

EFECTO DEL BLOQUEO DE RAÍCES SACRAS EN LA ESTRUCTURA PROSTÁTICA DE LA RATA

M. LUJÁN GALÁN, A. PÁEZ BORDA, L. LLANES GONZÁLEZ,
A. BERENGUER SÁNCHEZ

Servicio de Urología. Hospital Universitario de Getafe. Madrid.

PALABRAS CLAVE:

Próstata. Morfometría. Denervación.

KEY WORDS:

Prostate. Morphometry. Denervation.

Actas Urol Esp. 25 (7): 516-521, 2000

RESUMEN

OBJETIVOS: Validar un modelo simplificado de manipulación neural del tracto urinario inferior en la rata, mediante el bloqueo alcohólico de raíces sacras.

MATERIAL Y MÉTODOS: Veinte ratas Sprague-Dawley de 3 meses de edad fueron sometidas a bloqueo alcohólico de raíces sacras bajo anestesia total y monitorización de la colocación de las agujas (electroestimulación). Tras 28-30 días, se extrajo el lóbulo ventral (LV) prostático ipsilateral. Se realizó estudio macroscópico y con microscopia óptica (MO) con morfometría (análisis de imagen por ordenador). Los resultados se compararon con los de otros 20 LV de ratas no manipuladas.

RESULTADOS: Se observó una discreta (no significativa) reducción del peso del LV en el grupo sometido a bloqueo. El estudio con MO demostró una reducción significativa de la altura del epitelio en el grupo manipulado. Las proporciones medias de los compartimentos glandulares fueron: *grupo control*: 28,1% (epitelial), 29,8% (estromal), y 70,2% (glandular - lumen más epitelio-); *grupo estudio*: 30,5% (no significativo), 37,4% y 62,3% (ambos $p < 0,05$) respectivamente. El área del epitelio no sufrió variación importante. Se observó un menor recuento vascular global en el grupo estudio. Se observó una difusión retroperitoneal del colorante de la solución de bloqueo *ipsilateral* en 9 ratas (45%), y *bilateral* en 11 (55%).

CONCLUSIONES: El bloqueo alcohólico de raíces sacras en la rata produce una atrofia del componente glandular (a expensas del área luminal, sin cambios en el epitelio). No existieron diferencias a nivel macroscópico. Este estudio no ha podido reproducir los cambios producidos por la denervación quirúrgica estándar, por lo que no podemos recomendar que este método deba sustituirla en futuros modelos.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To validate a simplified model of neural manipulation of the lower urinary tract of the rat, by means of alcoholic blockade of sacral roots.

MATERIAL AND METHODS: Twenty Sprague-Dawley rats (aged 3 months) underwent alcohol sacral root blockade under total anesthesia with previous needle placement monitoring (electrostimulation). After 28-30 days, ipsilateral ventral prostatic lobe (VL) was obtained. Macroscopic and light microscopy (LM) studies were performed (computerized image analysis). Results were compared with 20 LV from non manipulated rats.

RESULTS: A slight non significant decrease of LV weight in the blockade group was noticed. LM study showed a reduced epithelial height after manipulation. Gland compartment mean proportions were: *control group*: 28,1% (epithelial), 29,8% (stromal), and 70,2% (glandular -lumen plus epithelium-); *study group*: 30,5% (not significant), 37,4% and 62,3% (both $p < 0,05$) respectively. Epithelium area did not suffer any variation. A reduced vascular overall count was noted in the study group. *Ipsilateral* diffusion of blockade solution was shown in 9 rats (45%), and *bilateral* in 11 (55%).

CONCLUSIONS: Alcoholic sacral root blockade produces an atrophy of the glandular component (due to luminal shrinkage, without epithelial change). No differences were found after the macroscopic study. This study could not reproduce the changes produced after standard surgical denervation, therefore we cannot recommend this method to be used in future models.

Es conocido el papel de los andrógenos y los factores de crecimiento (interacciones entre epitelio y estroma) en el crecimiento y desarrollo de la próstata. También existen líneas de trabajo a nivel experimental que han demostrado la existencia¹ y el papel de la inervación en el mantenimiento de la estructura de esta glándula²⁻⁵.

Es de gran importancia el conocimiento de los mecanismos reguladores del mantenimiento y desarrollo de la próstata, ya que existen entidades clínicas de gran prevalencia que cursan con un crecimiento anómalo de la glándula. El desarrollo de modelos experimentales que actúen sobre estos mecanismos de regulación permitirá el avance de líneas de investigación en este sentido.

Experiencias previas en esta línea de trabajo han demostrado cambios estructurales y funcionales tras la denervación microquirúrgica del tracto urinario inferior en la rata²⁻⁵. Este procedimiento conlleva una laparotomía, con el consiguiente consumo de tiempo y morbilidad asociada.

El objetivo del presente estudio es validar un nuevo método de manipulación neural del tracto urinario inferior de la rata con el objeto de simplificar la metodología en experiencias futuras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 40 ratas Sprague-Dawley de 250-300 g de peso (3 meses de edad). De modo aleatorio se distribuyeron en dos grupos: *Grupo estudio*, formado por 20 animales fueron sometidos a bloqueo alcohólico unilateral (derecho) de raíces sacras, mientras que otros 20 (*grupo control*) no fueron manipulados.

Previamente al bloqueo fue necesaria la inducción anestésica. Esta se llevó a cabo con la inyección por vía intramuscular de 0,4 ml por cada 250 g de peso de una mezcla de ketamina (50 mg/ml), atropina (1 mg./ml.) y diazepam (5 mg./ml.), en una proporción de 5, 2 y 8 ml. respectivamente. No fueron necesarias la intubación ni la ventilación mecánica. Se administró por vía intramuscular una profilaxis antibiótica que consistió en 0,5 ml de una solución de ofloxacino (200 mg/100 ml).

El bloqueo de raíces sacras se llevó a cabo mediante agujas de 22G (Abbocath®) que fueron dirigidas hacia los orificios sacros (Fig. 1) derechos a través de la musculatura paravertebral, tras realizar una pequeña ventana en el plano cutáneo que

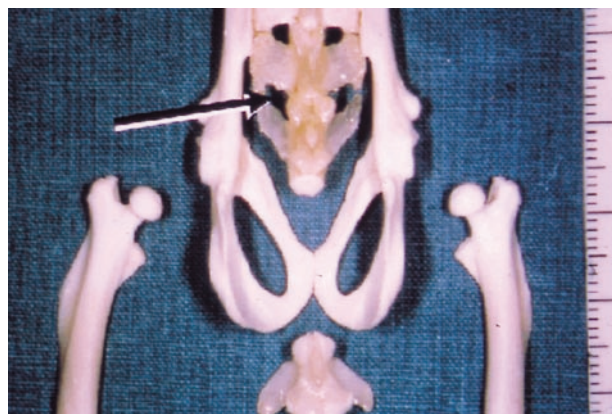


FIGURA 1. Anatomía ósea de la pelvis de la rata (vista dorsal) donde pueden apreciarse los orificios sacros (flecha) por donde se realiza el bloqueo.

permitió establecer las referencias oportunas (relieves de la cresta sacra media). No se realizó disección de dicha musculatura hasta el plano óseo debido a la gran yatrogenia que esta operación supone. Una vez localizados los orificios se realizó una electroestimulación bipolar, verificando la colocación correcta de las agujas mediante una contracción de la musculatura perineal y una sacudida de la cola del animal.

La solución de bloqueo se constituyó con etanol de 96° diluido al 50% con una solución de clorhidrato de mepivacaína al 2%. Se añadieron a la mezcla 3 o 4 gotas de azul de metileno por cada 5 cc de solución para identificar, durante el sacrificio del animal, el grado y las características de la difusión en el retroperitoneo pélvico de la solución de bloqueo. Esta se instiló a través de los orificios sacros derechos, a razón de 0,2 cc por animal, inmediatamente después de la comprobación mediante electroestimulación de la colocación correcta de las agujas.

Transcurridos 28 - 30 días desde el bloqueo, se extrajo el LV derecho en los grupos estudio y control. Esta se llevó a cabo mediante nueva anestesia, y técnicas de microcirugía. Tras la extracción del LV, se inspeccionó el retroperitoneo pélvico comprobando el grado y topografía de la difusión del azul de metileno incluido en la solución de bloqueo.

El examen macroscópico se realizó mediante medición del peso en fresco del LV extraído con la ayuda de una balanza de precisión (Mettler Toledo AB-204, Greifensee, Switzerland). Se estableció comparación entre los grupos bloqueado y control con respecto a este parámetro.

El estudio con microscopía óptica (tinción con hematoxilina-eosina) comenzó con la medición de la altura epitelial (10 mediciones al azar por cada caso) en imágenes digitalizadas a 400x (Fig. 2). Posteriormente se obtuvieron imágenes a 100x (cinco campos por cada caso) y, tras su digitalización, fueron convertidas a una escala de grises. Mediante retoque fotográfico con el programa Adobe Photoshop 3.0 (Adobe Systems Inc., San José, CA) fueron eliminadas áreas artefactuales (grumos de colorante de la tinción, y otras impurezas) dejando únicamente elementos “puros” o compartimentos histológicos a estudiar: *luces glandulares, epitelio y estroma* (Fig. 3). Se calcularon la relación entre epitelio y estroma (REE), así como entre glándulas (epitelio + luces) y estroma (RGE). Posteriormente, con el programa de análisis de imagen Matrox Inspector 2.0 (Matrox Electronic Systems Ltd. FL) se realizó una medición automática del área ocupada por cada uno de los compartimentos mencionados.

El análisis de la vascularización prostático (índice de vascularización prostático o IVP) se llevó a cabo mediante recuento de luces vasculares mediante recuento visual con ayuda de una rejilla suministrada por el programa de análisis de imagen (Fig. 4), en preparaciones visualizadas a 400x. Se visualizaron cinco campos por cada caso. Dicho recuento fue realizado de modo global y desglosado por categorías vasculares: categoría-1 (capilares), y categorías- 2,3 y 4 (vasos con túnica media de pequeño, mediano y grueso calibre respectivamente).

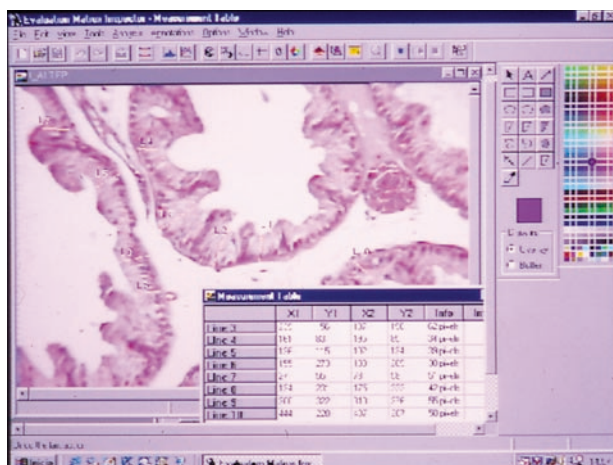


FIGURA 2. Medición de la altura epitelial con ayuda del programa de análisis de imagen (400X).

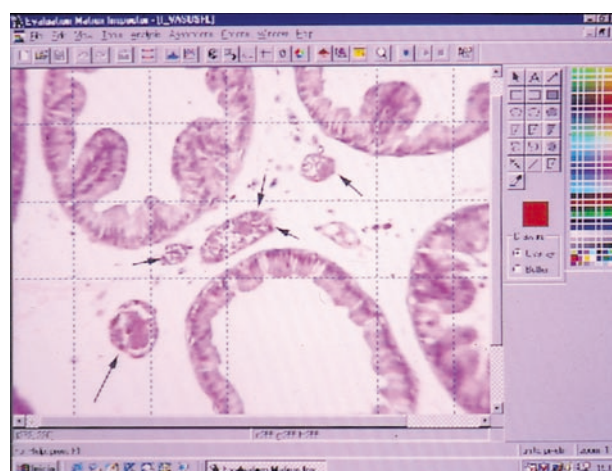


FIGURA 2. Medición de la altura epitelial con ayuda del programa de análisis de imagen (400X).

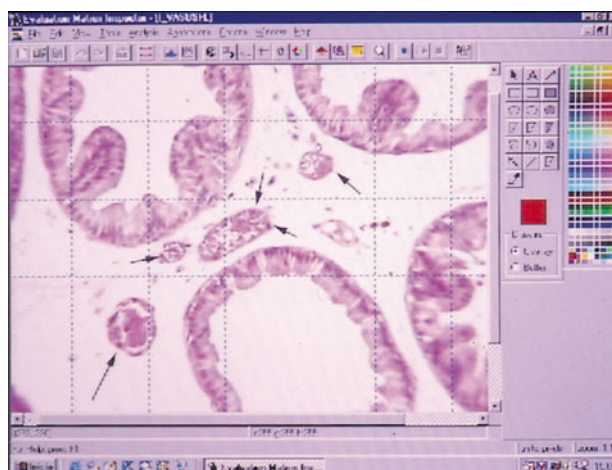


FIGURA 3. Recuento vascular con ayuda de rejilla proporcionada por el ordenador (400x).

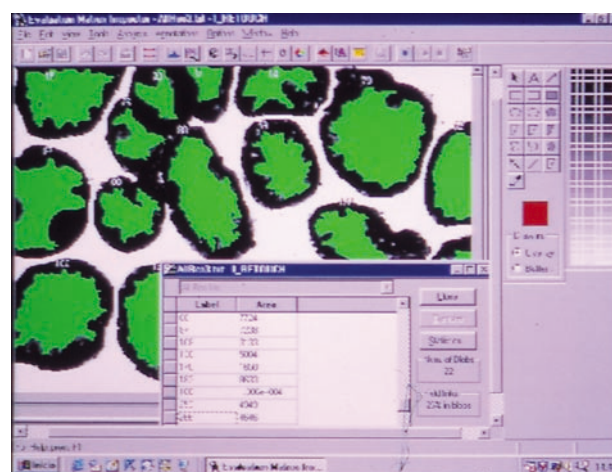


FIGURA 4. Medición automática (tras retoque fotográfico) de la superficie ocupada por los compartimentos glandulares. Imágenes digitalizadas en escala de grises a 100x.

El análisis estadístico comparativo se llevó a cabo mediante el test de la “t de Student” (variables que se ajustaron a una distribución normal o gaussiana) cuando se consideraron variables cuantitativas y se compararon medias aritméticas, y mediante la “U de Mann-Whitney” cuando el ajuste a distribución normal no se produjo. La comparación de proporciones se realizó mediante el test del “Chi-cuadrado” de Pearson. Para cada media aritmética se muestra el error estándar (EE) de la misma, y para las comparaciones entre los dos grupos estudiados se ofrece el valor de p (nivel de significación estadística) para cada variable.

La recogida de datos se llevó a cabo mediante una base confeccionada con Microsoft Access y el análisis estadístico con el programa SPSS 6.0.

RESULTADOS

El peso del LV extraído fue de 0,287 g en el grupo sometido a bloqueo frente a 0,33 (p = 0,096)

en el control. Se observó, por tanto, una reducción del 13% (“casi significativa”) en el peso en fresco del LV tras la manipulación.

En la Tabla I se ofrecen los valores correspondientes a la altura epitelial. Se encontró una menor altura en el epitelio de las ratas del grupo estudio. En cuanto al análisis de los compartimentos histológicos (Tabla II, Figs. 5a y 5b) hemos detectado una reducción del área ocupada por el compartimento glandular tras el bloqueo (62,6% en el grupo estudio frente a 70,2% en el control, p = 0,005), a expensas sobre todo de las luces glandulares. No se produjo un cambio relevante en cuanto al área del compartimento epitelial. La superficie estromal aumentó significativamente en proporción al resto de compartimentos (37,4% en el grupo bloqueado frente a 29,8% en el control, p = 0,005). No se detectaron diferencias significativas al comparar la REE y la RGE en los dos grupos estudiados.

TABLA I

MEDICIÓN DE LA ALTURA EPITELIAL (VALORES EN PIXELS)

		Total	Bloqueo	Control	NSE
Altura epitelial	Rango m/EE	0,24-14,77 9,59/0,46	0,24-14,77 8,29/0,66	6,9-13,76 10,9/0,52	p = 0,04

m= media aritmética; EE = error estándar de la media; NSE = nivel de significación.

TABLA II

DISTRIBUCIÓN DEL ÁREA OCUPADA POR LOS COMPARTIMENTOS HISTOLÓGICOS DE LA GLÁNDULA

		Total	Bloqueo	Control	NSE
Epitelial (%)	Rango m/EE	18-42 29,3/0,92	20-42 30,5/1,18	18-40 28,1/1,39	p = 0,187
Luminal (%)	Rango m/EE	16-52 37,1/1,4	16-52 32,1/1,89	30-52 42,1/1,3	p < 0,001
Glandular (luz + epitelio) (%)	Rango m/EE	45-80 66,4/1,4	45-80 62,6/2,02	57-80 70,2/1,57	p = 0,005
Estromal (%)	Rango m/EE	20-55 33,6/1,4	20-55 37,4/2,02	20-43 29,8/1,57	p = 0,005
REE	Rango m/EE	0,39-1,7 0,95/0,06	0,39-1,45 0,88/0,07	0,43-1,7 1,03 /0,09	p = 0,207
RGE	Rango m/EE	0,82-4 2,19/0,14	0,82-4 1,84/0,17	1,33-4 2,54/0,19	p = 0,009

REE = relación epitelio/estroma; RGE = relación glándulas/estroma.

m = media aritmética; EE = error estándar de la media; NSE = nivel de significación.

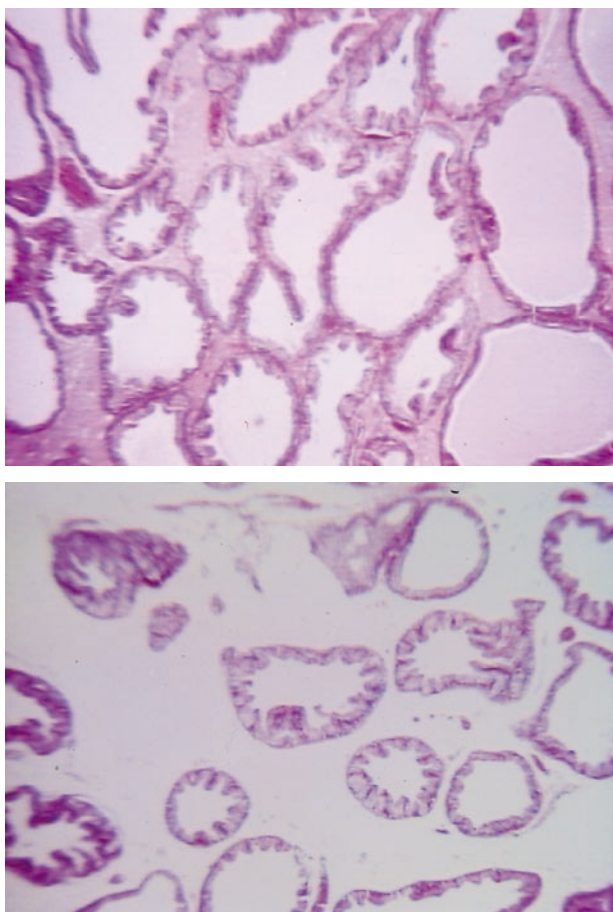


FIGURA 5. Fotografías de preparaciones de microscopía óptica (100x) donde se puede apreciar una mayor presencia glandular en las ratas intactas (5a), en comparación con las sometidas a bloqueo (5b). Existe una mayor proporción estromal en estas últimas.

El recuento vascular (Tabla III) fue significativamente inferior cuando se consideró el IVP (10,2 vasos por campo de gran aumento en el grupo sometido a bloqueo, versus 12,15 en el grupo control, $p = 0,02$). No obstante, cuando se desglosaron los resultados por categorías vasculares, esta diferencia no pudo ser probada.

Tras la inspección del retroperitoneo pélvico en los 20 animales bloqueados, hemos encontrado una difusión ipsilateral de la solución de bloqueo en 9 casos (45%), y bilateral en 11 (55%).

DISCUSIÓN

Existen experiencias previas que han demostrado cambios sustanciales en la próstata de la rata tras su denervación quirúrgica mediante modelos experimentales²⁻⁵. Por otro lado, el bloqueo de raíces sacras es un procedimiento que ha sido empleado en el ámbito clínico para el tratamiento de patología prostática como la hiperplasia benigna, produciendo cambios relacionados con cierta atrofia de la glándula⁶. Además, el empleo de alcohol en la solución de bloqueo produce una degeneración axonal irreversible⁷, por lo que los efectos químicos de éste podrían considerarse una denervación propiamente dicha. En este trabajo hemos pretendido establecer un modelo simplificado y reproducible de denervación del tracto urinario inferior en estos animales sin recurrir a la cirugía.

TABLA III

NÚMERO DE LUCES VASCULARES POR CAMPO DE GRAN AUMENTO (400x). RECUENTO GLOBAL Y POR CATEGORÍAS

		Total	Bloqueo	Control	NSE
Recuento vasos categoría - 1 (*)	Rango m/EE	2-6 3,63/0,14	2-6 3,5/0,21	2-6 3,75/0,19	$p = 0,385$
Recuento vasos categoría - 2	Rango m/EE	0-6 3,5/0,2	0-5 3,15/0,3	2-6 3,85/0,25	$p = 0,084$
Recuento vasos categoría - 3	Rango m/EE	0-6 2,6/0,27	0-5 2,4/0,34	0-6 2,8/0,43	$p = 0,470$
Recuento vasos categoría - 4	Rango m/EE	0-5 1,45/0,16	0-3 1,15/0,18	0-5 1,75/0,24	$p = 0,054$
IVP	Rango m/EE	6-20 11,17/0,43	6-14 10,2/0,52	8-20 12,15/0,61	$p = 0,02$

(*) Variable que no siguió una distribución normal (gaussiana).

m = media aritmética; EE = error estándar de la media; NSE = nivel de significación IVP = Índice de vascularización prostática.

Tras la denervación del tracto urinario inferior de la rata se produce una atrofia de la glándula prostática²⁻⁵. Esta atrofia se ha verificado en forma de una reducción de su peso, de la altura epitelial, o bien mediante repercusiones importantes en el aparato secretor de la célula epitelial, con una disminución de la actividad secretora.

No obstante, a tenor de los resultados obtenidos en este trabajo, dicha atrofia no ha podido ser probada con una significación plena, y los cambios en los compartimentos glandulares son poco aparentes y con poca participación del componente epitelial. Además, la inspección del retroperitoneo pélvico ha mostrado que la difusión de la solución de bloqueo no ha conseguido ser selectiva en el lugar de la inyección en el 55% de los casos, lo que conllevaría una denervación bilateral en algunos casos. Esta denervación bilateral podría producir una atonía vesical, un estasis urinario y un reflujo de orina hacia los ductus prostáticos, lo cual afectaría el análisis morfológico de la glándula.

La electroestimulación garantiza que la solución de bloqueo llegará a las raíces sacras, tanto eferentes como aferentes. No obstante, es necesario asumir que el bloqueo producido puede englobar ambos lados a nivel del retroperitoneo pélvico. Esta falta de unilateralidad podría también producir un efecto sumatorio del bloqueo de fibras contralaterales. Se asume que, como en el resto de vísceras de la línea media, puede existir un cruce de fibras nerviosas que llegan a la próstata de cada lado⁸.

Además, una parte importante de la inervación prostática es vehiculada por el sistema nervioso vegetativo simpático⁸. Las fibras simpáticas preganglionares tienen su origen en segmentos medulares T10-L2, con sinapsis en la rata en el ganglio mesentérico inferior. Tras extirpar el ganglio pélvico principal (como en la mayoría de las series) se lesiona también este componente. No tenemos esta seguridad, por el contrario, mediante el bloqueo de raíces sacras, ya que la solución de bloqueo difunde al retroperitoneo pélvico de modo más difuso, no pudiendo garantizar que el componente simpático haya sido incluido en el bloqueo.

Tampoco podemos emplear la metodología presentada como modelo de bloqueo selectivo parasimpático, ya que los hallazgos mencionados no han sido reproducidos por otros trabajos de lesión selectiva del componente parasimpático^{4,8}.

CONCLUSIONES

El bloqueo alcohólico de raíces sacras produce cambios a nivel microscópico en la próstata de la rata consistentes con una atrofia del componente glandular (a expensas de una reducción del área ocupada por luces glandulares, sin variar el área epitelial). Además, existe una disminución del recuento vascular global. No obstante, no hemos constatado un efecto significativo a nivel macroscópico. Estos hallazgos son similares a experiencias previas con denervación quirúrgica de la próstata, aunque menos llamativos. Por último, la selectividad unilateral de este modelo de bloqueo de raíces sacras no puede ser garantizada.

En base a los resultados obtenidos, no podemos recomendar que el bloqueo de raíces sacras en la rata deba sustituir a la denervación quirúrgica estándar en futuros modelos.

REFERENCIAS

1. VAALASTI A, HERVONEN A: Innervation of the ventral prostate of the rat. *Am J Anat* 1979; **154**: 231-244.
2. WANG JM, MCKENNA KE, MCVARY KT, LEE CTI: Requirement of innervation for maintenance of structural and functional integrity in the rat prostate. *Biol Reprod* 1991; **44** (6): 1.171-1.176.
3. MARTÍNEZ-PIÑEIRO L, DAHIYA R, NUNES NL, TANAGHO EA, SCHMIDT RA: Pelvis plexus denervation in rats causes morphologic and functional changes of the prostate. *J Urol* 1993; **150**: 215-218.
4. McVARY KT, RAZZAQ A, LEE C, VENEGAS MF, RADEMAKER A, MCKENNA KE: Growth of the rat prostate is facilitated by the autonomic nervous system. *Biol Reprod* 1994; **51**: 99-107.
5. LUJÁN M, PÁEZ A, LLANES L, ANGULO J, BERENGUER A: Role of autonomic innervation in rat prostatic structure maintenance. A morphometric analysis. *J Urol* 1998; **160**: 1.919-1.923.
6. PONCE DE LEÓN, IJ, PONCE DE LEÓN JJr: Involution of BPH volume in patients treated with epidural sacral block. 23rd Congress Société Internationale d'Urologie. ID # 788. Sidney, 1994.
7. PORGES P, ZDRAHAL F: Intrathecal alcohol neurolysis of the lower sacral roots in inoperable rectal cancer. *Anaesthesist* 1985; **34** (11): 627-629.
8. McVARY KT, MCKENNA KE, LEE C: Prostate innervation. *Prostate* 1998; (Suppl) **8**: 2-13.

Dr. M. Luján Galán
Servicio de Urología.
Hospital Universitario de Getafe
Ctra. Toledo km. 12,500
28905 Getafe (Madrid)

(Trabajo recibido el 20 Julio de 1999)