

Vía de señalización no clásica de testosterona y las vesículas extracelulares en la proliferación celular de la hiperplasia prostática benigna

¹Díaz AE, ¹Roldán Gallardo FF, ¹Romero Humacata JF, ²López Seoane M, ¹Maldonado CA, ¹Quintar AA
¹Centro de Microscopía Electrónica – INICSA - CONICET - FCM - UNC; ²Sanatorio Allende



Persona que presenta: Díaz AE, adiaz661@mi.unc.edu.ar **Área:** Básica **Disciplina:** Otra **Resumen:**

La testosterona (T) regula el crecimiento normal prostático y podría contribuir al crecimiento patológico en la vejez, induciendo hiperplasia prostática benigna (HPB). Dos vías de acción de T fueron reportadas: la clásica, involucrando receptores androgénicos intracitoplasmáticos; y una no clásica, con efectos no completamente dilucidados, que implica receptores de membrana. La HPB resulta de un desbalance en la comunicación intercelular prostática, que podría estar mediado por vesículas extracelulares (EVs), transportadoras de biomoléculas. Por ello, evaluamos el efecto de T, mediado por sus dos vías, en células estromales prostáticas humanas (CEPH) y el rol de las EVs en la proliferación celular.

Se establecieron cultivos primarios de CEPH de muestras de pacientes con HPB (n=4); los ensayos se realizaron por triplicado y se aplicó ANOVA con posterior test de Tukey para el análisis estadístico. Las CEPH fueron estimuladas durante 24h con T [10-7M, para la vía clásica] y con T-BSA [10-7M, para la vía no clásica]. Mediante inmunocitoquímica de Ki-67 y prueba de absorbancia de resazurina se observó que T-BSA incrementó la proliferación y viabilidad celular vs. control en CEPH, respectivamente (**p<0.01 y *p<0.05). Se aislaron EVs provenientes de CEPH expuestas a T o T-BSA mediante ultracentrifugación diferencial (pellet 150K).

La confirmación de identidad de EVs mediante inmunomarcación de CD63 conjugado a oro coloidal y la contabilización por microscopía electrónica de transmisión, determinaron que T-BSA indujo una mayor liberación de EVs vs. T (**p<0.01), en el rango de 15-45nm, correspondiente a exosomas. Finalmente, se analizó mediante Ki-67 la participación de EVs en la proliferación inducida de manera autocrina y paracrina sobre CEPH y células epiteliales (PC3) respectivamente, utilizando como estímulo las EVs de CEPH tratadas con T y T-BSA por 24h. Las EVs de CEPH estimuladas con T-BSA aumentaron la proliferación en CEPH y PC3 (**p<0.001 y **p<0.01, respectivamente).

En resumen, la testosterona, a través de la vía no clásica y la liberación de EVs, promueve la proliferación de células prostáticas, lo que podría contribuir al desarrollo de la HPB.

Palabras Clave: Hiperplasia Prostática Benigna, testosterona, vesículas extracelulares  [Versión para impresión](#) |  [PDF version](#)

Abstract #1760

Testosterone non-classic signalling pathway and extracellular vesicles in cell proliferation of benign prostatic hyperplasia

¹Díaz AE, ¹Roldán Gallardo FF, ¹Romero Humacata JF, ²López Seoane M, ¹Maldonado CA, ¹Quintar AA
¹Centro de Microscopía Electrónica – INICSA - CONICET - FCM - UNC; ²Sanatorio Allende

Persona que presenta: Díaz AE, adiaz661@mi.unc.edu.ar **Abstract:**

Testosterone (T) regulates normal prostate growth and could contribute to pathological growth in old age, inducing benign prostatic hyperplasia (BPH). Two signaling pathways of T were reported: the classic one, involving intracytoplasmic androgen receptors; and a non-classical one, with effects not completely elucidated, which involves membrane receptors. BPH results from an imbalance in prostatic intercellular communication, which could be regulated by extracellular vesicles (EVs), transporters of biomolecules. Therefore, we evaluated the effect of T, mediated by its two pathways, on human prostate stromal cells (HPSCs) and the role of EVs in cell proliferation.

Primary CEPH cultures were established from samples from patients with BPH (n=4); the tests were performed in triplicate and ANOVA with subsequent Tukey test was applied for statistical analysis. HPSC were stimulated for 24 h with T [10 -7 M, for the classical pathway] and with T-BSA [10 -7 M, for the non-classical pathway]. Using Ki-67 immunocytochemistry and resazurin absorbance test, it was observed that T-BSA increased cell proliferation and viability vs. control in HPSC, respectively (**p<0.01 and *p<0.05). EVs from HPSC exposed to T or T-BSA were isolated by differential ultracentrifugation (150K pellet).

Confirmation of EV identity by immunostaining of CD63 conjugated to colloidal gold and counting by transmission electron microscopy determined that T-BSA induced a greater release of EVs vs. T (**p<0.01), in the range of 15 -45nm, corresponding to exosomes. Finally, the participation of EVs in the proliferation induced in an autocrine and paracrine manner on HPSC and epithelial cells (PC3) respectively, was analyzed by Ki-67, using HPSC EVs treated with T and T-BSA for 24h as a stimulus. HPSC EVs stimulated with T -BSA increased proliferation in CEPH and PC3 (**p<0.001 and **p<0.01, respectively).

In summary, testosterone, through the non-classical pathway and the release of EVs, promotes the proliferation of prostate cells, which could contribute to the development of BPH.

Keywords: Benign prostatic hyperplasia, Stromal cells, testosterone, extracellular vesicles