

Química de los Pioneros / Artículo de Revisión

Prostatitis autoinmune experimental (PAE): ¿un modelo de prostatitis crónica no bacteriana (PCNB)? (Experimental autoimmune prostatitis: a model of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome?)

Por Clelia María Riera

criera@fcq.unc.edu.ar

Profesora Emérita. Investigador Superior CONICET. Departamento de Bioquímica Clínica. CIBICI-CONICET. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Resumen:

La próstata es una de las principales glándulas sexuales accesorias del hombre y el órgano de muchas condiciones patológicas que afectan a los hombres de todas las edades. Las condiciones patológicas de la glándula prostática varían desde infecciones, prostatitis crónica no bacteriana (PCNB) o síndrome de dolor pélvico de etiología aún desconocida hasta hiperplasia benigna de la glándula y cáncer. La PCNB es una de las enfermedades prevalentes en la urología clínica y afecta a hombres jóvenes menores de 50 años de edad. Un significativo avance en el entendimiento de PCNB se hizo cuando se demostró respuesta autoinmune contra antígenos de próstata en un gran número de pacientes. Durante los últimos 30 años se han realizado muchos trabajos respecto al desarrollo y caracterización de diferentes modelos de roedores en los que se puedan reproducir los hallazgos observados en pacientes. En estos modelos de prostatitis autoinmune experimental (PAE) se ha podido demostrar que la tolerancia hacia antígenos de próstata puede ser rota en algunas cepas de ratas y ratones e inducir respuesta inmune celular y humoral contra antígenos de próstata.

En glándulas prostáticas de estos animales se observó lesión con infiltración de células mononucleares. Los antecedentes genéticos y el desbalance hormonal serían factores que pueden influir en la aparición temprana de la enfermedad en animales jóvenes. Además se observó prostatitis autoinmune espontánea en determinadas cepas de roedores susceptibles.

ABSTRACT

The prostate is one of the main male sex accessory glands and the target of many pathological conditions affecting men of all ages. Pathological conditions of the prostate gland range from infections, chronic prostatitis / chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS) of a still unknown aetiology to benign hyperplasia and cancer. CP/ CPPS is one of the most prevalent diseases in the urologic clinic and affects men younger than 50 years old. A significant advance in the understanding of CP/CPPS was made when an autoimmune response against prostate antigens was revealed in a considerable number of patients. During the last 30 years, extensive work has been done regarding the development and characterization of different rodent models of experimental autoimmune prostatitis. It has been demonstrated that tolerance to prostate antigens can be disrupted in some strains of rats and mice and cellular and humoral responses to prostate antigens are elicited. Immune cells infiltrate the gland and induce prostate lesions. The genetic background and hormonal imbalance are factors that could contribute to the onset of the disease in susceptible young males. Moreover, spontaneous autoimmune prostatitis could also occur with advanced age in susceptible strains.

Palabras clave

Prostatitis, hiperplasia, cáncer.

Patologías de la próstata

Infecciones

Prostatitis crónica no bacteriana (PCNB) o síndrome de dolor pélvico

Hiperplasia benigna

Cáncer

Prostatitis crónica no bacteriana, PCNB

Inflamación de la próstata de origen desconocido

sin presencia de bacterias en la secreción prostática

Presencia de anticuerpos y citoquinas en plasma seminal

¿Origen autoinmune?

Modelos experimentales de prostatitis autoinmune en roedores, ratas y/o ratones

Timectomía 3 días posteriores al nacimiento

Modelos inducidos de prostatitis

Prostatitis espontánea

Introducción

La próstata es el órgano blanco de muchas enfermedades inflamatorias y neoplásicas que afectan a hombres de todas las edades. Las condiciones patológicas de la glándula prostática varían desde infecciones debidas al ascenso de bacterias de la orina infectada, prostatitis crónica no bacteriana (PCNB) o síndrome de dolor pélvico hasta hiperplasia benigna de la glándula y cáncer. La prostatitis es una enfermedad urológica común que muchos clínicos tienen dificultad para tratar efectivamente. Las etiologías posibles son agentes infecciosos, componentes inflamatorios que incluyen respuestas autoinmunes, problemas neuromusculares, neurogénicos/psíquicos e injuria física. Varios tipos de prostatitis o síndromes prostáticos son reconocidos. Las formas más comunes incluyen: prostatitis bacteriana aguda, prostatitis bacteriana crónica o recurrente, y PCNB. La prostatitis bacteriana causada principalmente por bacterias coliformes, pseudomonas y *Enterococcus faecalis*, es a menudo difícil de curar y generalmente requiere terapias de 4 a 16 semanas con agentes antimicrobianos que alcancen niveles terapéuticos en el sistema secretor de la próstata.

Aproximadamente, el 90 % de los pacientes con prostatitis tienen PCNB. La PCNB es una inflamación de la próstata de origen desconocido. El diagnóstico de PCNB es reservado para pacientes con síntomas localizados de la próstata, pero que no tienen bacterias en la secreción prostática. Debido a que los pacientes con PCNB no tienen causa infecciosa reconocida, el tratamiento con agentes anti-microbianos es inefectivo e innecesario.

Un tema importante respecto a esta enfermedad son las consecuencias que pueden tener en la calidad de vida del paciente, el dolor crónico, la incontinencia y la disfunción sexual. Se debe tener en cuenta que la función de la glándula prostática es la producción de proteínas solubles y otras sustancias que se secretan en el eyaculado. Estas proteínas optimizan las condiciones para la fertilización dando un medio adecuado para la sobrevivencia del esperma y la movilidad del mismo en el tracto reproductor femenino.

Los pacientes con PCNB tienen niveles incrementados de glóbulos blancos en el fluido prostático, pero no hay bacterias que se puedan

cultivar en los mismos. La posibilidad es que los glóbulos blancos respondan a una infección microbiana que no se puede detectar o que la inflamación sea debido a una enfermedad autoinmune.

Durante mucho tiempo, la glándula prostática fue considerada un órgano inmunológicamente privilegiado por varias causas: no tiene vasos linfáticos aferentes, hay una alta incidencia de carcinomas ocultos y el plasma seminal tiene propiedades inmunosupresoras. Sin embargo, este concepto ha cambiado completamente y ahora es aceptado que la próstata es capaz de iniciar respuesta inmune innata y adaptativa, necesarias para mantener estéril el tracto reproductivo.

¿Podría la PCNB tener un origen autoinmune?

Los principales mecanismos de inducción de enfermedades autoinmunes son principalmente anomalías de los linfocitos, factores genéticos, infecciones, factores hormonales y, en la mayoría de los casos, interviene más de un factor. La PCNB tiene características de enfermedad autoinmune, porque de acuerdo a postulados establecidos por Witebsky (*JAMA* 164:1439-1447; 1957. *Inmunol. Today* 14:426-430; 1993) la patogénesis de una enfermedad autoinmune se identifica por la presencia de autoanticuerpos o inmunidad mediada por células que inducen lesión en el órgano blanco; la enfermedad puede ser reproducida en animales de experimentación; hay presencia de un autoantígeno específico que puede inducir la enfermedad y esta tiene que poder ser transferida a animales de la misma cepa por anticuerpos o linfocitos.

La PCNB reúne estas características ya que es una enfermedad de etiología desconocida, siendo el diagnóstico y tratamiento de la misma muy difíciles de realizar. En nuestros trabajos pudimos demostrar que en pacientes con PCNB hay proliferación de células mononucleares contra antígenos de próstata (Plasma seminal, Extracto prostático, Antígeno Específico de Próstata y Fosfatasa Ácida Prostática), y en los cultivos celulares de estos mismos pacientes hay presencia de interferón-gamma, niveles altos de citocinas pro-inflamatorias,

TNF α e IL-1 β . Por otra parte, en el órgano hay una marcada infiltración mononuclear, depósitos de Igs y evidencia de reactividad de linfocitos T contra proteínas de plasma seminal normal.

La enfermedad pueda ser reproducida en animales de experimentación: Prostatitis autoinmune experimental (PAE)

La falta de tolerancia hacia antígenos prostáticos, como así también contra otros antígenos específicos de tejido, incluyendo testículo, tiroides, páncreas y antígenos de estómago ha sido descrita en animales deficientes del factor de transcripción denominado AIRE (Autoimmune Regulator) y en otros modelos murinos basados en la timectomía realizada 3 días después del nacimiento. Un mecanismo alternativo de inducir tolerancia en el timo puede ser la generación de linfocitos T regulatorios como respuesta a la presentación de antígenos en condiciones determinadas, lo que resulta en una importante regulación de la autorreactividad.

La tolerancia hacia antígenos de próstata puede ser artificialmente rota induciendo autoinmunidad en cepas de roedores susceptibles. La caracterización de la respuesta autoinmune inducida en estos modelos provee datos importantes que ayudan a entender los mecanismos de la prostatitis observada en seres humanos y al mismo tiempo podrían proveer de herramientas para inducir respuestas contra antígenos de próstata con alta expresión en células cancerosas.

Varios grupos de trabajo, incluyendo el nuestro han desarrollado modelos experimentales de prostatitis autoinmune en ratas y ratones. Para ello, se debe romper la tolerancia contra antígenos de la glándula prostática, lo que se puede lograr fácilmente. Esto sugiere la presencia de linfocitos T autorreactivos patogénicos en estado latente generándose en estos animales prostatitis autoinmune.

Prostatitis autoinmune experimental (PAE) inducida en ratas

En nuestro laboratorio se desarrolló un modelo de PAE por inmunización subcutánea de ratas macho Wistar adultas jóvenes. Las ratas fueron inyectadas con extracto de glándulas accesorias (próstata, vesícula seminal y glándula de coagulación) incorporado a adyuvante de Freund completo o a liposomas a los 0, 15 y 30 días posteriores a la primera inmunización. Posteriormente, se detectó respuesta humoral y mediada por células específicas contra antígenos de próstata. Linfocitos

T citotóxicos e intermediarios reactivos del oxígeno han sido identificados en estas ratas y son probablemente responsables de las alteraciones histológicas observadas en las glándulas de los animales inmunizados.

En estudios histológicos realizados en la glándula prostática se observó infiltración de células mononucleares aproximadamente 7 días después de la primera inmunización, que se acumularon rápidamente alcanzando un pico a los 28 días. Las células mononucleares infiltrantes se localizaron en el estroma de la glándula prostática rodeando los acinos y cercano a los vasos sanguíneos. La presencia de células cebadas, desorganización hemorrágica de la arquitectura tisular y fibrosis también fueron observadas. Los infiltrados estaban constituidos por linfocitos T CD4 y CD8 con escaso número de macrófagos. La PAE se transfirió a ratas macho Wistar normales utilizando células de bazo de animales inmunizados. La inflamación de la glándula prostática se observó en ratas receptoras singénicas después de la transferencia adoptiva de células mononucleares de bazo de donadores autoinmunes, pero no de células de bazo a los que se les eliminaron los linfocitos T previo a la transferencia. Además se observó respuesta autoinmune humoral y mediada por células.

La identificación de los antígenos blanco en enfermedades autoinmunes es siempre un paso importante para entender la etiología de estas patologías. En nuestro laboratorio se purificó uno de los principales autoantígenos de próstata de rata. El análisis de la secuencia de aminoácidos permitió identificar a la proteína purificada como prostateína o "rat steroid binding protein, PSBP", un miembro de la superfamilia de globinas secretoras. Esta proteína es una proteína secretoria de la próstata ventral de rata y es reconocida en la respuesta autoinmune humoral y mediada por células. Además, la PSBP es un antígeno inductor de la enfermedad y puede generar respuesta autoinmune humoral y mediada por células y lesión en la glándula prostática de ratas. Esta respuesta autoinmune está caracterizada por linfocitos T e isotipos de auto-anticuerpos asociados a los Th1. Otros autores describieron modelos similares de PAE en distintas cepas de ratas y mostraron los mismos resultados proponiendo a la PSBP como un antígeno blanco para tratar el cáncer de próstata. Estos resultados permiten inferir el papel importante que tiene la autoinmunidad en la patogénesis de la prostatitis autoinmune no infecciosa.

Prostatitis autoinmune experimental inducida en ratones

Varios grupos incluyendo el nuestro pudieron inducir PAE en distintas cepas de ratones. Keetch y col (*J. Urol.*152:247-250,1994) fueron los primeros autores que describieron un modelo de PAE en ratones y compararon la susceptibilidad a la inducción en diferentes cepas: SJL, AJ, BALB/c, C57BL/6 and C57BL/6 lpr. Estos autores describieron un modelo autoinmune en el cual estas cepas de ratones fueron inmunizadas con extracto de próstata incorporado a adyuvantes. En los ratones BALB/c no se demostró prostatitis, mientras que en los ratones SJL and AJ se observaron distintos grados de inflamación en la glándula.

En nuestro grupo de trabajo analizamos la susceptibilidad de ratones NOD (no obesos diabéticos) para desarrollar PAE. Es interesante destacar que en los ratones se observa autoinmunidad espontánea contra páncreas, tiroides, paratiroides, glándulas adrenales y próstata. Nosotros demostramos que 70% de ratones NOD de 40 semanas de edad tienen inflamación de la glándula prostática, la cual se caracteriza por una moderada infiltración mononuclear en el intersticio de la glándula y presencia de respuesta humoral específica contra los antígenos prostáticos. Cuando ratones NOD jóvenes fueron inyectados con extractos de próstata se inducía una severa inflamación en la próstata acompañada por respuesta humoral y mediada por células. La PAE observada en los ratones NOD es más agresiva que la observada en las ratas de la cepa Wistar, comienza más temprano y afecta al 100% de los animales inmunizados.

Nosotros también analizamos la contribución en la inducción de PAE de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y de los subgrupos de linfocitos CD4/CD8 en ratones NOD que no tienen expresión de beta 2-microglobulina o la cadena beta del CMH clase II y demostramos que los LTCD4 tienen un rol importante en la inducción de la enfermedad en los ratones NOD.

Recientes avances en la enfermedad humana

Médicos urólogos utilizando un criterio de diagnóstico denominado Meares/Stamey identificaron uropatógenos localizados en la próstata en solo 6-8-% de pacientes. Este hecho sugiere que las bacterias pueden ser responsables en menos del 10 % de hombres que sufren PCNB. Es interesante destacar que el 90 % de casos presentan síntomas clínicos similares y marcadores de

inflamación, sugiriendo la presencia de un proceso inflamatorio no asociado a ningún microorganismo. En estudios inmunoquímicos realizados en las células obtenidas de masajes prostáticos en hombres con PCNB se observaron granulocitos, macrófagos, linfocitos T y linfocitos B. Macrófagos activados también fueron detectados en fluido prostático de pacientes con PCNB, sugiriendo nuevamente la presencia de un proceso inflamatorio activo del tracto genital en ausencia de infección.

Varias citocinas, TNF- α , IL-1, IL-8, IL-6, están frecuentemente elevadas en secreciones del tracto genital de pacientes con PCNB, independientemente de la presencia de leucocitos en el semen. Esto permite deducir que la inflamación prostática, en estos pacientes, puede ser mediada por una respuesta inmune adaptativa dirigida contra un antígeno del tracto genital en el contexto de un proceso autoinmune.

Un grupo de pacientes con prostatitis crónica bacteriana y no bacteriana (PCNB) fue analizado en nuestro laboratorio con el fin de detectar posible presencia de respuesta autoinmune contra antígenos de próstata. En un grupo de pacientes con PCNB se demostró proliferación de linfocitos cuando se cultivaron con antígenos de próstata humana, y fosfatasa ácida prostática. Además, se pudo observar, como en otras enfermedades autoinmunes, respuesta proliferativa contra dos o más autoantígenos. En los pacientes con PCNB se observó proliferación de células mononucleares de sangre periférica contra antígenos de próstata; presencia de IFN- γ e IL-10 en sobrenadantes de cultivos y niveles significativos de IFN- γ , TNF- α e IL-1 β en plasma seminal, indicando inflamación local de origen no-infeccioso.

Conclusión

La próstata es una de las principales glándulas sexuales accesorias del hombre y el órgano de muchas condiciones patológicas que afectan a los hombres de todas las edades. Las condiciones patológicas de la glándula prostática varían desde infecciones, PCNB o síndrome de dolor pélvico de etiología aún desconocida hasta hiperplasia benigna de la glándula y cáncer. La PCNB es una de las enfermedades prevalentes en la urología clínica y afecta a hombres jóvenes menores de 50 años de edad. Un significativo avance en el entendimiento de PCNB se hizo cuando se demostró respuesta autoinmune contra antígenos de próstata en un gran número de pacientes.

Diferentes modelos de PAE han sido desarrollados y caracterizados durante los últimos 30 años. El estudio de PAE en estos modelos ha permitido adquirir una gran información respecto a los autoantígenos, células, mediadores y mecanismos involucrados en el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, aunque el estudio de la contraparte humana, la PCNB no ha tenido el mismo progreso hasta hace pocos años, en la actualidad es posible afirmar que esta enfermedad tiene una etiología autoinmune. Nosotros postulamos que la PAE inducida en ratas y ratones puede ser considerada un modelo para estudiar la PCNB, conocer la fisiopatología de la enfermedad y ayudar a encontrar tratamientos más racionales para esta enfermedad.

Bibliografía

Las referencias de los datos presentados están en los trabajos de revisión indicados debajo.

Maccioni M, Rivero VE, Motrich RD, Gatti G, Mackern Oberti JP, Andreani V and Riera C.M. Immunological aspects of the prostate gland and related diseases. *Current Immunology Reviews*, 6, 287-298, 2010.

Motrich RD, Maccioni M and Riera C M V. E. Rivero. Autoimmune Prostatitis: State of the art. *Scandinavian Journal of Immunology* 66, 217-227, 2007.

Rivero VE, Motrich RD, Maccioni M and Riera CM. Autoimmune etiology in chronic prostatitis syndrome: An advance in the understanding of this pathology *Critical Reviews in Immunology*, 27:33-46, 2007.

Tesis doctorales realizadas con este tema bajo la dirección de CMR.

- Dra. Susana Alicia Pesoa. Purificación y caracterización de macromoléculas específicas de glándulas accesorias sexuales masculinas de rata. 1982.

- Dr. Horacio M. Serra. Efecto de la administración de inmunosupresores sobre células efectoras de inmunidad. 1983.

- Doctora María Elena Ferro. Estudio de la inmunosupresión y células supresoras en un modelo experimental de autoinmunidad. 1987.

- Dra. Nora L. Yranzo. Inmunoregulación de la respuesta inmune contra autoantígenos de glándulas accesorias sexuales masculinas de rata. 1990

- Dra. Silvia G. Correa. Aspectos moleculares y celulares de la inmunidad contra autoantígenos de glándulas accesorias masculinas de rata. 1991.

- Dra. Virginia E. Rivero. Participación de las células presentadoras de antígeno en un modelo experimental de autoinmunidad. 1994.

- Dr. Pablo Iribarren. Células que participan en un modelo de autoinmunidad experimental. Mecanismos que las regulan. 1995.

- Dra. Mariana Maccioni. Caracterización inmunoquímica del autoantígeno involucrado en prostatitis autoinmune experimental. 1997.

Tesis doctoral realizada con este tema bajo la dirección de la Dra. Virginia Rivero.

- Dr. Rubén Motrich. Antígenos prostáticos como posibles blanco de la respuesta autoinmune en enfermedades humanas y modelos experimentales.