

ЕФЕКТ НА ТЕСТОСТЕРОН ПРОПИОНАТ ВЪРХУ НИВОТО НА ПРОСТАТНО-СПЕЦИФИЧЕН АНТИГЕН В ЕКСПЕРИМЕНТ

Делян Делев, Илия Костадинов, Иванка Костадинова, Мария Георгиева
Медицински университет – Пловдив, Медицински факултет, Катедра фармакология и
клинична фармакология, 4002 Пловдив, бул. „В. Априлов“ 15а
Кореспонденция: delevg@gmail.com

EFFECT OF TESTOSTERONE PROPIONATE ON PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN IN EXPERIMENTAL CONDITION

Delian P. Delev, Iliya D. Kostadinov, Ivanka I. Kostadinova, Maria Georgieva-Kotetarova
Medical University – Plovdiv, Medical Faculty, Department Pharmacology and Clinical
Pharmacology.
Correspondence to: delevg@gmail.com

ABSTRACT:

Introduction: The most undesired reaction at testosterone therapy is the potential risk of induction of clinically manifested prostate disease. Most, but not all of the thorough studies don't find statistically significant relation between the endogenic level of testosterone and the development of BPH (Benign Prostate Hyperplasia) and prostate cancer. In some tests the levels of serum PSA (Prostate Specific Antigen) are slightly increased, but in the normal borders (below 4 ng/ ml). The potential benefits and the possible risks at the testosterone replacement therapy of aged men must be juxtaposed. They are based mostly upon clinical studies over the effects of testosterone replacement in a lot of androgen deficient hypogonadial men, and upon scarce number of control trials with aged men and experimental models. **Material and method:** Orchiectomized, sham operated and aged male rats were used, in a condition of acute and chronic treatment (15 days, 15 weeks). The levels of serum testosterone and PSA were prosecuted. **Aim:** To study the dynamics in the levels of serum testosterone and PSA during replacement therapy with testosterone propionate in dose 4 and 8 mg/kg body mass (b.m.). **Results and discussion:** Testosterone propionate, applied on rats with androgen deficiency at 8mg/kg b.m. dose restores the phisilogoc levels of the total testosterone does not change the values of PSA. The supplementation with testosterone propionate increased its levels with a significance at the higher dose. A rise in the serum levels of testosterone is also observed at the aged male rats, as a result of the application of its propionate salt. Significance resulted from the chronic use of dose 8 mg/kg b.m.(fig.2). **Conclusion:** The results of the current experimental studies show that, both at orchiectomised and at aged male rats the application of testosterone propionate for 15 days or 15 weeks doesn't change the level of PSA towards controls. Furthermore-in all the tested animals its value is zero.

Най-сериозната нежелана реакция при тестостеронова терапия е потенциалният риск от индуцирането на клинично проявено заболяване на простатата. Повечето¹, но не всички^{2,3} обстояйни изследвания не намират статистически значима връзка между ендогенното ниво на тестостерон и развитието на ДХП и рак на простатата. В някои изследвания нивата на серумния ПСА се повишават леко, но в рамките на нормата (под 4 нг/мл)^{4,5}.

Трябва да се има предвид, че общият брой на лекувани с тестостерон мъже и продължителността на терапията са били ограничени и изследванията нямат статистическа достоверност за оценка на дългосрочните рискове за възникването на ДХП и карцином на простатата. Необходимо е провеждане на задълбочени експериментални проучвания за влиянието на тестостерона върху простататата за изясняване на ползата и риска от тази заместителна терапия.

При заместителната терапия с тестостерон на възрастни мъже трябва да се съпоставят потенциалните ползи с възможните рискове⁶. Те са базирани най-вече на клинични проучвания върху ефектите на тестостероновото заместване при много андрогендефицитни хипогонадни мъже, и на много малък брой контролни опити с възрастни мъже и експериментални модели.

Цел:

Да се проучи динамиката в стойностите на серумния тестостерон и простатно-специфичен антиген по време на заместителна терапия с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 мг/кг телесна маса (т.м.).

Материал и метод:

Използвани са 140 мъжки плъхове, порода Wistar, с тегло от 270 до 380 грама. Дизайнът на експеримента е одобрен от Българска Агенция по Безопасност на Храните (Разрешително №21/19.03.2012г.) и решение на Етичната комисия при МУ-Пловдив с протокол №3/25.07.2012г. Животните са разпределени в групи (Таблица 1).

Младите животни в експерименталното проучване са на възраст 6 месеца със средно тегло $275 \pm 5,1$ грама. Старите плъхове са на възраст над 3 години със средно тегло $376 \pm 6,2$ грама. След проведената катрация или симулативна операция и аклиматизация от 14 дни плъховете се инжектират мускулно (заднен бедрен мускул) веднъж седмично, както следва (Таблица 2).

По време на експеримента всички животни се отглеждат при стандартни лабораторни условия: Температура на въздуха 26 ± 1 °C, относителна влажност на въздуха $65 \pm 5\%$, свободен достъп до храна и вода.

Кръвната колекция се събира чрез декапитация под етерна наркоза, под стъклен звънец, изпълнен с пари на диетиловия етер за 60 секунди. Получените проби се изпращат незабавно в Катедра клинична лаборатория на МУ -Пловдив. Общ тестостерон се изследва чрез ELISA (ензимносвързан имуносорбентен анализ) – кит на фирмата DRG International, Inc. USA с кат. № EIA – 1559 с анализатор: SIRIO – microplate reader, SEAC, ITALY. Простатно специфичен антиген се проследи чрез MEIA (микрочастичков имуноензимен анализ) – кит на фирмата Abbott Laboratories USA с кат. № 3C19 на анализатор AxSYM™ system.

Статистическите анализи са проведени с пакет IBM SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Science) за Windows 7. За всеки от показателите е изчислена средната стойност (Mean) и стандартната грешка (SEM). При всички анализи, разликите с $p < 0.05$ се определят като статистически значими. При нормално разпределение стойностите се съпоставят помежду си чрез Independent Samples T-test. Таблиците и фигурите са построени чрез програмен пакет Microsoft Office 2010. Използвани са приложенията MS Word и MS Excel.

Резултати:

Орхиектомията сигнификантно понижи нивата на серумния тестостерон при 15 дневния опит и несигнификантно при хроничния (фиг. 1). Суплементацията с тестостерон пропионат повиши нивата му със значимост при по-високата доза. При възрастните мъжки плъхове също се наблюдава повишение в серумните нива на тестостерона, резултат от приложението на пропионовата му сол. Значимост се получи при хроничното използване на доза 8 mg/kg т.м. (фиг. 2).

Резултатите от настоящото експериментално проучване показват, че както при орхиектомирани, така и при възрастни мъжки плъхове приложението на тестостерон пропионат в продължение на 15 дни или 15 седмици не променят нивото на ПСА спрямо контролите. Нещо повече-при всички изследвани животни стойността му е нулева.

Обсъждане:

ПСА е серумен гликопротеин, продуциран от нормалната простата. Той се използва като туморен маркер, защото повишените му нива директно корелират с риска от простатен карцином. Стойност над 4 нанограма/мл е индикация за простатна биопсия. По-нови

проучвания показват, че е налице риск от карцином и при стойности между 2,6 и 4 нг/ мл. Това поражда въпроса за евентуално по-ниска горна граница на ПСА. Преди повече от 60 години Huggins et al. (1941) демонстрират, че понижаването на тестостероновите депа води до регресия на простатния карцином. Описани са клинични случаи, които показват, че ТЗТ може да превърне окултен карцином в клинично проявен⁷. По-нови изследвания показват ниска честота на простатен карцином, асоцииран с ТЗТ. Множество проспективни проучвания върху ТЗТ установяват само 5 случая на простатен карцином сред 461 мъже, проследявани в продължение на 6 до 36 месеца. Установената честота е подобна в тази на общата популация⁸. При обзор на литературата се забелязва, че са налице множество съобщения, които показват, че няма връзка между прогресията на простатния карцином и приложението на тестостерон. ТЗТ при нормални мъже и такива с повишен риск от простатен карцином не води до повишаване на честота му⁹. Изненадващо при обширно проспективно проучване се установява повишен риск от простатен карцином при ниски стойности на тестостерона¹⁰. Morgentaler и съавтори (2006) също доказват развитие на простатен карцином при 11 от 77 хипогонадни мъже. При проучвания върху млади мъже се установява, че екзогенно въведеният тестостерон не води до повишаване нивата на ПСА или обема на простатата¹¹. Най-новите проучвания показват, че ТЗТ няма статистически сигнификантен ефект върху нивата на тоталния и свободния ПСА, както и на съотношението помежду им. Честотата на простатния карцином при дълготрайна ТЗТ е еквивалентна на тази, очаквана в общата популация^{12,13}.

Нашите резултати потвърждават цитираните по-горе клинични данни за безопасност на тестостероновата терапия по отношение на простатния карцином. Независимо от това мониторинг на пациентите е необходим, тъй като честотата на заболяването нараства с напредването на възрастта. Настоящото проучване е първото демонстриращо влиянието на тестостерон пропионата върху серумните нива на ПСА при експериментален модел на хипогонадизъм (орхиектомия, възрастни животни).

Изводи:

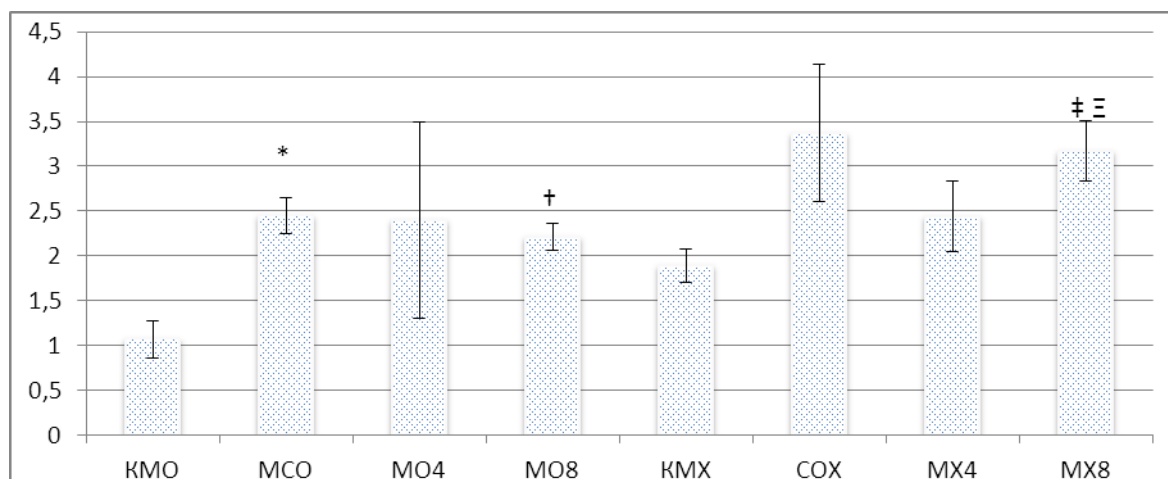
Тестостерон пропионатът, приложен на плъхове с андрогенен дефицит в доза 8 mg/kg т.м. възстановява физиологичните нива на тотален тестостерон и не променя стойностите на простатно- специфичния антиген

Таблица 1. Разпределение по групи.

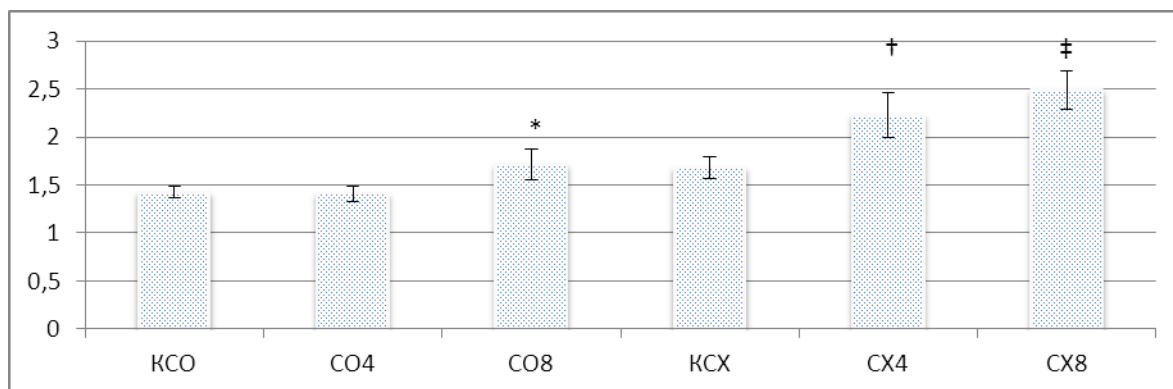
Група	Легенда	Описание
1.	КМХ	Контролна група млади, кастрирани, хронично третирани животни
2.	СОХ	Симулативно оперирани млади, хронично третирани животни
3.	МХ4	Млади, хронично третирани с тестостерон в доза 4 mg/kg т.м. животни
4.	МХ8	Млади, хронично третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
5.	КСХ	Контролна група стари, хронично третирани животни
6.	СХ4	Стари, хронично третирани с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
7.	СХ8	Стари хронично третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
8.	КМО	Контролна група млади, кастрирани, остро третирани животни
9.	МСО	Симулативно оперирани млади, остро третирани животни
10.	МО4	Млади, остро третирани с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
11.	МО8	Млади остро третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
12.	СО4	Стари, остро третирани с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
13.	СО8	Стари, остро третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
14.	КСО	Контролна група стари, остро третирани животни

Таблица 2. Дизайн на експеримента

Група	Легенда	N	Третиране	Продължителност
1.	COX	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 седмици
2.	KMX	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 седмици
3.	MX4	10	4 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 седмици
4.	MX8	10	8 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 седмици
5.	КС	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 седмици
6.	CX4	10	4 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 седмици
7.	CX8	10	8 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 седмици
8.	KMO	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 дни
9.	MCO	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 дни
10.	MO4	10	4 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 дни
11.	MO8	10	8 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 дни
12.	CO4	10	4 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 дни
13.	CO8	10	8 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 дни
14.	KCO	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 дни



Фиг. 1. Промени в стойностите на тотален тестостерон (ng/ml) – млади животни: *P= 0,001 спрямо КМО; † -P= 0,001 спрямо КМО; ‡ -P= 0,002 спрямо КМХ; § – P= 0,004 спрямо МО8.



Фиг. 2. Промени в стойностите на тотален тестостерон (ng/ml) – възрастни животни. * -P= 0,009 спрямо CX8; † -P= 0,007 спрямо CO4; ‡ -P= 0,007 спрямо KCX.

1. Gann PH, Hennekens CH, Longcope C, Verhoek-Ofstedahl W, Grodstein F, Stampfer MJ. A prospective study of plasma hormone levels, nonhormonal factors, and development of benign prostatic hyperplasia. *Prostate*. 1995;26:40-49.
2. Hulka BS, Hammond JE, DiFerdinando G, et al. Serum hormone levels among patients with prostatic carcinoma or benign prostatic hyperplasia and clinic controls. *Prostate*. 1987;11:171-182.
3. Partin AW, Oesterling JE, Epstein JI, Horton R, Walsh PC. Influence of age and endocrine factors on the volume of benign prostatic hyperplasia. *J Urol*. 1991 145:405-409.
4. Barqawi A, D. Crawford Testosterone Replacement Therapy and Prostate Cancer: The Effect of Testosterone Replacement on PSA and Prostate Volume *Int J Impot Res*. 2006;18(4):323-8.
5. Svetec DA, Edmund S, Sabanegh Jr. The effect of parenteral testosterone replacement on prostate specific antigen in hypogonadal men with erectile dysfunction. *The Journal of Urology*, November 1997, Volume 158, Issue 5, 1775-7.
6. Rolf C, Nieschlag E. Potential adverse effects of long-term testosterone therapy. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1998;12:521-534.
7. Loughlin KR, Richie JP. Prostate cancer after exogenous testosterone treatment for impotence. *J Urol* 1997;157:1845.
8. Singh AB, Hsia S, Alaupovic P, et al. The effects of varying doses of T on insulin sensitivity, plasma lipids, apolipoproteins, and C-reactive protein in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:136-43.
9. Morgentaler A. Testosterone and Prostate Cancer: An Historical Perspective on a Modern Myth. *European Urology* 50(2006)935-9.
10. Statin P, Lumme S, Tenkanen L, et al. High levels of circulating testosterone are not associated with increased prostate cancer risk: a pooled prospective study. *Int J Cancer* 2004;108:418-24.
11. Cooper CS, Perry PJ, Sparks AET. et al. Effect of exogenous testosterone on prostate volume, serum and semen prostate specific antigen levels in healthy young men. *J Urol* 1998;159:441-3.
12. Feneley MR, Carruthers M. Is Testosterone Treatment Good for the Prostate? Study of Safety during Long-Term Treatment. *J Sex Med*. 2012 Jun 6. doi: 10.1111/j.1743-6109.2012.02808.x. [Epub ahead of print]
13. Coward RM, Simhan J, Carson CC 3rd. Prostate-specific antigen changes and prostate cancer in hypogonadal men treated with testosterone replacement therapy. *BJU Int*. 2009 May;103(9):1179-83.