Tratamiento – Grupo 1**

ANIMAL	VOLUMEN PROSTÁTICO		DIFERENCIA (%)
	T <sub>0</sub> (cc)	T <sub>1</sub> (cc)	
1	13,70	14,00	2%
2	18,79	9,44	-50%
3	55,86	8,60	-85%
4	39,70	16,46	-59%
5	17,93	13,12	-27%
6	15,90	14,90	-6%
7	21,09	17,30	-18%

H0:  $D \leq 0$

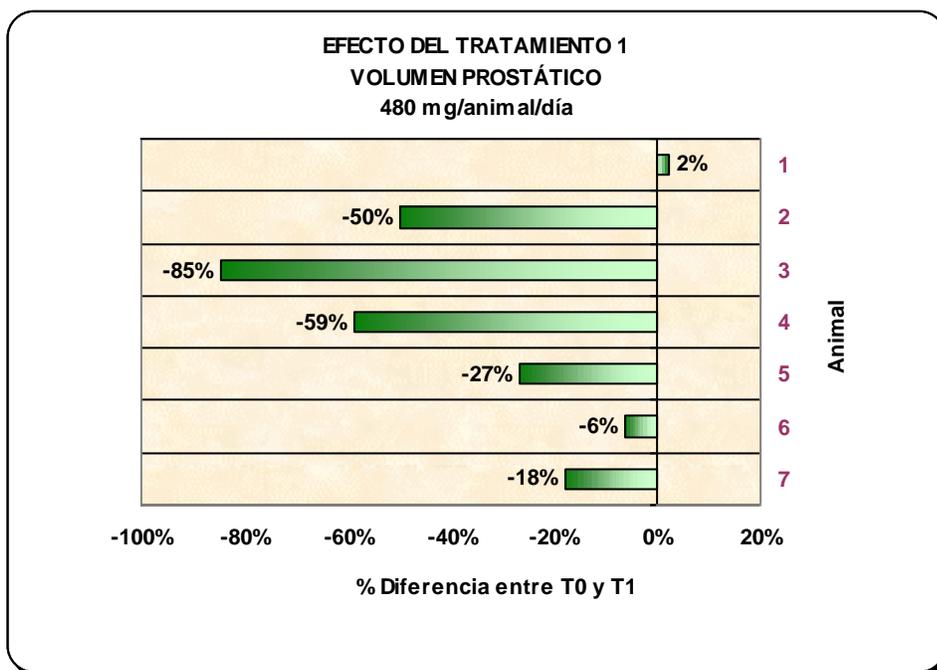
H1:  $D > 0$

**Tabla 2.b. Valores Estadísticos de la Variable Volumen Prostático- Grupo 1**

Promedio Diferencia	<b>-35%</b>
Desviación estándar diferencia	<b>0,311</b>
n	<b>7</b>
Valor observado del estadístico	<b>2,941</b>
<b>Valor T al 95% de confianza, con 6 grados libres es = 1,943</b>	

De acuerdo a lo resultados obtenidos de la tabla 2.b, se puede inferir con un 95% de confianza, que hay indicios para rechazar la hipótesis nula.

**Figura 1. Efecto del Tratamiento de 480 mg/animal/día de SR<sub>1</sub> sobre el Volumen Prostático**



**Tabla 2.c. Variación de la Altura Acinar Prostática Pre y Post Tratamiento – Grupo 1**

ANIMAL	ALTURA EPITELIAL		DIFERENCIA (%)
	T <sub>0</sub> (µm)	T <sub>1</sub> (µm)	
1	19,43	12,09	-38%
2	21,00	10,30	-51%
3	25,90	16,02	-38%
4	19,84	15,10	-24%
5	20,41	11,41	-44%
6	23,60	17,07	-28%
7	20,85	13,70	-34%

H0: D ≤ 0

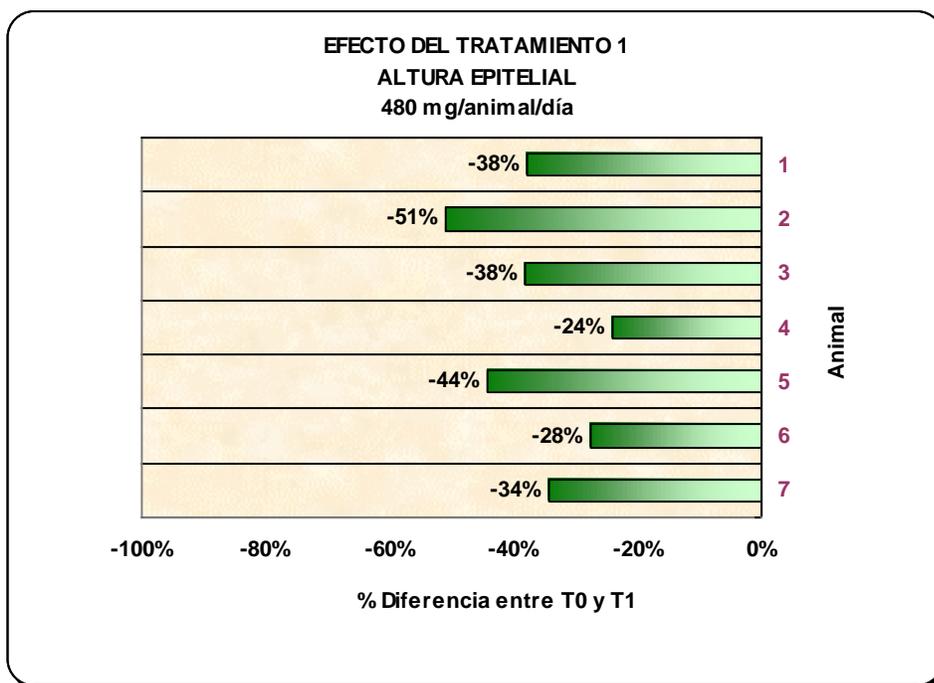
H1: D > 0

**Tabla 2.d. Valores Estadísticos de la Variable Altura Acinar Prostática - Grupo 1**

<b>Promedio Diferencia</b>	<b>-37%</b>
<b>Desviación estándar diferencia</b>	<b>0.092</b>
<b>n</b>	<b>7</b>
<b>Valor observado del estadístico</b>	<b>10.503</b>
<b>Valor T al 95% de confianza, con 6 grados libres es =1.943</b>	

De acuerdo a lo resultados obtenidos de la tabla 2.d, se puede inferir con un 95% de confianza, que hay indicios para rechazar la hipótesis nula.

**Figura 2. Efecto del Tratamiento de 480 mg/animal/día de SR<sub>1</sub> sobre la Altura Acinar Prostática**



**Grupo experimental 2: *Serenoa repens* 1440 mg/animal/día.**

**Tabla 3.a. Variación del Volumen Prostático Pre y Post Tratamiento – Grupo 2**

ANIMAL	VOLUMEN PROSTÁTICO		DIFERENCIA (%)
	T <sub>0</sub> (cc)	T <sub>1</sub> (cc)	
1	22,68	18,72	-17%
2	27,52	12,30	-55%
3	38,95	38,10	-2%
4	23,54	22,40	-5%
5	23,40	19,70	-16%
6	17,30	12,60	-27%
7	22,40	22,00	-2%

H0: D≤0

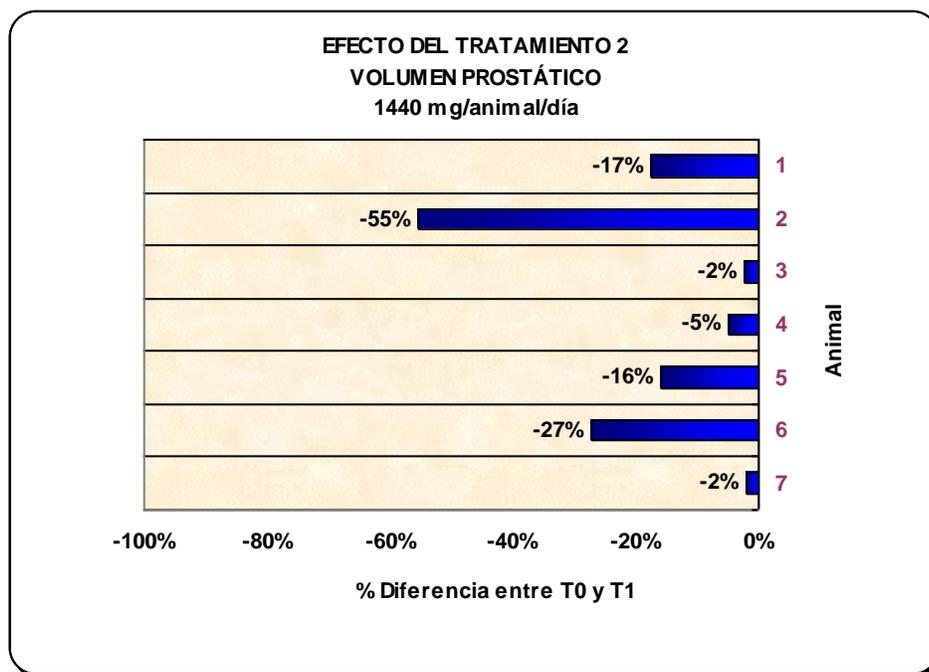
H1: D>0

**Tabla 3.b. Valores Estadísticos de la Variable Volumen Prostático - Grupo 2**

Promedio Diferencia	-18%
Desviación estándar diferencia	0,190
n	7
Valor observado del estadístico	2,477
Valor T al 95% de confianza, con 6 grados libres es =1.943	

De acuerdo a lo resultados obtenidos de la tabla 3.b, se puede inferir con un 95% de confianza, que hay indicios para rechazar la hipótesis nula.

**Figura 3. Efecto del Tratamiento de 1440 mg/animal/día de SR<sub>2</sub> sobre el Volumen Prostático**



**Tabla 3.c. Variación de la Altura Acinar Prostática Pre y Post Tratamiento – Grupo 2**

ANIMAL	ALTURA EPITELIAL		DIFERENCIA (%)
	T <sub>0</sub> (µm)	T <sub>1</sub> (µm)	
1	18,95	16,30	-14%
2	20,96	18,52	-12%
3	18,38	19,92	8%
4	16,87	15,30	-9%
5	18,80	14,40	-23%
6	17,80	13,20	-26%
7	19,98	14,75	-26%

H0: D ≤ 0

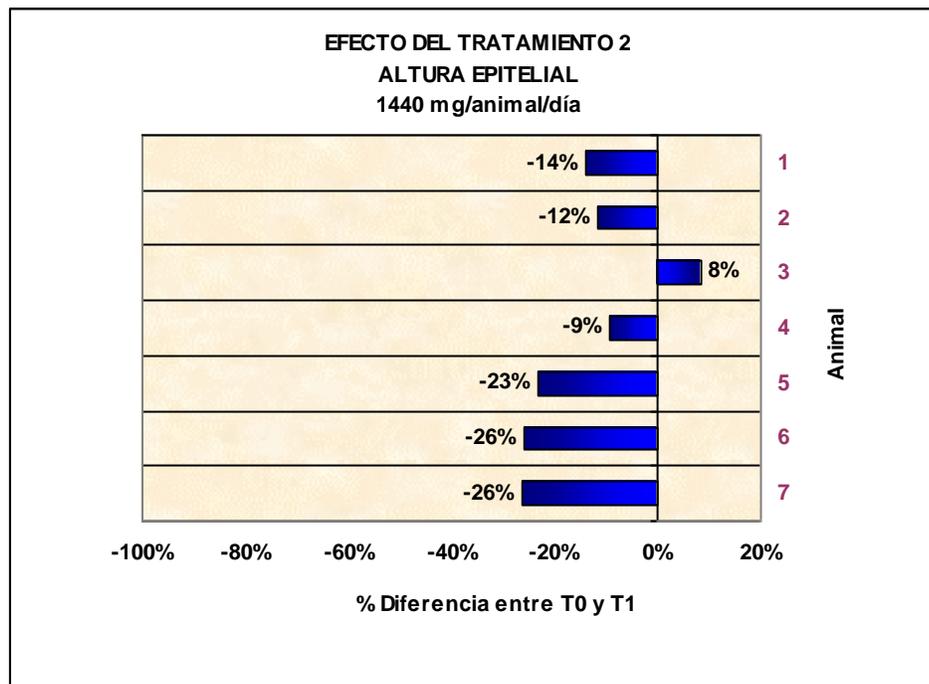
H1: D > 0

**Tabla 3.d. Valores Estadísticos de la Variable Altura Acinar Prostática - Grupo 2**

<b>Promedio Diferencia</b>	<b>-15%</b>
<b>Desviación estándar diferencia</b>	<b>0.123</b>
<b>n</b>	<b>7</b>
<b>Valor observado del estadístico</b>	<b>3.142</b>
<b>Valor T al 95% de confianza, con 6 grados libres es =1.943</b>	

De acuerdo a lo resultados obtenidos de la tabla 3.d, se puede inferir con un 95% de confianza, que hay indicios para rechazar la hipótesis nula.

**Figura 4. Efecto del Tratamiento de 1440 mg/animal/día de SR<sub>2</sub> sobre la Altura Acinar Prostática.**



**Grupo experimental 3: Acetato de megestrol 0.5 mg/kg/día.**

**Tabla 4.a. Variación del Volumen Prostático Pre y Post Tratamiento – Grupo 3**

ANIMAL	VOLUMEN PROSTÁTICO		DIFERENCIA (%)
	T <sub>0</sub> (cc)	T <sub>1</sub> (cc)	
1	24,68	13,46	-45%
2	10,14	8,08	-20%
3	25,10	16,48	-34%
4	20,99	8,80	-58%
5	24,61	20,83	-15%
6	18,19	14,95	-18%
7	27,30	20,02	-27%

H0: D≤0

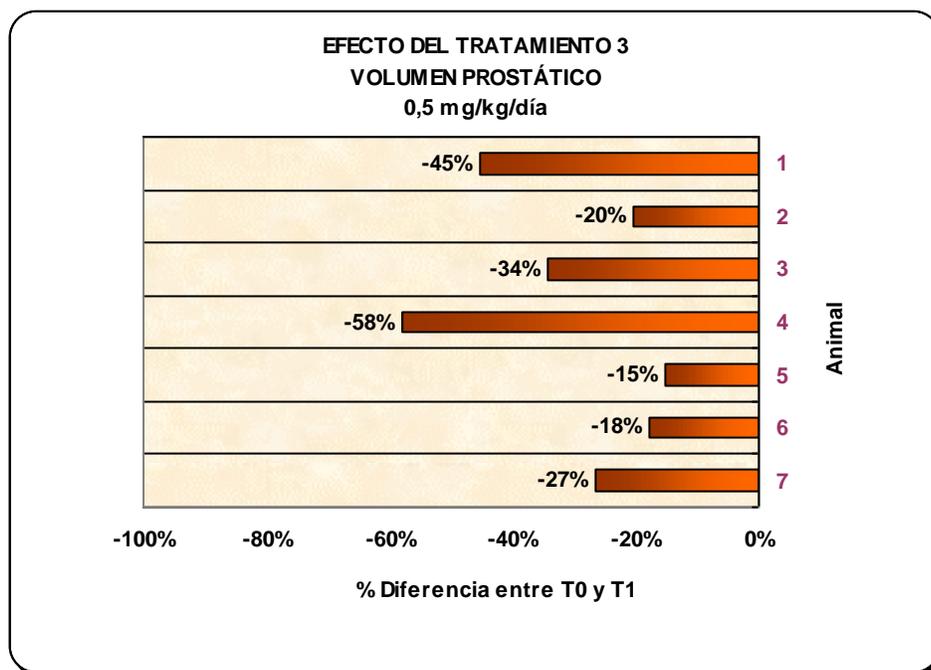
H1: D>0

**Tabla 4.b. Valores Estadísticos de la Variable Volumen Prostático - Grupo 3**

Promedio Diferencia	<b>-31%</b>
Desviación estándar diferencia	<b>0,158</b>
n	<b>7</b>
Valor observado del estadístico	<b>5,204</b>
<b>Valor T al 95% de confianza, con 6 grados libres es =1,943</b>	

De acuerdo a lo resultados obtenidos de la tabla 4.b, se puede inferir con un 95% de confianza, que hay indicios para rechazar la hipótesis nula.

**Figura 5. Efecto del Tratamiento del 0,5 mg/kg/día de Acetato de Megestrol sobre el Volumen Prostático**



**Tabla 4.c. Variación de la Altura Acinar Prostática Pre y Post Tratamiento – Grupo 3**

ANIMAL	ALTURA EPITELIAL		DIFERENCIA (%)
	T <sub>0</sub> (µm)	T <sub>1</sub> (µm)	
1	26,45	15,23	-42%
2	24,60	14,97	-39%
3	29,30	15,13	-48%
4	34,02	15,66	-54%
5	25,20	16,40	-35%
6	28,30	15,48	-45%
7	31,16	15,50	-50%

H0: D≤0

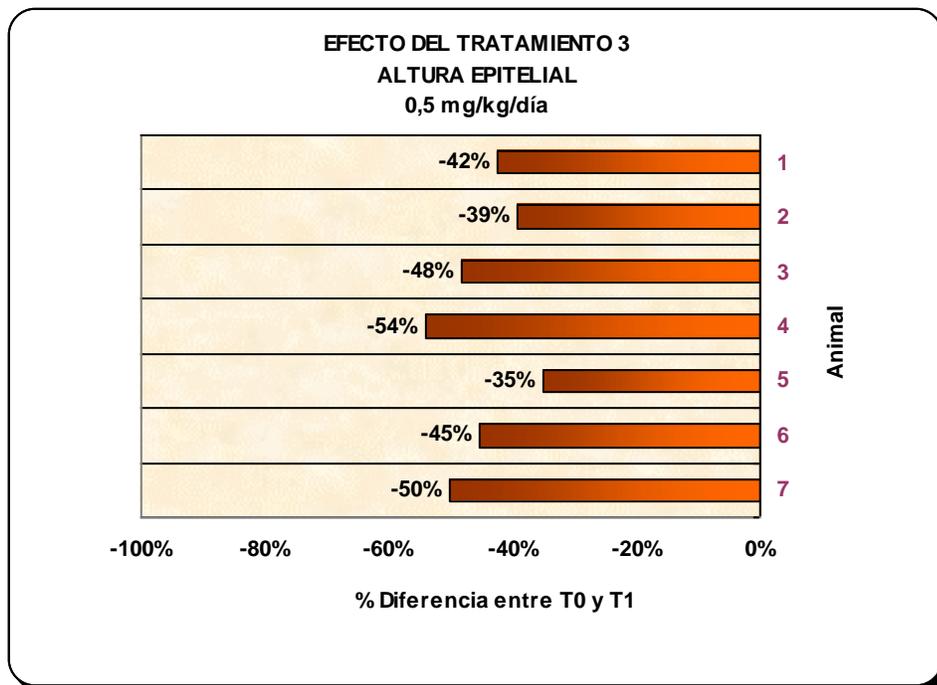
H1: D>0

**Tabla 4.d. Valores Estadísticos de la Variable Altura Acinar Prostática - Grupo 3**

<b>Promedio Diferencia</b>	<b>45%</b>
<b>Desviación estándar diferencia</b>	<b>0,066</b>
<b>n</b>	<b>7</b>
<b>Valor observado del estadístico</b>	<b>17,984</b>
<b>Valor T al 95% de confianza, con 6 grados libres es =1,943</b>	

De acuerdo a lo resultados obtenidos de la tabla 4.d, se puede inferir con un 95% de confianza, que hay indicios para rechazar la hipótesis nula.

**Figura 6. Efecto del Tratamiento de 0,5 mg/kg/día de Acetato de Megestrol sobre la Altura Acinar Prostática.**



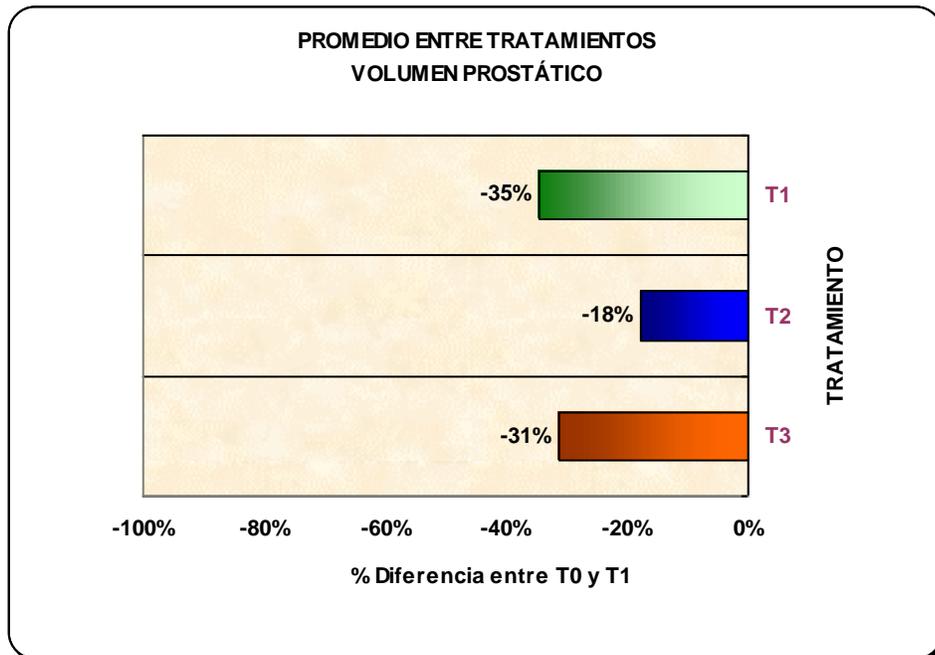
## Análisis de Varianza

Variable: Volumen Prostático

Tabla 5.a. Promedio de las Variaciones por Grupo – Variable Volumen Prostático

ANIMAL	VOLUMEN PROSTÁTICO		
	T1	T2	T3
1	2%	-17%	-45%
2	-50%	-55%	20%
3	-85%	-2%	-34%
4	-59%	-5%	-58%
5	-27%	-16%	-15%
6	-6%	-27%	-18%
7	-18%	-2%	-27%
<b>PROMEDIO</b>	<b>-35%</b>	<b>-18%</b>	<b>-31%</b>

Figura 7. % Variación – Volumen Prostático



**Tabla 5.b. Análisis de Variación – Variable Volumen Prostático**

	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C.M.</b>	<b>F</b>
<b>Entre tratamientos</b>	<b>2</b>	<b>0.110</b>	<b>0.055</b>	
<b>Dentro tratamientos</b>	<b>18</b>	<b>0.947</b>	<b>0.053</b>	<b>1.04</b>
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>1.056</b>		

Con  $F_{p=0,05}$  y 2 y 18 G.L.

$F$  estimado <  $F$  al 0,05 (3,55).

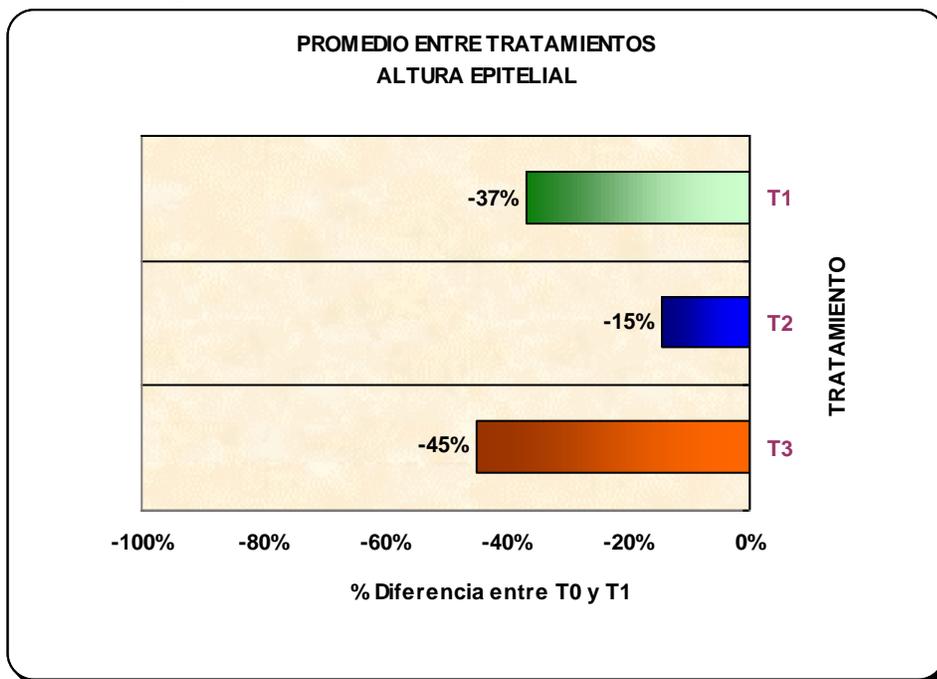
De acuerdo a los datos disponibles, no se rechazó  $H_0$ , ya que no nos ha sido posible detectar ninguna diferencia entre las 3 medias poblacionales. En este caso el análisis de datos es completo.

**Variable: Altura Epitelial.**

**Tabla 6.a. Promedio de las Variaciones por Grupo – Variable Altura Acinar Prostática**

<b>ANIMAL</b>	<b>ALTURA EPITELIAL</b>		
	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
<b>1</b>	-38%	-14%	-42%
<b>2</b>	-51%	-12%	-39%
<b>3</b>	-38%	8%	-48%
<b>4</b>	-24%	-9%	-54%
<b>5</b>	-44%	-23%	-35%
<b>6</b>	-28%	-26%	-45%
<b>7</b>	-34%	-26%	-50%
<b>PROMEDIO</b>	<b>-37%</b>	<b>-15%</b>	<b>-45%</b>

**Figura 8. % de Variación – Altura Acinar Prostática.**



**Tabla 6.b. Análisis de Varianza- Variable Altura Acinar Prostática**

	G.L.	S.C.	C.M.	F
Entre tratamientos	2	0,345	0,172	
Dentro tratamientos	18	0,168	0,009	18,50
TOTAL	20	0,513		

Con  $F_{p=0,05}$  y 2 y 18 G.L.

$F_{estimado} > F_{al\ 0,05}$  (3,55).

Hemos tenido razones para rechazar  $H_0$  y por tanto, llegamos a la conclusión de que hay algunas diferencias entre las 3 medias poblacionales.

De acuerdo a los datos disponibles, se rechazó  $H_0$ , y por tanto, llegamos a la conclusión de que hay algunas diferencias entre las 3 medias poblacionales.

Para los efectos logrados en este estudio se aplicó el contraste de Bonferroni con la finalidad de localizar con precisión donde se encuentra la diferencia.

**Contraste *T* de Bonferroni.**

$$T_{N-K} = \frac{|\bar{X}_i - \bar{X}_j|}{\sqrt{MS_E(1/n_i + 1/n_j)}}$$

$X_i - X_j$ : diferencias en valor absoluto entre las medias muestrales a comparar.

$MS_E$ : cuadrado medio del error (estimador de la varianza).

$n_i$ : número de individuos en el tratamiento i.

$n_j$ : número de individuos en el tratamiento j.

**Tabla 7.a. Promedio de las Variaciones por Grupo – Variable Altura Acinar Prostática**

<b>ANIMAL</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
<b>1</b>	-38%	-14%	-42%
<b>2</b>	-51%	-12%	-39%
<b>3</b>	-38%	8%	-48%
<b>4</b>	-24%	-9%	-54%
<b>5</b>	-44%	-23%	-35%
<b>6</b>	-28%	-26%	-45%
<b>7</b>	-34%	-26%	-50%
<b>PROMEDIO</b>	<b>-37%</b>	<b>-15%</b>	<b>-45%</b>

**Tabla 7.b. Comparación entre Tratamientos Mediante Contraste T de Bonferroni**

<b>CONTRASTES</b>	<b>T1 y T2</b>	4.29	<b>Hay diferencias significativas</b>
	<b>T1 Y T3</b>	-1.59	<b>No hay diferencias significativas</b>
	<b>T2 Y T3</b>	-5.88	<b>Hay diferencias significativas</b>
<b>Valor T con 18 grados libres y con un 95% de confianza = 2.101</b>			

## **Análisis Descriptivo**

En este estudio las variables clínicas como hematuria, tenesmo y disuria fueron evaluadas antes de iniciado el tratamiento y posterior a este.

Para el grupo n° 1 que recibió 480 mg/animal del ELSR, los resultados nos muestran una marcada reducción de la sintomatología asociada a la HPB.

Para la variable hematuria, cuatro animales presentaban el síntoma, los cuales redujeron notablemente la anotación post tratamiento.

La variable disuria se presentó en todos los animales, seis de los cuales redujeron su sintomatología excepto uno que la mantuvo con la misma intensidad.

La variable tenesmo fue observada en cuatro animales antes de iniciar el tratamiento, de los cuales tres redujeron este síntoma y uno lo mantuvo una vez finalizado el tratamiento.

**Tabla 8. Resultado de las Variables Clínicas - *Serenoa repens* 480 mg/animal/día**

<b>Animal</b>	<b>Hematuria pre.</b>	<b>Hematuria- post.</b>	<b>Disuria- pre.</b>	<b>Disuria- post.</b>	<b>Tenesmo- pre.</b>	<b>Tenesmo- post.</b>
<b>1</b>	neg.	neg.	+++	++	+++	++
<b>2</b>	+++	+	+	neg.	neg.	neg.
<b>3</b>	+++	+	+++	+++	+	+
<b>4</b>	+++	neg.	+++	neg.	neg.	neg.
<b>5</b>	neg.	neg.	+++	neg.	+++	neg.
<b>6</b>	+	neg.	++	neg.	neg.	neg.
<b>7</b>	neg.	neg.	+	neg.	+++	neg.

Para el grupo n° 2 que recibió 1440 mg/animal del ELSR, los resultados nos muestran una reducción de la sintomatología asociada a la HPB.

Para la variable hematuria, los siete animales del grupo presentaban el síntoma, los cuales anotaron la ausencia de este una vez finalizado el tratamiento.

La variable disuria se presentó marcadamente en dos animales, los cuales, una vez finalizado el tratamiento no presentaron el síntoma.

La variable tenesmo fue observada en cuatro animales antes de iniciar el tratamiento, todos ellos una vez terminado el tratamiento no presentaron el síntoma.

**Tabla 9 Resultado de las Variables Clínicas - *Serenoa repens* 1440 mg/animal/día.**

<b>Animal</b>	<b>Hematuria pre.</b>	<b>Hematuria post.</b>	<b>Disuria pre.</b>	<b>Disuria post.</b>	<b>Tenesmo pre.</b>	<b>Tenesmo post.</b>
<b>1</b>	+	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
<b>2</b>	+	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
<b>3</b>	+	neg.	+++	neg.	+	neg.
<b>4</b>	+	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
<b>5</b>	+	neg.	neg.	neg.	+++	neg.
<b>6</b>	+	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
<b>7</b>	+++	neg.	+++	neg.	+++	neg.

Para el grupo n° 3 que recibió 0,55 mg/kg de acetato de megestrol, los resultados nos muestran una marcada reducción de la sintomatología asociada a la HPB.

Para la variable hematuria, cuatro animales presentaban el síntoma. Todos ellos redujeron la anotación post tratamiento.

La variable disuria se presentó marcadamente en un animal, el cual no anotó este síntoma al final del tratamiento.

La variable tenesmo fue observada en dos animales antes de iniciar el tratamiento, de los cuales uno redujo moderadamente el síntoma, mientras que el otro no presentó variación a la observación un vez finalizado el tratamiento.

**Tabla 10 Resultado de las Variables Clínicas - Acetato de Megestrol 0,55 mg/kg**

<b>Animal</b>	<b>Hematuria pre.</b>	<b>Hematuria post.</b>	<b>Disuria pre.</b>	<b>Disuria post.</b>	<b>Tenesmo pre.</b>	<b>Tenesmo post.</b>
<b>1</b>	++	neg.	+++	neg.	++	+
<b>2</b>	+++	++	neg.	neg.	+++	+++
<b>3</b>	+++	++	neg.	neg.	neg.	neg.
<b>4</b>	+++	+	neg.	neg.	neg.	neg.
<b>5</b>	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
<b>6</b>	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
<b>7</b>	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

## 6. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio han demostrado tener efectos significativos en la reducción del volumen prostático, de la altura acinar prostática y en la reducción de la sintomatología asociada a la HPB, efectos obtenidos por los dos ELSR (SR<sub>1</sub> y SR<sub>2</sub>) y el acetato de megestrol.

Los ELSR son una buena alternativa y existen diversos estudios clínicos que avalan sus efectos terapéuticos en el tratamiento de la sintomatología asociada a la HPB en humanos (Wilt *et al*, 1998; Shukri *et al*, 2000). En perros, son escasos los estudios al respecto. También es necesario disponer de estudios que relacionen los cambios sintomáticos con variaciones del tamaño o volumen prostático, que puedan contribuir a clarificar los mecanismos de acción atribuidos al ELSR.

Es importante señalar que en este estudio existieron diferencias significativas con respecto al tamaño prostático, contraponiéndose a los resultados obtenidos en humanos por Carraro *et al* (1996) o Wilt *et al* (1998), quienes no observaron cambios significativos de este parámetro. Esta evidencia nos acerca a clarificar en cierta medida que los ELSR además de disminuir los síntomas asociados a la HPB en el perro como en el hombre, ejercen una acción concreta y cuantificable sobre la glándula prostática canina.

Los métodos convencionales en morfología son en general poco objetivos y difíciles de traducir en resultados medibles o comparables. El desarrollo de la morfometría asistida por técnicas computacionales ha permitido desarrollar programas que no sólo permiten capturar imágenes de microscopía, sino también realizar análisis y mediciones que permiten objetivizar los estudios relacionados con cambios en tejidos y células. Entre los sistemas de última generación destaca el programa Image-Pro Plus<sup>®</sup> (MediaCybernetics, USA), que mediante sus herramientas de calibración permiten automáticamente reconocer bordes a lo largo de líneas rectas o irregulares, permitiendo definir estructuras como vasos sanguíneos, células, núcleos y otros, ayudando a cuantificarlas, medir en ellas superficies, diámetros,

etc. Sistemas avanzados de filtros y tecnología de segmentación ayudan a separar objetos sobrepuestos, definir bordes poco nítidos, reconocer conglomerados de células, entre otras posibilidades. De esta manera en este estudio, se permitió detectar contornos, definir y medir con gran exactitud la altura epitelial del acino prostático.

Es este estudio la reducción de la altura epitelial acinar prostática se presentó en todos los grupos del estudio, pero es de interés señalar que los efectos logrados por los tratamientos SR<sub>1</sub> y SR<sub>2</sub>, demuestran los efectos que estos compuestos pueden ejercer sobre la estructura celular prostática. Los resultados obtenidos por Marks *et al* (2000), concuerdan con la reducción del porcentaje del epitelio cercano al 10 % a los 6 meses de iniciado el tratamiento con ELSR, además de una atrofia glandular progresiva hacia el término del estudio realizado en hombres con HPB.

Los mecanismos de acción atribuidos a este efecto se relacionarían a la capacidad no-hormonal del ELSR, que por la naturaleza lipofílica de sus componentes podrían afectar el microambiente celular prostático. De esta manera se demuestra que a concentraciones terapéuticas en pacientes humanos, la morfología celular prostática difiere marcadamente de las células de pacientes no tratados, presentando un gran acúmulo lipídico en el citoplasma, con daño severo de las membranas mitocondriales y nucleares. Mediante estudios en cultivos celulares se demuestra que los ELSR tienen acción selectiva sobre las células prostáticas del epitelio y estroma, incrementando el índice apoptótico de estas e inhibiendo la expresión de la 5  $\alpha$  reductasa (Bayne *et al*, 2000; Bayne *et al*, 1999; Gerber *et al*, 2001).

La acción inhibitoria del ELSR puede atribuirse a la acción moduladora que estos lípidos ejercen sobre el microambiente de la enzima convertidora que, asociada a la membrana nuclear y a la citotoxicidad de ciertos ácidos grasos polinsaturados sobre células en replicación, sugieren una potente inhibición de la influencia androgénica y de la acumulación de DHT en el tejido prostático hiperplasiado (Liang y Tiao, 1992; Iguchi *et al*, 2001; Gerber *et al*, 2001)

Los resultados obtenidos en este estudio son concordantes a los realizados en el hombre. Los rápidos y significativos efectos producidos sobre los parámetros urodinámicos en el hombre y sobre los síntomas asociados la HPB en el canino, sugiere que la acción antiinflamatoria y antiedematosa participaría en la reducción de estos síntomas (Carraro *et al*, 1996; Al-Shukri *et al*, 2000), además de la evidencia concreta que se logró sobre los diámetros prostáticos y sobre la proliferación celular.

En contraste a nuestros hallazgos, Barsanti *et al* (2000), luego del tratamiento PO de 300 y 1500 mg diarios de un ELSR por 90 días consecutivos a perros con HPB espontánea, no evidenciaron cambios en el peso y volumen prostático, como también en la evaluación histopatológica. Además este estudio nos mostró que no se ve afectado el volumen seminal, motilidad, morfología y concentración espermática, como también no se ve afectada la libido y la bioquímica sanguínea después de los tratamientos. Dada esta variación tan marcada con nuestra experiencia, es importante considerar que los fitofármacos son productos vegetales manufacturados sobre la base de una estandarización de sus compuestos, necesaria para determinar la potencia de una formulación, que puede variar entre una marca comercial a otra. Debido a la ausencia de estudios en caninos *in vivo*, este estudio significó para nosotros una base para comparar la eficacia real de estos extractos sobre la HPB, con dosis y regímenes de administración similares a las empleadas por estos investigadores.

Cabe señalar la variación de los resultados obtenidos entre los dos ELSR, SR<sub>1</sub> y SR<sub>2</sub>, que si bien ambos grupos tratados presentaron diferencias significativas pre y post tratamiento en todos los parámetros cuantitativamente y cualitativamente evaluados, es evidente que el grupo tratado con SR<sub>1</sub> presentó una mayor potencia y eficacia sobre el tejido prostático, y de acuerdo a lo señalado, cobran real importancia los aspectos que deben reunir los fitofármacos, con características estandarizadas de una preparación de droga o extracto, con su perfil específico farmacognóstico, químico, biológico y farmacéutico (Morales, 2000).

Es significativa la eficacia que presentó el acetato de megestrol sobre un grupo tratado con ELSR, sin embargo, debemos considerar que este grupo presentó efectos colaterales marcados, como fueron la polifagia y el aumento de peso en algunos animales tratados. Lo que sugiere a futuro, realizar estudios isobolométricos de estos dos medicamentos. La importancia de este método radica en la posibilidad de encontrar una combinación sinérgica de estas dos drogas, que permita obtener el efecto deseado con dosis menores a los componentes de la mezcla (Miranda y Pinardi, 1997).

## 7. CONCLUSIONES

De acuerdo a los planteamientos iniciales de este estudio, la evaluación de la terapia con ELSR sobre la HPB en el perro demostró ser una alternativa no hormonal para el tratamiento de la enfermedad.

La respuesta clínica representada por una reducción de los parámetros histopatológicos indicadores de HPB (ver anexo nº 6), cambios morfométricos en el patrón ecotomográfico y una disminución de los síntomas asociados, logrados al administrar dos dosis diferentes de dos ELSR, comparados a la respuesta obtenida por el acetato de megestrol que también es satisfactoria sobre estos parámetros, nos demuestra que el uso de ELSR exento de reacciones adversas comparadas al grupo tratado con acetato de megestrol, como fueron la ganancia de peso y polifagia, constituye una alternativa cierta a los procedimientos quirúrgicos de orquitectomía, prostatectomía y también a otras terapias farmacológicas que por su naturaleza hormonal o no, no presentan la seguridad e inocuidad mostrada por estos ELSR, que si bien no presentaron la misma eficacia y potencia proporcional a las dosis administradas ( $SR_1$  y  $SR_2$ ), nos disponen a contribuir y a demostrar que la bioequivalencia difiere entre las distintas marcas comerciales disponibles en el mercado nacional.

## 8. ANEXOS

### Anexo n° 1

Grupo n° 1: *Serenoa repens* 480 mg/animal/día.

#### Hallazgos Ecotomográficos - Grupo *Serenoa repens* 480 mg/animal/día.

Animal	Edad	Peso (kg)	Raza	Tamaño	Ecogenicidad	Homogeneidad
1 pre	4	32	O/A	Levemente aumentado de volumen.	Hiperecogénica.	Homogénea.
1 post	4	32	O/A	Levemente aumentado de volumen	Hiperecogénica.	Homogénea.
2 pre	5	33	O/A	Marcado aumento de volumen	Hiperecogénica.	Homogénea.
2 post	5	33	O/A	Marcado aumento de volumen	Hiperecogénica.	Homogénea.
3 pre	6	31	O/A	Aumentada de volumen, ovoidea.	Hiperecogénica	Levemente heterogénea.
3 post	6	31	O/A	Aumentada de volumen, bilobulada	Hiperecogénica	Homogénea.
4 pre	8	30	O/A	Aumentada de volumen, asimétrica	Hiperecogénica	Homogénea.
4 post	8	30	O/A	Aumentada de volumen, asimétrica	Hiperecogénica	Homogénea.
5 pre	7	31	O/A	Marcado aumento de volumen.	Muy hiperecogénica.	Homogénea.

<b>5 post</b>	7	31	O/A	Bilobulada, aumentada de volumen.	Hiperecogénica.	Heterogénea con estructura hiperecogénica en polo ventral derecho.
<b>6 pre</b>	9	32	O/A	Aumento de volumen lóbulo izquierdo, asimétrica.	Hiperecogénica.	Levemente heterogénea.
<b>6 post</b>	9	32	O/A	Asimétrica, aumento de volumen lóbulo izquierdo	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>7 pre</b>	6	36	O/A	Marcado aumento de volumen.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>7 post</b>	6	36	O/A	Marcado aumento de volumen.	Hiperecogénica.	Homogénea.

**Hallazgos Histopatológicos - Grupo *Serenoa repens* 480 mg/animal/día.**

<b>Animal</b>	<b>Edad (años)</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Raza</b>	<b>Hallazgos Histopatológicos</b>
<b>1 pre</b>	4	32	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas.
<b>1 post</b>	4	32	O/A	Tejido de aspecto normal, sin papilas.
<b>2 pre</b>	5	33	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas.
<b>2 post</b>	5	32	O/A	Mayor contenido de tejido conectivo, sin papilas.

<b>3 pre</b>	6	31	O/A	Tejido hiperplásico, con base inflamatoria, gran número de papilas.
<b>3 post</b>	6	31	O/A	Tejido hiperplásico, mayor contenido de tejido conectivo.
<b>4 pre</b>	8	30	O/A	Tejido muy hiperplásico, papilas en moderada cantidad.
<b>4 post</b>	8	30	O/A	Tejido hiperplásico, mayor contenido de tejido conectivo, papilas en baja cantidad.
<b>5 pre</b>	7	31	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas
<b>5 post</b>	7	31	O/A	Tejido hiperplásico, bajo número de papilas.
<b>6 pre</b>	9	32	O/A	Tejido hiperplásico, gran número de papilas.
<b>6 post</b>	9	32	O/A	Mayor contenido de tejido conectivo, sin papilas.
<b>7 pre</b>	6	36	O/A	Tejido hiperplásico, gran número de papilas.
<b>7 post</b>	6	35	O/A	Mayor contenido de tejido conectivo, sin papilas.

Anexo n° 2

Grupo n° 2: *Serenoa repens* 1440 mg/animal/día.

Hallazgos Ecotomográficos - Grupo *Serenoa repens* 1440 mg/animal/día.

Animal	Edad	Peso (kg)	Raza	Tamaño	Ecogenicidad	Homogeneidad
<b>1 pre</b>	4	31	O/A	Aumentada de tamaño, simétrica.	Hiperecogénica.,	Homogénea
<b>1 post</b>	4	31	O/A	Aumentada de tamaño, simétrica.	Hiperecogénica.,	Homogénea
<b>2 pre</b>	5	32	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea
<b>2 post</b>	5	32	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea
<b>3 pre</b>	6	30	O/A	Aumentada de volumen. Área de 2 cm. con signos de sustitución.	Hiperecogénica.	Heterogénea.
<b>3 post</b>	6	31	O/A	Aumentada de volumen. Área de 2 cm. con signos de sustitución.	Hiperecogénica.	Heterogénea.
<b>4 pre</b>	8	33	O/A	Aumentada de volumen.	Levemente Hiperecogénica.	Homogénea
<b>4 post</b>	8	33	O/A	Aumentada de volumen.	Levemente Hiperecogénica.	Homogénea
<b>5 pre</b>	7	31	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea
<b>5 post</b>	7	31	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea

<b>6 pre</b>	9	34	O/A	Normal.	Normoecogenica	Homogénea
<b>6 post</b>	9	33	O/A	Normal.	Lob derecho estructura hipoecogénica.	Homogénea
<b>7 pre</b>	4	33	O/A	Aumentada de volumen, simétrica..	Normoecogenica	Homogénea
<b>7 post</b>	4	33	O/A	Aumentada de volumen, simétrica..	Normoecogenica	Homogénea

**Hallazgos Histopatológicos - Grupo *Serenoa repens* 1440 mg/animal/día.**

<b>Animal</b>	<b>Edad (años)</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Raza</b>	<b>Hallazgos Histopatológicos</b>
<b>1 pre</b>	4	31	O/A	Tejido muy hiperplásico, metaplasia escamosa, con base inflamatoria. Disposición irregular de las células basales, doble capa.
<b>1 post</b>	4	31	O/A	Tejido hiperplásico. Disposición celular normal.
<b>2 pre</b>	5	32	O/A	Tejido muy hiperplásico, sólido, pérdida de conductos. Base inflamatoria.
<b>2 post</b>	5	32	O/A	Tejido normal, aspecto acinar, gran cantidad de tejido conectivo, poco proliferativo, sin base inflamatoria.
<b>3 pre</b>	6	30	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas, base inflamatoria.
<b>3 post</b>	6	31	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas.

<b>4 pre</b>	8	33	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas
<b>4 post</b>	8	33	O/A	Tejido de aspecto normal, sin papilas, mayor cantidad de tejido conectivo. Se observan los conductos.
<b>5 pre</b>	7	31	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas.
<b>5 post</b>	7	31	O/A	Tejido hiperplásico, escasas papilas.
<b>6 pre</b>	9	34	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas.
<b>6 post</b>	9	33	O/A	Tejido de aspecto normal, sin papilas, mayor cantidad de tejido conectivo.
<b>7 pre</b>	4	33	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas.
<b>7 post</b>	4	33	O/A	Tejido de aspecto normal, sin papilas, mayor cantidad de tejido conectivo.

**Anexo n° 3**

**Grupo n° 3: Acetato de Megestrol 0,55 mg/kg/día.**

**Hallazgos Ecotomográficos - Grupo Acetato de Megestrol 0,55 mg/kg/día.**

<b>Animal</b>	<b>Edad</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Raza</b>	<b>Tamaño</b>	<b>Ecogenicidad</b>	<b>Homogeneidad</b>
<b>1 pre</b>	4	31	O/A	Aumentada de volumen.	Normoecogénica.	Homogénea.
<b>1 post</b>	4	33	O/A	Normal.	Normoecogénica.	Homogénea.
<b>2 pre</b>	5	33	O/A	Aumentada de volumen, simétrica	Levemente granular, hiperecogénico.	Heterogénea.
<b>2 post</b>	5	34	O/A	Aumentada de volumen, simétrica	Levemente granular, hiperecogénico.	Heterogénea.
<b>3 pre</b>	6	31	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>3 post</b>	6	33	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>4 pre</b>	8	35	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>4 post</b>	8	37	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>5 pre</b>	7	30	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>5 post</b>	7	30	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>6 pre</b>	9	31	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.

<b>6 post</b>	9	33	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>7 pre</b>	6	32	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.
<b>7 post</b>	6	32	O/A	Aumentada de volumen, simétrica.	Hiperecogénica.	Homogénea.

**Hallazgos Histopatológicos - Grupo Acetato de Megestrol 0,55 mg/kg/día.**

<b>Animal</b>	<b>Edad (años)</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Raza</b>	<b>Hallazgos Histopatológicos</b>
<b>1 pre</b>	4	31	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas, con base inflamatoria crónica.
<b>1 post</b>	4	33	O/A	Tejido de aspecto normal, sin papilas.
<b>2 pre</b>	5	33	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas, con formación quística.
<b>2 post</b>	5	34	O/A	Tejido normal. Mayor contenido de tejido conectivo entre conductos.
<b>3 pre</b>	6	31	O/A	Tejido muy hiperplásico, metaplasia escamosa, gran número de papilas.
<b>3 post</b>	6	33	O/A	Tejido normal, no proliferativo, núcleos oscuros.
<b>4 pre</b>	8	35	O/A	Tejido muy hiperplásico, con base inflamatoria leve, epitelio cilíndrico alto.
<b>4 post</b>	8	37	O/A	Tejido normal, no proliferativo, núcleos oscuros, epitelio bajo.

<b>5 pre</b>	7	30	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas.
<b>5 post</b>	7	30	O/A	Tejido de aspecto normal, sin papilas
<b>6 pre</b>	9	31	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas.
<b>6 post</b>	9	33	O/A	Tejido de aspecto normal, sin papilas.
<b>7 pre</b>	6	32	O/A	Tejido muy hiperplásico, gran número de papilas, con base inflamatoria.
<b>7 pre</b>	6	32	O/A	Tejido de aspecto normal, sin papilas.

**Anexo nº 4**

**Protocolo de Evaluación Ecotomográfica e Histopatológica**

**Ficha nº .....**

**Evaluación nº .....**

**Nombre: .....**

**Edad: .....**

**Raza: .....**

**Fecha de ingreso al estudio: .....**

**Fármaco: .....**

**Próxima evaluación: .....**

**Nombre Dueño: .....**

**Dirección: .....**

**Telefonos: .....**

**Estudio ecotomográfico:**

<b>Corte transversal (cm.)</b>	
<b>Alto</b>	
<b>Ancho</b>	
<b>Corte logitudinal (cm.)</b>	

<b>Morfología</b>	<b>si</b>	<b>no</b>	<b>sin cambios</b>
<b>Presencia de cavidades</b>			
<b>Fibrosis cavitaria</b>			

**Tamaño:**

**Ecogenicidad:**

**Homogeneidad:**

**Obs:**

**Estudio Histopatológico**

**n° Exámen:**

**Diagnóstico Histopatológico:**

**Altura epitelial ( $\mu\text{m}$ ):**

**1:**

**2:**

**3:**

**Promedio:**

**Obs.**

## Anexo nº 5

### Protocolo de Evaluación Clínica

**Paciente nº:**

**Grupo nº:**

**Inicio tratamiento:**

**Fin tratamiento:**

#### Conceptos Asociados a la Enfermedad Prostática

**Disuria:** Término genérico para determinar las alteraciones de la micción, limitado casi exclusivamente para señalar la dificultad para emitir orina. Su intensidad se determinará como: 1 cruz, 2 cruces, 3 cruces o no determinado

**Tenesmo:** Síntoma que se manifiesta en la defecación, dificultad manifiesta del acto. Su intensidad se determinará como: 1 cruz, 2 cruces, 3 cruces o no determinado

**Hematuria:** Presencia de glóbulos rojos intactos en la orina, representada visualmente por tonos anaranjados o rojizos de esta. Su intensidad se determina mediante la escala colorimétrica del medio diagnóstico.

Instrucciones de uso: Moje completamente la tira con la orina del animal, espere 30 segundos y compare la 5ª celda con la escala de colores. Marque con una cruz antes de la línea oblicua para la medición realizada antes de iniciar el tratamiento, y con una cruz después de la línea oblicua una vez que haya terminado el tratamiento.

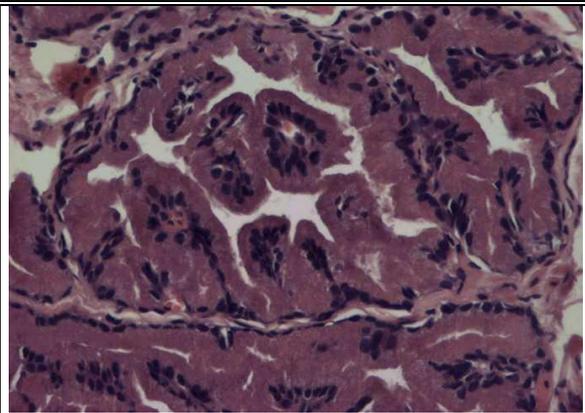
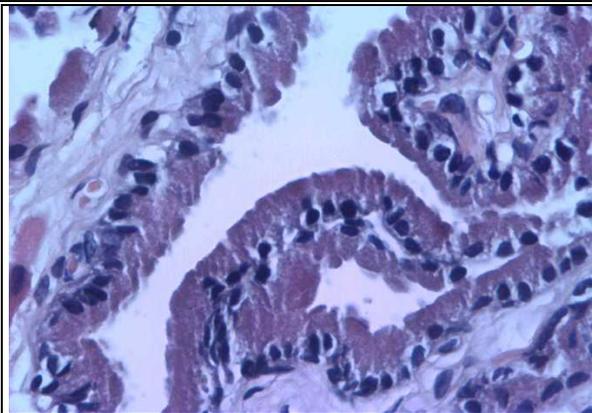
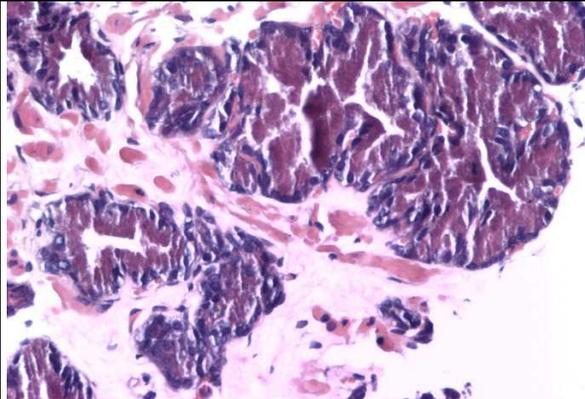
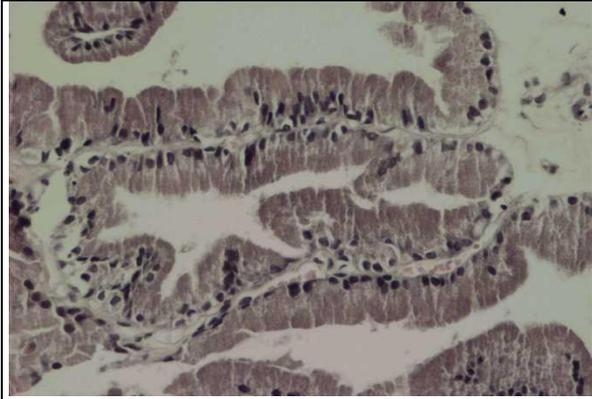
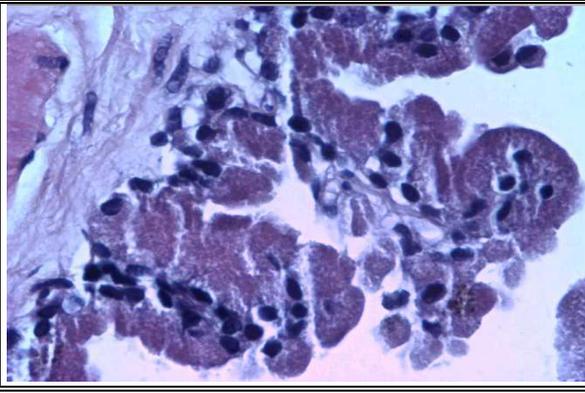
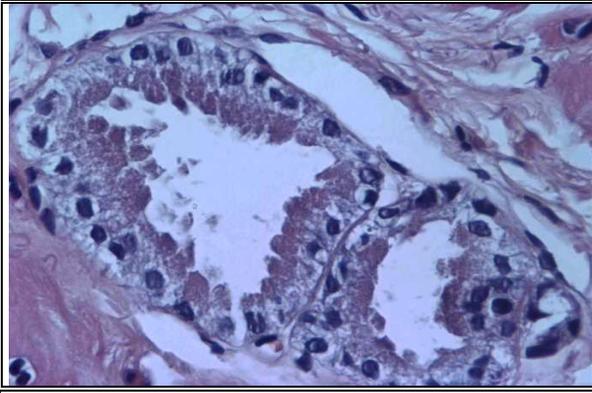


-----      -----      -----      -----      -----      -----

	<b>Disuria</b>	<b>Tenesmo</b>
<b>Pre Tratamiento</b>		
<b>Post tratamiento</b>		

Anexo n° 6

Muestras Histopatológicas

	
<b>Tratamiento SR1 – Pre.</b>	<b>Tratamiento SR1 – Post.</b>
	
<b>Tratamiento SR2 – Pre.</b>	<b>Tratamiento SR2 – Post.</b>
	
<b>Tratamiento Acetato de Megestrol - Pre.</b>	<b>Tratamiento Acetato de Megestrol – Post.</b>

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- **AL-SHUKRI, SH., DESCHASEAUX, P., KUZMIN, IV.** 2000. Early urodinamic effects of the lipido-sterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon) in patients with lower urinary symptoms due to benign prostatic hyperplasi. *Pros Cancer and Prostatic Diseases* 3: 195-199
- **ASCOLI, M.; SEGALOFF, D.L.** 1996. Hormonas adenohipofisiarias y sus factores liberadores hipotalámicos. **In:** Hardman, J.; Limbird, L.; Molinoff, P.; Ruddon, R.; Gododman, A. (Eds.). *Goodman & Gilman, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* 8<sup>a</sup> ed. español. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. España. pp. 1447-67.
- **BAMBERG-THELEN, B.; LINDE-FORSBERG, C.** 1993. Treatment of canine benign prostatic hyperplasia with medroxyprogesterone acetate. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 29: 221-226.
- **BARSANTI, J.; FINCO, D.** 1992. Prostatic Diseases. **In:** Kirk, R. (ed.). *Current Veterinary Therapy.* 11<sup>a</sup> ed. Saunders. Philadelphia. USA. pp: 1662-1685.
- **BARSANTI, J.A.; FINCO, D.R.** 1994. Prostatic Diseases. **In:** Ettinger, S.J.; Feldman, E.C. (Eds.). *Texbook of Veterinary Internal Medicine.* 4<sup>a</sup> ed. WB Saunders. Philadelphia. USA. pp. 1162-1685.
- **BARSANTI, J.; FINCO, D.** 1997. Tratamiento médico de la hiperplasia prostática canina. **In:** Kirk, R.; Bonagura, J.H. (Eds.). *Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales XII.* Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. España. pp. 1112-1114.
- **BARSANTI, J.; FINCO., D.; MAHAFFEY, M.; FAYRER-HOSKEN, R.; CROWELL, W.; THOMPSON, F.; SHOTTS, E.** 2000. Effects of an extract of *Serenoa repens* on dogs with hyperplasia of the prostate gland. *Am. J. Vet. Res.* 61: 880-885.

- **BAYNE, C.W.; DONNELLY, F.; ROSS, M.; HABIB, F.K.** 1999. *Serenoa repens* (Permixon®): a 5alpha-reductase types I and II inhibitor-new evidence in a coculture model of BHP. *Prostate* 40: 232-241.
- **BAYNE, C.W.; ROSS, M.; DONNELLY, F.; HABIB, F.K.** 2000. The selectivity and specificity of the actions of the lipido-sterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon®) on the prostate. *J. Urol.* 164: 876-881.
- **BEGUN, F.P.; STORY, M.T.; HOPP, K.A.; SHAPIRO, E.; LAWSON, R.K.** 1995. Regional concentration of basic fibroblast growth factor in normal and benign hyperplastic human prostates. *J. Urol.* 153: 839-843.
- **BELL, F.W.; KLAUSNER, J.S.; HAYDEN, D.W.** 1995. Evaluation of serum and seminal plasma markers in the diagnosis of canine prostatic disorders. *J. Vet. Int. Med.* 9: 149-153.
- **BERRY, S.J.; COFFEY, D.S.; STRANDBERG, J.D.; EWING, L.L.** 1986. Effect of age, castration, and testosterone replacement on the development and restoration of canine benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 9: 295-302.
- **BOMBARDELLI, E.; MORAZZONI, P.** 1997. *Serenoa repens* (Bartram) J.K. *Small. Fitoterapia* 58: 99-113.
- **BREU, W.; HAGENLOCHER, M.; REDL, K.; TITTEL, G.; STADLER, F.; WAGNER, H.** 1992. Anti-inflammatory activity of Sabal fruit extracts prepared with supercritical carbon dioxide. *In vitro* antagonists of ciclooxigenase and 5-lipoxygenase metabolism. *Arzeimittelforschung* 42: 547-551.
- **BRUCHOVSKY, N.; SADAR, M.D.; AKAKURA, K.; GOLDENBERG, S.L.; MATSUOKA, K.; RENNIE, P.S.** 1996. Characterization of 5alpha-reductase gene expression in stroma and epithelium of human prostate. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 59: 397-404.
- **CARILLA, E.; BRILEV, M.; FAURAN, F.; SULTAN, F.; DUVILLIERS, C.** 1984. Binding of Permixon a new treatment for prostatic benign hyperplasia to the cytosolic androgen receptor in the rat prostate. *J. Steroid. Biochem.* 20: 521-523.

- **CARRARO, J.C.; RAYNAUD, J.P.; KOCH, G.; CHISHOLM, G.D.; DI SILVERIO, F.; TEILLAC, P.; DA SILVA, F.C.; CAUQUIL, J.; CHOPIN, D.K.; HAMDY, F.C.; HANUS, M.; HAURI, D.; KALINTERIS, A.; MARENCAK, J.; PERIER, A.; PERRIN, P.** 1996. Comparison of phytotherapy (Permixon<sup>®</sup>) with finasteride in the treatment of benign prostate hyperplasia: a randomized international study of 1,098 patients. *Prostate* 29: 231-240.
- **CARTEE, R.; ROWELS, T.** 1983. Transabdominal sonographic evaluation of the canine prostate. *Vet. Radiol.* 4: 156-164.
- **CARTEE, R.E.; RUMPH, P.F.; KENTER, DC.; COONEY, J.C.; FRANK, D.; HAUGHT, J.; LEONG, P.; HUMPHRIES, M.; AMARATUNGA, P.; ZAMPAGLIONI, N.** 1990. Evaluation of drug-induced involution in dogs by transabdominal B-mode ultrasonography. *Am. J. Vet. Res.* 51: 1773-1778.
- **CHEVALIER, S.; MCKERCHER, G.; CHAPDELAINE, A.** 1991. Serum and prostatic growth-promoting factors for steroid-independent epithelial cells of adult dog prostate. *Prostate* 19: 207-220.
- **CHEVALIER, G.; BERNARD, H.; COUSSE, H.; BENGONE, T.** 1997. Distribution study of radioactivity in rats after oral administration of the lipido/sterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon<sup>®</sup>) supplemented with (1-<sup>14</sup>C)-lauric acid, (1-<sup>14</sup>C)-oleic acid or (4-<sup>14</sup>C)- $\beta$ -sitosterol. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinetics* 22: 73-83.
- **CHOONG, C.S.; WILSON, E.M.** 1998. Trinucleotide repeats in the human androgen receptor: a molecular basis for disease. *J. Mol. Endocrinol.* 21: 235–257.
- **CHURCH, D.B.; WATSON, A.D.; EMSLIE, D.R.; MIDDLETON, D.J.; TAN, K.; WONG, D.** 1994. Effects of proligestone and megestrol on plasma adrenocorticotrophic hormone, insulin and insulin-like growth factor-1 concentrations in cats. *Res. Vet. Sci.* 56: 175-178.
- **COFFEY, D.S.; WALSH, P.C.** 1990. Clinical and experimental studies of benign prostatic hyperplasia. *Urol. Clinic.* 17: 461.

- **COHEN, S.M.; WERMANN, J.G.; RASMUSSEN, G.H.; TANAKA, W.K.; MALATESTA, P.; PRAHALADA, S.; JACOBS, J.G.; HARRIS, G.; NETT, T.M.** 1995. Comparison of the effects of new specific azasteroid inhibitors of steroid 5 $\alpha$  reductase on canine hyperplastic prostate: suppression of prostatic DHT correlated with prostate regression. *The Prostate* 26: 55–71.
- **COSTELLO, L.C. LIU, Y.; ZOU, J.; FRANKLIN, R.B.** 2000. The pyruvate dehydrogenase E1  $\alpha$  gene is testosterone and prolactin regulated in prostate epithelial cells. *Endocr. Res.* 26: 23-39.
- **COWAN, L.; BARSANTI, J.; CROWELL, W.; BROWN, J.** 1991. Effects of castration on chronic bacterial prostatitis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 3: 346-350.
- **CUKIERSKI, M.J.; JOHNSON, P.A.; BECK, J.C.** 2001. Chronic (60-week) toxicity study of DUROS leuprolide implants in dogs. *Int. J. Toxicol.* 20: 369-381.
- **DELLMANN, H.D.; McCLURE, R.C.** 1982. Neurología de los carnívoros. **In:** Sisson, S.; Grossman, J.D. (Eds.). *Anatomía de los Animales Domésticos*, 5ª ed. español. Salvat Editores. Mallorca. España. pp. 1832-1907.
- **DI SILVERIO, F.; D'ERAMO, G.; LUBRANO, C.; FLAMMIA, G.P.; SCIARRA, A.; PALMA, E.; CAPONERA, M.; SCIARRA, F.** 1992. Evidence that *Serenoa repens* extract displays an antiestrogenic activity in prostatic tissue of benign prostatic hypertrophy patients. *Eur. Urol.* 21: 309-314.
- **DI SILVERIO, F.; MONTI, S.; SCIARRA, A.; VARASANO, P.A.; MARTINI, C.; LANZARA, S.; D'ERAMO, G.; DI NICOLA, S.; TOSCANO, V.** 1998. Effects of long-term treatment with *Serenoa repens* (Permixon®) on the concentrations and epidermal growth factor in benign prostatic hyperplasia. *The Prostate* 37: 77-83.
- **DING, V.D.; MOLLER, D.E.; FEENEY, W.P.; DIDOLKAR, V.; NAKHLA, A.M.; RHODES, L. ROSNER, W.; SMITH, R.G.** 1998. Sex hormone-

binding globulin mediates prostate androgen receptor action via a novel signaling pathway. *Endocrinology* 139: 213-218.

- **DORFMAN, M.; BARSANTI, J.** 1995. Diseases of the canine prostatic gland. Continuing Education Article n°3. *The Compendium* (17) 6: 791-806.
- **DUBE, J.Y.; FRENETTE, G.; TREMBLAY, R.R.** 1981. Effect of endocrine manipulations on the levels of cytosolic and nuclear receptors for androgens in dog prostate. *Invest. Urol.* 18(8): 418-421.
- **DUBE, J.Y.; LAZURE, C.; TREMBLAY, R.R.** 1986. Dog prostate arginine esterase is related to human prostate specific antigen. *Clin. Invest. Med.* 9(1):51-54.
- **DUBE, J.Y.; CHAPDELAIN, P.; GUERIN, S.; LECLERC, S.; RENNIE P.S., MATUSIK, R.J.; TREMBLAY, R.R.** 1995. Search for androgen response elements in the proximal promoter of the canine prostate arginine esterase gene. *J. Androl.* 16(4):304-311.
- **EL ETREBY, MF.; HABENICHT, UF.; LOUTON, T.; NISHINO, Y.; SCHRODER, HG.** 1987. Effect of cyproterone acetate in comparison to flutamide and megestrol acetate on the ventral prostate, seminal vesicle, and adrenal glands of adult male rats. *Prostate* 11(4): 361-375.
- **ENGLAND, G.C.** 1997. Effect of progestogens and androgens upon spermatogenesis and steroidogenesis in dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 51: 123-138.
- **ESTEVEZ, C.** 2001. Hormonoterapia del cáncer de próstata: Farmacología clínica. *Rev. Med. Uruguay* 17: 10-16.
- **EWING, L.L.; BERRY, S.J.; HIGGINBOTTOM, E.G.** 1983. Dihydrotestosterone concentration of beagle prostatic tissue: effect of age and hyperplasia. *Endocrinology* 113(6):2004-2009.
- **FEENEY, D.A.; JOHNSTON, G.; KLAUSNER, R.; PERMAN, J.S.; LEINIGER, V.; TOMLINSON J.R.** 1987. Reports of reproductive studies: canine prostatic diseases-comparison of radiographic appearance with

morphologic and microbiologic findings: 30 cases (1981-1985). *J. Am. Vet. Assoc.* 190: 1018-1026.

- **FINN, S.; WRIGLEY, R.** 1991. Ultrasonography and ultrasound-guided biopsy of the canine prostate. **In:** Kirk, R.(ed.). *Current Veterinary Therapy*. 10<sup>a</sup> ed. Saunders. Philadelphia. USA. pp. 1227-1239.
- **FRENETTE, G.; DUBE, J.Y.; LACOSTE, D.; TREMBLAY, R.R.** 1887 Radioimmunoassay in blood plasma of arginine esterase: the major secretory product of dog prostate. *Prostate* 10(2):145-152.
- **GARCIA, P.; SAN ANDRES, M.; SAN ROMAN, F.** 1992. Aparato genital masculino. **In:** Martínez, M (ed.). *Radiología Veterinaria en Pequeños Animales*. Mc Graw-Hill. Madrid. España. pp. 373-390.
- **GELLER, J.; ALBERT, J.; GELLER, S.** 1982. Acute therapy with megestrol acetate decreases nuclear and cytosol androgen receptors in human BPH tissue. *Prostate* 3(1): 11-5.
- **GERBER, G.S.; KUZNETSOV.D.; JOHNSON, B.C.; BURSTEIN, J.D.** 2001. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of Saw palmetto in men with lower urinary tract symptoms. *Urology* 58(6): 960-964.
- **GHOSHAL, N.G.** 1982. Corazón y arterias de los carnívoros. **In:** Sisson, S.; Grossman, J.D. (Eds.). *Anatomía de los Animales Domésticos*, 5<sup>a</sup> ed. español, Salvat Editores. Mallorca. España. pp. 1746-1810.
- **GIRI, D.; ITTMANN, M.** 2001. Interleukin-8 is a paracrine inducer of fibroblast growth factor 2, a stromal and epithelial growth factor in benign prostatic hyperplasia. *Am. J. Pathol.* 159(1):139-147.
- **GOBELLO, C.; CASTEX, G.; CORRADA, Y.** 2002. Serum and seminal markers in the diagnosis of disorders of the genital tract of the dog: a mini-review. *Theriogenology* 57(4):1285-1291.
- **GOLDFIEN, A.** 1999a. Hormonas e inhibidores gonadales. **In:** Katzung, B. (Ed.). *Farmacología Básica y Clínica*. 9<sup>a</sup> ed. español. Editorial El Manual Moderno. México DF, México. pp. 757-790.

- **GOLDFIEN, A.** 1999b. Quimioterapia del cancer. **In:** Katzung, B. (Ed.). Farmacología Básica y Clínica, 9ª ed. español. Editorial El Manual Moderno. México DF. México. pp. 1011-1054.
- **GORDON, N.** 1961. Position of canine prostate gland. Am. J. Vet. Res. 22: 142.
- **GOSSELIN, Y.; CHALIFOUX, A.** 1981. The use of megestrol acetate in some feline dermatologic problems. Can. Vet. J. 22:382-384.
- **GRINO, P.B.; GRIFFIN, J.E.; WILSON, J.D.** 1990. Testosterone at high concentrations interacts with the human androgen receptor similarly to dihydrotestosterone. Endocrinology 126(2): 1165-1172.
- **GUESS, H.A., HEYSE, J.F., GORMLEY, G.J.** 1993. Effect of finasteride on serum PSA concentration in men with benign prostatic hyperplasia: results from the North American phase III clinical trial. Urol. Clin. North. Am. 20: 627–636.
- **HAGER, D.; NYLAND, T.; FISHER, P.** 1985. Ultrasound-guided biopsy of the canine liver, kidney and prostate. Vet. Radiol. 3(26): 82-88.
- **IGUCHI, K.; OKUMURA, N.; USUI, S.; SAJIKI, H.; HIROTA, K.; HIRANO, K.** 2001. Myristoleic acid, a cytotoxic component in the extract from *Serenoa repens*, induces apoptosis and necrosis in human prostatic LNCaP cells. Prostate 47(1): 59-65.
- **IGUER-OUADA, M. VERSTGEN, J.P.** 1997. Effect of finasteride (Proscar MSD) on seminal composition, prostate function and fertility in male dogs. J. Reprod. Suppl. 51: 139-149.
- **IKONEN, T.; PALVIMO, J.J.; KALLIO, P.J.; REINIKAINEN, P.; JANNE, O.A.** 1994 Stimulation of androgen-regulated transactivation by modulators of protein phosphorylation. Endocrinology 135:1359–1366.
- **ISHIZAKA, K.; AZUMA, H.; MATSUBARA, O.; KITAHARA, S.; OSHIMA, H.** 1999. Production of endothelin by canine prostatic epithelial cells and its stimulatory effects on their growth. J. Androl. 20(4): 529-536.

- **JOHNSTON, S.D.; KAMOLPATANA, K.; ROOT-KUSTRITZ, M.V.; JOHNSTON, G.R.** 2000. Prostatic disorders in the dog. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 405-415.
- **JOHNSTON, S.; ROOT, M.; OLSON, P.** 2001a. Disorders of the canine prostate. **In:** *Canine and Feline Theriogenology*. WB Saunders Company. Philadelphia. USA. pp. 337-355.
- **JOHNSTON, S.; ROOT, M.; OLSON, P.** 2001b. Prevention of Fertility in the male Dog. **In:** *Canine and Feline Theriogenology*. WB Saunders Company. Philadelphia. USA. pp 307-311.
- **JUNIEWICZ, P.E.; BARBOLT, T.A.; EGY, M.A.** 1990. Effects of androgen and anti-androgen treatment on canine prostatic arginine esterase. *Prostate* 17: 101-111.
- **KAWAKAMI, E.; TSUTSUI, T.; SHIMIZU, M.; ORIMA, H.; MAKANAE, Y.; YAJIMA, K.; OGASA, A.** 1993. Effects of oral administration of chlormadinone acetate on canine prostatic hypertrophy. *J. Vet. Med. Sci.* 55(4):631-635.
- **KAWAKAMI, E.; SHIMIZU, M.; ORIMA, H.; FUJITA, M.; HORI, T.; TSUTSUI, T.** 1998. Chlormadinone acetate pellet implantation plus short-term oral administration in dogs with benign prostatic hypertrophy. *Int. J. Androl.* 21(2): 67-73.
- **KAWAKAMI, E.; AMEMIYA, E.; NAMIKAWA, K.; KASHIWAGI, C.; HORI, T.; TSUTSUI, T.** 2001. High plasma estradiol 17- $\beta$  levels in dog with prostatic hyperplasia and azoospermia. *J. Vet. Med. Sci.* 63(4): 407-412.
- **KAY, N.** 1996. Enfermedades de la próstata. **In:** Birchard, S.; Sherding, R. (Eds.). *Manual Clínico de Pequeñas Especies*. Mc Graw Hill Interamericana. Atlampa. México. pp. 1027-1035.
- **KLAUSNER, J.; JOHNSTON,S.; BELL, S.** 1997. Transtornos Prostáticos Caninos. **In:** Kirk, R.; Bonagura, JH. (Eds.). *Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales XII*. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. España. pp. 1187-1193.

- **KRAWIEC, DR.; HEFLIN, D.** 1992. Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986). *J. Am.Vet. Med. Assoc.* 200:1119-22.
- **KRAWIEC, D.** 1994. Canine prostate disease. *J. Am.Vet. Med. Assoc.* 10(204): 1561-1564.
- **LACOSTE, D.; DUBE, D.; BELANGER, A.; LABRIE, F.** 1989a. Effect of 2-week combination therapy with the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonist (D-trp6, des-Gly-NH2(10))LHRH ethylamide and antiandrogen flutamide on prostate structure and steroid levels in the dog. *Moll. Cell. Endocrinol.* 67(2-3): 131-138.
- **LACOSTE, D. CARON, S.; BELANGER, A.; LABRIE, F.** 1989b. Effect of 3-week treatment (D-Trp6, des-Gly-NH10(2))LHRH ethylamide, aminoglutethimide, ketoconazole or flutamide alone or in combination on testicular, serum, adrenal and prostatic steroid levels in the dog. *J. Steroid. Biochem.* 33(2): 233-242.
- **LAROQUE, P.A.; PRAHALADA, S.; MOLON-NOBLOT, S.; COHEN, S.M.; SOPER, K.; DUPRAT, P.; PETER, CP.; VAN ZWIETEN, M.J.** 1995. Quantitative evaluation of glandular and stromal compartments in hyperplastic dog prostates: effect of 5-alpha reductase inhibitors. *The Prostate* 27: 121–128.
- **LASAOSA, J.M.** 1992. Aparato genital. **In:** Giménez, A.; Sánchez-Valverde, M. Radiodiagnóstico de Pequeños Animales. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. España. pp. 291-306.
- **LAWSON, R.K.** 1997. Role of growth factors in benign prostatic hyperplasia. *Eur. Urol.* 32: 22-27.
- **LEE, C.** 1996. Role of androgen in prostate growth and regression: Stromal-epithelial interaction. *Pros. Suppl.* 6:52-56.
- **LÉVEILLÉE, R.; PARTINGNOL, B.P.; BILLER, D.S.; MIYABASHI, T.** 1993. Complications after ultrasound-guided biopsy of abdominal structures in dogs and cats: 246 (1984-1991). *J. Am. Vet. Assoc.* 203(3): 413-415.

- **LEVIN, R.M.; DAS, A.K.** 2000. A scientific basis for the therapeutic effects of *Pygeum africanum* and *Serenoa repens*. Urol. Res. 28: 201-209.
- **LIANG, T.; CASCIERI, M.A.; CHEUNG, A.H.; REYNOLDS, G.F.; RASMUSSEN, G.H.** 1985. Species difference in prostatic steroid 5 $\alpha$ -reductases of rat, dog, and human. Endocrinology 117: 571–579.
- **LIANG, T.; LIAO, S.** 1992. Inhibition of steroid 5  $\alpha$ -reductase by specific aliphatic unsaturated fatty acids. Biochem. J. 285: 557-562.
- **LING, G. NYLAND, T.; KENNEDY, P. HAGER, D.; JOHNSON, D.** 1990. Comparison of two sample collection methods for quantitative bacteriologic culture of canine prostatic fluid. J. Am.Vet. Med. Assoc. 9(196): 1479-1482.
- **LOPRINZI, C.L.; SCHAID, D.J.; DOSE, A.M.; BURNHAM, N.L.; JENSEN, M.D.** 1993. Body-composition changes in patients who gain weight while receiving megestrol acetate. J. Clin. Oncol. 11(1): 152-154.
- **LU, B.; SMOCK, S.L.; CASTLEBERRY, T.A.; OWEN, T.A.** 2001. Molecular cloning and functional characterization of the canine androgen receptor. Mol. Cell. Biochem. 226(1-2):129-140.
- **MAHAPOKAI, W.; XUE, Y.; VAN GARDEREN, E.; VAN SLUIJS, F.J.; MOL, J.A.; SCHALKEN, J.A.** 2000. Cell kinetics and differentiation after hormonal-induced prostatic hyperplasia in the dog. Prostate 44(1): 40-48.
- **MAHAPOKAI, W.; VAN DEN INGH, T.S.G.A.M.; VAN MIL, F.; VAN GARDEREN, E.; SCHALKEN, J.A.; MOL, J.A.; VAN SLUIJS, F.J.** 2001. Innate immune response in hormonally-induced prostatic hyperplasia in the dog. Vet. Immunol. Immunopathol. 78: 297-303.
- **MANTOVANI, G.; MACCIO, A.; BIANCHI, A.; CURRELI, L.; GHIANI, M.; SANTONA, M.C.; DEL GIACCO, G.S.** 1995. Megestrol acetate in neoplastic anorexia/cachexia: clinical evaluation and comparison with cytokine levels in patients with head and neck carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. Int. J. Clin. Lab. Res. 25(3): 135-141.

- **MARCHETTI, B.; LABRIE, F.** 1988. Characteristics of flutamide action on prostatic and testicular functions in the rat. *J. Steroid. Biochem.* 29(6): 691-698.
- **MARKS, L.S.; PARTIN, A.W.; EPSTEIN, J.I.; TYLER, V.E.; SIMON, I.; MACAIRAN, M.L.; CHAN, T.L.; DOREY, F.J.; GARRIS, J.B.; VELTRI, R.W.; SANTOS, P.B.; STONEBROOK, K.A.; DEKERNION, J.B.** 2000. Effects of a Saw palmetto herbal blend in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.* 163(5): 1451-1456.
- **MILLER, W.L.** 1998. Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocr. Rev.* 9: 295-318.
- **MIRANDA, H.; PINARDI, G.** 1997. Interacciones entre drogas. **In:** *Farmacodinamia. Mediterraneo. Santiago. Chile.* pp. 42-53.
- **MORALES, M.A.** 2000. La revolución de los fitofármacos. Artículo de difusión y discusión. [en línea]. <<http://farmafitolab.med.uchile.cl/fitofarmacologia/fitofarmaco.html>> [consulta: 25-12-2003]
- **MURAKOSHI, M.; IKEDA, R.; TAGAWA, M.; NAKAYAMA, T.; HONMA, S.; MIEDA, M.** 1998. Immunolocalization of androgen receptor in canine prostatic hyperplasia--effect of antiandrogen. *Tokai J. Exp. Clin. Med.* 23(5): 209-212.
- **MURAKOSHI, M.; TAGAWA, M. IKEDA, R.** 2000. Atrophic effects of antiandrogen, chlormadinone acetate (CMA) on dog prostate with spontaneous benign prostatic hyperplasia. *J. Toxicol. Sci.* 25(3): 143-150.
- **MURAKOSHI, M.; IKEDA, R.; FUKUI, N.** 2001. The effects of chlormadinone acetate (CMA), antiandrogen, on the pituitary, testis, prostate and adrenal gland of the dog with spontaneous benign prostatic hyperplasia. *J. Toxicol. Sci.* 26(3):119-127.
- **NAING, K.K.; DEWAR, J.A.; LEESE, G.P.** 1999. Megestrol acetate therapy and secondary adrenal suppression. *Cancer* 86(6): 1044-1049.

- **NAKHLA, A.M.; DING, V.D.; KHAN, M.S.; ROMAS, N.A.; RHODES, L.; SMITH, R.G.; ROSNER, W.** 1995. 5 alpha-Androstan-3 alpha,17 beta-diol is a hormone: stimulation of cAMP accumulation in human and dog prostate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80: 2259-2262.
- **NICHOLSON, H.D.; JENKIN, L.** 1995. Oxytocin and prostatic function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 395:529-538.
- **ODOMA, S.; CHISHOLM, G.D.; NICOL, K.; HABIB, F.K.** 1985. Evidence for the association between blood prolactin and androgen receptors in BPH. *J. Urol.* 133(4): 717-720.
- **OKADA, H.; DOKEN, Y.; OGAWA, Y.; TOGUCHI, H.** 1994. Preparation of three-month depot injectable microspheres of leuporelin acetate using biodegradable polymers. *Pharm. Res.* 11(8): 1143-1147.
- **ORIMA, H.; SHIMIZU, M.; TSUTSUI, T.; KAWAKAMI, E.; OGASA, A.** 1995. Short-term oral treatment of canine benign prostatic hypertrophy with chlormadinone acetate. *J. Vet. Med. Sci.* 57(1): 139-141.
- **PADILLA, G.M.; YACULLO, R.C.; PADILLA, J.J.; PAYNE, B.; PETROW, V.** 1990. Melengestrol acetate and megestrol acetate are prostatic tumor inhibiting agents. *Biochem. Cell. Biol.* 68(10): 1181-1188.
- **PASCALL, J.C.** 1997. Post-transcriptional regulation of gene expression by androgens: recent observations from the epidermal growth factor gene. *J. Mol. Endocrinol.* 18: 177-180.
- **PAUBERT-BRAQUET, M.; MENCIA HUERTA, J.M.; COUSSE, H.; BRAQUET, H.** 1997. Effect of the lipidic lipidosterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon) on the ionophore A23187-stimulated production of leukotriene B4 (LTB4) from human polymorphonuclear neutrophils. *Prostaglandins. Leukotrienes. Essent. Fatty. Acids.* 57(3): 299-304.
- **PAUBERT-BRAQUET, M.; COUSSE, H.; RAYNAUD, J.P.; MENCIA-HUERTA, J.M.; BRAQUET, P.** 1998. Effects of lipidosterolic extract of *Serenoa repens* and its mayor components on basic fibroblast growth factor-

induced proliferation of cultures of human prostate biopsies. Eur. Urol. 33: 340-347.

- **PEÑA, F.; DOMÍNGUEZ, J.** 1997. Hiperplasia Prostática en el perro. Archivos de Reproducción Animal. Publicación Anual. pp. 72-77.
- **PETERSON, ME.** 1987. Effects of megestrol acetate on glucose tolerance and growth hormone secretion in the cat. Res. Vet. Sci. 42(3): 354-357.
- **PLOSKER, G.L.; BROGDEN, R.** 1996. *Serenoa repens* (Permixon®). A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in benign prostatic hyperplasia. Drugs & Aging 9(5): 379-395.
- **POYET, P.; LABRIE, F.** 1985. Comparison of the antiandrogenic/androgenic activities of flutamide, cyproterone acetate and megestrol acetate. Mol. Cell. Endocrinol. 42(3): 283-288.
- **RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.** 1994a. Sistema reproductor. In: Farmacología. Harcourt. Madrid. España. pp. 465-482.
- **RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.** 1994b. Como actúan los fármacos: aspectos moleculares. In: Farmacología. Harcourt. Madrid. España. pp. 20-48.
- **RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.** 1994c. Quimioterapia antineoplásica. In: Farmacología. Harcourt. Madrid. España. pp. 713-733.
- **RAYNAUD, J.P.; COUSSE, H.; MARTIN, P.M.** 2002. Inhibition of type 1 and type 2 5alpha-reductase activity by free fatty acids, active ingredients of Permixon. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 82(2-3): 233-239.
- **READ, R.A.; BRYDEN, S.** 1995. Urethral bleeding as a presenting sign of benign prostatic hyperplasia in the dog: A retrospective study (1979-1993). J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 31: 261-67
- **RHODES, L.; DING, V.D.; KEMP, R.K.; KHAN, M.S.; NAKHLA, A.M.; PIKOUNIS, B.; ROSNER, W.; SAUNDERS, H.M.; FEENEY, W.P.** 2000. Estradiol causes a dose-dependent stimulation of prostate growth in castrated beagle dogs. Prostate 44(1): 8-18

- **ROOT, M.; JOHNSTON, S.** 1994. Basics for a complete reproductive examination of the male dog. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery* 9(1): 41-45.
- **RUSSELL, D.W.; WILSON, J.D.** 1994. Steroid 5 $\alpha$ -reductase: two genes/two enzymes. *Annu. Rev. Biochem.* 63: 25–61.
- **SCIARRA, F.** 1995. Sex steroids and epidermal growth factor in benign prostatic hyperplasia (BPH). *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 761: 66-78.
- **SELCER, B.** 1995. The prostate. **In:** *Practical Veterinarian Ultrasound.* Williams & Wilkins. Philadelphia. USA. pp. 252-258.
- **SELMAN, P.J.; VAN GARDEREN, E.; MOL, J.A.; VAN DEN INGH, T.S.** 1995. Comparison of the histological changes in the dog after treatment with the progestins medroxyprogesterone acetate and proligestone. *Vet. Q.* 17(4): 128-133.
- **SELMAN, P.J.; MOL, J.A.; RUTTEMAN, G.R.; VAN GARDEREN, E.; VAN DEN INGH, T.S.; RIJNBEEK, A.** 1997. Effects of progestin administration on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and glucose homeostasis in dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 51:345-354.
- **SHIBATA, Y.; FUKABORI, Y.; ITO, K.; SUZUKI, K.; YAMANAKA, H.** 2001. Comparison of histological compositions and apoptosis in canine spontaneous benign prostatic hyperplasia treated with androgen suppressive agents chlormadinone acetate and finasteride. *J. Urol.* 165(1): 289-293.
- **SIRINARUMITR, K.; JOHNSTON, S.D.; KUSTRITZ, M.V.; JOHNSTON, G.R.; SARKAR, D.K.; MEMON, M.A.** 2001. Effects of finasteride on size of the prostate gland and semen quality in dogs with benign prostatic hypertrophy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218(8): 1275-1280.
- **SLATTER, D.** 1995. La próstata.. *Manual de Cirugía en Pequeñas Especies.* Mc Graw Hill Interamericana. Atlampa. México. pp. 545-552.
- **SPAN, P.N.; VAN BOKHOVEN, A.; SMALS, A.G.; SWEEP, C.G.; SCHALKEN, J.A.** 2000. Partial sequencing and tissue distribution of the

canine isoforms of steroid 5alpha-reductase type I and type II. *Prostate* 44(3): 233-239.

- **STEFANOV, M.; MARTIN-ALGUACIL, N.; MARTIN-ORTI, R.** 2000. Distinct vascular zones in the canine prostate. *Microsc. Res. Tech.* 50(2): 169-175.
- **SULTAN, C.; TERRAZA, A.; DEVILLIER, C.; CARILLA, E.; BRILEY, M.; LOIRE, C.; DESCOMPS, B.** 1984. Inhibition of androgen metabolism and blinding by a lipoesterolic extract of “*Serenoa repens* B” in human foreskin fibroblast. *J. Steroid. Biochem.* 20(1): 515-519.
- **TARAYRE, J.P.; DELHON, A.; LAURESSERGUES, H.** 1983. Anti-edematous action of a hexane extract of the stone fruit of *Serenoa repens* Bart. *Ann. Pharm. Fr.* 41: 559-570.
- **TASCA, A.; BARULLI, M.; CAVAZZANA, A.; ZATTONI, F.; ARTIBANI, W.; PAGANO, F.** 1985. Treatment of obstructive symptomatology caused by prostatic adenoma with an extract of *Serenoa repens*. Double-blind clinical study vs. Placebo. *Minerva Urol. Nefrol.* 37(1): 87-91.
- **TELLO, L.; CHOVAN, N.; MUÑOZ, L.** 1995. La enfermaedad prostática en el perro y su diagnóstico ecotomográfico. *Monografías Med. Vet.* 17(1-2): 59-65.
- **THOMPSON, F.** 1995. Hormones affectin reproduction. **In:** Adams R (ed.). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* 7<sup>a</sup> ed. Iowa State University Press/Ames. Iowa. US. pp. 584-598.
- **VACHER, P.; PREVARSKAYA, N.; SKRYMA, R.; AUDY, M.C.; VACHER, A.M.; ODESSA M.F.; DUFY, B.** 1995. The lipidosterolic extract from *Serenoa repens* interferences with prolactin receptor signal transduction. *J. Biomed. Sci.* 2: 357-365.
- **VAN COPPENOLLE, F.; LE BOURHIS, X. CARPENTIER, F. DELABY, G.; COUSSE, H.; RAYNAUD, J.P.; DUPOUY, J.P.; PREVARSKAYA, N.** 2000. Pharmacological effects of the lipidosterolic extract of *Serenoa repens*

(Permixon) on rat prostate hyperplasia induced by hyperprolactinemia: comparison with finasteride. *Prostate* 43(1): 49-58.

- **VAN COPPENOLLE, F.; SLOMIANNY, C.; CARPENTIER, F.; LE BOURHIS, X.; AHIDOUCH, A.; CROIX, D.; LEGRAND, G.; DEWAILLY, E.; FOURNIER, S.; COUSSE, H.; AUTHIE, D.; RAYNAUD, J.P.; BEAUVILLAIN, J.C.; DUPOUY, J.P.; PREVARSKAY, A.** 2001. Effects of hyperprolactinemia on rat prostate growth: evidence of androgeno-dependence. *Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280(1): 120-129.
- **VARGAS, R.** 1997. Crecimiento benigno de la Próstata. **In:** La Próstata. Arancibia Hnos. Santiago. Chile. pp. 34–35.
- **WALTREGNY, D.; LEAV, I.; SIGNORETTI, S.; SOUNG, P.; LIN, D.; MERK, F.; ADAMS, J.Y.; BHATTACHARYA, N.; CIRENEI, N.; LODA, M.** 2001. Androgen-driven prostate epithelial cell proliferation and differentiation in vivo involve the regulation of p27. *Molecular endocrinology* 15(5): 765-782.
- **WEISSER, H.; TUNN, S.; BEHNKE, B.; KRIEG, M.** 1996. Effects of the *Sabal serrulata* extract IDS 89 and its subfractions on 5 $\alpha$ -reductase activity in human benign prostatic hyperplasia. *The Prostate* 28: 300-306.
- **WILSON, J.** 1996. Andrógenos. **In:** Hardman, J.; Limbird, L.; Molinoff, P.; Ruddon, R.; Gododman, A. (Eds.). Goodman & Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 8<sup>a</sup> ed. español. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. España. pp 1531-1549.
- **WILT, T.; ISHANI, A.; STARK, G.; MAC DONALD, R.; LAU, J.; MULROW, C.** 1998. Saw palmetto extracts for treatment of benign prostatic hyperplasia. A systematic review. *J. Am. Med. Assoc.* 280: 1604-1609.
- **YONESE, J.; KIHARA, K.; SATO, K.; FUKUDA, H.; KAMATA, S.; OSHIMA, H.** 2000. Sympathetic efferent pathways projecting to the prostate in the dog. *Prostate* 44(3):225-32.