

GIOVANA WINGETER DI SANTIS

**ESTUDO MORFOLÓGICO, MORFOMÉTRICO E
IMUNOISTOQUÍMICO DE PRÓSTATAS CANINAS
NORMAIS E HIPERPLÁSICAS**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade Estadual Paulista “Julio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária (Área de
Concentração: Clínica Veterinária).**

BOTUCATU

2003

GIOVANA WINGETER DI SANTIS

**ESTUDO MORFOLÓGICO, MORFOMÉTRICO E
IMUNOISTOQUÍMICO DE PRÓSTATAS CANINAS
NORMAIS E HIPERPLÁSICAS**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade Estadual Paulista “Julio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária (Área de
Concentração: Clínica Veterinária).**

Orientador: Prof. Dr. Enio Pedone Bandarra

BOTUCATU

2003

A Deus

*Porque, aquele que pede, recebe; e,
o que busca, encontra; e,
ao que bate, se abre.*

Mateus 7:8

Aos meus pais Neusa e José Francisco

Mestres em confiar e apoiar,
Em conhecer e compreender,
Em ouvir e aconselhar,
Mestres em amar.

Ao meu orientador Enio Pedone Bandarra

Orientar bastaria, como tantos outros fazem...

Mas não basta para você,
tampouco para mim.

É preciso mais...amizade, carinho, confiança,
cumplicidade, reciprocidade...

Se não você, quem?

Ao meu namorado Paulo Felipe

Fim de semana...laboratório,
Passeio? Não, relatório,
Mas entre lâminas e livros,
Um olhar, um sorriso,
E o mundo se afasta a contento,
Este é o nosso momento!

AGRADECIMENTOS

A todos que direta ou indiretamente participaram da elaboração deste trabalho, especialmente:

A **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP**, cuja bolsa concedida possibilitou dedicação exclusiva na realização deste projeto (Processo 00/13927-5).

Ao meu orientador **Professor Doutor Enio Pedone Bandarra** por ter tornado este caminho mais suave, por ter sempre uma resposta, por confiar e por saber que cada indivíduo é ímpar.

À **Professora Ass. Dra. Renée Laufer Amorim** pela colaboração imprescindível em todos os momentos, companheirismo e entusiasmo.

Ao meu namorado **Paulo Felipe Izique Goizo** pela compreensão nos momentos difíceis e pelo auxílio em diversas etapas deste trabalho.

À pós-graduanda **Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura** pela amizade e cooperação no desenvolvimento deste projeto.

Aos funcionários do Serviço de Patologia da FMZV – UNESP, **Maury Raul** pela ajuda incondicional e alegria contagiante e **Noel de Almeida Melo**, pela paciência e ensinamentos no laboratório de histopatologia.

Aos Médicos Veterinários **Luís Álvaro Monteiro Júnior, Paulo César Gonçalves dos Santos, Marcela Marcondes Pinto Rodrigues, Helder Esteves Thomé e Sara Maria de Carvalho e Suzano** pela colaboração na coleta e processamento do material.

Ao **Professor Antonio Carlos Paes e Médicos Veterinários Residentes do Serviço de Moléstias Infecciosas da FMVZ – UNESP** pela contribuição na obtenção de amostras.

À **Professora Laura Maria Alvarez Figueiredo** pelo carinho e ensinamentos desde o início de minha vida profissional.

Ao Médico Veterinário **Aristeu Vieira da Silva** pelo valioso auxílio na análise estatística.

À Médica Veterinária **Catharine Costa Gurgel** por ser sempre uma grande amiga.

Sumário

Resumo	7
Abstract	8
1. Introdução	9
2. Revisão de Literatura	12
2.1 Aspectos morfológicos e fisiológicos da próstata	13
2.2 Afecções prostáticas	18
2.3 Hiperplasia prostática benigna (HPB)	23
2.4 Morfometria em próstatas normais e hiperplásicas	37
2.5 Imunoistoquímica em próstatas normais e hiperplásicas	41
3. Material e Métodos	44
3.1 Obtenção e processamento do material	45
3.2 Avaliação morfológica das próstatas	46
3.3 Avaliação histopatológica das próstatas e registro dos dados	46
3.4 Padronização da técnica de imunoistoquímica	47
3.5 Estudo imunoistoquímico	49
3.6 Estudo morfométrico	50
3.7 Análise estatística	54
4. Resultados	56
4.1 Avaliação morfológica das próstatas	57
4.2 Relação entre a idade e o desenvolvimento prostático dos animais	60
4.3 Estudo histopatológico das próstatas	61
4.4 Distribuição anatômica da hiperplasia	81
4.5 Padronização da técnica de imunoistoquímica	83
4.6 Estudo imunoistoquímico	86
4.7 Estudo morfométrico	93
5. Discussão	97
5.1 Avaliação morfológica das próstatas	98
5.2 Relação entre a idade e o desenvolvimento prostático dos animais	99

5.3 Estudo histopatológico das próstatas	100
5.4 Distribuição anatômica da hiperplasia	107
5.5 Utilização da imunistoquímica em próstatas caninas	108
5.6 Estudo morfométrico	109
6. Conclusões	115
7. Referências Bibliográficas	118
Anexos	129

DI SANTIS, G.W. *Estudo morfológico, morfométrico e imunoistoquímico de próstatas caninas normais e hiperplásicas*. Botucatu, 2003. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Resumo

A próstata canina é sítio freqüente de afecções, entre as quais destaca-se a hiperplasia prostática benigna (HPB) visto sua alta freqüência, as similaridades observadas entre a doença nesta espécie e no homem, assim como o fato de ser a única espécie não humana a desenvolvê-la espontaneamente. Foram avaliadas macro e microscopicamente 100 próstatas, das quais selecionaram-se 15 imaturas, oito normais e 15 hiperplásicas para estudo morfométrico e imunoistoquímico. A incidência de alterações prostáticas foi alta entre os animais adultos e idosos, sendo a hiperplasia do tipo complexo a mais freqüente. A marcação imunoistoquímica com o anticorpo de uso humano PSA mostrou-se forte e homogênea no epitélio secretor de próstatas caninas normais e hiperplásicas. A análise morfométrica do tecido prostático revelou que há diferenças morfológicas entre as regiões periuretral, central e periférica em glândulas caninas imaturas, normais e hiperplásicas. De modo geral próstatas imaturas continham predomínio de tecido estromal, enquanto nas normais e hiperplásicas o tecido epitelial predominou. A diferença entre glândulas normais e hiperplásicas deu-se pela maior quantidade de tecido estromal e menor de tecido epitelial nas regiões central e periférica das próstatas hiperplásicas.

Palavras-chave: Próstata, cão, hiperplasia, imunoistoquímica, morfometria.

DI SANTIS, G.W. Morphological, morphometric and immunohistochemical study of normal and hyperplastic canine prostate. Botucatu, 2003. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Abstract

Canine prostate is a frequent site of disease, the benign prostatic hyperplasia (BPH) is one of the most importance, since is frequent, very similar to this disease in human beings and the dog is the only specie that develop BPH spontaneously. Gron and histopathological study of 100 prostate glands were evaluated and 15 imature, 8 normal and 15 hyperplastic prostate were selected for morphometric and immunohistochemical study. The incidence of prostatic changes was high in adult and elder animals and complex hyperplasia was more frequent. PSA immunohistochemistry was strong and homogeneous in the secretor epithelial cells in normal and hyperplastic prostate gland. Prostatic tissue morphometric analysis showed morphological differences between periurethral, central and peripheral regions in imature, normal and hyperplastic canine glands. Imature prostate had more stromal tissue and in normal and hyperplastic glands the epithelial component was predominant. The difference between normal and hyperplastic glands was the higher amount of stromal tissue and lower epithelial component in central and peripheral regions of hyperplastic prostate.

Key words: Prostate, dog, hyperplasia, immunohistochemistry, morphometry.

1. Introdução

Doenças prostáticas representam um problema freqüente em cães adultos e idosos. Entre elas, destacam-se as prostatites, cistos, hiperplasia prostática benigna (HPB), carcinomas prostáticos e abscessos (Krawiec, 1994).

A HPB ocorre com alta incidência tanto no cão quanto no homem e está associada, em ambos, ao avanço da idade e a desequilíbrios hormonais envolvendo principalmente testosterona, dehidrotestosterona (DHT) e estrogênio (Lowseth et al., 1990).

A literatura veterinária apresenta dados controversos quanto ao padrão tecidual da HPB (epitelial ou estromal) e quanto às alterações morfológicas específicas no tecido prostático que acompanham o avanço da idade (Zirkin & Strandberg, 1984). No homem, essas alterações têm sido estudadas pela análise morfométrica quantitativa, uma vez que a determinação do padrão histológico da HPB tem papel fundamental na compreensão da sintomatologia clínica e na escolha do tratamento mais adequado (Zlotta et al., 1996).

A utilização do cão como modelo experimental para a HPB humana também é assunto polêmico. A esse respeito, a literatura especializada apresenta trabalhos que discordam entre si, principalmente quando são avaliadas as características morfológicas da lesão. Por outro lado, a história natural da doença (ocorrência associada à idade e a fatores hormonais) e o fato do cão ser a única espécie não humana que desenvolve HPB espontaneamente sustentam seu uso para esta finalidade (Wilson, 1980; Isaacs, 1983; Zirkin e Strandberg, 1984; Lowseth et al., 1990).

Visto que poucas informações estão disponíveis na literatura veterinária no que concerne ao padrão morfológico da HPB canina e às alterações morfológicas do tecido com o decorrer da idade, este estudo teve como objetivos principais: a determinação da faixa etária de animais com glândulas imaturas, maduras ou hiperplásicas; a análise morfométrica do predomínio tecidual em próstatas imaturas, normais e hiperplásicas, e das

alterações morfológicas concernentes ao avanço da idade; a avaliação do padrão histológico e da distribuição anatômica da HPB no cão; a inter-relação entre peso, tamanho e volume prostáticos e o peso corpóreo do animal; e a avaliação da integridade da camada de células basais nos casos de HPB. Ainda, os dados obtidos fornecem subsídios para a utilização do cão como modelo experimental desta afecção no homem.

2. Revisão de Literatura

2.1 Aspectos morfológicos e fisiológicos da próstata

A próstata é a única glândula sexual acessória do cão (Barsanti e Finco, 1992). Apresenta-se ventral ao reto e dorsal à sínfise púbica ou à parede abdominal ventral e envolve completamente a uretra proximal (Olson et al., 1987; Johnston et al., 2001) (Figura 1A).

A próstata canina é dividida em dois lobos por um septo medial de tecido fibroso. A uretra prostática passa pelo centro da glândula e aparece em forma de “V” em cortes transversais, devido a uma dobra em sua face dorsal que se estende longitudinalmente (Johnston et al., 2001) (Figura 1B).

Nos neonatos, localiza-se na região abdominal, porém após a perda do úraco remanescente, aproximadamente aos dois meses de idade, passa a se localizar, na maioria dos cães, na cavidade pélvica (Olson et al., 1987; Dorfman e Barsanti, 1995) (Figura 1A).

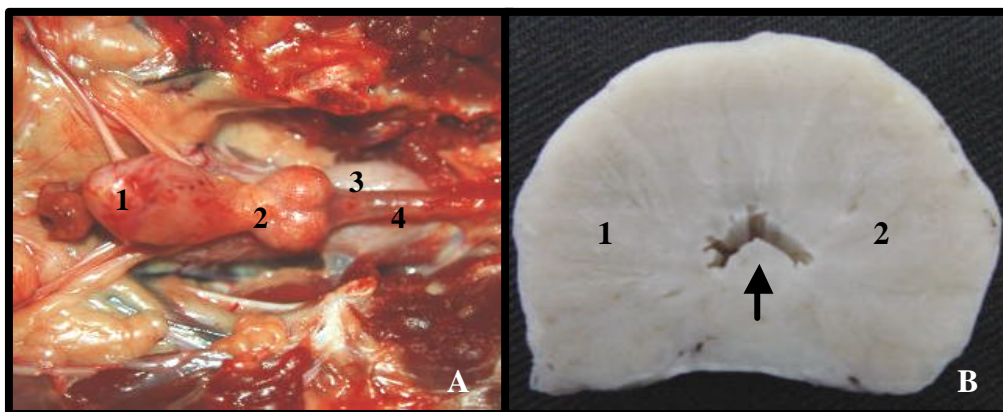


Figura 1: A) Cavidade pélvica canina (retiradas as estruturas ósseas) vista ventro-dorsal. Observam-se bexiga urinária (1); próstata (2); reto (3) e uretra (4). B) Corte transversal de uma próstata canina. Lobo esquerdo (1), lobo direito (2) e uretra prostática (seta).

A localização da glândula pode variar ainda em função da distensão da bexiga e do estado patológico do animal. Com o avanço da idade, a próstata tende a aumentar gradualmente de volume como resultado da hiperplasia glandular e pode deslocar-se cranialmente, de forma que a maioria dos machos não castrados, com mais de cinco anos de idade apresentam a maior parte do órgão em posição abdominal. A distensão da bexiga pode também trazer a glândula cranialmente para o interior da cavidade abdominal (Barsanti e Finco, 1992; Dorfman e Barsanti, 1995).

A artéria prostática, originada da artéria pudenda interna, e as veias prostática e uretral são os principais vasos sanguíneos responsáveis pela irrigação do órgão (Johnston et al., 2001).

No embrião humano, a próstata foi dividida em cinco lobos; posterior, médio, anterior e dois laterais. No adulto o parênquima pode ser dividido em quatro zonas biológica e anatomicamente distintas: periférica, central, transicional e periuretral (Cotran et al., 1999). No cão não há evidências de que existam regiões anatômicas distintas (Lepor et al., 1992).

A embriologia da genitália masculina é semelhante no cão e no homem. Com a fusão dos cromossomos "X" e "Y" há liberação do fator determinante de testículo, que atua sobre a gônada embrionária indiferenciada formando os testículos. Estes iniciam a produção de hormônio antimülleriano (AMH) e testosterona, cujo metabolismo pela ação da enzima 5 α -redutase, no interior do *sinus urogenital*, origina a dehidrotestosterona (DHT). O AMH induz a regressão dos ductos Müllerianos, a testosterona age nos ductos de Wolf, diferenciando-os nos ductos deferentes e epidídimo, e a DHT atua no *sinus urogenital* originando a uretra e a próstata (Epstein, 1997; Johnston et al., 2001).

Uma das funções da próstata é a produção de um fluido que fornece o ambiente propício para a sobrevivência e motilidade dos espermatozoides durante a ejaculação. Outras incluem: participação no controle do fluxo urinário da bexiga, devido ao volume de musculatura lisa; e no auxílio para o rápido metabolismo da testosterona em dehidrotestosterona. No

homem observa-se ainda, alto nível de zinco no plasma seminal, com ação antimicrobiana (Barsanti e Finco, 1992; Kumar e Majumder, 1995).

A proteína presente em maior quantidade no plasma seminal canino é a esterase prostática secretória canina (CPSE). Tal proteína é produzida pelas células epiteliais secretoras sob influência da testosterona, e encontra-se em níveis mais altos no sangue de animais com HPB em relação aos normais, portadores de carcinoma prostático ou prostatite bacteriana (Klausner et al., 1994).

O fluido prostático é produzido sob estímulo parassimpático do nervo pélvico e expulso durante a ejaculação por estímulo simpático do nervo hipogástrico. Pequenas porções de fluido prostático são secretadas constantemente e se não ocorrer micção ou ejaculação, a pressão uretral impele-o para o interior da bexiga (Barsanti e Finco, 1992).

Histologicamente, a próstata canina é dividida em lóbulos, sustentados pelo estroma, e envolta por uma espessa cápsula fibromuscular. Tais lóbulos são constituídos de glândulas túbulo-alveolares compostas que se estendem a partir de sua abertura no ducto uretral (Figura 2). Os ductos prostáticos, nos quais o fluido desemboca, não coalescem, ao invés disso abrem-se no interior da uretra proximal, ao redor dos orifícios dos dúctilos deferentes, formando o colículo seminal (Johnston et al., 2001).

As células glandulares são cúbicas a colunares e apresentam-se normalmente em dupla camada; epitélio secretor e basal, este último localizado ao longo da membrana basal. Nos ductos excretores, que se abrem no interior da uretra, o epitélio torna-se do tipo transicional. O estroma prostático consiste de fibroblastos e células musculares lisas envolvidos por colágeno, com vasos sanguíneos e nervos (Olson et al., 1987; Barsanti e Finco, 1992; Dorfman e Barsanti, 1995).

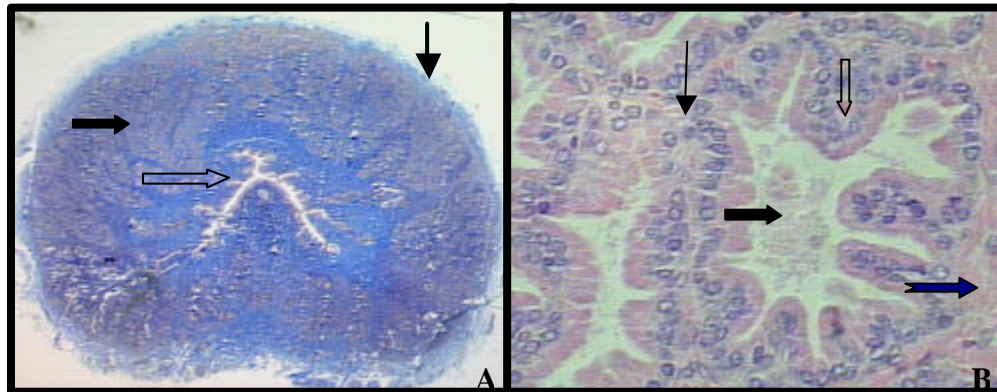


Figura 2: A) Fotomicrografia evidenciando a arquitetura tecidual da próstata canina. Observam-se a uretra prostática (seta vazada), o tecido glandular (seta larga) e a cápsula prostática (seta estreita). Tricrômio de Masson, 16X. B) Fotomicrografia mostrando a histologia normal da próstata canina. Notam-se epitélio secretor (seta vazada), célula basal (seta estreita), lúmen glandular (seta larga) e estroma de sustentação (seta entalhada).HE, 500X.

A próstata é dependente da ação de andrógenos, uma vez que a castração do animal gera atrofia do tecido glandular e a presença destes hormônios com o avançar da idade leva ao aumento gradual da glândula, por proliferação de elementos epiteliais e estromais (Johnston et al., 2001).

No homem, a proporção entre tecido epitelial e estromal do nascimento aos vinte anos permanece constante, embora a proporção entre músculo liso e tecido conjuntivo varie durante esse período (Shapiro et al., 1997). Arenas et al. (2001) avaliaram as próstatas de 281 homens que morreram em acidentes de trânsito e observaram que a partir dos trinta anos estes tendem a desenvolver aumento no volume total da glândula, devido principalmente a proliferação de tecido estromal na região central. Notaram também que alterações na composição histológica da glândula ocorriam continuamente com o avanço da idade, a ponto de não mais ser observada a estrutura histológica normal em homens a partir dos setenta anos.

O estroma fibromuscular predomina na próstata canina antes da maturidade sexual, que ocorre entre seis meses e um ano de idade. Após este período as células epiteliais passam a predominar (Barsanti e Finco, 1992).

Zirkin e Strandberg (1984) estudaram as alterações na morfologia da próstata canina com o decorrer da idade dividindo-as em imaturas, nas quais a porção alveolar é pouco desenvolvida; normais, apresentando alvéolos compostos com projeções de células epiteliais para o interior do lúmen glandular; e hiperplásicas, com óbvio aumento na quantidade de epitélio secretor, com ou sem a formação de cistos. Seguindo esses critérios concluíram que cães com aproximadamente um, 2,5 e 6,4 anos apresentam a próstata imatura, normal e hiperplásica, respectivamente.

Concomitantemente às alterações histológicas, com o decorrer da idade há também variações na relação entre o peso prostático e o peso corpóreo do cão. A esse respeito, Poulet (1985) descreve três fases de evolução da glândula; crescimento normal até os dois anos de idade, quando estabiliza, pesando cerca de 0.66g/Kg; crescimento anormal (hiperplasia) em cães com três a cinco anos pesando 0.67 a 1.0g/Kg e com seis a 16 anos pesando mais que 1.0g/Kg; e involução senil. Ainda; altura, largura, comprimento e volume da próstata são positivamente correlacionados com a idade até os 11 anos, após este período a glândula involui (Johnston et al., 2001).

Dos quatro aos 16 meses de idade, em cães da raça Beagle, a próstata cresce com tempo de duplicação constante de 0.64 anos, período este em que a testosterona sérica está aumentando para alcançar seu nível adulto normal (Isaacs, 1984).

Ao nascimento, a próstata humana pesa aproximadamente 1g, aumentando para cerca de 4g antes da puberdade. A partir daí há um crescimento contínuo até os 20 anos, quando pesa perto de 20g. Com a progressão da idade o peso da glândula permanece inalterado por 20 a 30 anos, e passado este período o crescimento inicia-se novamente resultando em próstatas com aproximadamente 60g aos 70 anos de idade (Wilson, 1980).

2.2 Afecções prostáticas

Doenças prostáticas representam um problema comum em cães adultos e idosos (Olson et al., 1987; Krawiec, 1994; Dorfman e Barsanti, 1995). Oliveira et al. (1996) em estudo com caninos encaminhados à necropsia observaram que 84.6% dos animais apresentavam lesões nesta glândula, dentre as quais a HPB foi a mais freqüente (36.9%), seguida por prostatites (24.6%), cistos (12.3%) e neoplasias (4.6%).

De acordo com Krawiec e Heflin (1992) as lesões prostáticas mais comuns, em ordem de freqüência, são: prostatite bacteriana, cistos – incluindo os de retenção e aqueles associados à hiperplasia glandular –, adenocarcinomas e HPB. No entanto, os autores acreditam que os casos de HPB podem ter sido subestimados, visto que animais que apresentaram aumento de volume prostático sem avaliação histopatológica não foram considerados.

Estudos inerentes às alterações morfológicas da próstata canina com a progressão da idade têm se destacado na literatura atual tendo em vista as similaridades entre a HPB nesta espécie e no homem (Dorfman e Barsanti, 1995). Ainda, o cão é a única espécie não humana na qual a HPB e o câncer prostático ocorrem espontaneamente (Berry et al., 1986; Waters et al., 1997).

Cães sexualmente intactos são mais susceptíveis a doenças prostáticas que os castrados, contudo em relação ao adenocarcinoma esta afirmação não é válida, visto que sua ocorrência não é menor em animais castrados (Krawiec e Heflin, 1992).

No que concerne à predisposição racial às afecções prostáticas, Chew (1997) reporta que as raças Dobermann pinscher e Pastor Alemão se fazem presentes com freqüência na literatura. Krawiec e Heflin (1992) encontraram maior acometimento destas duas raças por alterações prostáticas, entretanto esclarecem que as mesmas estavam em maior número na população estudada. Estes autores destacam também que 44 raças de cães foram identificadas no estudo em questão, e sugerem que o desenvolvimento de tais afecções independe do fator racial.

As prostatites bacterianas podem manifestar-se no cão de forma aguda ou crônica, sendo a última mais freqüente. O principal microorganismo envolvido é a *Escherichia coli*, entretanto outros agentes como: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Mycoplasma canis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *Streptococcus spp.*, *Pasteurella spp.*, e *Haemophilus spp.*, já foram isolados (Johnston et al., 2000). A estreita relação anatômica entre a próstata, uretra proximal e bexiga urinária reflete-se na elevada freqüência de infecções envolvendo estas três estruturas. O fluido prostático geralmente reflui para o interior da bexiga, assim como a urina pode entrar em contato com ductos prostáticos durante a micção (Olson et al., 1987; Barsanti, 1998).

A prostatite aguda é uma inflamação focal ou difusa, supurativa, com acúmulo de quantidade variável de exsudato nos lúmens glandulares, podendo haver comprometimento do estroma. Há uma tendência a formação de abscessos. Em casos crônicos agregados de linfócitos, plasmócitos e macrófagos geralmente estão presentes no estroma, sendo comum a atrofia glandular (Ladds, 1993; Laufer Amorim, 2001). No homem identifica-se também a prostatite não bacteriana, que exhibe aspecto histopatológico semelhante ao observado na prostatite crônica, porém com repetidas culturas microbiológicas negativas (Nickel, 1997).

Cistos prostáticos caracterizam-se por lesões cavitárias com uma parede distinta, contendo fluido claro em seu interior. Três tipos principais podem ser observados: cistos de retenção ou cistos verdadeiros, relacionados à obstrução de ductos excretores; cistos paraprostáticos, que se localizam fora do parênquima glandular e tem provável origem em restos embrionários dos ductos Müllerianos; e cistos associados à hiperplasia, geralmente numerosos, pequenos e contidos na estrutura glandular, sendo os de maior ocorrência (Ladds, 1993; Johnston et al., 2000).

Entre os cistos de retenção pode-se encontrar cistos associados à metaplasia escamosa, onde o epitélio glandular é substituído por epitélio escamoso bem diferenciado, cuja origem relaciona-se ao hiperestrogenismo

exógeno ou endógeno (Ladds, 1993; Dorfman e Barsanti, 1995; Vannucchi et al., 1997).

No cão, o adenocarcinoma prostático é uma doença insidiosa e altamente agressiva. A etiologia é desconhecida e a relação com andrógenos não foi estabelecida (Klausner et al., 1994). Metástases são observadas em cerca de 80% dos cães e estão presentes, na maioria dos casos, nos linfonodos pélvicos, sistema esquelético e pulmões (Kozlowski, 1999; Cornel et al., 2000).

Apenas o homem e o cão são propensos ao desenvolvimento espontâneo de HPB e adenocarcinoma prostático. A incidência de HPB é igualmente alta, mas o câncer é mais comum no homem (De Marzo et al., 1999).

Embora muitos eventos similares possam estar presentes na patogenia do câncer prostático e da HPB, não é provável que esta seja uma lesão pré-neoplásica (De Marzo et al., 1999). A fase pré-maligna do adenocarcinoma na próstata humana corresponde à displasia ducto-acinar ou neoplasia intra-epitelial prostática (PIN) (McNeal e Bostwick, 1986).

A PIN no cão e no homem apresenta-se de forma semelhante no que diz respeito à morfologia, imunofenótipo e na associação com o câncer (Waters et al., 1998). Características histopatológicas desta lesão incluem hiperplasticidade, perda da polaridade nuclear, aumento nuclear e nucleolar (Waters e Bostwick, 1997a).

A próstata canina pode ser utilizada como modelo para a determinação dos fatores que regulam a aparente progressão do epitélio benigno para PIN, e deste para o carcinoma invasivo (Waters e Bostwick, 1997b).

A HPB no homem está presente, na maioria das vezes, na zona de transição, enquanto o adenocarcinoma é mais observado na região periférica da próstata. Este dado sugere que a próstata passe por uma fase de PIN, ou outra lesão proliferativa atípica, que não a HPB, antes do desenvolvimento de um adenocarcinoma (De Marzo et al., 1999).

Os sinais clínicos relacionados às doenças prostáticas em cães variam com o tipo e gravidade da lesão. Devido à similaridade entre eles e à possibilidade de ocorrência concomitante de duas ou mais alterações, o diagnóstico destas afecções torna-se um constante desafio (Barsanti e Finco, 1992; Krawiec e Heflin, 1992; Muzzi et al., 1999) (Quadro 1).

Segundo Chew (1997) a palpação retal deve ser o ponto inicial na avaliação de cães com suspeita de doença prostática. As alterações na morfologia, localização, e a sensibilidade à manipulação, são critérios importantes para o estreitamento da gama de lesões que podem acometer a glândula.

Quadro 1: Sintomas clínicos associados às moléstias prostáticas

<i>Tenesmo</i>	<i>Disúria</i>	<i>Secreção uretral</i>	<i>Febre/dor/depressão</i>
Hiperplasia		Prostatite bacteriana	Prostatite bacteriana aguda
Cisto	Cisto	Cisto	
Abcesso	Abcesso	Abcesso	Abcesso
Neoplasia	Neoplasia	Neoplasia	Neoplasia

Fonte: Barsanti e Finco, 1992

Os dados provenientes do histórico e sinais clínicos apresentados pelo animal, associados aos obtidos na palpação retal podem ser suficientes para o diagnóstico de algumas alterações, contudo outras técnicas podem ser úteis ou necessárias para a determinação do diagnóstico definitivo, entre elas: exames radiológicos, análise do fluido prostático, urinálise, cultura microbiológica de urina ou sêmen, avaliação bioquímica e hematológica, exame ultra-sonográfico, citopatológico (punção por agulha fina) e histopatológico (biopsia) (Rogers et al., 1986; Barsanti et al., 1980; Barsanti e Finco, 1984; Muzzi et al., 1999).

Tendo em vista a alta incidência de doenças prostáticas no cão, o exame desta glândula deveria ser realizado rotineiramente como parte do exame clínico geral dos animais a fim de se determinar um diagnóstico precoce e preciso, bem como estabelecer prognóstico e tratamento adequados para cada caso (Laufer Amorim et al., 2002). Ao menos, os animais mais velhos

deveriam ser submetidos à palpação retal para avaliação de tamanho, forma, simetria, superfície, consistência, mobilidade e dor (Krawiec, 1989).

A diferenciação entre processos proliferativos de natureza benigna ou maligna, onde a caracterização morfológica das células pode ser difícil, é facilitada pela utilização da imunistoquímica. A presença de células basais nos ácinos prostáticos, por exemplo, é um importante critério na diferenciação dessas lesões, sendo sua caracterização possibilitada por técnicas imunistoquímicas (Cavalcante e Alves, 1999).

A avaliação quantitativa dos componentes celulares em uma amostra de tecido pode ser feita com segurança pela análise morfométrica de imagens. Esta técnica vem sendo utilizada como um método adicional no diagnóstico histopatológico e traz informações precisas sobre os componentes teciduais, mesmo em uma pequena amostra obtida por biopsia (Wells et al, 1993).

2.3 Hiperplasia prostática benigna (HPB)

A HPB é a alteração mais comum da próstata canina, visto que cerca de 100% dos cães não castrados desenvolvem evidências histológicas de hiperplasia com o avançar da idade (Barsanti, 1999).

A ocorrência de HPB tanto no cão quanto no homem relaciona-se com a progressão da idade e com alterações hormonais, envolvendo a testosterona, a dehidrotestosterona (DHT) e o estrogênio (Lowseth et al., 1990; Dorfman e Barsanti, 1995; Murakoshi et al., 1998a).

Em cães da raça Beagle, a HPB está presente em 40% dos animais com 2,5 anos de idade, em mais de 80% daqueles com mais de seis anos e em cerca de 95% dos com mais de nove anos (Barsanti & Finco, 1992). No homem, aproximadamente 20% dos indivíduos com quarenta anos de idade, 70% daqueles com sessenta e 90% dos com setenta anos apresentam HPB (Cotran et al., 1999).

A maioria dos cães afetados não apresenta sinais clínicos. Quando presentes, os sinais mais comuns são secreção uretral hemorrágica,

hematúria, e/ou dificuldade de defecação. À palpação a próstata mostra-se indolor, simetricamente aumentada e de consistência variável (normal ou discretamente irregular). A urina e o sêmen são normais ou contém sangue. A radiografia abdominal confirma o aumento de volume glandular, com deslocamento dorsal do cólon e cranial da bexiga. Ao exame ultra-sonográfico a glândula é difusamente hiperecólica e pode conter cavidades císticas. A cápsula é fina e o parênquima simetricamente aumentado (Barsanti, 1999; Jones et al., 2000).

Embora o aumento de volume prostático seja referido nos casos de HPB, a próstata também pode tornar-se aumentada como resultado de inflamação aguda ou crônica, formação de abscessos, formações císticas e neoplasias (Krawiec, 1989). Portanto volume ou peso prostáticos não são dados suficientes para o diagnóstico de HPB (De Klerk et al., 1979).

No homem, a relação entre o aumento de volume da próstata e a manifestação de sintomas é variável, pois alterações no interior da glândula podem levar a obstrução uretral na ausência de um aumento de volume generalizado (Wilson, 1980).

Sabe-se que a frequência da doença aumenta com a idade, tornando-se extremamente comum em cães velhos, contudo o processo pode iniciar-se aos dois ou três anos de idade (De Klerk et al., 1979; Klausner et al., 1994).

Em relação ao aspecto histológico da HPB, em 1979, De Klerk et al. observaram que dois tipos de HPB podem ser reconhecidos na próstata canina: glandular e cística. A glandular caracteriza-se por projeções elaboradas de epitélio hipertrófico e hiperplásico em direção ao lúmen, gerando aumento de volume do ácino como um todo. Já na forma cística observa-se epitélio hiperplásico do tipo cúbico, com formação de grandes cavidades e aumento na relação estroma/epitélio. Ocasionalmente observaram-se próstatas que pareciam evoluir da hiperplasia glandular para a cística, sugerindo que a primeira possa representar os estágios iniciais da doença.

A HPB humana é nodular, e envolve vários tipos celulares (células musculares lisas, fibroblastos, e epitélio glandular). O processo se inicia pela proliferação de fibroblastos com posterior envolvimento dos outros elementos celulares. Ao final do processo os nódulos apresentam arquitetura tecidual variada, sendo comum a observação de áreas arranjadas de maneiras diferentes na mesma glândula (Wilson, 1980).

Estudos mais recentes em relação a HPB canina concordam que nesta espécie dois padrões histológicos são identificados, denominando de hiperplasia glandular o processo qualificado por aumento simétrico da próstata, onde apenas células secretoras estão proliferando; e de hiperplasia complexa quando caracterizado por aumento assimétrico da glândula, com áreas de hiperplasia glandular intercaladas com focos de atrofia. Os elementos estromais são proeminentes, principalmente em áreas atróficas. Frequentemente observam-se ácinos dilatados, císticos e preenchidos por material eosinofílico. Inflamação crônica e metaplasia escamosa podem estar presentes. Este segundo tipo é tipicamente observado em animais com mais de cinco anos de idade (Juniewicz et al., 1994; Klausner et al., 1994).

Laufer Amorim (2001) descreveu ainda a ocorrência de hiperplasia estromal, caracterizada pela proliferação do estroma fibroso ou muscular, associada com frequência à atrofia glandular e infiltrado inflamatório mononuclear.

A literatura veterinária apresenta dados controversos quanto à ocorrência de hiperplasia ou hipertrofia na próstata de cães com HPB. No entanto, recentemente há relatos que sugerem que ambos estão presentes, observando-se aumento tanto no número quanto no volume de células epiteliais, embora a proliferação seja mais evidente (Olson et al., 1987; Barsanti, 1999).

Com o avanço da idade, em próstatas normais, há proliferação de elementos estromais e glandulares e estes apresentam tanto aumento no número quanto no volume celular (Zirkin e Strandberg, 1984). Já na HPB, acredita-se que os elementos glandulares hipertrofiem, como resultado do

aumento dos grânulos secretórios e conseqüente expansão citoplasmática, enquanto os elementos estromais apenas proliferam (Brendler et al., 1983; Laroque et al., 1995).

Isaacs (1983) notou que a HPB canina é difusa, ocorrendo em toda próstata e envolvendo primariamente elementos glandulares, com menor envolvimento estromal. Entretanto, Lowseth et al. (1990) sugerem que, como no homem, há um maior envolvimento estromal que glandular e este resultado, assim como o fato de ser a única espécie não humana que desenvolve HPB espontaneamente, reforça o uso do cão como modelo experimental para esta doença no homem.

Johnston et al. (2000) definem a HPB em cães como um aumento do crescimento prostático em seus componentes glandulares e estromais.

O fato é que o envolvimento destes componentes pode estar relacionado com a idade do animal, pois em cães jovens, com cerca de 2,5 anos, esta alteração tem maior envolvimento glandular, enquanto que em animais com mais de cinco anos, ainda que não predomine, o envolvimento estromal é marcante, geralmente associado à inflamação crônica (Klausner et al. 1994; Barsanti, 1999).

A variedade de alterações que manifestam-se em uma mesma próstata pode contribuir para as divergências na literatura em relação à ocorrência de hiperplasia estromal. Áreas de hiperplasia glandular podem estar associadas a áreas de atrofia do epitélio secretor, nas quais proliferação de elementos estromais (colágeno e músculo liso) está presente, assim como dilatações císticas. Ainda, a inflamação usualmente acompanha o processo, demonstrando que este complexo envolve diversas alterações na arquitetura normal da glândula (Metten, 1978 *apud* Olson et al., 1987).

Há uma importante diferença na anatomia prostática e na ocorrência da HPB humana e canina. No homem, a próstata é anatomicamente fixada entre a sínfise púbica e o reto e o crescimento hiperplásico ocorre internamente, sobre a uretra, produzindo obstrução urinária. No cão, a próstata não é anatomicamente fixa e o crescimento hiperplásico ocorre externamente,

produzindo obstrução retal e constipação (Lowseth et al., 1990; Jones et al., 2000).

A severidade dos sintomas da HPB humana não está apenas relacionada ao aumento de volume da próstata. O mecanismo de obstrução inclui componente estático onde a hiperplasia, predominantemente estromal, na região interna leva a compressão da uretra; e dinâmico relacionado ao tônus da musculatura lisa, o que parece ser o fator primário na patofisiologia da obstrução intravesical secundária à HPB (Shapiro et al., 1992a; Ishigooka et al., 1996; Ziada et al., 1999). A musculatura lisa corresponde a 39% do volume celular e 51% do volume estromal total nos nódulos de HPB (Ziada et al., 1999).

A história natural da HPB no cão e no homem é similar em alguns aspectos; em ambos desenvolve-se em indivíduos mais velhos e na presença dos testículos. Entretanto difere em outros, visto que no cão o aumento de volume prostático tende a ocorrer externamente e a hiperplasia é predominantemente glandular envolvendo o órgão difusamente (Wilson, 1980).

Vários estudos têm sido realizados na tentativa de elucidar a patogenia da HPB, entretanto seu real mecanismo de formação permanece indeterminado. Três características desta afecção são bem definidas. Primeiro; o crescimento da próstata é mediado por hormônios testiculares, não havendo o desenvolvimento de HPB após a castração. Segundo; é amplamente aceito que a HPB manifesta-se em indivíduos velhos, entretanto, mesmo que as manifestações da doença iniciem-se tarde, o processo patológico que deu origem aos sintomas pode ter se iniciado muitos anos mais cedo. Terceiro; há uma especificidade marcante em relação às espécies acometidas, pois apenas o cão e o homem desenvolvem a doença. Tal fato indica que há diferenças importantes na fisiologia prostática destas duas espécies em relação às outras, que devem ser fundamentais para o desenvolvimento da doença (Wilson, 1980).

Em relação aos fatores hormonais envolvidos na patogenia da HPB, sabe-se que a testosterona, produzida nos testículos, é o principal

andrógeno circulante no organismo, e que dá origem a outros dois hormônios: a DHT e o 17β -estradiol (Klausner et al., 1994).

A DHT é um catabólito da testosterona circulante, sintetizado na próstata pela ação da enzima 5- α redutase tipo 2. Esta enzima está localizada principalmente nas células estromais e pode atuar de forma autócrina ou parácrina, nas células epiteliais glandulares. Em ambos tipos celulares, a DHT liga-se a receptores androgênicos nucleares que sinalizam a transcrição de fatores de crescimento para as células epiteliais e estromais (Figura 3). Ainda, a testosterona pode ligar-se a estes receptores e estimular o crescimento celular, entretanto a DHT é dez vezes mais potente por dissociar-se mais lentamente dos receptores (Klausner et al., 1994; Murakoshi et al., 1998a; Cotran et al., 1999).

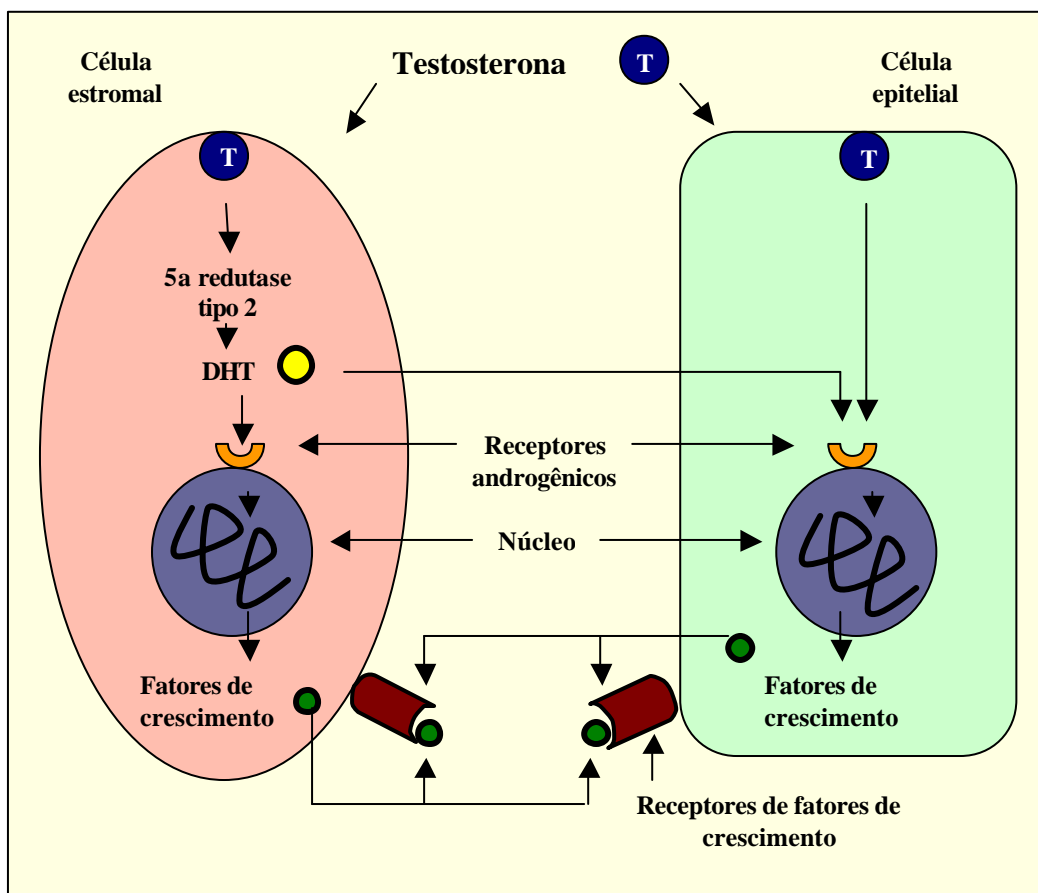


Figura 3: Mecanismo hormonal de estímulo à proliferação celular na próstata (Fonte: adaptado de Cotran et al., 1999).

Embora a maior parte do estrógeno produzido pelo homem seja sintetizada nos testículos, uma porção é gerada pela conversão periférica de androstenediona (hormônio androgênico produzido pelo córtex da adrenal) e testosterona para 17- β estradiol por um sistema de enzimas aromatasas, principalmente no tecido adiposo (Griffiths et al., 1991).

Estudos sobre a dinâmica dos hormônios envolvidos no desenvolvimento prostático normal, assim como nas alterações celulares do tecido hiperplásico têm sido importantes na compreensão de alguns fenômenos hormonais concernentes a HPB.

A diferenciação da próstata durante a embriogênese, o crescimento da glândula até a maturidade sexual e a formação da secreção prostática no indivíduo adulto, estão sob controle de andrógenos testiculares. Tais fatores aliados ao fato da HPB não ocorrer em homens ou cães castrados antes da puberdade, levam a crer que estes hormônios têm um papel importante na patogenia do processo (Wilson, 1980).

Sabe-se que os níveis séricos de testosterona declinam no homem a partir dos 60 anos de idade, entretanto os de DHT não se alteram com o avançar da idade. Outra alteração observada com o envelhecimento é o aumento sérico de hormônios esteróides, ao mesmo tempo em que a testosterona diminui, modificando o equilíbrio normal entre estrógenos e andrógenos (Walsh, 1988).

Em suma, com o avançar da idade os níveis séricos de testosterona diminuem, os de DHT se mantêm e os de estrogênios aumentam. Entretanto, estas alterações iniciam-se dez ou vinte anos depois da fase em que começa o desenvolvimento da HPB no homem, tornando improvável que estejam ligadas à etiologia do processo. Por outro lado, o desenvolvimento da HPB não cessa mesmo em um ambiente de declínio plasmático de testosterona e aumento de estrogênios (Wilson, 1980).

A dinâmica hormonal nos cães ocorre de forma semelhante. Poulet (1985) observou que a DHT eleva-se até o primeiro ano de vida e passa a diminuir em animais com mais de um ano e meio. Klausner et al. (1994)

relatam que os níveis de estrógenos se mantêm, enquanto os de testosterona e DHT declinam com o decorrer da idade. O resultado destas alterações é um ambiente de desequilíbrio nos níveis séricos de estrógenos/andrógenos, assim como ocorre no homem (Barsanti, 1999).

Também nos cães o crescimento prostático continua com o declínio nos níveis de andrógenos, sugerindo que outros fatores possam estimular este crescimento ou sensibilizar as células prostáticas para o efeito de andrógenos, pois é notório que com o aumento da idade a próstata torna-se mais sensível a estes hormônios (Berry et al., 1986; Ziada et al., 1999).

Barsanti (1999) considera que um acúmulo de DHT no interior da glândula possa atuar como um mediador hormonal para o desenvolvimento da hiperplasia. Há ainda evidências de que a atividade da enzima 5 α -redutase seja maior em tecidos com HPB em relação ao tecido normal (Griffiths et al., 1991).

A concentração de DHT no tecido prostático canino é assunto controverso. Klausner et al. (1994) relatam que embora seja observado um aumento no número de receptores androgênicos no tecido prostático de cães com HPB, a concentração de DHT não é maior que em cães normais. Entretanto a maioria dos autores discorda, e acredita que assim como no homem os níveis teciduais de DHT são maiores em cães com HPB que em animais normais (Lloyd et al., 1975; Wilson, 1980; Poulet, 1985; Olson et al., 1987).

Wilson et al. (1975) realizaram uma tentativa de produzir experimentalmente HPB em cães castrados pela reposição de testosterona ou DHT em doses equivalentes aos níveis fisiológicos, contudo não obtiveram resultados positivos.

Com o mesmo objetivo, Walsh e Wilson (1976) utilizaram o hormônio 3 α -androstane-20 α -diol (que no organismo converte-se em DHT) e conseguiram, pela primeira vez, desenvolver HPB em cães castrados. No mesmo estudo, observaram que a associação deste hormônio a pequenas doses de 17 β -estradiol provocava um aumento ainda maior da glândula.

Além de contribuir para o desenvolvimento da HPB, sensibilizando a próstata para andrógenos, pelo aumento do número de receptores androgênicos no tecido, sabe-se que os estrógenos alteram o metabolismo esteróide aumentando a formação de DHT na próstata e estimulam o crescimento de musculatura lisa, assim como a síntese de colágeno estromal (Ewing et al., 1983; Poulet, 1985; Bartsch et al., 1987; Walsh, 1988; Klausner et al., 1994; Epstein, 1997).

Outro papel dos estrógenos no desenvolvimento da HPB está associado à produção de radicais livres, resultado do metabolismo estrogênico, que causam lesões nas células prostáticas seguidas por estímulo de crescimento pela DHT (Winter e Liehr, 1996).

Juniewicz et al. (1994) relatam que após castração e reposição dos níveis normais de testosterona e 17β -estradiol há redução na probabilidade do desenvolvimento de hiperplasia do tipo complexa, e mesmo quando ocorre é menos severa que na forma espontânea, indicando que outros fatores provenientes dos testículos são necessários para o completo desenvolvimento da HPB canina.

Grayhack et al. (1998) estudaram a influência de agentes mitogênicos, não androgênicos, secretados pelos testículos e epidídimos na iniciação do processo de HPB humana. Tais agentes são proteínas sinérgicas a andrógenos, porém independentes destes hormônios. Ao final do experimento concluíram que há inicialmente uma exposição local a estes agentes, estimulando a proliferação das células estromais na região periuretral, sendo este estímulo metabolicamente seletivo e indutivo. Uma vez iniciada, a HPB poderia seguir-se por estímulo proliferativo originado de fatores testiculares, epididimários, assim como de outros órgãos ou da dieta, que poderiam alcançar a próstata pelos ductos ejaculatórios, urina e/ou por via hematogena.

A interação entre os elementos celulares da próstata também tem sido objeto de estudos, principalmente no que concerne ao papel das células

estromais na indução da proliferação de células epiteliais em glândulas normais ou hiperplásicas.

Nos fetos humanos a taxa de proliferação celular é mais alta nas extremidades das ramificações epiteliais que em outras partes do tecido, porém o estroma adjacente não acompanha este crescimento, o que sugere que durante a morfogênese não há influência mútua entre epitélio e estroma no estímulo à proliferação celular (Xue et al., 2001).

Segundo Klausner et al. (1994) os elementos estromais da próstata contribuem para a patogenia da HPB, visto que têm propriedades indutivas semelhantes às do estroma embrionário.

Em experimentos com tecido embrionário de camundongos observou-se que qualquer epitélio embrionário combinado ao mesênquima do *sinus urogenital* diferencia-se em um epitélio prostático característico, enquanto a reconstituição do epitélio do *sinus urogenital* com outro mesênquima não gera diferenciação glandular (Wilson, 1980).

Fatores de crescimento são um grupo de polipeptídeos que percorrem pequenas, porém bem localizadas distâncias, para regular atividades celulares através da interação com receptores específicos. São potentes mediadores da proliferação, diferenciação e apoptose celular (Janulis e Lee, 1999).

O fator de crescimento fibroblástico 7 (FGF7) é produzido exclusivamente por células estromais, sendo o FGF predominantemente expressado em próstatas normais. Receptores de FGF com alta afinidade para o FGF7 foram identificados em células epiteliais da próstata humana, indicando uma ação parácrina deste fator, que induz a proliferação de células epiteliais. Visto que o FGF7 está presente na próstata humana (*in vivo*) e é mitogênico para células epiteliais e estromais (*in vitro*), alterações na expressão destes fatores ou de seus receptores, são potencialmente importantes na doença prostática (Ittman e Mansukhani, 1997).

Endotelinas são substâncias que promovem vasoconstrição e contratilidade da musculatura lisa de vários locais do organismo, inclusive da

próstata, além de serem potentes mitogênicos. A endotelina-1 se expressa nas células epiteliais da próstata canina, as quais mostram também receptores do subtipo B para endotelinas. Isto sugere que a endotelina-1 age como um fator proliferativo autócrino/parácrino em células epiteliais da próstata canina, via receptores para endotelina do subtipo B (Ishizaka et al., 1999).

Lee et al (1997) acrescentam que o controle de crescimento prostático é influenciado por fatores intrínsecos e extrínsecos. Entre os fatores intrínsecos estão os fatores de crescimento e entre os extrínsecos destacam-se; a presença de testículos funcionais, a produção de andrógenos por órgãos como a adrenal, fatores ambientais e fatores genéticos.

Dentre os fatores ambientais, a presença de infiltrado inflamatório não relacionado a microorganismos, principalmente linfocitário, deve ser considerado como um fator somático para o desenvolvimento da HPB, visto que estas células podem produzir interleucinas e estimular a formação de matriz pela síntese de colágeno, assim como promover a proliferação das células estromais e epiteliais da próstata.

De Marzo et al. (1999) citam que a reação inflamatória crônica presente em um tecido pode aumentar o risco de desenvolvimento de carcinomas e que no que concerne à próstata, anormalidades na proliferação de células epiteliais têm sido observadas concomitantes a este fator.

No que diz respeito aos fatores de crescimento, dois deles são de grande importância no entendimento do crescimento prostático, são eles fator de crescimento de keratinócitos (KGF) e o fator de crescimento transformante β (TGF- β) (Janulis e Lee, 1999).

O KGF é um fator mitogênico e está predominantemente localizado nos fibroblastos. O TGF- β é um potente inibidor do epitélio prostático, induzindo a apoptose e está presente nas células musculares lisas. As células epiteliais da próstata possuem receptores para estes dois fatores de crescimento indicando que na glândula normal este mecanismo está em harmonia (Janulis e Lee, 1999).

Uma das teorias em relação à patogenia da HPB sugere um distúrbio no equilíbrio entre proliferação e morte celular, causado por fatores hormonais, fatores de crescimento e oncogenes (Ziada et al., 1999).

O desequilíbrio nos níveis de andrógenos prostáticos altera a interação entre epitélio e estroma, visto que as células epiteliais respondem a estímulos de fatores de crescimento produzidos pelas estromais. Esta alteração pode resultar em um descontrole na proliferação, migração e morte celular, tornando-se um dos fatores que contribuem no desenvolvimento da HPB (Janulis e Lee, 1999).

Embora a HPB esteja tipicamente associada à proliferação de células epiteliais, pode também ser evidenciada pela diminuição da taxa de morte celular. Células prostáticas normais proliferam, diferenciam-se e morrem, mas se a diferenciação for bloqueada, segue-se uma diminuição da taxa de morte celular. Dando suporte a esta hipótese, Klausner et al. (1994) observaram que a síntese de DNA e a taxa de renovação celular estavam diminuídas em cães com HPB experimental.

Além do crescimento de elementos celulares, deve-se levar em consideração a proliferação de matriz extracelular em próstatas hiperplásicas. A exemplo do homem, Mariotti et al. (1982) notaram que o cão desenvolve hiperplasia verdadeira, representada pelo crescimento anormal de componentes celulares bem como da matriz extracelular (matriz colágena), sendo um modelo útil no estudo das alterações proliferativas em próstatas humanas.

O papel das células basais na HPB não é ainda bem definido, entretanto sabe-se que sua presença é um dos fatores que determinam a benignidade do processo (Cavalcante e Alves, 1999).

Várias linhas de pesquisa sugerem que as células secretoras se originam das células basais. Reforçando esta hipótese, estudos imunoistoquímicos mostraram que a maior taxa de proliferação no epitélio de próstatas normais está entre células basais (De Marzo et al., 1999).

Em relação à utilização do cão como modelo experimental de HPB para o homem, a interpretação mais otimista assume que o modelo é válido baseando-se no aspecto endócrino da patogenia, que é similar, e considerando que as diferenças histológicas tenham um papel secundário (Wilson, 1980).

Bartsch e Rohr (1980) estudando a composição histológica de próstatas caninas e humanas normais e hiperplásicas observaram que na humana normal o componente estromal representa aproximadamente 50% da glândula, enquanto na hiperplásica constitui 60% do total. Em contrapartida, a próstata canina normal era composta por 38% de estroma, enquanto na hiperplasia apenas 25% da glândula continha este componente. Apesar disso, consideraram o cão como modelo experimental importante, devido às similaridades entre as duas espécies no que diz respeito à história natural e influência hormonal no desenvolvimento da HPB.

Por outro lado, a ausência de células musculares lisas ativadas na HPB canina, espontânea ou experimentalmente induzida por esteróides, foi considerada por Bruengger et al. (1983) uma diferença importante entre a doença nesta espécie e no homem, limitando o uso do cão como modelo experimental para o desenvolvimento de agentes terapêuticos, assim como no estudo da etiologia da HPB humana, a qual mostra-se primariamente uma doença estromal.

O diagnóstico definitivo da HPB é feito por biópsia, entretanto o tratamento pode ser instituído se o diagnóstico presuntivo for feito em cães sintomáticos. Para tanto deve-se avaliar o histórico do animal, realizar um exame clínico completo e requerer exames complementares como: exame hematológico, urinálise, cultura da urina, análise do fluido prostático, radiografia abdominal e ultra-sonografia. Pelo fato da maioria das alterações prostáticas estarem acompanhadas da hiperplasia em animais velhos, pode ser difícil a distinção entre elas (Rogers et al., 1986; Barsanti, 1999; Muzzi et al., 1999).

O tratamento padrão e também mais efetivo para a hiperplasia prostática canina é a castração, e só deve ser instituído se sinais clínicos

estiverem presentes. A involução da glândula começa em poucos dias e pode-se observar 50% de redução em três semanas. Se a involução esperada não ocorrer deve-se investigar a presença de outras alterações, como neoplasias ou abscessos. Caso a castração não seja aceita pelo proprietário, um tratamento medicamentoso pode ser instituído. A utilização de estrógenos, flutamida, acetato de delmadiona, finasterida e progestógenos é citada (Klausner et al., 1994; Barsanti, 1999).

Com uso de inibidores de α -5 redutase, que levam a diminuição na formação de DHT na próstata, obtém-se uma diminuição no componente glandular de próstatas caninas normais e hiperplásicas, assim como no componente estromal de próstatas hiperplásicas. (Laroque et al., 1995).

Murakoshi et al. (1998a) observaram marcada atrofia do epitélio da próstata canina com a utilização de inibidores de 5α -redutase, assim como diminuição de sua atividade secretora. A reação imunoistoquímica para receptores nucleares de andrógenos foi marcadamente diminuída tanto em células epiteliais quanto estromais da próstata de cães tratados, achados estes associados a dados de ultraestrutura (Murakoshi et al., 1998b).

No homem com HPB, o tratamento com inibidores de 5α -redutase resulta na redução do componente epitelial da próstata, principalmente na região interna da glândula, porém não altera o componente estromal (Marks et al., 1997).

O uso de alfa-bloqueadores é citado por Rocha et al. (1998) como efetivo na redução dos sintomas do trato urinário, apresentados pela maioria dos homens, uma vez que até 50% da pressão na uretra prostática ocorre devido à tonicidade da musculatura lisa, mediada por receptores alfa-adrenérgicos.

2.4 Morfometria em próstatas normais e hiperplásicas

A avaliação estereológica é de grande valor para um melhor entendimento da patomorfogênese da HPB e dos mecanismos mediados por hormônios no crescimento anormal da próstata (Rohr e Bartsch, 1980).

Poucas informações estão disponíveis sobre as alterações morfológicas específicas nas células prostáticas do cão que acompanham o avanço da idade e a relação dessas alterações com o estágio da doença (Zirkin e Strandberg, 1984).

Morfologicamente, a próstata pode ser dividida em dois componentes principais: estromal e glandular. A porção glandular pode ser subdividida em lúmen acinar e epitélio glandular. A porção estromal é composta de tecido conjuntivo, músculo liso, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos. (Bartsch et al., 1979).

O padrão histológico da HPB vem sendo estudado no homem, visto que numerosas alternativas para o tratamento de indivíduos com obstrução do fluxo urinário, secundária a HPB, têm sido desenvolvidas na última década. A terapia médica para o tratamento da HPB inclui inibidores de 5- α -redutase e agentes bloqueadores seletivos de receptores α -1-adrenérgicos. Pacientes com o componente estático (células epiteliais) mais desenvolvido podem responder melhor ao tratamento com inibidores de 5- α -redutase, enquanto aqueles com predomínio do dinâmico (estromal) respondem melhor a bloqueadores seletivos de receptores α -1-adrenérgicos. A análise morfométrica de amostras biopsiadas pode, mesmo que não de forma idêntica, representar o nódulo hiperplásico e fornecer dados suficientes do padrão histológico para a escolha do tratamento mais adequado (Deering et al., 1994; Zlotta et al., 1996).

Com o uso de inibidores de 5- α -redutase em cães, Laroque et al. (1995) observaram por análise morfométrica que a atrofia glandular foi geralmente mais severa na região periuretral, caracterizada por redução no tamanho dos lúmens glandulares, das projeções papilares e das células epiteliais.

O exame histológico convencional (qualitativo) da próstata humana parece mostrar grande variação, não apenas entre glândulas, mas também em diferentes partes da mesma glândula. Marks et al. (1994) desenvolveram um estudo quantitativo para avaliar essa variação e

observaram que embora maiores diferenças na composição tecidual de próstatas humanas com HPB possam existir entre diferentes glândulas, individualmente o processo é até certo ponto simétrico e a heterogeneidade da HPB não é tão pronunciada como se acreditava quando alterações secundárias são excluídas.

Os resultados deste estudo indicaram ainda uma excelente correlação entre amostras biopsiadas e a glândula como um todo, o que sugere que as diferenças histológicas quantitativas entre glândulas podem ser seguramente diagnosticadas pela análise morfométrica de amostras biopsiadas. O monitoramento por biopsia de pacientes em tratamento para HPB também se torna mais seguro com a utilização desta técnica (Marks et al., 1997).

O estudo morfométrico comparativo de amostras obtidas por biopsia, ressecção transuretral e prostatectomia aberta demonstrou resultados semelhantes na porcentagem de estroma indicando que este dado pode ser avaliado com segurança através da biopsia prostática (Deering et al., 1994).

Nódulos hiperplásicos de pacientes com HPB sintomática possuem maior quantidade de estroma, menor de epitélio e proporção similar de lúmen glandular, que os de pacientes com HPB assintomática. (Shapiro et al., 1992b).

Lepor et al. (1990) relatam que a severidade da obstrução do fluxo urinário e eficiência clínica de α -1-bloqueadores em indivíduos com HPB sintomática dependem da quantidade de músculo liso no tecido. A próstata humana contém maior proporção de músculo liso e geralmente maior tensão na presença de α -1 agonistas que o cão (Lepor et al., 1992). Ainda, há maior concentração de receptores α -1-adrenérgicos no estroma dos nódulos hiperplásicos que no estroma restante da próstata humana, relação não encontrada no cão (Lepor et al., 1992; Kurimoto et al., 1998). Estes dados justificam a maior incidência de obstrução urinária no homem.

Zirkin e Strandberg (1984) observaram que em próstatas não acometidas pela HPB, a densidade de tecido epitelial é menor e a de tecido

estromal maior em cães jovens (0,7 a 2,3 anos) que em adultos e idosos (2,4 a 9,2 anos). Em relação às diferenças entre as regiões periférica e central, a análise morfométrica forneceu evidências de que a densidade de músculo liso na região periférica é cerca de 1,6 vezes maior que na região central (Lepor et al., 1992).

Na próstata humana normal, a camada interna tem predomínio de tecido estromal e a externa de tecido epitelial (Bartsch et al., 1979). Rohr e Bartsch (1980) observaram aumento de aproximadamente quatro vezes na quantidade absoluta de tecido estromal em glândulas com HPB em relação às normais, enquanto o componente epitelial aumentava quase duas vezes. Na mesma linha de pesquisa, Bartsch et al. (1987) demonstraram que não há diferença significativa na densidade absoluta de células epiteliais, porém notou-se um significativo aumento na densidade absoluta de estroma. Esses dados levam a crer que a HPB humana é um processo primariamente estromal. Entretanto, Shapiro et al. (1997) relatam que tanto próstatas normais quanto hiperplásicas têm cerca de 80% de estroma e que a proporção estroma-epitélio permanece constante em crianças, adultos normais e adultos com HPB.

Em cães, a análise morfométrica permitiu a observação de que o aumento de volume de próstatas com HPB resulta da proliferação de tecido epitelial e estromal, com aumento no número e tamanho das células epiteliais. Proporcionalmente, o volume de tecido glandular e estromal foi semelhante em próstatas normais e hiperplásicas, embora a densidade de lúmem glandular não tenha sido mensurada isoladamente (Zirkin e Strandberg, 1984).

Lowseth et al. (1990) sugeriram que o aumento no volume absoluto de tecido glandular está primariamente relacionado a dilatações císticas do lúmem acinar e não é resultado do aumento absoluto no volume do epitélio glandular, ressaltando a importância da mensuração do lúmem glandular isoladamente.

Estudos morfométricos realizados em próstatas humanas com HPB, objetivando avaliar a prevalência dos diferentes componentes celulares, obtiveram os seguintes resultados: tecido fibroso 47%, músculo liso 8%, tecido

vascular 3% e tecido glandular 18% (Siegel et al.,1990); tecido fibroso 54%, músculo liso 22%, epitélio glandular 16% e lúmem acinar 9% (Shapiro et al., 1992a). No primeiro, a coloração utilizada foi hematoxilina e eosina e a proporção de músculo liso representou 12% do estroma. No segundo técnicas de imunistoquímica foram utilizadas e a proporção de músculo liso representou 29% do estroma. Essa diferença pode ser explicada pela dificuldade de se identificar músculo liso pela coloração de hematoxilina e eosina e demonstra a utilidade da imunistoquímica na realização destes estudos.

A análise morfométrica pode também ser realizada em biopsias prostáticas de pacientes em tratamento para HPB, no sentido de avaliar-se a efetividade da terapia. Com este objetivo, Svindland et al. (1996) avaliaram biopsias de 41 homens em terapia antiandrogênica. As porcentagens médias de tecido estromal, epitelial e de lúmem glandular obtidas foram comparadas com os resultados da avaliação nas biopsias realizadas antes do início do tratamento. O estudo demonstrou reduções absolutas de 27, 77 e 40% no volume estromal, epitelial e luminal, respectivamente, comprovando a eficácia da terapia.

Experimentalmente a morfometria foi utilizada para examinar o efeito do acetato de ciproterona (CA) em cães com HPB induzida por andrógenos isoladamente, e associados a estrógenos. Os animais foram castrados, a HPB induzida, e o tratamento realizado. A avaliação morfométrica permitiu concluir-se que glândulas estimuladas somente com andrógenos apresentavam aumento do número de células glandulares, enquanto aquelas estimuladas com andrógenos associados a estrógenos mostraram aumento absoluto do estroma. Ainda, o tratamento com CA reduziu o volume prostático em ambos os grupos, porém com aumento do volume das células musculares lisas (Tunn et al., 1980).

2.5 Imunoistoquímica em próstatas normais e hiperplásicas

A imunoistoquímica ao combinar técnicas anatômicas, imunológicas e bioquímicas, permite localizar componentes tissulares “in situ” mediante o emprego de anticorpos específicos e moléculas marcadoras. A marcação de anticorpos com diversas enzimas que ao reagir com o substrato formam um produto final colorido, por exemplo peroxidase-anti-peroxidase, criou inúmeras possibilidades, ao permitir localizar antígenos específicos nas células e tecidos fixados e processados pelos métodos histológicos convencionais (Gimeno, 1995).

O conhecimento do padrão de reatividade dos diferentes marcadores imunoistoquímicos veio ao encontro da necessidade do patologista em identificar processos proliferativos de natureza maligna ou benigna. Nesse sentido, é importante o reconhecimento do padrão normal de imuno-reatividade das células que compõe o tecido prostático. No homem, o perfil normal de positividade das células basais é o das citoceratinas (CK) 5, 10, 11, 13, 14, 16 e 19. As células luminais expressam CK 7, 8, 18 e 19, Antígeno Prostático Específico (PSA) e Fosfatase Ácida Prostática (PAP) (Cavalcante e Alves, 1999).

O reconhecimento das células basais da próstata pode ser difícil devido ao seu formato alongado, semelhante ao dos fibroblastos do estroma adjacente, contudo sua identificação é importante uma vez que esta camada celular está fragmentada no adenocarcinoma prostático, enquanto mostra-se íntegra na HPB (Epstein, 1997).

A próstata humana secreta várias glicoproteínas. Nos últimos anos, duas delas têm sido usadas com frequência para a identificação imunológica de neoplasias; a fosfatase ácida prostática (PAP) e o antígeno prostático específico (PSA). Recentemente uma protease secretada pela próstata canina (antígeno prostático específico canino) foi isolada e caracterizada. Ela é dependente de andrógenos e está presente em uma concentração de 10mg/ml no fluido seminal canino. No cão, o epitélio secretor de próstatas normais e hiperplásicas cora fortemente para PSA, fosfatase ácida

prostática (PAP) e antígeno prostático específico canino (CPSP). No epitélio neoplásico, CPSP mostra alta especificidade, porém baixa sensibilidade, o que indica que não é um marcador adequado para a rotina diagnóstica de adenocarcinoma prostático (McEntee et al., 1987).

Um outro marcador vem demonstrando alta sensibilidade e especificidade para células basais da próstata humana. Trata-se do clone 34 β -E-12, uma pancitoceratina de alto peso molecular, cuja expressão é ausente em células secretoras (Helpap, 1998).

Em geral, o tecido prostático humano benigno cora uniformemente para PSA e PAP, com reatividade concentrada na porção apical do citoplasma. Nesse tecido, a imuno-reatividade para PSA e PAP é mais intensa e homogênea que no carcinoma. Um estudo revela que os níveis teciduais de PSA e PAP no homem são baixos do nascimento aos três meses de idade; dos três aos seis meses ocorre o primeiro pico. Entre seis meses e dez anos de idade ocorre um declínio e aos dez anos começa a aumentar novamente, atingindo um segundo pico entre 15 e 18 anos de idade. Os picos coincidem com os observados na concentração de andrógenos séricos (Epstein, 1993).

Apesar da quantidade de anticorpos disponíveis atualmente, a avaliação da maioria das lesões prostáticas ainda é baseada em métodos histológicos básicos (hematoxilina e eosina), sendo a imunoistoquímica necessária em cerca de 10% dos casos (Helpap, 1998).

3. Material e Métodos:

3.1 Obtenção e processamento do material:

Foram coletadas as próstatas de 100 cães, sem restrições quanto à raça, idade ou história clínica de afecção no trato gênito-urinário, encaminhados para necropsia ao Serviço de Patologia Veterinária da FMVZ – UNESP, Campus de Botucatu. Registrou-se idade, raça e peso corpóreo dos animais e após os procedimentos rotineiros de necropsia, as próstatas foram coletadas, avaliadas e acondicionadas em frascos contendo solução de formol tamponado a 10%, onde permaneceram por 48 horas.

Após este período, realizaram-se cortes transversais, de forma que cada fragmento incluísse amostras dos dois lobos prostáticos, correspondendo às porções cranial, média e caudal (Figura 4). Nos casos de glândulas muito volumosas, procedeu-se a secção na região do septo interlobular originando seis fragmentos de cada órgão (Figura 5A). Se ainda assim não coubessem nos cassetes de inclusão eram novamente divididos em porção dorsal e ventral originando doze fragmentos (Figura 5B).

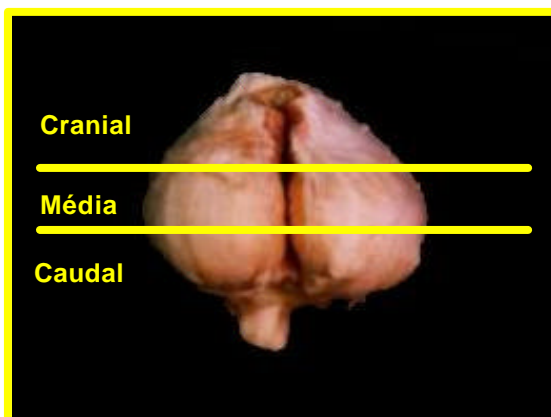


Figura 4: Representação dos cortes realizados nas glândulas dividindo-as em três porções (cranial, média e caudal).

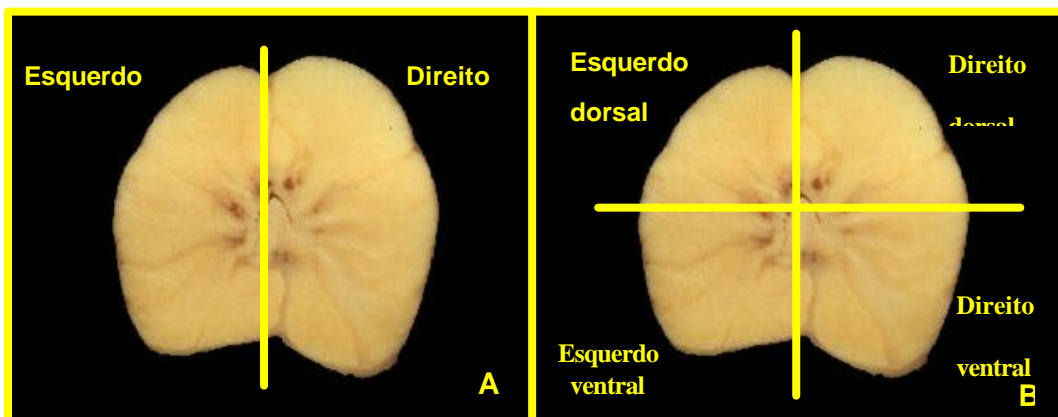


Figura 5: Representação dos cortes realizados nas glândulas na região do septo interlobular (A), ou subdividindo-as em porção dorsal e ventral (B) quando necessário.

O material foi então processado de acordo com a técnica utilizada no Laboratório de Histopatologia do Serviço de Patologia Veterinária da FMVZ, Campus de Botucatu. Cortaram-se os blocos de parafina em micrótomo, com espessuras entre 3 e 4 μm , os cortes foram colocados em lâminas histológicas e permaneceram 24 horas em estufa com temperatura entre 55 e 58° C.

3.2 Avaliação morfológica das próstatas

Depois de coletadas, as próstatas foram pesadas em balança analítica de duas casas decimais. Em seguida mensurou-se comprimento, largura e altura com paquímetro. Determinou-se o volume das glândulas pelo deslocamento de água após sua introdução em provetas graduadas de 10, 50, 100 ou 500cc (de acordo com o tamanho) contendo água até a metade da capacidade máxima. Os dados referentes às mensurações individuais estão dispostos em anexo (anexo A).

3.3 Avaliação histopatológica das próstatas e registro dos dados

A avaliação histopatológica das glândulas deu-se pelas colorações de Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricrômio de Masson. Os achados foram registrados em protocolos previamente elaborados, os quais continham

as possibilidades diagnósticas encontradas com maior frequência na literatura, adaptadas de Ladds (1993) e Dorfman e Barsanti (1995), cujo modelo encontra-se em anexo (Anexo B). De modo geral as glândulas foram classificadas em três grupos principais: imaturas, maduras (subdivididas em normais ou com prostatite) e hiperplásicas; adequando-se os achados aos critérios histológicos propostos por Zirkin e Strandberg (1984). Avaliou-se ainda a distribuição anatômica da hiperplasia.

Após esta classificação, 15 próstatas imaturas, oito normais e 15 hiperplásicas foram selecionadas para posterior estudo imunoistoquímico e morfométrico. O principal critério de seleção utilizado foi o estado de conservação da glândula, avaliado microscopicamente pela coloração de HE, eliminando-se as que apresentassem autólise.

3.4 Padronização da técnica de imunoistoquímica:

Para padronização da técnica de imunoistoquímica, blocos de parafina de próstatas imaturas, normais e hiperplásicas foram cortados em micrótomo com espessura de 3 μm e passados para lâminas de vidro, previamente tratadas com Organosilano (Sigma A3648), com o objetivo de promover a adesão dos cortes às lâminas, e estas colocadas em estufa por 24 horas com temperatura entre 55 e 58° C.

Depois de retiradas da estufa foram colocadas em uma cuba de vidro vertical para desparafinização. A cuba foi completada com xilol e colocada por trinta minutos em estufa a 55° C. Em seguida o xilol foi trocado e a cuba colocada em estufa por vinte minutos a 37° C. As lâminas foram então retiradas da cuba, secas com papel filtro e colocadas em outra limpa para hidratação na qual foram passadas três vezes em álcool absoluto (cinco minutos em cada), uma vez em álcool 95° (cinco minutos) e uma vez em álcool 85° (cinco minutos). A fim de retirar-se os pigmentos de formol, as lâminas foram mantidas em hidróxido de amônia a 10% em etanol por dez minutos. Posteriormente, para hidratação do material, as lâminas foram lavadas em água corrente por dez minutos e passadas duas vezes em água destilada.

Iniciou-se então a recuperação antigênica, com o propósito de liberar os epítomos antigênicos do tecido, bloqueados pela solução fixadora (formol tamponado a 10%). A técnica foi feita com solução de citrato 10mM (1000ml de água destilada e 1,921g de ácido cítrico monohidratado de peso molecular 192,13 com pH 6,0, ajustado em medidor de pH com hidróxido de sódio). Esta solução foi colocada em uma cuba de vidro horizontal na qual as lâminas foram introduzidas paralelamente e incubadas em forno de microondas por três vezes de cinco minutos cada. Feito isso, o material foi colocado em temperatura ambiente e, após o arrefecimento, lavado por dez minutos em água corrente e passado duas vezes em água destilada.

A fase seguinte consistiu do bloqueio da peroxidase endógena por incubação das lâminas em uma solução composta por 50ml água oxigenada 20 volumes e 50ml de água destilada durante trinta minutos. Quando completavam quinze minutos a solução era trocada por uma nova (preparada no momento do uso). Em seguida o material foi lavado por dez minutos em água corrente, passado duas vezes em água destilada e banhado duas vezes, de cinco minutos cada, em TRIS (12g de Trizma Base Sigma cód. T1503, 17g de Cloreto de Sódio, diluídos em 2000ml de água destilada, acertando-se o pH em 7,4 com ácido clorídrico).

Utilizaram-se os anticorpos primários Citoceratina 19 (Dako clone BA17), Antígeno Prostático Específico - PSA (Dako policlonal) e Citoceratina de Alto Peso Molecular (Dako clone34βE12) diluídos em solução de BSA a 5% (Albumina Bovina – Sigma – cód. A7906 diluída em TRIS). Inicialmente os anticorpos foram diluídos em concentrações indicadas para uso humano, com posterior otimização. Os melhores resultados advieram utilizando-se 1:100, 1:500 e 1:100, para Citoceratina 19, PSA e Citoceratina de alto peso molecular, respectivamente. Após diluição, cobriram-se os cortes com os anticorpos primários e incubaram-se em câmara úmida por 18 horas (“*over-night*”) à temperatura de 4°C.

Após este período foram lavados em TRIS (dois banhos de cinco minutos cada) e incubados com anticorpo biotilado e solução de avidina-

biotina-peroxidase do kit LSAB (Dako K0690), por 30 minutos cada reação, em câmara úmida, à temperatura ambiente. Entre as duas reações e ao final da segunda lavaram-se as lâminas com TRIS por duas vezes de cinco minutos cada.

Para visualização da reação, as lâminas foram banhadas em uma solução de DAB (3.3'diaminobenzidina Sigma cód. 5637) (0,025g de DAB diluído em 100ml de TRIS, filtrado e acrescido de 600µl de água oxigenada 20 volumes) durante três minutos em local escuro e logo após em TRIS, para interrupção da reação. Em seguida, foram lavadas em água corrente por dez minutos e receberam dois banhos de água destilada.

As lâminas foram contra-coradas com Hematoxilina de Mayer por oito minutos, lavadas em água corrente por dez minutos, passadas uma vez em água destilada e desidratadas. Esta etapa consistiu em uma passagem em álcool 85°, uma em álcool 95°, três em álcool absoluto e três em xilol, cada etapa durando cinco minutos. Cobriram-se as lâminas com lamínulas, aderindo-as com resina sintética (Permunt – Fisher Scientific – SP 15-500).

3.5 Estudo imunoistoquímico

Após a padronização da técnica 15 glândulas imaturas, oito normais e 15 hiperplásicas foram submetidas à técnica imunoistoquímica, anteriormente mencionada, com os anticorpos primários Antígeno Prostático Específico - PSA (Dako policlonal) e Citoceratina de Alto Peso Molecular (Dako clone34βE12). Para tal procedimento utilizaram-se as lâminas referentes à porção média das próstatas, cujo número variou de acordo com o volume da glândula (uma, duas ou quatro lâminas).

As lâminas foram analisadas em sua totalidade por microscopia óptica e a marcação mensurada por avaliação semiquantitativa, atribuindo-se os escores definidos na Tabela 1.

Tabela 1: Escores aplicados na análise da marcação imunoistoquímica.

Escore	Significado
-	Marcação ausente
+	Marcação positiva em menos de 30% das células
++	Marcação positiva em 30 a 70% das células
+++	Marcação positiva em mais de 70% das células

O escore foi determinado avaliando-se o percentual de positividade dentre as células que poderiam ser reativas a cada um dos anticorpos utilizados. Os escores atribuídos a cada glândula estão relacionados no anexo C.

3.6 Estudo morfológico

Procedeu-se a avaliação do tecido prostático com o uso de um sistema computadorizado de análise de imagens composto por um microscópio óptico (Leica – DMLD) acoplado a uma câmera de vídeo (Sony – DXV151A) que transfere as imagens para o monitor (Siemens Wixdorf – MCM1706NTD) de um microcomputador (Siemens – Scenic Pro) equipado com um software de análise de imagens (Zeiss - KS 300/3.0).

A análise morfológica quantitativa foi realizada em 15 glândulas imaturas, 8 normais e 15 hiperplásicas previamente selecionadas. Optou-se por fazer a mensuração da porção média das glândulas, avaliando-se o número de lâminas confeccionadas para esta porção.

A análise foi feita nas lâminas coradas pelo Tricrômio de Masson, uma vez que esta coloração permitiu a diferenciação entre os componentes estromais (tecido conjuntivo e musculatura lisa) no mesmo corte histológico, além de possibilitar a identificação do tecido epitelial (Figura 6).

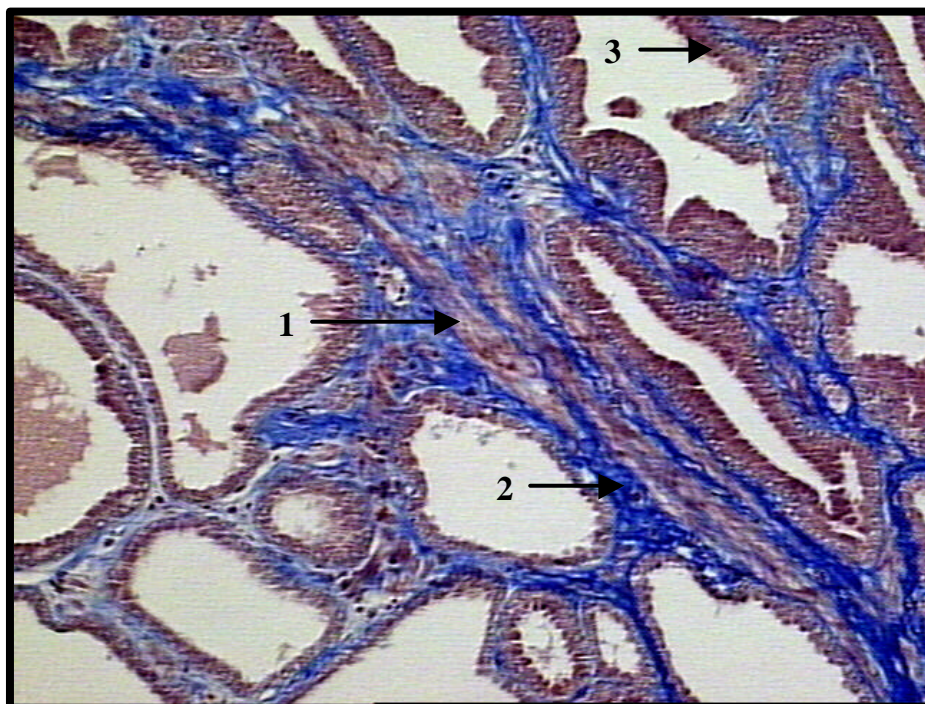
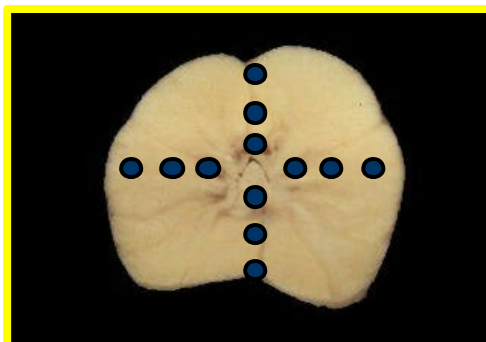


Figura 6: Fotomicrografia de tecido prostático evidenciando a distinção entre tecido muscular (1), conjuntivo (2) e epitelial (3). Tricrômio de Masson, 200X.

A fim de obter-se a representatividade de toda porção média, no aumento de 200X, foram selecionados 12 campos, sendo três da porção dorsal, três da ventral (em ambas evitando a região do septo interlobular), três da lateral esquerda e três da lateral direita, partindo da região periuretral em direção a região periférica (Figura 7). Desta forma, os campos 1, 4, 7 e 10 corresponderam a porção periuretral; os campos 2, 5, 8 e 11a central; e os campos 3, 6, 9 e 12 a periférica.

Figura 7: Representação da distribuição dos campos selecionados para análise morfométrica.



A região a ser mensurada foi contornada manualmente com o uso de uma mesa digitalizadora (Genius – Wizard Pen Series), fornecendo a área percentual correspondente ao componente epitelial total (CEpT), ao lúmen glandular (LG) e à musculatura lisa (ML) (Figuras 8, 9 e 10).

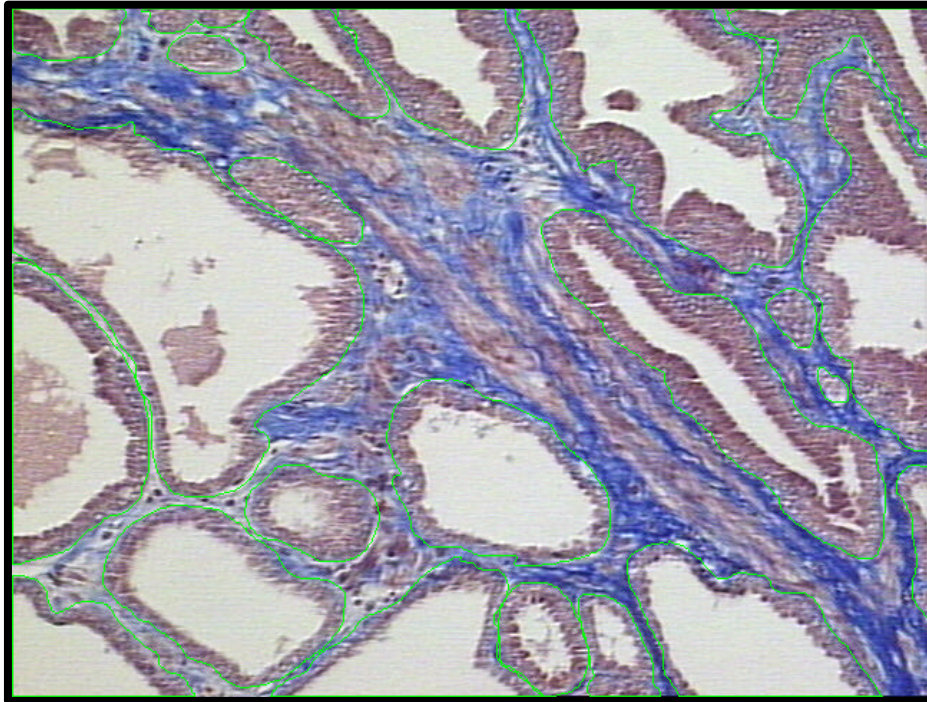


Figura 8: Fotomicrografia evidenciando a área de componente epitelial total (epitélio e lúmen glandular) contornada por linha verde. Tricrômio de Masson, 200X.

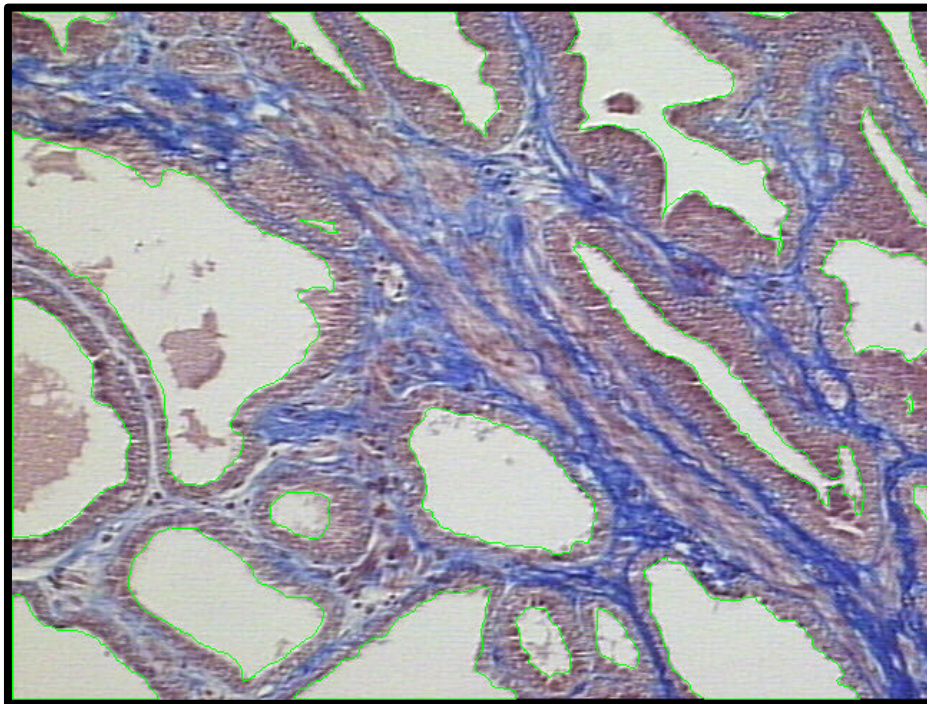


Figura 9: Fotomicrografia evidenciando a área de lúmem glandular contornada por linha verde. Tricrômio de Masson, 200X.

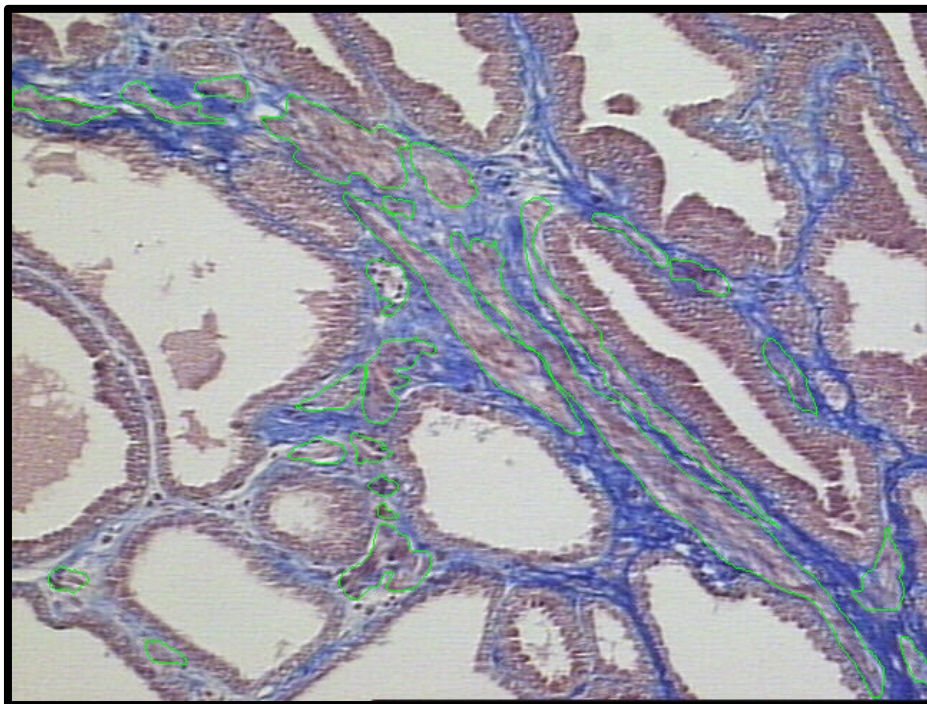


Figura 10: Fotomicrografia evidenciando a área de musculatura lisa contornada por linha verde. Tricrômio de Masson, 200X.

A área percentual relativa ao epitélio glandular (EG) resultou do CEpT subtraído do LG. O resultado da soma do CEpT e ML subtraído da área total do campo forneceu a área percentual de tecido conjuntivo (TC). Determinou-se a área percentual correspondente ao componente estromal total (CEsT) pela soma de TC e ML.

Desta forma em cada campo selecionado obteve-se valores referentes à área percentual de CEpT, EG, LG, CEsT, TC e ML.

3.7 Análise estatística

Os dados obtidos pela análise morfometria foram tabulados, subdividindo-se os valores obtidos para cada componente tecidual (CEpT, EG, LG, CEsT, TC e ML) em relação à região analisada (periuretral, central ou periférica) incluindo-se todos as próstatas de um mesmo grupo (imaturas, normais ou hiperplásicas) para análise estatística.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o valor mediano de cada componente tecidual (CEpT, EG, LG, CEsT, TC e ML) na região periuretral, central ou periférica de próstatas imaturas, normais ou hiperplásicas.

Para determinar se houve diferença significativa dos valores obtidos para um mesmo componente tecidual (CEpT, EG, LG, CEsT, TC ou ML) em uma determinada região (periuretral, central ou periférica) entre diferentes grupos (imaturas, normais e hiperplásicas) foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para amostras não pareadas.

A verificação de diferença estatística dentro de um mesmo grupo (imaturas, normais ou hiperplásicas) e mesma região (periuretral, central ou periférica), entre os seguintes componentes teciduais: CEpT x CEsT; EG x LG; TC x ML; foi realizada pelo teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras pareadas.

Para investigar se houve diferença significativa, comparando-se o mesmo componente tecidual (CEpT, EG, LG, CEsT, TC ou ML), entre as regiões (periuretral, central e periférica) dentro de um mesmo grupo (imaturas,

normais ou hiperplásicas) empregou-se o teste não paramétrico de Friedman para amostras pareadas.

Para todos os testes o nível de significância considerado foi $p < 0,05$.

4. Resultados

4.1 Avaliação morfológica das próstatas:

O peso médio de glândulas imaturas, maduras normais e maduras com prostatite correspondeu a 0,16; 0,47 e 0,78g/Kg de peso vivo (P.V.) dos animais, respectivamente. Próstatas acometidas por hiperplasia estromal tinham em média 0,62g/kg P.V. dos animais, com hiperplasia epitelial cística 1,06g/Kg P.V.; hiperplasia epitelial papilífera 1,13g/Kg P.V.; e aquelas com hiperplasia complexa 1,56g/Kg P.V. (Tabela 2).

Tabela 2: Peso prostático em relação ao peso corpóreo do animal (g/Kg P.V.).

Classificação	Média ± desvio-padrão
Imaturas	0,16 ± 0,10
Maduras normais	0,47 ± 0,22
Maduras com prostatite	0,78 ± 0,64
Hiperplasia estromal	0,62 ± 0,49
Hiperplasia epitelial cística	1,06 ± 0,90
Hiperplasia epitelial papilífera	1,13 ± 0,59
Hiperplasia complexa	1,56 ± 1,52

O volume prostático médio em relação ao peso corpóreo dos animais (cc/Kg P.V.) foi de 0,14cc/Kg P.V. em glândulas imaturas; 0,46cc/Kg P.V. nas normais; 0,75cc/Kg P.V. naquelas com prostatite; 0,60cc/Kg P.V. nas com hiperplasia estromal; 1,0cc/Kg P.V. com hiperplasia epitelial cística; 1,07cc/Kg P.V. com hiperplasia epitelial papilífera; e 1,52cc/Kg P.V. nas com hiperplasia complexa (Tabela 3).

Tabela 3: Volume prostático em relação ao peso corpóreo do animal (cc/Kg P.V.).

Classificação	Média ± desvio-padrão
Imaturas	0,14 ± 0,08
Maduras normais	0,46 ± 0,19
Maduras com prostatite	0,75 ± 0,61
Hiperplasia estromal	0,60 ± 0,49
Hiperplasia epitelial cística	1,0 ± 0,83
Hiperplasia epitelial papilífera	1,07 ± 0,56
Hiperplasia complexa	1,52 ± 1,45

Tanto peso quanto volume prostático aumentaram gradativamente entre os grupos de glândulas imaturas, normais e hiperplásicas. Entre os tipos de hiperplasia houve também um aumento nos valores médios de peso e volume em relação ao peso corpóreo dos animais, sendo maiores na hiperplasia complexa que na epitelial papilífera, nestas que na epitelial cística, e nesta que na estromal.

Comprimento, largura e altura das próstatas também variaram de acordo com a classificação da glândula. Todas mensurações mostraram os menores valores médios em próstatas imaturas e os maiores nas acometidas por hiperplasia epitelial papilífera (Tabela 4).

Tabela 4: Comprimento, largura e altura médios de próstatas imaturas, normais, maduras com prostatite e hiperplásicas (cm).

Classificação	Comprimento	Largura	Altura
	Média ± Desvio padrão	Média ± Desvio padrão	Média ± Desvio padrão
Imaturas	1,28 ± 0,46	0,98 ± 0,37	0,91 ± 0,34
Maduras normais	2,43 ± 0,91	2,44 ± 0,70	2,02 ± 0,68
Maduras com prostatite	2,83 ± 0,87	3,13 ± 1,15	2,53 ± 0,96
Hiperplasia estromal	2,84 ± 1,03	2,63 ± 0,74	2,21 ± 0,52
Hiperplasia epitelial cística	2,55 ± 1,20	3,20 ± 1,13	2,90 ± 1,84
Hiperplasia epitelial papilífera	3,61 ± 1,47	3,83 ± 1,30	3,03 ± 0,69
Hiperplasia complexa	3,11 ± 1,29	3,32 ± 1,33	2,79 ± 1,09

4.2 Relação entre a idade e o desenvolvimento prostático dos animais

Próstatas imaturas foram encontradas em animais com idade variando entre um mês e 18 meses, com média de cinco meses. As normais na faixa etária de oito meses a três anos e sete meses, com média de 1,8 anos. Glândulas hiperplásicas estavam presentes em cães com idade entre 18 meses e 15 anos, com média de 6,8 anos (Figura 11).

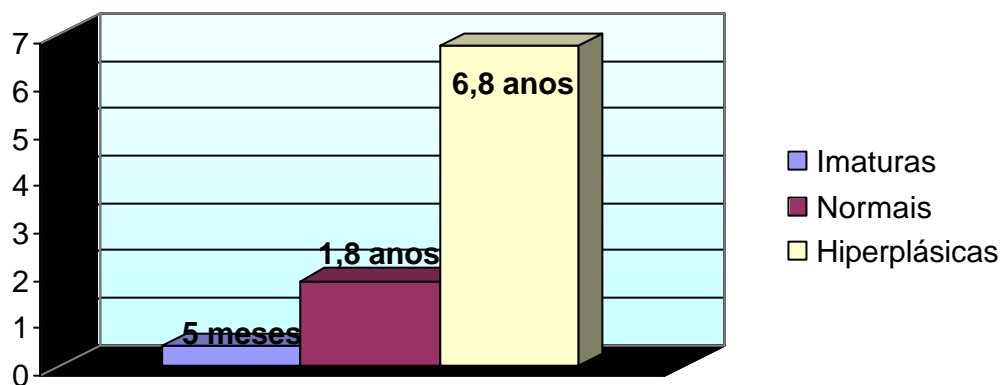


Figura 11: Desenvolvimento prostático em relação à idade média dos animais.

4.3 Estudo histopatológico das próstatas

As próstatas foram classificadas em imaturas, maduras (normais ou com prostatite) e hiperplásicas. Glândulas hiperplásicas corresponderam a 59% do total, sendo a classificação mais freqüente. Glândulas imaturas foram encontradas em 23% dos casos, e maduras em 18%, das quais 10% eram normais e 8% tinham prostatite (Figura 12).

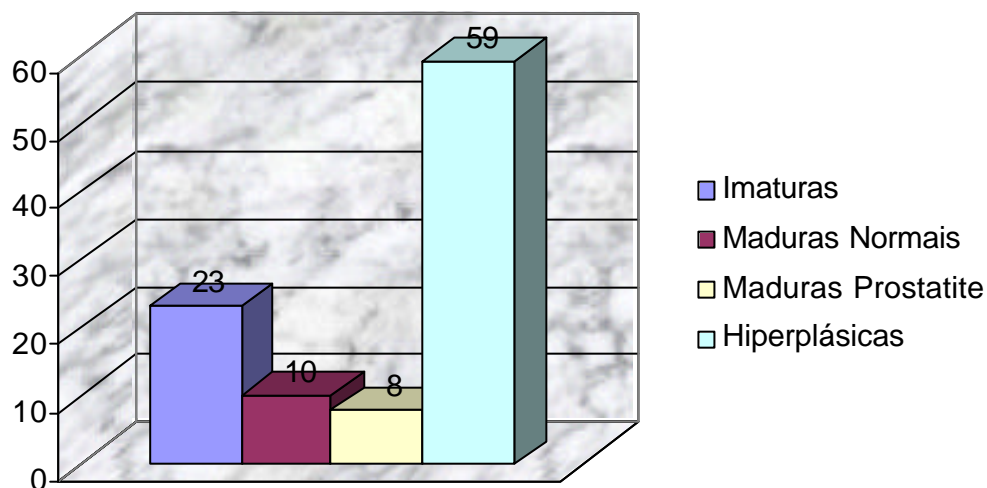


Figura 12: Número de próstatas classificadas como imaturas, maduras normais, maduras com prostatite ou hiperplásicas. (N=100).

Infiltrado inflamatório foi observado em 71% das próstatas (Figura 13), representado principalmente por leucócitos mononucleares no interstício glandular. Nenhuma glândula apresentou infiltrado inflamatório exclusivamente polimorfonuclear, pois quando presente estava associado ao mononuclear (Figura 14).

A localização do infiltrado inflamatório relacionou-se com o tipo celular envolvido visto que leucócitos mononucleares encontravam-se no interstício glandular em 97% dos casos, enquanto polimorfonucleares localizaram-se no lúmen glandular em 72% dos casos. De acordo com a intensidade e distribuição, o infiltrado inflamatório caracterizou em algumas glândulas um quadro de prostatite, enquanto em outras, se mostrava associado a afecções diversas.

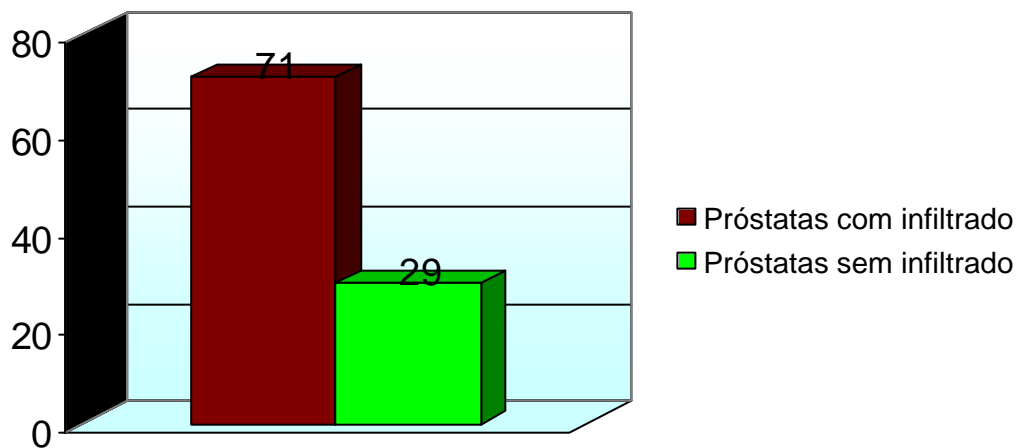


Figura 13: Ocorrência de infiltrado inflamatório nas próstatas (N=100).

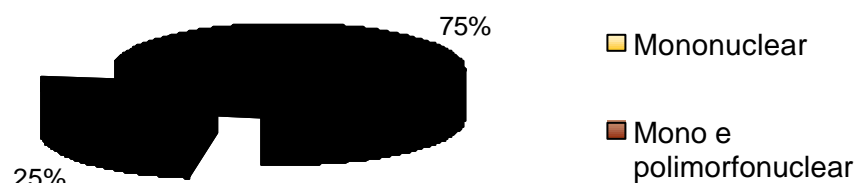


Figura 14: Tipificação do infiltrado inflamatório observado nas próstatas (N=71).

Na maioria das próstatas examinadas (67%), foram observadas alterações, sendo freqüente a ocorrência de duas ou mais concomitantemente (Figura 15).

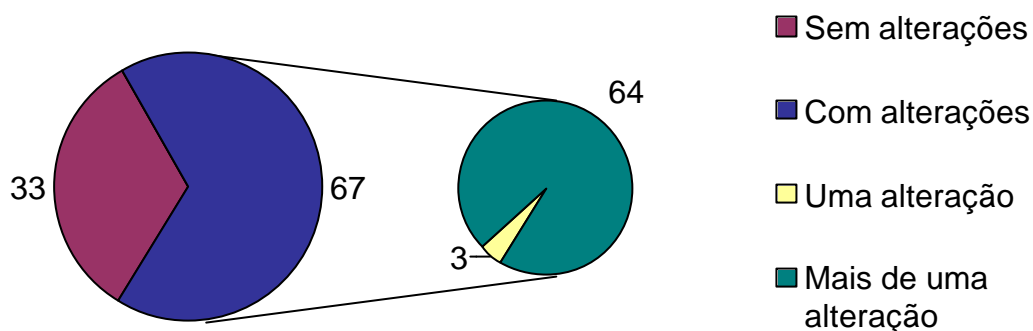


Figura 15: Frequência de alterações prostáticas únicas ou concomitantes (N=100).

Hiperplasia prostática foi a alteração mais observada, embora atrofia e displasia do epitélio glandular também estivessem presentes em um grande número de glândulas. Outras alterações como dilatação glandular focal, prostatite, destruição do epitélio glandular, cisto, metaplasia escamosa, hemorragia e abscesso foram encontradas com menor freqüência (Figura 16).

O número de vezes que estas alterações foram observadas ultrapassa o número total de próstatas, pois em várias situações uma só glândula apresentava diferentes afecções.

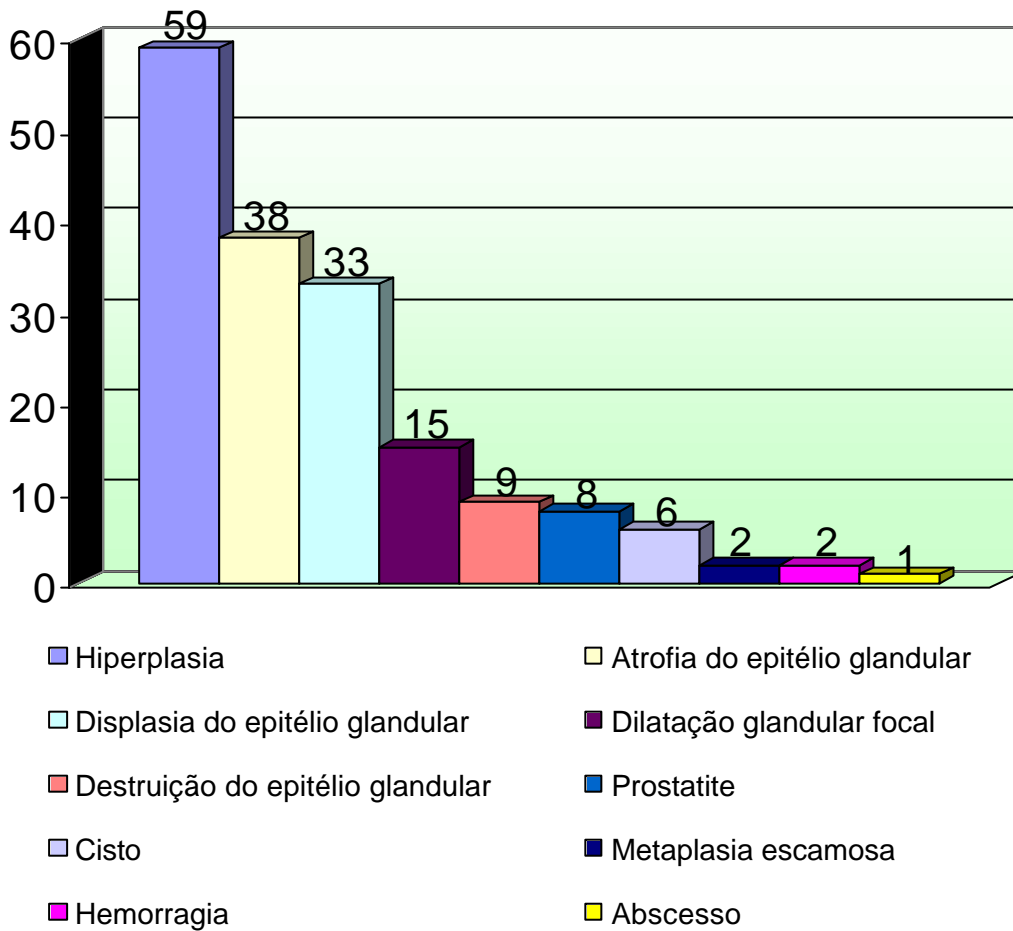


Figura 16: Ocorrência de alterações nas glândulas avaliadas (N=100).

Próstatas imaturas

Foram classificadas como imaturas as glândulas que apresentaram ácinos pouco desenvolvidos, com lúmen reduzido e atividade secretora ausente ou discreta. Nestas glândulas observou-se predomínio de tecido estromal, principalmente na região periuretral (Figura 17).

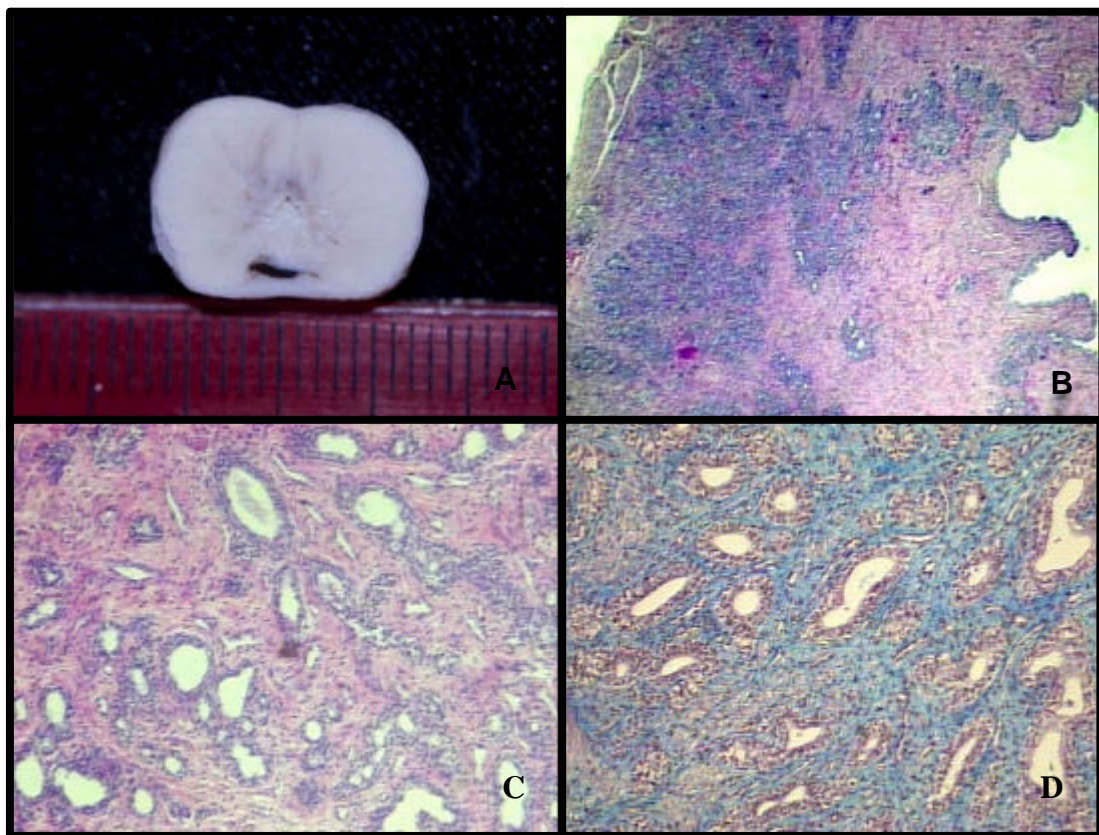


Figura 17: A) Corte transversal da próstata de um animal com quatro meses de idade medindo cerca de 1cm de largura. A glândula possuía consistência firme e aspecto compacto. B) Fotomicrografia evidenciando predomínio de tecido estromal, principalmente na região periuretral. HE, 32X. C) Fotomicrografia mostrando ácinos com várias camadas de células, porém pequenos e sem projeções digitiformes. HE, 100X. D) Fotomicrografia demonstrando a abundância de tecido conjuntivo no estroma intralobular. Tricrômio de Masson, 200X.

Discreto infiltrado inflamatório foi observado em 35% das glândulas imaturas e, com apenas uma exceção, este era exclusivamente mononuclear (Figura 18). Apesar disso, estas glândulas não mostraram alterações morfológicas em seu componente epitelial ou estromal.

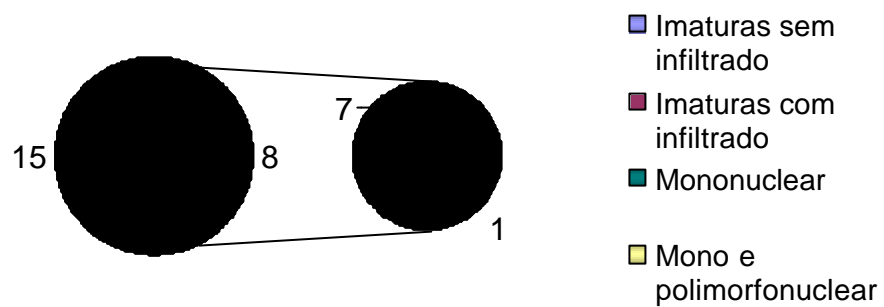


Figura 18: Número de próstatas imaturas com infiltrado inflamatório e sua tipificação (N=23).

Próstatas maduras normais

Próstatas maduras normais caracterizam-se pela presença de ácinos desenvolvidos, com atividade secretora, projeções digitiformes para o interior do lúmen e epitélio glandular limitado a uma ou duas camadas de células (Figura 19).

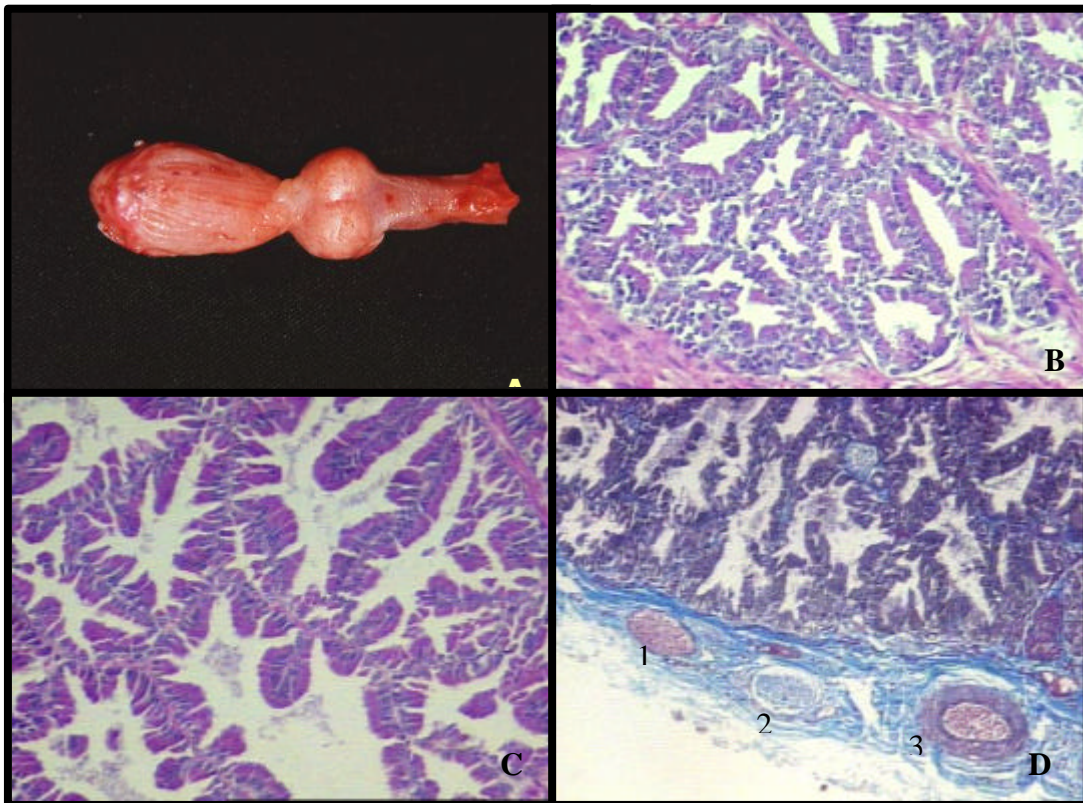
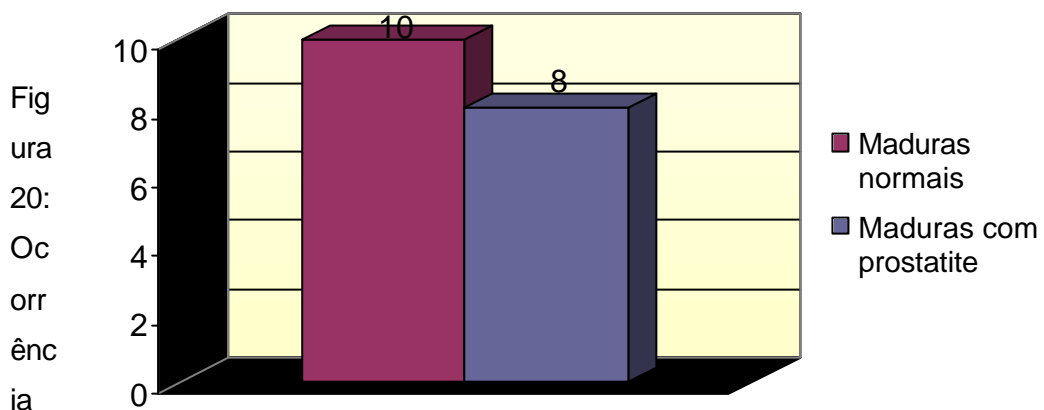


Figura 19: A) Aspecto ventral de uma glândula normal interposta à vesícula urinária e uretra. B) Fotomicrografia evidenciando o predomínio do tecido glandular em relação ao estromal. HE, 200X. C) Fotomicrografia demonstrando ácinos desenvolvidos, com atividade secretora, e tecido estromal intralobular escasso. HE, 200X . D) Fotomicrografia na qual observa-se um feixe vásculo-nervoso (1), uma veia (2) e uma artéria (3) na cápsula glandular. Tricrômio de Masson, 100X.

Esta foi uma subclassificação, pois entre as próstatas maduras observou-se que 44% apresentavam prostatite. A distinção entre elas se fez necessária para a seleção de glândulas normais, as quais foram submetidas à análise imunohistoquímica e morfométrica, servindo como padrão na comparação com próstatas imaturas e hiperplásicas (Figura 20).



prostatite entre as glândulas maduras (N=18).

Próstatas maduras com prostatite

Foram assim classificadas, as próstatas cujo componente glandular mostrava-se desenvolvido, caracterizando maturidade, porém com infiltrado inflamatório moderado ou intenso, alterando seu padrão de normalidade, sem o desenvolvimento de hiperplasia. Estas glândulas apresentaram simultaneamente outras alterações, como; atrofia e/ou displasia do epitélio glandular, dilatações glandulares focais, cistos, destruição glandular e discreta proliferação estromal (Figura 21).

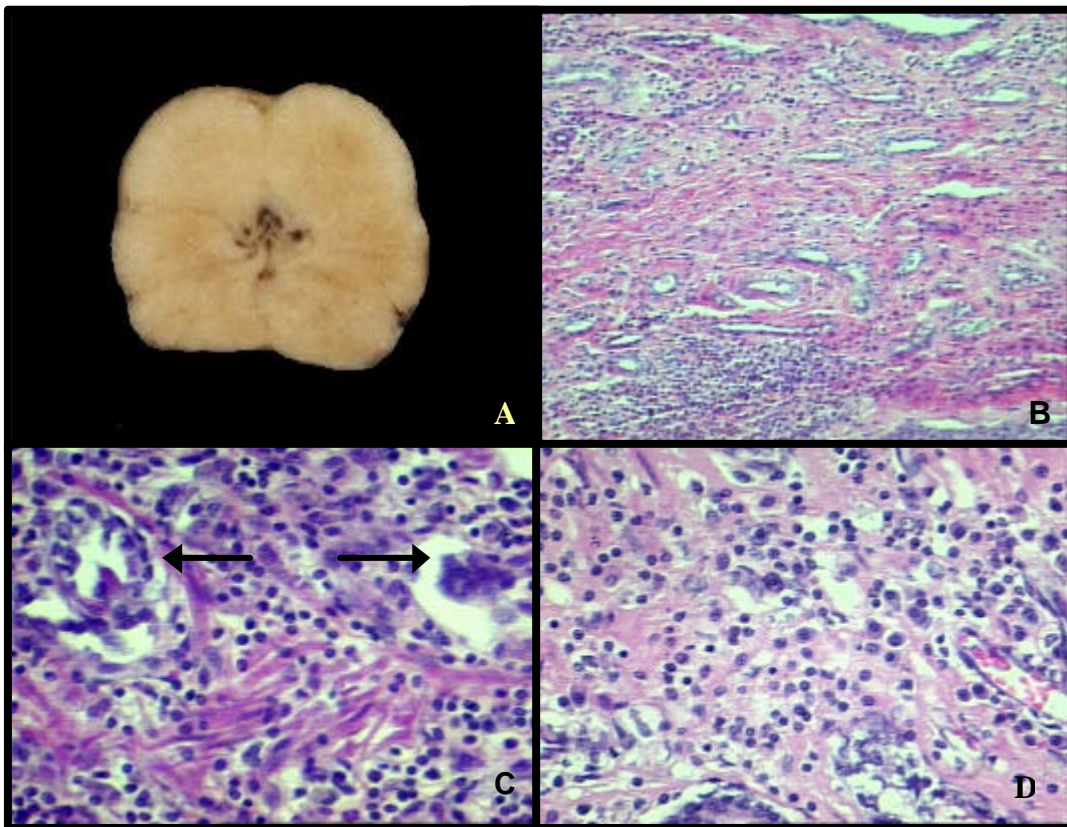


Figura 21: A) Corte transversal de uma glândula com prostatite crônica. Não são observadas lesões indicativas do processo. B) Fotomicrografia de uma glândula com inflamação intensa, atrofia do componente glandular e proliferação estromal focal. HE, 200X. C) Fotomicrografia evidenciando infiltrado mononuclear associado à atrofia marcante do epitélio glandular (setas). HE, 400X. D) Fotomicrografia mostrando predomínio de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. HE, 400X.

Mesmo observando-se infiltrado inflamatório na maioria das próstatas, outras alterações, muitas vezes, mostraram-se prevalentes como a hiperplasia estromal ou epitelial e, portanto, foram classificadas como tal.

Em 75% das glândulas com prostatite, o infiltrado observado era exclusivamente mononuclear, estando associado à leucócitos polimorfonucleares nos 25% restantes.

Apesar do pequeno número de próstatas acometidas por prostatite supurativa estas, quando presentes, mostraram aspecto macroscópico sugestivo de tal afecção, com exsudato de coloração amarelada e cavitações que corresponderam microscopicamente a áreas de destruição glandular (Figura 22).

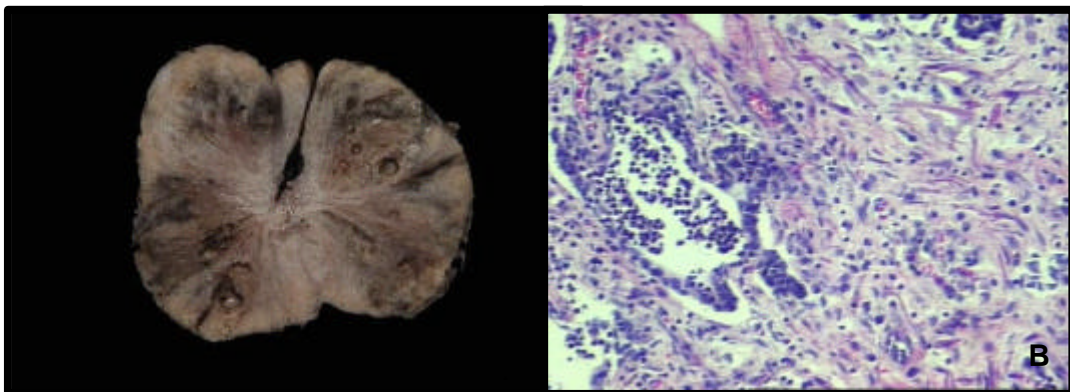


Figura 22: A) Corte transversal de uma próstata acometida por inflamação supurativa severa, com áreas de destruição glandular. B) Fotomicrografia mostrando infiltrado polimorfonuclear (neutrófilico) no interior do ácino, disseminando-se para o interstício e causando destruição glandular. HE, 100X.

Hiperplasia prostática

A hiperplasia prostática foi a alteração observada com maior frequência nas glândulas (59%) e qualificou-se pela proliferação do componente estromal, epitelial ou de ambos (Figura 23).

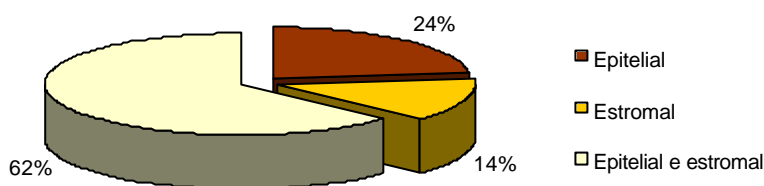


Figura 23: Ocorrência de hiperplasia epitelial e estromal isoladamente ou simultaneamente (N= 59).

Em relação à idade ocorreu em 27% dos animais com até quatro anos, 91% dos cães com mais de quatro e menos de nove anos, e em 100% daqueles com mais de nove anos.

Morfologicamente a hiperplasia epitelial apresentou-se sob duas formas distintas; cística ou papilífera, às vezes ocorrendo simultaneamente na mesma glândula.

Foram classificadas como hiperplásicas císticas as que apresentaram ácinos glandulares dilatados, irregulares, revestidos por epitélio cúbico simples que muitas vezes tornava-se achatado, com ou sem secreção intraluminal (Figura 24). Já a proliferação do epitélio acinar sob a forma de projeções digitiformes para o interior do lúmen, cobertas por duas ou mais camadas de células epiteliais, caracterizaram a hiperplasia papilífera (Figura 25).

Hiperplasia estromal distinguiu-se pela proliferação do estroma fibroso, muscular ou de ambos em glândulas com ou sem outras alterações concomitantes (Figura 26).

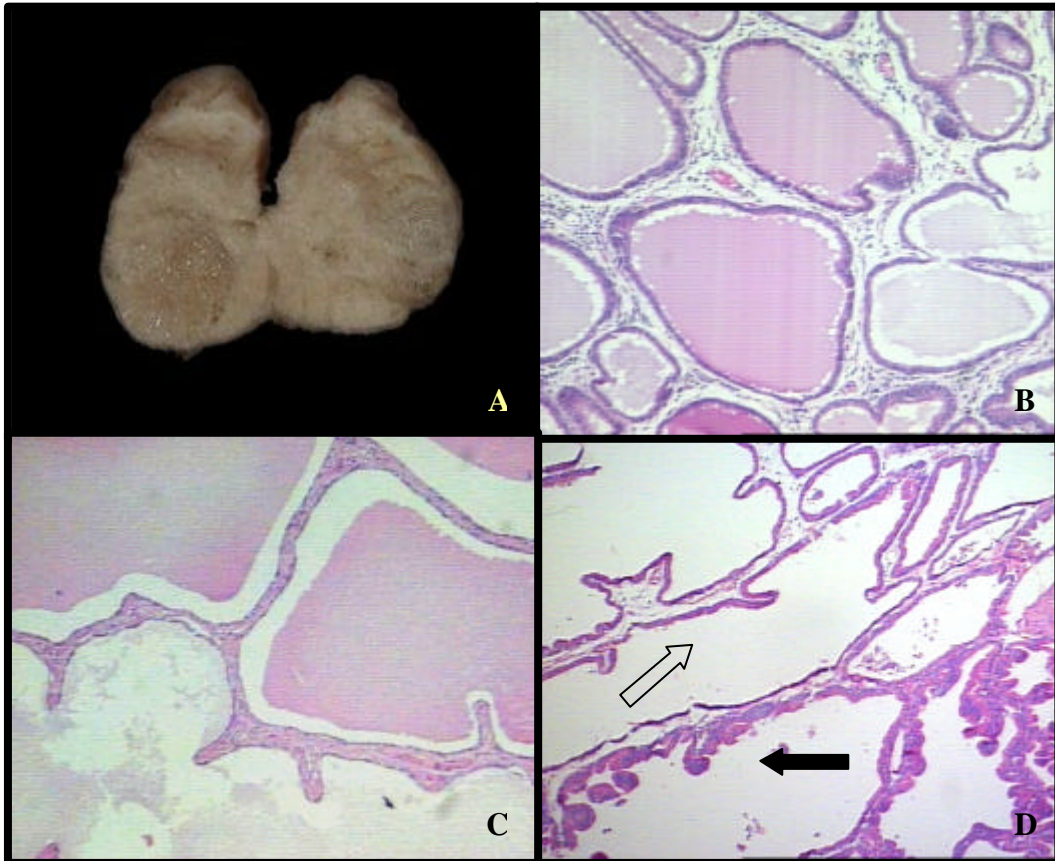


Figura 24: A) Corte transversal de uma próstata apresentando hiperplasia cística. É possível a observação de pequenos cistos em toda a glândula. B) Fotomicrografia mostrando ácinos dilatados, de tamanho e forma irregulares, com secreção intraluminal. HE, 100X. C) Fotomicrografia na qual observam-se dilatações císticas dos ácinos que se apresentam recobertos por epitélio achatado e repletos de secreção. HE, 50X. D) Fotomicrografia evidenciando dilatações císticas revestidas por epitélio cúbico simples (seta vazada) e outras por epitélio cilíndrico disposto em duas ou mais camadas (seta cheia). HE, 100X.

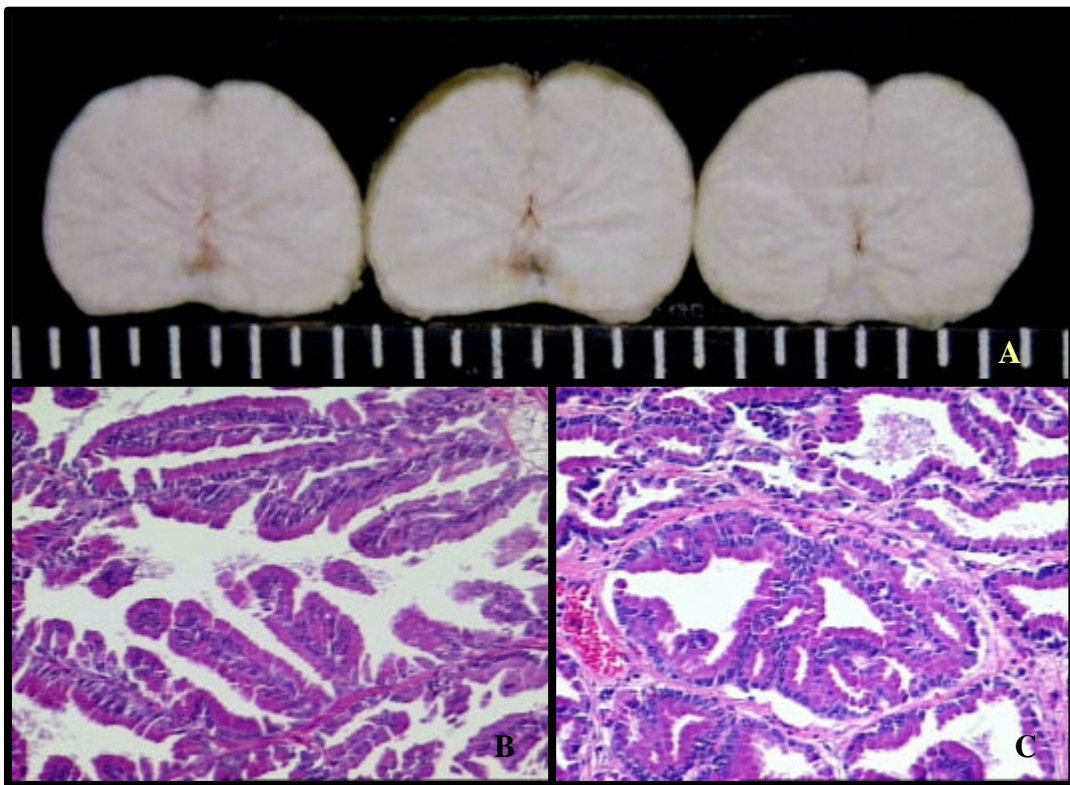


Figura 25: A) Cortes transversais de uma glândula com hiperplasia epitelial papilífera. A glândula apresenta-se aumentada de volume, com cerca de 4cm de largura. B) Fotomicrografia mostrando projeções digitiformes para o interior do lúmem glandular com aumento de celularidade. HE, 200X. C) Fotomicrografia evidenciando proliferação epitelial intensa com união das extremidades do ácino, porém sem infiltração no tecido estromal. HE, 200X.

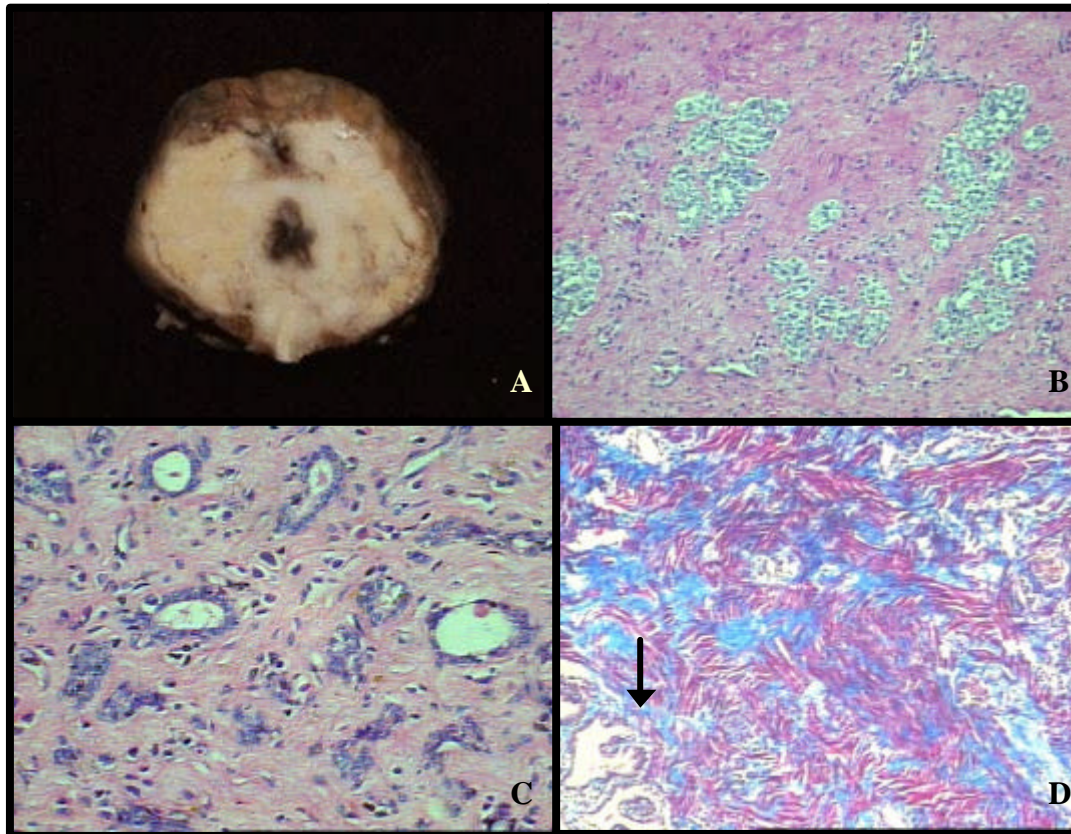
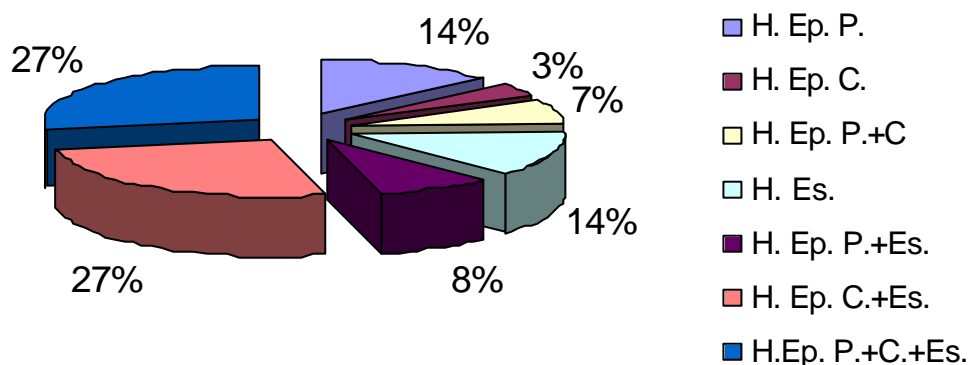


Figura 26: A) Corte transversal de uma glândula com hiperplasia estromal. Observar aspecto fibroso e compacto. B) Fotomicrografia revelando hiperplasia estromal associada à atrofia glandular intensa. HE, 200X. C) Fotomicrografia evidenciando ácinos atrofiando e tecido estromal abundante. HE, 400X. D) Fotomicrografia mostrando hiperplasia de tecido fibroso e muscular, comprimindo o tecido glandular (seta). Tricrômio de Masson, 200X.

A ocorrência concomitante dos diferentes tipos de hiperplasia se fez presente em 69% das glândulas acometidas por esta afecção. A associação de hiperplasia cística e estromal, assim como de cística, papilífera e estromal na mesma próstata foram as mais frequentes (ambas representaram 27% dos casos). Entre as glândulas com apenas um tipo de hiperplasia, dois padrões estiveram presentes com incidência semelhante: hiperplasia epitelial papilífera e hiperplasia estromal (14% dos casos) (Figura 27).

Figura 27: Percentual de glândulas



acometidas pelos diferentes tipos de hiperplasia isoladamente ou concomitantemente (N=59) (H. Ep. P. - Hiperplasia epitelial papilífera; H. Ep. C. - hiperplasia epitelial cística; H. Ep. P. + C - hiperplasia epitelial papilífera e cística; H. Es. - hiperplasia estromal; H. Ep. P. + Es. - hiperplasia epitelial papilífera e estromal; H. Ep. C. + Es. - hiperplasia epitelial cística e estromal; H. Ep. P. + C. + Es. - hiperplasia epitelial papilífera, cística e estromal).

A média de idade dos animais com hiperplasia epitelial papilífera; epitelial cística; epitelial papilífera e cística; estromal; epitelial papilífera e estromal; epitelial cística e estromal; epitelial papilífera, cística e estromal; é apresentada na Figura 28.

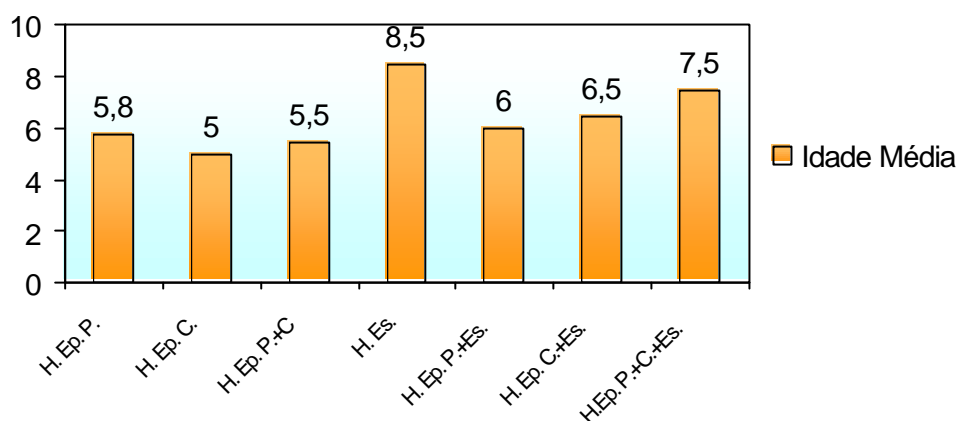


Figura 28: Média de idade dos animais (em anos) acometidos pelos diferentes padrões de hiperplasia.

A presença de infiltrado inflamatório foi comum nas glândulas hiperplásicas (93%), sendo composto na maior parte dos casos exclusivamente por leucócitos mononucleares (68%) (Figura 29).

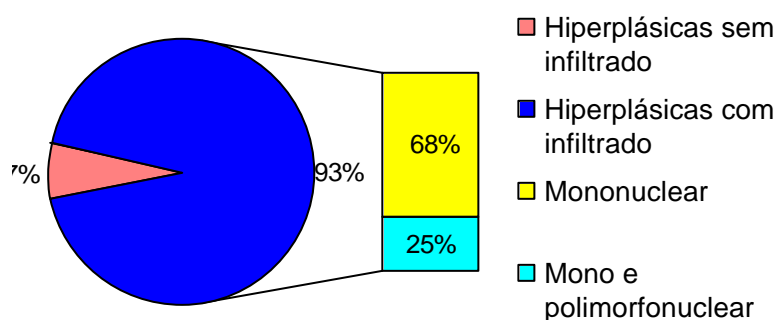


Figura 29: Ocorrência e tipo do infiltrado inflamatório em próstatas hiperplásicas (N=59).

Outras alterações

A atrofia do epitélio glandular foi observada em 38% dos casos e estava associada, na maioria das vezes, à hiperplasia estromal e infiltrado inflamatório. Displasia do epitélio glandular esteve presente em 33% dos casos, localizando-se principalmente em áreas com maior concentração de infiltrado inflamatório (Figura 30).

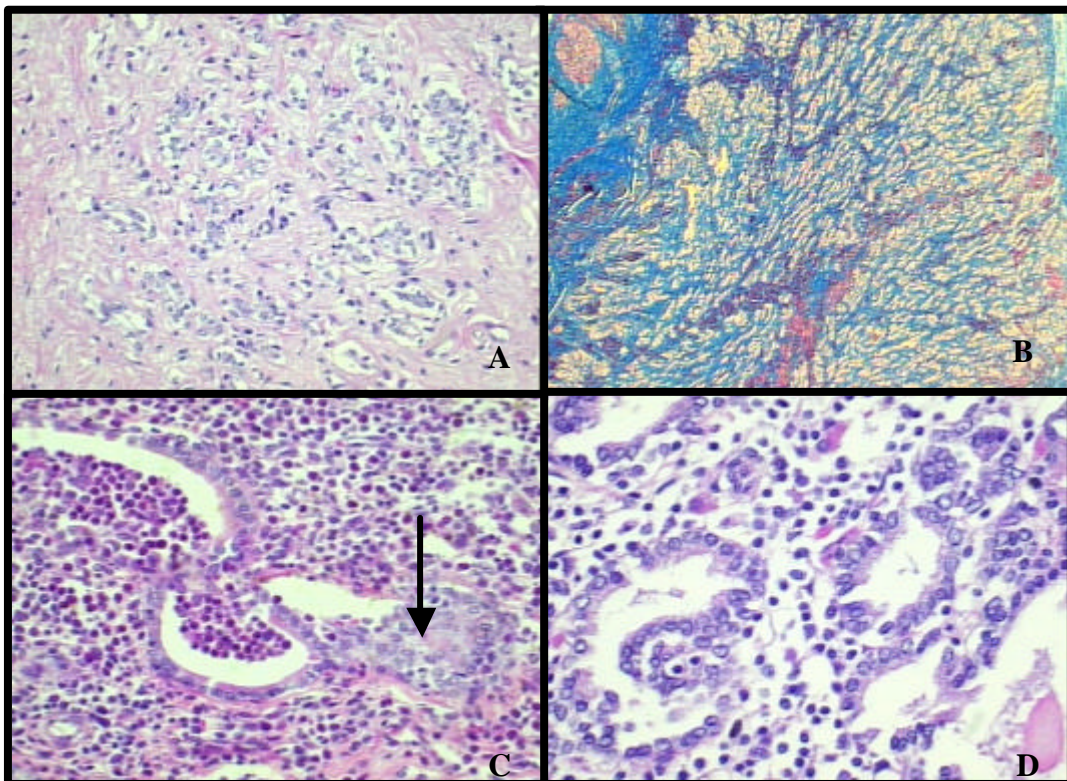


Figura 30: A) Fotomicrografia mostrando atrofia intensa do epitélio glandular associada à hiperplasia estromal. HE, 200X. B) Fotomicrografia evidenciando a rarefação de tecido glandular associada à proliferação estromal. Tricrômio de Masson, 25X. C) Fotomicrografia revelando displasia do epitélio glandular (seta) associada à intensa infiltração de leucócitos mono e polimorfonucleares. HE, 400X. D) Fotomicrografia na qual observam-se células epiteliais displásicas, com disposição desordenada e

núcleos aumentados de volume em associação ao infiltrado inflamatório mononuclear intersticial. HE, 400X.

Dilatações glandulares focais, destruição do epitélio glandular, cistos, metaplasia escamosa, hemorragias e abscessos foram encontrados com menor freqüência.

Dilatações glandulares focais foram assim denominadas por não fazerem parte de um quadro de hiperplasia cística e sim estarem presentes solitárias ou em pequeno número, geralmente na região periférica. Estas alterações estavam presentes em 15 casos.

A metaplasia escamosa do epitélio glandular foi vista em dois casos como uma alteração focal caracterizada pela substituição do epitélio acinar normal por epitélio escamoso (Figura 31).

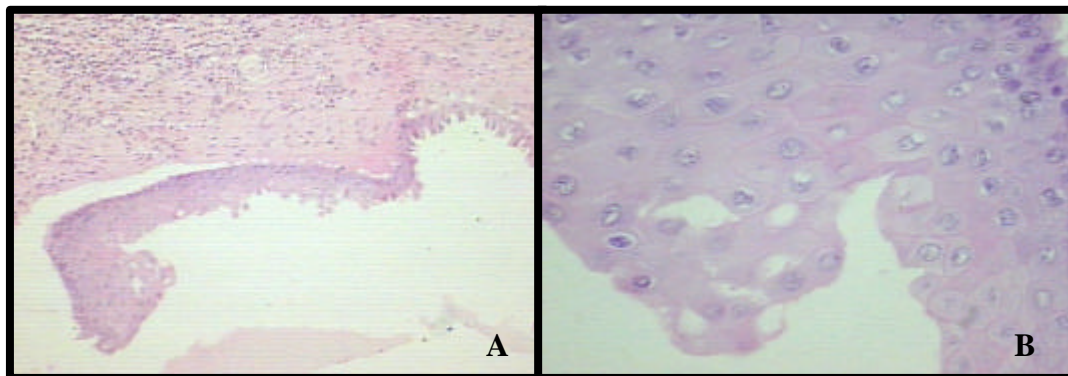


Figura 31: A) Fotomicrografia demonstrando área cística recoberta por epitélio escamoso metaplásico. HE, 100X. B) Fotomicrografia mostrando detalhe em maior aumento da figura anterior, onde são observadas características histológicas de epitélio escamoso estratificado bem diferenciado. HE, 400X.

Duas próstatas mostraram áreas de hemorragia sendo que em uma o processo era visível macroscopicamente medindo cerca de dois centímetros de diâmetro, formando um hematoma. No outro caso as

hemorragias estavam associadas a um intenso infiltrado inflamatório com destruição glandular (Figura 32).

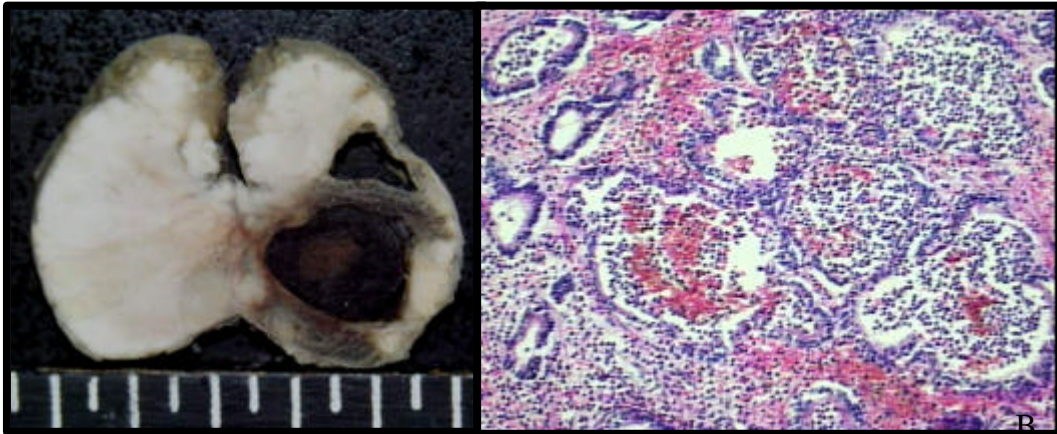


Figura 32: A) Corte transversal de uma glândula com hemorragia extensa formando um hematoma prostático. B) Fotomicrografia mostrando áreas de hemorragia em associação à destruição glandular e intenso infiltrado inflamatório intersticial e intra-acinar. HE, 200X.

A destruição do epitélio glandular foi notada em nove glândulas e associava-se a áreas com intenso infiltrado inflamatório mono e polimorfonuclear. Apenas um abscesso foi observado e estendia-se da a região central à região periférica da glândula (Figura 33).

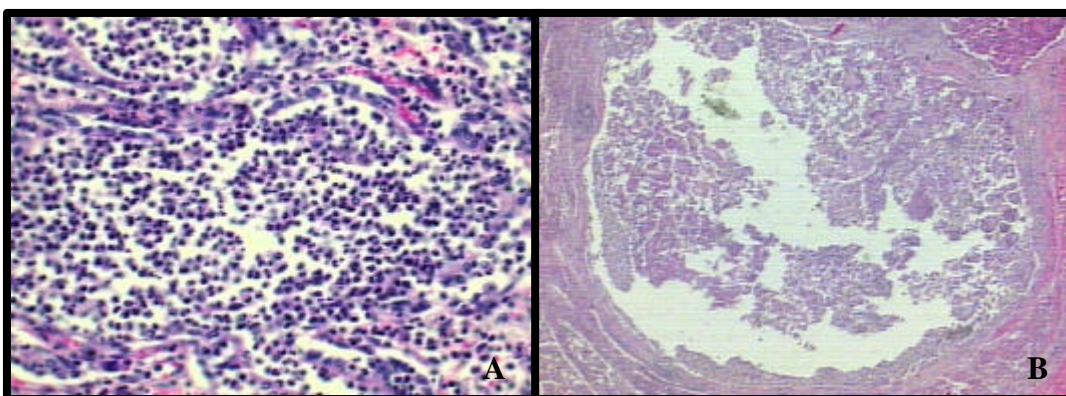


Figura 33: A) Fotomicrografia evidenciando uma área de destruição glandular associada à inflamação. Nota-se a disseminação do infiltrado inflamatório através do

estroma e lúmen glandular. HE, 400X. B) Fotomicrografia mostrando abscesso localizado entre a região central e periférica da glândula. HE, 250X.

Cistos variaram em tamanho e localização sendo freqüentemente vistos macroscopicamente e chegando a apresentar cerca de um centímetro de diâmetro. Em um caso foram encontrados dois cistos na região dorsal da glândula, sendo um deles paraprostático (Figura 34). Os cistos foram observados em seis casos e caracterizaram-se microscopicamente por grandes dilatações glandulares isoladas, repletas de secreção e recobertas por epitélio achatado (Figura 35).

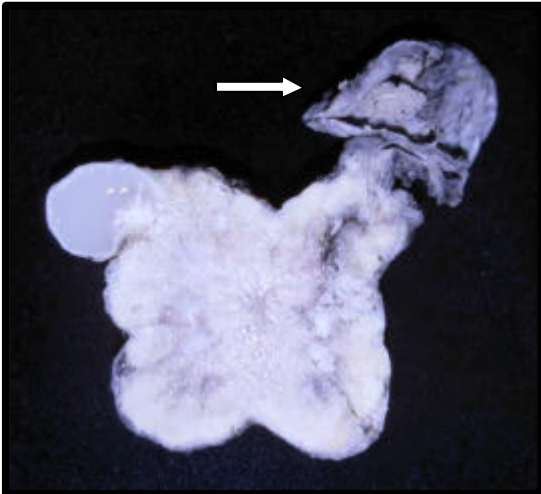


Figura 34: Corte transversal de uma glândula com dois cistos volumosos na região dorsal, sendo um deles paraprostático (seta).

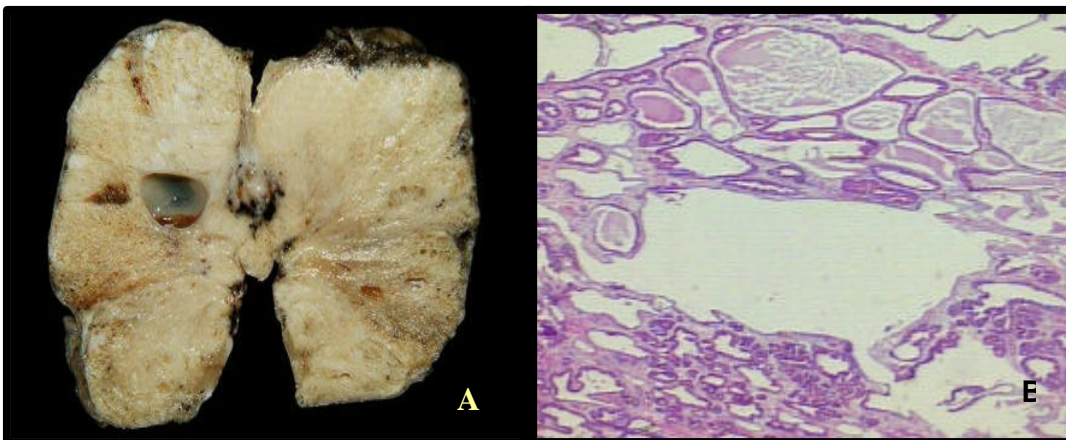


Figura 35: A) Corte transversal de uma glândula contendo um cisto em sua região central. B) Fotomicrografia da próstata vista em “A”, mostrando um cisto associado à hiperplasia cística e papilífera. HE, 25X.

4.4 Distribuição anatômica da hiperplasia

Alterações morfológicas concernentes aos diferentes tipos de hiperplasia (epitelial cística, papilífera ou estromal) foram observadas de forma difusa (acometimento da glândula como um todo, raras áreas não afetadas) ou segmentar (comprometimento de áreas correspondentes a um ou mais lóbulos, sem afetar a glândula como um todo). A representação esquemática destas formas de distribuição está ilustrada na Figura 36.

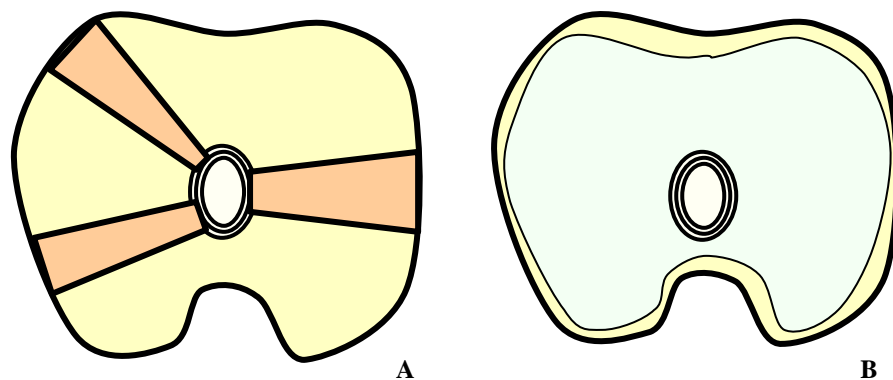


Figura 36: Representação esquemática da classificação das hiperplasias em relação à distribuição anatômica. A) Segmentar B) Difusa.

Considerando-se o comprometimento da glândula, independente do tipo de hiperplasia, a maioria (86%) mostrava-se afetada difusamente (Figura 37).

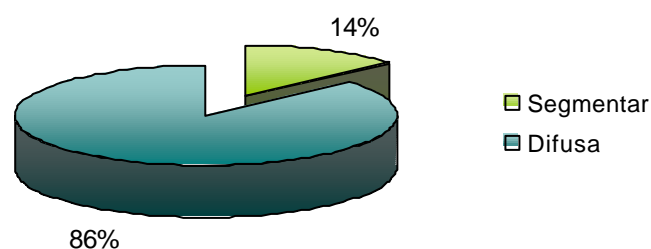


Figura 37: Distribuição anatômica da hiperplasia nas glândulas (N=59).

Foi possível observar glândulas acometidas de forma difusa ou segmentar por um dos três tipos citados individualmente, assim como concomitantemente (Figura 38). Embora a maioria das glândulas apresentasse hiperplasia difusa, o processo era geralmente mais evidente na região mais externa da glândula que nas adjacências da uretra.

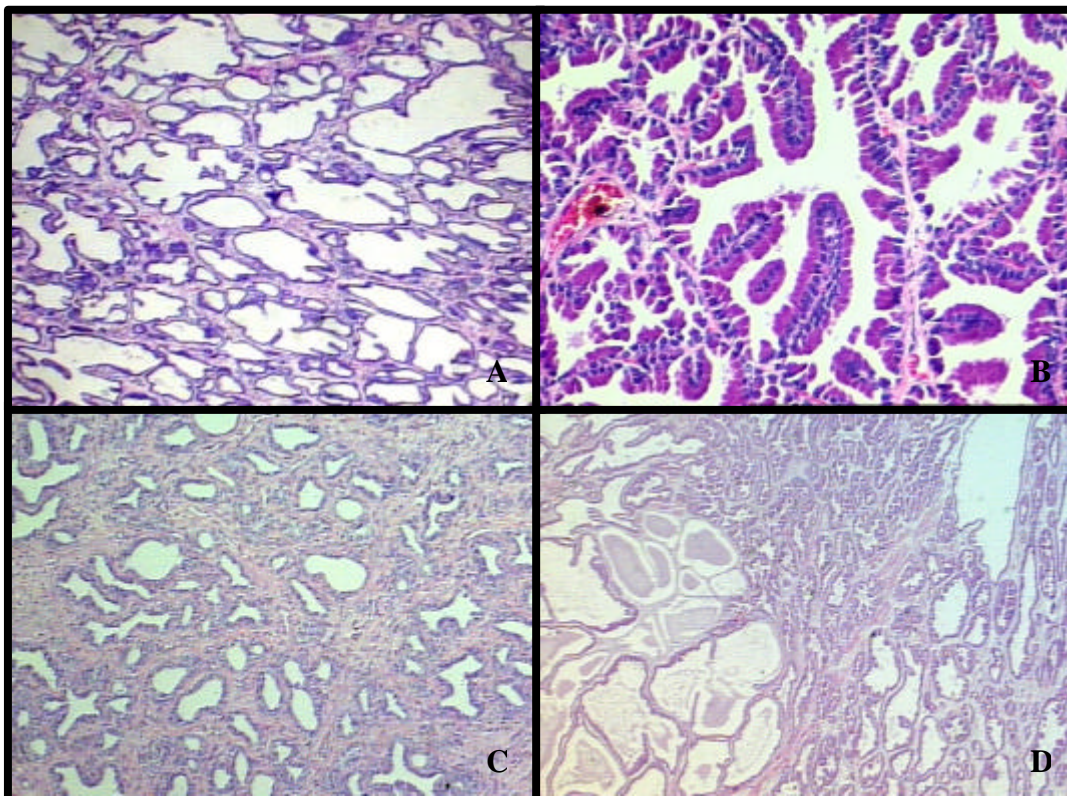


Figura 38: A) Fotomicrografia de uma glândula acometida por hiperplasia epitelial cística difusa. HE, 32X. B) Fotomicrografia de próstata apresentando hiperplasia epitelial papilífera difusa. HE, 200X. C) Fotomicrografia evidenciando hiperplasia estromal difusa. HE, 200X. D) Fotomicrografia mostrando hiperplasia epitelial cística e papilífera distribuindo-se de forma segmentar. HE, 25X.

4.5 Padronização da técnica de imunohistoquímica

Os anticorpos utilizados para padronização da imunohistoquímica foram Citoceratina 19 (CK-19), visando a marcação das células epiteliais glandulares basais; Antígeno Prostático Específico (PSA), para células secretoras do epitélio glandular; e Citoceratina de Alto Peso Molecular (clone 34 β E12), direcionado à marcação das células basais do epitélio glandular.

A marcação com o anticorpo CK-19 foi positiva no epitélio secretor, porém foi negativa na camada de células basais. O epitélio uretral foi utilizado como controle positivo da reação (Figura 39).

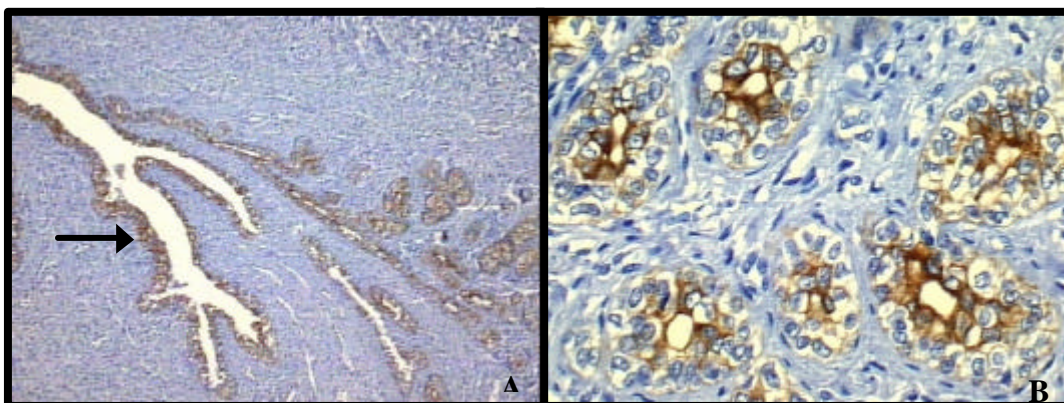


Figura 39: A) Fotomicrografia mostrando o epitélio uretral de uma glândula imatura bem marcado, servindo como controle para a positividade da reação (seta). CK-19, 200X. B) Fotomicrografia evidenciando a marcação presente na membrana citoplasmática do epitélio secretor e ausente na camada de células basais de uma próstata imatura. CK-19, 640X.

Com PSA a marcação foi positiva nas células secretoras e secreção intraluminal quando presente, porém com algumas particularidades em relação à maturidade da glândula. Próstatas imaturas tiveram marcação discreta e restrita às células mais próximas ao lúmem, enquanto as maduras e hiperplásicas marcaram com mais intensidade e em todo epitélio secretor (Figura 40).

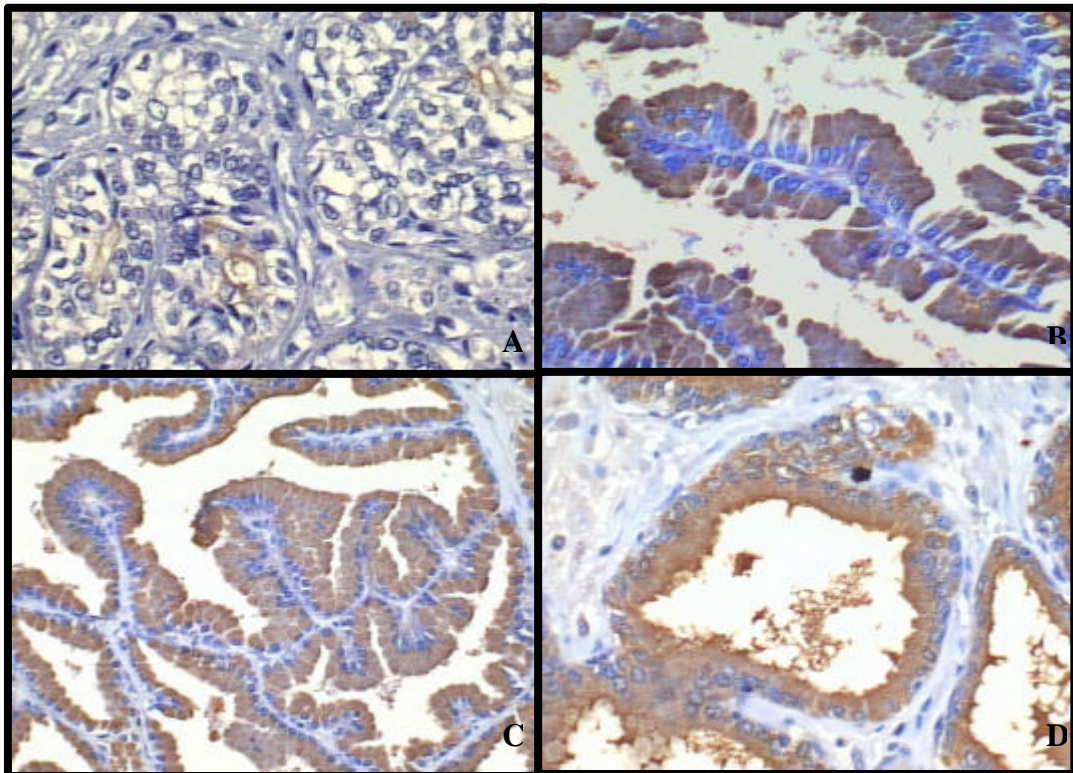


Figura 40: A) Fotomicrografia de próstata imatura com discreta marcação nas células mais próximas ao lúmem. PSA, 640X. B) Fotomicrografia de próstata madura normal revelando intensa marcação do epitélio secretor. PSA, 640X. C) Fotomicrografia demonstrando hiperplasia papilífera com marcação uniforme em todo epitélio secretor. PSA, 400X. D) Fotomicrografia de uma glândula com hiperplasia cística evidenciando

a marcação do epitélio secretor. Nota-se também a marcação da secreção intraluminal. PSA, 640X.

A marcação obtida com o anticorpo citoceratina de alto peso molecular (clone 34 β E12) foi negativa nas células secretoras, como era esperado, e positiva nas basais, inclusive nas da uretra prostática (Figura 41A). Contudo, a marcação não foi uniforme na maioria dos ácinos impossibilitando a avaliação da integridade desta camada celular (Figura 41B).

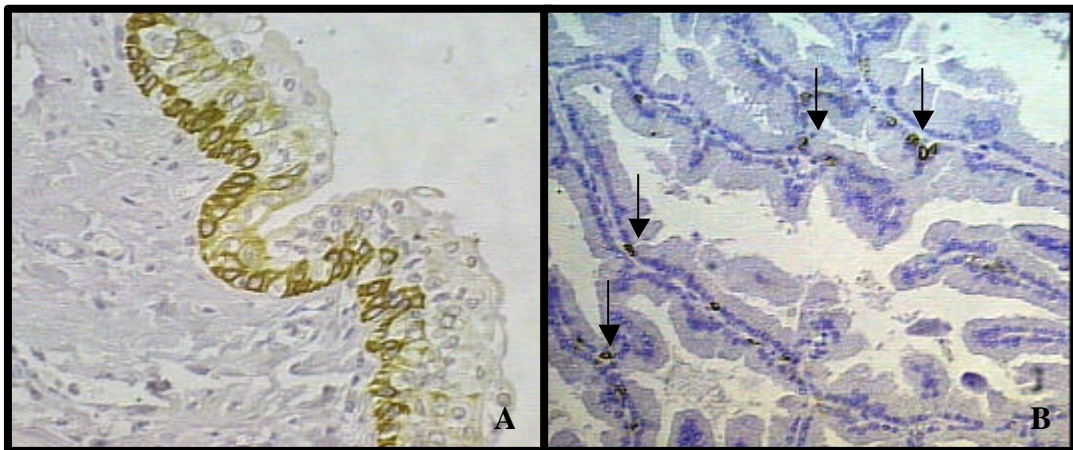


Figura 41: A) Fotomicrografia evidenciando reação imunoistoquímica com marcação positiva nas células basais da uretra prostática. 34 β E12, 400X. B) Fotomicrografia mostrando marcação positiva em algumas células basais acinares (setas) de uma glândula com hiperplasia epitelial papilífera. 34 β E12, 250X.

4.6 Estudo imunohistoquímico

Para este estudo foram utilizados os anticorpos Antígeno Prostático específico (PSA) e Citoceratina de Alto Peso Molecular (34 β E12), objetivando a marcação das células acinares secretoras e basais, respectivamente, de 15 próstatas imaturas, oito normais e 15 hiperplásicas.

A marcação do epitélio secretor com PSA foi obtida em 87% das glândulas imaturas, 100% das normais e 93% das hiperplásicas (Figura 42), embora com variações na quantidade de células marcadas. A única glândula hiperplásica negativa para esta reação apresentava hiperplasia estromal e intensa atrofia do epitélio glandular (Figura 43).

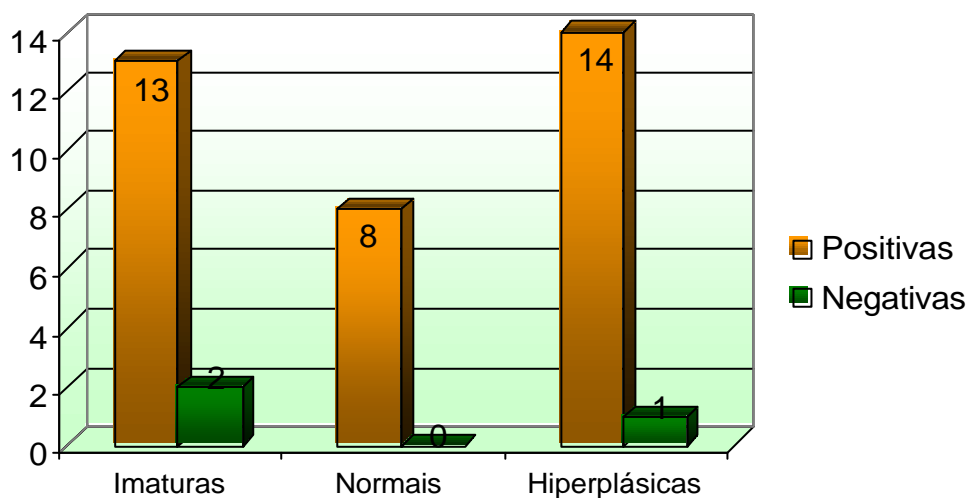


Figura 42: Distribuição da positividade para o anticorpo PSA em relação ao desenvolvimento das próstatas.

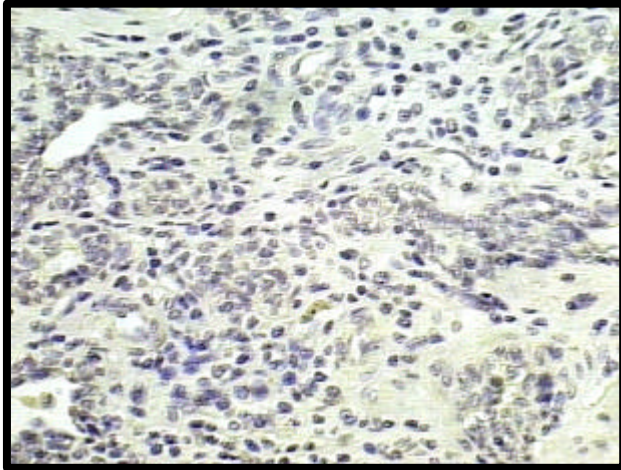


Figura 43: Fotomicrografia demonstrando marcação negativa no epitélio secretor atrófico de uma próstata com hiperplasia estromal. PSA, 500X.

Próstatas imaturas, normais e hiperplásicas, nas quais se utilizou o anticorpo $34\beta E12$, apresentaram marcação positiva em 27, 25 e 34% dos casos, respectivamente (Figura 44). Variações no padrão de positividade também estiveram presentes nestas glândulas.

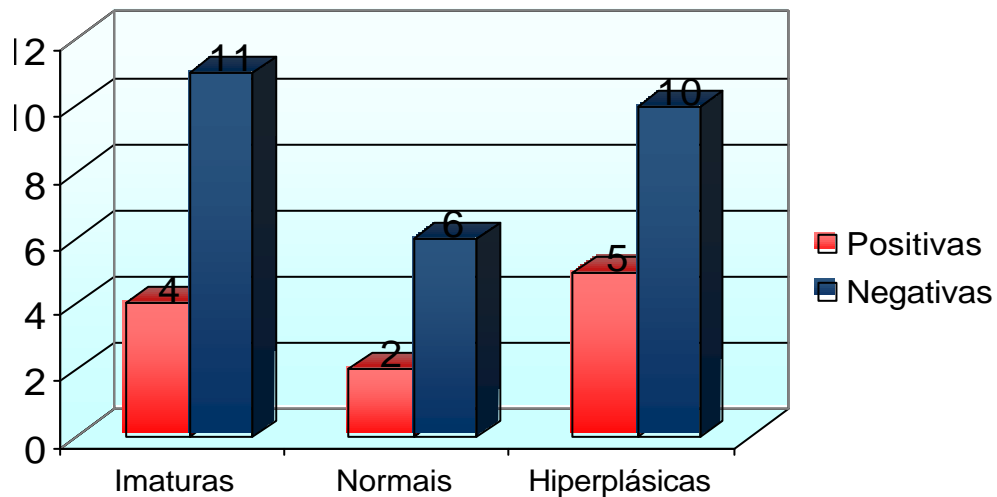


Figura 44: Distribuição da positividade para o anticorpo $34\beta E12$ em relação ao desenvolvimento das próstatas.

A marcação com PSA obteve o escore mais elevado (+++) em 80% das próstatas hiperplásicas, 100% das normais e 13% das imaturas (Figura 45). Este escore não foi atribuído a nenhuma glândula marcada com 34βE12, sendo que dentre as imaturas, todas as positivas receberam o escore mais baixo (+) (Figura 46).

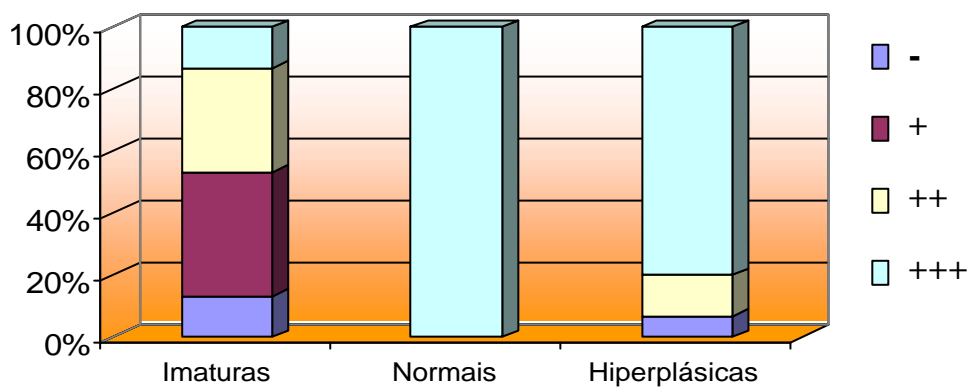


Figura 45: Distribuição dos escores atribuídos a glândulas imaturas, normais e hiperplásicas incubadas com PSA.

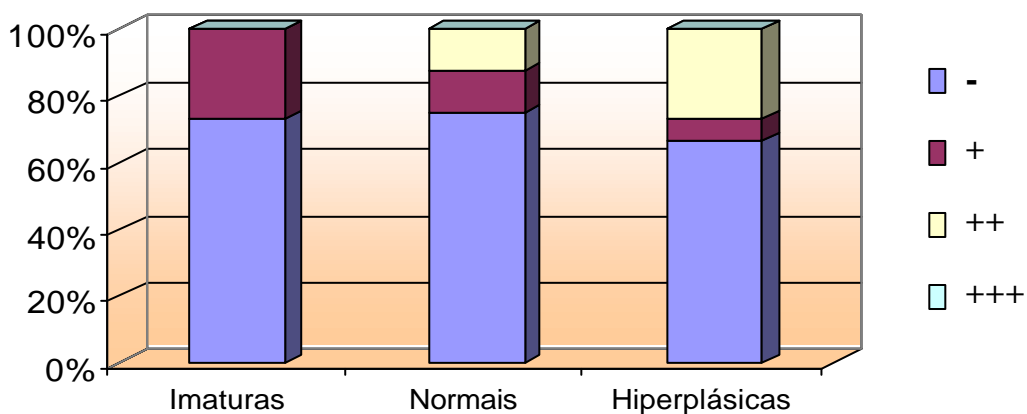


Figura 46: Distribuição dos escores atribuídos a glândulas imaturas, normais e hiperplásicas incubadas com 34βE12.

Glândulas imaturas apresentaram variação no escore de positividade da marcação com PSA, não sendo observada relação com a idade dos animais. Visto que este estudo utilizou, em sua maioria, animais sem raça definida e de porte variado, era esperada uma variação no estágio de maturação da glândula, mesmo em animais de mesma idade. Foi possível observar-se, por exemplo, um animal de três meses de idade que obteve o escore mais elevado de marcação (+++), enquanto outro de mesma idade obteve o menor (+) (Figura 47).

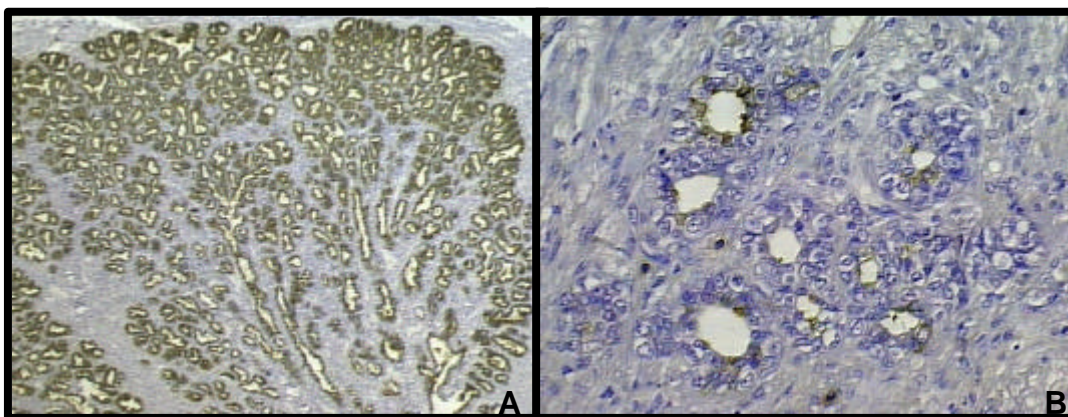


Figura 47: A) Fotomicrografia da próstata de um animal com três meses de idade com escore de marcação “+++”. PSA, 50X. B) Fotomicrografia da glândula de um animal de três meses de idade com escore de marcação “+”. PSA, 500X.

A marcação com 34 β E12 em próstatas imaturas, além de ter sido observada em poucas glândulas, recebeu o escore mais baixo (+), pois se restringia a poucos ácinos, embora tenha havido alta especificidade. A positividade nas células basais da uretra prostática determinou o controle positivo da reação, mesmo em glândulas negativas (Figura 48).

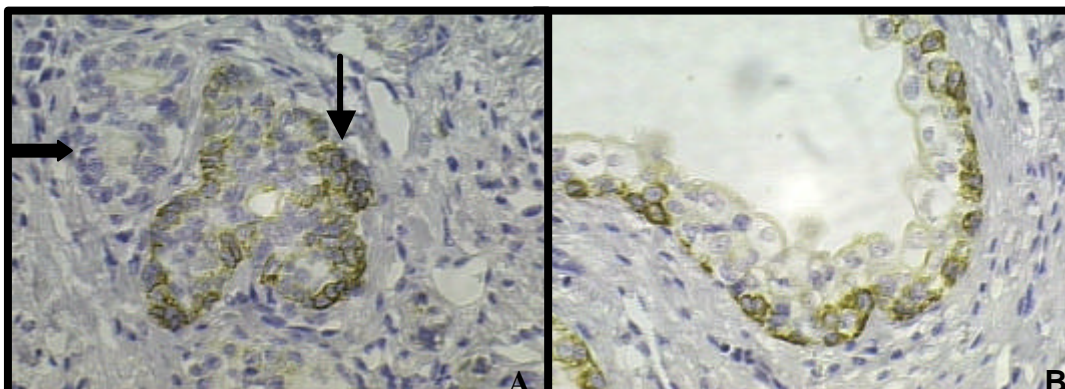


Figura 48: A) Fotomicrografia revelando marcação de células basais em um ácino (seta) e ausência nos adjacentes (seta cheia). 34 β E12, 640X. B) Fotomicrografia demonstrando o controle positivo da reação pela marcação das células basais da uretra prostática. 34 β E12, 640X.

Em relação às glândulas normais, todas marcaram positivamente e de forma homogênea para PSA, recebendo o escore mais elevado (+++) (Figura 49). Contudo a marcação com 34 β E12, observada apenas em duas glândulas, recebeu os escores mais baixos (+ e ++)

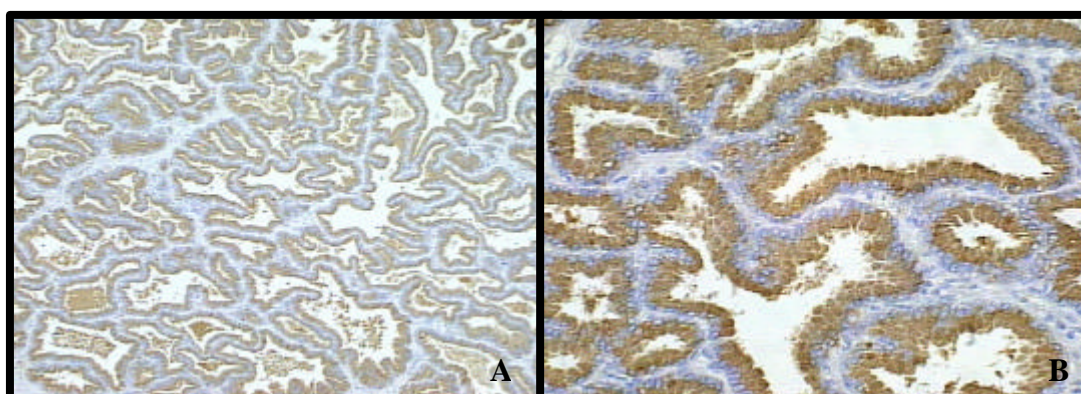


Figura 49: A) Fotomicrografia evidenciando marcação forte e homogênea no epitélio secretor de uma glândula normal, assim como da secreção intraluminal quando presente. PSA, 100X. B) Fotomicrografia mostrando positividade em todas as células secretoras de uma glândula normal. PSA, 400X.

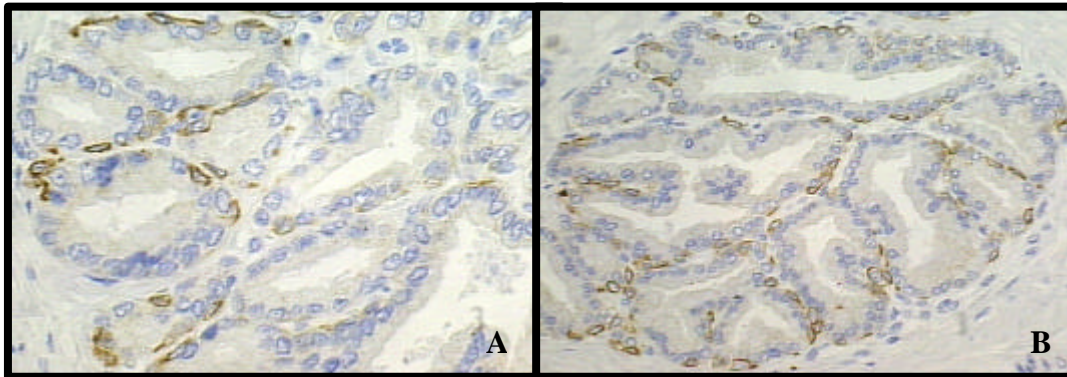


Figura 50: A) Fotomicrografia de uma glândula normal com marcação positiva de algumas células basais. 34 β E12, 640X. B) Fotomicrografia evidenciando a marcação positiva de quase todas as células basais do lóbulo. 34 β E12, 400X.

As glândulas hiperplásicas marcadas com PSA, de um modo geral, obtiveram marcação forte e homogênea no epitélio secretor e na secreção intraluminal, quando presente (Figura 51). Por outro lado, a marcação com 34 β E12 neste grupo foi escassa, atingindo escore baixo (+) ou médio (++) nas glândulas positivas (Figura 52). Mesmo sendo este marcador indicado para avaliação da integridade da camada de células basais, neste estudo isso não foi possível pela baixa sensibilidade da reação.

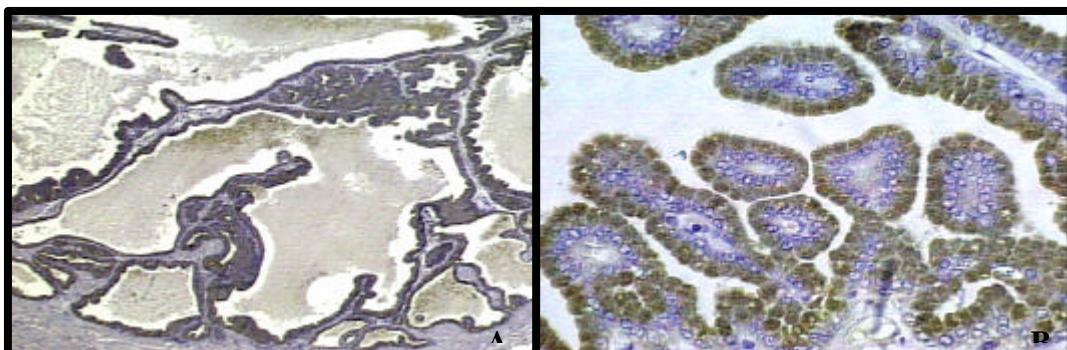


Figura 51: A) Fotomicrografia evidenciando área de hiperplasia cística, com marcação imunoistoquímica forte e homogênea, inclusive na secreção intraluminal. PSA, 65,5X.

B) Fotomicrografia demonstrando uma área de hiperplasia papilífera com marcação em 100% das células epiteliais secretoras. PSA, 500X.

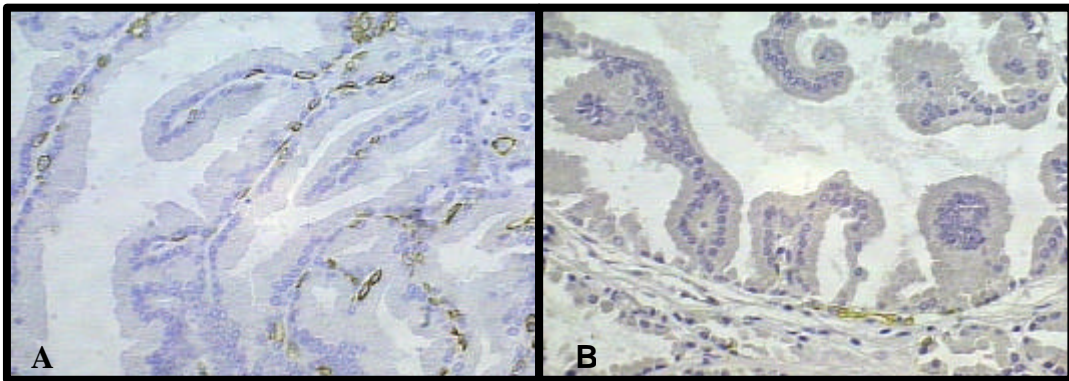


Figura 52: A) Fotomicrografia revelando a marcação esparsa de células acinares basais em uma área de hiperplasia epitelial papilífera. 34 β E12, 400X. B) Fotomicrografia evidenciando a marcação de um grupo de células acinares basais de uma área de hiperplasia epitelial cística e papilífera. 34 β E12, 400X

4.7 Estudo morfométrico

Os resultados do estudo morfométrico foram analisados estatisticamente para verificação do nível de significância entre os valores medianos correspondentes a cada componente tecidual, nas diferentes regiões e grupos estudados (Tabela 5).

Comparação entre grupos dos componentes teciduais por região (teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para amostras não pareadas):

Próstatas imaturas têm quantidade significativamente maior de CesT e menor de CepT que as normais e hiperplásicas em todas as regiões, enquanto as hiperplásicas tem quantidade significativamente maior de CesT e menor de CepT que as normais nas regiões periférica e central, não havendo diferença estatística entre elas na região periuretral.

Glândulas imaturas têm quantidade significativamente menor de EG que normais e hiperplásicas na região periuretral; menor quantidade que as normais, sem diferir estatisticamente das hiperplásicas na região central; e maior quantidade que as hiperplásicas, sem diferir das normais na região periférica. Próstatas hiperplásicas têm quantidade significativamente menor de EG que as normais nas regiões central e periférica, porém não diferem na periuretral.

Próstatas imaturas têm quantidade significativamente menor de LG que as normais e hiperplásicas em todas as regiões. Hiperplásicas e normais não diferem estatisticamente em todas as regiões.

Glândulas imaturas têm quantidade significativamente maior de TC que as normais e hiperplásicas em todas as regiões. Hiperplásicas não diferem significativamente das normais na região periuretral, porém têm maior quantidade deste componente que as normais nas regiões central e periférica.

Próstatas imaturas não diferem significativamente das normais e hiperplásicas na quantidade de ML em todas as regiões. Hiperplásicas têm menor quantidade de ML que as normais na região periuretral, porém não diferem significativamente na região central e têm maior quantidade que as normais na região periférica.

Comparação entre CEpT e CESt; EG e LG; TC e ML em uma mesma região e mesmo grupo (teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras pareadas):

Em glândulas imaturas há predomínio significativo do CesT em relação ao CepT nas regiões periuretral e central, porém estes componentes se equivalem estatisticamente na região periférica. Nas normais CesT e CepT se equivalem estatisticamente na região periuretral, enquanto o CepT predomina significativamente nas regiões central e periférica. Nas hiperplásicas o CesT predomina significativamente na região periuretral, enquanto nas regiões central e periférica o CepT prevalece.

A proporção entre EG e LG em glândulas imaturas, normais ou hiperplásicas mostra predomínio significativo de EG em todas as regiões.

Próstatas imaturas, normais ou hiperplásicas têm predomínio significativo de TC em relação à ML em todas as regiões.

Comparação entre regiões do mesmo componente tecidual em um mesmo grupo (teste não paramétrico de Friedman para amostras pareadas):

A quantidade de CEpT é significativamente maior na região periférica que na central, e nesta que na periuretral em próstatas imaturas, normais ou hiperplásicas.

A quantidade de CesT é significativamente maior na região periuretral que na central, e nesta que na periférica em próstatas imaturas, normais ou hiperplásicas.

Em glândulas imaturas, normais ou hiperplásicas a quantidade de EG é significativamente maior nas regiões central e periférica que na periuretral, porém não houve diferença estatística entre as regiões central e periférica nas normais e nas hiperplásicas, enquanto nas imaturas a região periférica tem quantidade significativamente maior que a central.

Em próstatas imaturas, normais ou hiperplásicas a quantidade de LG é significativamente maior nas regiões central e periférica que na periuretral, porém entre as regiões central e periférica não houve diferença estatística em glândulas imaturas ou normais, enquanto nas hiperplásicas a região periférica tem quantidade significativamente maior que a central.

Glândulas imaturas, normais ou hiperplásicas têm quantidade significativamente maior de TC na região periuretral que na central, e nesta que na periférica.

Em próstatas imaturas ou hiperplásicas a quantidade de ML é significativamente menor na região periuretral que nas regiões central e periférica, porém entre estas não há diferença estatística. Nas glândulas normais a quantidade de ML não difere estatisticamente entre as regiões.

Tabela 5: Medianas e valores percentuais máximos e mínimos de cada componente tecidual nas diferentes regiões de próstatas imaturas, normais e hiperplásicas.

Região/Componente tecidual	Imaturas	Normais	Hiperplásicas
Periuretral			
Componente epitelial total	17,50 ^{A, a, α} (1.7/44.44)	58,33 ^{B, a, α} (7.45/89.06)	44,81 ^{B, a, α} (5.28/88.55)
Epitélio glandular	16,82 ^{A, a, α} (1.45/33.23)	38,74 ^{B, a, α} (5.27/59.52)	30,02 ^{B, a, α} (4.21/62.40)
Lúmen glandular	0,98 ^{A, b, α} (0.14/11.21)	16,25 ^{B, b, α} (2.11/44.23)	13,05 ^{B, b, α} (0.45/46.43)
Componente estromal total	82,49 ^{A, b, α} (55.56/98.30)	41,66 ^{B, a, α} (10.94/92.55)	55,18 ^{B, a, α} (11.45/94.72)
Tecido conjuntivo	79,10 ^{A, a, α} (54.35/98.01)	40,36 ^{B, a, α} (9.95/88.18)	52,68 ^{B, a, α} (11.28/89.40)
Músculo liso	1,55 ^{AB, b, α} (0.05/16.37)	2,48 ^{A, b, α} (0.14/17.95)	0,6 ^{B, b, α} (0/28.69)
Central			
Componente epitelial total	37,49 ^{A, a, β} (4.04/75.25)	79,48 ^{B, a, β} (34.41/94.22)	67,54 ^{C, a, β} (5.37/91.95)
Epitélio glandular	32,28 ^{A, a, β} (3.86/73.27)	48,88 ^{B, a, β} (3.23/67.78)	39,67 ^{A, a, β} (2.67/76.24)
Lúmen glandular	2,58 ^{A, b, β} (0.18/21.27)	27,10 ^{B, b, β} (6.25/44.18)	20,78 ^{B, b, β} (0.76/58.77)
Componente estromal total	62,51 ^{A, b, β} (24.75/95.96)	20,51 ^{B, b, β} (5.78/65.59)	32,46 ^{C, b, β} (8.35/94.63)
Tecido conjuntivo	55,91 ^{A, a, β} (14.06/90.95)	18,75 ^{B, a, β} (5.29/51.88)	24,41 ^{C, a, β} (8.35/85.21)
Músculo liso	4,42 ^{A, b, β} (0/26.3)	1,64 ^{A, b, α} (0.33/33.21)	2,86 ^{A, b, β} (0/45)
Periférica			
Componente epitelial total	54,07 ^{A, a, γ} (19.65/89.42)	86,10 ^{B, a, γ} (52.64/93.87)	77,61 ^{C, a, γ} (15.33/96.48)
Epitélio glandular	46,78 ^{A, a, γ} (19.25/82.39)	55,28 ^{A, a, β} (35.24/69.85)	42,33 ^{B, a, β} (12.32/72.40)
Lúmen glandular	2,81 ^{A, b, β} (0.31/25.59)	30,91 ^{B, b, β} (10.82/47.77)	30,09 ^{B, b, γ} (2.41/59.39)
Componente estromal total	45,93 ^{A, a, γ} (10.58/80.35)	13,89 ^{B, b, γ} (6.13/47.36)	22,39 ^{C, b, γ} (3.52/84.67)
Tecido conjuntivo	41,01 ^{A, a, γ} (9.89/74.08)	12,23 ^{B, a, γ} (2.32/29.9)	18,53 ^{C, a, γ} (3.02/67.12)
Músculo liso	3,3 ^{AB, b, β} (0.12/27.37)	1,69 ^{A, b, α} (0.17/17.46)	3,79 ^{B, b, β} (0/57.93)

♦ Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis para cada componente tecidual (CEpT, EG, LG, CESt, TC ou ML), em uma determinada região (periuretral, central ou periférica) entre os grupos (imaturas, normais e hiperplásicas).

♦ Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Wilcoxon, dentro de um mesmo grupo (imaturas, normais ou hiperplásicas) e mesma região (periuretral, central ou periférica) entre: Componente epitelial total x componente estromal total; epitélio glandular x lúmen glandular; tecido conjuntivo x músculo liso.

♦ Letras gregas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman, comparando-se o mesmo componente tecidual (CEpT, EG, LG, CEsT, TC ou ML) entre as regiões (periuretral, central e periférica), dentro de cada grupo (imaturas, normais ou hiperplásicas).

5. DISCUSSÃO

5.1 Avaliação morfológica das próstatas

No presente estudo constatou-se que peso, volume, comprimento, largura e altura médios foram maiores em glândulas hiperplásicas que nas normais e nestas que nas imaturas. A média de idade dos animais inseridos nestes grupos foi de 6,8 anos, 1,8 anos e cinco meses, respectivamente. Corroborando com estes achados, Johnston et al. (2001) relatam que volume, comprimento, largura e altura da próstata estão positivamente correlacionados com a idade até os 11 anos, isto é, essas medidas aumentam com o avanço da idade do animal.

No trabalho em pauta observou-se que o peso prostático médio de glândulas imaturas, maduras normais e maduras com prostatite correspondeu a 0,16; 0,47 e 0,78g/Kg, respectivamente. Próstatas acometidas por hiperplasia estromal tinham em média 0,62g/kg; com hiperplasia epitelial cística 1,06g/Kg; hiperplasia epitelial papilífera 1,13g/Kg; e aquelas com hiperplasia complexa 1,56g/Kg.

Utilizando cães da raça Beagle, Poulet (1985) descreveu três fases de evolução da próstata; crescimento normal até os dois anos de idade, quando estabiliza, pesando cerca de 0,66g/Kg; crescimento anormal (hiperplasia) em cães com três a cinco anos pesando 0,67 a 1,0g/Kg e cães com seis a 16 anos pesando mais que 1,0g/Kg; e involução senil.

Uma vez que o trabalho conduzido por Poulet (1985) utilizou cães de raça pura, tais diferenças podem ser explicadas pelas variações no porte dos animais, em sua maioria sem raça definida, empregados no presente estudo, embora de maneira geral tenha havido sobreposição das faixas de peso em relação ao estágio de maturidade ou acometimento por hiperplasia em ambos estudos.

Em relação aos diferentes tipos de hiperplasia, não foram encontrados dados na literatura considerando-os separadamente. Neste estudo constatou-se que próstatas com hiperplasia complexa têm peso e volume maiores que aquelas com um dos tipos isoladamente (estromal, epitelial cística e epitelial papilífera). Contudo avaliando-se comprimento, largura e altura das glândulas, os maiores valores foram observados em próstatas com hiperplasia epitelial papilífera.

Em glândulas acometidas por prostatite, os valores obtidos nas mensurações anteriormente citadas mostraram-se maiores que os das imaturas e normais, sobrepondo-se em alguns casos aos das hiperplásicas.

Tais resultados são concordantes com os de Johnston et al. (2001) no que diz respeito ao aumento gradual da próstata com o decorrer da idade em cães não castrados, contudo demonstram também que esta não é uma manifestação específica da hiperplasia, visto que em glândulas com prostatite todos os valores mensurados foram maiores que das normais. Krawiec (1989) confirma estes achados relatando que a próstata pode aumentar de volume como resultado de inflamação aguda ou crônica, formação de abscessos, formações císticas e neoplasias.

Visto isso, pode-se afirmar que próstatas hiperplásicas apresentam peso, volume, comprimento, largura e altura maiores que as normais, entretanto estes dados não são suficientes para o diagnóstico de HPB, como citado por De Klerk et al. (1979).

5.2 Relação entre a idade e o desenvolvimento prostático dos animais

Zirkin e Strandberg (1984) relatam que cães com idade média de um, 2,5 e 6,4 anos apresentam próstatas imaturas, normais e hiperplásicas, respectivamente. No presente estudo observou-se que a média de idade dos animais com próstatas imaturas foi de cinco meses; normais 1,8 anos; e hiperplásicas 6,8 anos.

Com relação a glândulas hiperplásicas, os resultados obtidos nos dois estudos não diferem de maneira expressiva, entretanto a diferença

observada a respeito de próstatas imaturas e normais parece relevante. Tal dessemelhança entre as médias de idade em relação às glândulas imaturas poderia ser explicada pela idade mínima dos animais utilizados, visto que na primeira pesquisa o animal mais jovem tinha oito meses, enquanto no presente estudo um mês de idade, o que pode ter reduzido a média. Quanto às normais, Zirkin e Strandberg (1984) dispuseram de animais de raça pura (Beagle), enquanto a maioria dos animais era sem raça definida no presente trabalho. Tal fator é relevante quando considera-se que a idade em que os cães atingem a maturidade sexual pode variar de acordo com o porte do animal e está diretamente relacionada ao desenvolvimento morfológico dos órgãos reprodutivos, de forma que cães de pequeno porte geralmente atingem a puberdade mais cedo que os de grande porte (Johnston et al., 2001).

5.3 Estudo histopatológico das próstatas

Concordando com o relatado previamente por Zirkin e Strandberg (1984), as próstatas imaturas analisadas caracterizaram-se pela presença de ácinos pouco desenvolvidos, observando-se ainda lúmem glandular reduzido, secreção intraluminal ausente ou discreta e predomínio de tecido estromal, principalmente na região periuretral. Em 35% destas notou-se também discreta infiltração leucocitária (mononuclear em 87% dos casos), sem alterações morfológicas secundárias.

No presente trabalho 67% das glândulas examinadas apresentaram algum tipo de alteração, e embora não constem dados referentes à história clínica destes animais, todos eram adultos ou idosos. Em meio aos 33% sem alterações encontravam-se os animais com glândulas imaturas, entre os quais o mais velho tinha um ano e meio, e aqueles com glândulas maduras normais, cuja idade variou entre oito meses e três anos e sete meses. Tais resultados confirmam os dados encontrados na literatura no que concerne à alta incidência de alterações prostáticas em animais adultos e idosos (Olson et al., 1987; Krawiec, 1994; Dorfman e Barsanti, 1995).

No presente estudo, onde foram consideradas alterações detectadas ao exame histopatológico, sem avaliação clínica, a hiperplasia prostática foi observada em um maior número de glândulas (59%), seguida por atrofia glandular (38%), displasia do epitélio glandular (33%), dilatação glandular focal (15%), destruição do epitélio glandular (9%), prostatites (8%), cistos (de retenção ou paraprostático) (6%), metaplasia escamosa (2%), hemorragias (2%) e abscessos (1%).

Oliveira et al. (1996), em estudo com caninos encaminhados à necropsia, observaram que 84.6% dos animais apresentavam lesões nesta glândula, dentre as quais a HPB foi a mais freqüente (36.9%), seguida por prostatites (24.6%), cistos (12.3%) e neoplasias (4.6%). Por outro lado, Krawiec e Heflin (1992) avaliando a incidência de afecções prostáticas em animais vivos encontraram, em ordem de freqüência, prostatites, cistos (incluindo os de retenção e aqueles associados à hiperplasia glandular), adenocarcinomas e HPB. Entretanto, os próprios autores acreditam que os casos de hiperplasia foram subestimados, visto que vários animais com aumento de volume prostático não submetidos a exame histopatológico para confirmação do diagnóstico foram desconsiderados.

A ocorrência de duas ou mais alterações na mesma glândula foi comum (95%), sugerindo que uma vez instalada uma lesão, a próstata torna-se susceptível a outras subseqüentes, contudo é difícil definir morfológicamente qual o processo primário. No que concerne à inflamação ou infecção da próstata, Dorfman e Barsanti (1995) relatam que qualquer fator que altere o fluxo do fluido prostático (HPB, cistos) ou que aumente o número de bactérias no trato gênito-urinário (infecções do trato urinário inferior, neoplasias) favorece o desenvolvimento de tais afecções.

Quanto à hiperplasia, em 1978 Metten *apud* Olson et al. (1987) observou que áreas de hiperplasia glandular podem estar associadas à atrofia do epitélio secretor, proliferação dos elementos estromais (colágeno e músculo liso) e dilatações císticas, além de inflamação que usualmente acompanha o processo.

Tal associação de alterações morfológicas vista principalmente em animais mais velhos, pode ser um dos fatores responsáveis pela dificuldade no diagnóstico destas afecções por biopsia, como notado previamente por Laufer Amorim (2001).

Infiltrado inflamatório, principalmente mononuclear, se fez presente em 71% das glândulas avaliadas, embora não fosse a alteração prevalente na maioria dos casos.

A caracterização de um quadro de prostatite deu-se pela presença de infiltrado inflamatório moderado ou intenso em glândulas maduras, geralmente associado a outras alterações como atrofia do epitélio glandular, dilatações glandulares focais, displasia do epitélio glandular, cistos, destruição glandular e discreta proliferação estromal.

No cão, a prostatite bacteriana pode ocorrer de forma aguda ou crônica. A forma aguda constitui-se de inflamação focal ou difusa, supurativa, com acúmulo de quantidade variável de exsudato nos lúmens glandulares podendo haver comprometimento do estroma. Casos crônicos distinguem-se por agregados de linfócitos, plasmócitos e macrófagos no estroma fibromuscular, sendo comum a atrofia glandular (Ladds, 1993; Laufer Amorim, 2001). No homem identifica-se também a prostatite não bacteriana, que exhibe aspecto histopatológico semelhante ao observado na prostatite crônica, porém com repetidas culturas microbiológicas negativas (Nickel, 1997).

Entre os casos de prostatite (8%) observados, 75% tinham características compatíveis com as descritas anteriormente em referência a processos crônicos e os 25% remanescentes aos agudos.

Em relação aos quadros de hiperplasia (59%), Barsanti (1999) refere que é a alteração mais comum da próstata canina, visto que cerca de 100% dos cães não castrados desenvolvem evidências histológicas desta afecção com o avançar da idade.

Embora a frequência da doença aumente com o avanço da idade, o processo pode iniciar-se aos dois ou três anos (De Klerk et al., 1979), podendo acometer 40% dos cães com 2,5 anos, 80% daqueles com mais de

seis anos e 95% com mais de nove anos (Barsanti e Finco, 1992). Estes resultados são próximos dos obtidos neste trabalho, onde 27% dos animais com até quatro anos de idade, 91% daqueles com mais de quatro e menos de nove anos, e 100% dos cães com mais de nove anos apresentavam hiperplasia prostática.

A definição do padrão histológico da HPB canina mantém-se como um assunto polêmico mesmo após inúmeros trabalhos inerentes ao tema. No presente estudo, a hiperplasia prostática foi classificada como epitelial cística, epitelial papilífera ou estromal, sendo freqüente a associação de dois ou dos três tipos na mesma glândula (69% dos casos). A associação de hiperplasia cística e estromal, assim como de cística, papilífera e estromal na mesma próstata foram as mais freqüentes (ambas representaram 27% dos casos). Entre as glândulas com apenas um tipo de hiperplasia, dois padrões estiveram presentes com incidência semelhante: hiperplasia epitelial papilífera e hiperplasia estromal (14% dos casos).

De Klerk et al. (1979) e Poulet (1985) sugeriram que dois tipos de hiperplasia são possíveis: glandular – caracterizada por projeções elaboradas de epitélio hipertrófico e hiperplásico em direção ao lúmen, gerando aumento de volume do ácino como um todo – e cística – composta por epitélio hiperplásico tipo cúbico, com formação de grandes cavidades e aumento da quantidade de estroma.

Juniewicz et al. (1994) e Klausner et al. (1994) denominaram hiperplasia complexa o aumento assimétrico da glândula, com áreas de hiperplasia glandular intercaladas com focos de atrofia, onde os elementos estromais são proeminentes, os ácinos freqüentemente dilatados, císticos e preenchidos por material eosinofílico, podendo conter também focos de inflamação crônica e metaplasia escamosa.

Laufer Amorim (2001) descreveu a ocorrência de hiperplasia estromal, caracterizada pela proliferação do estroma fibroso ou muscular, associada com freqüência à atrofia glandular e infiltrado inflamatório mononuclear.

Traçando-se um paralelo entre os resultados do presente trabalho e dos dados que constam na literatura torna-se possível inferir que histologicamente três tipos de hiperplasia podem ocorrer isoladamente ou concomitantemente: Hiperplasia epitelial papilífera, caracterizada pela proliferação digitiforme do epitélio glandular em direção ao lúmem, com aumento do número de camadas de células secretoras; hiperplasia epitelial cística, constituída por dilatações acinares de proporções variadas, cujo epitélio pode tornar-se achatado e o lúmem preenchido por material eosinofílico, acompanhada ou não de áreas de atrofia glandular e infiltrado inflamatório; e hiperplasia estromal, marcada pela proliferação de tecido conjuntivo e/ou musculatura lisa, geralmente acompanhada de atrofia glandular e infiltração leucocitária mononuclear. A denominação hiperplasia complexa parece adequada para designar glândulas acometidas por dois ou pelos três tipos anteriormente citados, sendo a de ocorrência mais freqüente.

Em relação ao tipo histológico de hiperplasia observado, a idade média dos cães variou de cinco a 8,5 anos. Em animais com hiperplasia epitelial papilífera foi de 5,8 anos; com epitelial cística 5 anos; epitelial papilífera e cística 5,5 anos; estromal 8,5 anos; epitelial papilífera e estromal 6 anos; epitelial cística e estromal 6,5 anos; epitelial papilífera, cística e estromal 7,5 anos. Laufer Amorim (2001) encontrou cães com médias de idade mais altas nos grupos com hiperplasia epitelial papilífera (7,1 anos); epitelial cística (10,7 anos); epitelial papilífera e cística (11,6 anos); e epitelial papilífera e estromal (7,6 anos), enquanto naqueles com hiperplasia estromal a idade média foi semelhante (8,1 anos), não havendo menção às demais associações no referido trabalho.

Os resultados obtidos no presente estudo estão em desacordo com os relatados por Juniewicz et al. (1994), Klausner et al. (1994) e Barsanti (1999) quanto à ocorrência de hiperplasia glandular, cujo predomínio estaria entre os animais com 2,5 anos em média. Contudo, são concordantes com estes autores no que concerne ao tipo complexo, observado naqueles com mais de cinco anos.

Quanto à incidência de infiltrado inflamatório em próstatas hiperplásicas (93%), há concordância com De Marzo et al. (1999), que referem este processo freqüentemente acompanhando anormalidades da proliferação celular. Lee et al. (1997) acrescentam que dentre os fatores ambientais que contribuem para o desenvolvimento da hiperplasia, a presença de infiltrado inflamatório mononuclear não relacionado a microorganismos pode ser considerada um fator somático, visto que estas células produzem interleucinas as quais estimulam a formação de matriz pela síntese de colágeno, assim como promovem a proliferação das células estromais e epiteliais da próstata. Chew (1997) adiciona que a HPB predispõe a glândula ao desenvolvimento de prostatite bacteriana e a formação de abscessos.

A atrofia do epitélio glandular foi notada em 38% das próstatas, estando associada principalmente à hiperplasia estromal e infiltrado inflamatório. Estes achados estão de acordo com a literatura no que diz respeito à associação de atrofia glandular com inflamação da próstata, involução senil e HPB (De Klerk et al., 1979; Poulet, 1985; Metten, 1978 *apud* Olson et al., 1987; Ladds, 1993).

Focos de displasia do epitélio glandular, vistos em 33% das glândulas estudadas encontravam-se geralmente em áreas com intensa infiltração leucocitária, assim como observado previamente por Laufer Amorim (2001).

A displasia do epitélio glandular, atualmente denominada neoplasia intra-epitelial prostática (PIN) na literatura humana, é considerada a fase pré-maligna do adenocarcinoma prostático (McNeal e Bostwick, 1986; De Marzo et al., 1999). Em cães, o potencial pré-maligno desta lesão vem sendo estudado e já são conhecidos alguns aspectos semelhantes aos observados em humanos, em relação à morfologia, imunofenótipo e associação com o câncer (Waters e Bostwick, 1997b; Waters et al., 1998).

Em 15% das próstatas avaliadas observaram-se dilatações glandulares focais que não faziam parte de um quadro de hiperplasia cística,

nem condiziam com a definição de cisto de retenção. É possível que estas alterações correspondam aos estágios iniciais da hiperplasia cística.

Áreas de destruição do epitélio glandular, presentes em 9% das glândulas, associavam-se a focos com intenso infiltrado inflamatório mono e polimorfonuclear, tanto no lúmen quanto no interstício glandular. Segundo Ladds (1993) o infiltrado inflamatório intraluminal pode estender-se para o estroma adjacente, o que poderia ter produzido tais lesões no epitélio acinar.

No presente trabalho foram observados cistos em 6% dos casos e caracterizaram-se microscopicamente por grandes dilatações glandulares isoladas, repletas de secreção e recobertas por epitélio geralmente achatado, como descrito por Ladds (1993) e Johnston et al. (2000). Em uma destas glândulas notou-se também um cisto do tipo paraprostático, cuja provável origem, segundo a literatura, está em restos embrionários dos ductos Müllerianos, localizando-se fora do parênquima prostático (Ladds, 1993; Vannucchi et al., 1997; Johnston et al., 2000).

A metaplasia escamosa do epitélio glandular da próstata está relacionada ao hiperestrogenismo endógeno ou exógeno, levando freqüentemente ao acúmulo de secreção intraluminal e formação de cistos de retenção (Ladds, 1993; Dorfman e Barsanti, 1995; Vannucchi et al., 1997). No estudo realizado duas glândulas apresentaram focos de metaplasia escamosa, com formação de cisto em um deles.

5.4 Distribuição anatômica da hiperplasia

No presente estudo foi possível observar-se glândulas acometidas de forma difusa ou segmentar, esta última caracterizada pela presença de um ou mais lóbulos afetados, sem o comprometimento da próstata como um todo. Esta apresentação não foi encontrada na literatura, onde se afirma que no homem a hiperplasia prostática manifesta-se de forma nodular, padrão não observado neste trabalho, enquanto no cão de maneira difusa (Wilson, 1980; Isaacs, 1983).

Pode-se sugerir que este seja um estágio intermediário no desenvolvimento da doença e pressupor-se que posteriormente a glândula seria totalmente acometida, visto que em 86% dos casos analisados o órgão apresentava-se comprometido de maneira difusa, embora o processo fosse mais evidente na região externa da glândula que nas adjacências da uretra.

Tal observação poderia justificar a manifestação clínica da hiperplasia prostática no cão, uma vez que a maioria dos animais apresenta sinais de compressão retal pela expansão externa do órgão, e não de compressão uretral por crescimento interno, como ocorre no homem (Lowseth et al., 1990; Ladds, 1993; Chew, 1997; Barsanti, 1999; Jones et al., 2000).

5.5 Utilização da imunistoquímica em próstatas caninas

O anticorpo citoceratina 19 (CK-19) é descrito em humanos como útil na marcação do epitélio glandular prostático, inclusive de células basais (Cavalcante e Alves, 1999), entretanto neste estudo isto não ocorreu em próstatas caninas. A marcação foi positiva no epitélio secretor, porém foi negativa na camada de células basais, inviabilizando sua utilização no cão com o objetivo de identificar este tipo celular.

A marcação para o anticorpo PSA resultou em positividade nas células secretoras e secreção intraluminal quando presente, condizendo com o padrão observado em humanos (Cavalcante e Alves, 1999), entretanto, algumas particularidades em relação à maturidade das glândulas estiveram presentes.

A marcação para o anticorpo PSA foi positiva em 87% das próstatas imaturas, 100% das normais e 93% das hiperplásicas. Uma vez que o antígeno prostático específico é uma glicoproteína secretada pelo epitélio prostático, a marcação para o anticorpo PSA está diretamente relacionada à atividade secretora destas células (McEntee et al., 1987), o que poderia explicar a ausência de marcação em uma glândula com hiperplasia estromal e atrofia difusa do epitélio secretor, assim como em 13% das glândulas imaturas, nas quais a função secretora ainda está em desenvolvimento.

Embora não tenham sido encontrados dados na literatura referentes aos níveis teciduais de PSA em cães com próstatas imaturas, sabe-se que em humanos estes níveis são baixos do nascimento aos três meses de idade, momento em que ocorre um pico que se mantém até os seis meses, voltando a declinar entre seis meses e dez anos de idade, quando começa a aumentar novamente, atingindo um segundo pico entre 15 e 18 anos (Epstein, 1999). Talvez estas fases de pico e declínio nos níveis teciduais de PSA ocorram também no cão, alterando o padrão de marcação imunoistoquímica nesta etapa do desenvolvimento prostático.

Quanto às próstatas normais e hiperplásicas, a marcação do epitélio secretor para PSA foi intensa e homogênea, excetuando-se áreas de atrofia glandular, o que está de acordo com os resultados de McEntee et al. (1987).

A padronização do anticorpo citoceratina de alto peso molecular (clone 34 β E12) resultou em marcação negativa para células secretoras e positiva para as basais, contudo não foi uniforme na maioria dos ácinos. Ao contrário, em humanos, a marcação de células basais é homogênea, permitindo a identificação celular e avaliação da integridade da camada de células basais, que deve manter-se íntegra nos casos de HPB sendo um diferencial para focos neoplásicos (Helpap, 1998; Cavalcante e Alves, 1999).

Embora em humanos este anticorpo seja, atualmente, o mais indicado para esta função (Helpap, 1998), nas glândulas caninas avaliadas a marcação foi positiva em apenas 27, 25 e 34% das próstatas imaturas, normais e hiperplásicas, respectivamente, e mesmo assim o escore de marcação foi geralmente o mais baixo.

Visto que a integridade da camada de células basais só é perdida nos casos em que há proliferação celular com invasão, isto é, em situações em que neoplasias malignas estão presentes (Epstein, 1997; Cavalcanti e Alves, 1999), pode-se considerar que no presente estudo a marcação não foi efetiva, pois nem mesmo em glândulas imaturas ou normais se fez presente de forma

adequada, impossibilitando a avaliação deste critério diferencial nas próstatas hiperplásicas.

Talvez com o advento de novos reagentes, formas de recuperação antigênica ou anticorpos, torne-se possível a marcação das células basais da próstata canina, assim como ocorre na humana.

5.6 Estudo morfométrico

Constatou-se que próstatas imaturas têm maior quantidade de tecido estromal que as normais (maduras) devido ao predomínio de tecido conjuntivo; e menor quantidade de tecido epitelial por apresentar área percentual correspondente aos lúmens glandulares menor (Tabela 5), evidenciando a importância da mensuração dos lúmens isoladamente (Bartsch et al., 1979; Lowseth et al., 1992).

A avaliação de diferentes regiões da próstata canina separadamente permitiu observar que a quantidade dos componentes teciduais varia conforme a região analisada (periuretral, central ou periférica) tanto em glândulas imaturas quanto nas normais e hiperplásicas. Nos três grupos notou-se maior quantidade de tecido epitelial na região periférica que na central, e nesta que na periuretral; assim como mais tecido estromal na região periuretral que na central, e nesta que na periférica (Tabela 5). Estes dados se assemelham aos observados em próstatas humanas normais, onde a camada interna tem predomínio de tecido estromal e a externa de tecido epitelial (Bartsch et al., 1979).

Não foram encontrados trabalhos na literatura considerando estas três regiões isoladamente, ainda que Lepor et al. (1992) tenham avaliado separadamente a densidade de músculo liso na região periférica.

As diferenças observadas entre regiões da mesma glândula no presente estudo podem implicar em dificuldades na avaliação de biopsias prostáticas de cães com hiperplasia, visto que a depender da área amostrada o resultado poderá diferir. Isto inviabiliza a escolha de terapêutica específica, como se procede em humanos, onde pacientes com o componente estático

(células epiteliais) mais desenvolvido respondem melhor ao tratamento com inibidores de 5- α -redutase, enquanto os bloqueadores seletivos de receptores α -1-adrenérgicos são mais eficientes naqueles com predomínio do dinâmico (estromal) (Deering et al., 1994; Zlotta et al., 1996).

Embora diferenças tenham sido observadas entre as regiões glandulares no presente estudo, de modo geral o componente estromal predominou em relação ao epitelial em próstatas imaturas, e o componente epitelial predominou em relação ao estromal em glândulas normais e hiperplásicas.

Estes resultados são concordantes aos de Zirkin e Strandberg (1984) que relatam que em próstatas não acometidas pela HPB, a densidade de tecido epitelial é menor e a de tecido estromal maior em cães jovens (0,7 a 2,3 anos) que em cães adultos e idosos (2,4 a 9,2 anos).

No cão, Barsanti e Finco (1992) relatam que o estroma fibromuscular predomina na próstata canina antes da maturidade sexual, que ocorre entre seis meses e um ano de idade, e que após este período as células epiteliais passam a predominar, como observado no presente estudo.

Os resultados obtidos permitem afirmar que em próstatas caninas imaturas, normais e hiperplásicas o percentual de epitélio glandular predomina em relação ao lúmen, assim como o de tecido conjuntivo predomina em relação à musculatura lisa (Tabela 5). Estes resultados diferem dos observados na literatura humana, onde Shapiro et al. (1997) notaram que a proporção entre músculo liso e tecido conjuntivo varia no período entre o nascimento e os vinte anos de idade, embora a proporção entre tecido epitelial e estromal permaneça constante.

Em relação às diferenças entre as regiões periférica e central, Lepor et al. (1992) referem que a densidade de músculo liso na região periférica é cerca de 1,6 vezes maior que na região central, entretanto no presente estudo a quantidade de músculo liso não diferiu estatisticamente entre as regiões em próstatas normais.

Isaacs (1983) notou que a HPB envolve primariamente elementos glandulares, com menor envolvimento estromal, Lowseth et al. (1990) sugerem que, como no homem, há um maior envolvimento estromal que glandular, e Johnston et al. (2000) consideram que a HPB em cães caracteriza-se pelo crescimento prostático em seus componentes glandulares e estromais.

No presente trabalho quando o percentual correspondente aos diferentes componentes teciduais de próstatas hiperplásicas foi comparado ao das normais, notou-se que o percentual de tecido estromal nas regiões central e periférica das glândulas hiperplásicas é significativamente maior que das normais, principalmente por apresentar mais tecido conjuntivo. Ao mesmo tempo, nestas regiões o percentual de tecido epitelial é menor em glândulas hiperplásicas que nas normais, especialmente pela menor quantidade de epitélio glandular (Tabela 5).

Tais resultados indicam que embora haja maior quantidade de tecido epitelial que de tecido estromal nas glândulas hiperplásicas quando avaliadas isoladamente, o que as diferencia das normais é a maior quantidade de tecido estromal e menor de tecido epitelial nas regiões central e periférica. Ao contrário, Zirkin e Strandberg (1984) sugerem que, proporcionalmente, o volume de tecido glandular e estromal é semelhante em próstatas caninas normais e hiperplásicas, embora a próstata tenha sido avaliada como um todo.

No presente a área percentual correspondente aos lumens glandulares não diferiu estatisticamente entre próstatas normais e hiperplásicas, mesmo considerando-se as diferentes regiões da glândula, enquanto Lowseth et al. (1990) sugerem que o aumento no volume absoluto de tecido glandular está primariamente relacionado às dilatações císticas do lúmen acinar e que não é resultado de um aumento absoluto no volume do epitélio glandular. O fato de terem sido mensuradas glândulas contendo a associação de diferentes tipos de hiperplasia pode ter sido responsável pela não detecção de maior percentual correspondente aos lumens quando considerada a média dos campos avaliados.

Bartsch e Rohr (1980) observaram que na próstata humana normal o componente estromal representa aproximadamente 50% da glândula, enquanto na hiperplásica constitui 60% do total. Em contrapartida notaram que na próstata canina normal 38% do tecido compunha-se de estroma, enquanto 25% da próstata hiperplásica continha este componente, dados estes divergentes aos do presente estudo, onde o percentual de estroma foi significativamente maior nas hiperplásicas que nas normais, levando-se em conta as regiões central e periférica.

Em humanos os dados são controversos. Rohr e Bartsch (1980) observaram aumento de aproximadamente quatro vezes na quantidade absoluta de tecido estromal em glândulas com HPB em relação às normais, enquanto o componente epitelial aumentava quase duas vezes. Na mesma linha de pesquisa, Bartsch et al. (1987) não encontraram diferença significativa na densidade absoluta de células epiteliais, porém notou-se um significativo aumento na densidade absoluta de estroma. Entretanto, Shapiro et al. (1997) relatam que tanto próstatas normais quanto hiperplásicas têm cerca de 80% de estroma e que a proporção estroma-epitélio permanece constante em crianças, adultos normais e adultos com HPB.

Na presente pesquisa observou-se que próstatas caninas hiperplásicas têm menor quantidade de musculatura lisa que as normais na região periuretral, sugerindo que o envolvimento deste componente tecidual não seja marcante no desenvolvimento de obstrução urinária. Lepor et al. (1992) apóiam esta hipótese, referindo que a próstata humana tem maior proporção de músculo liso e geralmente maior tensão na presença de α -1 agonistas que o cão, e com isso justificam a maior incidência de obstrução urinária no homem (Lepor et al., 1992).

Estudos morfométricos realizados em próstatas humanas com HPB, objetivando avaliar a prevalência dos diferentes componentes celulares deste tecido, obtiveram os seguintes resultados: tecido fibroso 47%, músculo liso 8%, tecido vascular 3% e tecido glandular 18% (Siegel et al., 1990); tecido fibroso 54%, músculo liso 22%, epitélio glandular 16% e lúmen acinar 9%

(Shapiro et al., 1992a). No primeiro, a coloração utilizada foi hematoxilina e eosina e a proporção de músculo liso representou 12% do estroma. No segundo técnicas de imunistoquímica foram utilizadas e a proporção de músculo liso representou 29% do estroma. Essa diferença pode ser explicada pela dificuldade de se identificar a musculatura lisa pela coloração de hematoxilina e eosina e demonstra a utilidade da imunistoquímica na realização destes estudos.

Embora técnicas imunistoquímicas não tenham sido utilizadas para a identificação da musculatura lisa, a coloração Tricrômio de Masson permitiu a visualização deste componente, assim como a perfeita distinção do tecido conjuntivo. Visto que esta coloração é um método pouco oneroso e possibilita a diferenciação dos elementos estromais da próstata, pode substituir a imunistoquímica se a única intenção for a identificação destes componentes.

6. Conclusões

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho, foi possível concluir-se que:

Os valores médios referentes a peso, volume, comprimento, largura e altura prostáticos são maiores em glândulas hiperplásicas que nas normais e nestas que nas imaturas, indicando crescimento gradual da glândula com o decorrer da idade.

Glândulas com hiperplasia do tipo complexo apresentaram peso (1,56g/Kg P.V.) e volume (1,52cc/Kg P.V.) médios superiores aos observados em próstatas acometidas por um dos tipos isoladamente (estromal, epitelial cística ou epitelial papilífera), enquanto comprimento, largura e altura médios foram mais elevados naquelas com hiperplasia epitelial papilífera (3,61, 3,83 e 3,03cm, respectivamente).

A média de idade dos animais com próstatas imaturas foi de cinco meses, normais de 1,8 anos e hiperplásicas 6,8 anos.

Alterações histológicas ocorreram em 67% das próstatas analisadas, e em 100% das glândulas de animais com mais de três anos e sete meses de idade.

A associação de duas ou mais lesões na mesma glândula foi mais freqüente (95%) que o acometimento por uma afecção isoladamente, o que pode gerar dificuldade no diagnóstico de amostras biopsiadas.

Infiltração leucocitária, principalmente mononuclear, esteve presente em 71% das próstatas, sem caracterizar necessariamente um quadro

de prostatite, associando-se principalmente à displasia e atrofia do epitélio glandular.

A hiperplasia prostática foi a alteração mais freqüente (59%), sendo encontrada em 27% dos animais com até quatro anos, 91% daqueles com mais de quatro e menos de nove anos, e 100% dos cães com mais de nove anos.

Quanto ao padrão histológico, observou-se hiperplasia epitelial papilífera, epitelial cística, estromal e complexa, caracterizada pela ocorrência simultânea de dois ou dos três tipos, cuja prevalência foi a mais elevada (69%).

A distribuição anatômica da hiperplasia foi difusa em 86% dos casos, contudo um padrão segmentar foi observado no restante das próstatas avaliadas, envolvendo um ou mais lóbulos sem o acometimento da glândula como um todo. Tal distribuição não foi encontrada na literatura.

O anticorpo de uso humano PSA mostrou-se adequado para a marcação de próstatas caninas normais e hiperplásicas.

Próstatas caninas imaturas, normais e hiperplásicas apresentam diferenças morfológicas intrínsecas entre as regiões periuretral, central e periférica, observando-se variações na área percentual referente aos componentes epiteliais e estromais totais, assim como ao epitélio e lúmem glandulares, tecido conjuntivo e musculatura lisa.

A quantidade de tecido epitelial foi maior e a de tecido estromal menor na região periférica que na central, e nesta que na periuretral em todos os estágios de desenvolvimento das glândulas avaliadas.

O epitélio glandular predominou em relação ao lúmem e o tecido conjuntivo em relação à musculatura lisa em todas as regiões de próstatas caninas imaturas, normais e hiperplásicas.

A quantidade de musculatura lisa na região periuretral de glândulas hiperplásicas foi menor que nas normais.

Próstatas imaturas têm predomínio de tecido estromal, enquanto nas normais e hiperplásicas o tecido epitelial predomina, contudo comparando-se estes dois grupos observa-se que a principal diferença consiste na maior

quantidade de tecido estromal e menor de tecido epitelial nas regiões central e periférica.

7. Referências Bibliográficas:

- ARENAS, M. I., ROMO, E., ROYUELA, M., ANTONIO, R., BENITO, F., SANCHEZ-CHAPADO, M., PANIAGUA, R. Morphometric evaluation of the human prostate. **Intern. J. Androl.**, v.24, p.37-47, 2001.
- BARSANTI, J.A. Prostatic infections: diagnosis and therapy. **Bayer Selected Proceedings**, p.40-9, 1998.
- BARSANTI, J.A. Prostatic hyperplasia: medical therapy. **Proc. Am. Clin. Vet. Int. Med.** v.17, p.536-8, 1999.
- BARSANTI, J.A., FINCO, D.R. Evaluation of techniques for diagnosis of canine prostatic diseases. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.185, p.198-200, 1984.
- BARSANTI, J.A., FINCO, D.R. Moléstias prostáticas do cão. In: ETTINGER , S.J. (Eds). **Tratado de medicina interna veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole. v.4, 1992. p.1941-63.
- BARSANTI, J.A., SHOTTS, E.B., PRASSE, K., CROWELL, W. Evaluation of diagnostic techniques for canine prostatic diseases. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.177, p.160-3, 1980.
- BARTSCH, G., ROHR, H.P. Comparative light and microscopic study of the human, dog and rat prostate: An approach to an experimental model for human benign prostatic hyperplasia. **Urol. Int.**, v.35, p.91-104, 1980.
- BARTSCH, G., MÜLLER, H.R., OBERHOLZER, M., ROHR, H.P. Light microscopic stereological analyses of the normal human prostate and benign prostatic hyperplasia. **J. Urol.**, v.122, p.487-564, 1979.
- BARTSCH, G., KEEN, F., DAXENBICHLER, G., MARTH, CH., MARGREITER, A., BRÜNGGER, A., SUTTER, T., ROHR, H.P. Correlation of biochemical

- (receptors, endogenous, tissue hormones) and quantitative morphologic (stereologic) findings in normal and hyperplastic human prostates. **J. Urol.**, v.137, p.559-64, 1987.
- BEERY, S.J., COFFEY, D.S., EWING, L.L. Effect of aging on prostate growth in beagles. **Am. J. Physiol.**, v. 19, p. 1039-46, 1986.
- BRENDLER, C.B., BERRY, S.J., EWING, L.L. Spontaneous benign prostatic hyperplasia in the beagle: Age associated changes in serum hormone levels, and the morphology and secretory function of the canine prostate. **J. Clin. Invest.**, v. 71, p. 1114-23, 1983.
- BRUENGER, G., BARTSCH, G., HOLLINGER, B.E., HOLLY, B., ROHR, H.P. Smooth muscle cell of the canine prostate in spontaneous benign hyperplasia, steroid induced hyperplasia and estrogen or tamoxifen treated dogs. **J. Urol.**, v.130, p.1208-10, 1983.
- CAVALCANTI, F.B.C., ALVES, V.A.F. Tumores urológicos. In: ALVES, V.A.F., BACCHI, C.E., VASSALLO, J. **Manual de imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia. 1999. p. 47-54.
- CHEW, D.J. An overview of prostatic disease. **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v.19, p.80-5, 1997.
- CORNEL, K.K., BOSTWICH, D.G., COOLEY, D.M., HALL, G., HARVEY, H.J., HENDRICK, M.J., PAULI, B.U., RENDER, J.A., STOICA, G., SWEET, D.C., WATERS, D.J. Clinical and pathologic aspects of spontaneous canine prostate carcinoma: A retrospective analysis of 76 cases. **Prostate**, v.45, p.173-83, 2000.
- COTRAN, R. S., KUMAR, V., ROBBINS, S.L. The male genital tract. In: _____ **Robbins, Pathological basis of disease**. 6ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p.1011-34, 1999.
- DE KLERK, D.P., COFFEY, D.S., EWING, L.L., MCDERMOTT, I.R., REINER, W.G., ROBINSON, C.H., SCOTT, W.W., STRANDBERG, J.D., TALALAY, P., WALSH, L.G., WHEATON, L.G., ZIRKIN, B.R. Comparison of spontaneous and experimentally induced canine prostatic hyperplasia. **J. Clin. Invest.**, v.64, p.842-9, 1979.

- DE MARZO, A.M., COFFEY, D.S., NELSON, W.G. New concepts in tissue specificity for prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. **Urology**, v.53, suppl. 3A, p.29-40, 1999.
- DEERING, R.E., BIGLER, S.A., KING, J., CHOONGKITTAWORN, M., ARAMBURU, E., BRAWER, M.K. Morphometric quantitation of stroma in human benign prostatic hyperplasia. **Urology**, v.44, p.64-70, 1994.
- DORFMAN, M., BARSANTI, J. Diseases of the canine prostatic gland. **Comp. Cont. Ed.**, v.17, p.791-811, 1995.
- EPSTEIN, J.I. PSA and PAP as immunohistochemical markers in prostate cancer. **Urol. Clin. North. Am.**, v.20, p.757-70, 1993.
- EPSTEIN, J.I. Non-neoplastic diseases of the prostate. In: BOSTWICK, D.E., EBLE, J.N. **Urologic Surgical Pathology**, St Louis: Mosby. 1997. p.307-16.
- EWING, L.L., BERRY, S.J., HIGGINBOTTOM, E.G. Dihydrotestosterone concentration of beagle prostatic tissue: effect of age and hyperplasia. **Endocrinology**, v.113, p.2004-9, 1983.
- GIMENO, E.J. Fundamentos de Imunohistoquímica aplicada a patologia veterinária. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 7, 1995, Belo Horizonte. **Anais...**1995, p.35.
- GRAYHACK, J.T., KOZLOWSKI, J.M., LEE, C. The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia: a proposed hypothesis and critical evaluation. **J. Urol.**, v.160, p.2375-80, 1998.
- GRIFFITHS, K., EATON, C.L., HARPER, M.E., PEELING, B., DAVIES, P. Steroid hormones and the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. **Eur. Urol.**, v.20, suppl. 2, p.68-77, 1991.
- HELPAP, B. Differential diagnosis of glandular proliferations in the prostate. A conventional and immunohistochemical approach. **Virchows Arch.**, v.433, p.397-405, 1998.
- ISAACS, J.T. Changes in dihydrotestosterone metabolism and the development of benign prostatic hyperplasia in the aging beagle. *J Steroid Biochem*, v. 18, p. 749-57, 1983.

- ISAACS, J.T. Common characteristics of human and canine benign prostatic hyperplasia. *Prog Clin Biol Res*, p. 145-217, 1984.
- ISHIGOOKA, M., HAYAMI, S., SUZUKI, Y., HASHIMOTO, T., SASAGAWA, I., NAKADA, T. Age-related changes of histological composition in established benign prostatic hyperplasia. **Eur. Urol.**, v.29, p.85-9, 1996.
- ISHIZAKA, K., AZUMA, H., MATSUBARA, O., KITAHARA, S., OSHIMA, H. Production of endothelin by canine prostatic epithelial cells and its stimulatory effects on their growth. **J. Androl.**, v.20, p.529-36, 1999.
- ITTMAN, M., MANSUKHANI, A. Expression of fibroblast growth factors (FGFs) and FGF receptors in the human prostate. **J. Urol.**, v.157, p.351-56, 1997.
- JANULIS, L., LEE, C. Prostate gland. In: KNOBIL, E., NEILL, J.D. **Encyclopedia of reproduction**. San Diego: Academic Press. v.4. 1999. p.77-85.
- JOHNSTON, S.D., KAMOLPATANA, K., ROOT-KUSTRITZ, M.V., JOHNSTON, G.R. Prostatic disorders in the dog. **Anim. Reprod. Sci.**, v.60, p.405-15, 2000.
- JOHNSTON, S.D., ROOT-KUSTRITZ, M.V., OLSON, P.M.S. **Canine and Feline Theriogenology**. Philadelphia: WB Saunders, 2001, 592p.
- JONES, T.C., HUNT, R.D., KING, N.W. Sistema genital. In:____, **Patologia Veterinária**. São Paulo: Manole, 2000, p.1169-244.
- JUNIEWICZ, P.E., BERRY, S.J., COFFEY, D.S., STRANDBERG, J.D., EWING, L.L. The requirement of the testis in establishing the sensitivity of the canine prostate to develop benign prostatic hyperplasia. **J. Urol.**, v.152, p.996-1001, 1994.
- KLAUSNER, J.S., BELL, F.W., HAYDEN, D.W., JOHNSTON, S.D., LUND, E.M. Recent developments in the diagnosis and treatment of BPH and prostatic carcinoma. **Proc. Am. Coll. Vet. Int. Med.**, p.547-8, 1994.
- KOZLOWSKI, J.M. Prostate Cancer. In: KNOBIL, E., NEILL, J.D. **Encyclopedia of reproduction**. San Diego: Academic Press. v.4. 1999. p.67-76.

- KRAWIEC, D.R. Urologic disorders of the geriatric dog. **Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.**, v.19, p.75-85, 1989.
- KRAWIEC, D.R. Canine prostate disease. *JAVMA*, v. 204, p. 1561-4, 1994.
- KRAWIEC, D.R., HEFLIN, D. Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.200, p.1119-22, 1992.
- KUMAR, V.L., MAJUMDER, P.K. Prostate gland: structure, functions and regulation. **Int. Urol. Nephrol.**, v.27, p.231-43, 1995.
- KURIMOTO, S., MORIYAMA, N., HAMADA, K., KAWABE, K. Evaluation of histological structure and its effect on the distribution of α 1- adrenoceptors in human benign prostatic hyperplasia. **Br. J. Urol.**, v.81, p.388-93, 1998.
- LADDS, P.W. The male genital system. In: JUBB, K.V.F., KENNEDY, P.C., PALMER, N. (Eds). **Pathology of domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press. 1993. v.3. p. 471 – 529.
- LAROQUE, P.A., PRAHALADA, S., MOLON-NOBLOT, S., COHEN, S.M., SOPER, K., DUPRAT, P., PETER, C.P., VAN ZWIETEN, M.J. Quantitative evaluation of glandular and stromal compartments in hyperplastic dog prostates: effect of 5- α reductase inhibitors. **Prostate**, v.27, p.121-8, 1995.
- LAUFER AMORIM, R. **Estudo clínico, laboratorial e anatomopatológico das próstatas de cães adultos**. Botucatu, 2001. 116p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- LAUFER AMORIM, R., BANDARRA, E.P., DE MOURA, V.M.B.D., DI SANTIS, G.W. Patogenia da hiperplasia prostática benigna canina. **Revista CFMV**, n.25, p.37-41, 2002.
- LEE, C. KOZLOWSKI, J.M., GRAYHACK, J.T. Intrinsic and extrinsic factors controlling benign prostatic growth. **Prostate**, v.31, p.131-8, 1997.
- LEPOR, H., Determination of norepinephrine levels in the adult human prostate. **J. Urol.**, v. 144, p. 1263-6, 1990.

- LEPOR, H., TANG, R., MERETYK, S., HARTANTO, V., SHAPIRO, E. Binding and functional properties of alpha-1 adrenoreceptors and area density of smooth muscle in the canine prostate. **J. Urol.**, v.148, p.1310-3, 1992.
- LLOYD, J.W., THOMAS, J.A., MAWHINNEY, M.G. Androgens and estrogens in the plasma and prostatic tissue of normal dogs and dogs with benign prostatic hypertrophy. **Invest. Urol.**, v.13, p. 220-22, 1975.
- LOWSETH, L.A., GERLACH, R.F., GILLETT, N.A., MUGGENBURG, B.A. Age-related in the prostate and testes of the beagle dog. **Vet. Pathol.**, v.37, p.347-53, 1990.
- MARIOTTI, A., DONOVAN, M.P., MAWHINNEY, M. Collagen and cellular proliferation in spontaneous canine benign prostatic hyperplasia. **J. Urol.**, v.127, p.795-97, 1982.
- MARKS, L.S., TREIGER, B., DOREY, F.J., FU, Y.S., DEKERNION, J.B. Morphometry of the prostate: I. Distribution of tissue components in hyperplastic glands. **Urology**, v.44(4), p.486-92, 1994.
- MARKS, L.S., PARTIN, A.W., GORMLEY, G.J., DOREY, F.J., SHERY, E.D., GARRIS, J.B., SUBONG, E.N.P., STONER, E., DEKERNION, J.B. Prostate tissue composition and response to finasteride in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia. **J. Urol.**, v.157, p.2171-8, 1997.
- McENTEE, M., ISAACS, W., SMITH, C. Adenocarcinoma of the canine prostate: immunohistochemical examination for secretory antigens. **Prostate**, v. 11, p. 163-70, 1987.
- McNEAL, J.E.; BOSTWICK, D.G. Intraductal dysplasia: a premalignant lesion of the prostate. **Hum. Pathol.**, v.17, p.64-71, 1986.
- MURAKOSHI, M., IKEDA, R., TAGAWA, M., NAKAYAMA, T., HONMA, S., MIEDA, M. Immunolocalization of androgen receptor in canine prostatic hyperplasia - effect of antiandrogen. **Tokai J. Exp. Clin. Med.**, v.23, p.209-12, 1998a.
- MURAKOSHI, M., MASUDA, S., IKEDA, R., TAGAWA, M., NAKAYAMA, T., HONMA, S., MIEDA, M. Ultrastructural study in canine prostatic hyperplasia - effect of antiandrogen. **Tokai J. Exp. Clin. Med.**, v.23, p.245-8, 1998b.

- MUZZI, L.A.L., ARAÚJO, R.B., MUZZI, R.A.L., GUEDES, R.M.C., REZENDE, C.M.F. Ultra-sonografia e citologia das afecções prostáticas em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.51, p.9-16, 1999.
- NICKEL, J.C. Etiologia das prostatites: a grande desconhecida. **Urol Contemp**, v.3, p.22-28, 1997.
- OLIVEIRA, E.G., BANDARRA, E.P., SEQUEIRA, J.L., LAUFER, R., CASTRO, A.P. Afecções da próstata em cães na região de Botucatu, Estado de São Paulo. In: IX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DE UNESP, 7, 1996, Jaboticabal. **Anais...**, 1996, p. 327.
- OLSON, P.N., WRIGLEY, R.H., THRALL, M.A., HUSTED, P.W. Disorders of the canine prostate gland: pathogenesis, diagnosis and medical therapy. **Comp. Cont. Ed.**, v.9, p.613-23, 1987.
- POULET, F. Evolution de la prostate canine en fonction de l'âge. **Ann. Med. Vet.**, v.129, p.567-84, 1985.
- ROCHA, L.C.A., CONTAR, A.P., ROCHA, A.L.E.S. O uso dos alfa-bloqueadores na hiperplasia prostática. **Urol. Contemp.**, v.4, p.13-20, 1998.
- ROGERS, K.S., WANTSCHEK, L., LEES, G.E. Diagnostic evaluation of the canine prostate. **Compend. Contin. Educ. Small Anim. Pract.**, v.8, p.799-811, 1986.
- ROHR, H.P., BARTSCH, G. Human benign prostatic hyperplasia: a stromal disease? New perspectives by quantitative morphology. **Urology**, v.16, p.625-33, 1980.
- SHAPIRO, E., HARTANTO, V., LEPOR, H. Quantifying the smooth muscle content of the prostate using double-immunoenzymatic staining and color assisted image analyses. **J. Urol.**, v.147, p.1167-70, 1992a.
- SHAPIRO, E., BECICH, M.J., HARTANTO, V., LEPOR, H. The relative proportion of stromal and epithelial hyperplasia is related to the development of symptomatic benign prostate hyperplasia. **J. Urol.**, v.147, p.1293-7, 1992b.
- SHAPIRO, E., HARTANTO, V., PERLMAN, E.J., TANG, R., WANG, B., LEPOR, H. Morphometric analysis of the pediatric and nonhyperplastic

- prostate glands: evidence that BPH is not a unique stromal process. **Prostate**, v.33, p.177-82, 1997.
- SIEGEL, Y.I., ZAIDEL, L., HAMMEL, I., KORCZAK, D., LINDNER, A. Morphometric evaluation of benign prostatic hyperplasia. **Eur. Urol.**, v.18, p.177-82, 1990.
- SLINDLAND, A., ERI, L.M., TVETER, K.J. Morphometric of benign prostatic hyperplasia during androgen suppressive therapy. **Scand. J. Nephrol.**, suppl 179, p.113-7, 1996.
- TUNN, U.W., SCHÜRING, B., SENGE, TH., NEUMANN, F., SCHWEIKERT, H.U., ROHR, H.P. Morphometric analysis of prostates in castrated dogs after treatment with androstenediol, estradiol, and cyproterone acetate. **Invest. Urol.**, v. 18, p. 289-92, 1980.
- VANNUCCHI, C.I., VENTURA, P.C.F., SATZINGER, S., SANTOS, S.E.C. Afecções prostáticas em cães: sinais clínicos, diagnóstico e tratamento. **Clin Vet**, v.11, p.37-41, 1997.
- WALSH, P.C. This month in investigative urology: The role of estrogen/androgen synergism in the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. **J. Urol.**, v.139, p.826, 1988.
- WALSH, P.P.C.; WILSON, J.D. The induction of prostatic hypertrophy in the dog with androstenediol. *J Clin Invest*, v. 57, p. 1093-97, 1976.
- WATERS, D.J.; BOSTWICK, D.G. Prostatic intraepithelial neoplasia occurs spontaneously in the canine prostate. **J. Urol.**, v.157, p.713-16, 1997a.
- WATERS, D.J.; BOSTWICK, D.G. The canine is a spontaneous model of intraepithelial neoplasia and prostate cancer progression. **Antic. Res.**, v.17, p.1467-70, 1997b.
- WATERS, D.J., HAYDEN, D.W., BELL, F.W., KLAUSNER, J.S., QIAN, J., BOSTWICK, D.G. Prostatic Intraepithelial neoplasia in dogs with spontaneous prostate cancer. **Prostate**, v.30, p.92-7, 1997.
- WATERS, D.J., SAKR, W.A., HAYDEN, D.W., LANG, C.M., MCKINNEY, L., MURPHY, G.P., RADINSKY, R., RAMONER, R., RICJARDSON, R.C.,

- TINDALL, D.J. Workgroup 4: Spontaneous prostate carcinoma in dogs and nonhuman primates. **Prostate**, v.36, p.64-7, 1998.
- WELLS, W.A., RAINER, R.O., MEMOLI, V.A. Equipment, standardization, and applications of image processing. **Anat. Pathol.**, v.99, p.48-56, 1993.
- WILSON, J.D. The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. **Am. J. Med.**, v.68, p.745-56, 1980.
- WILSON, J.D., GLOYNA, R.E., SIITERI, P.K. Androgen metabolism in the hypertrophic prostate. **J. Steroid. Biochem.**, v.6, p.443-5, 1975.
- WINTER, M.L., LIEHR, J.G. Possible mechanism of induction of benign prostatic hyperplasia by estradiol and dihydrotestosterone in dogs. **Toxicol. Applied. Pharmacol.**, v.136, p.211-9, 1996.
- XUE, Y., SONKE, G., SCHOOTS, C., SCHALKEN, J., VERHOFSTAD, A., ROSETTE, J., SMEDTS, F. Proliferative activity and branching morphogenesis in the human prostate: a closer look at pre- and postnatal prostate growth. **Prostate**, v.49, p.132-9, 2001.
- ZIADA, A., ROSENBLUM, M., CRAWFORD, E.D. Benign prostatic hyperplasia: an overview. **Urology**, v.53, p.1-6, 1999.
- ZIRKIN, B.R., STRANDBERG, J.D. Quantitative changes in the morphology of the aging canine prostate. **Anatom. Rec.**, v.208, p.207-14, 1984.
- ZLOTTA, A. R., SATTAR, A.A., WESPES, E., NOEL, J.C., SCHULMAN, C.C. Is one single prostate biopsy helpful for choosing a medical treatment of benign prostatic hyperplasia? A quantitative computerized morphometric study. **Urology**, v.47, p.329-34, 1996.

Anexo A: Valores referentes ao peso dos animais, peso, volume, comprimento, largura e altura prostáticos.

?	Registro da próstata	Peso do animal (Kg)	Peso prostático (g)	Volume prostático (cc)	Medidas prostáticas C x L x A (cm)
1	N 267/00	32,5	25,37	23	4,2 x 3,9 x 3,5
2	N 268/00	16	21,06	22	4,3 x 3,1 x 3,2
3	LN 61/00	5	0,52	0,5	1,3 x 0,9 x 1,0
4	LN 62/00	4	0,68	0,7	1,1 x 1,1 x 1,1
5	P 89/00	16,7	9,15	10	2,4 x 2,7 x 2,3
6	P 90/00	17	7,72	10	2,4 x 2,4 x 2,3
7	P 151/00	0,5	0,2	0,15	0,4 x 0,9 x 0,7
8	P152/00	5	0,7	0,7	1,2 x 1,0 x 0,8
9	P153/00	23	9,6	10	2,6 x 2,8 x 2,2
10	P 154/00	18	14,61	15	3,0 x 3,1 x 2,5
11	P 155/00	17,7	19,4	19	3,2 x 3,4 x 2,6
12	P 156/00	30	1,6	1,5	1,7 x 1,2 x 1,2
13	P 157/00	60	134,8	130	6,5 x 6,4 x 4,2
14	P 200/00	12	5,09	5	1,7 x 2,4 x 1,6
15	N 346/00	22	37,35	35	3,4 x 4,0 x 4,2
16	P 53/01	4	0,34	0,4	1,2 x 0,7 x 0,6
17	P 54/01	37,8	4,42	4,4	2,5 x 1,8 x 1,4
18	P 55/01	15	3,9	4,4	2,3 x 1,7 x 1,5
19	P 56/01	3	0,33	0,3	1,0 x 0,6 x 0,6
20	P 57/01	3,9	0,46	0,5	1,2 x 0,7 x 0,7
21	P 58/01	20	12,15	13	2,6 x 3,1 x 2,4
22	P 59/01	8,4	24,43	25	3,5 x 3,8 x 2,9
23	P 60/01	18	19,03	18	3,1 x 3,4 x 3,1
24	P 61/01	20	1,12	1	1,3 x 1,1 x 1,0
25	P 62/01	23	4,21	4	2,4 x 2,0 x 1,5
26	P 72/01	0,9	0,1	0,1	0,6 x 0,5 x 0,4
27	P 73/01	1,7	0,44	0,25	1,2 x 0,9 x 0,7
28	P 74/01	3,3	0,36	0,2	1,4 x 0,8 x 0,7
29	P 75/01	1,8	0,5	0,3	1,1 x 0,9 x 0,7
30	P 76/01	8	2,57	2,5	1,8 x 1,6 x 1,3
31	P 77/01	11,2	6,3	6,5	1,9 x 2,3 x 2,0
32	P 78/01	17,8	24,9	25	2,9 x 3,8 x 2,8
33	P 79/01	4,5	0,51	0,3	1,0 x 0,8 x 0,8
34	P 80/01	16	5,54	6	2,1 x 2,2 x 1,8

35	P 81/01	40	16,81	17,5	3,5 x 3,4 x 2,6
----	---------	----	-------	------	-----------------

?	Registro da próstata	Peso do animal (Kg)	Peso prostático (g)	Volume prostático (cc)	Medidas prostáticas C x L x A (cm)
36	P 111/01	3	0,87	0,8	1,1 x 1,0 x 1,1
37	P 112/01	25	5,92	6	2,2 x 1,9 x 1,6
38	P 113/01	5,4	0,54	0,6	1,1 x 0,7 x 0,6
39	P 114/01	40	66,9	70	5,1 x 5,3 x 4,1
40	P 115/01	30	58	60	4,5 x 5,2 x 5,3
41	P 116/01	28	28,5	25	3,5 x 4,0 x 3,2
42	P 117/01	17	13,4	15	2,5 x 3,1 x 2,6
43	P 119/01	15	4,23	4	2,0 x 1,8 x 2,1
44	P 120/01	20	10,1	10	2,6 x 2,9 x 2,5
45	P 175/01	3,5	5,7	5,5	2,3 x 2,2 x 1,9
46	P 176/01	38	14,91	15	3,3 x 3,1 x 2,2
47	P 177/01	19,7	17,02	15	3,1 x 3,1 x 2,8
48	P 178/01	8	6,89	6	2,1 x 2,4 x 2,0
49	P 179/01	17	27,46	25	3,7 x 3,6 x 3,1
50	P 180/01	22	6,91	6	2,2 x 2,6 x 1,8
51	P 181/01	35	161,29	160	7,1 x 6,6 x 5,4
52	P 182/01	15,5	11,22	10	2,6 x 2,9 x 2,5
53	P 183/01	5,8	3,91	4	2,0 x 1,9 x 1,6
54	P 184/01	23	31	30	4,4 x 4,0 x 2,7
55	P 185/01	6,6	1,87	1,8	1,5 x 0,9 x 0,9
56	P 186/01	13,2	1,03	1,0	1,5 x 0,9 x 0,9
57	P 187/01	16,5	6,48	6,0	2,3 x 2,2 x 2,1
58	P 188/01	5,6	3,48	3,5	1,8 x 1,9 x 1,5
59	P 189/01	22	14,6	13	3,0 x 3,2 x 2,4
60	P 13/02	13	1,13	1,2	1,2 x 1,1 x 1,2
61	P 14/02	45	58,55	52	5,0 x 4,9 x 3,7
62	P 15/02	17	108,72	100	5,4 x 6,1 x 5,0
63	P 16/02	25,4	49,45	45	4,0 x 4,8 x 4,3
64	P 17/02	33	73,22	70	4,5 x 5,6 x 4,6
65	P 18/02	17	14,28	13	2,8 x 3,1 x 2,6
66	P 19/02	20,2	6,83	6	2,2 x 2,2 x 2,0
67	P 20/02	15	17,29	16	3,0 x 3,6 x 2,6
68	P 21/02	17,6	9,87	9	2,4 x 2,8 x 2,5
69	P 24/02	65	15,55	15	3,6 x 2,8 x 2,3
70	P 45/02	5	0,48	0,4	0,9 x 0,8 x 0,8
71	P 46/02	4,1	1,27	1,25	1,2 x 1,7 x 1,1
72	P 47/02	5,2	9,38	9	2,3 x 2,8 x 2,6

73	P 48/02	22	15,83	14	2,8 x 3,4 x 2,7
74	P 49/02	41,2	28,05	26	3,6 x 4,1 x 3,8
75	P 50/02	27,5	128,5	126	6,3 x 6,1 x 4,2
?	Registro da próstata	Peso do animal (Kg)	Peso prostático (g)	Volume prostático (cc)	Medidas prostáticas C x L x A (cm)
76	P 119/02	42	14,44	13	3,5 x 3,1 x 2,3
77	P 120/02	27	32,05	30	3,9 x 3,9 x 3,5
78	P 121/02	10,4	41,18	40	4,1 x 4,7 x 4,3
79	P 122/02	13	78,06	73	4,8 x 5,1 x 4,4
80	P 174/02	15	15	15	2,4 x 3,2 x 2,9
81	P 175/02	9	4,28	4	1,9 x 2,0 x 1,8
82	P 176/02	30	18,93	18	3,5 x 3,5 x 2,5
83	P 177/02	7	4,06	4	1,8 x 2,1 x 1,7
84	P 178/02	7,8	3	2,5	1,6 x 1,8 x 2,0
85	P 179/02	8,8	4,13	4	1,7 x 2,1 x 1,7
86	P 180/02	20	5,8	5	1,9 x 2,0 x 1,9
87	P 181/02	7,3	23,4	24	2,8 x 3,8 x 3,3
88	P 225/02	6,8	7,43	7	2,8 x 2,3 x 2,0
89	P 226/02	12,4	9,88	10	2,4 x 2,6 x 2,4
90	P 227/02	4	5,67	5	1,9 x 2,0 x 2,0
91	P 228/02	8,2	5,33	5	2,1 x 2,1 x 1,8
92	P 229/02	30	42,52	40	4,6 x 4,7 x 3,5
93	P 230/02	36,2	9,4	10	2,3 x 2,6 x 2,1
94	P 231/02	16,1	1,8	1,6	1,8 x 1,0 x 1,1
95	P 289/02	6,4	7,22	7	2,2 x 2,5 x 2,1
96	P 290/02	9	5	5	2,2 x 2,0 x 1,7
97	P 291/02	5	6,55	7	2,0 x 2,5 x 1,8
98	P 292/02	5	3	3	1,6 x 1,7 x 1,5
99	P 293/02	8	6	6	2,1 x 2,4 x 1,8
100	P 294/02	6,8	3,73	4	2,0 x 1,8 x 1,7

Anexo B: Modelo do protocolo utilizado no registro dos dados.

PROTOCOLO – PRÓSTATAS - ?			
Número de lâminas avaliadas: HE = / Masson = / Total =			
IDENTIFICAÇÃO:		PESO PRÓSTATA (g):	
IDADE:		VOLUME PRÓSTATA (cc):	
PESO ANIMAL (Kg):		MEDIDAS (cm) (CxLxA):	
MICROSCOPIA			
PORÇÃO	CRANIAL	MÉDIA	CAUDAL
COMPONENTE EPITELIAL			
HIPERPLASIA CÍSTICA (Discreta/Moderada/Intensa)	D() M() I()	D() M() I()	D() M() I()
Segmentar/ Difusa	Seg()D()	Seg()D()	Seg()D()
HIPERPLASIA PAPILÍFERA (Discreta/Moderada/Intensa)	D() M() I()	D() M() I()	D() M() I()
Segmentar/ Difusa	Seg()D()	Seg()D()	Seg()D()
OUTROS (Metaplasia Escamosa, Cisto, Atrofia glandular, Dilatação glandular focal, Displasia do epitélio glandular, Destruição glandular)			
COMPONENTE ESTROMAL			
HIPERPLASIA TEC. CONJUNTIVO (Discreta/Moderada/Intensa)	D() M() I()	D() M() I()	D() M() I()
Segmentar/ Difusa	Seg()D()	Seg()D()	Seg()D()
HIPERPLASIA MUSC. LISO (Discreta/Moderada/Intensa)	D() M() I()	D() M() I()	D() M() I()
Segmentar/ Difusa	Seg()D()	Seg()D()	Seg()D()
INFILTRADO INFLAMATÓRIO			
Focal/Multifocal/Difuso	F() M() D()	F() M() D()	F() M() D()
Região(Periuretral/Central/Periférica)	Pu()C()Pf()	Pu()C()Pf()	Pu()C()Pf()
Intersticial/Intra-acinar	Inter() Intra()	Inter() Intra()	Inter() Intra()
Discreto/Moderado/Intenso	D() M() I()	D() M() I()	D() M() I()
Mono/Polimorfonuclear	Mono() Poli()	Mono() Poli()	Mono() Poli()
OUTROS (Neoplasia, Hemorragia, Abscesso)			

CLASSIFICAÇÃO
IMATURA () MADURA () HIPERPLÁSICA ()
OBSERVAÇÕES

Anexo C: Escores atribuídos às próstatas marcadas com os anticorpos PSA e 34βE-12.

IDENTIFICAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO	IDADE	PSA	34βE-12
LN 61/00	IMATURA	2m	-	-
LN 62/00	IMATURA	3m	+++	-
P 151/00	IMATURA	1m	-	-
P 152/00	IMATURA	7m	+	-
P 53/01	IMATURA	3m	++	-
P 54/01	IMATURA	7m	+++	-
P 56/01	IMATURA	2m	+	-
P 57/01	IMATURA	3m	+	+
P 73/01	IMATURA	46d	+	-
P 74/01	IMATURA	2m	+	-
P 75/01	IMATURA	47d	++	+
P 186/01	IMATURA	4m	++	+
P 13/02	IMATURA	4m	+	-
P 19/02	IMATURA	18m	++	-
P45/02	IMATURA	4m	++	+
P 153/00	NORMAL	1a	+++	-
P 55/01	NORMAL	11m	+++	-
P 112/01	NORMAL	2a	+++	-
P 18/02	NORMAL	3a	+++	-
P 24/02	NORMAL	3,6a	+++	++
P 46/02	NORMAL	8m	+++	-
P 177/02	NORMAL	1,5a	+++	-
P 179/02	NORMAL	2,5a	+++	+
P 59/01	HIPERPLÁSICA	6a	+++	++
P 60/01	HIPERPLÁSICA	5a	+++	++
P 80/01	HIPERPLÁSICA	8a	+++	-
P 116/01	HIPERPLÁSICA	6a	+++	++
P 119/01	HIPERPLÁSICA	3a	++	-
P 120/01	HIPERPLÁSICA	5,5a	+++	++
P 175/01	HIPERPLÁSICA	8a	++	-
P 178/01	HIPERPLÁSICA	15a	-	-
P 181/01	HIPERPLÁSICA	3a	+++	+
P 183/01	HIPERPLÁSICA	3,2a	+++	-
P 187/01	HIPERPLÁSICA	5,2a	+++	-
P 188/01	HIPERPLÁSICA	3a	+++	-

P 20/02	HIPERPLÁSICA	6a	+++	-
P 47/02	HIPERPLÁSICA	11a	+++	-
P 48/02	HIPERPLÁSICA	7a	+++	-