
**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
ÁREA DE CLÍNICA VETERINÁRIA
NÍVEL: DOUTORADO**

**ESTUDO LABORATORIAL, ANATOMOPATOLÓGICO E
IMUNOISTOQUÍMICO DA PRÓSTATA DE CÃES ADULTOS**



**ORIENTADOR: Prof. Dr. ENIO PEDONE BANDARRA
ALUNA: VERIDIANA MARIA BRIANEZI DIGNANI DE MOURA**

**BOTUCATU
2004**

VERIDIANA MARIA BRIANEZI DIGNANI DE MOURA

**ESTUDO LABORATORIAL, ANATOMOPATOLÓGICO E
IMUNOISTOQUÍMICO DA PRÓSTATA DE CÃES ADULTOS**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Área de Concentração: Clínica Veterinária).

BOTUCATU

2004

VERIDIANA MARIA BRIANEZI DIGNANI DE MOURA

**ESTUDO LABORATORIAL, ANATOMOPATOLÓGICO E
IMUNOISTOQUÍMICO DA PRÓSTATA DE CÃES ADULTOS**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Área de Concentração: Clínica Veterinária).

Orientador: Prof. Dr. Enio Pedone Bandarra

BOTUCATU

2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

De Moura, Veridiana Maria Brianezi Dignani.

Estudo laboratorial, anatomopatológico e imunoistoquímico da
próstata de cães adultos / Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura. – 2004.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
Universidade Estadual Paulista, 2004.

Orientador: Enio Pedone Bandarra

Assunto CAPES: 50501062

1. Veterinária - Diagnóstico 2. Patologia Veterinária

CDD 636.0896

Palavras-chave: cão; diidrotestosterona; estrógeno; hiperplasia prostática
benigna; imunoistoquímica; próstata; testosterona.

*À **minha família**,
porque as diferenças existem, mas algo maior nos mantém
unidos, não importa se lado a lado ou somente em pensamento.*

*Ao companheiro **Rogério** e ao filho **Gabriel**,
amor, apenas AMOR!!*

*A você **Enio**, que sempre soube que a única forma de
conhecer é descobrir, e que fazer descobrir é a única forma de ensinar.*

E como outrora já questionado: “Se não você, quem?”.

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento e a conclusão deste projeto foi possível graças à colaboração direta ou indireta de muitas pessoas. Manifesto meus agradecimentos a todas e de forma especial:

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq**, pela bolsa de doutorado concedida para a realização deste projeto no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ - UNESP - Botucatu/SP.

A **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP**, pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste projeto no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ - UNESP - Botucatu/SP.

Ao orientador **Prof. Dr. Enio Pedone Bandarra**, pela inteligência, capacidade técnica e crédito no ser humano.

À Prof.a Ass. Dra. **Renée Lauffer Amorim**, pelo espírito entusiasta e colaboração neste e em outros projetos.

A pós-graduanda **Giovana Wingeter di Santis**, por tantos anos de amizade, personalidade, colaboração preciosa neste projeto e as providenciais “broncas” nos momentos de angústia.

Aos funcionários dos Serviços de Patologia Veterinária: **Maury Raul e Noel Melo**, por saber que sempre podemos contar com vocês.

Aos médicos veterinários **Marcela Marcondes Pinto Rodrigues, Helder Esteves Thomé, Paulo Felipe Izique Goiozo, Édina Bittencourt e Luiz Álvaro Monteiro Júnior**, pelo auxílio na colheita e processamento do material, bem como a atenção e o carinho a mim dispensados.

Às pós-graduandas **Fabiana Ferreira de Souza** e **Cristiane Silva Barreto**, pela colaboração na interpretação das dosagens hormonais séricas.

Ao **Prof. Dr. José Luis Guerra**, do Serviço de Patologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pelo apoio incondicional e amizade sincera.

Aos professores **Dr. Júlio César de C. Balieiro** e **Dra. Priscila de Oliveira**, pela amizade, colaboração e realização das análises estatísticas.

Ao **Dr. Cláudio Alvarenga** e à técnica **Érika Cristiane Gufe**, do Laboratório de Dosagem Hormonal da FMVZ – USP, pela realização das dosagens hormonais deste estudo.

Às técnicas do Laboratório Clínico da Faculdade de Medicina da UNESP, Serviços de Bioquímica e Sorologia, pelas dosagens de PAP e PSA, respectivamente.

Aos que rogaram o meu fracasso, porque mais forças pude juntar para chegar ao final e dizer: **“valeu a pena!”**

Aos **cães**, respeitosamente utilizados neste estudo.

Houve momentos em que julguei não ser apta, mas concluí que quanto maior a dificuldade, maior a capacidade de superação e mais leve o espírito após a etapa vencida.

De Moura, V.M.B.D. (2004).

Índice de quadros, tabelas, figuras e abreviaturas

Quadros

Descrição	Página
Quadro 1: Sinais Clínicos associados às doenças prostáticas	14
Quadro 2: Fatores etiológicos extrínsecos e intrínsecos da HPB	33

Tabelas

Descrição	Página
Tabela 1: Metodologia utilizada para a dosagem de PAP	51
Tabela 2: Diluições e recuperações antigênicas testadas	56
Tabela 3: Anticorpos e suas características de marcação celular	57
Tabela 4: Diluições otimizadas e número de amostras marcadas	58
Tabela 5: Escores aplicados na análise da marcação imunoistoquímica	59
Tabela 6: Médias dos valores séricos de estrógeno em relação ao diagnóstico histopatológico (N=37)	60
Tabela 7: Médias dos valores séricos de PSA em relação ao diagnóstico histopatológico (N=37)	61
Tabela 8: Médias dos valores séricos e urinários de PAP em relação ao diagnóstico histopatológico (N=37)	61
Tabela 9: Correlações entre os valores séricos e urinários de PSA e PAP (N=37)	62
Tabela 10: Correlações entre os valores séricos e urinários das glicoproteínas (PSA/PAP) e os hormônios séricos (T ₄ /DHT/E ₂) (N=37)	62
Tabela 11: Médias de peso (g/kg PV) e volume (cc/kg PV) prostáticos em relação ao diagnóstico histopatológico	64
Tabela 12: Médias de comprimento, largura e altura prostáticos em relação ao diagnóstico histopatológico (N=37)	65
Tabela 13: Médias de idade em relação ao diagnóstico histopatológico	84
Tabela 14: Correlações entre os valores séricos e urinários de PSA e a marcação imunoistoquímica (N=37)	91
Tabela 15: Correlações entre os valores séricos e urinários de PAP e a marcação imunoistoquímica (N=37)	91

Figuras

Descrição	Página
Figura 1: A) Vista lateral. Próstata localizada na cavidade pélvica. B) Vista ventro-dorsal da cavidade pélvica canina (retirado osso púbico). Observam-se bexiga urinária (1); próstata (2); reto (3) e uretra (4).	05
Figura 2: A) Próstata Humana. Zonas anatômicas distintas: periférica (ZP), central (ZC), transicional (ZT) e periuretral (ZPU). B) Próstata Canina. Não há divisões anatômicas distintas, sendo representada de fora para dentro pela cápsula prostática, tecido glandular, músculo uretral, tecido conjuntivo periuretral (TCPU) e lúmen uretral.	07
Figura 3: Fotomicrografia prostática mostrando a histologia normal da glândula canina. Notam-se epitélio secretor (seta vazada), célula basal (seta estreita), lúmen glandular (A) e estroma de sustentação (seta preenchida).HE, 500x.	09
Figura 4: Mecanismo de ação da testosterona e DHT na promoção do crescimento e divisão celular das células estromais e epiteliais da próstata (adaptado de Cotran et al., 1999). Testosterona (T_4), diidrotestosterona (DHT), receptor nuclear androgênico (RA), fator de crescimento (FC).	28
Figura 5: Mecanismo de ação estrogênica na promoção do crescimento e divisão celular das células estromais e epiteliais da próstata. Estrógeno (E_2), hormônios esteróides ligados à globulina (SHBG), testosterona (T_4), diidrotestosterona (DHT), adenosina monofosfato (AMP), fator de crescimento semelhante à insulina (FCSI).	31
Figura 6: Mecanismo de interação entre epitélio e estroma na proliferação epitelial prostática. Fatores de crescimento como o fator de crescimento de ceratinócitos (KGF) e o fator de crescimento transformante β (TGF β) estimulam e inibem a proliferação celular epitelial prostática, respectivamente (Laufer Amorim et al., 2002).	34
Figura 7: Representação dos cortes realizados nas glândulas dividindo-as em três porções (cranial, média e caudal).	53
Figura 8: Cassetes com segmento de tecido prostático incluído em parafina e devidamente identificado.	53
Figura 9: Aspecto macroscópico de uma próstata normal. Notar simetria bilateral.	63
Figura 10: Frequência de lesões prostáticas únicas ou concomitantes (N=40).	65
Figura 11: Classificação geral das próstatas em relação à afecção predominante (N=40).	66
Figura 12: Macroscopia de próstata normal. Notar a uniformidade do parênquima e a simetria dos contornos.	67
Figura 13: Fotomicrografia de próstata normal. Notar ácinos com epitélio uniforme e projeções digitiformes ($\uparrow$) para o lúmen repleto de secreção (S). HE 400x.	67

Figura 14: Ocorrência de alterações nas glândulas avaliadas (N=40).	68
Figura 15: Fotomicrografia de prostatite crônica. A) Intenso infiltrado inflamatório intersticial adjacente a ácinos de morfologia normal (seta). HE 100x. B) Detalhe de A evidenciando a predominância mononuclear do infiltrado inflamatório. HE 400x	69
Figura 16: Fotomicrografia prostática. Infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear e intersticial. Notar epitélio acinar displásico (seta). HE 320x.	69
Figura 17: Prostatite e hiperplasia cística. Observar aspecto cístico difuso e uma grande cavitação que representou microscopicamente a prostatite supurativa com destaque para o exsudato inflamatório polimorfonuclear apresentado na Figura 18.	70
Figura 18: Fotomicrografia de prostatite aguda. A) Notar ácino repleto de exsudato inflamatório. HE 250x. B) Detalhe de A caracterizando o infiltrado polimorfonuclear e destruição do epitélio acinar (seta). HE 500x.	70
Figura 19: Fotomicrografia prostática. Atrofia do epitélio acinar (A) em concomitância com hiperplasia estromal (hes), displasia (seta) e células inflamatórias (seta vazada). HE 640x.	71
Figura 20: Fotomicrografia prostática. Atrofia glandular (seta) e tecido conjuntivo adjacente de um cão castrado e idoso. HE 500x.	71
Figura 21: Fotomicrografia prostática. Dilatação glandular. HE 400x.	72
Figura 22: Fotomicrografia de metaplasia escamosa do epitélio prostático. HE 640x.	72
Figura 23: Aspecto macroscópico de cisto prostático.	73
Figura 24: Fotomicrografia de cisto prostático. HE 100x.	73
Figura 25: Fotomicrografia de carcinoma prostático. Observar áreas de hemorragia entre as células neoplásicas (seta larga) e uma figura de mitose (seta vazada). HE 640x.	74
Figura 26: Fotomicrografia prostática. Displasia do epitélio acinar (setas) e células inflamatórias. HE 400x.	74
Figura 27: Fotomicrografia prostática. A) Displasia do epitélio acinar em concomitância com hiperplasia complexa e células inflamatórias (seta). HE 200x. B) Detalhe de A evidenciando a desorganização e as alterações morfológicas das células epiteliais acinares (seta cheia). HE 400x.	75
Figura 28: Aparência macroscópica do carcinoma prostático. Observar área de coloração acastanhada e aspecto firme (seta).	75
Figura 29: Fotomicrografia de carcinoma prostático. Observar as atipias nucleares e o pleomorfismo celular intenso. HE 400x.	76
Figura 30: Fotomicrografia prostática. A) Ácino dilatado e repleto de conteúdo, infiltrado inflamatório intersticial (seta), epitélio acinar achatado e área focal de PIN (seta vazada). HE 200x. B) Detalhe de A evidenciando a proliferação celular, desorganização e as alterações morfológicas das células epiteliais	76

acinares que caracterizam PIN. HE 500x.

Figura 31: Fotomicrografia prostática. A) Ácino com epitélio característico de PIN, infiltrado inflamatório intersticial e proliferação de tecido conjuntivo adjacente (hiperplasia estromal). HE 250x. B) Outra área de PIN evidenciando a proliferação, desorganização e atipias celulares (P), bem como proliferação estromal (E) e infiltrado inflamatório (I). HE 400x. 77

Figura 32: Ocorrência de hiperplasia epitelial, estromal e complexa (N= 31). 78

Figura 33: Ocorrência de hiperplasia de acordo com a idade do animal (N= 31). 78

Figura 34: Aspecto macroscópico da hiperplasia epitelial cística. Notar as cavitações distribuídas pelo parênquima prostático. 79

Figura 35: Fotomicrografia de hiperplasia prostática epitelial cística. Observar os ácinos glandulares dilatados, irregulares e com secreção no interior do lúmen. HE 100x. 79

Figura 36: Aparência macroscópica da hiperplasia epitelial cística e papilífera. Notar áreas de cavitações (hiperplasia cística - HC) e áreas de aspecto mais denso (hiperplasia papilífera - HP), distribuídas pelo parênquima prostático. 80

Figura 37: Fotomicrografia de hiperplasia prostática epitelial papilífera. A) Observar os ácinos glandulares com proliferações digitiformes para o interior do lúmen. HE 50x. B) Detalhe de A evidenciando a proliferação e a desorganização de células que compõem o epitélio da papila. HE 200x. 80

Figura 38: Aspecto macroscópico da hiperplasia estromal. Observar áreas densas e sem cistos ou cavitações em ambas as próstatas apresentadas. 81

Figura 39: Fotomicrografia de hiperplasia estromal. Notar proliferação estromal e ácinos glandular em processo de atrofia, bem como a presença de células inflamatórias no interstício. HE 200x. 81

Figura 40: Aparência macroscópica da hiperplasia complexa. Notar a heterogeneidade das formas. 82

Figura 41: Fotomicrografia de hiperplasia complexa. Observar proliferação estromal (E), epitelial cística (C) e papilífera (P). HE 50x. 82

Figura 42: Percentual de glândulas acometidas pelos diferentes tipos de hiperplasia isoladamente ou concomitantemente (N=31) 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) (N=31). 83

Figura 43: Médias de idade dos animais (em anos) normais e acometidos pelos diferentes padrões de hiperplasia (N=37). 84

Figura 44: Fotomicrografia de próstata normal. A) Citoplasma das células do epitélio secretor com reação positiva para PSA. 640x. B) Detalhe de um ácino com marcação citoplasmática positiva para PSA. 640x. 85

Figura 45: Fotomicrografia prostática mostrando marcação uniforme do epitélio 85

acinar secretor de uma glândula hiperplásica. PAP 200x.

Figura 46: Fotomicrografia de próstata hiperplásica. A) Hiperplasia Cística. 86
Ácinos dilatados com epitélio secretor e conteúdo intraluminal imunomarcados
para PSA. 100x. B) Hiperplasia Estromal. Proliferação estromal (E) e ácinos
atróficos, mas mantendo a atividade secretora de PSA (setas). PSA 250x.

Figura 47: Fotomicrografia de próstata atrófica. Notar ausência de 87
imunoreatividade e atrofia acinar (setas). PSA 400x.

Figura 48: Distribuição dos escores referentes ao número de células marcadas, 87
atribuídos às glândulas normais e hiperplásicas incubadas com PSA (N=37).

Figura 49: Distribuição dos escores referentes à intensidade de 88
imunoreatividade, atribuídos às glândulas normais e hiperplásicas incubadas
com PSA (N=37).

Figura 50: Fotomicrografia de glândula atrófica. Observar epitélio acinar secretor 89
atrófico e ausência de imunomarcção. PAP 400x.

Figura 51: Fotomicrografia de glândula hiperplásica com marcação 89
intracitoplasmática intensa e homogênea no epitélio acinar secretor. PAP 400x.

Figura 52: Distribuição dos escores atribuídos a glândulas normais e 90
hiperplásicas incubadas com PAP, quanto ao número de células marcadas
(N=37).

Figura 53: Distribuição dos escores atribuídos a glândulas normais e 90
hiperplásicas incubadas com PAP, quanto à intensidade de imunoreatividade
(N=37).

Abreviaturas

CMA: Acetato de clormadinona

CP: Câncer prostático

CPSE: Esterase prostática secretória canina

DHT: Diidrotestosterona

E₂: Estrógeno

HPB: Hiperplasia prostática benigna

PAP: Fosfatase Ácida Prostática

PIN: Neoplasia intra-epitelial prostática

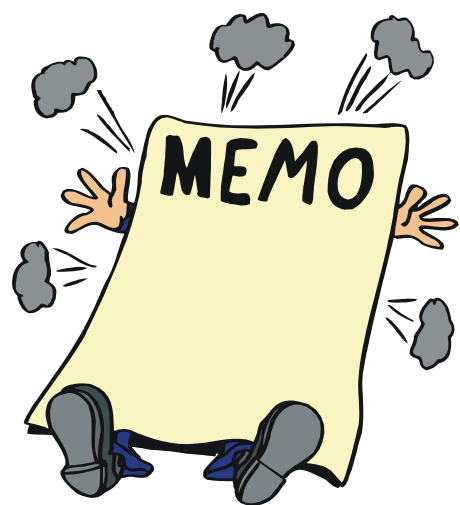
PSA: Antígeno Prostático Específico

RA: Receptor androgênico

T₄: Testosterona

ÍNDICE

<i>Resumo.....</i>	<i>01</i>
<i>Abstract.....</i>	<i>02</i>
<i>Introdução.....</i>	<i>03</i>
<i>Revisão de Literatura.....</i>	<i>05</i>
<i>Material e Métodos.....</i>	<i>49</i>
<i>Resultados.....</i>	<i>60</i>
<i>Discussão.....</i>	<i>92</i>
<i>Conclusões.....</i>	<i>114</i>
<i>Referências Bibliográficas.....</i>	<i>116</i>
<i>Anexos.....</i>	<i>134</i>



RESUMO/ABSTRACT

DE MOURA, V.M.B.D. *Estudo laboratorial, anatomopatológico e imunoistoquímico da próstata de cães adultos*. Botucatu, 2004. Tese (Doutorado 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

As doenças prostáticas constituem um problema comum em cães adultos e idosos. Uma das afecções mais freqüentes é a hiperplasia prostática benigna (HPB) que, tanto no cão como no homem, está associada ao avanço da idade e ao desequilíbrio hormonal. A partir disso foram avaliados o perfil laboratorial e os aspectos macro e microscópicos da próstata de 40 cães com idade superior a três anos. Na análise laboratorial encontraram-se baixos níveis de estrógeno e altas concentrações de PSA nos animais com algum tipo de hiperplasia. Morfologicamente, glândulas normais apresentaram peso estatisticamente menor que as com hiperplasia epitelial. As variáveis comprimento, largura e altura também diferiram entre os grupos. A maioria das próstatas apresentou duas ou mais alterações histomorfológicas (91%), e destas, as HPB foram as mais freqüentes (77,5%), com predominância do tipo complexa (48%). Infiltrado inflamatório, displasia acinar, dilatação glandular, atrofia e PIN também mostraram alta incidência. Por outro lado, cistos, metaplasia escamosa, hemorragias e carcinoma compreenderam as lesões de menor ocorrência. No estudo imunoistoquímico foi obtido 100% de reatividade com os anticorpos PSA e PAP em próstatas normais, e positividade variada nas hiperplásicas. Em contra partida, as reações direcionadas aos hormônios (E_2 e andrógenos) não alcançaram êxito com os diferentes anticorpos mono e policlonais testados.

Palavras-chave: cão; diidrotestosterona; estrógeno; hiperplasia prostática benigna; imunoistoquímica; próstata; testosterona.

DE MOURA, V.M.B.D. *Male adult dogs prostate laboratorial, anatomopathologic and immunohistochemical study*. Botucatu, 2004. Tese (Doutorado 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

Prostatic diseases have been a common problem in middle-age and older intact male dogs. Among these, benign prostatic hyperplasia (BHP) is the most frequent, age-related and hormonal-dependent condition of human and canine prostate. Blood samples were collected from 40 intact male dogs, three years old or more to determine laboratorial and to evaluate gross and histopathological aspects. Low levels of estrogen and high levels of prostatic specific antigen (PSA) were found in dogs with BHP, respectively. Normal prostates weighted statistically different from epithelial hyperplasia. Length, width and height differed between four comparative groups. The great majority of prostates showed two or more histological lesions at the same time (91%), with BHP occurring in 77,5% and complex form was predominant among them (48%). Inflammatory cell infiltrate, acinar dysplasia, glandular dilatation, atrophy and PIN were also founded with high incidence. In the other hand, cysts, squamous metaplasia, hemorrhages and carcinoma were observed in few cases. On immunohistochemical study PSA and PAP (prostatic acid phosphatase) showed immunoreaction in 100% of normal prostates and variable positivity in glands with BHP. In contrast, the hormonal reactions (E_2 and androgens receptors) weren't successful using monoclonal and policlonal antibody tested.

Key-words: dog; dihydrotestosterone; estrogen; canine benign prostatic hyperplasia; immunohistochemistry; prostate; testosterone.



INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

As doenças prostáticas constituem um problema comum em cães adultos e idosos. Uma das afecções mais freqüentes é a hiperplasia prostática benigna (HPB) que, tanto no cão como no homem, está associada ao avanço da idade e ao desequilíbrio hormonal. Outras lesões que comprometem a única glândula sexual acessória do cão são: prostatites, abscessos, cistos e com menor freqüência, as neoplasias prostáticas.

Devido à estreita inter-relação entre hormônios sexuais e a patogenia de algumas moléstias prostáticas, estudos direcionados a estes andrógenos e glicoproteínas prostáticas, como o PSA e a PAP, têm sido realizados com freqüência na espécie humana. No entanto, a literatura veterinária apresenta dados controversos a este respeito e, muitas vezes, sequer os apresenta.

Diversas técnicas de avaliação morfológica, como a análise histológica de lâminas coradas por hematoxilina e eosina (HE), são utilizadas para diagnosticar lesões prostáticas. Com o avanço e expansão da medicina e da veterinária, novas técnicas têm sido desenvolvidas e vêm auxiliando na determinação do diagnóstico e prognóstico dessas lesões. A técnica de imunoistoquímica e a morfometria celular representam uma das novidades em termos de métodos de avaliação das afecções dos diferentes sistemas de um organismo. Assim, as afecções prostáticas também podem ser melhor avaliadas, diagnosticadas e tratadas com o auxílio destes métodos.

Diante de poucas informações sobre imunoistoquímica, dosagem laboratorial de andrógenos, PSA e PAP, bem como as grandes variações observadas no padrão histológico das lesões prostáticas da espécie canina, este estudo teve por objetivos:

-
1. Realizar a dosagem sérica de testosterona, diidrotestosterona, estrógeno, bem como as mensurações sérica e urinária de PSA e PAP em cães adultos;
 2. A avaliação morfológica da próstata de cães adultos, mensurando peso, volume e medidas, bem como correlacionar estes dados com o tipo de lesão tecidual;
 3. Verificar a frequência das lesões prostáticas em cães adultos que apresentassem ou não sintomatologia clínica e correlacionar com a faixa etária dos animais;
 4. Verificar se existem diferenças quantitativas (células marcadas) e qualitativas (intensidade de marcação) quanto aos hormônios e glicoproteínas, de acordo com o tipo de lesão morfológica da próstata;
 5. Reconhecer receptores teciduais dos hormônios andrógenos, estrógeno e as glicoproteínas PSA e PAP na próstata canina, por técnica imunoistoquímica, correlacionando-os com as diferentes afecções deste órgão;
 6. Correlacionar as dosagens séricas de testosterona, diidrotestosterona, estrógeno, PSA e PAP com o diagnóstico histopatológico da próstata e com a marcação imunoistoquímica de receptores tissulares para estes hormônios e glicoproteínas.

Considerando o descrito, este estudo vislumbra alguma contribuição para o melhor entendimento das lesões prostáticas do cão, especialmente no que diz respeito aos aspectos laboratoriais, macro e microscópicos.



REVISÃO DE LITERATURA

REVISÃO DE LITERATURA

A) Morfofisiologia prostática

A próstata é um órgão músculo-glandular e tem como principal função a produção do fluido prostático que transporta e sustenta os espermatozoides no processo de ejaculação (Benoit et al., 1993; Swinney, 1998). No cão é bilobulada e representa a única glândula sexual acessória desta espécie. Apresenta septo mediano na superfície dorsal e está localizada no espaço retroperitoneal, ventral ao reto, dorsal a sínfese púbica, caudal a bexiga e junto a uretra proximal (Figura 1A e B) (Olson et al., 1987; Dorfman e Barsanti, 1995; Johnston et al., 2001).

Quanto ao posicionamento, a próstata pode ser abdominal ou pélvica. Do nascimento aos dois meses de idade, a glândula encontra-se na região abdominal e, após a cicatrização do úraco remanescente, esta passa a manter localização pélvica na maioria dos cães, podendo variar a posição no abdômen em função da idade do animal, distensão da bexiga e presença de afecções prostáticas (Rogers et al., 1986; Olson et al., 1987; Burk e Ackerman, 1996; Feldman e Nelson, 1996).

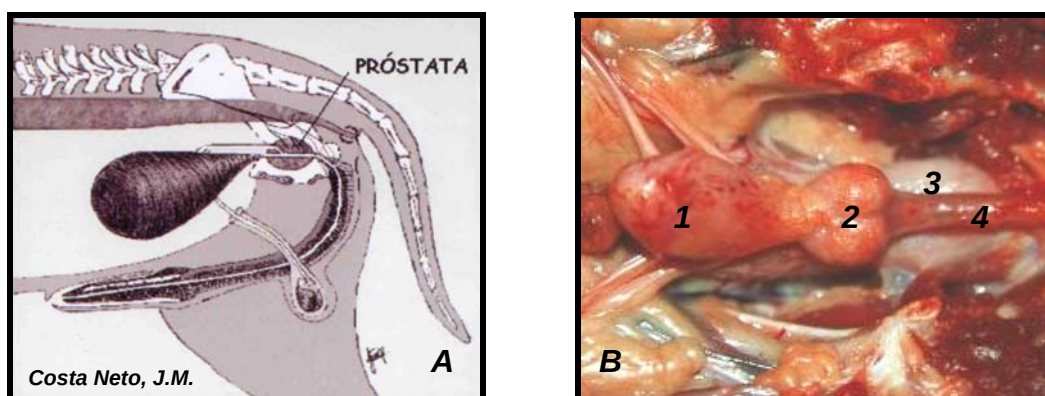


Figura 1: A) Vista lateral. Próstata localizada na cavidade pélvica. B) Vista ventro-dorsal da cavidade pélvica canina (retirado osso púbico). Observam-se bexiga urinária (1); próstata (2); reto (3) e uretra (4).

Segundo Dorfman e Barsanti (1995) a próstata mantém localização pélvica dos dois meses até a maturidade sexual e, a partir deste período, o órgão encontra-se em posição abdominal. Apesar da ampla variação na posição prostática, a maioria dos autores concorda que cães adultos e sexualmente intactos desenvolvem algum tipo de afecção prostática e apresentam a glândula em localização pélvica cranial ou abdominal (Barsanti e Finco, 1992; Dorfman e Barsanti, 1995; Chew, 1997; Atalan et al., 1999b; Souza e Toniollo, 1999; Johnston et al., 2001).

De acordo com Bonkhoff et al. (1999), De Marzo et al. (1999) e Coffey, (2001) é importante e produtivo ressaltar as similaridades, mas não é possível omitir disparidades anatômicas e fisiológicas importantes entre as próstatas humana e canina. Hábitos alimentares e a longevidade das espécies em questão também devem ser levados em consideração.

No homem adulto, a próstata possui quatro zonas anatômica e biologicamente distintas, denominadas: periférica, central, transicional e periuretral (Figura 2A) (Cotran et al., 1999). As lesões proliferativas apresentam padrão díspar para cada região. Nesta espécie, a maioria das hiperplasias surge das zonas transicional e periuretral, e os carcinomas da zona periférica (Griffiths et al., 1991; Cotran et al., 1999; De Marzo et al., 1999). De acordo com Lepor et al. (1992), no cão não há evidências de que esta glândula seja dividida em regiões anatômicas distintas (Figura 2B).

Cooney et al (1992), correlacionaram achados ultrassonográficos com a histologia da próstata canina e observaram que os detalhes celulares do epitélio e a morfologia acinar eram uniformes, não havendo, como nos humanos, divisão em zonas anatômicas. Segundo estes mesmos autores, histologicamente, a glândula prostática dos cães assemelha-se à porção periférica da próstata humana.

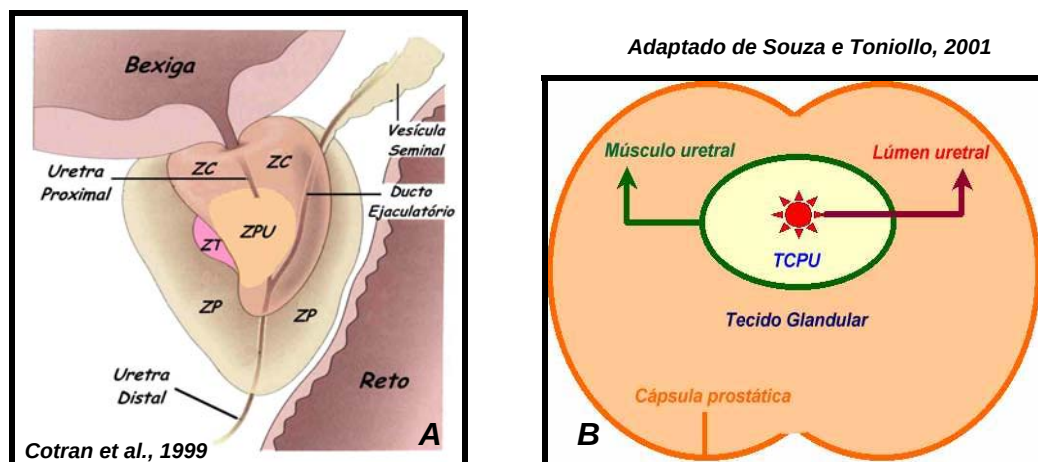


Figura 2: A) Próstata Humana. Zonas anatômicas distintas: periférica (ZP), central (ZC), transicional (ZT) e periuretral (ZPU). B) Próstata Canina. Não há divisões anatômicas distintas, sendo representada de fora para dentro pela cápsula prostática, tecido glandular, músculo uretral, tecido conjuntivo periuretral (TCPU) e lúmen uretral.

Dessemelhanças fisiológicas incluem a secreção de substâncias heterólogas, mas com funções equivalentes. A próstata humana secreta glicoproteínas como o antígeno prostático específico (PSA) e a fosfatase ácida prostática (PAP). Já a glândula canina secreta a proteína denominada esterase prostática secretória canina (CPSE) (McEntee et al., 1987; Bell et al., 1995; Gobello et al., 2002).

Diferenças alimentares entre as espécies são notórias, e, segundo De Marzo et al. (1999), dietas ricas em gorduras e carne vermelha podem culminar com o dano do DNA de células da próstata e ser um dos fatores predisponentes da carcinogênese prostática (Bonkhoff et al., 1999; Ziada et al., 1999; Coffey, 2001). A longevidade humana talvez possa explicar a alta incidência de neoplasia prostática nesta espécie, o que não ocorre com os cães (Waters et al., 1998).

No que diz respeito à nutrição vascular, a artéria prostática, que tem sua origem na artéria pudenda interna, e as veias prostática e uretral são responsáveis pelo suprimento sanguíneo apropriado à próstata canina (Johnston et al., 2001). A inervação da glândula é determinada

pelo sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático (Lepor et al., 1992), sendo descrito o papel do óxido nítrico como mediador da contração prostática e modulador do crescimento prostático no cão e no homem (Zlotta et al., 1997; Crone et al., 1998).

O fluido produzido pela glândula prostática é secretado a partir de estímulo parassimpático do nervo pélvico e expulso durante a ejaculação mediante estímulo simpático do nervo hipogástrico (Johnston, et al., 2001). Constantemente são secretadas pequenas porções de fluido prostático para a uretra proximal ou prostática, e, se não houver micção ou ejaculação, a pressão uretral produzida força o fluido a deslocar-se para o interior da bexiga (Barsanti, 1998; Johnston et al., 2000).

Macroscopicamente, a próstata canina é constituída por dois grandes lobos, e quanto ao aspecto histológico é composta por lóbulos e estes por ácinos túbulo-alveolares que se estendem desde sua abertura no ducto uretral até a cápsula prostática que limita, sustenta e protege o elemento epitelial da próstata (Rogers et al., 1986; Johnston et al., 2001)

As células glandulares são cúbicas a colunares e, freqüentemente, se apresentam em camada dupla com epitélios secretor e basal (Figura 3). Nos ductos excretórios prostáticos que se abrem no interior da uretra, o epitélio é do tipo transicional (Olson et al., 1987; Barsanti e Finco, 1992; Dorfman e Barsanti, 1995; Johnston et al., 2001).

O estroma é composto por fibroblastos, células musculares lisas, vasos sangüíneos e nervos, sendo este elemento predominante no período pré-púbere do animal e o componente epitelial mais abundante após tal momento (Olson et al., 1987; Barsanti e Finco, 1992; Dorfman e Barsanti, 1995). Os ductos prostáticos onde a secreção prostática desemboca, não coalescem, ao invés disso abrem-se na uretra prostática ao redor dos ductos deferentes, formando o colículo seminal (Johnston et al., 2001).



Figura 3: Fotomicrografia prostática mostrando a histologia normal da glândula canina. Notam-se epitélio secretor (seta vazada), célula basal (seta estreita), lúmen glandular (A) e estroma de sustentação (seta preenchida). HE, objetiva 40x/1.25x.

Nos cães entre seis meses e um ano de idade ocorre a predominância do estroma fibromuscular em relação às células epiteliais. Esta proporção é igualmente inversa quando os animais chegam à maturidade sexual (Zirkin e Strandberg, 1984; Barsanti e Finco, 1992). Já na glândula humana, a proporção entre os tecidos epitelial e estromal permanece constante do nascimento aos vinte anos de idade, embora o percentual entre músculo liso e tecido conjuntivo varie durante este período (Shapiro et al., 1997).

A próstata é uma glândula andrógeno-dependente, uma vez que a castração do animal gera atrofia do tecido glandular e a presença e/ou variação nos níveis desses hormônios leva ao aumento gradual da glândula, por proliferação de elementos epiteliais e estromais (Rogers et al., 1986; Chew, 1997; Purswell et al., 2000). Com o avançar da idade, a próstata aumenta seu volume concomitantemente com a elevação da testosterona sérica, e, após a maturidade sexual, permanece neste tamanho até o desenvolvimento da hiperplasia prostática benigna (HPB) ou qualquer outro processo patológico benigno ou maligno que leve à expansão da glândula. (Isaacs, 1984; Barsanti e Finco, 1992).

As afecções prostáticas são um problema comum em cães adultos e idosos. Além das alterações histológicas pertinentes a cada tipo de processo patológico que o tecido prostático possa desenvolver, o avanço da idade também interfere na relação entre o peso da glândula e o peso corpóreo do animal (Atalan et al., 1999a; Johnston et al., 2001).

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 por projeções de células epiteliais para o lúmen glandular; e hiperplásicas, com 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 glândula imatura, normal e hiperplásica, respectivamente.

Poulet (1985) descreve três fases de evolução para este órgão: crescimento normal até os dois anos de idade, com a glândula pesando aproximadamente 0,66g/Kg; crescimento anormal ou hiperplásica em cães de três a cinco anos, período em que a próstata pesa de 0,67 a 1g/Kg; e a fase dos animais entre seis e 16 anos, com o órgão pesando mais de 1g/Kg. Após estes momentos, a glândula se estende à involução senil.

O crescimento prostático, as alterações morfológicas referentes à idade e o envolvimento hormonal na patogenia das lesões prostáticas vêm sendo cada vez mais estudados na espécie canina devido às semelhanças dos processos nas espécies humana e canina (Lowseth et al., 1990; Dorfman e Barsanti, 1995). Além disso, o cão é a única espécie não humana na qual a HPB e o câncer prostático ocorrem espontaneamente com o avançar da idade (Berry et al., 1986; Lowseth et al., 1990; Waters et al., 1997; Leav et al., 2001).

B) Afecções prostáticas

A próstata canina é sede de diversas afecções que constituem um problema comum em cães adultos e idosos (Krawiec, 1994; Dorfman e Barsanti, 1995; Purswell et al., 2000). Com o envelhecimento esta glândula aumenta de volume e peso, usualmente devido à hiperplasia ou transformação neoplásica (Poulet, 1985; Olson et al., 1987).

Oliveira et al. (1996), com o objetivo de avaliar a incidência das afecções prostáticas em cães que eram encaminhados à necropsia, observaram que 84,6% dos animais apresentavam lesões nesta glândula, revelando a importância destas alterações na espécie canina. Ainda, a HPB foi a mais freqüente (36,9%), sendo comum em cães acima de oito anos de idade (53,9% dos casos) e, em cães entre dois e oito anos a freqüência foi de 29%. Quadros de prostatite, cistos prostáticos e neoplasias obtiveram freqüência de 24,6%; 12,3% e 4,6%, respectivamente.

Teske et al. (2002) realizaram estudo retrospectivo direcionado às doenças prostáticas e encontraram 57,1% de HPB, 19,3% de prostatites e 13% de carcinomas prostáticos. Os autores relatam que o percentual real da HPB pode ser maior do que o observado, pois não foram incluídos animais que não apresentassem sintomatologia de doença prostática, fato comum em cães com hiperplasia. Ressaltam ainda que a HPB está presente em 100% das próstatas de animais acima de seis anos.

Krawiec e Heflin (1992), referem que 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 hiperplasia prostática benigna (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. Além desses dados,

observaram que a média de idade no momento do diagnóstico foi de 8.9 anos.

Krawiec (1994) ressalta a importância clínica de se identificar a causa específica da lesão prostática, para que um tratamento correto seja instituído. Cães sexualmente intactos são mais propensos ao desenvolvimento de doença prostática em relação aos animais castrados, no entanto, quando o enfoque é direcionado às neoplasias, tal afirmação torna-se inválida, visto que sua ocorrência não é menor em cães orquiectomizados (Krawiec e Heflin, 1992).

Burk e Ackerman (1996) referem a HPB como a causa mais comum de aumento de volume prostático no cão. Segundo estes mesmos autores, neoplasias, cistos e prostatites são outras alterações da glândula que culminam com prostatomegalia. Embora a literatura apresente dados variados, a maioria dos trabalhos descreve a HPB como a principal afecção da próstata de cães adultos e sexualmente intactos (Chew, 1997; Swinney, 1998; Barsanti, 1999; Purswell et al., 2000; Johnston et al., 2000; Gobello et al., 2002; Laufer Amorim et al., 2002).

Brendler et al. (1983) e Johnston et al. (2001), descrevem que a glândula aumenta de volume gradualmente, como parte de seu desenvolvimento natural, e continua a crescer na vida adulta. Relatam ainda que o aumento devido à hiperplasia aparece antes do desenvolvimento completo da mesma. Este crescimento é regulado pela 5α diidrotestosterona (DHT), um metabólito ativo da testosterona que é formado no interior das células epiteliais prostáticas (Klausner et al., 1994; Souza e Toniollo, 1999; Purswell et al., 2000).

Quanto à predisposição racial, Chew (1997) reporta que as raças dobermann e pastor alemão são uma constância quando o assunto é doença prostática. Krawiec e Heflin (1992) encontraram alterações prostáticas com maior frequência nestas duas raças, entretanto, esclarecem que as mesmas representavam o maior número na população estudada. Destacam ainda que 44 raças de cães foram identificadas no

estudo em questão, e sugerem que o desenvolvimento de tais afecções independe do fator racial.

Kay et al. (1989) referem cães da raça dobermann com altos índices de lesões prostáticas. Descrevem ainda que 66% dos animais avaliados eram de médio e grande porte. Já Teske et al. (2002) observaram algum tipo de doença prostática em 23 raças, sendo os das raças scottish terrier e bernese mountain dog os mais propensos às afecções prostáticas.

A principal característica clínica do aumento de volume prostático no cão é a obstrução do intestino grosso, sendo raro o envolvimento do trato urinário como ocorre no homem (Swinney, 1998). No entanto, os sinais clínicos relacionados às doenças prostáticas em cães variam com o tipo e gravidade da lesão, mas freqüentemente observam-se: tenesmo, disúria, secreção uretral, além de sinais sistêmicos como febre, depressão e dor. O animal pode ou não apresentar sintomatologia clínica de envolvimento prostático (Barsanti e Finco, 1986; Kay et al., 1989; Dorfman e Barsanti, 1995).

Devido à similaridade dos sinais nas diferentes afecções e a possibilidade de ocorrência concomitante de duas ou mais alterações, o diagnóstico destas lesões torna-se um constante desafio (Barsanti e Finco, 1992; Krawiec e Heflin, 1992; Muzzi et al., 1999). O quadro 1 apresenta sinais clínicos associados as doenças prostáticas.

Lowseth et al. (1990) justificam que as diferenças nos sinais clínicos entre humanos e caninos com prostatomegalia baseiam-se na localização anatômica deste órgão. Enquanto que na primeira espécie a próstata está fixada entre a sínfise pubiana e o reto, comprimindo a uretra, a segunda não é fixa e seu crescimento ocorre em várias direções, provocando obstrução retal e constipação.

Quadro 1: Sinais clínicos associados às doenças prostáticas.

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

Fonte: Barsanti e Finco, 1992.

De acordo com Lepor et al. (1992) e Kurimoto et al. (1998), a próstata humana tem maior proporção de musculatura lisa, sendo que esta possui α 1-adrenoreceptores gerando maior tensão na presença de agonistas α 1-adrenérgicos e, talvez por este motivo, os humanos com HPB desenvolvam obstrução urinária e não o cão.

Diante da alta incidência de doenças prostáticas no cão, o exame (palpação retal e/ou abdominal) desta glândula deveria ser realizado rotineiramente como parte do exame clínico geral dos animais, a fim de determinar um diagnóstico precoce e preciso, assim como estabelecer prognóstico e definir o tratamento adequado para cada caso (Dorfman e Barsanti, 1995; Souza e Toniollo, 1999; Laufer Amorim et al., 2002). Ao menos os animais mais velhos devem ser submetidos à palpação retal para avaliação de tamanho, forma, simetria, superfície, consistência, mobilidade e dor. Os achados variam de acordo com o tipo de doença prostática (Krawiec, 1989; Dorfman e Barsanti, 1995).

Das afecções prostáticas do cão, a hiperplasia prostática benigna (HPB) é, sem dúvida, a mais freqüente e será abordada em um segmento distinto, visto que se trata de uma entidade conspícua, de grande importância no contexto próstata, atualmente bem caracterizada, mas não cristalizada, portanto constituindo um constante desafio aos que militam na área de patologia.

I. Prostatites, cistos e metaplasia escamosa

As prostatites bacterianas podem apresentar-se em caráter agudo ou crônico, sendo o último mais freqüente. O principal microorganismo envolvido é a *Escherichia coli*, no entanto, outros agentes também foram isolados. Entre eles destacam-se: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis*, *Mycoplasma canis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Streptococcus spp*, *Pasteurella spp*, e *Haemophilus spp*. A estreita relação anatômica entre a próstata, uretra proximal e bexiga urinária se reflete na elevada freqüência de infecções envolvendo estas três estruturas (Vannucchi et al., 1997; Barsanti, 1998; Johnston et al., 2000).

As vias mais freqüentes de infecção prostática bacteriana são a ascendente pela uretra e a hematógena (Barsanti e Finco, 1992). Muito menos freqüentes, mas também possíveis são as difusões renais, vesicais, testiculares, epididimárias e peritoniais (Rubin, 1990; Rodrigues et al., 1998). Os achados clínicos incluem letargia, anorexia, secreção uretral e dor (Feldman e Nelson, 1996).

A prostatite aguda é uma inflamação focal ou difusa, supurativa, com acúmulo de exsudato nos lumens glandulares, podendo haver comprometimento do estroma. Processos crônicos podem se desenvolver de forma insidiosa e apresentar episódios de inflamação aguda. Os abscessos prostáticos compreendem uma forma severa de prostatite crônica em que quantidades variáveis de exsudato purulento se acumulam no interior do parênquima glandular, sendo envoltas por uma cápsula de tecido conjuntivo (Rubin, 1990). Nas infecções crônicas agregados de linfócitos, plasmócitos e macrófagos geralmente estão presentes no estroma, sendo comum a atrofia da glândula (Ladds, 1993; Laufer Amorim, 2001; Mahapokai et al., 2001).

As prostatites podem ocorrer de forma isolada ou como consequência de outras afecções prostáticas como a HPB, cistos e

neoplasia (Rubin, 1990). No homem identifica-se também a inflamação prostática não bacteriana, que exibe aspecto histopatológico semelhante ao observado na prostatite crônica, porém com repetidos cultivos microbiológicos negativos (Nickel, 1997).

Assim como Nickel (1997) discorre sobre a base etiológica das prostatites bacterianas e não bacterianas no homem, enfocando fatores anatômicos, microbiológicos e imunológicos, Johnston et al. (2001) descrevem que o aumento no número de microorganismos bacterianos na uretra periprostática, o decréscimo da imunocompetência do hospedeiro, a presença de doenças no trato urinário, na própria próstata e alterações do fluido prostático são alguns fatores predisponentes na determinação das prostatites dos cães.

Formações cavitárias com parede distinta e contendo fluido claro em seu interior constituem os cistos prostáticos. Estes são classificados em três tipos: cistos de retenção ou cistos verdadeiros, relacionados à obstrução de ductos excretores; cistos paraprostáticos, que se localizam fora do parênquima glandular e com 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., 2001).

A metaplasia escamosa observada na próstata canina é um fenômeno onde o epitélio glandular é substituído por epitélio escamoso bem diferenciado. A etiologia desta transformação celular é atribuída ao hiperestrogenismo exógeno ou endógeno que, além da metaplasia, também provoca estase secretória e, juntamente com a lesão epitelial, predispõem a formação de cistos de retenção, prostatites e abscessos (Dorfman e Barsanti, 1995; Vannucchi et al., 1997; Johnston et al., 2001).

II. Neoplasia prostática

No âmbito geral, as neoplasias das glândulas sexuais acessórias são raras e ressaltadas com maior frequência em cães adultos e idosos. Os tipos histológicos mais comuns compreendem o adenocarcinoma e o carcinoma indiferenciado (Bell et al., 1991; Ladds, 1993; Waters et al., 1996; Cornell et al., 2000). Weaver (1981) encontrou 3,5% de neoplasias em cães com doenças prostáticas. No entanto, Bell et al. (1991) descrevem que a prevalência dos carcinomas prostáticos nos cães mantém-se entre 0,2 e 0,6%.

Em humanos, o carcinoma de próstata é a forma mais comum de câncer e a segunda causa de óbito dentre as neoplasias (Garnick, 1997; Cotran et al., 1999; Verhagen et al., 2002). Foi descrito que 70% dos carcinomas prostáticos surgem da zona periférica, na porção posterior glândula, o que permite a palpação retal (Garnick, 1997; De Marzo et al., 1999). O local específico de origem das neoplasias prostáticas no cão ainda não foi identificado (McEntee et al., 1987).

Com relação à idade dos animais com adenocarcinoma prostático, Olson et al. (1987) relatam a média de 9,3 anos, variando de cinco a 13 anos. Aquilina et al (1998) estudaram a próstata neoplásica canina e obtiveram a média de nove anos. Os dados apresentados por Bell et al. (1991); Cornell et al. (2000) e Teske et al. (2002), reportam a média de dez anos com variações entre seis e 14 anos.

Na espécie humana a neoplasia prostática também é considerada uma doença senil, sendo a *causa mortis* de mais de 50% dos homens acima de 70 anos (Armbruster, 1993). Verhagen et al. (2002) ressaltam o declínio do número de casos nos últimos anos devido ao advento de marcadores séricos para o câncer prostático, como o PSA e a PAP, bem como a informação e prevenção junto à população.

Metástases dos carcinomas prostáticos são observadas em cerca de 80% dos cães e localizadas preferencialmente nos linfonodos

pélvicos, sistema esquelético e pulmões (Kozlowski, 1999; Cornell et al., 2000; Teske et al., 2002). Bell et al. (1991) estudaram o comportamento biológico do adenocarcinoma prostático em animais inteiros e castrados. Observaram que 89% dos cães apresentavam metástases e o mais curioso é que as lesões pulmonares prevaleceram nos cães orquiectomizados. Além disso, o tipo histológico observado com maior frequência foi o adenocarcinoma pouco diferenciado. Diante desses achados os autores acreditam que o carcinoma prostático possa ser mais agressivo nos caninos castrados que nos inteiros.

Da mesma forma Teske et al. (2002) realizaram estudo epidemiológico com enfoque nos carcinomas prostáticos e descrevem que o fato mais interessante foi a constatação de que 26 dos 56 cães com neoplasia eram castrados, sendo esses tumores pouco diferenciados e de comportamento biológico mais agressivo que aqueles encontrados nos cães inteiros. Frente ao observado os autores sugerem que a castração não inicia, mas favorece a progressão do processo neoplásico. No que diz respeito aos humanos, Garnick (1997) cogita a possibilidade de a vasectomia aumentar o risco de câncer prostático nesta espécie.

O adenocarcinoma prostático no cão é insidioso e altamente agressivo (Bell et al., 1991; Waters et al., 1997). A etiologia é considerada espontânea, mas não há dúvidas quanto ao envolvimento hormonal (Bonkhoff et al., 1999). Johnston et al. (2000) relatam que a depleção andrógena pós-orquiectomia resulta em involução de lesões proliferativas prostáticas benignas, mas não de carcinomas prostáticos. Swinney (1998) sugere duas possibilidades etiológicas para a neoplasia prostática em cães orquiectomizados: 1) as células envolvidas no tumor são hormônio-independentes e 2) as neoplasias sofrem influências de hormônios extratesticulares, como os produzidos na adrenal.

Para Mahapokai et al. (2000) o massivo decréscimo no número de células epiteliais após orquiectomização indica que estas são andrógeno-dependentes. Em contrapartida, o aumento no número de

células basais observado na próstata desses animais sugere que os carcinomas prostáticos mais agressivos possam ter origem nessas células, visto que as mesmas são andrógeno-independentes, sobrevivem e proliferam ativamente na ausência de tais hormônios.

A avaliação histopatológica sugere que o processo neoplásico surge de lesões pré-malignas, como as metaplasias e displasias, onde as células sofrem alterações substanciais, diferindo-as das normais. Essas alterações envolvem mutações de genes que controlam o crescimento celular, permitindo que as células mutantes e suas descendentes proliferem e dominem a população ao seu redor (Weinberg, 1996).

A fase pré-maligna do adenocarcinoma na próstata humana corresponde à displasia ducto-acinar ou neoplasia intra-epitelial prostática (PIN) (Bowstwick, 1995; Algaba, 1997; Leav et al., 2001). O'Shaughnessy et al. (2002) definem a PIN como uma lesão não invasiva que possui anormalidades genéticas, ausência de controle das funções celulares, algumas características fenotípicas de câncer e probabilidade substancial de progredir para câncer invasivo.

As PIN são compostas por focos únicos ou múltiplos de proliferação intra-acinar, com anaplasia nuclear, porém não há invasão da membrana basal. Apresenta crescimento lento, pode submergir a membrana basal, sendo então diagnosticada como câncer. Como este desenvolvimento pode levar anos, a determinação da PIN é importante, pois o uso de terapias que revertam a lesão neste estágio implicaria na não progressão do câncer (Bostwick e Brawer, 1987; Bostwick, 1995).

Dentre os aspectos histopatológicos da PIN destacam-se a hipercelularidade ductal ou acinar e características de malignidade, como perda da polaridade nuclear, aumento nuclear e nucleolar (Waters e Bostwick, 1997a; Bostwick et al., 2000). Estas lesões precursoras são observadas em mais de 85% dos casos de câncer prostático e em 43% de forma contígua às lesões prostáticas benignas (McNeal e Bostwick, 1986; Bostwick, 1995; Algaba, 1997).

Waters e Bostwick (1997b) observaram uma incidência de 55% de casos de PIN de alto grau em cães idosos e sexualmente intactos, sem apresentarem evidências clínicas de câncer. Segundo os autores, a prevalência da PIN em cães, assim como em humanos, é influenciada pela idade e por andrógenos testiculares. De acordo com Aquilina et al. (1998), a PIN está presente em 72% dos animais com adenocarcinoma prostático, constituindo a única espécie não humana em que a PIN se desenvolve espontaneamente. Microscopicamente, são caracterizadas em baixo e alto grau a depender das alterações celulares presentes, sendo que a relação direta com o carcinoma prostático envolve as lesões mais severas da PIN de alto grau (Bostwick e Brawer, 1987; Algaba, 1997).

A PIN no cão e no homem apresenta-se de forma semelhante no que diz respeito à morfologia, imunofenótipo e associação com o câncer (Waters et al., 1998; Bostwick et al, 2000), assim, a próstata canina pode ser utilizada como padrão para a determinação dos fatores que regulam a aparente progressão do epitélio benigno para PIN, e deste para o carcinoma invasivo (Waters e Bostwick, 1997a e b).

Diversos autores referem a próstata do cão como modelo natural para o estudo de doenças deste mesmo órgão em humanos, especialmente das HPB e neoplasias (Waters e Bostwick, 1997a e b; Aquilina et al., 1998; Cornell et al., 2000; Leav et al., 2001). Controversamente, Pylkkänen et al. (1996) afirmam que a baixa incidência e o longo período de latência descartam o cão como modelo prático para a carcinogênese prostática. Já Bostwick et al. (2000) concordam que a heterogeneidade morfológica, desenvolvimento em idade avançada, focos de PIN, localização anatômica e propensão para metástases ósseas são alguns fatores que fazem do cão a espécie experimental adequada para o estudo desta afecção no homem.

Apesar de o adenocarcinoma da próstata canina não ser tão comum quanto no homem, esta lesão é extremamente rara em qualquer

outra espécie animal (Lowseth et al., 1990; Karr et al., 1995; De Marzo et al., 1999; Cornell et al., 2000; Coffey, 2001). De acordo com Lehr et al. (1998), os fatores etiológicos responsáveis pelo câncer prostático canino são os mesmos que para os humanos. É importante ressaltar que, 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 (Griffiths et al., 1991; De Marzo et al., 1999).

Garnick (1997) apresenta dados epidemiológicos do câncer urológico nos americanos, apontando a dieta e a ancestralidade africana como fatores de risco para o desenvolvimento de tumor prostático. Por outro lado, Bostwick et al. (2000) ressaltam alguns consensos sobre a neoplasia prostática humana: a notória influência androgênica e estrogênica na patogenia do processo, a característica andrógeno-independente de alguns tumores, o comportamento insidioso com longo período de latência e o alto índice metastático dos tumores prostáticos.

Embora a etiologia da carcinogênese prostática na espécie canina não seja definida, sabe-se que apenas o componente hormonal andrógeno não é suficiente para desencadear o processo. O fato é que os tumores de origem prostática são lesões proliferativas de animais senis e de maior ocorrência em cães de médio e grande porte (Weaver, 1981; Bell et al., 1991; Swinney, 1998). O prognóstico ruim associado à neoplasia prostática canina pode ser atribuído, em parte, ao diagnóstico tardio, uma vez que o uso de marcadores bioquímicos séricos nesta espécie, como o PSA, não está disponível (Waters e Bostwick, 1997a; Swinney, 1998; Souza e Toniollo, 2001).

III. Hiperplasia Prostática Benigna (HPB)

A HPB é um aumento espontâneo da próstata induzido por hormônios, freqüente em cães adultos e idosos, sendo considerada a alteração mais comum da próstata canina, visto que cerca de 100% dos cães adultos inteiros desenvolvem evidências histológicas de hiperplasia com o avançar da idade (Lowseth et al., 1990; Barsanti, 1999; Johnston et al., 2000; Teske et al., 2002). O órgão hiperplásico pode variar de pequeno e fibromuscular a uma glândula grande com lúmen cístico (Weijers et al., 1997).

De acordo Olson et al. (1987) 80% dos cães inteiros e acima de oito anos de idade apresentam HPB. Em humanos, a HPB foi observada em 50% de homens com cinquenta anos de idade e em 90% daqueles octogenários (Shapiro et al., 1997). Da mesma forma, Griffiths et al. (1991) descrevem que raramente ocorre aumento da glândula devido à hiperplasia antes dos cinquenta anos de idade.

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 e Finco, 1992). Segundo Cotran et al. (1999), aproximadamente 20% dos indivíduos com quarenta anos, 70% daqueles com sessenta e 90% dos com setenta anos apresentam HPB.

A maioria dos cães afetados não apresenta sinais clínicos (Chew, 1997; Jones et al., 2000; Teske et al., 2002). Quando presentes, os mais comuns são secreção uretral hemorrágica, hematúria, e/ou dificuldade de defecação. À palpação a próstata mostra-se indolor ou com sensibilidade dolorosa quando associada a prostatite, simetricamente aumentada e de consistência variável. A urina e o sêmen são normais ou contêm sangue (Rogers et al., 1986; Barsanti, 1999; Jones et al., 2000).

No homem, a relação entre o aumento de volume da glândula e a manifestação de sintomas é variável, pois alterações no interior da

glândula podem levar à obstrução uretral na ausência de um aumento de volume generalizado (Wilson, 1980). Shapiro et al. (1992b) demonstraram que o tamanho da glândula não está relacionado com a severidade da sintomatologia clínica nos pacientes com HPB e que a prevalência da hiperplasia histológica excede à clínica (sintomática).

Vários estudos têm sido realizados na tentativa de elucidar completamente a patogenia da HPB, entretanto, seu real mecanismo de formação permanece indeterminado. Três características são bem definidas. Primeiro; o crescimento da próstata é mediado por hormônios testiculares, não sendo observada hiperplasia espontânea após a castração. Segundo; é amplamente aceito que o processo hiperplásico acomete indivíduos idosos, entretanto, mesmo que as manifestações da doença apresentem-se tardiamente, o processo ter se iniciado muitos anos antes. Terceiro; há uma especificidade marcante em relação às espécies acometidas, pois apenas o cão e o homem desenvolvem a doença. Tal fato indica diferenças importantes na fisiologia prostática dessas duas espécies em relação às outras, que devem ser fundamentais para o desenvolvimento da HPB (Wilson, 1980; Klausner et al., 1994).

A HPB tanto no cão quanto no homem relaciona-se diretamente com a testosterona, a diidrotestosterona (DHT) e o estrogênio (Lowseth et al., 1990; Dorfman e Barsanti, 1995; Murakoshi et al., 1998a). Ziada et al. (1999) representam os poucos pesquisadores que listam outros fatores predisponentes ao desenvolvimento da HPB, sendo considerado a raça, etnia, histórico familiar, tabagismo, dieta e doenças crônicas como hipertensão e diabetes. A hiperplasia prostática também não é observada em homens castrados jovens, bem como em pacientes pseudo-hermafroditas, nestes devido à deficiência de 5α redutase e insensibilidade a andrógenos (Bartsch et al., 1987).

O desenvolvimento espontâneo da HPB no cão e no homem é similar em alguns aspectos, entretanto, difere em outros, visto que no cão o aumento de volume tende a ocorrer externamente, a hiperplasia é

predominantemente glandular e envolve o órgão de forma difusa. Já no homem o aumento ocorre na região junto à uretra e o componente tecidual proliferado de forma abundante é o estromal (Wilson, 1980).

Quanto ao aspecto histológico da HPB, De Klerk et al. (1979) observaram que dois tipos podem ser reconhecidos na próstata canina: glandular e cístico. O glandular caracteriza-se por projeções elaboradas de epitélio hipertrófico e hiperplásico em direção ao lúmen, gerando aumento do ácino como um todo. Na forma cística observa-se epitélio hiperplásico do tipo cúbico, com formação de grandes cavidades e acréscimo na relação estroma/epitélio.

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

Bartsch e Rohr (1980) estudando a composição histológica de próstatas caninas e humanas normais e hiperplásicas observaram que na humana normal o estroma representa 50% da glândula, enquanto na hiperplásica constitui 60% do total. Em contrapartida, a próstata canina normal era composta por 38% de tecido intersticial, enquanto na hiperplasia apenas 25% da glândula continha este componente.

Controversamente, a análise morfométrica de tecido prostático de cães beagle realizada por Lowseth et al. (1990), indica que similar às alterações observadas em humanos, a prostatomegalia é devido inicialmente ao aumento do volume absoluto do tecido intersticial e que o componente epitelial não contribuiu para o aumento observado. Também Lepor et al. (1992) mensuraram a quantidade de músculo liso presente no tecido prostático canino e obtiveram o percentual de 17,6%, com maior concentração nas porções anterior e posterior da glândula.

Por outro lado, a ausência de células musculares lisas ativadas na HPB canina espontânea ou experimentalmente induzida, 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 estudo da etiologia da HPB humana, sendo esta uma doença primariamente estromal. Como Bartsch e Rohr (1980), Wilson (1980) assume que o modelo é válido quando fundamentado no aspecto endócrino da patogenia do processo, que é similar, mas considerando que as diferenças histológicas tenham um papel secundário.

Para Tunn et al. (1980) e Zirkin e Strandberg (1984), a prostatomegalia está relacionada ao aumento dos componentes epitelial, estromal, assim como com o aumento no tamanho das células epiteliais (Murakoshi et al., 1998b; Barsanti, 1999; Johnston et al., 2001). Sabe-se também que esta glândula é produtora do maior volume de ejaculado e que alterações no tamanho da próstata podem refletir neste volume (Brendler et al., 1983; Purswell et al., 2000).

Pesquisas contemporâneas em relação a HPB canina concordam que 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; Johnston et al., 2000).

Siegel et al. (1990) obtiveram próstatas de pacientes submetidos a prostatectomia radical para avaliação morfométrica. Na média, a área glandular contribuiu para 18% do tecido hiperplásico, sendo

que os componentes fibroso, muscular e vascular representaram, 58% do total. O restante (24%) correspondia a edema, infiltrado inflamatório, nervos, linfáticos e outros tecidos. Resultados similares apontando a HPB humana como uma doença fundamentalmente estromal foram encontrados por Bartsch et al. (1987), Shapiro et al. (1992a e b), Deering et al. (1994), Ishigooka et al. (1996) e Zlotta et al. (1996).

McNeal e Bostwic (1986) e Olson et al. (1987) ressaltam que em humanos a HPB é caracterizada por hiperplasia do estroma no tecido periuretral e no cão ela é difusa. Já Deering et al. (1994), enfatizam que não existe concordância se o aumento de volume prostático é devido ao envolvimento epitelial ou do estroma, havendo trabalhos que indicam a hiperplasia do estroma e outros da glândula.

O fato é que o envolvimento destes componentes pode estar relacionado à 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; Laufer Amorim, 2001).

A variedade de alterações que se manifestam em uma mesma próstata pode contribuir para as divergências na bibliografia em relação à ocorrência de hiperplasia estromal. Ainda, a inflamação que usualmente acompanha o processo, demonstra que este complexo envolve diversas alterações na arquitetura normal da glândula (Metten, 1978 *apud* Olson et al., 1987).

- ***Testosterona, diidrotestosterona, estrógeno e outros fatores envolvidos na patogenia da HPB***

Em relação aos fatores hormonais envolvidos na patogenia da HPB, sabe-se que a testosterona, produzida nos testículos, é o principal andrógeno circulante do organismo, e dá origem a outros dois hormônios: a DHT e o 17β estradiol, sendo todos abarcados no estabelecimento do processo (Klausner et al., 1994). 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 (Wilson, 1980; Johnston et al., 2001). 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 inquestionável na patogenia do processo (Wilson, 1980).

A DHT é um metabólito da testosterona circulante e mediador do crescimento prostático, sintetizado na próstata pela ação da enzima 5α 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 os tipos celulares, a DHT liga-se a receptores androgênicos nucleares que sinalizam a transcrição de fatores de crescimento mitogênicos para as células epiteliais e estromais (Figura 4). Ainda, a testosterona pode ligar-se diretamente a estes receptores e estimular o crescimento celular, entretanto, a DHT é dez vezes mais potente em promover a transcrição de fatores de crescimento por dissociar-se mais lentamente dos receptores nucleares (Klausner et al., 1994; Cotran et al., 1999; Johnston et al., 2001).

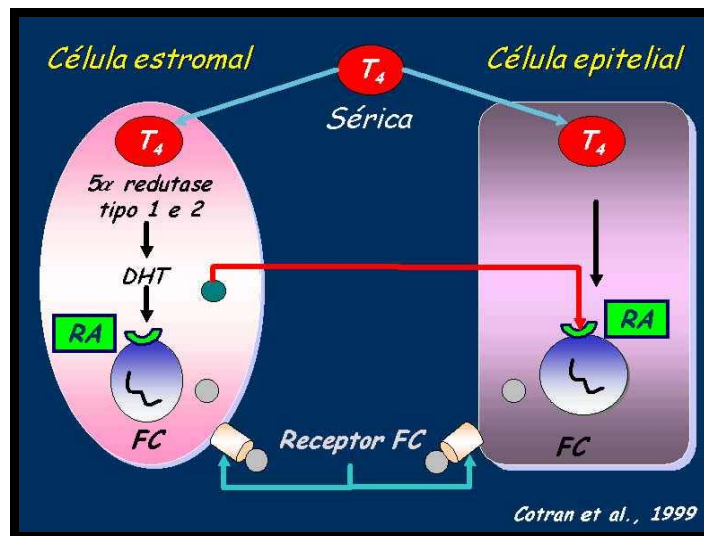


Figura 4: Mecanismo de ação da testosterona e DHT na promoção do crescimento e divisão celular das células estromais e epiteliais da próstata (adaptado de Cotran et al., 1999). Testosterona (T_4), diidrotestosterona (DHT), receptor nuclear androgênico (RA), fator de crescimento (FC).

A DHT é citada como hormônio chave na promoção da HPB e tal apontamento tem suporte clínico, visto que a administração de inibidores da 5 α redutase leva à redução dos níveis de DHT e do volume prostático (Johnston et al., 2000; Steers, 2001; Gobello et al., 2002). Porém, pelo fato de nem todos os pacientes humanos se beneficiam deste tratamento e pelo certo envolvimento de outros fatores na patogenia da doença, diversos autores sugerem uma etiologia heterogênea para a HPB (Wilson, 1980; Grayhack et al., 1998; Cotran et al., 1999). Quanto a T_4 , Juniewicz et al. (1993) obtiveram nível sérico normal em cães adultos inteiros com HPB.

Para os que militam nesta área não é novidade o envolvimento hormonal na gênese da HPB, visto já que em 1975, Lloyd et al. compararam as concentrações sérica e tecidual de estradiol e andrógenos em cães saudáveis e em outros apresentando HPB. As concentrações de T_4 tanto no plasma quanto nas glândulas prostáticas não mostraram diferença entre os dois grupos de animais. A DHT, como

em humanos, apresentou-se elevada no tecido prostático de cães com HPB, porém não se conhecia a relação entre altos níveis de diidrotestosterona e esta afecção. As medições referentes ao 17β estradiol demonstraram altas concentrações sérica e tecidual no grupo com hiperplasia. No estudo realizado por Lowseth et al. (1990) também não foi observada relação da HPB com níveis séricos de T_4 .

Isaacs (1983) observou um aumento significativo nas diversas atividades responsáveis pela produção de DHT na próstata de cães com HPB, sendo que este aumento não foi acompanhado de acréscimo concomitante nas atividades que lisam este esteróide. Também Ewing et al. (1983), baseados em hipóteses anteriores de que a HPB no cão estaria associada ao acúmulo deste andrógeno na glândula (Meikle et al., 1981), estudaram sua concentração em tecido prostático de caninos portadores de HPB espontânea. Surpreendentemente não encontraram diferenças estatísticas significativas ($p>0.05$) na concentração de DHT entre tecido prostático histologicamente normal e aqueles com HPB espontânea.

Por outro lado, Cochran et al. (1981) avaliaram os níveis de andrógenos e E_2 no soro de cães jovens sem hiperplasia e jovens ou idosos com HPB, sendo que obtiveram diferentes perfis séricos para esses animais. No que concerne a T_4 , esta tende a diminuir nos idosos, já a DHT e o E_2 apresentam relação inversa nos cães jovens e senis com HPB, caracterizados por aumento de DHT e queda de E_2 nos jovens, e aumento de E_2 e redução de DHT nos idosos. Para Brendler et al. (1983) ocorre um decréscimo relativo na proporção andrógeno/estrógeno, como resultado de modesta diminuição androgênica sem modificações estrogênicas, culminando com a HPB. Já Kawakami et al. (2001) observaram queda da testosterona e aumento do estrógeno nos animais com HPB.

O estudo liderado por Poulet (1985) relacionando a evolução prostática com a idade do cão, ressalta que a atividade funcional das

células prostáticas depende da 5α DHT e que o acúmulo deste hormônio pode conduzir à hiperplasia. Este aumento seria causado por alterações na atividade de enzimas, acompanhado do acréscimo de receptores de androgênio. Sendo assim, a causa da hiperplasia prostática reside nas próprias células da glândula. Da mesma forma Olson et al. (1987), reportam que apesar do nível circulante de testosterona poder estar diminuído no soro de cães idosos que apresentem HPB, a concentração de DHT está aumentada no tecido hipertrofiado ou hiperplásico.

Seguindo a mesma linha de pesquisa, Juniewicz et al. (1994) mensuraram T_4 , DHT e E_2 nas formas sérica e prostática em cães intactos e com reposição andrógena pós orquiectomia, com o objetivo de avaliar a evolução da próstata na presença e ausência testicular, respectivamente. Os resultados mostraram que 100% dos animais inteiros desenvolveram HPB complexa, e, independente do protocolo utilizado para a reposição hormonal pós-orquiectomia, o percentual máximo de próstatas com hiperplasia foi de 66%. Os autores concluíram que a ausência testicular reduz a probabilidade de HPB, mesmo na vigência de reposição andrógena. Observaram ainda que a HPB glandular foi o tipo histológico mais freqüente nos animais castrados e a atrofia da glândula chegou a 67% no grupo de animais esterilizados e com reposição hormonal tardia.

Há mais de vinte anos, pesquisadores procuram esclarecer a patogenia exata da HPB e existem evidências de que a hiperplasia mediada pela DHT é auxiliada pelo estrogênio (E_2). Um fato importante que reforça essa idéia é o desenvolvimento experimental de HPB em cães jovens castrados, induzida por altas doses de andrógenos e 17β estradiol (Walsh e Wilson, 1976; Griffiths et al., 1991; Winter et al., 1995; Juniewicz et al., 1994; Mahapokai et al., 2001; Coffey, 2001).

Segundo Lee et al. (1997), receptores de estrogênio localizados principalmente nas células estromais prostáticas em associação com outros hormônios esteróides ligados à globulina (SHBG), aumentam em oito vezes a produção de adenosina monofosfato, enzima

essencial no processo de ativação e ação dos andrógenos. Aliado a isso, os autores ainda relatam que o estrogênio estimula a proliferação de células epiteliais através da síntese de um fator de crescimento semelhante à insulina. Não há informações em relação ao estímulo de proliferação direto do estrógeno sobre as células epiteliais (Figura 5). Da mesma maneira, Cotran et al. (1999) referem que a progressão da idade no homem leva ao aumento no nível de E_2 e este estimula a proliferação de receptores de andrógenos, tornando as células prostáticas mais susceptíveis a ação da DHT com conseqüente proliferação das mesmas.

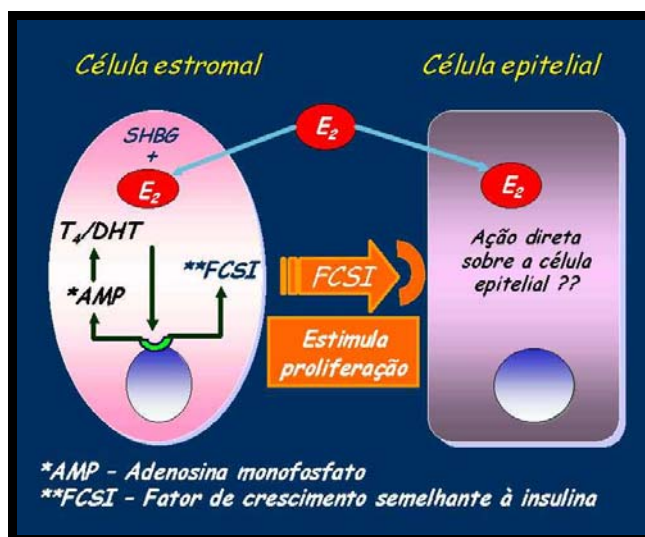


Figura 5: Mecanismo de ação estrogênica na promoção do crescimento e divisão celular das células estromais e epiteliais da próstata. Estrógeno (E_2), hormônios esteróides ligados à globulina (SHBG), testosterona (T_4), diidrotestosterona (DHT), adenosina monofosfato (AMP), fator de crescimento semelhante à insulina (FCSI).

Além de contribuir para o desenvolvimento da HPB, sensibilizando a próstata para andrógenos (Walsh, 1988; Griffiths et al., 1991; Souza e Toniollo, 1999), 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 e a metaplasia escamosa do epitélio (Ewing et al.,

1983; Poulet, 1985; Bartsch et al., 1987; Walsh, 1988; Klausner et al., 1994; Epstein, 1997). De acordo com Coffey (2001) o estrógeno ainda diminui a taxa de apoptose, induz a inflamação, bloqueia a função secretora epitelial e oxida danos ou adiciona adutos ao DNA das células prostáticas. 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).

Souza e Toniollo (1999) mensuraram os níveis séricos de T_4 e 17β estradiol e correlacionaram com o volume prostático e a idade dos animais. Utilizaram 45 cães inteiros entre um e 11 anos e observaram que os valores médios de T_4 tendem a maiores concentrações a partir dos seis anos de idade, no entanto, não observaram diferença estatística significativa quando comparado à idade. Para a variável E_2 encontraram diferença significativa no grupo de animais com idade entre sete e 11 anos, sendo que estes apresentaram altos níveis de E_2 e volume prostático maior. Para os autores, cães com T_4 em nível normal ou aumentado e com aumento de E_2 podem apresentar HPB, concordando com Klausner et al. (1994) que relatam a ação anti-apoptótica do E_2 , além do estímulo sobre os receptores androgênicos já citado anteriormente.

Schatzl et al. (2001) descrevem que pacientes com HPB apresentam altos níveis séricos de T_4 e E_2 quando comparados aos indivíduos com carcinoma prostático. Embora a patogenia da HPB não esteja completamente elucidada, Lee et al. (1997) sugerem uma lista de fatores etiológicos de origem extrínseca e intrínseca (Quadro 2), a qual envolve múltiplas causas citadas de forma isolada ou conjuntamente por diversos autores em outras ocasiões.

Quadro 2: Fatores etiológicos extrínsecos e intrínsecos da HPB.

Fatores extrínsecos
• Fatores testiculares (Andrógenos e estrógenos)
• Fatores somáticos (Hormônios não testiculares, neurotransmissores, linfócitos, macrófagos)
• Fatores ambientais (Fatores dietéticos, microorganismos)
• Predisposição genética
Fatores intrínsecos
• Interação epitélio-estroma

Fonte: Lee et al., 1997

Uma das teorias em relação à patogenia da HPB sugere desequilíbrio entre proliferação e morte celular, causado por fatores hormonais, fatores de crescimento e oncogenes (Klausner et al., 1994; Ziada et al., 1999). No que diz respeito aos fatores de crescimento, dois deles são de grande importância no entendimento do crescimento prostático: o fator de crescimento de ceratinócitos (KGF) e o fator de crescimento transformante β (TGF β) (Ittman e Mansukhani, 1997; Janulis e Lee, 1999; Niu et al., 2003).

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. Portanto, ambos estão presentes no componente estromal prostático. As células epiteliais da próstata possuem receptores para estes dois fatores de crescimento indicando que na glândula normal este mecanismo está em harmonia (Figura 6) (Janulis e Lee, 1999; Niu et al., 2003). Ishizaka et al. (1999) ainda relatam as endotelinas como potentes mitógenos do tecido prostático, mas com localização e ação autócrina e parácrina nas células epiteliais prostáticas.

A ordem inversa de estímulo (célula epitelial - célula estromal) que determinaria a proliferação estromal é menos controlada por sinais do

epitélio adjacente, que participa no controle da diferenciação de fibroblastos ou de células musculares lisas do estroma. Os fatores de crescimento liberados pelas células epiteliais, associados a fatores autócrinos das células estromais e sistêmicos, podem ser a base para o crescimento estromal excessivo nas HPB (Lee et al., 1997; Janulis e Lee, 1999).

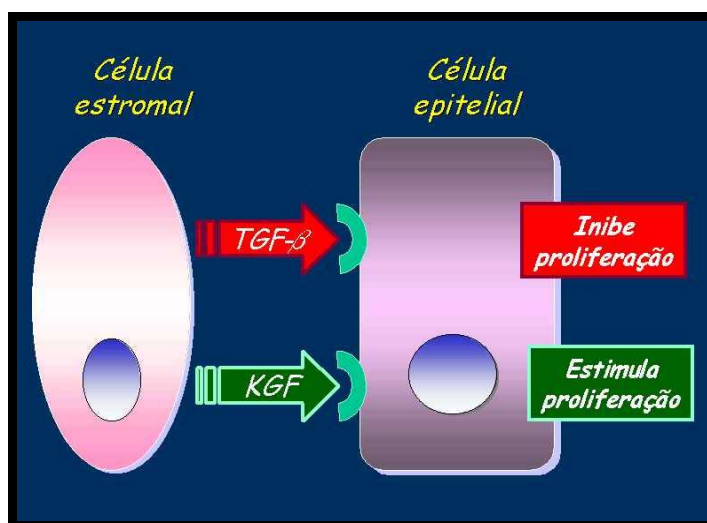


Figura 6: Mecanismo de interação entre epitélio e estroma na proliferação epitelial prostática. Fatores de crescimento como o fator de crescimento de ceratinócitos (KGF) e o fator de crescimento transformante β (TGF β) estimulam e inibem a proliferação celular epitelial prostática, respectivamente (Laufer Amorim et al., 2002).

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; Niu et al., 2003).

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 glândulas 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), considerando a espécie canina um modelo útil no estudo das alterações proliferativas da próstata humana.

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 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).

Testando a hipótese de envolvimento dessas células na gênese da HPB e da neoplasia prostática em cães, Leav et al. (2001) encontraram duas populações de células basais biologicamente distintas e concluíram que HPB e o carcinoma prostático têm relação direta com as células basais acinares e células do epitélio ductal, respectivamente.

De acordo com Dorfman e Barsanti (1995) a patogenia exata da HPB não está totalmente delineada, porém a esterilização ou a terapia com estrógenos aparentemente previne o desenvolvimento da hiperplasia. Pesquisas recentes reconhecem a ação atrófica do estrógeno em baixas doses sobre a próstata hiperplásica, no entanto apontam os potentes efeitos colaterais como a hipoplasia medular, anemia aplástica, hemorragias, metaplasia escamosa e proliferação do estroma

fibromuscular. Atualmente, hormônios progestágenos têm sido utilizados com maior eficácia e margem de segurança na regressão do volume prostático em cães com HPB (Bamberg-Thalén e Linde-Forsberg, 1992; Murakoshi et al., 1998b; Barsanti, 1999; Murakoshi et al., 2000).

O uso de inibidores de 5 α redutase ou combinação de inibidores de 5 α redutase com antagonistas de receptores de andrógenos levam ao decréscimo na formação de DHT no tecido prostático, obtendo-se diminuição no componente glandular de próstatas caninas normais e hiperplásicas, assim como no componente estromal de próstatas hiperplásicas. (Juniewicz et al., 1993; Laroque et al., 1995; Steers, 2001).

O diagnóstico definitivo da HPB é determinado através da biopsia, entretanto, o tratamento pode ser instituído se o diagnóstico presuntivo for instituído em cães sintomáticos. Para tanto se deve 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 ultrassonografia. Pelo fato de a 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).

C) Diagnóstico e avaliação das lesões prostáticas

I. Palpação retal, exames de imagem, citologia e biopsia

Dados 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 e necessárias para o diagnóstico definitivo, entre elas: exames radiológicos, avaliação do plasma seminal, urinálise, cultura microbiológica de urina ou sêmen, avaliação bioquímica e hematológica, ultra-sonografia, citologia aspirativa e biopsia (Barsanti et al., 1980; Barsanti e Finco, 1984; Rogers et al., 1986; Muzzi et al., 1999).

Feldman e Nelson (1996) e Chew (1997) relatam que a palpação retal deve ser o ponto inicial na avaliação de cães com suspeita de doença prostática. Alterações na morfologia, simetria, contorno, consistência, mobilidade, localização e sensibilidade à manipulação são critérios importantes no diagnóstico diferencial das lesões que podem acometer a glândula (Barsanti e Finco, 1992; Dorfman e Barsanti, 1995).

Cães com mais de quatro anos de idade devem ser examinados por palpação retal, mesmo aqueles castrados, pela possibilidade de apresentarem neoplasia prostática. Krawiec (1994) ressalta que nem sempre a neoplasia prostática está relacionada à prostatomegalia e a glândula pode demonstrar tamanho normal, porém, à palpação apresentar-se-á firme e assimétrica.

A radiografia abdominal confirma o aumento de volume glandular com deslocamento dorsal do cólon e cranial da bexiga (Barsanti, 1999; Jones et al., 2000), no entanto, Ruel et al. (1998) referem que o acesso clínico ao volume prostático no cão, utilizando o raio-X abdominal é impreciso e subjetivo.

O uso do ultra-som permite a mensuração prostática, avaliação do parênquima, estreita as possibilidades diagnósticas e auxilia na

execução da biopsia e exame citológico (Feeney et al., 1989; Kay et al., 1989; Burk e Ackerman, 1996; Muzzi et al., 1999), caracterizando uma ferramenta útil no direcionamento do diagnóstico e do prognóstico (Cartee e Rowles, 1983; Atalan et al., 1999b). Embora a ultra-sonografia demonstre-se útil, a lesão específica não pode ser determinada, sendo recomendada a realização de biopsia e coleta de fluido dos cistos prostáticos (Feeney et al., 1989; Kay et al., 1989; Burk e Ackerman, 1996; Muzzi et al., 1999).

Aspiração por agulha fina e biopsia determinam o diagnóstico morfológico das lesões prostáticas, podendo ser realizadas via transabdominal ou periretal (Barsanti e Finco, 1992). Amostras para avaliação citológica da próstata são obtidas por lavado prostático, ejaculado e aspiração. O diagnóstico diferencial entre as afecções prostáticas é embasado nas características celulares pertinentes a cada lesão desenvolvida pela glândula (Burkhard e Meyer, 1996).

Barsanti et al. (1980) realizaram biopsia e CAAF da próstata em cães adultos normais, a fim de estabelecer um padrão morfológico normal para que servisse de base nas interpretações das alterações prostáticas. Após a biopsia não foram observados sinais de inflamação e as únicas complicações foram hematúria por menos de quatro dias e hemorragia periprostática moderada, notadas na necropsia dos animais.

A citologia ou a biopsia prostática são exames essenciais para o avanço no diagnóstico e prognóstico das doenças prostáticas (Rodrigues et al., 1998). Como contra-indicação, pacientes com suspeita de abscesso ou infecção aguda não devem ser puncionados ou biopsiados devido ao potencial de disseminação da infecção pelo trato da agulha e peritonite (Dorfman e Barsanti, 1995; Rodrigues et al., 1998).

II. Fosfatase ácida prostática (PAP) e antígeno prostático específico (PSA)

Marcadores biológicos são substâncias produzidas por tecidos normais e alterados que podem ser utilizadas no diagnóstico de afecções do tecido em questão (Gobello et al., 2002). A glândula prostática de humanos secreta inúmeras glicoproteínas. Duas delas, a fosfatase ácida prostática (PAP) e o antígeno prostático específico (PSA), têm sido utilizadas no diagnóstico de afecções prostáticas, determinação da extensão da doença, monitoramento da resposta terapêutica e detecção de recidivas (McEntee et al., 1987; Souza e Toniollo, 2001).

O primeiro marcador de tumor em oncologia moderna foi a fosfatase ácida que se apresentava aumentada no soro de pacientes humanos com carcinoma prostático metastático. Desde então, têm-se mostrado que a atividade da PAP apresenta-se elevada no soro de pacientes com doença extra prostática, não sendo, portanto, um marcador que deva ser utilizado isoladamente como meio diagnóstico para as lesões da próstata (Alivizatos et al., 1992; Bostwick, 1994).

Como na glândula prostática de humanos, a secreção de fosfatase ácida no cão é hormônio dependente e apresenta variações consideráveis com a idade (Souza, 1998). Alterações quantitativas desta enzima são menos pronunciadas na espécie canina, pois a sua concentração é menor que em humanos (Aumüller et al., 1987).

Em oncologia, a avaliação de marcadores que refletem a atividade biológica dos tumores prostáticos associada à palpação retal, auxilia na escolha e monitoramento do tratamento (Lewenhaupt et al., 1990; Souza e Toniollo, 2001). Ainda, Corazza et al. (1994), relatam que estes marcadores bioquímicos devem permitir ao clínico diagnosticar precocemente as neoplasias, diferenciando-as da HPB, além de monitorar a eficiência da terapia para o câncer.

Em humanos, altas concentrações de PAP no soro indicam adenocarcinoma prostático que está crescendo ativamente e causando metástases, especialmente em ossos e linfonodos. Porém, a PAP não é considerada um marcador prostático específico, pois se apresenta aumentada em tumores do trato gastrointestinal, nas HPB, prostatites, após cateterização da uretra e massagem prostática (Corazza et al., 1994). Segundo Weaver (1981) a mensuração sérica da PAP em cães não demonstra valor diagnóstico para neoplasia prostática nesta espécie.

A fim de estudar o comportamento da PAP, fosfatase ácida não prostática (PAPN) e fosfatase ácida total (PAT), Corazza et al. (1994) determinaram os valores séricos destes marcadores em cães-controle e com doenças prostáticas. Em cães adultos saudáveis as concentrações séricas de PAT e PAP aumentavam com a idade. Da mesma forma, os níveis de PAP apresentavam-se aumentados em cães com HPB e, naqueles com câncer de próstata (CP), estes valores encontravam-se ainda mais elevados, firmando a dosagem da PAP um importante método diferencial entre as HPB e os CP. Em contraposição, Bell et al. (1995) e Gobello et al. (2002) afirmam que concentrações de fosfatase ácida nos animais normais não diferem das demais afecções da próstata.

No que reporta ao PSA, após ser sintetizado pelas células epiteliais ductais, é secretado no lúmen dos ductos prostáticos e se torna um componente do plasma seminal. Assim como a PAP, é andrógeno dependente e sua função fisiológica é liquefazer o coágulo seminal que se forma na ejaculação, liberando os espermatozóides (Oesterling, 1991; Beduschi e Oesterling, 1999; Souza e Toniollo, 2001). Estudos recentes sugerem que o PSA possa modular o crescimento celular e a atividade da neoplasia prostática (Oesterling, 1991; Beduschi e Oesterling, 1999; Montinori et al., 2000).

A maior parte do PSA que penetra na circulação sistêmica é derivada do epitélio prostático que sofreu apoptose. Essas células lisadas liberam PSA no componente intersticial, por onde chega à circulação

sistêmica, apesar da barreira composta pelas células basais acinares e ductais (Kozlowski, 1999; Montinori et al., 2000). Esta barreira torna-se mais frágil nos casos de câncer e de HPB com prostatite concomitante, por isso esta proteína pode estar elevada nestes grupos de pacientes (Oesterling, 1991; Hasui et al., 1994; Kozlowski, 1999).

Apesar de originalmente se acreditar (Armbruster, 1993), o PSA não é um antígeno exclusivo do tecido prostático. Através de métodos imunoistoquímicos, essa proteína foi detectada na uretra e glândulas periuretrais de homens e mulheres, glândula anal masculina, tecido mamário normal e maligno, bexiga, endométrio, fígado, cólon e rim (Bostwick, 1994; Beduschi e Oesterling, 1999).

No homem, valores séricos normais de PSA variam de zero a quatro ng/ml (Oesterling, 1991). Células neoplásicas benignas ou malignas primárias da próstata, bem como suas metástases, elaboram PSA (Brawer et al., 1992). Porém, o PSA está elevado no soro de 10 a 40% dos pacientes com HPB, levantando questão se o PSA deve ser utilizado como selecionador de pacientes com CP (Alivizatos et al., 1992; Christensson et al., 1993; Aus et al., 1994).

Diversos autores enfatizam a utilidade clínica da dosagem do PSA em pacientes com câncer prostático, especialmente quando associada a parâmetros como grau de diferenciação do tumor, achados ultra-sonográficos e palpação retal. Ainda, a união desses dados é essencial para estabelecer o comprometimento extra-prostático e monitorar pacientes iniciais, em tratamento ou recorrentes, uma vez que há um aumento na concentração de PSA antes da evolução da doença prostática ser observada clinicamente (Aziz, 1995; Karakiewicz e Aprikian, 1998; Montinori et al., 2000).

Clements et al. (1992) também descrevem aumento de PSA sérico em pacientes com HPB e CP, no entanto, níveis mais elevados indicam malignidade prostática e são interpretados com maior facilidade. Já nos casos de níveis menores, a diferenciação entre estas duas

afecções prostáticas torna-se difícil e o uso deste marcador, como indicador inicial de neoplasia, duvidoso. Para Oesterling (1991) e Armbruster (1993), o PSA é um marcador sérico órgão específico, mas não específico para o tipo de lesão deste mesmo tecido.

Altos níveis de PSA no soro podem estar associados com HPB, prostatite e CP. Na tentativa de eliminar dúvidas sobre qual a afecção está ocorrendo na próstata, Irani et al. (1996) dosaram PSA na urina de pacientes humanos com ou sem neoplasia e criaram uma relação entre os níveis de PSA séricos e da urina. Em ambas as amostras, utilizaram a mesma técnica de dosagem e obtiveram níveis de PSA urinário significativamente maiores nos pacientes com HPB, enquanto não houve diferenças nos níveis de PSA urinário nos casos de prostatite e CP.

Graves (1993) e Montinori et al. (2000) descrevem duas formas séricas de PSA freqüentemente dosadas: a livre e a ligada à α -1 quimotripsina. A primeira ocorre em altas concentrações em pacientes com HPB e a segunda em indivíduos portadores de CP (Barroso e Zerati, 1997; Montinori et al., 2000). Estas variantes refletem o valor do PSA total, sendo relevante a interpretação da forma livre onde valores maiores e menores que 25% do total, são sugestivos de HPB e CP, respectivamente (Potter et al., 1999; Khan et al., 2003).

De acordo com Oesterling (1991) e Alivizatos et al. (1992) a especificidade da PAP é maior do que do PSA, enquanto que o PSA apresenta maior sensibilidade. Relatam ainda que estes resultados foram similares aos observados por Stamey et al. (1987). Por outro lado, trabalhos atuais demonstram que a dosagem e a interpretação das diferentes formas do PSA sérico aumentam a especificidade deste marcador (Souza e Toniollo, 2001; Khan et al., 2003).

Uma vez que o PSA foi escolhido como meio de detecção precoce do câncer de próstata em humanos (Beduschi e Oesterling, 1999; Khan et al., 2003), surgiram dúvidas se esta enzima seria um bom marcador em outras espécies. Karr et al. (1995) utilizando análise por

southern blot detectaram genes relacionados ao PSA humano em primatas, mas não em outros mamíferos, incluindo coelho, bovinos, suínos, caninos, ratos e camundongos.

Por outro lado, uma protease secretada pela próstata canina, denominada esterase prostática secretória canina (CPSE), foi isolada e caracterizada por Isaacs (1983). Esta glicoproteína, assim como o PSA, é andrógeno dependente, representa mais de 90% das proteínas totais do líquido seminal do cão e apresenta bioquímica parcialmente homóloga ao PSA humano (Frenette et al., 1987; McEntee et al., 1987; Johnston et al., 2001; Gobello et al., 2002).

Bell et al. (1995) avaliaram a concentração sérica e seminal de diferentes glicoproteínas prostáticas no cão, com o objetivo de testar o valor diagnóstico desses marcadores nas diversas afecções da glândula nesta espécie. Estes pesquisadores não detectaram PSA sérico ou seminal, a PAP não apresentou diferenças entre os animais normais e aqueles com HPB, prostatite e neoplasia. O único marcador que demonstrou variação foi a CPSE, estando significativamente aumentada nos casos de HPB em relação aos animais normais. No entanto, esta glicoproteína também se encontrava elevada nos demais tipos de lesão prostática e sem diferença significativa entre as mesmas.

Souza e Toniollo (2001) apontam que a utilização do cão para gerar maior recurso diagnóstico e terapêutico na espécie humana, contribui para o avanço destes mesmos segmentos em Medicina Veterinária, no entanto, ressaltam a necessidade de maior atenção ao tema no que diz respeito à determinação, produção e aplicabilidade clínica de marcadores específicos para as doenças prostáticas dos cães.

III. Imunoistoquímica do tecido prostático

A imunoistoquímica (IHQ), ao combinar técnicas anatômicas, imunológicas e bioquímicas, permite localizar componentes tissulares “in situ” mediante o emprego de anticorpos específicos e moléculas marcadoras (Gimeno, 1995). A marcação tecidual de PSA é útil ao patologista para diferenciar carcinomas prostáticos de alto (anaplásicos) e baixo grau, bem como distinguir tumores metastáticos da próstata em outros tecidos. Este marcador pode ser detectado em amostras congeladas, incluídas em parafina e em exames citológicos do epitélio prostático normal ou neoplásico (Bostwick, 1994).

Seguindo este princípio, Stamey et al. (1994) relatam 98% de positividade para PSA nas metástases de adenocarcinoma prostático humano, enquanto que a PAP foi positiva em apenas 77% dos casos, demonstrando a alta sensibilidade e especificidade imunoistoquímica do PSA frente a PAP. Reforçando esta mesma teoria Grob et al. (1992), observaram que 100% dos tumores prostáticos infiltrados na vesícula seminal de homens eram imunorreativos para PSA e que o tecido da vesícula seminal é negativo para este mesmo marcador.

Em tumores anaplásicos, as marcações de PAP ou PSA são baixas ou ausentes, acarretando em correlação inversa entre o grau de diferenciação celular e a perda de características importantes na célula, como a secreção destas glicoproteínas. Apesar disso o PSA é amplamente utilizado para diferenciar adenocarcinomas metastáticos (Stege et al., 1992).

De acordo com Aumüller et al. (1987) o padrão de distribuição e intensidade de coloração de imunoreatividade da PAP na glândula canina é similar à observada no humano. As células secretoras se coram preferencialmente na porção apical e o epitélio cúbico se cora mais intensamente que o epitélio colunar que recobre as projeções papilares do ácino.

McEntee et al. (1987) utilizaram tecidos fixados em formol e incluídos em parafina de próstata canina, a fim de estudar se os marcadores imunológicos para PSA, PAP e CPSE poderiam identificar o epitélio prostático neoplásico, analogamente a estudos com material humano. Glândulas normais e hiperplásicas apresentaram boa marcação com os três anticorpos. No entanto, o CPSE produziu coloração mais uniforme e difusa, enquanto o PSA e PAP marcaram células acinares individuais com variada intensidade. Células epiteliais ductulares da próstata de cães jovens orquiectomizados (atrófica) foram negativas, bem como o epitélio de glândulas císticas e áreas de inflamação crônica.

Dos casos de adenocarcinoma prostático somente alguns foram positivos para um ou mais desses marcadores. Nos tumores bem diferenciados houve marcação forte dos três reagentes. Ainda, tecidos não prostáticos utilizados como controle foram negativos para PSA e CPSE. Já a PAP corou outros tecidos. Apesar da coloração mais homogênea e específica ter sido obtida com o CPSE, sua sensibilidade foi baixa (25%), o que torna este marcador inadequado para o diagnóstico rotineiro de adenocarcinoma prostático no cão. O PSA e PAP demonstraram 94% e 90% de sensibilidade, respectivamente.

Empregando técnica imunoistoquímica semelhante à descrita por Santos et al. (1999), Di Santis (2003) obteve marcação positiva das células do epitélio prostático para o anticorpo PSA espécie-específico para humanos, mas com reatividade cruzada em tecido canino. Os cães foram divididos em grupos caracterizados por glândulas imaturas, maduras normais, maduras com prostatite e hiperplásicas. Assim como na espécie humana, obtiveram marcação específica e de aspecto granular na porção apical das células epiteliais acinais, variando a quantidade de células marcadas em função do diagnóstico histológico.

Quanto a imunoistoquímica direcionada a hormônios, Murakoshi et al. (1998a) avaliaram a presença de receptores androgênicos na próstata de cães da raça beagle portadores de HPB,

com o objetivo de investigar a ação do acetato de clormadinona (CMA) no tratamento desta afecção. O CMA é uma droga que inibe a captação de testosterona pela próstata, suprimindo os efeitos deste hormônio. O diagnóstico de HPB foi confirmado por biopsias e cortes de congelação foram submetidos à análise imunoistoquímica com o anticorpo primário policlonal anti-receptor de androgênio contra humanos (NH27).

Os animais foram divididos em dois grupos: um sem tratamento e outro que recebeu a droga (CMA). No primeiro grupo, a imunomarcagem dos receptores de andrógeno foi observada de forma intensa no núcleo de todas as células do epitélio glandular. Já no grupo que recebeu tratamento, as glândulas se apresentavam atróficas e a marcação de receptores androgênicos diminuída tanto nas células epiteliais como estromais, indicando a supressão dos efeitos da testosterona e/ou dos hormônios androgênicos pela CMA.

Bonkhoff et al. (1993) observaram forte expressão de andrógeno predominantemente nas células epiteliais e estromais da próstata humana normal e hiperplásica, já as células da camada basal apresentaram imunorreatividade desprezível para esse hormônio. No caso das glândulas neoplásicas, a maioria demonstrou positividade fraca ou ausente, sugerindo característica andrógeno-independente desses tumores, especialmente nos casos de recidiva em homens orquiectomizados e submetidos à radiação prostática. Resultados similares foram obtidos por Miyamoto et al. (1993), exceto quanto ao tipo celular marcado, no qual as células epiteliais constituíram a maior parte do componente positivo para andrógeno.

No que diz respeito ao estrógeno, Bonkhoff et al. (1999) conseguiram demonstrar a expressão deste hormônio em células epiteliais e estromais da próstata humana com PIN e CP, concluindo que estas células podem sobreviver na privação de andrógenos utilizando estrógenos para sua manutenção e crescimento.

Na tentativa de relacionar a presença de receptores de andrógenos no tecido prostático com a patogenia da HPB, Banerjee et al. (2001), realizaram estudo imunoistoquímico das diferentes porções da próstata de ratos jovens e adultos. Encontraram diferenças significativas quanto a marcação de andrógenos em regiões prostáticas distintas, a depender da idade do animal. Demonstraram de maneira evidente o declínio da marcação andrógena na porção ventral da glândula com o decorrer da idade.

De forma inversa observaram aumento da reatividade para receptores de andrógeno na região dorsal da próstata em função da idade. Com isso confirmaram a relação direta entre o aumento da expressão de receptores de andrógeno na porção dorsal da próstata e a hiperplasia deste mesmo local com o avançar da idade. Outro dado interessante é que independente da região prostática ou idade, a maioria das células imunomarcadas eram epiteliais, sendo notado pequena quantidade de células estromais marcadas.

Leav et al. (2001) realizaram estudo imunoistoquímico para receptores de andrógeno no tecido prostático de cães incluído em parafina. Os animais foram divididos em cinco grupos: I) sexualmente imaturos (até 8 meses); II) maduros com ou sem hiperplasia (15 meses a 14 anos); III) castrados sem neoplasia (4 a 6 anos); IV) tratados com esteróides (9 meses a 3 anos); e V) inteiros ou castrados com carcinoma prostático (5 a 15 anos). Obtiveram marcação positiva em todos os grupos, no entanto, com padrão variado.

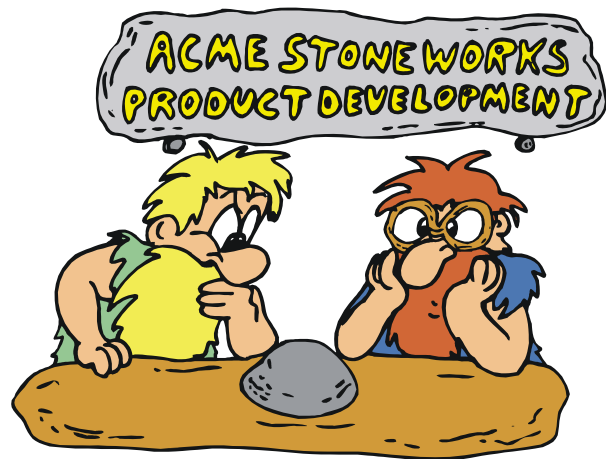
Nos animais do grupo I e II observaram imunorreatividade constante em todas as células epiteliais e em algumas estromais; em indivíduos do grupo III notaram diminuição gradativa e ausência de positividade paralelamente à regressão e atrofia da glândula; nas próstatas do grupo IV a reação foi positiva e esparsa no epitélio e estroma, respectivamente; já nas glândulas do grupo V apenas uma reagiu para andrógeno, sendo o animal inteiro. Um fato curioso foi a

marcação de células normais adjacentes às neoplásicas nos demais casos de carcinoma de animais inteiros, nos castrados com ou sem neoplasia a marcação foi 100% negativa.

Diante do encontrado, os autores concluíram que a expressão de andrógeno na próstata está presente em todas as fases de desenvolvimento da glândula, localizada principalmente nas células epiteliais e influenciando a taxa de proliferação das mesmas, o que tem relação direta com o desenvolvimento de HPB. Outro ponto importante é o baixo percentual de neoplasias positivas para andrógenos, o que reafirma o status andrógeno-independente desses tumores e a escassa possibilidade do envolvimento hormonal na progressão do carcinoma prostático no cão.

Quanto ao estrógeno, Schulze e Barrack (1987) conseguiram a marcação celular positiva para este hormônio, utilizando o anticorpo monoclonal anti-E₂ (clone H222) e a técnica de imunocitoquímica. A imunorreatividade foi observada nas células epiteliais e estromais tanto de cães com próstata normal quanto de animais com hiperplasia prostática espontânea ou induzida.

Na verdade, os fatores envolvidos no crescimento natural e patológico das próstatas canina e humana são múltiplos, distintos e relacionados entre si, não podendo ser considerados de maneira isolada como responsáveis pela gênese de qualquer uma das afecções prostáticas. Com base nesse fundamento e frente às grandes discrepâncias encontradas sobre o assunto na literatura mundial, o presente estudo visa contribuir de modo objetivo para o melhor entendimento do comportamento nosológico da próstata nos cães.



MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi subdividida em três etapas, sendo assim apresentada. A primeira compreendeu a análise do perfil laboratorial, a segunda envolveu a avaliação anatomopatológica (morfologia e histopatologia) e a terceira etapa consistiu do estudo imunoistoquímico da próstata de cães adultos.

Todo material (soro, urina e glândula prostática) foi coletado de animais encaminhados à necropsia no Serviço de Patologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Botucatu, SP. Foram utilizados 40 cães, com idade ≥ 3 anos, sem restrições quanto a raça. Os animais foram selecionados aleatoriamente, sem a necessidade de apresentarem histórico ou alterações clínicas relacionadas a algum tipo de afecção prostática.

1) Estudo Laboratorial

Esta etapa visou verificar algumas variáveis laboratoriais, sendo mensurados os valores séricos e urinários de fosfatase ácida prostática (PAP) e antígeno prostático específico (PSA), bem como os valores séricos de testosterona (T_4), diidrotestosterona (DHT) e estrógeno (E_2). Após a mensuração estes valores foram avaliados considerando a classificação histopatológica da próstata.

✓ Amostras de soro e urina para as dosagens de PAP, PSA, T_4 , DHT e E_2

Os cães eram contidos e posicionados em decúbito lateral, realizava-se a tricotomia da região cervical, anti-sepsia com solução de álcool iodado e procedia-se a coleta de sangue por punção da veia

jugular, utilizando-se tubos Vacutainer¹ e agulhas Vacutainer². Em seguida o sangue era centrifugado a 1500 rpm, durante cinco minutos, para obtenção de soro. Este procedimento era repetido, caso a quantidade de soro não fosse suficiente. As amostras de urina eram obtidas por sondas uretrais acopladas a seringas de 10 ml.

O soro e a urina, para a mensuração de todas as variáveis propostas (PAP, PSA, T₄, DHT e E₂) eram acondicionados em tubos de eppendorf, contendo 500µl de amostra, e congelados em freezer à -20°C, até o momento das dosagens, conforme Graves et al. (1990), Corazza et al. (1994) e Souza e Toniollo (1999).

As alíquotas de soro e urina destinadas as dosagens de PAP recebiam uma gota de ácido acético (reagente número 4 do Kit de dosagem) de acordo com indicação do fabricante (Biotrol Diagnostic), para que pudessem ser mantidas congeladas até o momento do processamento.

Informações sobre resenha, histórico, alterações clínicas e número de alíquotas congeladas foram registrados em protocolo conforme indica o Anexo A. Ainda, todas as amostras foram coletadas no período da manhã para diminuir variações nos valores hormonais decorrentes de oscilações circadianas normais (Feldman e Nelson, 1996).

✓ *Dosagens séricas e urinárias de PAP e PSA*

As dosagens de PAP e PSA no soro e urina foram realizadas no Laboratório Clínico da Faculdade de Medicina da UNESP, Botucatu, SP, nos Serviços de Bioquímica e Sorologia, respectivamente.

Para a mensuração da PAP, utilizou-se o equipamento de automação Technicon-RA-XT, com kit comercial para dosagem de

¹ SST Gel and clot activator, Becton Dickinson

² 21G1, Becton Dickinson

fosfatase ácida total e prostática³. Este teste baseia-se na transformação do fosfato α -naftil em fosfato e α -naftol, pela ação da fosfatase ácida. Esta substância reage com sais de tartrato, dando uma reação fotométrica, avaliada pela absorbância em comprimento de onda de 405nm. A PAP é inibida pelo tartrato e seu volume ativo é obtido pela subtração do resultado da determinação da fosfatase ácida total e fosfatase ácida não prostática (Tabela 1).

Tabela 1: Metodologia utilizada para a dosagem de PAP.

	Fosfatase Ácida Total	Fosfatase Ácida não Prostática
Reagente 1 + 2	1 ml	-
Reagente 1 + 3	-	1 ml
Soro	100 μ l	100 μ l

Reagente 1 – Substrato

Reagente 2 - Tampão sem tartrato (dosagem de fosfatase ácida total)

Reagente 3 – Tampão com tartrato (dosagem da fosfatase ácida não prostática)

As dosagens sérica e urinária do PSA foram efetuadas em equipamento automatizado Elecsys (Roche), por método de eletroquimioluminescência, utilizando kit comercial para a dosagem de PSA total⁴. Este teste fundamenta-se no princípio chamado “sanduíche”. A primeira etapa consiste da incubação de 20 μ l de amostra com anticorpo monoclonal biotinilado PSA-específico e outro anticorpo monoclonal PSA-específico, marcado com um complexo de rutenium (Tris+rutenium), formando o complexo “sanduíche”.

A segunda incubação era feita após a adição de micropartículas recobertas por estreptoavidina, fazendo com que o complexo se ligue a fase sólida, pela interação da biotina com a estreptoavidina. A mistura que reagiu é então aspirada por um

³ Biotrol Pac monoreactif, cód. A03034, Biotrol Diagnostic, França.

⁴ Elecsys total PSA immunoassay, cód. 1731262, Roche, Alemanha

mensurador celular, onde as micropartículas são magneticamente capturadas para a superfície de um eletrodo. As partículas não ligadas são removidas por uma substância de limpeza (ProCell). A aplicação de voltagem no eletrodo induz a emissão de quimioluminescência, medida por um fotomultiplicador. Os resultados são determinados por uma curva de calibração e expressos em ng/ml.

✓ *Testosterona, diidrotestosterona e estrógeno séricos*

As mensurações séricas de testosterona, diidrotestosterona e estrógeno foram realizadas no Laboratório de Dosagem Hormonal do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, SP.

Para as dosagens foram utilizados os kits comerciais Testosterona total (CAR) - fase sólida (DPC Medlab); DHT (RIA ACTIVE) - fase sólida (DSL); e Estradiol 3^a geração (Ultra-sensível) - duplo anticorpo (DSL), para testosterona, diidrotestosterona e estrógeno, respectivamente. A técnica empregada para as mensurações foi a de radioimunoensaio, seguindo os protocolos convencionais e padronizados no Laboratório de Dosagem Hormonal da FMVZ – USP, São Paulo, SP.

2) Avaliação Anatomopatológica

✓ *Obtenção e processamento das próstatas*

Conforme citado anteriormente, foram utilizadas 40 próstatas de cães com idade ≥ 3 anos, sem restrições quanto à raça, história ou sintomatologia clínica de afecção no trato gênito-urinário. Registraram-se idade, raça e peso corpóreo dos animais e, após os procedimentos rotineiros de necropsia, as glândulas eram colhidas, medidas, pesadas e avaliadas conforme os itens propostos no Anexo A. Em seguida, estas

eram acondicionadas em frascos contendo solução de formol tamponado a 10%, onde permaneciam por 48 horas.

Após este período realizaram-se cortes transversais, de forma que cada fragmento contemplasse amostras dos dois lobos prostáticos, correspondendo às porções cranial, média e caudal (Figura 7). A amostra de tecido era então alocada em cassete plástico devidamente identificado, e submerso em solução de formalina tamponada a 10%, por mais 12 horas. Em seguida, o material era processado e incluído em parafina seguindo o protocolo do Laboratório de Histopatologia do Serviço de Patologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP (Figura 8).

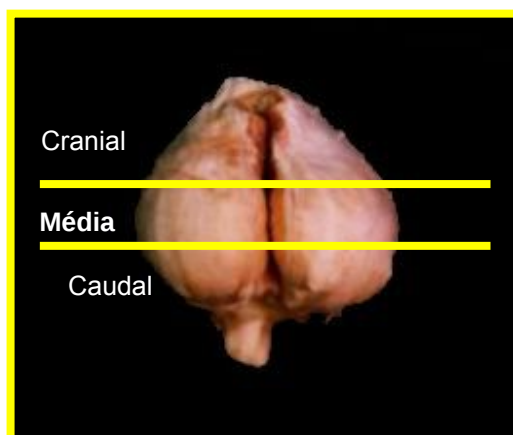


Figura 7: Representação dos cortes realizados nas glândulas dividindo-as em três porções (cranial, média e caudal).



Figura 8: Cassetes com segmento de tecido prostático incluído em parafina e devidamente identificado.

Utilizando-se micrótomo automático (Leica 2155), cortes histológicos de 3 a 4µm eram obtidos e distendidos sobre lâminas histológicas de vidro com extremidade fosca identificada. Estas permaneciam 24 horas em estufa a 60° C, para extração da parafina sobressalente e melhor adesão do tecido à lâmina.

Na seqüência os cortes eram submetidos à coloração de Hematoxilina-Eosina (HE), conforme a técnica de rotina do Laboratório de Histopatologia do Serviço de Patologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP. A análise e interpretação das lâminas seguiram os critérios diagnósticos conforme protocolo apresentado no Anexo B.

✓ ***Morfologia prostática***

Na avaliação morfológica, as próstatas eram pesadas em balança analítica de duas casas decimais e em seguida mensuravam-se comprimento, largura e altura com o auxílio de um paquímetro. O volume das glândulas foi determinado 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.

✓ ***Histopatologia prostática***

A avaliação histopatológica das glândulas fundamentou-se na coloração de HE. Os achados foram registrados em protocolos previamente elaborados, os quais apresentavam as possibilidades diagnósticas encontradas com maior freqüência na literatura, adaptadas de Ladds (1993) e Dorfman e Barsanti (1995), cujo modelo encontra-se em anexo (Anexo B). A análise das lâminas, em microscópio óptico, era realizada inicialmente em menor aumento (32x), seguindo-se para os aumentos subseqüentes (100x, 250x e 400x). O aumento de 32x auxiliava na visualização global do material, permitindo identificar áreas com

diferentes padrões de lesão. Nos demais aumentos, avaliavam-se a estrutura do estroma, epitélio e infiltrado inflamatório, sendo que o aumento de 400x era utilizado para a verificação de atipia celular, relação núcleo citoplasma e presença de figuras de mitose.

Ao final da análise do material, avaliou-se a incidência de cada afecção prostática isoladamente. Foram apuradas também as frequências de ocorrência de mais de um diagnóstico histopatológico no mesmo material; a correlação dos achados histopatológicos com a idade dos animais; e a concomitância de alguns aspectos microscópicos com certas afecções prostáticas.

3) Estudo Imunoistoquímico

✓ Padronização da técnica de imunoistoquímica

A padronização da técnica de imunoistoquímica foi fundamentada no princípio do complexo avidina-biotina-peroxidase, descrito por Hsu et al. (1981). Para tal foram confeccionados cortes de tecido prostático com 3µm de espessura. Estes eram distendidos em lâminas histológicas previamente sinalizadas em organosilano, com o objetivo de promover melhor adesão dos cortes às lâminas. Em seguida, estas permaneciam em estufa durante 24 horas, sendo conservada a temperatura entre 55 e 58°C.

Subseqüentemente, as lâminas eram colocadas em cuba de vidro e diafanizadas em xilol, sendo realizados dois banhos: um de trinta minutos a 55°C e outro de vinte minutos a 37°C. Ainda nessa fase, passavam por duas lavagens rápidas em álcool 95°, três passagens de cinco minutos em álcool absoluto, um banho de cinco minutos em álcool 95° e um em álcool 85° (5 minutos). A fim de retirarem-se os pigmentos de formol, as lâminas permaneciam dez minutos submersas em hidróxido

de amônia a 10%. Para a hidratação dos cortes, o material era lavado em água corrente por dez minutos e banhado duas vezes em água destilada.

A recuperação antigênica constitui etapa essencial ao êxito da técnica de imunoistoquímica e teve o propósito de liberar os epítomos antigênicos do tecido, bloqueados pela solução fixadora (formol tamponado a 10%). No presente estudo empregaram-se as seguintes soluções tampão nas recuperações testadas: a) citrato 10mM pH 6,0; b) EDTA 100mM pH 8,0; e c) TRIS-EDTA 100mM pH 9,0. Ainda, as soluções foram utilizadas em diferentes meios de recuperação a altas temperaturas, conforme apresenta a Tabela 2.

Tabela 2: Diluições e recuperações antigênicas testadas.

Anticorpo	Diluições testadas	Recuperações	Soluções tampão
PSA	1:500, 1:1000	MO, S	C
E ₂	1:10, 1:20, 1:40, 1:50	MO, S, BM, PP, AC	C, EDTA, TE
AR	1:10, 1:20, 1:40, 1:50	MO, S, BM, PP, AC	C, EDTA, TE
PAP	1:50, 1:100	MO, S, BM, PP, AC	C

MO: Forno de microondas; **S:** Steammer; **BM:** Banho-Maria; **PP:** Panela de pressão; **AC:** Autoclave; **C:** Citrato; **EDTA:** ácido etilenodiaminotetracético; **TE:** Tris-EDTA.

As lâminas eram organizadas paralelamente em cubas de vidro horizontal, submersas na solução tampão e incubadas em forno de microondas (3 x 5 minutos), banho-maria (40 minutos), steammer (30 minutos), panela de pressão (10 minutos) ou autoclave a 105°C (5 minutos), a depender do anticorpo a ser otimizado. Após o arrefecimento do material, seguia-se com lavagem em água corrente (10 minutos) e duas passagens em água destilada.

A fase seguinte consistia do bloqueio da peroxidase endógena por incubação das lâminas em uma solução de água oxigenada 20 volumes e água destilada (para anticorpos de marcação citoplasmática)

ou álcool metílico (para anticorpos de marcação nuclear), durante vinte minutos com uma troca no intervalo de dez minutos. Em seguida, o material era lavado em água corrente (10 minutos), passado duas vezes em água destilada e banhado duas vezes em TRIS (5 minutos).

Testaram-se os anticorpos primários Antígeno Prostático Específico - PSA, receptores de estrógeno, receptores de andrógeno e Fosfatase Ácida Prostática – PAP, diluídos em solução de BSA a 1%, inicialmente em concentrações indicadas pelos fabricantes. As demais diluições pesquisadas e as características de cada anticorpo estão escritas na Tabela 3. Após a diluição, cobriram-se os cortes com os anticorpos primários, os quais eram incubados em câmara úmida por 18 horas (“overnight”) à temperatura de 4°C.

Tabela 3: Anticorpos e suas características de marcação celular.

Ac	Tipo	Diluições testadas	Laboratório	Marcação
PAP*	Policlonal	1:50, 1:100	Labvision/Ab2	C*/ES
PSA**	Policlonal	1:500, 1:1000	Dako/A0562	C*/ES
E ₂ ''	Policlonal	1:10, 1:20, 1:40, 1:50	Labvision/Ab17	N**/EE
E ₂ ''	M-clone H222	1:10, 1:20, 1:40, 1:50	Labvision/Ab21	N**/EE
E ₂ ''	M-clone 1D5	1:10, 1:20, 1:40, 1:50	Dako/M7047	N**/EE
AR*	Policlonal	1:10, 1:20, 1:40, 1:50	Labvision/Ab2	N**/EE
AR*	M-clone AR441	1:10, 1:20, 1:40, 1:50	Labvision/Ab1	N**/EE

PA:** Fosfatase ácida prostática; *PSA:** Antígeno Prostático Específico; **'E₂':** Receptor de Estrógeno; ***AR:** Receptor de andrógeno; **M-clone:** Ac Monoclonal; **C*/ES:** Marcação citoplasmática do epitélio secretor; **N**/EE:** Marcação nuclear epitelial e estromal.

Na seqüência realizavam-se dois banhos de TRIS (5 minutos), incubação em anticorpo secundário biotinilado e solução de streptoavidina-biotina-peroxidase (kit LSAB - Dako K0690), por 30 minutos cada reação, em câmara úmida, à temperatura ambiente. Entre

as duas reações e ao final da segunda, as lâminas permaneciam em TRIS (2 x 5 minutos). Além do kit amplificador LSAB, foi utilizado o kit CSA (Dako K1500) para os anticorpos E₂ e AR.

Para a visualização da reação, as lâminas eram submersas em solução de diaminobenzidina (DAB) (3 minutos em local escuro) e, logo após, em TRIS, para interrupção da reação. Em seguida, o material era lavado em água corrente (10 minutos) e passado em água destilada. Prosseguia-se com a contra-coloração em Hematoxilina de Mayer (5 minutos), lavagem em água corrente (10 minutos), passagem em água destilada e desidratação. Nesta última etapa realizavam-se banhos em álcool 85°, 95°, absoluto I, II, III, xilol I, II e III, com tempo mínimo de três minutos para cada banho.

A finalização compreendia a cobertura dos cortes com resina sintética (Permunt – Fisher Scientific) e lamínulas histológicas. Todas as soluções e reagentes empregados na técnica de imunoistoquímica estão descritos no Anexo C.

✓ *Estudo imunoistoquímico*

Concluída a padronização da técnica e otimização das diluições dos diferentes anticorpos testados, realizou-se a marcação nas amostras selecionadas, como ilustra a Tabela 4.

Tabela 4: *Diluições otimizadas e número de amostras marcadas.*

<i>Anticorpo</i>	<i>Diluições</i>	<i>Amostras</i>
PSA	1:500	40
Receptores de estrógenos	Padronização não obtida	**
Receptores de andrógenos	Padronização não obtida	**
PAP	1:50	40

***Estudo imunoistoquímico impossibilitado devido a não obtenção da padronização do anticorpo.*

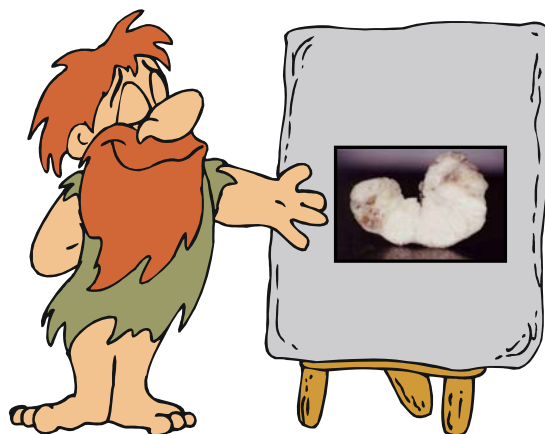
As lâminas foram analisadas em sua totalidade por microscopia óptica e a marcação mensurada por avaliação semiquantitativa, atribuindo-se os escores definidos na Tabela 5. Para tal procedimento utilizaram-se lâminas referentes à porção média das próstatas, cujo número variou de acordo com o volume da glândula (uma ou duas lâminas).

Tabela 5: Escores aplicados na análise da marcação imunoistoquímica.

<i>Escore</i>	<i>Significado</i>
-	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

✓ **Análises estatísticas**

Para obtenção das estatísticas descritivas, verificação da normalidade, assimetria, curtose e homogeneidade de variância entre os grupos comparativos, empregou-se o programa Statistical Analysis System, versão 6.12 (1995). O delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado, sendo que cada grupo comparativo (classificação histopatológica) representou um tratamento. Para essas análises estatísticas, utilizou-se o procedimento PROC GLM do programa supracitado. Quando verificado o efeito significativo ($P < 0,05$) na análise de variância entre os grupos comparativos para as diferentes variáveis estudadas, utilizou-se o Teste de Tukey para discriminar as diferenças e/ou igualdades entre as médias de cada grupo. Para investigar a relação entre as glicoproteínas séricas e urinárias; glicoproteínas séricas e teciduais; glicoproteínas séricas, urinárias e os hormônios séricos (testosterona, diidrotestosterona e estrógeno), empregou-se a análise da correlação momento produto de Pearson. Ainda, na verificação da relação entre HPB e PIN utilizou-se o teste do χ^2 .



RESULTADOS

RESULTADOS

Os resultados são apresentados em três segmentos distintos conforme proposto no capítulo “material e métodos”. Todas as análises realizadas se fundamentaram em agrupamentos constituídos a partir da classificação histopatológica das próstatas, sendo estes: grupo normal (N=6) e grupo hiperplasias - epitelial, complexa e estromal (N=31). Três glândulas, uma com atrofia e duas com prostatite crônica, foram excluídas das análises estatísticas por não apresentarem número adequado de repetições para compor um grupo comparativo.

1) Estudo Laboratorial

Foram mensuradas três variáveis hormonais séricas e verificada a diferença nestes valores considerando a classificação histopatológica das próstatas. Animais com próstata normal ou com hiperplasia não apresentaram diferenças significativas nos níveis de testosterona e diidrotestosterona (Anexo D). No entanto, os níveis séricos de estrógeno foram significativamente menores em glândulas com hiperplasia epitelial que nas normais, enquanto não diferiram daquelas acometidas pelos demais tipos de hiperplasia (Tabela 6).

Tabela 6: Médias dos valores séricos de estrógeno, testosterona e diidrotestosterona em relação ao diagnóstico histopatológico (N=37).

Médias de Quadrado Mínimo			
Grupo Comparativo	E ₂ (pg/ml)	T ₄ (ng/ml)	DHT (pg/ml)
Normal (n=6)	31,01 ^a	1,14 ^a	71,66 ^a
Hiperplasia Epitelial (n=4)	4,73 ^b	1,56 ^a	51,06 ^a
Hiperplasia Complexa (n=15)	17,65 ^{ab}	1,04 ^a	91,36 ^a
Hiperplasia Estromal (n=12)	8,93 ^{ab}	0,92 ^a	67,52 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).
Notar a variação na relação E₂/T₄ em função do tipo de hiperplasia.

Assim como as variáveis hormonais, também foram dosadas duas glicoproteínas séricas e urinárias (PSA e PAP), sendo que houve diferença estatística apenas nos valores de PSA sérico (Anexo D). Nesta variável observou-se que animais com próstata normal possuem níveis mais baixos que aqueles com hiperplasia epitelial (Tabela 7).

Tabela 7: Médias dos valores séricos e urinários de PSA em relação ao diagnóstico histopatológico (N=37).

Médias de Quadrado Mínimo		
Grupo Comparativo	PSA sérico(ng/ml)	PSA urinário (ng/ml)
Normal (n=6)	0,0021 ^a	0,0036 ^a
Hiperplasia Epitelial (n=4)	0,0082 ^b	0,0080 ^a
Hiperplasia Complexa (n=15)	0,0046 ^{ab}	0,0062 ^a
Hiperplasia Estromal (n=12)	0,0029 ^{ab}	0,0052 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Notar o aumento nas médias de PSA em função do tipo de hiperplasia.

As médias de PAP sérico e urinário dos diferentes grupos comparativos estão dispostas na Tabela 8.

Tabela 8: Médias dos valores séricos e urinários de PAP em relação ao diagnóstico histopatológico (N=37).

Médias de Quadrado Mínimo		
Grupo Comparativo	PAP sérico(U/l)	PAP urinário (U/l)
Normal (n=6)	0,91 ^a	1,70 ^a
Hiperplasia Epitelial (n=4)	1,17 ^a	1,12 ^a
Hiperplasia Complexa (n=15)	1,21 ^a	2,56 ^a
Hiperplasia Estromal (n=12)	1,09 ^a	2,03 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Notar o aumento nas médias de PAP em função do tipo de hiperplasia.

As correlações observadas entre os valores séricos e urinários de PSA e PAP foram baixas, pois o coeficiente de Pearson foi $< 0,5$ em todas as análises, como demonstrado na Tabela 9.

Tabela 9: Correlações entre os valores séricos e urinários de PSA e PAP (N=37).

	PSAUR (ng/ml)	PAPSG (U/l)	PAPUR (U/l)
PSASG (ng/ml)	0,01515	0,26598	-0,06215
PSAUR (ng/ml)		0,01519	-0,25499
PAPSG (U/l)			-0,09127

PSASG: PSA sérico; PSAUR: PSA urinário; PAPSG: PAP sérico; PAPUR: PAP urinário.

As correlações entre os valores séricos e urinários das glicoproteínas (PSA e PAP) e os valores séricos de testosterona, diidrotestosterona e estrógeno foram baixas, sendo o coeficiente de Pearson $< 0,5$ na maioria das análises, a exceção da correlação média obtida entre PAP urinário e DHT sérica (Tabela 10).

Tabela 10: Correlações entre os valores séricos e urinários das glicoproteínas (PSA/PAP) e os hormônios séricos (T_4 /DHT/ E_2) (N=37).

	PSASG (ng/ml)	PSAUR (ng/ml)	PAPSG (U/l)	PAPUR (U/l)
TESTSG (ng/ml)	0,08453	-0,06254	0,02142	-0,24077
ESTRSG (pg/ml)	-0,19682	-0,24079	0,05885	0,00501
DHTSG (pg/ml)	0,04231	-0,17772	-0,17287	0,53368

PSASG: PSA sérico; PSAUR: PSA urinário; PAPSG: PAP sérico; PAPUR: PAP urinário; TESTSG: testosterona sérica; ESTRSG: estrógeno sérico; DHTSG: diidrotestosterona sérica.

2) Avaliação Anatomopatológica

✓ Estudo Morfológico

Peso e volume médios das glândulas normais corresponderam a 0,75g/kg de peso vivo (PV) e 0,71cc/kg PV, respectivamente (Figura 9). Entre as hiperplásicas, as epiteliais apresentaram média de peso de 2,87g/kg PV; as complexas 1,31g/kg PV e as estromais 0,59g/kg PV. Com relação ao volume prostático obtiveram-se nesta mesma ordem 2,87; 1,22 e 0,60cc/Kg PV.



Figura 9: *Aspecto macroscópico de uma próstata normal. Notar simetria bilateral.*

Próstatas acometidas por hiperplasia epitelial apresentaram média de peso prostático significativamente maior que as normais e que aquelas com hiperplasia estromal, no entanto não diferiram das glândulas com hiperplasia complexa. Por outro lado, a média de volume prostático em animais com hiperplasia epitelial foi significativamente maior que em todas as outras categorias (Tabela 11).

Tabela 11: Médias de peso (g/kg PV) e volume (cc/kg PV) prostáticos em relação ao diagnóstico histopatológico.

		Médias de Quadrado Mínimo	
Grupo Comparativo	N.O	Peso	Volume
Normal	6	0,75 ^a	0,71 ^a
Hiperplasia Epitelial	4	2,87 ^b	2,87 ^b
Hiperplasia Complexa	15	1,31 ^{ab}	1,22 ^a
Hiperplasia Estromal	12	0,59 ^a	0,60 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

N.O: Número de Observações.

Apenas um animal apresentou atrofia da próstata, cujo peso e volume foram de 0,30g/kg PV e 0,38cc/kg PV, respectivamente. Ainda, foram observadas duas glândulas acometidas exclusivamente por prostatite crônica com peso de 0,87g/kg PV e volume de 0,71cc/Kg PV, em média.

Comprimento, largura e altura das próstatas variaram de acordo com a classificação da glândula. Dentre as hiperplásicas, todas as mensurações mostraram os maiores valores médios nas epiteliais e os menores nas acometidas por hiperplasia estromal. Dentre os grupos comparativos, tais variáveis diferiram estatisticamente de acordo com o que ilustra a Tabela 12.

As mensurações referentes ao comprimento, largura e altura da próstata atrófica corresponderam, de modo geral, às menores dimensões (1,5; 1,2 e 0,7cm, respectivamente), enquanto glândulas com prostatite crônica apresentaram valores intermediários entre os diferentes tipos de hiperplasia (2,3; 2,8 e 2,0cm, respectivamente).

As análises de variância entre os grupos diagnósticos e variáveis mensuradas estão dispostos no Anexo E.

Tabela 12: Médias de comprimento, largura e altura prostáticos em relação ao diagnóstico histopatológico (N=37).

Grupo Comparativo	N.O	Médias de Quadrado Mínimo		
		Comprimento	Largura	Altura
Normal	6	2,50 ^a	2,66 ^a	2,51 ^{ab}
Hiperplasia Epitelial	4	4,57 ^b	4,25 ^b	3,15 ^a
Hiperplasia Complexa	15	2,97 ^a	3,14 ^{ab}	2,29 ^{ab}
Hiperplasia Estromal	12	1,98 ^a	2,04 ^a	1,72 ^b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

N.O: Número de Observações.

✓ Avaliação histopatológica das próstatas

Foram observadas alterações na maioria das próstatas examinadas (85%), sendo freqüente a ocorrência de duas ou mais concomitantemente (91%) (Figura 10).

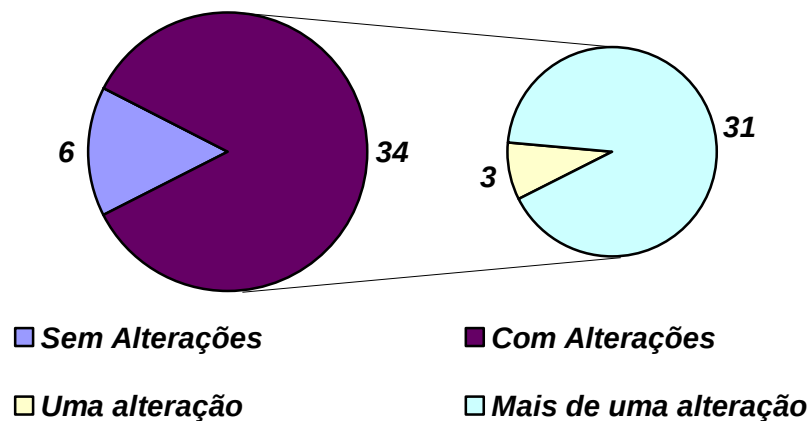


Figura 10: Freqüência de lesões prostáticas únicas ou concomitantes (N=40).

Em relação ao diagnóstico histopatológico, de modo geral, as glândulas foram classificadas em normais, com prostatite, hiperplásicas e com atrofia, considerando a afecção predominante. Próstatas hiperplásicas corresponderam a 77,5% do total, sendo a classificação

mais freqüente. Glândulas normais foram encontradas em 15% dos casos, com prostatite em 5% e com atrofia em 2,5%.(Figura 11). Os diagnósticos individuais estão descritos no Anexo F.

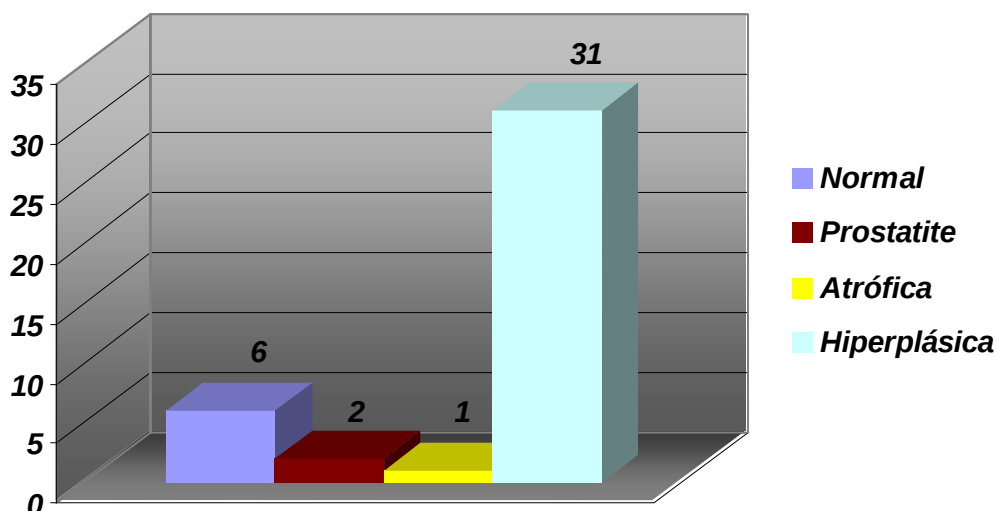


Figura 11: Classificação geral das próstatas em relação à afecção predominante (N=40).

Próstatas normais caracterizaram-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 (Figuras 12 e 13).

Hiperplasia prostática, displasia acinar e dilatação glandular constituíram as alterações cito-histológicas mais freqüentes. Atrofia glandular, PIN, prostatite, cisto, metaplasia escamosa, carcinoma e hemorragia também foram encontrados, no entanto, com menor constância (Figura 14). 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 12: Macroscopia de próstata normal. Notar a uniformidade do parênquima e a simetria dos contornos.



Figura 13: Fotomicrografia de próstata normal. Notar ácinos com epitélio uniforme e projeções digitiformes ($\hat{\uparrow}$) para o lúmen repleto de secreção (S). HE, objetiva 40x.

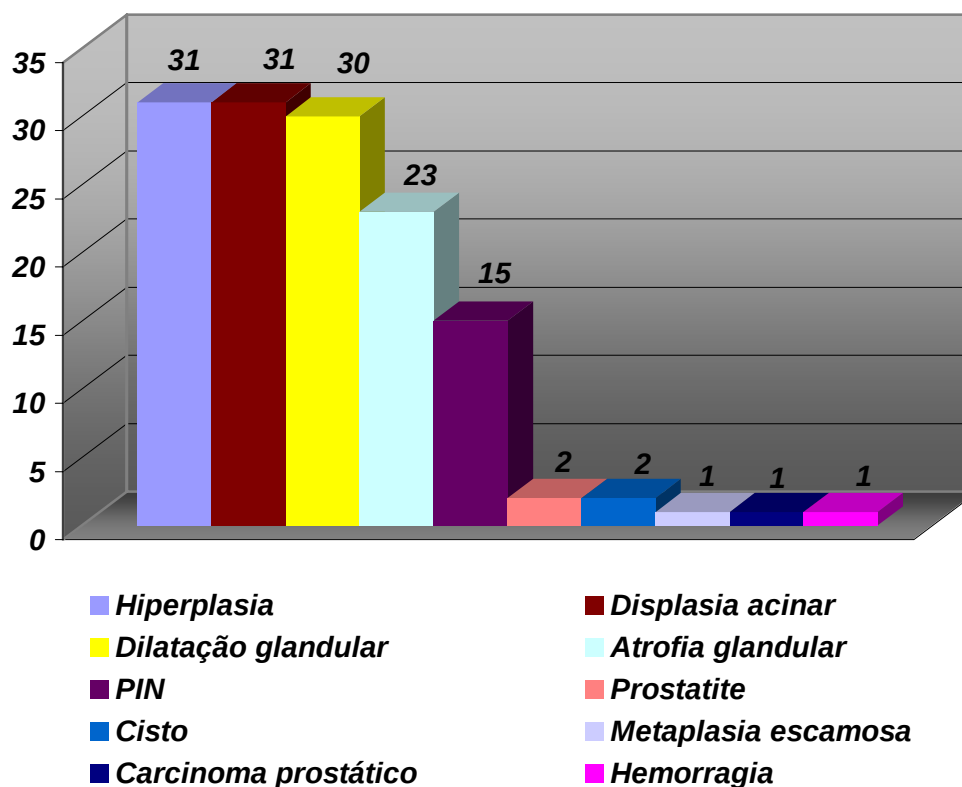


Figura 14: Ocorrência de alterações nas glândulas avaliadas (N=40).

Foram classificadas como prostatites apenas duas próstatas cujo componente glandular mostrava-se desenvolvido, caracterizando maturidade, porém com infiltrado inflamatório moderado ou intenso, alterando seu padrão de normalidade, mas sem o desenvolvimento de hiperplasia. (Figura 15). Mesmo observando-se infiltrado inflamatório na maior parte das próstatas (82,5%), outras alterações mostraram-se prevalentes, como as hiperplasias, sendo então classificadas desta forma.

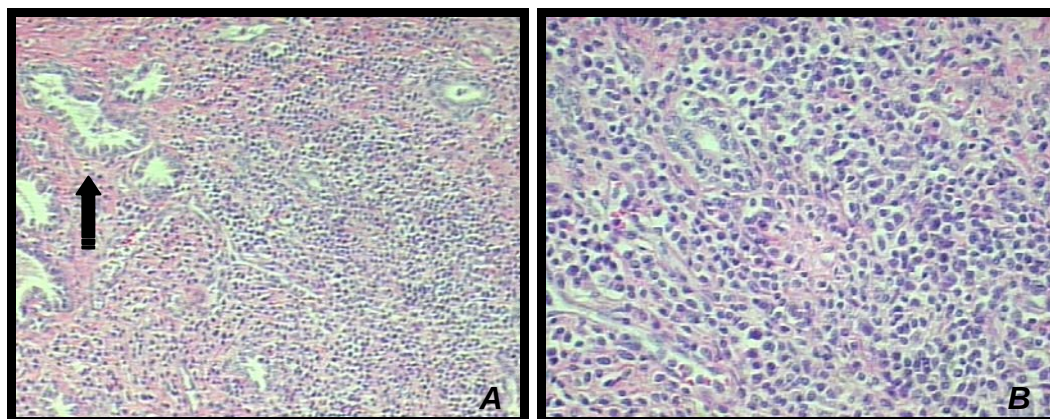


Figura 15: Fotomicrografia de prostatite crônica. A) Intenso infiltrado inflamatório intersticial adjacente a ácinos de morfologia normal (seta). HE 100x. B) Detalhe de A evidenciando a predominância mononuclear do infiltrado inflamatório. HE, objetiva 40x.

Em 94% das glândulas com infiltrado inflamatório, este era exclusivamente mononuclear (Figura 16), estando associado a leucócitos polimorfonucleares nos 6% restantes. Apesar do pequeno número de próstatas acometidas por inflamação supurativa, estas, quando presentes, mostraram aspecto macroscópico sugestivo de tal afecção, com exsudato de coloração amarelada e cavitações que corresponderam microscopicamente a áreas de edema e infiltração polimorfonuclear intensas (Figuras 17 e 18).

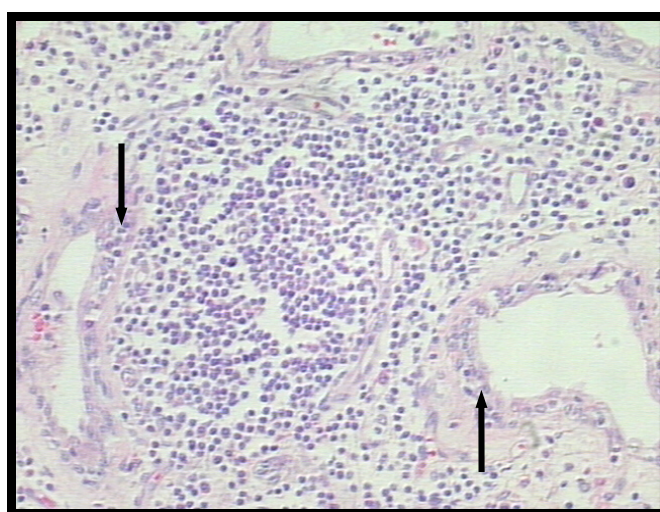


Figura 16: Fotomicrografia prostática. Infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear e intersticial. Notar epitélio acinar displásico (seta). HE, objetiva 20x/1.6x.

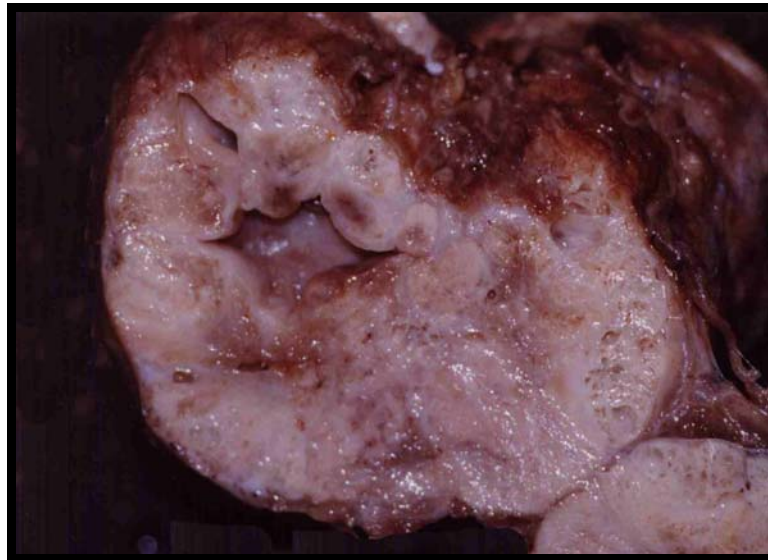


Figura 17: Prostatite e hiperplasia cística. Observar aspecto cístico difuso e uma grande cavitação que representou microscopicamente a prostatite supurativa com destaque para o exsudato inflamatório polimorfonuclear apresentado na Figura 18.

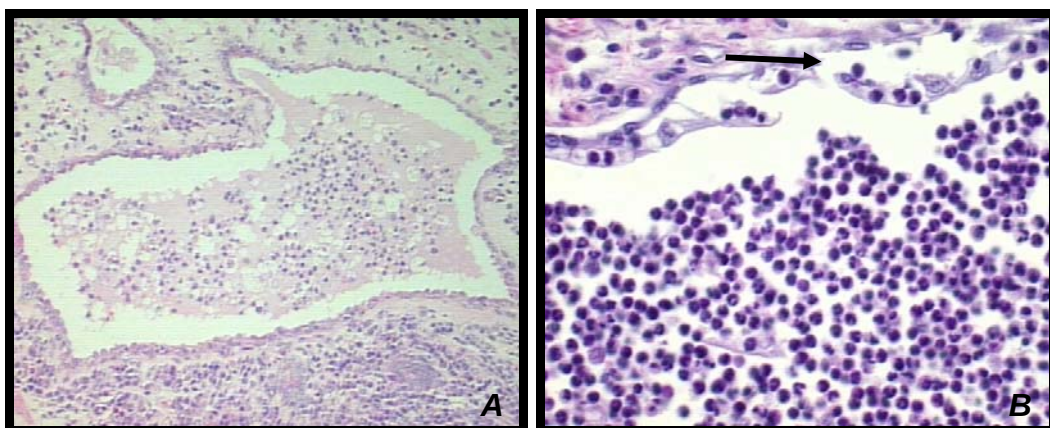


Figura 18: Fotomicrografia de prostatite aguda. A)Notar ácino repleto de exsudato inflamatório. HE 250x. B) Detalhe de A caracterizando o infiltrado polimorfonuclear e destruição do epitélio acinar (seta). HE, objetiva 40x/1.25x.

A atrofia do epitélio glandular foi observada em 57,5% dos casos, estando freqüentemente associada à hiperplasia estromal, infiltrado inflamatório e displasia (Figura 19).

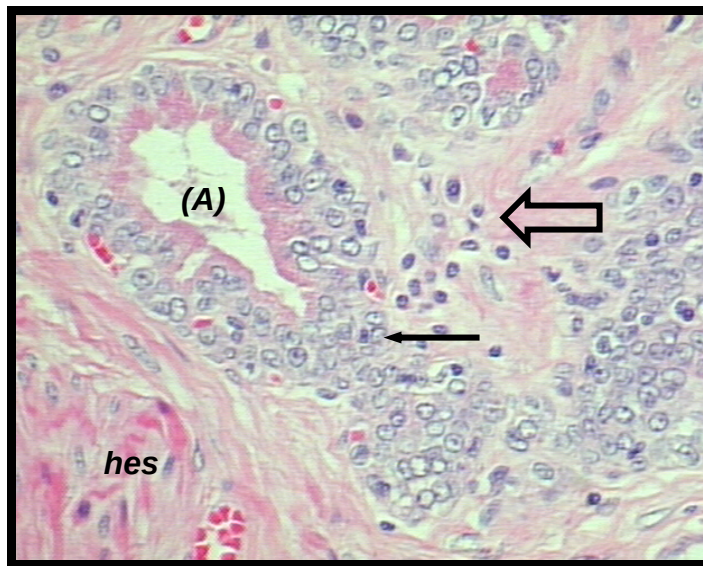


Figura 19: Fotomicrografia prostática. Atrofia do epitélio acinar (A) em concomitância com hiperplasia estromal (hes), displasia (seta) e células inflamatórias (seta vazada). HE, objetiva 40x/1.6x.

Apenas um animal, castrado e idoso, apresentou atrofia prostática difusa (Figura 20).

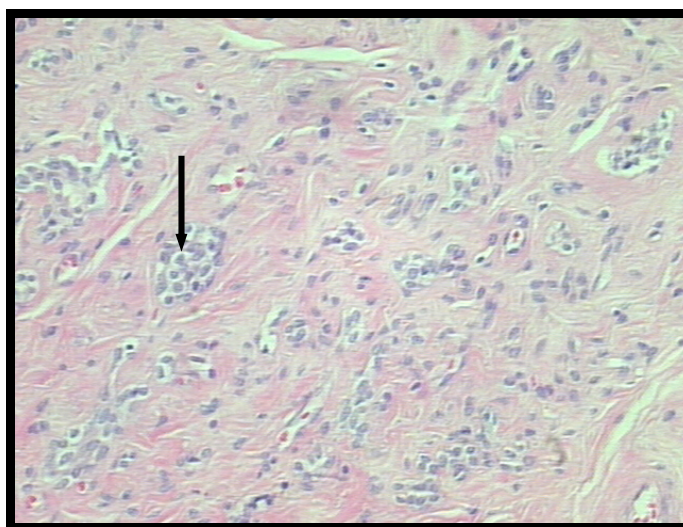


Figura 20: Fotomicrografia prostática. Atrofia glandular (seta) e tecido conjuntivo adjacente de um cão castrado e idoso. HE, objetiva 40x/1.25x.

No caso das dilatações glandulares, estas foram assim denominadas quando não faziam parte do quadro de hiperplasia cística e sim quando presentes de forma única ou em pequeno número. Estas alterações estavam presentes em 30 próstatas (75%) (Figura 21).

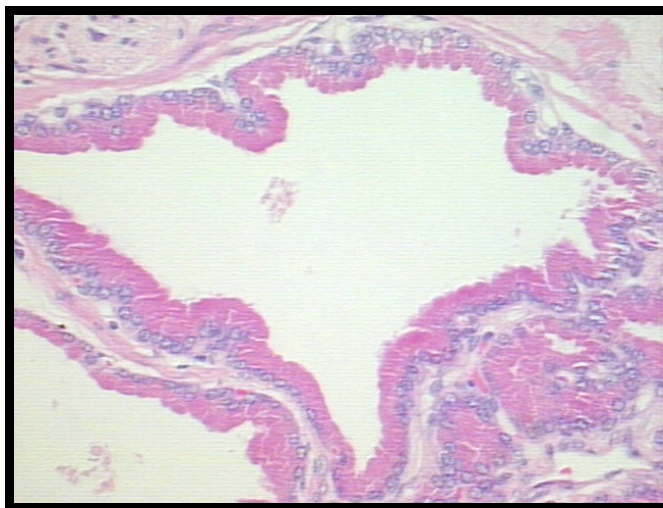


Figura 21: Fotomicrografia prostática. Dilatação glandular. HE, objetiva 40x.

A metaplasia escamosa do epitélio glandular foi encontrada em um caso, sendo uma alteração multifocal caracterizada pela substituição do epitélio acinar normal por epitélio escamoso bem diferenciado (Figura 22).

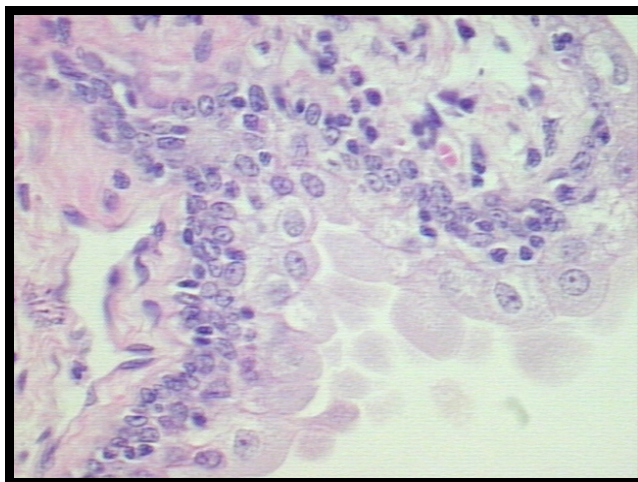


Figura 22: Fotomicrografia de metaplasia escamosa do epitélio prostático. HE, objetiva 40x/1.6.

Cistos foram observados em dois casos e caracterizaram-se microscopicamente por grandes dilatações glandulares isoladas, repletas de secreção e recobertas por epitélio achatado (Figuras 23 e 24).



Figura 23: Aspecto macroscópico de cisto prostático.



Figura 24: Fotomicrografia de cisto prostático. HE, objetiva 10x.

Áreas de hemorragia foram observadas contiguamente a um carcinoma prostático em uma única glândula (Figura 25).

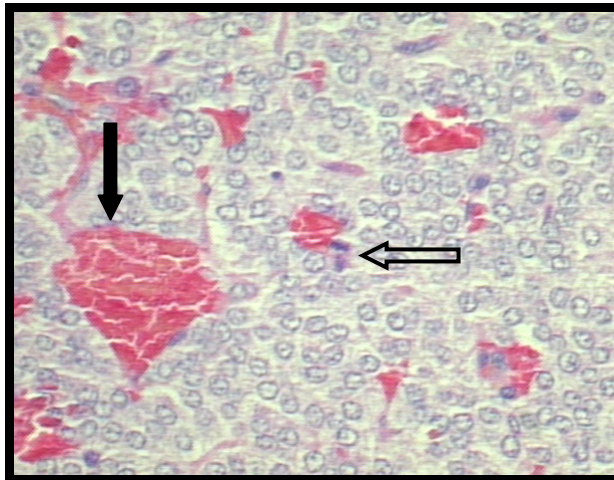


Figura 25: Fotomicrografia de carcinoma prostático. Observar áreas de hemorragia entre as células neoplásicas (seta larga) e uma figura de mitose (seta vazada). HE, objetiva 40x/1.6x.

Displasia do epitélio glandular esteve presente em 77,5% dos casos, localizando-se principalmente em áreas com maior concentração de infiltrado inflamatório (Figura 26). Esta lesão foi caracterizada quando havia desorganização estrutural do epitélio acinar, cujas células mostravam citoplasma discretamente diminuído e núcleo levemente aumentado (Figura 27). Ainda, em 93,5% dos casos, diversos focos displásicos foram observados na mesma glândula.

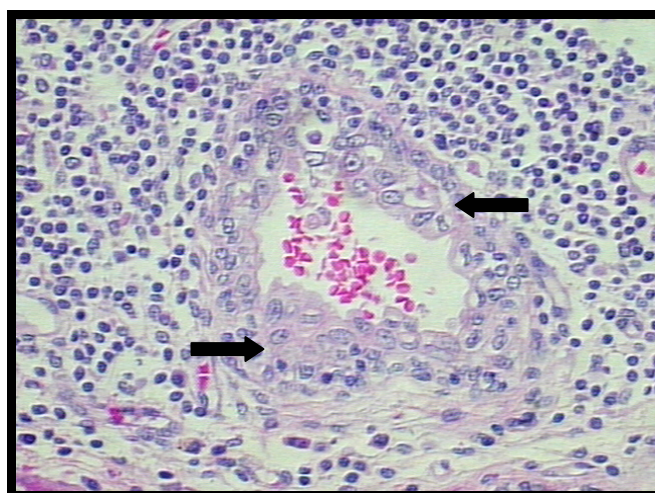


Figura 26: Fotomicrografia prostática. Displasia do epitélio acinar (setas) e células inflamatórias. HE, objetiva 40x.

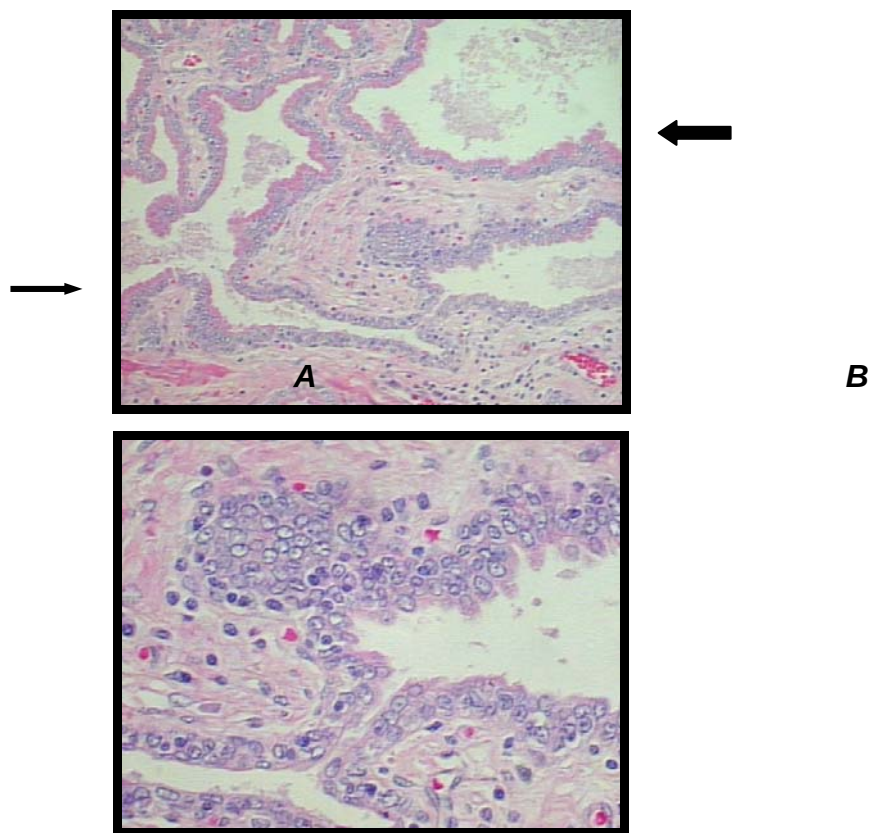


Figura 27: Fotomicrografia prostática. A) Displasia do epitélio acinar em concomitância com hiperplasia complexa e células inflamatórias (seta). HE 200x. B) Detalhe de A evidenciando a desorganização e as alterações morfológicas das células epiteliais acinares (seta cheia). HE, objetiva 40x.

As neoplasias descritas neste trabalho foram classificadas em carcinoma prostático (Figuras 28 e 29) ou PIN (neoplasia intra-epitelial prostática) de acordo com as alterações morfológicas e localização, estando estas últimas restritas ao epitélio acinar (Figura 30). A lesão pré-maligna foi observada em 37,5% das próstatas, sendo que em uma destas havia concomitância com o único carcinoma encontrado neste estudo.

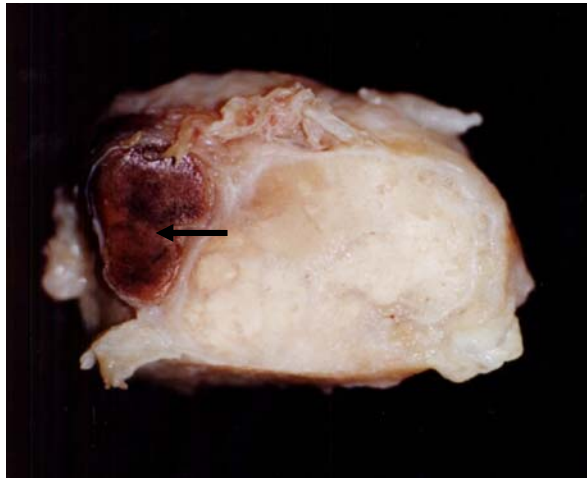


Figura 28: Aparência macroscópica do carcinoma prostático. Observar área de coloração acastanhada e aspecto firme (seta).

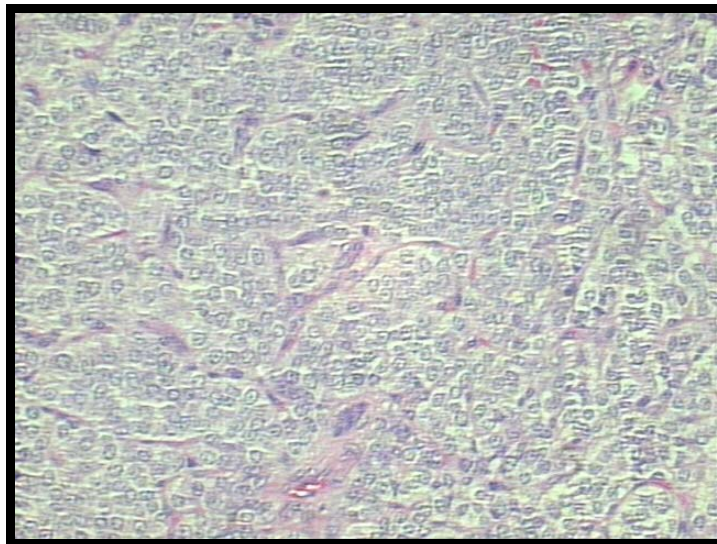


Figura 29: Fotomicrografia de carcinoma prostático. Observar as atipias nucleares e o pleomorfismo celular intenso. HE, objetiva 40x.

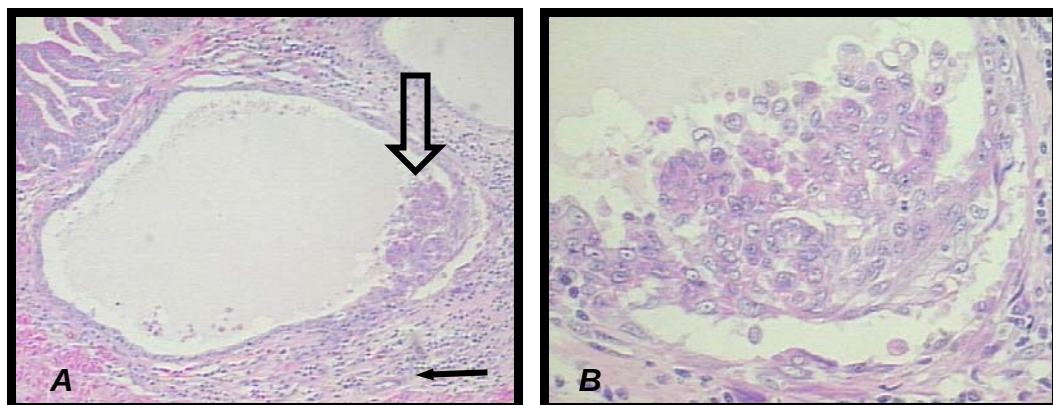
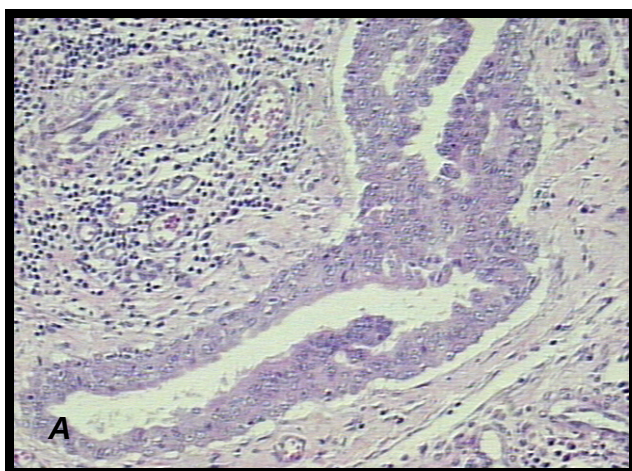


Figura 30: Fotomicrografia prostática. A) Ácino dilatado e repleto de conteúdo, infiltrado inflamatório intersticial (seta), epitélio acinar achatado e área focal de PIN (seta vazada). HE 200x. B) Detalhe de A evidenciando a proliferação celular, desorganização e as alterações morfológicas das células epiteliais acinares que caracterizam PIN. HE, objetiva 40x/1.25x.

Foi observada relação entre a presença de HPB e PIN pelo teste χ^2 ($p < 0,05$), sendo que dos 15 casos de PIN, todos apresentaram simultaneamente alguma forma de hiperplasia. Ainda, a associação mais freqüente foi com os tipos estromal (58,3%) (Figura 31) e complexa (40%).



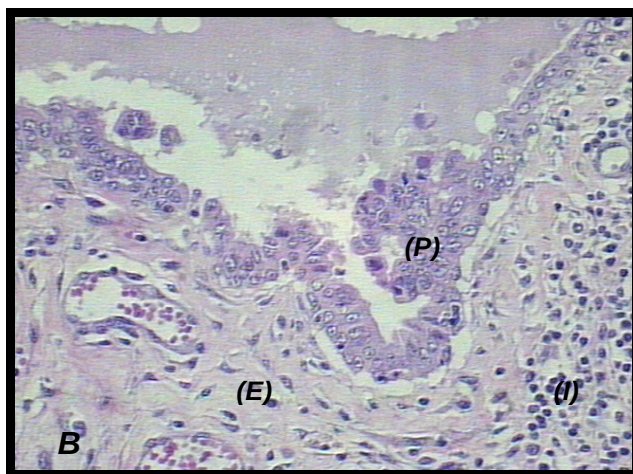


Figura 31: Fotomicrografia prostática. A) Ácino com epitélio característico de PIN, infiltrado inflamatório intersticial e proliferação de tecido conjuntivo adjacente (hiperplasia estromal). HE 250x. B) Outra área de PIN evidenciando a proliferação, desorganização e atipias celulares (P), bem como proliferação estromal (E) e infiltrado inflamatório (I). HE, objetiva 40x.

Hiperplasia prostática

A hiperplasia esteve entre as alterações prostáticas mais freqüentemente observadas (77,5%) e foi qualificada pela proliferação do componente epitelial, estromal ou de ambos (complexa) (Figura 32).

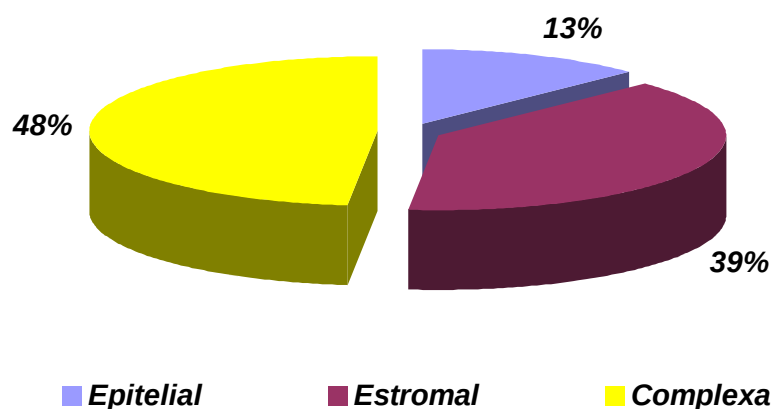
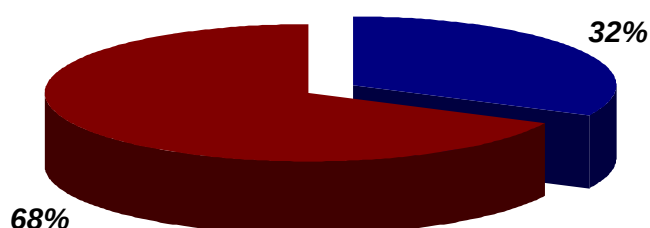


Figura 32: Ocorrência de hiperplasia epitelial, estromal e complexa (N= 31).

Em relação à idade ocorreu em 55% dos animais com até cinco anos e em 95,5% daqueles com mais de cinco anos, considerando-se as 40 próstatas. Avaliando-se apenas as glândulas com hiperplasia, 32% ocorreram em cães com até 5 anos e em 68% daqueles com mais de cinco anos (Figura 33).



■ **Animais de 3 a 5 anos** ■ **Animais acima de 5 anos**

Figura 33: Ocorrência de hiperplasia de acordo com a idade do animal (N= 31).

Morfologicamente a hiperplasia epitelial apresentou-se sob duas formas distintas: cística ou papilífera, às vezes ocorrendo simultaneamente na mesma glândula. Cistos e cavitações distribuídas pelo parênquima prostático caracterizaram macroscopicamente a hiperplasia epitelial cística (Figura 34).



Figura 34: Aspecto macroscópico da hiperplasia epitelial cística. Notar as cavitações distribuídas pelo parênquima prostático.

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 35).

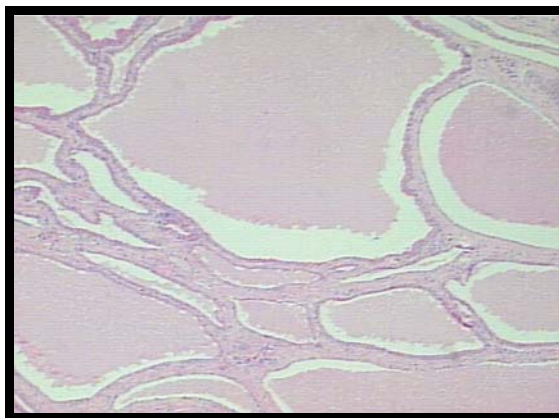


Figura 35: Fotomicrografia de hiperplasia prostática epitelial cística. Observar os ácinos glandulares dilatados, irregulares e com secreção no interior do lúmen. HE, objetiva 10x.

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 (Figuras 36 e 37).

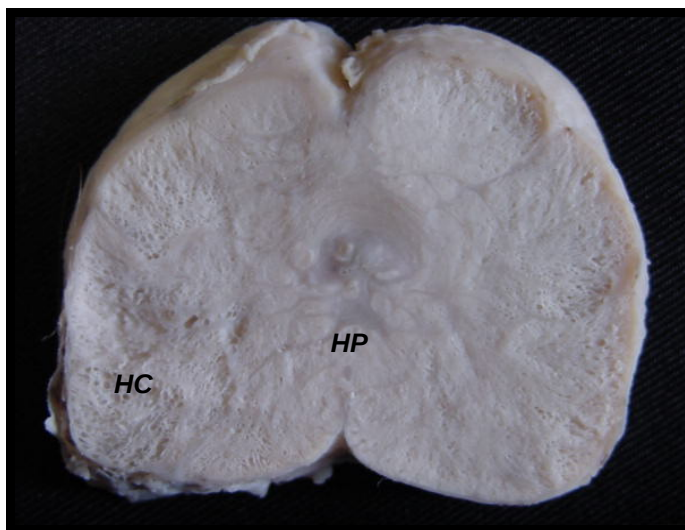


Figura 36: Aparência macroscópica da hiperplasia epitelial cística e papilífera. Notar áreas de cavitações (hiperplasia cística - HC) e áreas de aspecto mais denso (hiperplasia papilífera - HP), distribuídas pelo parênquima prostático.

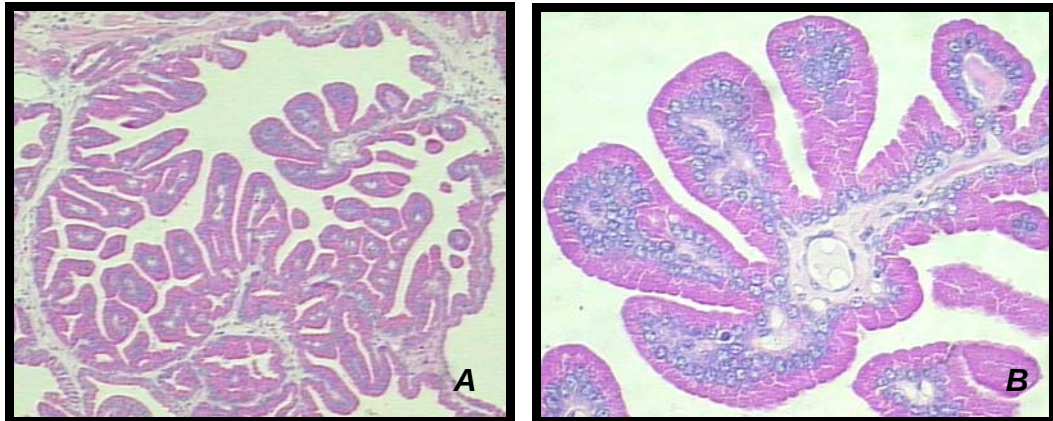


Figura 37: Fotomicrografia de hiperplasia prostática epitelial papilífera. A) Observar os ácinos glandulares com proliferações digitiformes para o interior do lúmen. HE 50x. B) Detalhe de A evidenciando a proliferação e a desorganização de células que compõem o epitélio da papila. HE, objetiva 20x.

Hiperplasia estromal distinguiu-se pela proliferação do estroma fibroso, muscular ou de ambos em glândulas com ou sem outras alterações concomitantes (Figuras 38 e 39).

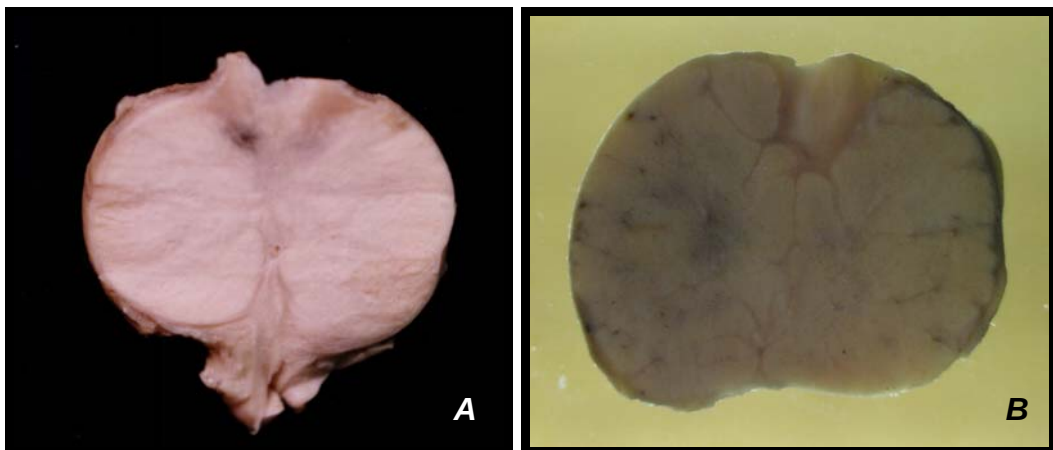


Figura 38: Aspecto macroscópico da hiperplasia estromal. Observar áreas densas e sem cistos ou cavitações em ambas as próstatas apresentadas.

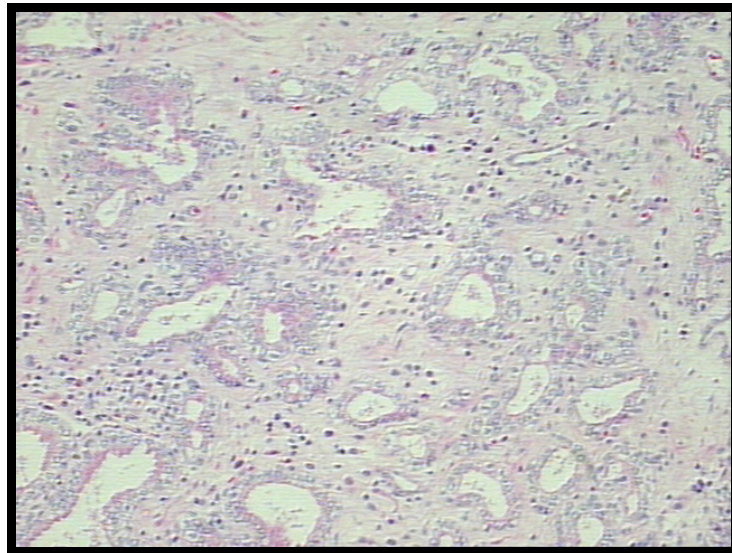


Figura 39: Fotomicrografia de hiperplasia estromal. Notar proliferação estromal e ácinos glandular em processo de atrofia, bem como a presença de células inflamatórias no interstício. HE, objetiva 20x.

As hiperplasias complexas foram diagnosticadas quando havia proliferação do estroma e do epitélio, podendo ocorrer a associação com as formas cística e papilífera isoladamente ou ambas concomitantemente (Figuras 40 e 41).



Figura 40: Aparência macroscópica da hiperplasia complexa. Notar a heterogeneidade das formas.

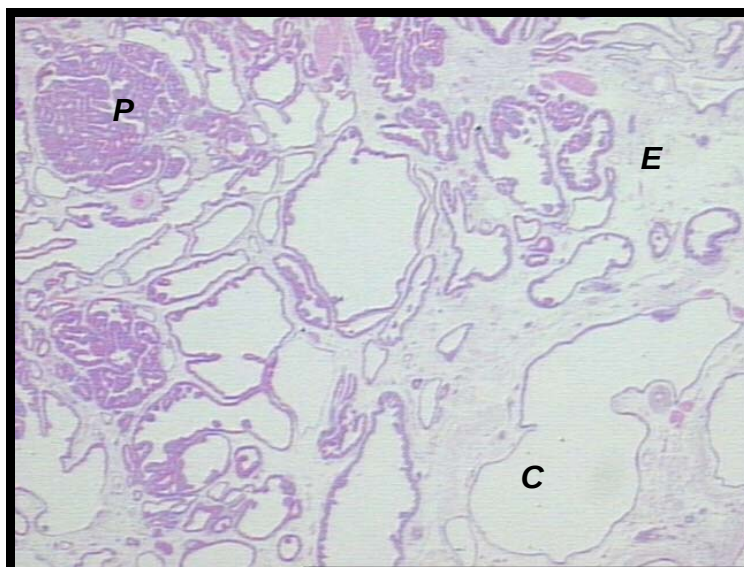


Figura 41: Fotomicrografia de hiperplasia complexa. Observar proliferação estromal (E), epitelial cística (C) e papilífera (P). HE, objetiva 5x.

A ocorrência concomitante dos diferentes tipos de hiperplasia se fez presente em 58% das glândulas acometidas por esta afecção. A associação de hiperplasia papilífera e estromal na mesma próstata foi a

mais freqüente (26% dos casos). Entre as glândulas com apenas um tipo de hiperplasia, as estromais prevaleceram (38% dos casos) (Figura 42).

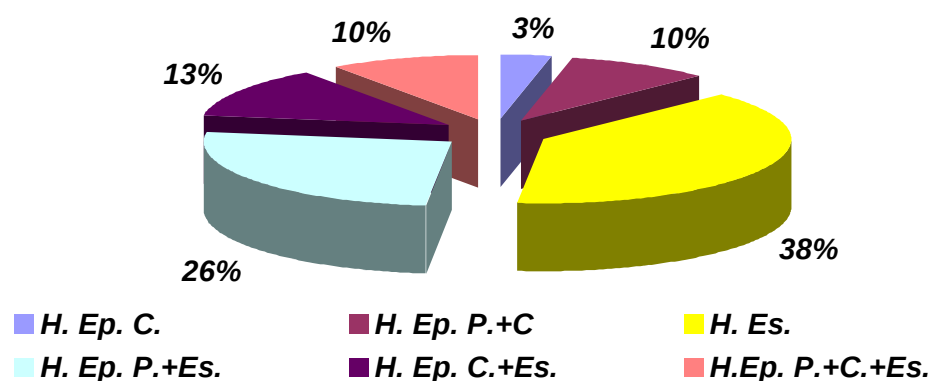


Figura 42: Percentual de glândulas acometidas pelos diferentes tipos de hiperplasia isoladamente ou concomitantemente (N=31) H. Ep. C. – hiperplasia epitelial cística; H. Ep. P. + C – hiperplasia epitelial papilífera e cística; H. Es. – hiperplasia estromal; H. Ep. P. + Es. – hiperplasia epitelial papilífera e estromal; H. Ep. C. + Es. – hiperplasia epitelial cística e estromal; H. Ep. P. + C. + Es. – hiperplasia epitelial papilífera, cística e estromal) (N=31).

As médias de idade dos animais normais, com hiperplasia epitelial, complexa e estromal são apresentadas na Figura 43. Animais com próstata normal apresentaram média de idade significativamente menor que aqueles com hiperplasia complexa e estromal, contudo não diferiram estatisticamente nos cães com hiperplasia epitelial (Tabela 13).

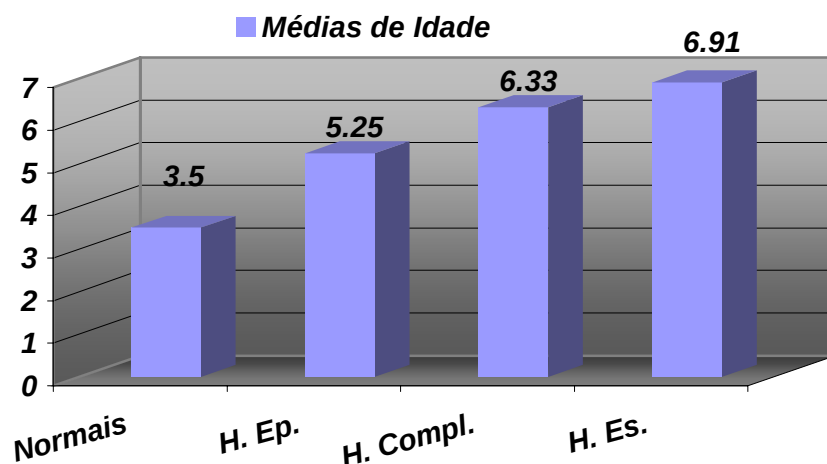


Figura 43: Médias de idade dos animais (em anos) normais e acometidos pelos diferentes padrões de hiperplasia (N=37).

Tabela 13: Médias de idade em relação ao diagnóstico histopatológico.

		Médias de Quadrado Mínimo
Grupo Comparativo	N.O	Idade
Normal	6	3,50 ^a
H. Epitelial	4	5,25 ^{ab}
H. Complexa	15	6,33 ^b
H. Estromal	12	6,91 ^b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

N.O: Número de Observações.

✓ Padronização da técnica de imunoistoquímica

Antígeno Prostático Específico (PSA)

Para o anticorpo PSA a marcação foi positiva nas células secretoras e secreção intraluminal, quando presente, porém com algumas particularidades em relação às lesões presentes nas glândulas (Figura 44). A diluição ideal do anticorpo foi 1:500, associada à recuperação antigênica com solução de citrato pH 6,0 em forno de microondas.

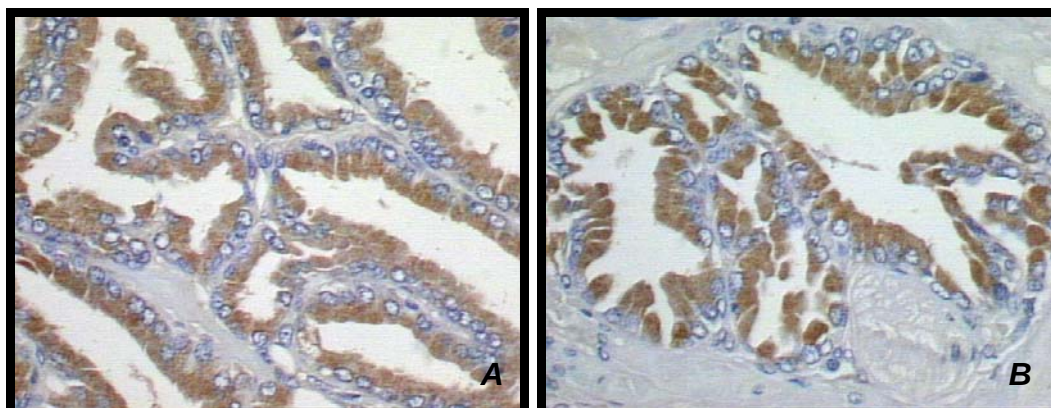


Figura 44: Fotomicrografia de próstata normal. A) Citoplasma das células do epitélio secretor com reação positiva para PSA, objetiva 40x/1.6x. B) Detalhe de um ácino com marcação citoplasmática positiva para PSA, objetiva 40x/1.6x.

Fosfatase Ácida Prostática (PAP)

A marcação do epitélio secretor para este anticorpo foi específica tanto em próstatas normais quanto hiperplásicas, contudo a intensidade de marcação variou de discreta a intensa (Figura 45). A recuperação antigênica com citrato pH 6,0 em banho-maria, e a diluição de 1:50 mostraram-se adequadas para este anticorpo.

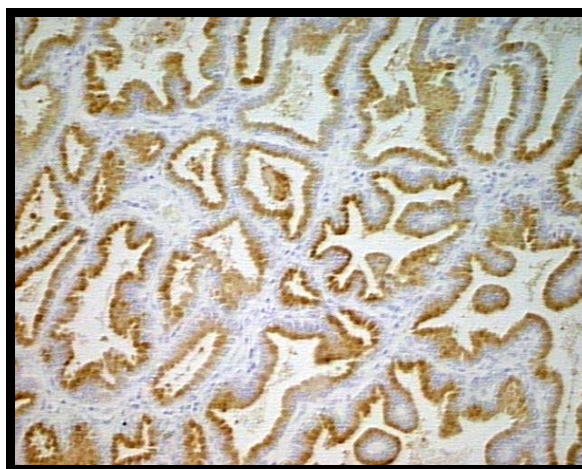


Figura 45: Fotomicrografia prostática mostrando marcação uniforme do epitélio acinar secretor de uma glândula hiperplásica. PAP, objetiva 20x.

Receptores de Estrógenos e Receptores de Andrógenos

A padronização destes anticorpos em tecido prostático não foi obtida mesmo após diversas diluições, tipos de recuperação antigênica, formas de incubação e kits amplificadores utilizados. Por este motivo tais anticorpos não foram utilizados no estudo imunoistoquímico.

3) Estudo imunoistoquímico

Antígeno Prostático Específico - PSA

A marcação do epitélio secretor com PSA foi obtida em 100% das glândulas normais e hiperplásicas (Figura 46), embora com variações na quantidade de células marcadas e intensidade de imunorreatividade. A única glândula negativa para esta reação apresentava atrofia difusa do epitélio glandular (Figura 47).

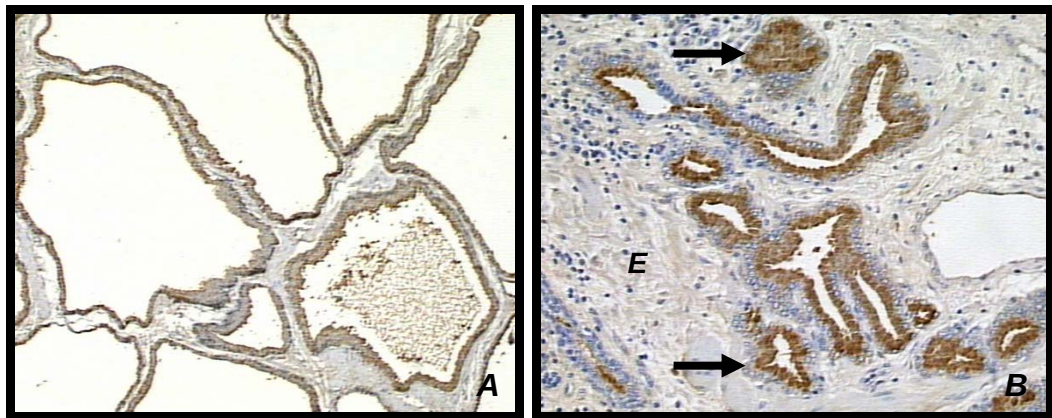


Figura 46: Fotomicrografia de próstata hiperplásica. A) Hiperplasia Cística. Ácinos dilatados com epitélio secretor e conteúdo intraluminal imunomarcados para PSA, objetiva 10x. B) Hiperplasia Estromal. Proliferação estromal (E) e ácinos atróficos, mas mantendo a atividade secretora de PSA (setas). PSA, objetiva 20x/1.25x.

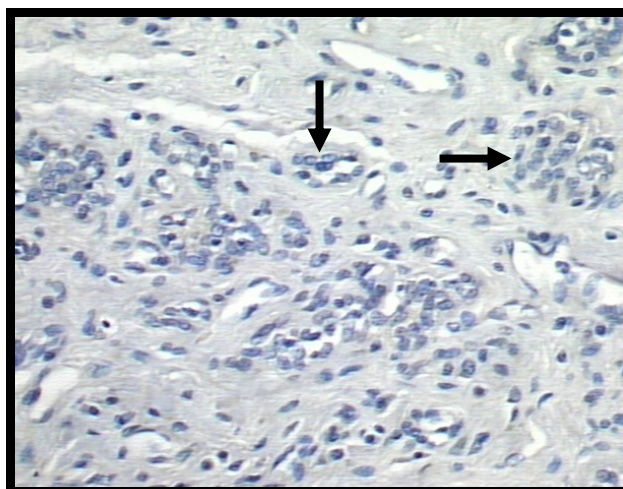


Figura 47: Fotomicrografia de próstata atrofica. Notar ausência de imunorreatividade e atrofia acinar (setas). PSA, objetiva 40x.

A marcação com PSA obteve escore mais elevado (+++) quanto à porcentagem de células marcadas e escore intermediário (++) no que refere à intensidade em 100% das próstatas normais.

No caso das próstatas com hiperplasia epitelial, tanto o escore ++ quanto +++ foram atribuídos a 50% das glândulas no quesito células marcadas. Aquelas com hiperplasia complexa e estromal receberam o maior escore (+++) na maioria das glândulas, sendo 73,3% e 50%, respectivamente (Figura 48).

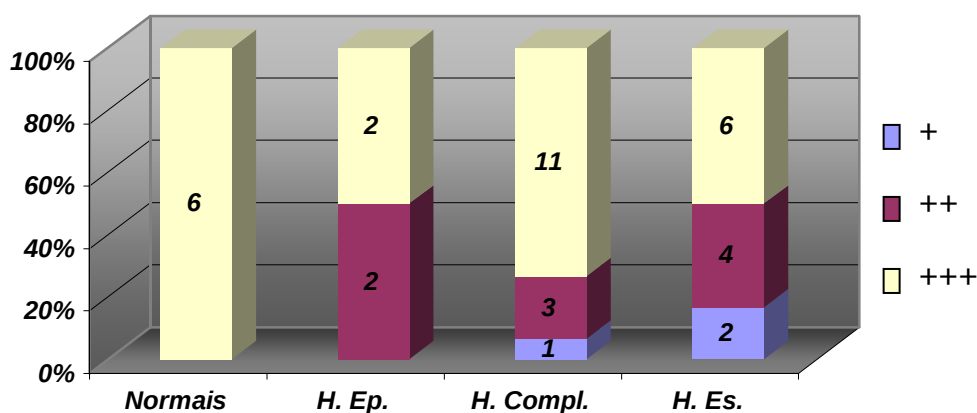


Figura 48: Distribuição dos escores referentes à porcentagem de células marcadas, atribuídos às glândulas normais e hiperplásicas incubadas com PSA (N=37).

No que concerne à intensidade de imunorreatividade, glândulas com hiperplasia epitelial apresentaram escore + em 50% dos casos e ++ nos demais. Próstatas com hiperplasia complexa e estromal obtiveram escore ++ em 66,7% e 75% do total, sendo este o escore mais freqüente (Figura 49).

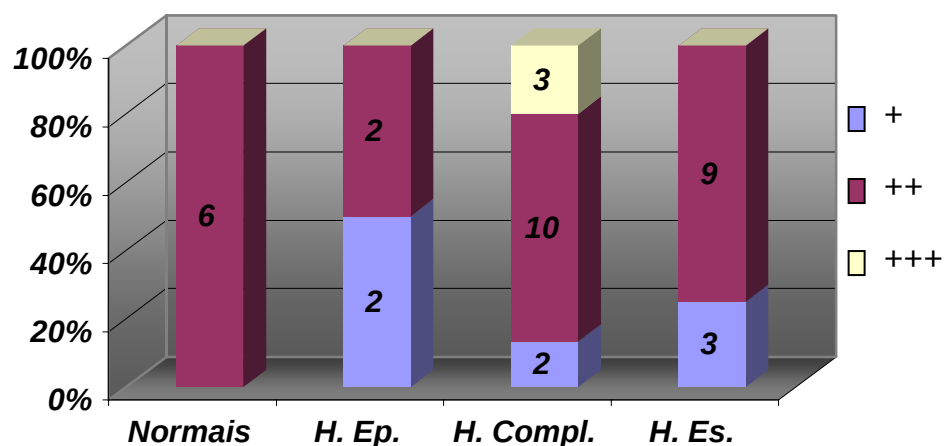


Figura 49: Distribuição dos escores referentes à intensidade de imunorreatividade, atribuídos às glândulas normais e hiperplásicas incubadas com PSA (N=37).

Fosfatase Ácida Prostática (PAP)

A imunomarcagem para este anticorpo mostrou-se negativa em apenas uma próstata, sendo esta atrófica (Figura 50). Por outro lado, 100% das normais e hiperplásicas obtiveram marcação (Figura 51), contudo nestas últimas houve variação no percentual de células marcadas e na intensidade.

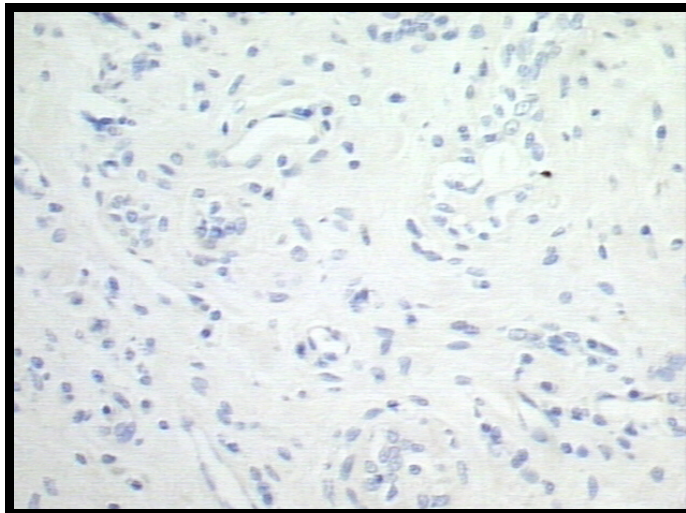


Figura 50: Fotomicrografia de glândula atrófica. Observar epitélio acinar secretor atrófico e ausência de imunomarcção. PAP, objetiva 40x.

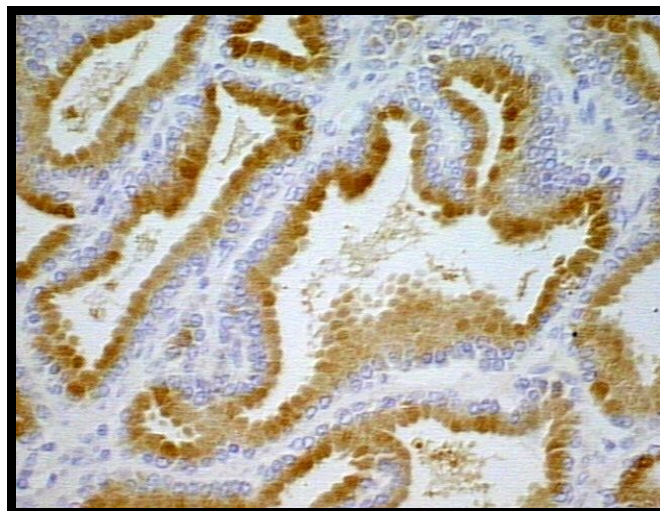


Figura 51: Fotomicrografia de glândula hiperplásica com marcação intracitoplasmática intensa e homogênea no epitélio acinar secretor. PAP, objetiva 40x.

A estimativa de células marcadas em glândulas hiperplásicas demonstrou maior frequência de escore +++ nas epiteliais e complexas (75% e 53,3%, respectivamente), contudo naquelas com hiperplasia estromal tanto escore +++ quanto + obtiveram percentual semelhante (41,7%), como ilustra a Figura 52.

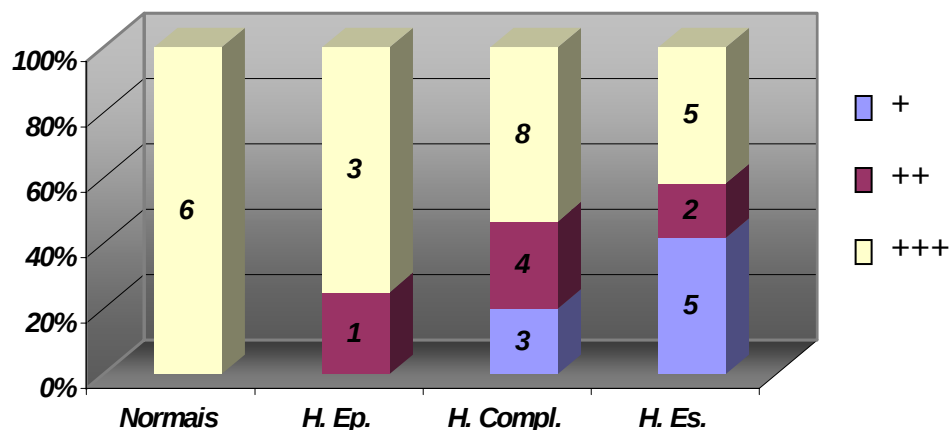


Figura 52: Distribuição dos escores atribuídos a glândulas normais e hiperplásicas incubadas com PAP, quanto à porcentagem de células marcadas (N=37).

Próstatas normais obtiveram o escore mais elevado (+++) em todos os casos, havendo variações apenas nas hiperplásicas quando considerada a intensidade de marcação celular. Tal escore não predominou em nenhum dos grupos de hiperplasia, visto que o escore ++ prevaleceu nas complexas (46,6%) e igualou-se nas epiteliais (50%) e estromais (41,7%) aos escores +++ e +, respectivamente (Figura 53).

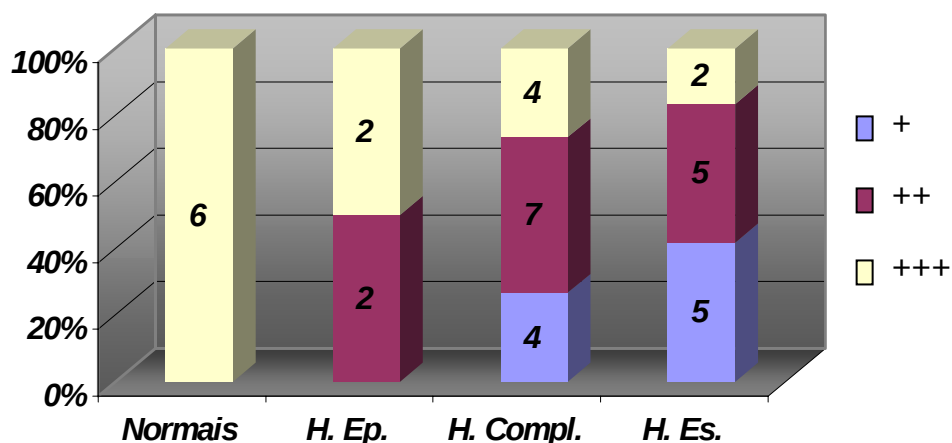


Figura 53: Distribuição dos escores atribuídos a glândulas normais e hiperplásicas incubadas com PAP, quanto à intensidade de imunorreatividade (N=37).

A correlação entre os valores séricos e urinários de PSA e a marcação imunoistoquímica para esta mesma glicoproteína, considerando o percentual de células marcadas e a intensidade de imunorreatividade e utilizando o coeficiente de Pearson, está representada na Tabela 14. Observou-se ausência de correlação quando $r < 0,5$.

Tabela 14: Correlações entre os valores séricos e urinários de PSA e a marcação imunoistoquímica (N=37).

	PSACM	PSAINT
PSASG	0,14211	0,10204
PSAUR	0,05711	0,08699

PSASG: PSA sérico; PSAUR: PSA urinário; PSACM: número de células marcadas para o anticorpo PSA; PSAINT: intensidade de marcação para o anticorpo.

Os valores séricos e urinários de PAP foram correlacionados com a marcação imunoistoquímica para tal glicoproteína em relação a quantidade de células marcadas e a intensidade de imunorreatividade, utilizando o coeficiente de Pearson, estando os resultados representados na Tabela 15. Verificou-se ausência de correlação quando $r < 0,5$.

Tabela 15: Correlações entre os valores séricos e urinários de PAP e a marcação imunoistoquímica (N=37).

	PAPCM	PAPINT
PAPSG	-0,08559	-0,15671
PAPUR	-0,16118	-0,17527

PAPSG: PAP sérico; PAPUR: PAP urinário; PAPCM: número de células marcadas para o anticorpo PAP; PAPINT: intensidade de marcação para o anticorpo.

As médias, medianas, desvio padrão, erro padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos de todas as variáveis avaliadas neste trabalho encontram-se descritas no Anexo G.



DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

1) Estudo Laboratorial

Das variáveis hormonais séricas mensuradas neste estudo, apenas o estrógeno apresentou valores significativamente menores nos animais com hiperplasia epitelial em relação àqueles com próstata normal. Embora a diferença estatística tenha sido observada apenas entre estes dois grupos, notou-se uma tendência a menores valores de estrógeno nos cães com algum tipo de hiperplasia. Brendler et al. (1983) utilizaram beagles para verificar as mesmas variáveis hormonais pesquisadas neste trabalho e não encontraram diferença nos níveis de estrógeno em animais de diferentes idades e com histologia variando de normal a hiperplásica, no entanto, em dois grupos, os valores séricos deste hormônio também eram menores em animais com hiperplasia. Já, Klausner et al. (1994) afirmam que as concentrações de estrógeno permanecem constantes em caninos adultos inteiros.

Uma observação importante apontada por Brendler et al. (1983) é a proporção testosterona/estrógeno que se altera com o decorrer da idade, o que reflete no aumento gradual da glândula, especialmente no desenvolvimento da HPB. Esta relação hormonal em desequilíbrio também foi notada neste estudo, sendo melhor visualizada na Tabela 6.

Em contradição aos achados desta pesquisa, Lloyd et al. (1975) encontraram altas concentrações séricas e teciduais de estrógeno em animais com hiperplasia. Embora o fundamento de ambos os trabalhos seja semelhante, resultados tão díspares podem ser explicados pelo número de animais e pela metodologia empregada na dosagem hormonal dos dois estudos. Lloyd et al. (1975) utilizaram apenas seis cães e um protocolo local para a mensuração hormonal, em comparação aos quarenta cães e o kit comercial específico (estradiol 3ª geração - ultra-sensível - duplo anticorpo) utilizados neste estudo.

Semelhante a Lloyd et al. (1975), os resultados de Souza e Toniollo (1999) sustentam que cães idosos (acima de sete anos)

apresentam níveis séricos maiores de estrógeno quando comparado aos de jovens (um a três anos) e jovens adultos (quatro a seis anos). O distinto agrupamento etário dos animais e o fato do aspecto histológico não ter sido avaliado podem ser a base das diferenças entre o trabalho de Souza e Toniollo (1999) e o que se apresenta. Recentemente Kawakami et al. (2001) também obtiveram valores plasmáticos de estrógeno maiores em cães com hiperplasia prostática, especialmente naqueles com azospermia.

Um fato interessante observado no presente estudo é que além do estrógeno diminuir nos animais com próstata hiperplásica em relação àqueles com histologia normal, os valores deste hormônio oscilaram em função do tipo de hiperplasia, sendo menores nas epiteliais e maiores nas complexas. Com base nestes dados foi possível visualizar uma relação direta entre o diagnóstico histológico, a idade do animal e o nível sérico de estrógeno, constatando-se que animais com hiperplasia epitelial eram adultos jovens (5,25 anos) e apresentaram os menores valores estrogênicos. Em contraste, cães com hiperplasia complexa eram mais velhos (6,33 anos) e demonstraram os maiores valores de estrógeno. De forma similar Cochran et al. (1981) obtiveram um perfil estrogênico variado a depender da idade e do aspecto histológico da glândula. Apesar de não terem classificado o tipo de hiperplasia, cães jovens com próstata hiperplásica apresentaram menores valores em relação aos jovens normais e idosos com hiperplasia.

Os níveis séricos de testosterona e diidrotestosterona se mantiveram semelhantes nos quatro grupos estudados (Tabela 6), sendo que Juniewicz et al. (1994) e Crone et al. (1998) obtiveram resultados similares quando compararam animais inteiros com hiperplasia e castrados normais e com hiperplasia. Vale ressaltar que os cães castrados dos estudos supracitados foram submetidos a reposição hormonal imediata ou tardia após a esterilização, por isso apresentaram algum tipo de hiperplasia e valores hormonais próximos aos dos animais

inteiros. Na presente pesquisa apenas um animal era castrado e não recebeu tratamento hormonal, apresentando atrofia glandular e baixos níveis de testosterona, diidrotestosterona e estrógeno. Da mesma maneira, Juniewicz et al. (1993) observaram atrofia glandular difusa e marcado decréscimo na testosterona sérica de beagles castrados.

Apesar de análogos, os valores de testosterona foram menores nos cães com hiperplasia em relação aos normais, exceto naqueles com hiperplasia epitelial, sendo que Kawakami et al. (2001) encontraram resultados semelhantes. O mesmo ocorreu com a diidrotestosterona, que tendeu a diminuir nos grupos com hiperplasia, afora naqueles com o tipo complexa. Seguindo o mesmo princípio, Barsanti e Finco (1992) e Klausner et al. (1994), descrevem o declínio das concentrações desses andrógenos com o decorrer da idade.

Lowseth et al. (1990) notaram um perfil inconstante para a variável testosterona em decorrência da idade e do diagnóstico histológico da próstata, sendo todos os cães acima de seis anos portadores de algum tipo de HPB. Estes pesquisadores apontaram o declínio da testosterona sérica em animais até nove anos e o restabelecimento desses níveis a partir dos doze. Tal aumento não foi observado nesta pesquisa, pois o animal mais velho apresentava onze anos de idade.

Em contrapartida, no trabalho de Lloyd et. (1975) não foi observada diferença entre os grupos normal e com hiperplasia no que diz respeito a concentração sérica e tecidual de testosterona, mas cães com glândula hiperplásica apresentaram valores numéricos maiores que aqueles com aspecto histológico normal. Da mesma forma, Souza e Toniollo (1999) observaram uma tendência a maiores concentrações de testosterona em função da idade do animal, embora não tenha encontrado diferença significativa entre os grupos avaliados, nem determinado o perfil histológico da próstata desses cães.

Reafirmando a diversidade de resultados díspares presentes na literatura, Ewing et al. (1983) são enfáticos ao colocar que não há diferença significativa nas concentrações de diidrotestosterona tecidual quando comparadas próstatas normais e hiperplásicas, mas apontam com clareza a variação deste andrógeno em função da idade, visto que obtiveram um perfil bifásico onde cães adultos jovens apresentaram os maiores níveis de diidrotestosterona em relação aos jovens e idosos.

Por outro lado, Meikle et al. (1981) concluíram que este andrógeno se encontra em maior quantidade em glândulas hiperplásicas que nas normais, sendo um fator consistente para o desenvolvimento da HPB em cães adultos inteiros. Também Isaacs (1983) afirma o aumento das atividades responsáveis pela produção de diidrotestosterona nas hiperplasias, mas sem o concomitante aumento nos processos de lise desse esteróide, sugerindo que tais alterações aumentam a habilidade tecidual para a formação de DHT nos casos de HPB.

Embora tenha sido diagnosticado apenas um caso de carcinoma prostático e em concomitância com hiperplasia complexa, a testosterona deste animal se manteve entre os valores mais baixos quando comparado aos demais. Este perfil hormonal é similar ao observado em um estudo humano de câncer prostático, onde os níveis séricos de testosterona e estrógeno eram mais baixos em relação àqueles com hiperplasia (Schatzl et al., 2001). Não foram encontrados dados na literatura sobre valores hormonais em cães com neoplasia prostática.

A interpretação dos dados laboratoriais foi uma tarefa árdua devido às inúmeras metodologias utilizadas e formas de apresentação das diferentes pesquisas sobre próstata canina no âmbito nacional e internacional. No entanto, verificou-se que não há um padrão ou perfil hormonal sérico para animais de diferentes faixas etárias e com afecções prostáticas distintas. Ao contrário, foi possível constatar que o mais importante não são os valores maiores ou menores de um ou outro hormônio e sim o desequilíbrio na relação entre estes.

Mais ainda, tal desproporção é fato concreto com o avançar da idade e primordial ao desenvolvimento das lesões prostáticas no cão, sobretudo da HPB. Dentre os artigos veterinários consultados, Brendler et al. (1983) são dos poucos que reportam o valor desta proporção hormonal alterada como ponto chave na evolução do tecido prostático. No que diz respeito aos humanos, Griffiths et al. (1991) também descrevem a importância da relação estrógeno/andrógeno na gênese dos processos mórbidos da próstata.

Similar ao observado neste estudo, Souza e Toniollo (1999) encontraram ampla variação nas concentrações séricas hormonais dentro de cada grupo, indicada pelos altos desvios padrão. A mensuração hormonal é uma variável muitas vezes incontrolável, visto as normais oscilações em decorrência do ritmo circadiano. Sabendo disso, as colheitas sangüíneas foram realizadas sempre no período da manhã em todos os animais para diminuir possíveis problemas com tais variáveis. A este respeito, Feldman e Nelson (1996) afirmam que o ideal é a utilização da média de três a seis dosagens obtidas em intervalos de 30 a 60 minutos, contudo, este protocolo torna-se impraticável, principalmente devido ao custo dos kits e manipulação dos animais.

Apesar do zelo dispensado no controle das variáveis estudadas, não se pode relevar outros fatores que interferem na produção de tais hormônios, como idade, estresse e status geral de cada indivíduo. Talvez, devido a tudo isso raríssimos autores apresentem valores normais de referência para esses hormônios e a maioria trabalhe com base nos dados de cada estudo. Diante dos resultados foi possível constatar grande variabilidade nas concentrações séricas de estrógeno e andrógenos, especialmente em função do tipo de lesão do tecido prostático. No entanto, não é possível determinar um intervalo de variação padrão confiável em que se possa fundamentar ou suspeitar de uma lesão prostática benigna ou maligna.

Quanto às glicoproteínas mensuradas no plasma e na urina dos cães, apenas a variável PSA sérico foi significativamente menor em animais com próstata normal em relação àqueles com hiperplasia epitelial e, de modo geral, aos demais tipos de HPB. Embora os valores detectados estejam muito abaixo dos referenciais para o homem (até quatro ng/ml), foi observado que, assim como em humanos, este marcador prostático pode aumentar em indivíduos portadores de hiperplasia (Oesterling, 1991; Hasui et al., 1994; Kozlowski, 1999; Montinori et al., 2000). Apesar de não diferir estatisticamente entre os grupos comparados, o PSA urinário também foi detectado e com tendência a aumentar em cães com hiperplasia prostática, conforme ilustra a Tabela 7.

Da mesma forma Laufer Amorim (2001) detectou a presença de PSA no soro e na urina de cães. Em contrapartida, Bell et al. (1995) e Souza (1998) também visaram a dosagem desta variável na espécie canina e obtiveram resultados negativos, empregando a técnica de ensaio imunoenzimático de micropartículas (MEIA). Talvez, a metodologia e o kit utilizados justifiquem resultados opostos, visto que o método proposto nesta pesquisa e por Laufer Amorim (2001) foi o da eletroquimioluminescência.

Com relação aos valores sérico e urinário de PSA encontrados no cão com carcinoma prostático, estes se mantiveram próximos às concentrações mais baixas, estando de acordo com Klausner et al. (1994) os quais afirmam que os níveis desta glicoproteína são tipicamente normais em animais com neoplasia prostática, ao contrário da espécie humana, onde valores mais elevados associados a outras alterações como palpação retal e ultra-sonografia, são indicativos de tumor (Aziz, 1995; Karakiewicz e Aprikian, 1998; Montinori et al., 2000). Para Clements et al. (1992) o aumento nas concentrações de PSA é possível tanto nos casos de HPB quanto de CP, mas níveis extremos indicam malignidade,

já valores entre 4 e 10 ng/ml são mais difíceis de interpretar e tornam tal marcador pouco efetivo como indicador inicial de neoplasia.

Na presente pesquisa foi utilizado um kit comercial humano para a mensuração do PSA sérico e urinário, sendo realizada apenas a contagem total desta glicoproteína. A validade do PSA sérico na diferenciação dos processos prostáticos benignos e malignos reside na interpretação das diferentes formas deste marcador prostático no soro de pacientes humanos, visto que em ambas as situações o PSA total pode estar aumentado, mas o que distingue HPB de câncer são as altas concentrações da forma livre de PSA na primeira afecção e níveis elevados de PSA conjugado nos casos de neoplasia (Graves, 1993; Barroso e Zerati, 1997; Potter et al., 1999; Montinori et al., 2000; Khan et al., 2003). Talvez, estudos com maior número de animais acometidos por carcinoma prostático e kits espécie específicos sejam eficientes em verificar se há diferentes formas deste marcador biológico no soro de cães e a importância disso em relação ao diagnóstico das lesões prostáticas nesta espécie.

Karr et al. (1995) não encontraram genes semelhantes ao PSA humano em caninos, contudo diversos autores reportam similaridades fisiológicas e bioquímicas entre esta glicoproteína humana e a esterase prostática secretória canina (CPSE), o maior produto de secreção da próstata canina (Frenette et al., 1987; McEntee et al., 1987; Johnston et al., 2001; Gobello et al., 2002). Dada tais analogias bioquímicas e a alta sensibilidade do kit empregado neste estudo, questiona-se a possibilidade de reação cruzada e por isso a detecção de valores muito baixos no soro desses cães. Se realmente esta hipótese fosse válida, tratar-se-ia de uma reação falso-positiva, constituindo um novo motivo para mais uma vez descartar, como valor diagnóstico, a dosagem de PSA na espécie canina, como coloca Swinney (1998).

Na verdade, as tentativas de se dosar PSA nos cães partem do princípio das similitudes entre as afecções que ocorrem nas espécies

canina e humana, mas diante dos resultados é razoável a constatação de que dessemelhanças existem e provavelmente conduzem a efeitos distintos em determinadas circunstâncias, como a alta e a baixa incidência das neoplasias prostáticas no homem e no cão, respectivamente. No entanto, os achados também suportam o PSA como um marcador útil para determinar a presença de lesão na próstata canina, mas não qualificar a mesma, fato também descrito por Oesterling (1991) e Armbruster (1993). Ainda, mais estudos são necessários para determinar os valor normal máximo e o alterado mínimo na espécie canina.

No que diz respeito a PAP, não foi observada diferença entre os grupos comparativos, mas é nítido o aumento na concentração desta glicoproteína em função do tipo de hiperplasia, especialmente da forma complexa, conforme os dados apresentados na Tabela 8. Tais achados estão de acordo com Corazza et al. (1994) que encontraram valores séricos de PAP (total, prostático e não-prostático) particularmente elevados em cães com HPB e valores ainda maiores em animais com neoplasia prostática. Apesar de não ter se fundamentado no diagnóstico histológico, Laufer Amorim (2001) também detectou acréscimo nos valores séricos e urinários de PAP em função da idade. Vale ressaltar que 93% desses animais apresentavam algum tipo de lesão prostática, sendo mais freqüente as hiperplasias.

Em contraposição, Souza (1998) descreve o decréscimo da concentração sérica de PAP em função da idade. O fato de terem sido empregados kits comerciais humanos, mas diferentes pode justificar resultados desiguais em ambos os trabalhos. Por outro lado, Klausner et al. (1994) e Bell et al. (1995) afirmam que não há diferença na dosagem de PAP quando comparados cães com próstata normal e com diferentes tipos de afecção.

Quando o assunto é neoplasia, Weaver (1981) e Corazza et al. (1994) não excluem a possibilidade de carcinoma naqueles caninos com baixas concentrações séricas de PAP, fato observado no único caso de

CP deste estudo, o qual não demonstrou aumento discrepante em relação aos demais, mantendo-se entre os níveis mais baixos. Por este motivo tais autores acreditam que a mensuração sérica desta glicoproteína não demonstra valor diagnóstico para neoplasia prostática na espécie canina.

Adversamente, em humanos, altos níveis de PAP sérico apontam para adenocarcinoma de origem prostática e com localização extraglandular, especialmente em ossos e linfonodos. Segundo Stamey et al. (1987), Oesterling (1991) e Alivizatos et al. (1992), a PAP apresenta maior especificidade, enquanto o PSA maior sensibilidade, sendo a interpretação das diferentes formas do PSA sérico (total e livre) ponto chave no aumento da acurácia deste marcador. Este diferencial torna tal glicoproteína a ferramenta de escolha para o diagnóstico de CP em humanos nos dias de hoje (Souza e Toniollo, 2001; Khan et al., 2003).

Quanto aos cães, muito tem sido realizado, mas até o momento não se conhece um marcador biológico ideal para as afecções prostáticas desta espécie (Swinney, 1998; Souza e Toniollo, 2001). Além dos valores das mensurações independentes, foi realizada a correlação entre PSA e PAP séricos e urinários, não sendo observada associação entre tais variáveis. Laufer Amorim (2001) obteve resultados similares e, em contraposição, Irani et al. (1996) descrevem que a proporção sérico/urinária de PSA é útil para distinguir HPB e CP em humanos.

Embora a utilização de marcadores prostáticos tenha revolucionado o diagnóstico das doenças prostáticas, especialmente a HPB e o câncer no homem, persiste a necessidade de uma avaliação minuciosa e heterogênea, empregando diferentes meios diagnósticos para a precisa imposição do tipo de lesão prostática em cada indivíduo. Quanto aos cães, é certo que a próstata canina secreta inúmeras proteínas, no entanto estas diferem daquelas produzidas na espécie humana quanto a quantidade, qualidade e atividade biológica, restringindo comparações exatas e limitando o uso desses marcadores no diagnóstico das afecções prostáticas caninas.

2) Avaliação Anatomopatológica

✓ Estudo Morfológico

A avaliação anatomopatológica foi fundamentada a partir do diagnóstico histopatológico, sendo as próstatas divididas em quatro grupos: normal, hiperplasia epitelial, complexa e estromal. Ainda, foram obtidos os dados de uma glândula atrófica e de duas com prostatite.

Próstatas com hiperplasia epitelial apresentaram peso significativamente maior em relação às normais e estromais. Apesar de não terem agrupado os animais da mesma forma, Zirkin e Strandberg (1984) encontraram padrão semelhante, visto que grupos com cães portadores de hiperplasia demonstraram média de peso maior que aqueles com órgão de histologia inalterada. Outro paralelo que pode ser traçado é a respeito da idade dos cães em relação ao diagnóstico microscópico, já que a maior média de idade dos hiperplásicos foi de 6,9 anos no presente trabalho e 6,4 anos no estudo citado.

Reafirmando os dados aqui apresentados sobre o aumento de peso e volume graduais da próstata canina em função da idade e da presença de HPB, Lowseth et al. (1990) apresentam médias muito próximas dos grupos da mesma faixa etária deste trabalho. Um fato interessante e lógico aqui encontrado foi o declínio do peso e volume prostáticos daqueles espécimes com hiperplasia estromal. Embora os autores referidos não tenham especificado o tipo de HPB, estas variáveis também foram menores no grupo de animais com doze anos e talvez este fosse composto por cães com hiperplasia estromal predominante.

Também Crone et al. (1998) obtiveram peso prostático duas vezes maior no grupo de animais com 100% de HPB em relação àqueles com a mesma afecção, mas em porcentagem menor. Ainda, a próstata atrófica demonstrou o menor peso e as com prostatite, média logo acima das normais, sugerindo que o processo inflamatório também resulta em

aumento de peso do órgão, seja pelo aumento dos constituintes celulares ou pelas alterações circulatórias decorrentes do processo inflamatório. A este respeito Lowseth et al. (1990) referem a presença de infiltrado inflamatório primariamente intersticial e com tendência a aumentar em decorrência da idade, sendo tais circunstâncias também observadas nesta pesquisa. Outro dado apresentado por tais pesquisadores se refere à proporção dos componentes epitelial e estromal que diminui e aumenta, respectivamente com o avançar da idade, justificando maior incidência de hiperplasia epitelial aos 5,2 anos e o tipo estromal aos 6,9 anos.

Utilizando medidas ultra-sonográficas, Souza e Toniollo (1999) concluíram que animais idosos apresentam próstatas mais pesadas devido a localização abdominal apresentada pela maioria das glândulas nos cães entre sete e onze anos, contudo não foi verificada diferença estatística entre os grupos. Embora não tenham realizado exame histopatológico, estes resultados são paralelos aos deste estudo que confirma tal aumento e diretamente relacionado à presença de HPB.

Di Santis (2003) conduziu uma pesquisa com próstatas caninas, utilizando metodologia similar à empregada nesta avaliação e também encontrou o menor peso nas hiperplasias estromais quando comparado aos demais tipos da afecção. No trabalho supracitado, glândulas normais apresentaram menor peso e volume em relação a todas as formas de HPB, contrariamente ao observado neste estudo, onde próstatas com hiperplasia estromal demonstraram média de peso e volume menores que as normais. Tal diferença pode ser explicada pelas médias de idade dos grupos normais de ambos os relatos, visto que no primeiro foi de 1,8 anos e no segundo 3,5 anos, períodos de evolução tecidual distintos, sendo o último mais adiantado e a próstata mais pesada.

Quanto às mensurações de comprimento, largura e altura, os menores valores corresponderam à glândula atrófica, seguidos pelas médias de hiperplasia estromal para estas mesmas variáveis. Já os

animais portadores de HPB epitelial representaram o grupo com medidas opostas, caracterizando próstatas de maiores dimensões em relação a todos os demais tipos histológicos estudados. Como descrito, as glândulas apresentaram medidas heterogêneas a depender da classificação histomorfológica. Um perfil variado também foi notado por Atalan et al. (1999), onde próstatas atróficas, normais, com prostatite, hiperplásicas e neoplásicas foram classificadas de acordo com as menores para maiores mensurações, respectivamente. As poucas divergências entre tais descrições podem ser justificadas pela forma de agrupamento dos animais, visto que os referidos autores não subclassificaram a hiperplasias.

De fato, o mais importante é que independente do tipo, todas as glândulas com HPB têm suas dimensões alteradas de modo geral e podem apresentar formas distintas (Souza e Toniollo 1999) que resultam em medidas variáveis entre os estudos realizados. Confirmando tal verossímil, Di Santis (2003) também obteve variação no que concerne às mensurações prostáticas de comprimento, largura e altura. Outro detalhe que deve ser ressaltado é que não há um padrão histológico para as hiperplasias na espécie canina, sendo observadas as mais inesperadas combinações, o que mais uma vez explica contornos e medidas distintas apresentadas nos estudos de âmbito nacional e internacional.

Ainda, autores afirmam que o tamanho e o peso da próstata canina podem variar em função da idade, raça, peso corpóreo e afecções que a glândula possa apresentar (Feldman e Nelson, 1996; Chew, 1997), sendo mais comum devido a presença de HPB (Poulet, 1985; Olson et al., 1987; Krawiec, 1989; Purswell et al., 2000; Johnston et al., 2001).

✓ Avaliação histopatológica das próstatas

Dentre as glândulas avaliadas, a maior parte apresentou alguma alteração histomorfológica (85%) e destas, a grande maioria demonstrou mais de uma afecção concomitantemente (91%), situação freqüentemente descrita na literatura veterinária (Barsanti e Finco, 1992; Krawiec e Heflin, 1992; Muzzi et al., 1999; Di Santis, 2003). É válido ressaltar que tal simultaneidade dificulta o diagnóstico na prática do dia-a-dia e a utilização do cão como modelo experimental para as hiperplasias na espécie humana, já que esta é primariamente de padrão estromal (Bartsch et al., 1987; Siegel et al., 1990; Shapiro et al., 1992a e b; Deering et al., 1994; Ishigooka et al., 1996; Zlotta et al., 1996).

Esta última colocação constitui um paradoxo no que tange aos modelos experimentais para estudo das doenças prostáticas do homem, pois ao mesmo tempo em que os cães compreendem a única espécie não humana com alta freqüência de doenças prostáticas e evidências de similitudes na etiopatogenia da HPB e câncer (Aquilina et al., 1998; Bostwick et al., 2000; Cornell et al., 2000; Leav et al., 2001), apresentam baixa incidência e longo período de latência no que se refere às neoplasias, e diferenças morfofisiológicas que limitam comparações precisas (Bruengger et al., 1983; Pylkkänen et al., 1996). Mais cautelosos Bartsch e Rohr (1980) e Wilson (1980) admitem que o modelo é válido quando direcionado ao caráter endócrino da patogenia dos processos, que são similares, e consideram que diferenças histológicas assumem papel secundário.

Em relação à freqüência das afecções prostáticas caninas, representada em maior número pelas hiperplasias (77,5%), grande parte dos trabalhos também refere tal incidência (Poulet, 1985; Lowseth et al., 1990; Oliveira et al., 1996; Barsanti, 1999; Johnston et al., 2000, Teske et al., 2002; Di Santis, 2003), exceto Krawiec e Heflin (1992) que descrevem as prostatites como as de maior ocorrência. No entanto, estes mesmos autores afirmam ter subestimado os casos de HPB, pois não

consideraram animais com aumento de volume prostático sem avaliação histopatológica.

Quanto ao tipo histológico das HPB's, a maioria (48%) foi classificada como complexa, situação também notada por Di Santis (2003). No quesito idade observou-se que, independente do tipo, 68% dos cães portadores de HPB apresentavam mais de cinco anos, o que não difere dos dados encontrados na literatura (Lowseth et al., 1990; Barsanti e Finco, 1992; Johnston et al., 2001; Laufer Amorim, 2001).

Uma relação entre a idade e o tipo histológico de HPB pôde ser realizada, e nesta, animais com as médias de idade 5,2; 6,3 e 6,9 anos apresentaram as formas epitelial, complexa e estromal, respectivamente. Di Santis (2003) também obteve perfil semelhante, apesar de ter agrupado os animais de forma distinta a este estudo. Este achado sugere que cães adultos jovens, adultos e idosos tendem a desenvolver os tipos epitelial, complexo e estromal, nesta ordem, com o avançar da idade. Ainda, a média de idade dos animais com próstata normal foi estatisticamente menor que a daqueles com HPB complexa e estromal, confirmando que tais formas são características de cães adultos e idosos.

Embora não seja o cerne desta pesquisa, é oportuna a discussão sobre o consagrado termo “hiperplasia prostática benigna” ou HPB, o qual caracteriza redundância absoluta, já que o conceito de hiperplasia inclui por princípio características de benignidade, o que é claro em qualquer literatura de patologia básica. Por exemplo, Mattos (1999) conceitua tal lesão proliferativa como o aumento do número de células em um órgão ou parte dele, em consequência do aumento do ritmo de divisão celular, mas com manutenção do padrão morfofuncional das mesmas.

Cotran et al. (1999) também discorrem sobre a nomenclatura da hiperplasia prostática do homem e a denominam hiperplasia nodular, visto que nesta espécie esta é primariamente estromal, de localização periuretral e aspecto nodular. Quanto aos cães não há um padrão

histológico ou macroscópico em que se possa fundamentar uma terminologia que caracterize tal lesão, no entanto, a designação “hiperplasia prostática canina” ou HPC parece mais apropriada e coerente.

Displasias, dilatações e atrofia glandulares foram observadas freqüentemente em meio as HPB's, assim como a presença de infiltrado inflamatório mononuclear intersticial periacinar. Tais circunstâncias também são descritas por Laufer Amorim (2001) e Di Santis (2003) como sendo as lesões mais ocorrentes simultaneamente às HPB's, o que justifica o número de alterações maior que o de próstatas avaliadas. Johnston et al. (2001) colocam que além da própria HPB, a grande quantidade de microorganismos presentes na uretra periprostática, o status imunológico do animal, doenças do trato urinário e da próstata, bem como alterações do fluido prostático, compreendem alguns dos fatores predisponentes para a determinação dos quadros de prostatite canina.

A este respeito é pertinente apontar os efeitos em cascata que ocorrem no tecido prostático a partir do desequilíbrio hormonal, o que leva ao aumento do órgão, tornando impossível a avaliação isolada dos diferentes processos que culminam com a insuficiência funcional da glândula. Na verdade, em boa parte dos casos, uma afecção suscita outra e resulta em um quadro complexo, fato que também justifica o elevado número de casos de HPB em associação com as lesões citadas.

Corroborando esta linha de pensamento, Mahapokai et al. (2001) acreditam que a infiltração mononuclear intersticial junto às hiperplasias representa a reposta do hospedeiro mediante a proliferação, e não uma alteração secundária a infecção crônica. Assim como nesta pesquisa, também observaram linfócitos no espaço intersticial, próximos às células epiteliais, bem como em áreas de atrofia glandular. Ainda, como trabalharam com HPB induzida, notaram resposta inflamatória menos pronunciada naqueles cães tratados apenas com andrógenos.

Esta observação justifica achados microscópicos tão variados em termos de quantidade de células inflamatórias e reação tecidual, já que nas HPB's espontâneas podem ocorrer desequilíbrios hormonais dos mais variados possíveis.

Além das displasias leves e moderadas, foram diagnosticadas PIN em 37,5% das próstatas, contra os 66, 55 e 72% encontrados por Waters et al. (1997), Waters e Bostwick (1997b) e Aquilina et al. (1998), respectivamente. Valores distintos podem ser explicados pelo número de animais, forma de agrupamento e metodologia utilizados nos estudos, visto que todos estes autores trabalharam com cães portadores de neoplasia, e neste, a maioria constituiu HPB e não se empregaram métodos imunoistoquímicos para caracterizar imunologicamente tais lesões, apenas características histomorfológicas.

Embora seja sinônimo de neoplasia, o termo PIN, atualmente aceito e amplamente empregado, é direcionado a lesões prostáticas exclusivamente intra-epiteliais, anteriormente denominadas displasias intraductais, hiperplasia atípica acinar, hiperplasia com marcada atipia, displasia ducto-acinar e até carcinoma *in situ* (Bostwick e Brawer, 1987; Bostwick, 1995). Contudo, é imprescindível o conceito da origem do processo, que procede de displasias severas e possui alto potencial invasivo (Algaba, 1997; O'Shaughnessy et al., 2002).

O fato é que até a publicação de Waters et al. (1997) não havia relatos sobre a presença da PIN em cães, tão pouco a respeito de seu comportamento biológico, aspectos histoimunológicos e associação com HPB e CP, sendo que nesta pesquisa foi observada concomitância em 48,4 e 100% dos casos, respectivamente. Ainda, 58,3% constituíram associação de hiperplasia estromal e PIN. A alta simultaneidade encontrada entre PIN e CP, em contraste com os 72% relatados por Aquilina et al. (1998) justifica-se pela presença de apenas um carcinoma aqui diagnosticado.

Muito se conhece sobre próstata, no entanto, permanece a grande incógnita: "Se cães apresentam alta incidência de PIN, que é

considerada uma lesão pré-maligna ou pré-invasiva, por que não desenvolvem carcinoma prostático com a mesma frequência que os humanos?”. Talvez o longo período de latência do CP canino (Pylkkänen et al., 1996), a menor longevidade desta espécie (Waters et al., 1998), a dieta, fatores genéticos (De Marzo et al., 1999), assim como a presença de apenas uma glândula sexual acessória, sejam diferenças que constituam a melhor resposta até o momento.

Outra questão ainda não esclarecida a contento diz respeito ao grande número de próstatas caninas com associação de hiperplasia do tipo estromal, infiltrado inflamatório periacinar predominantemente mononuclear, atrofia glandular e PIN, sendo necessários mais estudos com enfoque a tal concomitância. Especulações sugerem que fatores de crescimento liberados pelas células inflamatórias, especialmente os linfócitos, são responsáveis por parte desta circunstância, pois estimulam a proliferação de matriz intersticial, vascularização, células epiteliais e estromais (Lee et al, 1997).

No que concerne ao CP, este foi observado em apenas uma próstata, o que representa 2,5% do total de glândulas avaliadas, sendo este valor próximo aos 3,5% encontrados por Weaver (1981), e não muito discrepante da prevalência de 0,2 a 0,6% descrita por Bell et al. (1991). Em contrapartida, Teske et al. (2002) relatam 13% de carcinoma prostático do total de 246 animais estudados. Mesmo assim tal percentual foi o menor quando comparado aos 19,3 e 57,1% de prostatite e HPB diagnosticados. Números tão variáveis são reflexo da amostra utilizada em cada estudo e, embora oscilantes, estes sempre apontam unanimemente para a baixa incidência desta afecção na espécie canina.

A neoplasia prostática é considerada uma doença senil, tanto no homem quanto no cão (Bell et al., 1991; Armbruster, 1993; Aquilina et al., 1998; Waters et al., 1998; Cornell et al., 2000; Verhagen et al., 2002; Teske et al., 2002). O único animal portador de CP desta avaliação tinha 9 anos, era mestiço e de grande porte (35Kg), características também descritas por Swinney (1998) em um relato de cinco casos.

3) Estudo Imunoistoquímico

O anticorpo anti-PSA foi hábil em marcar as células epiteliais secretoras e a secreção intraluminal quando presente, em próstatas normais e hiperplásicas. Tais achados são condizentes com o padrão observado em humanos (Cavalcante e Alves, 1999), contudo, foram observadas algumas peculiaridades em relação a quantidade de células marcadas e intensidade de imunomarcção.

Glândulas com histologia normal apresentaram homogeneidade em número de células e intensidade de marcação, já as hiperplásicas demonstraram variação com tendência a diminuir a quantidade de células marcadas e a intensidade de imunorreatividade, especialmente naquelas com o tipo estromal. Estes resultados estão de acordo com McEntee et al. (1987) que descrevem tal variação, além da negatividade encontrada nas próstatas atróficas, o que também foi detectado no único caso de atrofia deste estudo. Outros dois aspectos interessantes notados em ambos os trabalhos foram a localização citoplasmática apical e a aparência granular da reação.

A imunorreação negativa na glândula atrófica e a tendência a menor marcação e intensidade nas hiperplásicas pode ser justificada pelo fato do PSA ser uma das glicoproteínas que representam a atividade secretora do epitélio prostático (McEntee et al., 1987), a qual tem sua função alterada nos casos de lesão deste tecido.

No que diz respeito ao anticorpo anti-PAP foi observado efeito semelhante a glicoproteína PSA, sendo 100% positivo e com os escores mais elevados para a contagem de células marcadas e intensidade em próstatas normais. Por outro lado, glândulas hiperplásicas diminuíram seus escores de quantidade celular imunomarcada e luminosidade de reação, sendo que tais achados reproduzem aqueles relatados por Aumüller et al. (1987) e McEntee et al. (1987). Ainda, estes mesmos autores reportam imunomarcção negativa em animais com atrofia

prostática, localização intracitoplasmática apical e aspecto granular nas células positivas, circunstâncias estas também notadas neste estudo.

Além da determinação dos escores individuais de PSA e PAP quanto ao número de células marcadas e intensidade de reação, foi realizada a correlação entre as subvariáveis sérica, urinária, células marcadas e intensidade de PSA, bem como entre estas mesmas subvariáveis de PAP, não sendo observada associação entre tais variáveis. Ainda, não foram encontrados dados na literatura que pudessem ser comparados e discutidos.

A despeito dos diferentes anticorpos, diluições, recuperações antigênicas, tempos de incubação e kits amplificadores utilizados, a marcação imunoistoquímica não foi obtida para estrógeno e andrógenos. Com relação ao estrógeno, resultados contrapostos foram obtidos por Schulze e Barrack (1987), que marcaram o núcleo de células epiteliais e estromais da próstata de cães normais e com hiperplasia, utilizando o anticorpo monoclonal anti-E₂ (clone H222). Embora estes autores tenham conseguido imunorreatividade em ambos os componentes celulares prostáticos (epitélio e estroma), esta reação foi predominante na região periuretral, independente do aspecto histológico da glândula. Com isso constataram que a sensibilidade da próstata ao estrógeno é heterogênea e, se realmente o estrógeno está envolvido na gênese da HPB, aparentemente atua de forma seletiva e não uniformemente como se supõe.

Surpreendentemente, o epitélio glandular das próstatas de um dos grupos com HPB induzida não apresentou imunomarcação, indicando que os receptores de estrógeno de tal componente não estão envolvidos na patogenia do processo ou que os diferentes tipos desta afecção têm etiologias distintas. É importante ressaltar que os autores supracitados trabalharam com a técnica de imunocitoquímica, enquanto a presente pesquisa visou a marcação celular *in situ* em material incluído em parafina, o que justifica achados desiguais.

Em relação aos humanos, Bonkhoff et al. (1999) foram hábeis em detectar receptores de estrógeno no epitélio e estroma da próstata de pacientes com CP, concluindo que estas células podem sobreviver em um ambiente privado de andrógeno, utilizando estrógeno para sua manutenção e crescimento. É pertinente advertir que todos os estudos envolvendo imunoistoquímica na espécie humana têm suporte técnico no que diz respeito a disponibilidade de anticorpos espécie-específicos, ao passo que em medicina veterinária grande parte das tentativas, inclusive esta, se fundamentam na hipótese de reatividade cruzada entre os anticorpos humanos e a espécie que se estuda. Talvez a realidade fosse outra se houvesse a produção e oferta de reagentes apropriados para as diferentes espécies domésticas freqüentemente pesquisadas.

Quanto a imunoistoquímica direcionada aos andrógenos, Murakoshi et al. (1998) empregaram anticorpo policlonal anti-andrógeno em próstatas caninas e obtiveram marcação positiva, tanto nas células epiteliais como nas fibromusculares, sendo estes resultados opostos aos deste estudo. Apesar destes pesquisadores terem utilizado técnica semelhante, as glândulas avaliadas foram congeladas a fresco, cortadas em criostato e posteriormente submetidas a imunorreação, enquanto nesta avaliação a intenção foi a marcação de células prostáticas a partir de tecido fixado em formol e incluído em parafina, fato que explica efeitos contrapostos, visto que muitos anticorpos são específicos para cortes de congelação.

Dentre a literatura veterinária consultada apenas Leav et al. (2001) propuseram metodologia análoga a este estudo no que concerne à pesquisa imunoistoquímica de andrógenos, utilizando material fixado em solução de formalina. Ao contrário dos resultados aqui apresentados, tais autores obtiveram êxito em marcar células epiteliais e estromais de cães com próstata variando de imatura a neoplásica, inclusive glândulas com HPB. Vale destacar que a imunorreatividade predominou nas células epiteliais uretrais e basais acinares de animais jovens e adultos inteiros;

foi 100% negativa no tecido prostático proveniente de espécimes castrados; e positiva nas células neoplásicas de apenas um dos 19 casos de carcinoma prostático avaliados.

O ponto crucial que distingue e justifica achados tão discrepantes é o tipo e a origem do anticorpo empregado, visto que Leav et al. (2001) incubaram as próstatas em um reagente policlonal produzido na Universidade de Illinois. Já nesta pesquisa foram utilizados anticorpos comerciais mono e policlonais de laboratórios distintos. Além disso, confeccionaram cortes histológicos espessos (4 a 6 μ m), comparados aos preparados neste estudo (3 μ m). A este respeito, Santos et al. (1999) preconizam cortes de tecido com 2 a 3 μ m de espessura para a obtenção de reações imunoistoquímicas de qualidade.

Utilizando o mesmo anticorpo que Leav et al. (2001), Banerjee et al. (2001) marcaram células prostáticas de ratos e encontraram diferenças de reação em função da localização anatômica, sendo esta mais intensa no lobo ventral que nos lobos dorsal e lateral. O diferencial deste estudo foi a realização de testes para determinar a especificidade do anticorpo, dada a origem não comercial do produto. Ainda, não foi encontrada nenhuma citação no trabalho de Leav et al. (2001) sobre verificação da acurácia do anticorpo.

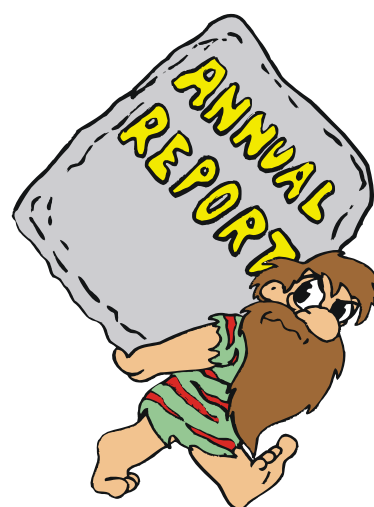
Bonkhoff et al. (1993) pesquisaram receptores de andrógenos em próstatas humanas normais, hiperplásicas e neoplásicas, utilizando o clone F39.4.1. Nas com histologia normal e com HPB, tais epítomos se expressaram predominantemente nas células luminais secretórias e nódulos estromais, enquanto células da camada basal mostraram fraca imunorreatividade. Quanto aos carcinomas, estes variaram em relação à expressão andrógena, sendo constatado o alto potencial andrógeno-independente das células neoplásicas negativas para este hormônio. Outro fato a ser apontado é a variedade dos anticorpos empregados nas diferentes pesquisas, o que obviamente leva a resultados distintos. Suportando tal afirmação, Miyamoto et al. (1993) também verificaram a

marcação de andrógeno em pacientes com HPB e câncer, no entanto utilizaram um reagente policlonal e obtiveram imunorreação espúria e heterogênea nos casos de neoplasia.

O estudo mais recente sobre hormônios e próstata canina é apresentado por Niu et al. (2003) que afirmam a positividade andrógena em células epiteliais e estromais, assim como imunomarcação estrógena predominante nas estromais. Apesar de terem trabalhado com tecido incluído em parafina, aplicaram kits comerciais chineses e não descrevem a metodologia, impossibilitando comparações e explicações para resultados dessemelhantes da presente pesquisa.

Questões essenciais que dizem respeito à fixação do material e à recuperação antigênica não foram relevadas quando se empregou a técnica de imunoistoquímica. Segundo Santos et al. (1999), mesmo com todos os cuidados com o pH da solução, proporção tecido/fixador e tempo de permanência, o uso de fixadores à base de formaldeído resulta na formação de “pontes aldeído-proteína”, que podem alterar, destruir ou mascarar epítomos. Por outro lado, o extraordinário avanço nos sistemas de recuperação de antígenos através do calor, resolveu parte dos problemas de fixação do material. Embora estas e outras variáveis tenham sido controladas com esmero, a marcação imunoistoquímica hormonal não alcançou êxito, sendo tal efeito reputado à falta especificidade dos anticorpos para a espécie canina.

Sumariamente, a maioria dos trabalhos direcionados à próstata do cão ou do homem vislumbra o entendimento preciso da etiopatogenia da hiperplasia e do câncer, que são, de longe, as lesões mais importantes desta glândula sexual acessória dos machos. Tal conhecimento é primordial, especialmente na espécie humana, dado o grande número de óbitos em consequência das afecções malignas da mesma. Contudo, um ponto crucial não pode ser esquecido quando se estuda a próstata: a heterogeneidade implícita na etiopatogenia dos processos patológicos deste órgão.

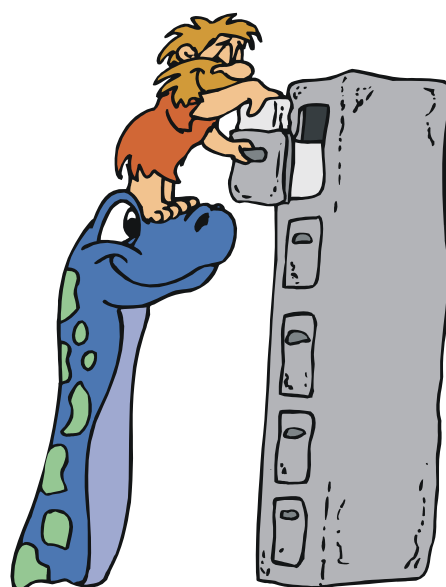


CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

1. Os kits comerciais humanos utilizados para a dosagem sérica de T_4 , DHT, E_2 , PSA e PAP foram eficazes em detectar cada uma destas substâncias no soro de cães;
 2. A concentração sérica de estrógeno foi significativamente menor em cães com hiperplasia epitelial, sendo observado menores valores deste hormônio em todos os grupos com alguma forma de HPB.
 3. Os valores médios de T_4 e DHT séricos oscilaram em função do diagnóstico histomorfológico da próstata;
 4. Houve diminuição na proporção sérica E_2/T_4 em função da presença de HPB e alteração variável na proporção $E_2/T_4/DHT$ de acordo com a classificação histológica das glândulas;
 5. O nível de PSA sérico foi estatisticamente maior nos animais com hiperplasia epitelial e, de modo geral, em todos com os demais tipos de HPB. Ainda, as concentrações de PSA urinário e PAP sérico foram maiores nos grupos de cães com HPB, sendo todas estas variáveis representativas do perfil histológico da próstata canina;
 6. Não foi observada correlação entre os valores séricos e urinários de PSA e PAP, bem como entre as concentrações séricas e urinárias destas mesmas glicoproteínas e T_4 , DHT e E_2 séricos;
 7. Próstatas com hiperplasia epitelial apresentaram peso, volume, comprimento e largura significativamente maiores que as com histologia normal;
 8. Dentre as glândulas com HPB, as variáveis morfológicas foram menores naquelas com o tipo estromal e oscilaram em função da classificação histológica;
 9. A maioria das próstatas de cães acima de três anos apresentou alguma alteração histomorfológica, sendo freqüente a ocorrência de duas ou mais simultaneamente;
-

-
- 10.A HPB foi a afecção de maior ocorrência e dentre estas, a do tipo complexa obteve a maior incidência. De outra parte, cistos, metaplasia escamosa, carcinoma e hemorragias foram as menos freqüentes;
- 11.Foi observado infiltrado inflamatório em 82,5% das próstatas avaliadas, dos quais, 94% eram mononucleares, intersticiais e freqüentemente associados à hiperplasia estromal e displasia epitelial acinar;
12. A neoplasia intra-epitelial (PIN) esteve presente em 37,5% das próstatas e freqüentemente associada a hiperplasia estromal (58,3%);
- 13.Cães com próstata normal apresentaram média de idade significativamente menor que aqueles com os tipos complexa e estromal, sendo evidenciadas as médias de 3,5; 5,25; 6,33 e 6,91 para os grupos normal, HPB epitelial, HPB complexa e estromal, respectivamente;
- 14.A padronização da técnica de imunoistoquímica foi obtida para os anticorpos anti-PSA (Dako policlonal) e anti-PAP (Labvision policlonal) diluídos a 1:500 e 1:50, respectivamente, sendo estes eficazes em marcar especificamente as células do epitélio secretor prostático de cães;
- 15.Os anticorpos anti-E₂ (Labvision policlonal; Labvision clone H222; Dako clone 1D5) e anti-AR (Labvision policlonal; Labvision clone AR441) não foram efetivos em marcar as células do tecido prostático canino incluído em parafina, nas diluições e recuperações antigênicas testadas;
- 16.As reações imunoistoquímicas de PSA e PAP foram 100% positivas e uniformes em próstatas com histologia normal e variaram em número de células marcadas e intensidade nas com HPB;
- 17.As correlações entre as glicoproteínas (PSA/PAP - séricos e urinários), o número de células marcadas e a intensidade de reação destes mesmos marcadores foram negativas;
- 18.A nomenclatura ideal para o aumento espontâneo da próstata relacionado à idade e ação hormonal em cães sexualmente intactos é hiperplasia prostática canina (HPC).
-



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALGABA, F. Neoplasia intra-epitelial prostática (Pin). **Urol. Contemp.**, v. 3, n. 3, p. 174-179, 1997.
- ALIVIZATOS, G.; DIMOPOULOS, A.; MITROPOULOS, D.; ALEVIZOU, K.; BOUGAS, D. PANTAZOPOULOS, D. Efficacy of eighth serially measured markers for diagnosis of prostatic carcinoma. **Arch. Esp. Urol.**, v. 45, n. 3, p. 269-272, 1992.
- AQUILINA, J.W.; McKINNEY, L.; PACELLI, A.; RICHMAN, L.K.; WATERS, D.J.; THOMPSON, I.; BURGHARDT, W.F.; BOSTWICK, D.G. High grade prostatic intraepithelial neoplasia in military working dogs with and without prostate cancer. **The Prostate**, v. 36, p. 189-193, 1998.
- ARMBRUSTER, D. A. Prostatic-specific antigen: biochemistry, analytical methods and clinical application. **Clin. Chem.**, v. 39, n. 2, p. 181-195, 1993.
- ATALAN G.; HOLT, P.E.; BARR, F.J. Ultrasonographic estimation of prostate size in normal dogs and relationship to bodyweight and age. **Journal of Small Animal Practice**, v. 40, p. 119-122, 1999a.
- ATALAN G.; HOLT, P.E.; BARR, F.J.; BROWN, P.J. Ultrasonographic estimation of prostatic size in canine cadavers. **Research in Veterinary Science**, v. 67, p. 07-15, 1999b.
- AUMÜLLER, G.; VEDDER, H.; ENDERLE-SCHMITT, U.; SEITZ, J. Cytochemistry and biochemistry of acid phosphatases VII: Immunohistochemistry of canine prostatic acid phosphatase. **The Prostate**, v. 11, p. 01-15, 1987.
- AUS G.; BERGDAHL, S.; HUGOSSON, J.; LODDING, P.; NORLÉN, L. Influence of benign prostatic hyperplasia, testosterone and age on serum levels of prostate specific antigen. **Scand. J. Urol. Nephrol.**, v. 28, p. 379-384, 1994.
- AZIZ, K. Tumour markers: current status and future applications. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, v. 55, s. 221, p. 153-155, 1995.
-

-
- BAMBERG-THALÉN, B.; LINDE-FORSBERG, C. The effects of medroxyprogesterone acetate and ethinylestradiol on hemogram, prostate, testes and semen quality in normal dogs. **J. Vet. Med. Assoc.**, v. 39, p. 264-270, 1992.
- BANERJEE, P.P.; BANERJEE, S.; BROWN, T.R. Increased androgen receptor expression correlates with development of age-dependent, lobe-specific spontaneous hyperplasia of brown Norway rat prostate. **Endocrinology**, v. 142, n. 9, p. 4066-4075, 2001.
- BARROSO, U.O.; ZERATI, M. PSA: O que há de novo. **Urol. Contemp.**, v. 3, n.2, p. 92-96, 1997.
- BARSANTI, J.A. Prostatic infections: diagnosis and therapy. **Bayer Selected Proceedings**, p.40-49, 1998.
- BARSANTI, J.A. Prostatic hyperplasia: medical therapy. **Proc. Am. Clin. Vet. Int. Med.**, v.17, p.536-538, 1999.
- BARSANTI, J.A., FINCO, D.R. Evaluation of techniques for diagnosis of canine prostatic diseases. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.185, n. 2, p.198-200, 1984.
- BARSANTI, J.A., FINCO, D.R. Canine prostatic disease. In: MORROW, D.A. **Current therapy in theriogenology II**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986.
- 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.1941-1963.
- 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.160-163, 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.; KEEN, F.; DAXENBICHLER, G.; MARTH, C.H.; 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.559-564, 1987.
- BEDUSCHI, R.; OESTERLING, J.E. Prostate-specific antigen. In: KNOBIL, E., NEILL, J.D. **Encyclopedia of reproduction**. San Diego: Academic Press, 1999, v. 4, p. 86-95.
- BERRY, S.J.; COFFEY, D.S.; EWING, L.L. Effect of aging on prostate growth in beagles. **Am. J. Physiol.**, v. 19, p. 1039-1046, 1986.
- BELL, F.W.; KLAUSNER, J.S.; HAYDEN, D.W.; FEENEY, D.A.; JOHNSTON, S.D. Clinical and pathologic features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs: 31 cases (1970-1987). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.199, n. 11, p.1623-1630, 1991.
- BELL, F.W.; KLAUSNER, J.S.; HAYDEN, D.W.; LUND, E.M.; LIEBENSTEIN, B.B.; FEENEY, D.A.; JOHNSTON, S.D.; SHIVERS, J.L.; EWING, C.M.; ISAACS, W.B. Evaluation of serum and seminal plasma markers in the diagnosis of canine prostatic disorders. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 9, n. 3, p.149-153, 1995.
- BENOIT, G.; JARDIN, A.; GILLOT, C. Reflections and suggestions on the nomenclature of the prostate. **Surg. Radiol. Anat.**, v. 15, p. 325-332, 1993.
- BONKHOFF, H.; STEIN, U.; REMBERGER, K. Androgen receptor status in endocrine-paracrine cell types of the normal, hyperplastic, and neoplastic human prostate. **Virchows Archiv. A. Pathol. Anat.**, v. 423, p. 291-294, 1993.
- BONKHOFF, H.; FIXEMER, T.; HUSICKER, I.; REMBERGER, K. Estrogen receptor expression in prostate cancer and premalignant prostatic lesions. **American Journal of Pathology**, v. 155, n. 2, p. 641-647, 1999.
-

-
- BOSTWICK, D.G. Prostate specific antigen: current role in diagnostic pathology of prostate cancer. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 102, s. 1, p.31-37, 1994.
- BOSTWICK, D.G. High grade prostatic intraepithelial neoplasia: the most likely precursor of prostate cancer. **Cancer Supplement**, v. 75, n. 7, p. 1823-1836, 1995.
- BOSTWICK, D.G.; BRAWER, M.K. Prostatic intra-epithelial neoplasia and early invasion in prostate cancer. **Cancer**, v. 59, p.788-794, 1987.
- BOSTWICK, D.G.; RAMMANI, D.; QIAN, J. Prostatic intraepithelial neoplasia: animal models 2000. **The Prostate**, v. 43, p. 286-294, 2000.
- BRAWER, M.K.; CHETNER, M.P.; BEATIE, J.; BUCHNER, D.M.; VESSELLA, R.L.; LANGE, P.H. Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen. **J. Urol.**, v. 147, p. 841-845, 1992.
- BRENDLER, C.B.; BERRY, S.J.; EWING, L.L.; McCULLOUGH, A.R.; COCHRAN, R.C.; STRANDBERG, J.D.; ZIRKING, B.R.; COFFEY, D.S.; WHEATON, L.G.; HILER, M.L.; BORDY, M.J.; NISWENDER, G.D.; SCOTT, W.W. 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. 1114-1123, 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.1208-1210, 1983.
- BURK, R.L.; ACKERMAN, N. The abdomen. In:___ **Small animal radiology and ultrasonography. A diagnostic atlas and text**. 2ed. San Diego: W.B. Saunders, 1996, p. 401-410.
- BURKHARD, M.J.; MEYER, D.J. Invasive cytology of internal organs. **Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.**, v. 26, p. 1203-1222, 1996.
- CARTEE, R.E.; ROWLES, T. Transabdominal sonographic evaluation of the canine prostate. **Vet. Radiol.**, v. 24, p. 156-164, 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, n. 3, p.80-85, 1997.
- CHRISTENSSON, A.; BJÖRK, T.; NILSSON, O.; DAHLEN, U.; MATIKAINEN, M.; COCKET, A.T.K.; ABRAHAMSSON, P.; LILJA, H. Serum prostate specific antigen complexed to alfa1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. **J. Urol.**, v. 150, p. 100-105, 1993.
- CLEMENTS, R.; ETHERINGTON, R.J.; GRIFFITHS, G.J.; PEELING, W.B.; HUGHES, H.; PENNEY, M.D. Inter-relation between measurement of serum prostatic specific antigen and transrectal ultrasound in the diagnosis of benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer. **British Journal of Urology**, v, 70, p. 183-187, 1992.
- COCHRAN, R.C.; EWING, L.L.; NISWENDER, G.D. Serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin, testosterone, 5 α dihydrotestosterone, 5 α androstane 3 α , 17 β diol, 5 α androstane 3 β , 17 β diol, and 17 β estradiol from male beagles with spontaneous or induced benign prostatic hyperplasia. **Investigative Urology**, v. 19, n. 3, p. 142-147, 1981.
- COFFEY, D.S. Similarities of prostate and breast cancer: evolution, diet, and estrogens. **Urology**, v. 57, s.4a, p. 31-38, 2001.
- COONEY J.C.; CARTEE, R.E.; GRAY, B.W.; RUMPH, P.F. Ultrasonography of the canine prostate with histological correlation. **Theriogenology**, v. 38, p. 877-895, 1992.
- CORAZZA, M.; GUIDI, G.; ROMAGNOLI, S.; TOGNETTI, R.; BUONACCORSI, A. Serum total prostatic and non-prostatic acid phosphatase in healthy dogs and in dogs with prostatic diseases. **J. Small Anim. Pract.**, v. 35, p. 307-310, 1994.
-

-
- CORNEL, K.K.; BOSTWICK, 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. **The Prostate**, v.45, n. 2, p.173-183, 2000.
- COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. The male genital tract. In:____ **Robbins, Pathological basis of disease**. 6ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999, p.1011-1034.
- CRONE, J.K.; BURNETT, A.L.; CHAMNESS, S.L.; STRANDBERG, J.D.; CHANG, T.S.K. Neuronal nitric oxide synthase in the canine prostate: aging, sex steroid, and pathology correlations. **Journal of andrology**, v. 19, n. 3, p. 358-364, 1998.
- 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, n. 1, p.64-70, 1994.
- 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.842-849, 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, s. 3a, p.29-40, 1999.
- DI SANTIS, G.W. **Estudo morfológico, morfométrico e imunoistoquímico de próstatas caninas normais e hiperplásicas**. Botucatu, 2003. 128p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- DORFMAN, M.; BARSANTI, J. Diseases of the canine prostatic gland. **Comp. Cont. Ed.**, v.17, n. 6, p.791-811, 1995.
-

-
- 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, n. 6, p.2004-2009, 1983.
- FEENEY D.A.; JOHNSTON, G.R.; KLAUSNER, J.S.; BELL, F.W. Canine prostatic ultrasonography – 1989. **Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim.**, v. 4, n. 1, p. 44-57, 1989.
- FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. In:___ **Feldman, Canine and feline endocrinology and reproduction**. 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996, p. 673-690.
- FRENETTE, G.; DUBÉ, J.Y.; LACOSTE, D.; TREMBLAY, R.R. Radioimmunoassay in blood plasma of arginine esterase: the major secretory product of dog prostate. **The Prostate**, v.10, p. 145-152, 1987.
- GARNICK, M. B. Prostate cancer. **Scientific American**, v. 10, p. 01-12, 1997.
- GIMENO, E.J. Fundamentos de Imunohistoquímica aplicada a patologia veterinária. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 7, 1995, Belo Horizonte. **Anais...**1995, p.35.
- GOBELLO, C.; CASTEX, G.; CORRADA, Y. Serum na seminal markers in the diagnosis of disorders of the genital tract of the dog: a mini-review. **Theriogenology**, v. 57, p. 1285-1291, 2002.
- GRAVES, H.C.B. Standardization of immunoassays for prostate specific antigen. **Cancer**, v. 72, n. 11, p. 3141-3144, 1993.
- GRAVES, H.C.B.; WEHNER, N.; STAMEY, T.A. Comparison of a polyclonal and monoclonal immunoassay for PSA: need for an international antigen standard. **J. Urol.**, v. 144, p. 1516-1522, 1990.
-

-
- 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.2375-2380, 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, s. 2, p.68-77, 1991.
- GROB, B.M.; HALEY, C.; SCHELLHAMMER, P.F.; SCHLOSSBERG, S.M.; WRIGHT, G.L. The detection of prostate specific antigen, mhs-5, and other markers in invasive prostate cancer and seminal vesicle. **J. Urol.**, v.147, p. 1435-1438, 1992.
- HASUI, Y.; MARUTSUKA, K.; ASADA, Y.; IDE, H.; NISHI, S.; OSADA, Y. Relationship between serum prostate specific antigen and histological prostatitis in patients with benign prostatic hyperplasia. **The Prostate**, v. 25, p. 91-96, 1994.
- HSU, S.M.; RAINE, L.; FANGER, H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled (PAP) procedures. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 29, n. 4, p. 577-580, 1981.
- IRANI, J.; MILLET, C.; LEVILLAIN, P.; DORÉ, B.; BEGON, F.; AUBERT, J. Serum to urinary prostatic specific antigen ratio: a potential means of distinguishing benign prostatic hyperplasia from prostatic cancer. **Eur. Urol.**, v. 29, p. 407-412, 1996.
- ISAACS, J.T. Changes in dihydrotestosterone metabolism and the development of benign prostatic hyperplasia in the aging beagle. **J. Steroid Biochem.**, v. 18, n. 6, p. 749-757, 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.85-89, 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, n. 4, p.529-536, 1999.
- ITTMAN, M.; MANSUKHANI, A. Expression of fibroblast growth factors (FGFs) and FGF receptors in the human prostate. **J. Urol.**, v.157, n. 1, p.351-356, 1997.
- JANULIS, L.; LEE, C. Prostate gland. In: KNOBIL, E., NEILL, J.D. **Encyclopedia of reproduction**. San Diego: Academic Press, 1999, v. 4, p.77-85.
- JOHNSTON, S.D.; KAMOLPATANA, K.; ROOT-KUSTRITZ, M.V.; JOHNSTON, G.R. Prostatic disorders in the dog. **Animal Reproduction Science**, v.60, n. 61, p.405-415, 2000.
- JOHNSTON, S.D., ROOT-KUSTRITZ, M.V., OLSON, P.M.S. In:____ **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.; HOEKSTRA, S.J.; LEMP, B.M.; BARBOLT, T.A.; DEVIN, J.A.; GAUTHIER, E.; FRENETTE, G.; BUBE, J.Y.; TREMBLAY, R.R. Effect of combination treatment with zanoterone (win 49596), a steroidal androgen receptor antagonist, and finasteride (mk-906), a steroidal 5 α reductase inhibitor, on the prostate and testes of beagle dogs. **Endocrinology**, v. 133, n. 2, p. 904-913, 1993.
- 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.
- KARAKIEWICZ, P.I., APRIKIAN, A.G. Prostate cancer: 5. Diagnostic tools for early detection. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 159, n. 9, p. 1139-1146, 1998.
-

-
- KARR, J.F.; KANTOR, J.A.; HAND, P.H.; EGGENSEPERGER, D.L.; SCHOLM, J. The presence of prostatic-specific antigen related genes in primates and the expression of recombinant human prostate-specific antigen in a transfected murine cell line. **Cancer Res.**, v. 55, p. 2455-2462, 1995.
- KAY, N.D.; LING, G.V.; NYLAND, T.G.; KENNEDY, P.C.; ZINKL, J.G. Cytological Diagnosis of canine prostatic disease using a urethral brush technique. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v, 25, p. 517-526, 1989.
- KAWAKAMI, E.; AMEMIYA, E.; KASHIWAGI, C.; HORI, T.; TSUTSUI, T. High plasma estradiol-17 β levels in dogs with benign prostatic hyperplasia and azoospermia. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 63, n. 4, p. 407-412, 2001.
- KHAN, M.A.; PARTIN, A.W.; RITTENHOUSE, H.G.; MIKOLAJCZYK, S.D.; SOKOLL, L.J.; CHAN, D.W.; VELTRI, R.W. Evaluation of prostate specific antigen for early detection of prostate cancer in men with a total prostate specific antigen range of 4.0 to 10.0 ng/ml. **J. Urol.**, v. 170, p. 723-726, 2003.
- 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.547-548, 1994.
- KOZLOWSKI, J.M. Prostate Cancer. In: KNOBIL, E., NEILL, J.D. **Encyclopedia of reproduction**. San Diego: Academic Press, 1999, v. 4, p. 67-76.
- KRAWIEC, D.R. Urologic disorders of the geriatric dog. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.19, n. 1, p.75-85, 1989.
- KRAWIEC, D.R. Canine prostate disease. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 204, n. 10, p. 1561-1564, 1994.
- KRAWIEC, D.R.; HEFLIN, D. Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.200, n. 8, p.1119-1122, 1992.
-

-
- 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.388-393, 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. **The Prostate**, v.27, p.121-128, 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 (UNESP).
- LAUFER AMORIM, R.; BANDARRA, E.P.; DE MOURA, V.M.B.D.; DI SANTIS, G.W. Patogenia da hiperplasia prostática benigna canina. **Revista CFMV**, v. 8, n. 25, p.37-41, 2002.
- LEAV, I.; SCHELLING, K.H.; ADAMS, J.Y.; MERK, F.B.; ALROY, J. Role of canine basal cells in prostatic post natal development, induction of hyperplasia, sex hormone stimulated growth; and the ductal origin of carcinoma. **The Prostate**, v. 47, p. 149-163, 2001.
- LEE, C.; KOZLOWSKI, J.M.; GRAYHACK, J.T. Intrinsic and extrinsic factors controlling benign prostatic growth. **The Prostate**, v.31, p.131-138, 1997.
- 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.1310-1313, 1992.
-

-
- LEWENHAUPT A.; EKMAN, P.; KALLNER, A. Tumor markers in human prostatic carcinoma, an optimization of reference values. **Eur. Urol.**, v. 17, p. 07-11, 1990.
- 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, n. 3, p. 220-222, 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.
- MAHAPOKAI, W.; van den INGH, T.S.G.A.M.; van MIL, F.; van GARDEREN, E.; SCHALKEN, J.A.; MOL, J.A.; van SLUIJS, F.J. Imunne response in hormonally-induced prostatic hyperplasia in the dog. **Vet. Immunol. Immunopath.**, v. 78, p. 297-303, 2001.
- MAHAPOKAI, W.; XUE, Y.; van GARDEREN, E; van SLUIJS, F.J.; MOL, J.A.; SCHALKEN, J.A. Cell kinetics and differentiation after hormonal induced prostatic hyperplasia in the dog. **The Prostate**, v. 44, n. 1, p. 40-48, 2000.
- MARIOTTI, A.; DONOVAN, M.P.; MAWHINNEY, M. Collagen and cellular proliferation in spontaneous canine benign prostatic hyperplasia. **J. Urol.**, v.127, p.795-797, 1982.
- MATTOS, M.C.F.I. Transtornos do crescimento e da diferenciação celulares. In: MONTENEGRO, M.R.; FRANCO, M. (Eds). **Patologia, processos gerais**, 4.ed., São Paulo: Atheneu, 1999, p. 209-222.
- McENTEE, M.; ISAACS, W.; SMITH, C. Adenocarcinoma of the canine prostate: immunohistochemical examination for secretory antigens. **The Prostate**, v. 11, p. 163-170, 1987.
- McNEAL, J.E.; BOSTWICK, D.G. Intraductal dysplasia: a premalignant lesion of the prostate. **Hum. Pathol.**, v. 17, p. 64-71, 1986.
-

-
- MEIKLE, A.W.; COLLIER, E.S.; STRINGHAM, J.D.; FANG, S.M. Elevated intranuclear dihydrotestosterone in prostatic hyperplasia of aging dogs. **Journal of Steroidal Biochemistry**, v. 14, n. 4, p. 331-335, 1981
- MIYAMOTO, K.K.; MCSHERRY, S.A.; DENT, G.A.; SAR, M.; WILSON, E.M.; FRENCH, F.S.; SHARIEF, Y.; MOHLER, J.L. Immunohistochemistry of the androgen receptor in human benign and malignant prostate tissue. **J. Urol.**, v. 149, p. 1015-1019, 1993.
- MONTINORI, R.; MAZZUCHELLI, R.; ALGABA, F.; BOSTWICK, D.G.; KRONGRAD, A. Prostate specific antigen as a marker of prostate disease. **Virchows Arch.**, v. 436, p. 297-304, 2000.
- MURAKOSHI, M.; IKADA, R.; TAGAWA, M.; NAKAYAMA, T. Effect of antiandrogen, chlormadinone acetate (CMA), in canine spontaneous benign prostatic hyperplasia. **Tokai J. Exp. Clin. Med.**, v. 25, n. 1, p. 11-14, 2000.
- 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, n. 5, p.209-212, 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, n. 5, p.245-248, 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, n. 1, p.09-16, 1999.
- NICKEL, J.C. Etiologia das prostatites: a grande desconhecida. **Urol. Contemp.**, v.3, n.1, p.22-28, 1997.
- NIU, Y.; MA, T.X.; ZHANG, J.; XU, Y.; HAN, R.F.; SUN, G. Androgen and prostatic stroma. **Asian J. Androl.**, v. 1, p. 19-26, 2003.
-

-
- OESTERLING, J.E. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. **J. Urol.**, v. 145, p. 907-923, 1991.
- 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, n. 6, p.613-623, 1987.
- O'SHAUGHNESSY, J.A.; KELLOFF, G.J.; GORDON, G.B.; DANNENBERG, A.J.; et al. Treatment and prevention of intraepithelial neoplasia: important target for accelerated new agent development. **Clinical Cancer Research**, v. 8, p. 314-346, 2002.
- POTTER, S.R.; RECKWITZ, T.; PARTIN, A.W. The use of percente free PSA for early detection of prostate cancer. **J. Androl.**, v. 20, n. 4, p. 449-453, 1999.
- POULET, F. Evolution de la prostate canine en fonction de l'âge. **Ann. Med. Vet.**, v.129, p.567-584, 1985.
- PURSWELL, B.J.; PARKER, N.A.; FORRESTER S.D. Prostatic diseases in dogs: a review. **Vet. Med.**, p. 315-321, 2000.
- PYLKKÄNEN, L.; MÄKELÄ, S.; SANTTI, R. Animal models for the preneoplastic lesions of the prostate. **Eur. Urol.**, v. 30, p. 243-248, 1996.
- RODRIGUES, B.A.; BOHRER, J.L.; RODRÍGUEZ, J.L. Abscesso prostático canino. **A Hora Vet.**, v. 18, n. 103, p. 69-73, 1998.
- ROGERS, K.S.; WANTSCHEK, L.; LEES, G.E. Diagnostic evaluation of the canine prostate. **Compend. Contin. Educ. Small Anim. Pract.**, v.8, n. 11, p.799-811, 1986.
- RUBIN, S.I. Localizing bacterial infection to the prostate gland. **Vet. Med.**, p. 366-378, 1990
-

-
- RUEL, Y.; BARTHEZ, P.Y.; MAILLES, A.; BEGON, D. Ultrasonographic evaluation of the prostate in healthy intact dogs. **Vet. Radiol.Ultrassound.**, v. 39, N. 3, p. 212-216, 1998.
- SANTOS, R.T.M.; WAKAMATSU, A.; KANAMURA, C.T.; NONOGAKI, S.; PINTO, G.A. Procedimentos laboratoriais em imuno-histoquímica e hibridização "in situ". In: ALVES, V.A.F., BACCHI, C.E., VASSALLO, J. **Manual de imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999, p. 237-259.
- SCHATZL, G.; MADERSBACHER, S.; THURRIDL, T.; WALDMÜLLER, J.; KRAMER, G.; HAITEL, A.; MARBERGER, M. High grade cancer is associated with low serum testosterone levels. **The Prostate**, v. 47, p. 52-58, 2001.
- SCHULZE, H.; BARRACK, E.R. Immunocytochemical localization of estrogen receptors in spontaneous and experimentally induced canine benign prostatic hyperplasia. **The Prostate**, v. 11, n. 2, p. 145-162, 1987.
- 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.1167-1170, 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.1293-1297, 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. **The Prostate**, v.33, p.177-182, 1997.
- SIEGEL, Y.I.; ZAIDEL, L.; HAMMEL, I.; KORCZAK, D.; LINDNER, A. Morphometric evaluation of benign prostatic hyperplasia. **Eur. Urol.**, v.18, p.71-73, 1990.
-

-
- SOUZA, F.F. de **Estudo da próstata canina pelo exame ultrasonográfico, palpação retal, dosagens séricas de testosterona, 17 β -estradiol, fosfatase ácida prostática e antígeno específico prostático**. Jaboticabal, 1998. 85p. Dissertação (mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP).
- SOUZA, F.F.; TONIOLO, G.H. Avaliação da glândula prostática canina. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 23, n. 3, p. 243-245, 1999.
- SOUZA, F.F., TONIOLO, G.H. Marcadores de tecido prostático no cão. **Revista CRMV-SP**, v. 4, n. 3, p.63-70, 2001.
- STAMEY, T. A. Tumours markers. **Scand. J. Urol. Nephrol.**, v. 162, p. 73-87, 1994.
- STAMEY, T.A.; YANG, N.; HAY, A.R.; McNEAL, J.E.; FREIHA, F.S.; REDWINE, E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. **N. Engl. J. Med.**, v. 317, n. 15, p. 909-916, 1987.
- STEGE, R.; TRIBUKAIT, B.; LUNDH, B.; CARLSTROM, K.; POUSETTE, A.; HASENSEN, M. Quantitative estimation of tissue prostatic specific antigen, deoxyribonucleic acid ploidy and cytological grade in fine needle aspiration biopsies for prognosis of hormonally treated prostatic carcinoma. **J. Urol.**, v. 148, p. 833-837, 1992.
- STEERS, W.D. 5 α reductase activity in the prostate. **Urology**, v. 58, n. 6, s. 1, p. 17-24, 2001.
- SWINNEY, G.R. Prostatic neoplasia in five dogs. **Aust. Vet. J.**, v. 76, n. 10, p. 669-674, 1998.
- TESKE, E.; NAAN, E.C.; van DIJK, E.M.; van GARDEREN, E.; SCHALKEN, J.A. Canine prostate carcinoma: epidemiological evidence of an increased risk in castrated dogs. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 197, p. 251-255, 2002.
- 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. 289-292, 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. 2, n. 11, p.37-41, 1997.
- VERHAGEN, P.C.M.S.; TILANUS, M.G.J.; WEGER, R.A.; van MOORSELAAR, R.J.A.; van den TWEEL, J.G.; BOON, T.A. Prognostic factors in localized prostate cancer with emphasis on the application of molecular techniques. **Eur. Urol.**, v. 41, p. 363-371, 2002.
- 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.C.; WILSON, J.D. The induction of prostatic hypertrophy in the dog with androstenediol. **J Clin Invest.**, v. 57, p. 1093-1097, 1976.
- WATERS, D.J.; BOSTWICK, D.G. The canine is a spontaneous model of intraepithelial neoplasia and prostate cancer progression. **Antic. Res.**, v.17, p.1467-1470, 1997a.
- WATERS, D.J.; BOSTWICK, D.G. Prostatic intraepithelial neoplasia occurs spontaneously in the canine prostate. **J. Urol.**, v.157, p.713-716, 1997b.
- WATERS, D.J.; PATRONEK, G.J.; BOSTWICK, D.G.; GLICKMAN, L.T. Comparing the age at prostate cancer diagnosis in humans and dogs. **Cancer Inst.**, v. 88, n. 22, p. 1686-1687, 1996.
- 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. **The Prostate**, v. 30, p. 92-97, 1997.
- WATERS, D.J.; SAKR, W.A.; HAYDEN, D.W.; LANG, C.M.; McKINNEY, L.; MURPHY, G.P.; RADINSKY, R.; RAMONER, R.; RICHARDSON, R.C.; TINDALL, D.J. Workgroup 4: Spontaneous prostate carcinoma in dogs and nonhuman orimates. **The Prostate**, v.36, p.64-67, 1998.
-

-
- WEAVER, A.D. Fifteen cases of prostatic carcinoma in the dog. **The Veterinary Record**, v. 109, p. 71-75, 1981.
- WEIJERS, R.E.; ZAMBON, J.; KESSELS, A.F.H.; BRUINE, A.P. On the prediction of the histological composition of benign prostatic hyperplasia based on clinical and MRI parameters. **The Prostate**, v.30, p. 92-97, 1997.
- WEINBERG, R. A. Molecular mechanisms of carcinogenesis. **Scientific American**, v. 4, p. 01-12, 1996.
- WILSON, J.D. The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. **Am. J. Med.**, v. 68, p. 745-756, 1980.
- WINTER, M.L.; BOSLAND, M.C.; WADE, D.R.; FALVO, R.E.; NAGAMANI, M.; LIEHR, J.G. Induction of benign prostatic hyperplasia in intact dogs by nearphysiological levels of 5 alpha dihydrotestosterone and 17 beta estradiol. **The Prostate**, v. 26, n. 6, p. 325-333, 1995.
- 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.211-219, 1996.
- ZIADA, A.; ROSENBLUM, M.; CRAWFORD, E.D. Benign prostatic hyperplasia: an overview. **Urology**, v. 53, p. 01-06, 1999.
- ZIRKIN, B.R.; STRANDBERG, J.D. Quantitative changes in the morphology of the aging canine prostate. **Anatomical Record**, v.208, p.207-214, 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 quantative computerized morphometric study. **Urology**, v. 47, p. 329-334, 1996.
- ZLOTTA, A.R.; RAVIV, G.; PENY, M.; NOEL, J.; HAOT, J.; SCHULMAN, C.C. Possible mechanisms of action of transurethral needle ablation of the prostate on benign prostatic hyperplasia symptoms: a neurohistochemical study. **J. Urol.**, v. 157, p. 894-899, 1997.
-



ANEXOS

Anexo A

Protocolo – Próstata Canina

Data:

Número do Animal:

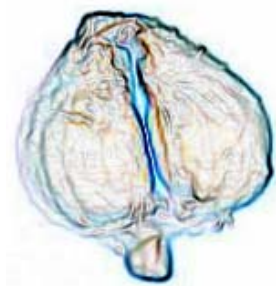
Raça:

Idade:

Peso:

História clínica e/ou achados necroscópicos:

Mapa



Medidas Prostáticas

Comprimento: cm

Largura: cm

Altura: cm

Volume: mm³

Peso: g

Fixador: Formol tamponado a 10%

Soro sangüíneo (mínimo 08 alíquotas)

Número de tubos congelados:

Urina (mínimo 08 alíquotas)

Número de tubos congelados:

Documentação Fotográfica

() Sim

() Não

ANEXO B

Parâmetros histopatológicos das próstatas caninas

NÚMERO DO ANIMAL:				
RAÇA:				
IDADE (anos):				
COMPONENTE EPITELIAL				
<i>Hiperplasia cística glandular focal</i>				
<i>Hiperplasia cística glandular difusa</i>				
<i>Hiperplasia epitelial papilífera</i>				
<i>Hiperplasia epitelial papilífera nos ácidos dilatados</i>				
<i>Displasia do epitélio glandular</i>				
<i>Metaplasia escamosa</i>				
<i>Atrofia glandular</i>				
<i>Dilatação glandular</i>				
<i>Cisto</i>				
COMPONENTE ESTROMAL				
<i>Hiperplasia estromal focal</i>				
<i>Hiperplasia estromal difusa</i>				
<i>Aumento de colágeno (fibrose)</i>				
<i>Hiperplasia da musculatura lisa</i>				
<i>Hiperplasia do tecido conjuntivo</i>				
INFILTRADO INFLAMATÓRIO				
<i>Infiltrado inflamatório neutrofílico</i>				
<i>Infiltrado inflamatório mononuclear</i>				
<i>Intersticial</i>				
<i>Intraglandular</i>				
<i>Focal</i>				
<i>Multifocal</i>				
<i>Discreto</i>				
<i>Moderado</i>				
Intenso				
<i>Associado a destruição glandular</i>				
<i>Hemorragia</i>				
NEOPLASIA				
Carcinoma				
<i>Carcinoma de células escamosas</i>				
<i>Sarcoma</i>				
<i>Metástase</i>				
DIAGNÓSTICO				

ANEXO C

Soluções utilizadas nas reações imunoistoquímicas

Cola à base de organosilano para sinalização das lâminas

- ✓ 225ml álcool etílico absoluto
- ✓ 25ml 3-Aminopropyl-Triethoxysilane - Sigma – A3648

⇒ Solução preparada e utilizada em capela de fluxo laminar devido a alta toxicidade.

Soluções tampão utilizadas nas recuperações antigênicas testadas

Solução de citrato 10mM

- ✓ 1000ml água destilada
 - ✓ 1,921g ácido cítrico monohidratado
- ⇒ pH 6,0 (solução de ajuste: hidróxido de sódio hipersaturado).

Solução de EDTA 100mM

- ✓ 1000ml água destilada
 - ✓ 0,372g ácido etilenodiaminotetracético - EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$)
- ⇒ pH 8,0 (solução de ajuste: hidróxido de sódio hipersaturado).

Solução de TRIS-EDTA 100mM

- ✓ 1000ml TRIS pH 7,4
 - ✓ 0,372g ácido etilenodiaminotetracético - EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$)
- ⇒ pH 9,0 (solução de ajuste: hidróxido de sódio hipersaturado).
-

-
- Todas as soluções tampão eram preparadas no momento da utilização e o pH corrigido conforme indicado.

Soluções para o bloqueio da peroxidase endógena

- ✓ 50ml H₂O₂ 20 volumes
- ✓ 50ml de água destilada (anticorpos de marcação citoplasmática) ou
- ✓ 50ml de álcool metílico (anticorpos de marcação nuclear)

⇒ Solução preparada e devidamente agitada no momento do uso.

Solução de TRIS pH 7,4

- ✓ 12g Trizma base (C₄H₁₁NO₃) Sigma - T-1503
- ✓ 17g cloreto de sódio (NaCl) - Merck 1.06404.1000
- ✓ 2000ml água destilada

⇒ pH 7,4 (solução de ajuste: ácido clorídrico diluído em água destilada na proporção 1:1).

Solução substrato de diaminobenzidina – DAB

- ✓ 25mg DAB (C₁₂H₁₄N₄) - 3-3' Diaminobenzidine – Sigma - D-5637
- ✓ 100ml TRIS pH7,4
- ✓ 600µl H₂O₂ 20 volumes

⇒ Solução preparada e filtrada no momento da utilização. O peróxido de hidrogênio era adicionado em seguida.

Solução de BSA 1%

Solução A

- ✓ 10ml água deionizada
- ✓ 500mg Albumina bovina – Sigma – A – 7906

Solução B

- ✓ 10ml água deionizada
- ✓ 500mg ázida sódica (NaN_3) – Merck – 1.06688.0100

Solução de BSA para uso (1%)

- ✓ 59ml TRIS pH7,4
- ✓ 1,25ml solução A
- ✓ 2,5ml solução B

⇒ Soluções A e B concentradas a 5%, conservadas congeladas e posteriormente diluídas a 1% para uso como diluente de anticorpos primários.

ANEXO D

Resultados da Análise de Variância (ANOVA) para as variáveis laboratoriais séricas e urinárias.

Q.M.								
F.V.	G.L.	TESTSG	ESTRSG	DHTSG	PSASG	PAPSG	PSAUR	PAPUR
D.H.	3	0,42 ^{n.s.}	831,17*	2333,97 ^{n.s.}	0,00003*	0,13 ^{n.s.}	0,00001 ^{n.s.}	2,69 ^{n.s.}

^{n.s.} = Resultado não significativo ($p > 0,05$); * = Resultado significativo ($p < 0,05$)

Q.M. – Quadrado Médio

DHTSG – Diidrotestosterona sérica

G.L. – Grau de Liberdade

PSASG – Antígeno Prostático Específico sérico

D.H. – Diagnóstico Histopatológico

PAPSG – Fosfatase Ácida Prostática sérica

TESTSG – Testosterona sérica

PSAUR – Antígeno Prostático Específico urinário

ESTRSG – Estrógeno sérico

PAPUR – Fosfatase Ácida Prostática urinária

ANEXO E

Resultados da Análise de Variância (ANOVA) para as variáveis morfológicas.

Q.M.							
F.V.	G.L.	Idade	g/kg PV	cc/kg PV	CPPROST	LGPROST	ALTPROST
D.H.	3	17,13*	5,64*	5,51*	7,16*	5,72*	2,33*

n.s. = Resultado não significativo ($p>0,05$); * = Resultado significativo ($p<0,05$)

Q.M. – Quadrado Médio

cc/kg PV – Milímetros cúbicos de próstata por kilo de peso vivo

G.L. – Grau de Liberdade

CPPROST – Comprimento prostático

D.H. – Diagnóstico Histopatológico

LGPROST – Largura prostática

g/kg PV – Gramas de próstata por quilo de peso vivo

ALTPROST – Altura prostática

ANEXO F

Diagnóstico histopatológico das próstatas caninas

<i>Animal</i>	<i>Idade</i>	<i>Diagnóstico Histopatológico</i>
1	5	HPB Cística/Papilífera/PIN
2	10	Atrofia glandular
3	5	HPB Cística/Estromal
4	6	HPB Cística/Estromal
5	11	HPB Estromal/PC/PIN
6	4	Normal
7	7	HPB Estromal/PC/PIN
8	9	HPB Cística/Papilífera/Estromal/PA/PC/PIN/Carcinoma
9	6	HPB Papilífera/Estromal
10	5	HPB Papilífera/Estromal
11	4	PC
12	8	HPB Cística/Papilífera/Estromal/PA/PC/PIN
13	7	HPB Estromal/PC/PIN
14	6	HPB Papilífera/Estromal/PC
15	8	HPB Papilífera/Estromal/PC/PIN
16	5	HPB Cística/Estromal/PC
17	7	HPB Papilífera/Estromal/PC
18	8	HPB Cística/Estromal/PC/PIN
19	4	HPB Cística/Papilífera/PC
20	6	HPB Estromal
21	3	Normal
22	7	HPB Estromal/PC
23	8	HPB Estromal/PC/PIN
24	9	HPB Estromal/PIN
25	3	Normal
26	5	HPB Papilífera/Estromal/PC
27	6	HPB Estromal/PC/PIN
28	6	HPB Estromal/Papilífera/PC/PIN
29	4	HPB Cística/Papilífera/Estromal/PC
30	5	HPB Estromal/PC
31	4	Normal
32	3	Normal
33	6	HPB Estromal/PC
34	5	HPB Estromal/PC
35	4	Normal
36	5	HPB Cística/Papilífera
37	7	HPB Cística/PC/PIN
38	7	HPB Papilífera/Estromal/PC/PIN
39	5	PC
40	6	HPB Estromal/PC/PIN

PC = Prostatite Crônica

ANEXO G

***Média, mediana, desvio padrão, erro padrão, coeficiente de variação,
valores mínimo e máximo para cada variável estudada.***

<i>Variável</i>	<i>N</i>	<i>Média</i>	<i>Mediana</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Erro Padrão</i>	<i>Coef. Var.</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
IDADE	40	5.9750000	6.0000000	1.9012479	0.3006137	31.8200486	3.0000000	11.0000000
PESO	40	19.0000000	15.0000000	10.8792911	1.7201670	57.2594267	7.0000000	65.0000000
PPROT	40	19.5472500	14.1250000	22.4599933	3.5512367	114.9010386	2.7500000	128.9000000
VOLPROST	40	18.9000000	13.0000000	22.9277572	3.6251967	121.3108848	3.0000000	130.0000000
CPPROST	40	2.6975000	2.4000000	1.2464282	0.1970776	46.2067926	1.0000000	8.0000000
LGPROST	40	2.7875000	2.7500000	1.1431373	0.1807459	41.0094088	0.8000000	6.9000000
ALTPROS	40	2.1900000	2.2500000	0.8387414	0.1326167	38.2986952	0.7000000	4.6000000
g/kgPV	40	1.1215000	0.8050000	1.2154403	0.1921780	108.3763087	0.2400000	7.5800000
cc/kgPV	40	1.0792500	0.7600000	1.2179710	0.1925781	112.8534597	0.2300000	7.6500000
TESTSG	40	1.0687500	0.6950000	1.4023774	0.2217353	131.2166031	0.0100000	7.5300000
ESTRSG	39	15.4094872	8.2500000	17.5792365	2.8149307	114.0806072	1.4000000	80.1000000
DHTSG	39	74.5956410	54.9400000	68.3171847	10.9395047	91.5833470	9.8700000	377.5000000
PSASG	39	0.0042308	0.0030000	0.0032884	0.000526570	77.7265033	0.0020000	0.0190000
PAPSG	40	1.1575000	0.8000000	0.9325695	0.1474522	80.5675606	0.1000000	3.2000000
PSAUR	40	0.0054250	0.0035000	0.0052569	0.000831193	96.9018362	0.0020000	0.0230000
PAPUR	40	2.0450000	1.2000000	2.5381146	0.4013112	124.1131826	0.1000000	13.4000000

PESO – Peso Corpóreo

PPROT – Peso prostático

VOLPROST – Volume prostático

CPPROST – Comprimento prostático

LGPROST – Largura prostática

ALTPROST – Altura prostática

g/kg PV – Gramas de próstata por kilo de peso vivo

cc/kg PV – Milímetros cúbicos de próstata por kilo de peso vivo

TESTSG – Testosterona sérica

ESTRSG – Estrógeno sérico

DHTSG – Dihidrotestosterona sérica

PSASG – Antígeno Prostático Específico sérico

PAPSG – Fosfatase Ácida Prostática sérica

PSAUR – Antígeno Prostático Específico urinário

PAPUR – Fosfatase Ácida Prostática urinária.
