



## Original – Hiperplasia benigna de próstata

## Estudio ultrasonográfico e histológico de la evolución de un modelo canino de hiperplasia benigna de próstata inducida por hormonas

Verónica Crisóstomo Ayala<sup>a,\*</sup>, Manuel Maynar Moliner<sup>b</sup>, Fei Sun<sup>a</sup>, Jesús Usón Gargallo<sup>a</sup> y Francisco M. Sánchez Margallo<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España

<sup>b</sup>Departamento de Ciencias Clínicas, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 2 de febrero de 2009

Aceptado el 13 de abril de 2009

Palabras clave:

Modelo animal

Perro

Hiperplasia prostática benigna

## RESUMEN

**Introducción:** A pesar de exhibir diferencias histológicas con el proceso en humanos, la hiperplasia benigna de próstata (HBP) inducida por hormonas en perros representa el modelo más utilizado actualmente para la evaluación de tratamientos.

**Objetivos:** El objetivo del presente estudio es determinar el momento óptimo para la realización de un ensayo terapéutico en este modelo.

**Material y métodos:** En el estudio se utilizaron 6 perros beagle, machos mayores de un año, a los que se administró una combinación de hormonas, 17 $\beta$ -estradiol y 5 $\alpha$ -androsteno 3 $\alpha$  17 $\beta$ -diol, en días alternos durante 3 (grupo 1, n = 3) o 5 meses (grupo 2, n = 3). Se realizaron seguimientos ultrasonográficos mensuales, con determinación del tamaño prostático. A los 5 meses se procedió al sacrificio de todos los animales y el estudio histológico de las glándulas prostáticas.

**Resultados:** Todos los animales desarrollaron una HBP, con un volumen prostático que aumentaba con el tiempo de administración hormonal (r = 0,910), evidenciándose en todos los estudios ecográficos hasta el tercer mes un aumento significativo de tamaño frente al estudio anterior. El tamaño prostático disminuyó considerablemente en el grupo 1 al retirar la hormonoterapia, al tiempo que en el grupo 2 continuó aumentando. Los animales del grupo 1 apenas evidenciaron signos histológicos de HBP, frente a los del grupo 2, que presentaron una clara hiperplasia del epitelio glandular.

**Conclusiones:** La administración de una combinación de hormonas esteroides es efectiva para inducir hiperplasia de próstata en perro, si bien ésta desaparece en el momento que se retira la hormonoterapia. Para utilizar este modelo en estudios experimentales, se deben administrar hormonas al menos durante 3 meses antes de la actuación terapéutica, y continuar durante todo el ensayo.

© 2009 AEU. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: crisosto@ccmijesususon.com (V. Crisóstomo Ayala).

0210-4806/\$ - see front matter © 2009 AEU. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Ultrasonographic histological study on the evolution of a canine model of hormone-induced benign prostatic hyperplasia

A B S T R A C T

### Keywords:

Animal model  
Dog  
Benign prostatic hyperplasia

**Introduction:** Despite exhibiting histological differences from the human process, canine hormone-induced benign prostatic hyperplasia (BPH) is still the most widely used animal model for evaluating treatment strategies.

**Objectives:** The aim of this study is to determine the optimal moment for starting a therapeutic trial in this animal model.

**Material and methods:** Six male beagle dogs over one year of age were used in this study. All animals received a combination of steroid hormones, namely 17 $\beta$ -estradiol and 5 $\alpha$ -androstene 3 $\alpha$  17 $\beta$ -diol, every other day during three (Group 1, n=3) or five months (Group 2, n=3). Transrectal ultrasonographic examinations to measure prostate volume were performed monthly. Animals were euthanized after five months for histological study of their prostates.

**Results:** All animals developed BPH, with prostate volume increasing over time as hormones were administered ( $r=0,910$ ). All ultrasonographic studies performed up to the third month evidenced a significant increase in prostate volume when compared to the prior ultrasound measurement. A significant decrease in prostate volume was seen in Group 1 once hormone administration was interrupted, whereas Group 2 animals showed a continuing increase in prostate size. Histological examination showed almost no evidence of BPH in Group 1 animals, while Group 2 animals clearly exhibited moderate epithelial hyperplasia.

**Conclusions:** The administration of a combination of steroid hormones is effective in inducing benign prostatic hyperplasia in canines, but this hyperplasia disappears when hormone treatment is interrupted. In order to be useful for experimental studies, hormones should be administered for at least three months before commencing any treatment, and they should be continued throughout the length of the study..

© 2009 AEU. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

La hiperplasia benigna de próstata (HBP) es uno de los procesos patológicos más frecuentes en varones de edad avanzada, asociándose a una serie de síntomas de las vías urinarias inferiores que disminuyen la calidad de vida del paciente, al afectar a su actividad diaria y patrones de descanso<sup>1</sup>. La incidencia de esta patología aumenta progresivamente con la edad, según datos obtenidos de estudios de necropsia. Se ha comprobado la existencia histopatológica de HBP a partir de los 40 años de edad, con una prevalencia de hasta el 50% en varones con edades comprendidas entre los 51 y los 60 años, llegando, en mayores de 80 años, a afectar a cerca del 90% de los varones estudiados<sup>1,2</sup>. Según aumente la esperanza de vida de la población, la prevalencia de esta enfermedad aumentará.

Concretamente en España, la HBP es la segunda causa de admisión hospitalaria para cirugía y representa el motivo más frecuente de consultas externas en los departamentos de urología de los hospitales regionales españoles. La prevalencia de trastornos de las vías urinarias bajas clasificados como moderados o severos es del 24,9% en varones a partir de los 40 años, y asciende hasta el 30,4% en varones de más de 50 años<sup>3,4</sup>. En España, se estima que más de 1.500.000 varones precisan atención médica anual debido a procesos prostáticos<sup>5</sup>.

El tratamiento de elección actualmente es la resección transuretral (RTUP). Sin embargo, debido a la existencia de enfermedades concomitantes, hay un porcentaje de pacientes, que oscila entre el 10 y el 15%, en los que no es posible llevar a cabo este tratamiento<sup>6,7</sup>, por lo que es preciso contar con una opción menos agresiva. Además, cada vez es más frecuente que se lleven a cabo primero otras técnicas menos invasivas, debido a las preferencias de los pacientes, dejándose la RTUP para aquellos casos en los que estas otras terapéuticas fracasan<sup>8</sup>.

El volumen de investigación relativo a nuevos tratamientos y posibilidades terapéuticas mínimamente invasivas, desde la utilización de distintos tipos de láser hasta los tratamientos intraluminales<sup>9-11</sup>, es importante, en consonancia con la tendencia general a disminuir la agresividad de los tratamientos de todas las patologías en el ámbito mundial. Así, en las últimas 4 ediciones del congreso de la American Urological Association se han presentado cerca de un centenar de comunicaciones anuales sobre este tema. Por ello, resulta imprescindible contar con un buen modelo animal, que permita desarrollar estas investigaciones a nivel preclínico, restringiendo su aplicación clínica a aquellas que demuestren ser seguras y efectivas en los ensayos animales.

El perro, que desarrolla de forma espontánea HBP con la edad, está considerado como el mejor modelo animal para estudios de patología prostática<sup>12,13</sup>. En animales jóvenes o

castrados, la administración de diferentes combinaciones de hormonas esteroides da lugar a la aparición de lesiones hiperplásicas en la próstata. De entre las hormonas que se han utilizado, los mejores resultados descritos en la bibliografía científica implican la administración conjunta de andrógenos y estrógenos<sup>13,14</sup>. En este trabajo hemos utilizado el modelo descrito en primer lugar por Walsh y Wilson<sup>15</sup> en 1976 y que más adelante se ha utilizado y validado por multitud de investigadores en este campo<sup>12-14,16</sup>.

Sin embargo, para que el modelo resulte útil para la evaluación de estas nuevas terapéuticas<sup>9,10</sup>, resulta imprescindible realizar una caracterización en profundidad del mismo, incluyendo la evolución en el tiempo y la permanencia de la hiperplasia en el momento en que se suspenda el tratamiento hormonal. El presente estudio trata de dar respuesta a estos interrogantes, planteándonos un doble objetivo. Por un lado, estudiamos la evolución de la HBP inducida por hormonas en perros beagle mediante ultrasonografía e histología, así como su posible regresión al retirarse la terapia hormonal y, por otro lado, se trata de determinar el momento óptimo para la realización de un ensayo terapéutico en este modelo.

## Material y métodos

A efectos del presente estudio, si bien se puede considerar HBP a cualquier aumento de volumen frente al basal, se define como clínicamente relevante un volumen prostático por encima de los 30 ml, ya que éste es el tamaño que en las guías clínicas de la AUA se considera significativo<sup>6</sup>.

Tras la aprobación de protocolo de investigación por parte del Comité de Ética de Experimentación Animal, y siempre siguiendo las recomendaciones de la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, se utilizaron 6 animales machos, de especie canina, raza beagle y edad mínima de 1 año. Quince días antes del comienzo del tratamiento todos los animales fueron castrados, para evitar la influencia del testículo sobre la glándula prostática, lo que permite controlar el crecimiento glandular causado por la administración exógena de hormonas.

Transcurridos 15 días de la castración, tiempo necesario para la regresión de la glándula prostática en todos los animales, asegurando así que el tamaño de partida de ésta sea uniforme en todos los perros integrantes del estudio, se realizó, bajo anestesia general, la medición del volumen prostático por ultrasonografía endorrectal (Philips HDI 5000 Ultrasound System. Philips Medical Systems. Países Bajos), para comenzar después la administración intramuscular de:

- 0,25 mg de 17β-estradiol (E8857 B-Estradiol, Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid).
- 25 mg de 5α-androsteno 3α 17β-diol (A7755 5A-Androstane-3<sup>a</sup>, 17B-diol. Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid).

Esta combinación se inyectó, disuelta en trioleato de glicerol (T7752 Trioelin practical grade, Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid) 3 veces por semana en días alternos (L-X-V), durante un período variable en función del grupo experimental:

- Grupo 1 (n = 3): duración del tratamiento 3 meses. Después se mantuvieron los animales otros 2 meses adicionales sin administración de hormona.
- Grupo 2 (n = 3): duración del tratamiento 5 meses.

En ambos grupos se realizaron seguimientos mensuales mediante ultrasonografía transrectal para monitorizar la evolución del tamaño prostático. Para ello, el volumen prostático se calculó mediante el *software* integrado en el ecógrafo, que utiliza la fórmula del elipsoide (diámetro transversal por diámetro anteroposterior por longitud por 0,52)<sup>17</sup>. Transcurridos los 5 meses, y tras el seguimiento ultrasonográfico correspondiente, bajo anestesia general, se procedió al sacrificio humanitario de los animales mediante la administración de una dosis letal de KCl<sup>18</sup>. Se procedió a la extracción de las próstatas enteras, las que fueron fotografiadas y sumergidas en formol al 10% durante al menos 2 días, tras lo cual se las incluyó en parafina para realizar cortes histológicos de 5-6 μm, que se tiñeron con hematoxilina-eosina para su estudio histopatológico. El grado de hiperplasia presente se valoró de forma semicuantitativa, utilizando una escala de 0 a 4. De forma similar, se caracterizó el tipo de proliferación presente en cada próstata estudiada, según si era glandular-difusa o estromal.

Los datos se expresan mediante su media ± desviación estándar (DE). El análisis de los volúmenes prostáticos obtenidos mediante ultrasonografía en cada tiempo se dividió en dos fases. En la primera fase, se estudiaron los datos obtenidos en los primeros 4 estudios, analizándose todos los animales en conjunto, evaluando tanto la correlación entre el tamaño prostático y el tiempo transcurrido como la variación de dicho tamaño en cada tiempo mediante la prueba no paramétrica de los rangos con signo de Wilcoxon, considerándose significativo un valor de  $p < 0,05$ . En una segunda fase se realizó una representación gráfica de la evolución del tamaño prostático en ambos grupos. Para la realización de estos cálculos, se utilizó el paquete estadístico SPSS 11.5 para Windows (SPSS Inc, Chicago, Ill).

## Resultados

Siguiendo el protocolo previsto, se utilizaron 6 beagles machos, con una media ± DE de pesos al inicio del estudio de 14,45 ± 1,64 kg. En todos los casos se procedió a la castración de los animales, sin que se presentaran complicaciones durante la cirugía, o posquirúrgicas de ningún tipo.

Ningún animal presentó síntomas de obstrucción urinaria o hematuria durante el seguimiento. En la inspección diaria realizada durante los 5 meses, no se evidenciaron signos de dolor en reposo ni durante la micción. De forma similar, no se presentaron casos de infecciones urinarias o hipertermia.

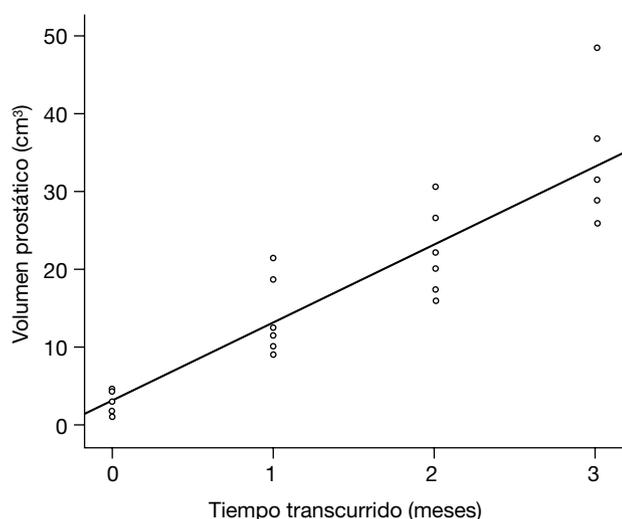
Transcurridas 2 semanas de la castración, se comenzó la administración de hormonas en todos los animales, tras la medición del tamaño prostático basal. En el grupo 1 se interrumpió la administración de hormonas a los 3 meses, continuándose en el grupo 2 durante los 5 meses de duración del estudio. Se realizaron seguimientos mensuales mediante

**Tabla 1 – Volúmenes prostáticos medidos mediante ultrasonografía transrectal en beagles sometidos a tratamiento hormonal para la creación de HBP durante 3 y 5 meses**

	Basal	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses
D1	2,89	11,40	20,05	28,87	8,97	8,10
D2	1,60	10,06	22,20	31,59	9,09	7,78
D3	4,28	21,43	26,60	36,90	13,02	8,58
D4	4,14	12,36	17,37	31,55	50,84	47,69
D5	1,08	9,05	15,98	25,96	15,85	20,52
D6	4,61	18,64	30,65	48,58	45,87	61,06
Media $\pm$ conjunta	3,11 $\pm$ 1,49	13,62 $\pm$ 4,81	22,22 $\pm$ 5,58	33,91 $\pm$ 8,05		
Media grupo 1	2,923	14,296	22,95	32,453	10,36	8,153
Media grupo 2	3,276	13,35	21,333	35,363	37,52	43,09

DE: desviación estándar.

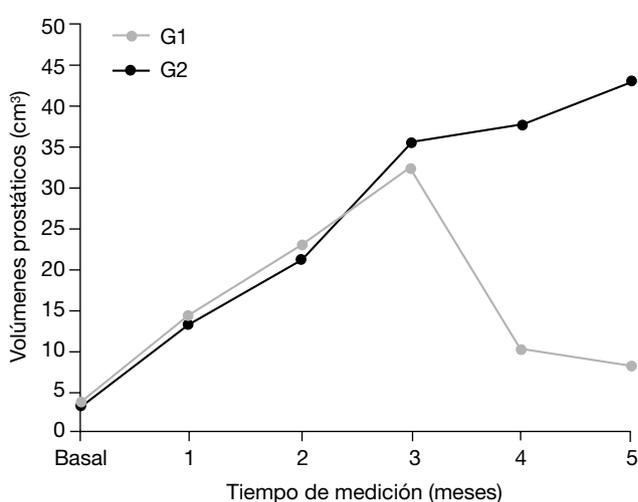
HBP: hiperplasia benigna de próstata.

Los datos se presentan en cm<sup>3</sup>.**Figura 1 – Correlación entre el tamaño prostático y el tiempo de administración de las hormonas durante la primera fase del estudio ( $r = 0,910$ ).**

ecografía transrectal, con medición del tamaño prostático. Los datos de volumen prostático obtenidos en cada animal durante el estudio se reflejan en la tabla 1.

En la primera fase del estudio estadístico se compararon los volúmenes prostáticos obtenidos en el conjunto de los animales en cada tiempo, utilizando la prueba no paramétrica de los rangos con signo de Wilcoxon. Se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre el volumen basal y todos los demás. De forma similar, el crecimiento de la glándula prostática fue significativo entre el primer y el segundo y tercer mes, así como entre el segundo y el tercer mes ( $p < 0,05$ ). Como se puede apreciar en la figura 1, se evidenció una muy buena correlación ( $r = 0,910$ ) entre el volumen prostático y el tiempo de duración del tratamiento hormonal durante los tres primeros meses, a un nivel de significación de  $p < 0,01$ .

Debido al pequeño tamaño de la muestra, en la segunda fase del estudio estadístico no se consideró adecuado realizar comparaciones entre uno y otro grupo una vez finalizada la administración de hormonas en el grupo 1. La observación de

**Figura 2 – Evolución de los volúmenes prostáticos a lo largo del tiempo. Nótese la clara disminución del tamaño prostático en el grupo 1 una vez finalizada la administración de hormonas y cómo este volumen continúa aumentando en el grupo 2.**

los valores individuales, la representación gráfica de la evolución de los tamaños prostáticos (fig. 2), así como las imágenes obtenidas tras la necropsia (fig. 3A y B); sin embargo, demuestran una clara disminución de tamaño prostático en los animales en los que se suspendió el tratamiento hormonal.

En el estudio histológico se evidenciaron grados de hiperplasia entre 2 y 3 en los tres animales correspondientes al grupo 2, frente a una graduación de 0/1 en los perros del grupo 1, en los que la administración de hormonas se interrumpió 2 meses antes del sacrificio. Excepto en un animal, el tipo de hiperplasia presente fue predominantemente glandular (tabla 2).

## Discusión

La alta incidencia y prevalencia de HBP en la población mundial ha determinado la existencia de múltiples estudios para



**Figura 3 – A: imagen de la próstata de un animal perteneciente al grupo 1, obtenida tras 3 meses de administración de tratamiento hormonal, seguido de 2 meses durante los cuales no se administraron hormonas. B: imagen de la próstata de un animal perteneciente al grupo 2, tras 5 meses de administración de tratamiento hormonal.**

modelizarla, tanto in vitro, mediante cultivos de células epiteliales, estromales, o ambas<sup>19,20</sup>, como in vivo, para lo que se han utilizado diferentes especies animales, como ratones, ratas, chimpancés o perros<sup>14,15,21-26</sup>.

La utilización de pequeñas especies, a pesar de resultar útil en estudios para discernir la fisiopatología de la HBP, o diferentes enfoques farmacológicos<sup>16</sup>, no permite el estudio de terapéuticas quirúrgicas, que la AUA recomienda a partir de una puntuación en la escala internacional de síntomas prostáticos (IPSS) de 8 o mayor, pero considerando también las preferencias del paciente<sup>6</sup>.

Si bien los chimpancés desarrollan con la edad una HBP muy similar a la humana<sup>26</sup>, su utilización está claramente limitada por consideraciones tanto éticas como logísticas y económicas. Así, el perro es el animal que más frecuentemente se utiliza en estudios de hiperplasia prostática, ya sea espontánea o inducida mediante la administración de hormonas, como en el presente estudio.

Sin embargo, hay importantes diferencias en la anatomía e histología de la próstata en varones y perros<sup>16</sup>. En la especie humana, hay zonas prostáticas claramente definidas, y la próstata está fija anatómicamente entre el recto y la sínfisis pubiana. Por ello, el crecimiento hiperplásico comprime la uretra hacia dentro, lo que da lugar a la obstrucción urinaria. La sintomatología clínica de la hiperplasia humana podría deberse no sólo al aumento de tamaño relacionado con la edad, sino también a la característica estructura anatómica de la glándula. Generalmente, la enfermedad es un proceso multinodular, de componente fundamentalmente estromal, que comienza en la zona periuretral glandular, siguiendo por los lóbulos laterales de la zona de transición, para continuar creciendo en forma de pirámide invertida desde dicha zona periuretral hacia la vejiga, por tratarse del camino que ofrece menor resistencia<sup>17</sup>. A diferencia de esto, la próstata canina no está fija anatómicamente, ni presenta regiones tan claramente identificables. El crecimiento hiperplásico en la

**Tabla 2 – Resultados del estudio histológico**

	Grado de hiperplasia	Tipo de hiperplasia
D1	0/1	Glandular
D2	0/1	Estromal
D3	0/1	Mixta, glandular > estromal
D4	2	Glandular
D5	2	Mixta, glandular > estromal
D6	2/3	Mixta, glandular > estromal

próstata canina se realiza hacia el exterior, de forma radial en todas direcciones, dando lugar a compresión del recto y constipación, que, sin embargo, no se presentaron en nuestro estudio. Generalmente, los síntomas clásicos relacionados con prostatitis no aparecen, ya que la glándula carece de cápsula. Lo más común es que aparezca descarga hemorrágica intermitente por la uretra, hematuria persistente o síntomas secundarios al efecto volumen sobre el recto. La HBP canina es, generalmente, uniforme y difusa; aparece por toda la glándula e involucra, fundamentalmente, las células del epitelio glandular, con una menor afectación de la estroma que en la especie humana. Esto podría deberse a que, a diferencia de lo que ocurre en la próstata humana, las concentraciones de 5 $\alpha$  reductasa en la especie canina son mayores en las células epiteliales que en las estromales<sup>27</sup>.

Aun así, a pesar de estas diferencias, el perro sigue siendo el modelo usado con más frecuencia, debido tanto a lo inadecuado de los modelos obtenidos en otras especies (siempre en función de los objetivos del estudio que se quiere realizar) como a la facilidad de manejo y obtención de esta especie. Además, la HBP en ambas especies (canina y humana) es sensible a andrógenos, de tal forma que la deprivación androgénica da lugar a la involución de la glándula, que crecerá de nuevo al administrarse andrógenos<sup>16</sup>.

No obstante, pese a que la descripción del modelo de Walsh y Wilson data de 1976, no hemos encontrado artículos

que estudien su evolución de forma detallada. Así, se citan tiempos de evolución que van desde las 3 semanas a los 5 años<sup>28,29</sup>, pero no parece existir un estudio detallado de la evolución que pueda guiar al investigador a la hora de decidir el momento óptimo para instaurar el tratamiento experimental en el modelo. Para determinar este momento, se han de tener en cuenta dos consideraciones. Por un lado, y como se ha comentado, se considera clínicamente relevante un tamaño prostático por encima de los 30 cm<sup>3</sup>. Por otro lado, los tamaños prostáticos en varones sanos, tal como se define en el estudio de Oesterling et al<sup>30</sup> del año 1993, presentan una cierta variación y una clara tendencia al aumento con la edad del paciente. En un varón sano de entre 40 y 49 años, la media de volumen prostático es de 23,5 cm<sup>3</sup>, frente a un tamaño basal en los animales de este estudio de 3,11 cm<sup>3</sup>, si bien el volumen prostático normal en animales no castrados oscila entre 8 y 12 cm<sup>3</sup>. Teniendo en cuenta tanto los resultados del presente estudio como los datos anteriores, consideramos importante, por un lado, que el tamaño de la glándula, al comenzar el estudio, sea superior a 30 cm<sup>3</sup>, aunque se debe tener en cuenta que en el caso del perro esto representa un incremento de volumen cercano al 300% respecto al basal, por lo que no creemos preciso que lo sobrepase en demasía. Si observamos la figura 1, vemos que los 30 cm<sup>3</sup> se alcanzarán aproximadamente a los 2 meses y 3 semanas del comienzo de la administración hormonal. En conclusión, y con el objetivo de asegurar que haya ocurrido dicho incremento de tamaño, opinamos que el momento óptimo para la administración de la terapéutica en estudio será tras 3 meses de administración hormonal.

La observación de los resultados obtenidos en los dos grupos a partir del tercer mes nos aporta otra importante recomendación para aquellos investigadores que deseen hacer uso de este modelo. La disminución del tamaño y la regresión de la glándula prostática (evidenciada por los estudios, tanto ultrasonográficos como histológicos) son rápidas y considerables, con una disminución media de volumen superior a los 20 cm<sup>3</sup> en el primer mes tras la retirada de la terapia hormonal, que después se ralentiza. Esto no es sorprendente, dado que se trata de animales castrados, en los que no existe aporte hormonal endógeno, pero condiciona el uso del modelo para la evaluación de terapéuticas (excepto en estudios en fase aguda) a la administración continuada de los fármacos. En el presente estudio se procedió al sacrificio de los animales a los 2 meses de retiradas las hormonas en el grupo 1, momento en el que la próstata, si bien había involucionado, no había alcanzado todavía valores basales. Para una caracterización completa del modelo sería preciso haber realizado un estudio de mayor duración. Sin embargo, consideramos que los datos obtenidos y las diferencias observadas entre los grupos son suficientes para dar respuesta a las preguntas que nos planteamos al comienzo del estudio.

En conclusión, presentamos un estudio exhaustivo sobre un modelo de inducción de HBP mediante la administración de una combinación de hormonas, 17 $\beta$ -estradiol y 5 $\alpha$ -androsteno 3 $\alpha$  17 $\beta$ -diol, utilizando dos protocolos distintos. A la vista de nuestros resultados, cualquier estudio que se lleve a cabo en este modelo deberá comenzar a partir de los 3 meses de administración hormonal, y mantener dicha administra-

ción durante todo el estudio, con el objetivo de que el modelo reproduzca lo mejor posible la respuesta a la terapéutica ensayada en una HBP humana.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Roehrborn CG, McConnell JD. Etiology, pathophysiology and natural history of benign prostatic hyperplasia. En: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ, editors. Campbell's Urology. Philadelphia: WB Saunders Company; 2002. p. 1297-30.
2. Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL. The development of benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol*. 1984;132:474.
3. Chicharro-Molero JA, Burgos-Rodríguez R, Sanchez-Cruz JJ, Del Rosal-Samaniego JM, Rodero-Carcia P, Rodriguez-Vallejo JM. Prevalence of benign prostatic hyperplasia in Spanish men 40 years old or older. *J Urol*. 1998;159:878-82.
4. Hunter DJ, Berra-Unamuno A, Martin-Gordo A. Prevalence of urinary symptoms and other Urological conditions in Spanish men 50 years old or older. *J Urol*. 1996;155:1965-70.
5. Jiménez Cruz F. Presentación. En: Vicente RJ, editor. HBP 2001. Hiperplasia benigna de próstata. Madrid: Ed. Acción Médica; 2002. p. 5.
6. AUA Practice guidelines Committee. AUA Guideline on Management of Benign Prostatic Hyperplasia (2003). Chapter 1: Diagnosis and Treatment Recommendations. *J Urol* 2003;170:530-47.
7. Laguna MP, Arce-Alcázar A, De la Rosette J. Tratamiento quirúrgico e instrumental de la hiperplasia benigna de próstata. En: Jimenez Cruz JF, Rioja Sanz LA, editores. Tratado de urología. Madrid: Prous Science; 2006. p. 1655-81.
8. De Castro J, Stone B. Improving therapeutic outcomes in BPH through diagnosis, treatment and patient compliance. *Am J Med*. 2008;121:S27-33.
9. Crisóstomo V, Song HY, Maynar M, Sun F, Soria F, Lima JR, et al. Evaluation of the effects of temporary covered nitinol stent placement in the prostatic urethra. Short term study in the canine model. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2007;30:731-7.
10. Sun F, Sánchez FM, Crisóstomo V, Lima JR, Luis L, García-Martínez V, et al. Benign prostatic hyperplasia: transcatheter arterial embolization as potential treatment--preliminary study in pigs. *Radiology*. 2008;246:783-9.
11. Miano R, De Nuncio C, Asimakopoulos AD, Germani S, Tubazo A. Treatment options for benign prostatic hyperplasia in older men. *Med Sci Monit*. 2008;14:94-102.
12. Chang WY, Shidaifat F, Chang CJ, Kulp SK, Sugimoto Y, Canatan H, et al. Experimentally-induced prostatic hyperplasia in young beagles: a model to evaluate the chemotherapeutic effects of gossypol. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 1996;92:341-60.
13. Mahapokai W, Xue Y, Van Garderen E, Van Sluijs FJ, Mol JA, Schalken JA. Cell kinetics and differentiation after hormonal induced prostatic hyperplasia in the dog. *Prostate*. 2000;15:40-8.
14. De Klerk DP, Coffey DS, Ewing LL, McDermott IR, Reiner WG, Robinson CH, et al. Comparison of spontaneous and experimentally induced canine prostatic hyperplasia. *J Clin Invest*. 1979;64:842-9.
15. Walsh PC, Wilson JD. The induction of prostatic hyperplasia in the dog with androstenediol. *J Clin Invest*. 1976;57:1093-7.
16. Mahapokai W, Van Sluijs FJ, Schalken JA. Models for studying benign prostatic hyperplasia. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2000;3:28-33.
17. Wasserman NF. Benign prostatic hyperplasia: a review and ultrasound classification. *Radiol Clin North Am*. 2006;44:689-710.

18. Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *J Am Vet Med Ass.* 2001;218:669-96.
19. Mitchen J, Rago R, Wilding G. Effects of suramin on the proliferation of primary epithelial cell cultures derived from normal, benign hyperplastic and cancerous human prostates. *Prostate.* 1993;22:75-89.
20. Krill D, Shuman M, Thompson MT, Becich MJ, Strom SC. A simple method for the isolation and culture of epithelial and stromal cells from benign and neoplastic prostates. *Urology.* 1997;49:981-8.
21. Muller WJ, Lee FS, Dickson C, Peters G, Pattengale P, Leder P. The INT-2 gene-product acts as an epithelial growth factor in transgenic mice. *Embo J.* 1990;9:907-13.
22. Wennbo H, Kindblom J, Isaksson OGP, Tornell J. Transgenic mice overexpressing the prolactin gene develop dramatic enlargement of the prostate gland. *Endocrinology.* 1997;138:4410-5.
23. Lee JZ, Omata S, Tillig B, Perkasch I, Constantinou CE. Chronology and urodynamic characterization of micturition in neurohormonally induced experimental prostate growth in the rat. *Neurourol Urodyn.* 1998;17:55-69.
24. Juniewicz PE, Lemp BM, Barbolt TA, Labrie TK, Batzold FH, Reel JR. Dose-dependent hormonal induction of benign prostatic hyperplasia (BPH) in castrated dogs. *Prostate.* 1989;14:341-52.
25. Berry SJ, Strandberg JD, Saunders WJ, Coffey DS. Development of canine benign prostatic hyperplasia with age. *Prostate.* 1986;9:363-73.
26. Steiner MS, Couch RC, Raghov S, Stauffer D. Chimpanzee as model of human benign prostatic hyperplasia. *J Urol.* 1999;162:1454-61.
27. Tunn S, Hochstrate H, Habenicht UF, Krieg M. 5 alpha-reductase activity in epithelium and stroma of prostates from intact and castrated dogs treated with androstenedione, the aromatase inhibitor 1-methyl-1,4-androstadiene-3,17-dione, and cyproterone acetate. *Prostate.* 1988;12:243-53.
28. ruengger A, Bartsch G, Hollinger BE, Holly B, Rohr HP. Smooth muscle cell of the canine prostate in spontaneous benign hyperplasia, steroid induced hyperplasia and strogen or tamoxifen treated dogs. *J Urol.* 1983;130:1208-10.
29. Juniewicz PE, Berry SJ, Coffey DS, Strandberg JD, Ewing LL. The requirement of the testis in establishing the sensitivity of the canine prostate to develop benign prostatic hyperplasia. *J Urol.* 1994;152:996-1001.
30. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, Guess HA, Girman CJ, Passer LA, Liebre MM. Serum prostate-specific antigen in a community based population of healthy me: establishment of age-specific referente ranges. *J Am Med Assoc.* 1993;270:860-4.