

Expresión de receptores de estrógenos y andrógenos en los apéndices testiculares

R.M. Paredes Esteban, R.J. Luque Barona, B. Velasco Sánchez, J. Rodríguez Vargas, A. Lorite, M. García Ruiz

*Servicio Cirugía Pediátrica Hospital Universitario Materno-Infantil Reina Sofía de Córdoba.
Sección de Cirugía Pediátrica. Hospital Universitario Materno-Infantil, Complejo Hospitalario de Jaén.*

RESUMEN

Introducción. Los apéndices o hidátides del testículo son estructuras que se consideran restos embrionarios. En la hidátide testicular se han demostrado receptores estrogénicos pero en la epididimaria los resultados varían. Se ha teorizado que la elevación de los niveles de estrógenos en la pubertad puede producir una inflamación y torsión de la hidátide, sin embargo, en las epididimarias en las que no está clara la expresión de estrógenos (y también se torsionan) la teoría se pone en duda. Esta controversia nos lleva a la realización de este trabajo.

Material y método. Se realiza un estudio prospectivo en 20 apéndices testiculares, de los cuales 7 son epididimarios extirpados de pacientes a los que se realiza una exploración escrotal en el desarrollo de cirugía de procesos del canal inguino-escrotal (hidroceles, criptorquidias). Se analizan mediante microscopía óptica y estudio inmunohistoquímico empleando anticuerpos monoclonales prediluidos, para receptores de estrógenos, andrógenos e índice proliferativo. Los resultados fueron procesados y analizados mediante el programa estadístico SPSS.

Resultados. Todas las hidátides, testiculares y epididimarias expresaron receptores para estrógenos sin diferencia significativa entre ellas, no existiendo diferencia en cuanto a la localización de dichos receptores dentro de los tres compartimentos de la hidátide. El número de receptores de estrógenos estaba en relación con la edad del paciente. Sólo las hidátides epididimarias expresaron receptores de andrógenos y localizados fundamentalmente a nivel de los ductus. No hemos encontrado relación significativa entre el índice proliferativo y la expresión de receptores de estrógenos. El índice proliferativo fue más elevado a nivel de los ductus.

Conclusiones. 1) Tanto los apéndices testiculares como epididimarios expresaron receptores de estrógenos a nivel de los tres compartimentos. Ello hace pensar en un mismo origen embrionario, si bien sólo los epididimarios expresaron receptores de andrógenos. 2) La observación de receptores de estrógenos en ambos tipos de hidátides, así como la relación del número de los mismos con la edad del paciente, hace pensar que el aumento de estrógenos en la pubertad puede participar en la patogenia de la torsión de estos apéndices.

PALABRAS CLAVE: Apéndices testiculares; Torsión; Receptores de estrógenos; Receptores de andrógenos; Periodo prepuberal.

Correspondencia: Rosa María Paredes Esteban. Servicio de Cirugía Pediátrica. Hospital Universitario Materno-Infantil Reina Sofía. Av. Menéndez Pidal s/n. 14006 Córdoba.

Recibido: Mayo 2007

Aceptado: Marzo 2008

EXPRESSION OF RECEIVERS OF ESTROGENS AND ANDROGENS IN THE TESTICULAR APPENDICES

ABSTRACT

Introduction. The appendices or hidátides of the testicle are structures that are considered an embryonic rest. In testicular hidátide estrogen receivers have been demonstrated but in the epididymys the results vary. Has been theorized that the elevation of the estrogen levels in the puberty can produce an inflammation and torsion of hidátide, nevertheless, in the epididymys in which the estrogen expression is not clear (and also they are twisted) the theory is put in doubt. This controversy takes us to the accomplishment of this work.

Material and method. A prospective study is made in 20 testicular appendices, of which 7 from the epididymys are extirpated of patients to whom an escrotal exploration is made in the development of surgery of processes of the inguino-escrotal channel (hydroceles, hernias). Optical microscopy and immunohistochemical study are analyzed by means of using prediluted monoclonal antibodies, for receivers of estrogens, androgens and proliferative index. The results were proceed and analyzed by means of SPSS statistical program.

Results. All hidátides, testicular and from the epididymarys expressed receivers for estrogens without significant difference among them, not existing differences as far as the location of receiving sayings within the three compartments of hidátide. The number of estrogen receivers was in relation to the age of the patient. Only hidátides from the epididymys fundamentally expressed receivers of located androgens and at level of ductus. We have not found significant relation between the proliferative index and the expression of estrogen receivers. The proliferative index was more elevated at level of ductus.

Conclusions. 1) As much the testicular appendices as those from the epididymays expressed receivers of estrogens at level of the three compartments. It makes think about a same embryonic origin, although only the epididimal ones expressed androgen receivers. 2) the observation of estrogen receivers in both types of hidátides, as well as the relation of the number of such with the age of the patient, makes think that the increase of estrogens in the puberty can participate in patogenia of the torsion of these appendices.

KEY WORDS: Testicular appendices; Torsion; Estrogen receivers; Androgen receivers; Prepuberal period.

INTRODUCCIÓN

Los apéndices testiculares fueron descritos inicialmente por Giovanni Battista Morgagni, cuando publicó sus observaciones en el libro "Seats and Causes of Diseases" en 1776⁽¹⁾. Los apéndices o hidátides del testículo son estructuras que se consideran restos de gonaductos embrionarios, aunque los diferentes estudios al respecto no se ponen de acuerdo si lo hacen de gonaductos embrionarios diferentes (Müllerianos y Wolffianos)⁽²⁾. Se han reconocido 4 tipos de apéndices testiculares: apéndice de Giralde o paraepididimario que aparece en un 0,7%, apéndice epididimario que aparece en un 7%, *vas aberrans* (órgano de Haller) en un 0,3% y apéndice testis (testicular propiamente dicho) que es el más común en un 92%. Los tres primeros parecen ser remanentes del conducto de Wolf, solo el apéndice testis parece derivar del conducto de Müller^(3,4). Se ha descrito en numerosos artículos de la literatura que la incidencia de torsión es mayor en etapa prepuberal⁽⁵⁾. La torsión del apéndice testicular es relativamente frecuente y ocupa el 25% aproximadamente de los casos de escroto agudo en el niño y de estos en el 92% es debido a torsión del apéndice testis⁽⁶⁾. Estudios recientes evidencian un incremento importante de torsión de la hidátide en los últimos años⁽⁵⁾. Se ha sugerido que al igual que las fimbrias y trompas de Falopio, los apéndices testiculares son estructuras estrógeno-sensitivas. Se ha teorizado que la elevación de los niveles de estrógenos y andrógenos en la pubertad puede producir una inflamación y torsión de la hidátide⁽⁵⁻⁸⁾. Esta teoría es muy atractiva, sin embargo, en los apéndices epididimarios en los que no está clara la expresión de estrógenos y también se torsionan, la teoría se pone en duda. Son pocos los estudios realizados al respecto. Zuckerman⁽⁹⁾ realizó un estudio experimental demostrando que la administración de estrógenos en animales de experimentación estimulaba el crecimiento tanto epitelial como de elementos estromales en las hidátides testiculares. Histológicamente se observaron cambios con aumento de mitosis tanto en el epitelio como en el estroma. Había, sin embargo, gran variación en el tamaño final de las hidátides lo que sugería que la sensibilidad de tales órganos a los estrógenos no fuera universal ni existiera relación entre la dosis administrada y el tamaño final de las hidátides. Sólo un estudio⁽⁸⁾ demuestra la presencia de receptores estrogénicos y androgénicos en los apéndices testiculares. Esta controversia y la escasez de estudios al respecto, nos hace plantearnos la realización de este trabajo en el que se estudia de forma prospectiva la expresión de estró-

genos y andrógenos tanto en hidátides testiculares como epididimarias.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realiza un estudio prospectivo en 20 apéndices testiculares que fueron divididos en dos grupos 1 y 2. El grupo 1 correspondía a 13 apéndices localizados en el testículo y el grupo 2 a 7 apéndices localizados en epidídimo. Se extirpan en pacientes a los que se les realiza una exploración quirúrgica en el desarrollo de cirugía de procesos del canal inguino-escrotal (hidroceles, criptorquidias). Se analizan mediante microscopía óptica y estudio inmunohistoquímico empleando anticuerpos monoclonales prediluidos (Master Diagnóstica y Dako), utilizando el método inmunohistoquímico de Avidina-Biotina Peroxidasa (Tabla I). Estos anticuerpos son:

- 1) RE/Duct, RE/Estr, RE/Rev: expresan receptores de estrógenos en la hidátide a nivel de ductus, estroma y revestimiento respectivamente
- 2) RA/Duct, RA/Estr, RA/Rev: expresan receptores de andrógenos a nivel de ductus, estroma y revestimiento.
- 3) KI67/Duct, KI67/Estr, KI67/Rev: expresan el índice proliferativo a nivel de ductus, estroma y revestimiento.

Se utilizó un protocolo convencional de tinción inmunohistoquímica detallado a continuación:

1. Desparafinación e hidratación en xilol y alcoholes a concentración decreciente.
2. Recuperación antigénica: utilizamos una olla a presión llena con dos litros de buffer citrato, introduciendo las secciones cuando se encuentre en ebullición y manteniéndolas dos minutos tras alcanzar la presión máxima. Después se enfría rápidamente.
3. Lavado en agua destilada.
4. Neutralización de la actividad peroxidasa: se introducen los cortes en peróxido de hidrógeno al 3% durante treinta minutos.
5. Dos lavados en agua destilada.
6. Lavado en TBS (TRIS-buffered saline: TRIS 0.05 M + 8,5 g/l ClNa).
7. Tras secar los portaobjetos se cubren las muestras con suero de cerdo 20 minutos.
8. Cubrir con el anticuerpo primario e incubar 1 hora a temperatura cambiante (24 horas en cámara húmeda y a 4° C).
9. Lavado con TBS.

Tabla I Anticuerpos primarios utilizados

Anticuerpo	Tipo	Dilución	Desenmascaramiento antigénico	Compañía
Recep. androgénicos	Monoclonal	Prediluido	Olla a presión	Master Diagnóstica
Recep. estrogénicos	Monoclonal	Prediluido	Olla a presión	Master Diagnóstica
MIB-1 (anti ki-67)	Monoclonal	Prediluido	Olla a presión	Dako

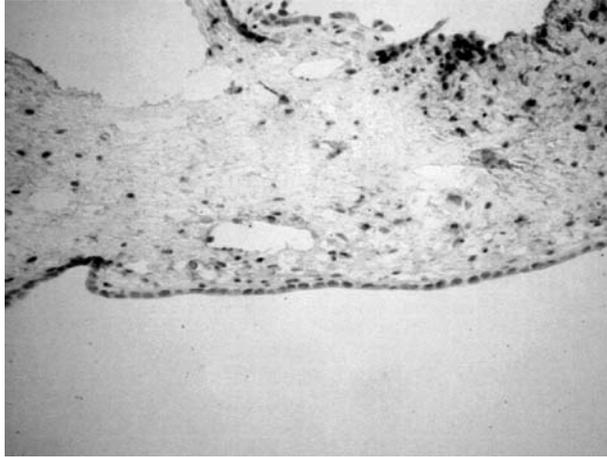


Figura 1. Hidátide testicular. Técnica estreptavidina-biotina-peroxidasa para receptores estrogénicos. Expresión de receptores estrogénicos tanto en estroma como el epitelio de revestimiento y estructuras pseudoductales.



Figura 2. Hidátide epididimaria. Técnica estreptavidina-biotina-peroxidasa para receptores estrogénicos. Expresión de receptores estrogénicos en epitelio y estroma.

10. Cubrir con el anticuerpo secundario (kit LSAB2, Dako) durante 20 minutos.
11. Lavado con TBS.
12. Cubrir con estreptavidina (kit LSAB2, Dako) 20 minutos.
13. Lavar con TBS.
14. Lavar con TRIS 0.05 M
15. Revelado: cubrir con diaminobencidina, 10 minutos.
16. Decantado y lavado en agua destilada.
17. Contratinción leve con hematoxilina.
18. Contraste, deshidratación, aclarado y montaje.

Como controles positivos de receptores androgénicos y estrogénicos se utilizaron, respectivamente, muestras de cáncer de próstata y mama con expresión positiva conocida de ambos.

Posteriormente se procedió a la cuantificación de la expresión de los tres marcadores en las distintas estructuras diferenciadas en las hidátides: epitelio de revestimiento (REV), estroma (ESTR) e invaginaciones de aspecto ductal (DUCT) en el interior de la hidátide. Se registró de esta forma el porcentaje de células positivas a receptores estrogénicos (RE/REV, RE/ESTR y RE/DUCT), androgénicos (RA/REV, RA/ESTR y RA/DUCT) y el índice proliferativo (KI-67/REV, KI-67/ESTR y KI-67/DUCT).

Los resultados fueron procesados y estudiados mediante el programa informático-estadístico SPSS. Se utilizó la prueba de T de Student para muestras independientes y el test de Kruskal-Wallis para variables no paramétricas y el test de correlación de Pearson. Se considera significativa una $p < 0,05$.

RESULTADOS

De los apéndices epididimarios estudiados 13 correspondían a los testiculares propiamente (grupo 1) dichos y 7 a apén-

Tabla II No existen diferencias significativas entre la presencia de receptores y andrógenos en las hidátides de ambos grupos

	EPI (grupo 2) 7 (36,84%) media \pm DS	Test (grupo 1) 13 (63,16%) media \pm DS	p
REductus	69,67 \pm 27,88	58,2 \pm 37,71	0,530 n.s.
REestr	36,16 \pm 29,85	40,02 \pm 27,12	0,776 n.s.
RErevest	2,6 \pm 1,49	4,5 \pm 4,51	0,302 n.s.

DS: desviación típica.

dices epididimarios (grupo 2). La edad media fue de 5,25 años con rangos entre 7 y 11 años.

Hemos observado receptores de estrógenos en todos los apéndices tanto epididimarios como testiculares (Figs. 1 y 2), no existiendo diferencias significativas para ninguna de las variables, por lo tanto no podemos decir que el nº de receptores de estrógenos sea distinto en el grupo 1 y 2 (Tabla II). Sin embargo, solo hemos observado receptores de andrógenos en los apéndices epididimarios (Fig. 3) y localizados en los tres compartimentos pero fundamentalmente a nivel del ductus.

Tampoco hemos observado diferencias significativas en cuanto a la localización de los receptores de estrógenos dentro de los compartimentos anatómicos de la hidátide (revestimiento, estroma y ductus) (Fig. 4). Sin embargo, sí encontramos diferencias significativas entre del índice proliferativo y la localización con una $p=0,001$ (Fig. 5). La correlación (test de correlación de Pearson) entre el total de receptores de estrógenos (Total RE= REductus + RErev + Restr) y el total del índice proliferativo (Total KI67= KI67ductus + KI67rev + KI67estr) no fue significativa ($p=0,879$), por lo tanto no existe una correlación lineal entre las dos variables.

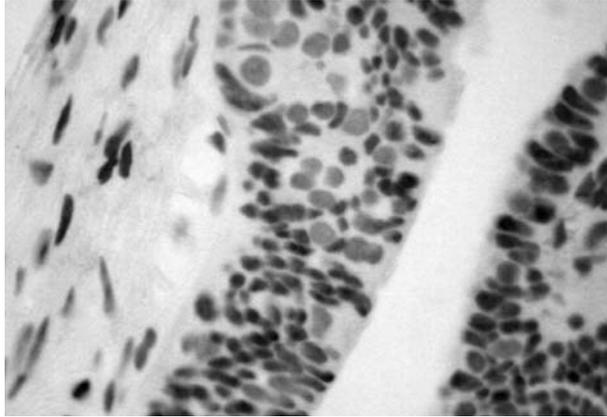


Figura 3. Hidátide epididimaria. Técnica estreptavidina-biotina-peroxidasa para receptores androgénicos. Expresión de receptores androgénicos.

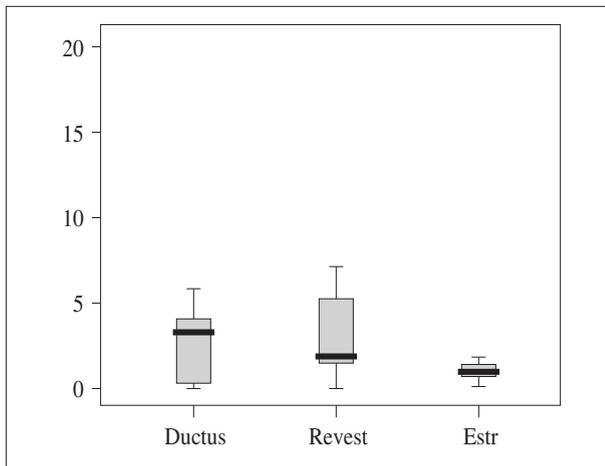


Figura 5. Índice proliferativo. Mayor número de receptores a nivel de los ductus.

El número de receptores de estrógenos se encontró relacionado con la edad siendo mayor en niños mayores de más de 5 años (Tabla III).

DISCUSIÓN

La incidencia de escroto agudo en los niños secundario a la torsión de los apéndices o hidátides testiculares es del 25%, aunque los últimos estudios evidencian un incremento importante en los últimos años⁽⁵⁾. La edad más frecuente de aparición del cuadro clínico es la prepuberal⁽⁵⁾. La aparición en esta época de la vida ha hecho pensar a numerosos estudiosos que los factores hormonales pueden contribuir a ello⁽¹⁰⁾. Al derivar los apéndices de gonoductos embrionarios hace pensar que existan receptores de estrógenos y andrógenos a dicho nivel. El primer estudio que demuestra la expresión de estrógenos y andrógenos en el apéndice humano testicular fue el

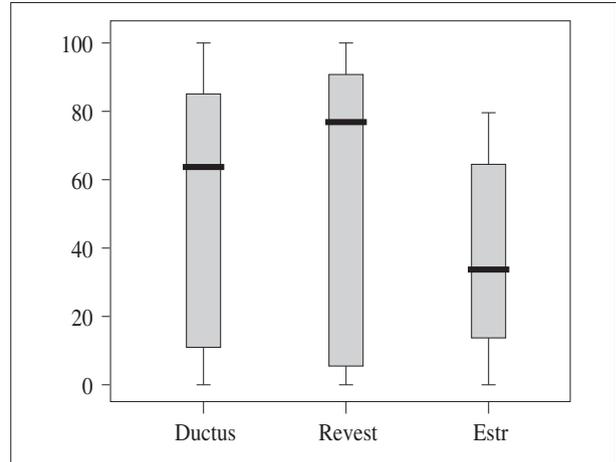


Figura 4. Variación del número de receptores según la localización. No existen diferencias entre el número de receptores y su localización $p=0,036$.

Tabla III Relación entre el n° de receptores de estrógenos y la edad del paciente

	3-5 años media \pm DS	5-7 años media \pm DS	≥ 7 años media \pm DS	<i>p</i>
REductus	56,48 \pm 38,69	68,5 \pm 23,5	74,06 \pm 33,97	0,302
REestr	37,1 \pm 20,52	10,06 \pm 11,42	61,14 \pm 21,36	0,008
RErevest	3,62 \pm 1,01	3,6 \pm 2,4	5,42 \pm 6,31	0,695

DS: desviación típica.

realizado por Sammanaky y cols. en el año 2004⁽⁸⁾, sin embargo a diferencia de nosotros, no distinguen entre apéndice epididimario y testicular. Nuestro estudio, sin embargo, diferencia entre las dos hidátides, observando en ambas receptores de estrógenos. Solo en las hidátides epididimarias se han localizado receptores de andrógenos. Tal vez esta diferencia entre ambas hidátides se deba a su origen embriológico diferente. En las hidátides del testículo se diferencian tres compartimentos: el epitelio de revestimiento, el estroma y los ductus que simulan glándulas. El estudio realizado por Samnakay y cols.⁽⁸⁾ observa diferencia regional en la localización de los mismos. Para ellos los receptores de andrógenos se localizan fundamentalmente en el revestimiento y en menor cantidad en estroma, mientras que los receptores de estrógenos se limitan a estroma y ductus. Nuestros resultados son algo diferentes, tanto los apéndices epididimarios como testiculares expresan receptores de estrógenos y no encontramos diferencias significativas en su localización, sin embargo, la expresión de andrógenos que sólo se observó en las hidátides epididimarias sí fue más intensa a nivel de los ductus. Tal vez en la diferencia de resultados influya el hecho de que ellos no diferen-

cian entre hidátides testiculares y epididimarias o tal vez tal y como concluyó Zuckerman⁽⁹⁾ esta expresión no es constante ni universal. La expresión de receptores de estrógenos y andrógenos en otros estudios hace pensar a los autores que también la elevación de niveles de andrógenos pueda participar en el crecimiento y después torsión de los apéndices al igual que los estrógenos⁽⁸⁾. Nuestros resultados apoyan esta teoría al observar receptores de estrógenos en las hidátides testiculares y receptores de andrógenos y estrógenos en las epididimarias.

CONCLUSIONES

Tanto los apéndices testiculares como epididimarios expresan receptores de estrógenos a nivel de los tres compartimentos, por lo que no podemos concluir si derivan o no de gonoductos embrionarios diferentes, si bien, sólo los apéndices epididimarios expresaron receptores de andrógenos. La observación de receptores de estrógenos en ambos tipos de hidátides, así como la relación del número de los mismos con la edad del paciente, hace pensar que el aumento de estrógenos y andrógenos en la edad prepuberal puede participar en la patogenia de la torsión de estos apéndices.

BIBLIOGRAFÍA

1. Morgagni G. De Sediis et Cousis Morborum. Padua: Bassano; 1761.
2. Skandalakis JE, Gray SW, Parrot TS, Ricketts RR. Vestigial organs of the testis and avary. En: Skandalakis JE, Gray SW, eds. Embriology for surgeons. 2ª edición. Baltimore: Williams and Wilkins; 1994. p. 747-750.
3. Rolnick D, Kawanouse S, Szanto P, Bush IM. Anatomical incidence of testicular appendages. J Urol. 1968; 100: 755-756.
4. Murnaghan GF. The appendages of the testis and epididymis: a short review with case reports. Br J Urol. 1959; 31: 190-195.
5. Blesa E, Moreno C, Blesa A, Rodríguez L, Núñez R, Cabrera R. Apéndices testiculares y epididimarios. Contribución a la embriología y a la patogénesis. Cir Pediatr. 2003; 16: 73-76.
6. Jones P. Torsion of the testis and its appendages during childhood. Arch Dis Child. 1962; 37: 214-226.
7. Dickson RB, Clark CR. Estrogen receptors in the male. Arch Androl. 1984; 7: 205-217.
8. Samnakay N, Cohen RI, Orford L, King PA, Davies RJ. Androgen and oestrogen receptor status of the human appendix testis. J Ped Surg. 2003; 19: 520-524.
9. Zuckerman S, Krhon PL. The hydatids of Morgani under normal and experimental conditions. Phil Trans Roy Soc 1937; 228: 147-171.