



JULIANA ZANINI SHIMOMURA

**COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DE PALPAÇÃO RETAL,
CITOLOGIA, HISTOLOGIA E IMUNOISTOQUÍMICA PARA O
DIAGNÓSTICO DA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA NO CÃO**

ARAÇATUBA –SÃO PAULO

2007

JULIANA ZANINI SHIMOMURA

**COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DE PALPAÇÃO RETAL,
CITOLOGIA, HISTOLOGIA E IMUNOISTOQUÍMICA PARA O
DIAGNÓSTICO DA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA NO CÃO**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Ciência Animal da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP – Campus de
Araçatuba, como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Mestre.**

**Orientadora: Prof^a. Ass. Dr^a. Flávia de Rezende Eugênio
Área de concentração: Fisiopatologia Médica**

**Araçatuba – SP
2007**

Candidata:

JULIANA ZANINI SHIMOMURA

Título da dissertação:

**COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DE PALPAÇÃO RETAL, CITOLOGIA,
HISTOLOGIA E IMUNOISTOQUÍMICA PARA O DIAGNÓSTICO DA HIPERPLASIA
PROSTÁTICA BENIGNA NO CÃO**

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE

Presidente e Orientador Prof^a. Ass. Dr^a. Flávia de Rezende Eugênio – UNESP
Campus de Araçatuba SP

2^a Examinadora Prof^a. Ass. Dr^a. Renée Laufer Amorim

3^a Examinadora Prof^a. Ass. Dr^a. Maria Cecília Rui Luvizotto

Araçatuba, 31 de agosto de 2007

O presente trabalho foi desenvolvido na Setor de Anátomo-Patologia do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal da Faculdade de Odontologia, do Curso de Medicina Veterinária – UNESP- Campus Araçatuba – SP.

Apoio:

Fundação para o Desenvolvimento da UNESP- FUNDUNESP –
Processo: 00174/2005-DEP5

DADOS CURRICULARES

JULIANA ZANINI SHIMOMURA

NASCIMENTO **01.11.1976 – Jales/SP**

FILIAÇÃO **José Shimomura**
Maria Zanini Shimomura

1998/2002 **Curso de Graduação**
Universidade Estadual Paulista - UNESP
Araçatuba, SP

À minha família e amigos, que por muitas vezes me encorajaram a
continuar.

AGRADECIMENTOS

A Fundação para o Desenvolvimento da UNESP- FUNDUNESP, Instituição financiadora do projeto – Processo: 00174/2005-DEP5.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que permite o usufruto de toda a beleza que nos cerca.

Agradeço aos animais utilizados neste estudo, quantos olhares desiludidos, quanto abandono e desprezo de seus supostos donos. Sem eles nada disso seria possível.

Agradeço ao meu pai José, meu guru, que muitas vezes deixou de lado seus sonhos para realizar os meus, depositando em mim o sonho que não pode realizar para si. Sua sabedoria e serenidade me ajudou a escrever as linhas deste projeto e a desvendar todos os momentos da minha vida.

Agradeço à minha mãe Maria, que sempre me deu forças para ultrapassar as adversidades da vida. Choramos e rimos juntas, muitas vezes ao telefone. Agradeço pela compreensão das muitas vezes que não tive a oportunidade de estar por perto para participar de importantes momentos de sua vida.

Ao meu irmão, Marcelo, que mesmo distante, sempre preocupado com meu bem estar, me dando estímulo para correr atrás dos meus sonhos e mostrando sempre o outro ângulo das coisas. A minha querida Mariana, minha sobrinha, sempre risonha. A minha cunhada, Adriana, que cuida destes bens tão preciosos. Sem sua república, não teria tido facilidade para ingressar na faculdade.

Ao meu Cristiano, companheiro de todos estes anos de Araçatuba. Que me faz rir quando eu tenho apenas vontade de chorar. Amor, antes, maltratado pela distância e falta de tempo. Que me incentiva todo dia a sentar em frente do computador e escrever, escrever... em detrimento a sua atenção e afeto. Que me ensina a cada dia ser uma pessoa melhor.

A minha orientadora, Flávia. Obrigada pela oportunidade, pela amizade e socorro em momentos difíceis que passei durante minha faculdade, residência e pós-graduação. À compreensão sempre presente frente aos meus lapsos. Por todos os ensinamentos transmitidos. Muito Obrigada!

A todos os meus cães que me cativam com sua inteligência, sensibilidade e graça. Pego-me sorrindo com suas lembranças. Resumo meus sentimentos ao amor incondicional e recíproco que compartilhamos.

Agradeço a Professora Maria Cecília, que muito contribuiu para o meu crescimento científico e intelectual. Pela ajuda nos finais de semana realizando a imunistoquímica, pelas horas em frente ao microscópio e pelos cafés na cozinha da patologia, nos períodos de descanso.

Aos meus amigos de república e aos “visitantes”. Saudades! Compartilhamos muitas alegrias e tristezas. Casa vazia, todos nos computadores, quantas vezes!

Aos funcionários e residentes da Patologia, Magna, Zé, Pedro, Heitor e Daiane, por colaborarem com este projeto.

Aos funcionários do Centro de Controle de Zoonoses que me auxiliaram na colheita das amostras. Obrigada pela paciência!

Obrigada ao Curso de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba por te sediado este projeto.

A todos os professores que fazem parte do programa de Pós-graduação.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente por este trabalho.

EPÍGRAFE

“plante seu jardim e decore sua alma, em vez de esperar que alguém
lhe traga flores”

WILLIAM SHAKESPEARE

SHIMOMURA, J. Z. **Comparação dos Métodos de Palpação Retal, Citologia, Histologia e Imunoistoquímica para o Diagnóstico da Hiperplasia Prostática Benigna no Cão.** 2007. 72 f. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Odontologia. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

RESUMO

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é a afecção mais comum da próstata canina, porém, a comparação dos diferentes métodos diagnósticos como o exame de palpação retal, citologia, histologia e imunoistoquímica é pouco estudada nesta espécie, diferentemente do que ocorre no homem. Este trabalho teve por objetivo estudar, em vinte cães idosos, as alterações cito e histológicas com emprego de imunomarcadores, na glândula prostática. Em todas as glândulas observou-se HPB cística, associada ou não à hiperplasia glandular ou estromal. A imunomarcagem com citoqueratina (CK) AE1/AE3 foi relevante em ácinos com epitélio achatado ou com proliferação acentuada. A Vimentina (VIM) V9 teve expressão moderada em áreas com hiperplasia estromal acentuada. O toque retal e o lavado prostático mostraram ser métodos de auxílio no diagnóstico das prostatopatias, sendo indispensável o uso da histopatologia para um diagnóstico definitivo. O emprego de imunomarcadores teciduais prostáticos infere que próstatas com HPB demonstram alterações metabólicas que respondem à imunomarcagem em células hiperplásicas.

Palavras-chave: cão; hiperplasia prostática benigna; citologia; histologia; imunoistoquímica.

SHIMOMURA, J. Z. **Comparasion of Digital Rectal Examination, Citologic, Histologic and Immunohistochemistry Methods for Diagnosis of Benign Prostatic Hyperplasia in Dog.** 2007. 72 f. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Odontologia. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

ABSTRACT

Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) is the most common affection of the canine prostate, however, the comparison of different diagnostic methods for BPH through, digital rectal examination, cytology, histology and immunohistochemistry has a few studies in this specie, unlike man. The purpose of this study was understood, in twenty old dogs, cytology, histology alterations using immunomarkers in the prostate gland. All the glands showed the presence of cystic BPH, associated or not with glandular or stromal hyperplasia. The immunomarking with AE1/AE3 cytokeratine was relevant in alveoli with flat epytelium or with a strong proliferation. V9 Vimentine showed to be moderate in areas with a deep stromal hyperplasia. Rectal palpation and the prostatic washing product compose auxiliary diagnostic methods for prostatic diseases, being undismissable the use of histopathology for a conclusive diagnosis. Prostatic tissue immunomarkers employment to conclude that the prostate with HPB demonstrate metabolic changes which react with immunomarking in hyperplasic cells.

Key words: dog; Benign Prostatic Hyperplasia; cytologic; histologic; immunohistochemistry

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Glândula prostática mostrando alterações macroscópicas de prostatomegalia 66

Figura 2 – fotomicrografia demonstrando a hiperplasia cística prostática benigna e do epitélio luminal adelgaçado (H&E 40 X) . 66

Figura 3 – Fotomicrografia da prostatite crônica com presença de infiltrado inflamatório mononuclear no estroma glandular (H&E 100X). 67

Figura 4 – Fotomicrografia da expressão da imunomarcação com o anticorpo monoclonal CK clone AE1/AE3 na hiperplasia prostática benigna (100X). 67

Figura 5 – Fotomicrografia da expressão da imunomarcação com o anticorpo monoclonal VIM clone V9 na hiperplasia prostática benigna (100 X). 68

SUMÁRIO

REVISÃO DE LITERATURA

Introdução	15
Referências	38

OBJETIVO

Objetivo	49
----------	----

ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

Resumo	52
Abstract	52
Resumen	53
Introdução	53
Materiais e Métodos	55
Resultados e Discussão	57
Referências	62

CONCLUSÃO

Conclusão	70
-----------	----

INTRODUÇÃO

Aspectos morfofisiológicos da glândula prostática

A próstata é a única glândula sexual acessória do cão (VANNUCCHI et al. 1997; MURASHIMA JÚNIOR, 2001).

A embriologia da genitália masculina é semelhante no cão e no homem. Com a fusão dos cromossomos “X” e “Y” há liberação do fator determinante de testículos, que atua sobre a gônada embrionária indiferenciada formando os testículos. Estes iniciam a produção de hormônio antimülleriano (HAM) e de testosterona, cujo metabolismo pela enzima 5 α redutase, no interior do *sinus urogenital*, origina a diidrotestosterona (DHT), que atua no crescimento e na produção da secreção prostática (JOHNSTON et al., 2000). O HAM induz a regressão dos ductos müllerianos, a testosterona age nos ductos de Wolf, diferenciando-os nos ductos deferentes e epidídimo, e a DHT atua no *sinus urogenital* originando a uretra e a próstata (JOHNSTON et al., 2001).

No embrião humano, a próstata é dividida em cinco lobos; posterior, médio, anterior e dois laterais. No adulto o parênquima pode ser dividido em quatro zonas biológicas e anatomicamente distintas: periférica, central, transicional e periurteral (COTRAN et al., 1999; LEXANDER, et al., 2005). No cão não há evidências de que existam regiões anatômicas distintas (MAHAPOKAI et al., 2000; DI SANTIS, 2003).

Tem forma ovóide, é bilobulada dividida por um septo mediano (MUZZI, et al. 1997, JOHNSTON et al., 2000, 2001; SOUZA; TONIOLO, 2001) possui estrutura músculo-glandular, composta de elementos glandulares e estromais. É envolta por uma cápsula fibromuscular rodeada por tecido adiposo. Vasos sanguíneos e nervos

penetram à próstata em sua superfície dorso-lateral, estando intimamente relacionados ao suprimento para o colo vesical, uretra e reto (GREEN; HOMCO, 1996; VANNUCCHI et al, 1997). Envolve os ductos deferentes na sua porção final e a uretra em sua porção inicial, entre a uretra membranosa e o colo vesical (MURASHIMA JÚNIOR, 2001).

Está localizada predominantemente no espaço retroperitoneal, caudal a bexiga, ventralmente ao reto, dorsalmente à sínfise púbica e à parede abdominal ventral (SOUZA; TONIOLLO, 2001).

Sua localização pode variar em função da distensão da bexiga e do estado patológico do animal (GREEN; HOMCO, 1996; MUZZI et al., 1997; MURASHIMA JÚNIOR 2001). Segundo Rogers et al. (1986), a próstata tem sua localização na cavidade pélvica até o período de um ano de idade, assumido uma posição abdominal quando o animal atinge cinco anos. Neste período, a glândula aumenta de volume devido a um processo de hiperplasia com o aumento da atividade do epitélio secretório. Nesta fase iniciam-se as principais alterações glandulares como a hiperplasia prostática benigna (HPB), as prostatites bacterianas (geralmente de caráter crônico), hiperplasia cística e as neoplasias (principalmente os adenocarcinomas), segundo Peter et al. (1995).

Murashima Júnior (2001) através de análise ultrasonográfica descreveu que as próstatas de cães com peso vivo entre 2,0kg a 6,0kg e 7,0kg a 15,0kg, não apresentam diferença significativa em relação aos valores médios das dimensões prostáticas analisadas, demonstrando, portanto, comprimento em média de 2,18cm, altura de 1,9cm e 2,4cm de largura.

A próstata tem várias funções, uma delas é a produção de um fluido que compreende a primeira e terceira fração do ejaculado (JOHNSTON, 2001) que nutre,

protege e facilita o transporte dos espermatozóides (BARSANTI; FINCO, 1986, 1992; VANNUCCHI et al., 1997; DE MARZO et al., 1999). A produção e liberação do fluido prostático ocorre por influência hormonal e nervosa, sendo que sob o estímulo parassimpático a próstata aumenta a taxa de produção do líquido e sob estímulo simpático o expulsa durante a ejaculação (BARSANTI; FINCO, 1992; VANNUCCHI et al., 1997). Esta secreção é produzida por células epiteliais glandulares e, segundo Aumüller et al. (1980) é dependente de hormônios andrógenos provenientes dos testículos, destacando-se a DHT (JOHNSTON et al., 2000).

A próstata canina é dividida em dois lobos apresentando dois sulcos sagitais medianos, um dorsal e outro ventral (MURASHIMA JÚNIOR, 2001), cujo parênquima é sustentado pelo estroma. Tais lobos são constituídos de glândulas túbulo-alveolares compostas que se estendem a partir de sua abertura no ducto uretral. Os ductos prostáticos, nos quais o fluxo desemboca; não coalescem, ao invés disso abrem-se no interior da uretra proximal, ao redor dos orifícios dos ductos deferentes, formando o colículo seminal (BARSANTI; FINCO, 1992; JOHNSTON et al., 2001).

As células glandulares são cúbicas a colunares e apresentam-se normalmente em dupla camada, uma camada de epitélio colunar com função secretora e uma basal, esta última localizada ao longo da membrana basal (BARSANTI; FINCO, 1992; DORFMAN; BARSANTI, 1995; COTRAN et al., 1999; DE MARZO, 1999; VAN LEENDERS et al., 2000).

As células basais podem ser distinguidas fenotipicamente das células luminiais (DE MARZO, 1999). Seu papel é desconhecido, porém elas podem ser precursoras do epitélio secretório (ISAACS, 1984; BARSANTI; FINCO, 1992; DE MARZO, 1999). Sherwood et al. (1991) sugeriram que as células basais funcionam

como stem cells. De Marzo et al., 1999, demonstraram, utilizando estudos imunoistoquímicos, que há uma maior taxa de proliferação no epitélio basal em próstatas normais, o que reforça esta hipótese.

A presença da camada de células basais, entretanto, determina a benignidade do processo patológico (DE MARZO et al., 1998; COTRAN, 1999; JOHNSTON et al., 2000; TRAPMAN, 2001).

O estroma prostático consiste de estrutura fibromuscular envolto por colágeno, composto de vários tipos de células, está envolvido na modulação do comportamento epitelial em relação à sua proliferação, diferenciação e habilidade de migração através dos tecidos circundantes (CASTELLUCCI, et al. 1996). Possui vasos sanguíneos e nervos (BARSANTI; FINCO, 1992).

É predominante antes da maturidade sexual, dos seis meses a um ano de idade. Após este período as células epiteliais passam a predominar. (OLSON et al., 1987; BARSANTI; FINCO, 1992; DORFMAN; BARSANTI, 1995).

Prostatopatias

Embora todos os mamíferos possuam glândula prostática, as alterações glandulares encontradas são comuns no homem e no cão (JOHNSTON, 2000) e recentemente descritos no chimpanzé (MAHAPOKAI, 2000).

O cão tem sido utilizado, extensivamente, como modelo experimental, para o estudo das prostatopatias humanas, devido às similaridades em relação à ocorrência natural e influência hormonal no desenvolvimento destas afecções, principalmente na HPB (SOUZA; TONIOLO, 2001; DI SANTIS, 2003), contribuindo para novas descobertas na área de urologia humana.

As doenças prostáticas representam um problema comum em cães adultos e idosos não castrados (BARSANI; FINCO, 1992; KRAWIEC; HEFLIN, 1992; KRAWIEC, 1994; MUZZI et al. 1997; VANNUCCHI et al. 1997). As principais afecções prostáticas dos cães incluem HPB, prostatite aguda ou crônica, cistos, neoplasias e cistos paraprostáticos (BARSANTI; FINCO, 1992).

A incidência destas afecções aumenta com a idade, e a média de idade para o diagnóstico é de 8,0 a 8,9 anos (KRAWIEC; HEFLIN, 1992).

Oliveira et al. (1996) em estudo com caninos encaminhados à necrópsia observaram que 84,6% dos animais apresentavam lesões nesta glândula, dentre as quais a HPB foi a mais freqüente (36,9%), seguida por prostatites (24,6%), cistos (12,3%) e neoplasias (4,6%). Barsanti (1999) afirmou que cerca de 100% dos cães não castrados desenvolvem evidências histológicas de hiperplasia com o avançar da idade.

No que concerne à predisposição racial das afecções prostáticas, Di Santis (2003) e Black et al (1998) reportam que as raças Dobermann pinscher e Pastor alemão se fazem presentes com freqüência na literatura. Entretanto, Krawiec e Heflin (1992) descrevem que tais quais afecções não depende do fator racial no cão. O que diferente do homem que apresenta a raça como um fator de risco, principalmente para a presença de neoplasia prostática (COTRAN et al., 1999).

A HPB é uma alteração causada pelo envelhecimento, que ocorre espontaneamente em somente três espécies, no homem, no chimpamzé e no cão (MAHAPOKAI et al., 2000). Estudos inerentes às alterações morfológicas da próstata canina com a progressão da idade têm se destacado na literatura atual, tendo em vista as similaridades entre a HPB nesta espécie e no homem (DORFAMAN; BARSANTI, 1995).

Os cistos prostáticos caracterizam-se por lesões cavitárias com uma parede distinta, contendo fluido claro em seu interior, podendo variar em tamanho e número (MUZZI et al., 1997).

Três tipos principais podem ser observados: os cistos de retenção ou cistos verdadeiros que estão relacionados com a metaplasia escamosa que leva a estase secretória devido à obstrução dos ductos secretores prostáticos com conseqüente acúmulo de fluido e formação de cavitações no parênquima; os cistos relacionados à hiperplasia prostática cística (HPC), caracterizados por numerosos cistos pequenos, contidos na estrutura glandular, associados à HPB, sendo os de maior ocorrência (VANNUCCHI et al. 1997; JOHNSTON et al., 2000); os cistos paraprostáticos, que se localizam fora do parênquima glandular, são resultantes da extrusão de cistos de retenção intraprostáticos ou por desenvolvimento dos ductos de Müller remanescentes (MUZZI et al., 1997).

As infecções bacterianas resultam de colonizações numa próstata anormal, por microrganismos que constituem a flora típica da uretra (BARSANTI; FINCO, 1986, 1992; VANNUCCHI et al., 1997). É descrita por Krawiec (1994) como sendo a segunda doença mais comum encontrada em cães sexualmente intactos.

A instalação de microorganismos na próstata é decorrente da quebra de algum dos fatores de proteção, tais como fluxo urinário, peristaltismo uretral, elevada multiplicação bacteriana no trato urinário devido a cistites, cálculos uretrais e neoplasias, às alterações na arquitetura da próstata causadas por hiperplasia e metaplasia escamosa, à contaminação hematógena e à infecção do sêmen (BARSANTI; FINCO, 1986, 1992; VANNUCCHI et al., 1997).

A *Escherichia Coli* é o microrganismo mais freqüentemente isolado, porém, há infecção por outros microrganismos gram-positivos e gram-negativos (BARSANTI;

FINCO, 1986, 1992; VANNUCCHI et al., 1997; COTRAN et al., 1999; JOHNSTON et al., 2000; DI SANTIS, 2003).

Nos cães, infecções do trato urinário baixo e prostáticas ocorrem de forma quase simultânea, em função da íntima proximidade anatômica (BARSANTI; FINCO, 1992; VANNUCCHI et al., 1997). As prostatites podem desenvolver-se secundariamente ao HPB ou neoplasia, acometendo cães castrados e não castrados (KRAWIEC; HEFLIN, 1992) e podem ser divididas em aguda e crônica (BARSANTI; FINCO, 1992).

A prostatite bacteriana aguda é consiste em uma inflamação supurativa focal ou difusa na substância prostática que geralmente vem acompanhada de dor (COTRAN et al., 1999).

A prostatite bacteriana crônica pode ser seqüela de uma infecção aguda, ou pode desenvolver-se insidiosamente sem que exista uma experiência anterior de infecção aguda clinicamente evidente (BARSANTI; FINCO, 1992; VANNUCCHI et al. 1997).

Outro tipo de alteração inflamatória é a prostatite asséptica, também conhecida como prostatose, comum no homem, pouco estudada no cão, clinicamente indistinguível da prostatite crônica, com a diferença de não haver infecção bacteriana presente (confirmada por métodos de cultura e antibiograma do líquido prostático negativos) (BARSANTI; FINCO, 1992; COTRAN et al., 1999).

Deve-se salientar que, no processo normal de envelhecimento prostático no homem, agregados de linfócitos tendem a aparecer no estroma fibromuscular da próstata, todavia, a prostatite crônica bacteriana ou abacteriana, quando diagnosticada corretamente, deve ser restrita àqueles casos em que a reação

inflamatória moderada a intensa é caracterizada pela agregação de numerosos linfócitos, plasmócitos (COTRAN; KUMAR, 2000; DI SANTIS, 2003) macrófagos e neutrófilos (COTRAN, 1999).

A metaplasia escamosa do epitélio colunar prostático, onde o epitélio glandular é substituído por epitélio escamoso bem diferenciado (DORFMAN; BARSANTI, 1995; VANNUCCHI et al., 1997) é secundária ao hiperestrogenismo exógeno ou endógeno. A principal causa endógena é o tumor funcional de células de Sertoli. Os estrógenos também provocam estase secretória. A alteração epitelial mais a estase secretória predispõem à formação de cistos, infecção e abscedação (De KLERK et al., 1979; BARSANTI; FINCO, 1992; VANNUCCHI et al., 1997). Através da análise citológica e histológica observa-se um número aumentado de células epiteliais escamosas bem diferenciadas (BARSANTI; FINCO, 1992; DI SANTIS, 2003).

A fase pré-maligna do adenocarcinoma na próstata humana corresponde à displasia ducto-acinar ou neoplasia intra-epitelial prostática (PIN) (McNEAL; BOSTWICK, 1986; WATERS; BOSTWICK, 1997; DE MARZO, 1999; COTRAN et al., 1999; JOHNSTON et al. 2000; WU et al. 2004).

Sua prevalência está em cães não castrados e os achados histopatológicos da PIN incluem, descontinuidade da camada basal, aumento da capacidade proliferativa, aglomeração celular, aumento da densidade microvascular, perda da polaridade nuclear, aumento nuclear e nucleolar, sugerindo que o alto grau de PIN é um estágio intermediário na progressão de epitélio benigno para carcinoma (WATERS; BOSTWICK, 1997; JOHNSTON, 2000; TRAPMAN, 2001).

A PIN é subdividida em graus de I a III e a de graus III está presente em 85% dos homens com câncer de próstata (COTRAN et al., 1999; SOUZA; TONIOLLO,

2001). Em contrapartida, Waters et al. (1997) observou que em 66% dos cães com câncer prostático, apresentavam graduação alta de PIN. No cão e no homem, a PIN apresenta-se de forma semelhante no que diz respeito à morfologia e na associação com o câncer (WATERS; BOSTWICK, 1997; JOHNSTON, 2000).

A terceira prostatopatia mais freqüentemente observada é o adenocarcinoma, um tumor maligno altamente invasivo em cão (KRAWIEC; HEFLIN, 1992; VANNUCCHI et al., 1997; GOBELLO et al., 2002), sendo a neoplasia mais comum encontrada nesta glândula (BARSANTI; FINCO, 1992). Antunes et al (2006) descreveram que a incidência de câncer prostático no homem acima de 90 anos de idade é de 90%. A média de idade de diagnóstico dos cães com câncer prostático foi de 10 anos (KNECHT, 1979; BARSANTI, 1988). Sua incidência é baixa em cães, em torno de 5% de todos os cães com moléstia prostática (BARSANTI; FINCO, 1992).

Não é hormônio-dependente e tem sido relatado em animais castrados e não castrados (VANNUCCHI et al., 1997; JOHNSTON et al., 2000).

Células epiteliais anormais podem ser detectadas através da massagem prostática (BARSANTI; FINCO, 1984). Estas células geralmente são grandes, freqüentemente dispostas em grupos. Podem existir núcleos irregulares de tamanhos variados, e ocasionalmente, figuras mitóticas anormais, aumento na relação núcleo/citoplasma, nucléolos múltiplos e núcleos hipercromáticos (THRALL et al., 1985; LEE PARRITZ; LAMB, 1988).

Nos cães, a detecção do carcinoma é acompanhada em 80% dos casos por metástase, desta forma, o uso de um teste preventivo para detectar neoplasias aumentaria a sobrevida destes pacientes (BELL et al., 1991; SOUZA E TONIOLO, 2001) e ocorre através dos linfonodos ilíacos externos e internos, para as vértebras, pulmões, e por invasão direta na musculatura da pelve, cólon e vesícula urinária

(BARSANTI; FINCO, 1992). O câncer prostático não está sempre associado com prostatomegalia, e a glândula pode estar de tamanho normal, entretanto, estar firme e assimétrica e usualmente aderido no canal pélvico (KRAWIEC, 1994).

Nos cães, os sinais clínicos das prostatopatias variam de acordo com o tipo e gravidade da lesão. Devido à similaridade entre eles e a possibilidade de ocorrência concomitante de duas ou mais alterações, o diagnóstico destas afecções torna-se um constante desafio (DI SANTIS, 2003).

O diagnóstico definitivo das prostatopatias é realizado por meio de exame histológico (BARSANTI, 1999; MUZZI et al., 1999). No entanto, diagnósticos acurados para doenças prostáticas requerem interpretação de dados obtidos por uma completa anamnese, um rigoroso exame físico incluindo a palpação prostática via retal e abdominal, e exames laboratoriais apropriados como urinálise e cultura de urina, exame radiográfico, ultra-sonografia, exames citológicos do ejaculado ou lavado prostático, citologia e biópsia, associada ao uso de marcadores teciduais (ROGERS et al., 1986; BARSANTI; FINCO, 1992; LING, 1995; BARSANTI, 1999; MUZZI et al., 1999).

Hiperplasia prostática benigna

A HPB, tanto no homem como no cão, é o tumor benigno mais freqüente (ANTUNES, 2006). O desenvolvimento espontâneo da HPB é comum ao homem e ao cão, diferenciando apenas no tipo de hiperplasia encontrada (DE MARZO, 1999).

Mahapokai et al., (2000), realizou uma revisão sobre os modelos de estudo para a HPB e verificou que Steiner et al. 1999, demonstrou que os chimpanzés são modelos perfeitos de estudo da HPB humana, sendo eles susceptíveis a ocorrência

de HPB espontânea, assim como o homem e o cão. Os chimpanzés possuem uma próstata anatômica e fisiologicamente similar à do ser humano. Entretanto, há uma limitada viabilidade na utilização destes animais como modelos de estudo devido a problemas éticos e financeiros.

Cerca de 100% dos cães não castrados desenvolvem evidência histológicas de hiperplasia com o avançar da idade (BARSANTI, 1999, MAHAPOKAI et al., 2000; SESSIONS; BARSANTI, 2004) tendo início, em alguns cães, aos 2,5 anos (GREEN; HOMCO, 1996; MAHAPOKAI et al., 2000). Murashima Júnior (2001) descreveu que 50% dos animais acima de quatro anos de idade exibiam aspecto histológico hiperplásico e em 90% dos cães acima de cinco anos.

Mais de 80% dos machos não castrados acima de cinco anos de idade exhibe HPB e o volume prostático apresenta-se 2 a 6.5 vezes maior do que em cães normais de peso similar (KAMOLPATANA, 1998).

Em cães, a hiperplasia é primariamente uniforme e epitelial, em contraste com os humanos, nos quais a hiperplasia é primariamente estromal e nodular (NEUMANN et al., 1980; ISAACS, 1984; HIEBLE; CAINE, 1986; BARSANTI; FINCO, 1992; MAHAPOKAI et al., 2000).

A HPB é uma doença progressiva (MARKS et al., 2006), todavia, sua progressão não está relacionada com a etiologia da neoplasia (COTRAN et al., 1999; DE MARZO et al., 1999).

Nos humanos, o aumento nodular benigno, é o processo patológico mais comum e de ocorrência tão freqüente que pode ser considerado como um processo “normal” do envelhecimento (CHRISTIANSEN, 1988; BARSANTI; FINCO, 1986, 1992; DORFMAN; BARSANTI, 1995; COTRAN et al., 1999).

A HPB está associada com a relação androgênio-estrogênio alterada, requer a presença dos testículos (LLOYD et al., 1975; BRENDLER et al., 1983) e também está relacionada à idade (MAHAPOKAI et al., 2000; GOBELLO; CORRADA, 2002).

A patogênese da HPB não é completamente entendida (AÜMULLER et al., 1980). Em relação aos fatores hormonais envolvidos na sua patogenia, sabe-se que a testosterona, produzida nos testículos, é o principal andrógeno circulante no organismo, e que dá origem a outros dois hormônios: a diidrotestosterona (DHT) e o 17 β -estradiol (KLAUSNER et al., 1994).

A DHT é considerada como o hormônio chave na estimulação do crescimento na próstata canina, causando aumento no crescimento de componentes glandulares e estromais (BELL et al., 1995; JOHNSTON et al., 2000; MAHAPOKAI et al., 2000; SESSIONS; BARSANTI, 2004; MARKS, et al., 2006).

A testosterona é convertida para DHT por 2 tipos de isoenzimas conhecidas como 5 α redutase tipo 1 e tipo 2, encontradas no estroma da próstata e relacionadas com a proliferação celular. O tipo 2 está presente em tecidos normais e hiperplásicos (COTRAN et al., 1999; MARKS, et al., 2006) e o tipo 1 é prevalente no câncer prostático e na glândula normal (MARKS, et al., 2006). A DHT liga-se aos receptores androgênicos nucleares, formando o complexo DHT-receptor androgênico, que causa uma cascata intracelular de eventos levando à expressão gênica, produção de fatores de crescimento e sinalização da transcrição de fatores de crescimento que são mitogênicos para as células epiteliais e estromais que regulam a divisão celular e a proliferação destas células. Uma vez sintetizada, pode atuar se forma autócrina sobre as células estromais ou parácrina difundindo-se às células epiteliais vizinhas (COTRAN et al., 1999; MARKS, et al., 2006).

A DHT tem cinco vezes mais afinidade pelo receptor androgênico que a testosterona e se dissocia mais lentamente, por conseguinte, tem um importante papel na regulação do crescimento prostático (COTRAN et al., 1999; MARKS, et al., 2006).

Existem evidências experimentais de que a hiperplasia prostática mediada pela DHT é auxiliada e promovida por estrogênios (COTRAN et al., 1999), pois pode-se induzir hiperplasia prostática através da administração de androgênios, tendo seu efeito intensificado através da utilização de 17 β estradiol que provavelmente induz um aumento do número de receptores androgênicos e tornando as células mais susceptíveis à ação da DHT (BARSANTI; FINCO, 1992; COTRAN et al., 1999).

O envelhecimento do animal é acompanhado por uma diminuição da produção de androgênio em contrapartida do aumento da produção de estrogênio (BARSANTI; FINCO, 1992).

Outros hormônios como a prolactina e o hormônio de crescimento também estão implicados com a fisiopatologia da HPB (SESSIONS; BARSANTI, 2004).

A inflamação crônica pode ter um proeminente papel na indução e progressão da HPB (PENNA et al., 2007).

A interação entre os elementos celulares da próstata também tem sido objetivo de estudos, principalmente no que concerne ao papel das células estromais na indução da proliferação de células epiteliais em glândulas normais e hiperplásicas (DI SANTIS, 2003). 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 células 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 (BRENDLER et al., 1983; SRINIVASAN et al., 1995; JANULIS; LEE, 1999).

estudos sugerem que há um fator testicular ou epididimário desconhecido atuante no crescimento prostático (JUNIEWICZ, et al. 1994). A teoria das células primordiais também é defendida. Há a possibilidade de que a HPB resulte de anomalias nas stem cells (ISAACS; COFFEY, 1989).

Os fatores de crescimento associados aos hormônios, constituem uma complexa rede de elementos que regulam de maneira direta o crescimento e diferenciação da glândula, são conhecidos como fatores de crescimento peptídicos (SRINIVASAN et al., 1995). Podem prover de vários tecidos exercendo ações de forma local no tecido que o produziu (efeito autócrino), nos tecidos adjacentes (efeito parácrino) e em um órgão à distância (hormônios) (THEYER et al., 1992; SENSIBAR, 1995). A expressão anormal de somente um destes fatores ou de seus receptores pode contribuir significativamente para a transformação de uma célula normal em uma maligna (STEINER, 1993). Aumüller et al. (1992), Sherwood et al. (1992), Sensibar, (1995), NIU et al., 2001 descreveram a relação de três grandes grupos de fatores de crescimento: fator de crescimento fibroblástico (Fibroblast Growth Factor, FGF), fator de crescimento transformante beta (Transforming Growth Factor Beta, TGF β) e fator de crescimento epidérmico (Epidermal Growth Factor, EGF).

Em relação ao aspecto histológico da HPB, em 1979, DeKlerk et al. observaram que dois tipos de hiperplasia podem ser reconhecidos na próstata canina: glandular e cística.

A hiperplasia prostática epitelial (HPEp), no cão inicia-se aos 2,5 anos de idade, (EWING et al., 1984; BERRY et al., 1986). Caracteriza histologicamente pelo

aumento simétrico da próstata, onde o epitélio hipertrófico e hiperplásico forma projeções elaboradas em direção ao lúmen, gerando aumento do volume do ácino como um todo (DeKLERK et al., 1979).

Pelo fato da próstata ter uma natureza glandular, após os quatro anos de idade, há a tendência para a hiperplasia prostática cística (HPC) e é reconhecida, microscópicamente por vários cistos pequenos na estrutura glandular, revestidos por epitélio do tipo cúbico adelgado, com áreas de hiperplasia glandular intercaladas com focos de atrofia (DeKLERK et al., 1979; BLACK, et al., 1998). Dessa forma, a HPC constitui uma extensão da HPEp (BARSANTI; FINCO, 1992; GREEN; HOMCO, 1996).

A histologia da HPC é qualificada por um epitélio luminal hiperplásico e hipertrófico do tipo cúbico, com formação de grandes cavidades e aumento na relação estroma/epitélio (DeKLERK et al., 1979). Sua etiologia é desconhecida, no entanto, sabe-se que a obstrução dos ductos e a estase secretora aumentam a pressão intraluminal, empurrando o epitélio secretor contra a lâmina basal, o que provoca a perda da característica irregular do lúmen e explica a ausência das projeções digitiformes e a modificação da funcionabilidade epitelial. Tal fato parece estar ligado a um processo de redução ou perda da função secretora, que pode evoluir para atrofia do componente glandular (BABINSKI et al., 2002).

Os cistos variam de tamanho e contorno e contêm líquido transparente claro ou âmbar. Em corte transversal, a hiperplasia cística se parece com favo de mel. Os cistos intra-parenquimais frequentemente comunicam-se com a uretra, e podem ser maiores na periferia da glândula (DeKLERK et al., 1979; BARSANTI; FINCO, 1992).

Di Santis relatou em 2003, uma nova classificação dos padrões histológicos descritos por Klausner et al. (1994), denominados de hiperplasia glandular, que

evidência o aumento simétrico da próstata, onde apenas células secretoras proliferam; a hiperplasia complexa, que demonstra um aumento assimétrico da glândula, com áreas de hiperplasia glandular intercaladas com focos de atrofia. O estroma está proeminente, principalmente em áreas atróficas. Notam-se ácinos dilatados e císticos, preenchidos por material eosinofílico. A inflamação crônica e a metaplasia escamosa podem estar presentes. Este segundo tipo é mais observado em animais acima de cinco anos de idade.

Di Santis (2003) relatou recentemente a hiperplasia estromal descrita por Laufer-Amorim (2001), caracterizada pela proliferação do estroma fibroso ou muscular associada, com freqüência, à atrofia glandular e infiltrado inflamatório mononuclear.

Inflamação branda e sem bactérias, na próstata está comumente associada à HPB (BRENDLER et al., 1983; BARSANTI; FINCO, 1992; SESSIONS; BARSANTI, 2004).

Não é raro ocorrer HPB concomitante com outras prostatopatias (BARSANTI; FINCO, 1986).

A incidência das alterações histopatológicas na HPB precede os sintomas clínicos (LEPOR et al, 1994; BABINSKI et al., 2002).

Os sinais clínicos mais comuns da hiperplasia prostática são: secreção uretral, hematúria em razão da vascularidade da próstata aumenta que tem tendência a sangrar (MAHAPOKAI, et al., 2000), infertilidade, tenesmo retal em virtude de o crescimento hiperplásico ocorrer externamente, produzindo obstrução retal e constipação (MAHAPOKAI, et al., 2000; DI SANTIS, 2003) dor em abdômen caudal (KRAWIEC; HEFLIN, 1992).

Os métodos diagnósticos para a HPB provêm da anamnese e sinais clínicos, associados aos achados obtidos pela palpação retal. Outras técnicas podem ser úteis e necessárias para o diagnóstico definitivo, e todos os resultados devem ser comparados à histopatologia (BARSANTI; FINCO, 1984; KRAWIEC; HEFLIN, 1992; MUZZI et al., 1997; BARSANTI, 1999; MUZZI et al., 1999; DI SANTIS, 2003).

Para a avaliação clínica da glândula prostática, deve-se realizar a palpação, simultaneamente abdominal e retal (BARSANTI, 1995; SESSIONS E BARSANTI, 2004). A próstata deve ser avaliada em relação ao tamanho, simetria, contorno da superfície, mobilidade e dor. Ao exame físico, a próstata apresenta-se indolor e simetricamente aumentada, com consistência normal (FEENEY et al., 1987). O toque retal pode sugerir o aumento da glândula, representando um alerta para a investigação de doenças prostáticas, inclusive câncer prostático (SOUZA; TONIOLO, 2001; ANTUNES et al., 2006).

Uma técnica alternativa para coletar o líquido prostático é a massagem da próstata para a avaliação citológica (BARSANTI et al., 1980). A citologia é uma técnica que vem sendo utilizada rotineiramente na avaliação prostática do cão, muito embora não permita a análise da arquitetura tecidual, como ocorre com o exame histopatológico (TVEDTEN, 1994). Possui vantagens devido à rapidez na obtenção de diagnóstico, todavia, os achados devem ser comparados ao exame histopatológico (PERMAN et al., 1979).

Krawiec, em 1994 descreveu a ultra-sonografia e a radiografia abdominal como sendo métodos não invasivos para a visualização indireta da glândula prostática. Murashima Júnior, 2001, no entanto, afirma que a técnica ultra-sonográfica é inquestionavelmente superior à técnica radiográfica, pois oferece mais informações sobre a estrutura geral, tamanho, formato e arquitetura interna

glandular. As radiografias abdominais confirmam o aumento de volume prostático brando a moderado, com deslocamento dorsal do cólon e deslocamento cranial da bexiga. Na uretrocistografia retrógrada por distensão, a uretral prostática pode estar normal ou ela pode parecer estreitada ou ondulada, sem que haja distorção ou destruição. O refluxo uretro-prostático pode estar maior do que o normal (FEENEY et al., 1987). Através da ultra-sonografia, a próstata freqüentemente está normal, porém ela também pode se apresentar difusamente hiperecogênica com cavidades parenquimais, se houve o desenvolvimento de cistos intra-parenquimais (MUZZI et al., 1997).

O estudo de outros métodos de diagnóstico, como os marcadores de tecido prostático, tem contribuído para a obtenção de maior sucesso no tratamento (SOUZA; TONIOLO, 2001). Nas últimas décadas sua utilização tem sido progressivamente crescente, consolidando-se como uma tecnologia essencial para o diagnóstico anátomo-patológico de rotina (FREDDY RINCON et al., 2004; ARAÚJO-FILHO et al., 2006).

A imunoistoquímica 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 de anticorpos com diversas enzimas, por exemplo, peroxidase-anti-peroxidase, que ao reagir com o substrato formam um produto final de cor marrom, permite localizar antígenos específicos nas células e tecidos fixados e processados pelos métodos histológicos convencionais (GIMENO, 1995).

Apesar da quantidade de anticorpos disponíveis atualmente, a avaliação da maioria das lesões prostáticas ainda é baseada em métodos histológicos básicos

(hematoxilina e eosina), sendo a imunoistoquímica necessária em cerca de 10% dos casos (HELPAP, 1998).

Nos últimos 20 anos, numerosos estudos com a expressão de citoqueratinas (CK) e vimentinas (VIM) em células prostáticas normais e neoplásicas humanas vem sendo publicados (LEONG et al., 1988; ITO et al., 1995 e COLLINS et al., 2001).

Contudo, a literatura, nesta espécie, é escassa no que se refere á síntese destas proteínas pela próstata, ao seu uso como método diagnóstico e aos seus valores fisiológicos (SOUZA; TONIOLO, 2001).

Das distintas classes de filamentos intermediários de proteína citoplasmática encontradas nas células, as citokeratinas (CK) são as normalmente expressas nas células epiteliais e as vimentinas (VIM) nas células mesenquimais (AZUMI; BATTIFORA, 1987; LEONG et al., 1988; HEATLEY et al., 1995; FRAGA et al., 1998). A expressão da CK no epitélio prostático, no homem, é bem conhecida, como também a expressão de VIM em epitélio hiperplásico e neoplásico (HEATLEY et al., 1995).

A expressão da VIM é primariamente confinada em células mesenquimais, embora sua co-expressão seja detectável em alguns epitélios como no epitélio tubular renal e no epitélio ovariano (HOLTHOFER et al., 1983; WERNERT; SEITZ, 1987; LEONG et al., 1988). Embriologicamente, estes tecidos derivam de uma parte de mesênquima que sofreu transformação epitelial. Por isso, a expressão da VIM é compreensível para o epitélio (VERHAGEN et al., 1988; NAGLE et al., 1991).

Fraga et al. (1998), em análise imunoistoquímica, revelaram uma abundante marcação da VIM no tecido HPB em comparação com o tecido prostático normal. Este dado implica que existem transformações epiteliais/mesenquimais que podem conter um papel na patogênese da HPB (WERNERT; SEITZ, 1987; FRAGA et al.,

1998). A diferença na expressão da VIM entre o epitélio normal e o hiperplásico pode ser relacionado com a atividade proliferativa dos dois tecidos. O crescimento na expressão da VIM no epitélio da HPB é relativo ao alto grau de atividade mitótica (comparada com o epitélio normal) (FRAGA et al., 1998).

As células basais tanto em tecido normal como hiperplásico demonstraram ser negativos para VIM (WERNERT; SEITZ, 1987; GRIECO et al., 2003).

A VIM V9 foi detectada em fibroblastos estromais e células endoteliais de vasos prostáticos (GRIECO et al., 2003).

Estudo realizado por Heatley et al. (1995) identificou a VIM e CK AE1/AE3 em células basais de algumas glândulas hiperplásicas.

Em estudo feito por Grieco et al. (2003) e Wernert e Seitz (1987) em próstatas normais, o largo espectro do anticorpo AE1/AE3 foi observado em todas as células epiteliais, isto é, células basais e luminais de alvéolos e ductos glandulares e demonstrando-se negativa nas células estromais.

O objetivo do tratamento nos cães com HPB é de diminuir o tamanho da próstata e aliviar os sinais clínicos da HPB (BASINGER; RAWLINGS, 1987), empregando medicamentos como estrógenos, anti-andrógenos inibidores da enzima 5 redutase e valendo-se da castração (TRAPMAN, 2001).

O tratamento deve ser instituído na presença de sinais clínicos (BARSANTI; FINCO, 1992; KRAWIEC, 1994; VANNUCCHI et al., 1997).

O mais efetivo é a castração (KUSTRITZ; KLAUSNER, 2000; GOBELLO et al., 2002), que resultará em diminuição da próstata em 50% dentro de três semanas e 70% no tamanho da próstata em nove semanas (SESSIONS; BARSANTI, 2004) e a redução dos sintomas se dará em sete semanas (GOBELLO et al., 2002).

Tanto nos cães jovens como nos idosos, o peso da próstata diminui mais rapidamente dentro do primeiro mês após a castração (De KLERK et al., 1979). Nos cães acima de seis anos de idade, o peso da próstata continua a diminuir durante três a quatro meses. Os espaços irregulares pequenos da HPC podem permanecer após a castração (BARSANTI; FINCO 1992).

Os protocolos incluindo medicamentos podem ser indicados caso não haja a possibilidade de castração (KRAWIEC, 1994).

Os estrógenos como dietilestilbestrol (DES) deprimem a secreção de gonadotrofinas pela glândula pituitária e reduz os níveis de andrógenos, resultando em atrofia prostática. Contudo, causam efeitos colaterais acentuados, quando comparados aos benefícios clínicos, pode provocar metaplasia escamosa, obstrução ductal e formação de cistos (BARSANTI; FINCO, 1992; KRAWIEC, 1994; JOHNSTON et al., 2000).

Anti-andrógenos como a flutamida, ainda em estágio experimental, diminui o tamanho glandular sem provocar os efeitos colaterais estrogênicos. O acetato de megestrol reduz as concentrações de testosterona e inibe a 5α redutase (BARSANTI; FINCO, 1992; VANNUCCHI et al., 1997).

A finasterida (Proscar®) inibe a enzima 5α redutase tipo 2, o dutasteride (Avodart®) bloqueia as enzimas tipo 1 e 2 (MARKS et al., 2006). Ambas, causam supressão da concentração de DHT, diminuindo o volume prostático e abrandando os sintomas da HPB, sem interferir nas concentrações séricas de testosterona constatados por Johnston e colaboradores (2000) que demonstraram através da utilização da finasterida em cães da raça Beagle, marcada atrofia glandular e diminuição no volume prostático, além da diminuição do volume do sêmen, sem alteração na qualidade do mesmo e não afetando a concentração sérica de

testosterona, assim como no homem. O dutasteride induz a uma maior supressão de DHT que a finasterida no homem (MARKS et al., 2006).

Conclui-se que este tema merece mais atenção no que diz respeito à produção dos marcadores de tecido prostático, seus níveis e funções fisiológicas nas diversas alterações desse órgão na espécie canina (SOUZA; TONIOLO, 2001).

REFERÊNCIAS

ANTUNES, A. A. et al. Análisis of the Risk Factors for Incidental Carcinoma of the Prostate in Patients UIT Benign Prostatic Hyperplasia. **Clinics**, v. 61, n. 6, p. 545-550, 2006.

ARAÚJO-FILHO, J. L. S. et al. Galactina-3 em Tumores de Próstata: Imuno-histoquímica e Análise Digital de Imagens. **J Bras Patol Med Lab.**, v. 42, n.6, p. 469-475, 2006.

AUMÜLLER, G., et al. Fine structure of the canine prostatic complex. **Anatomy and Embryology**, v. 160, p. 327-40, 1980.

AUMÜLLER, G., et al. Intermediate filaments in Sertoli cells. **Microsc Res Tech.**, v. 20, p. 50-72, 1992.

AZUMI, N.; BATTIFORA, H. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. A comprehensive immunohistochemical study on formalin- and alcohol-fixed tumors. **Am J Clin pathol.**, v. 88, p. 286-296, 1987.

BABINSKI, M. A. et al. Morfología y Fracción del Área del Lumen Glandular de la Zona de Transición en la Próstata Humana. **Rev Chil Anat.**, v. 20, n. 3, p. 255-262, 2002.

BARSANTI, J. A. Canine prostate diseases. In: **Proce. Annu. Ralston Purina Vet. Col. Symp.**, v. 2, p. 1 - 64, 1988.

BARSANTI, J. A. Diseases of the prostate gland. In: OSBORNE, C. A.; FINCO, D. R. **Can. and Fel. Neph. and Urol.**. Baltior: Williams & Wilkins, 1995, p. 726-55.

BARSANTI, J.A. Prostatic hyperplasia: medical therapy. **Proc. Am. Clin.Vet. Int. Med.** V. 17, p. 536-8, 1999.

BARSANTI, J. A.; FINCO, D. R. Evaluation of techniques for diagnosis of canine prostatic diseases. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 185, p. 198, 1984.

BARSANTI, J. A.; FINCO, D. R. Canine prostatic diseases. **Vet. Clin. of North Am.: Small Animal Practice**, n. 3, v. 16, p. 587-99, 1986.

BARSANTI, J. A.; FINCO, D. R. Moléstias prostáticas do cão. In: ETTINGER, S. J. **Trat. de Med. Int. Vet.**. California: Manole Ltda., 1992, p. 1941-63.

BARSANTI, J. A. et al. Evaluation of diagnostic techniques for canine prostatic diseases. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 177, p. 160, 1980.

BASINGER, R. R.; RAWLINGS, C. A. Surgycal management of prostate diseases. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v. 9, p. 993-1000, 1987.

BELL, F. W. et al. Clinical and pathologic features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs: 31 cases (1970-1987). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**; v. 199, p. 1623-30, 1991.

BELL, F. W., et al. Evaluation of serum and seminal plasma markers in the diagnosis of canine prostatic disorders. **J Vet Intern Med.**, v. 9, p. 149-153, 1995.

BERRY, S. J. et al. Effects of aging on prostate growth in beagles. **Am. J. Physiol.**, v. 250, p. 1039, 1986.

BLACK, G. M., et al. Prevalence of prostatic cysts in adult, large-breed dogs. **J. Am. Hosp. Assoc.**, v 34, p. 177-80, 1998.

BRENDLER, C. B., et al. Spontaneous benign prostatic hyperplasia in the beagle: Age associate changes in serum hormone levels, and the morphology and secretory function of the canine prostate. **J. Clin. Invest.**, v. 71, p. 1114-23, 1983.

CASTELLUCCI, E. et al. Cytoskeletal and Cytocontractile Protein Composition of Stromal Tissue in Normal, Hyperplastic, and Neoplastic Human Prostate. **Annals New York Academy of Sciences.**, v. 30, p.496-508, 1996.

COLLINS, A. T. et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on $\alpha 2 \beta 1$ - integrin expression. **J. of Cell Science**, v. 114, p. 3865-72, 2001.

COTRAN, R.S., et al. The male genital tract .In: **Robbins, Pathological basis of disease**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999, p. 1011-34.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V. **Patologia Estrutural e Funcional**. 6. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 2000, p. 919.

CHRISTIANSEN, I. B. J. Andrologia do macho normal. In: Reprodução no cão e gato. Ed. Manole Ltda, 1988. p.93-125..

DeKLERK, D. P. et al. Comparison of spontaneous and experimentally induces canine prostatic hyperplasia. **J. Clin. Invest**, v. 64, p. 842-9, 1979.

DE MARZO, A. M., et al. Stem cell features of benign and malignant prostate epithelial cells. **J. Urol.**, v. 160, p. 2381-2392, 1998.

DE MARZO, A. M., et al. New concepts in tissue specificity for prostate cancer and benign prostatic Hiperplasia. **Urology**, v. 53, p. 29-40, 1999.

DI SANTIS, G. W. **Estudo morfológico, morfométrico e imunoistoquímico de próstatas caninas normais e hiperplásicas**. Botucatu, 2003. 128p. Tese (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2003.

DORFMAN, M.; BARSANTI, J. A. Diseases of the canine prostate gland. **Compen. Contin. Educ. for the Pract. Vet.**, v. 17, n. 6, p. 791-811, 1995.

EWING, L. L.; et al. Testicular androgen and estrogen secretion and benign hyperplasia in the beagle. **Endocrinology**, v. 114, p. 1308, 1984.

FEENEY, D. A.; et al. Reports of reproductive studies: canine prostatic disease – comparison of radiographic appearance with morphologic and microbiologic findings: 30 cases (1981-1985. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 190, p. 1018-1026, 1987.

FRAGA, C. H., et al. Enhanced expression of the mesenchymal marker, vimentin, in hyperplastic versus normal human prostatic epithelium. **J. Urol.**, v. 159, p. 270-274, 1998.

FREDDY RINCON, R.; et al. Inmunohistoquímica aplicada a casos de difícil diagnóstico anatopatológico: adenocarcinoma vs lesión benigna. **Revista venezolana de urologia.**, v. 50, p. 18-21, 2004.

GIMENO, E. J. Fundamentos de imunoistoquímica aplicada a patologia veterinária. In: **Encontro Nacional de Patologia Veterinária**, 7, 1995, Belo Horizonte. **Anais**. 1995, p. 35.

GOBELLO, C.; CORRADA, Y. Noninfectious prostatic diseases in dogs. **Compend. Cont. Ed.** v. 24, p. 99-107, 2002.

GOBELLO, C.; et al. Serum and seminal markers in the diagnosis of disorders of the genital tract of the dog: a mini-review. **Theriogenology**, v. 57, p. 1285-91, 2002.

GREEN, R. W.; HOMCO, L. D. Prostate gland. In: GREEN, R. W. **Small Animal Ultrasound**. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996, p.237-262.

GRIECO, V.; et al. Cytokeratin and Vimentin Expression in Normal and Neoplastic Canine Prostate. **J. Comp. Path**, v. 129, p. 78-84, 2003.

HEATLEY, M., et al. Vimentin and cytokeratin expression in nodular hyperplasia and carcinoma of the prostate. **J Clin Pathol.**, v.48, p.1031-1034, 1995.

HELPAP, B. Differential diagnosis of glandular proliferations in the prostate. **A conventional and immunohistochemical approach**. Virchows Arch., v. 433, p. 397-405, 1998.

HIEBLE, J. P.; CAINE, M. Etiology of benign prostatic hyperplasia and approaches to its pharmacological management. **Fed. Proc**, v. 45, p. 2601-3, 1986.

HOLTHÖFER, H.; et al. Cellular origin and differentiation of renal carcinomas. A fluorescence microscopic study with kidney-specific antibodies, antiintermediate filament antibodies, and lectins. **Lab. Invest.**, v. 49, p. 317- 326, 1983.

ISAACS, W. B.: Structural and functional components in normal and hiperplastic canine prostates. **Prog. Clin. Biol. Res.**, v. 145, p. 307, 1984.

ISAACS, J. T.; COFFEY, D. S. 1989. Etiology and disease process of benign prostatic hyperplasia. **Prostate Suppl.**, v. 2, p.33-50, 1989.

ITO, T.; et al. A clinical and immunohistochemical study of papillary adenocarcinoma of the prostate. **Prostate**, v. 26, p. 23-7, 1995.

JANULLIS, L., LEE, C. Prostate gland. In: KNOBIL, E., NEILL, J. D. **Encyclopedia of reproduction**. San Diego: Academic Press, 1999, p. 77-85.

JOHNSTON, S. D.; et al. Prostatic disorders in the dog. **Animal Reprod. Science**, v. 60, p. 405-15, 2000.

JOHNSTON, S. D., et al. Canine and feline. **Theriogenology**. Philadelphia: W. B. Saunder, 2001, p. 592.

JUNIEWICZ, P. E., et al. 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.

KAMOLPATANA, K. **Effect of finasteride on benign prostatic in dogs**. 1998. p. 151. Tese (PHD), graduate school, Washington State University, Pullman, 1998.

KLAUSNER, J. S. et al. Recent developments in the diagnosis and treatment of BHP and prostatic carcinoma. **Proc. Am. Coll. Vet. Int. Med.**, p. 547-8, 1994.

KNECHT, C. D. Diseases of the canine prostate gland. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v. 1, p. 385-91, 1979.

KRAWIEC, D. R. Canine prostate gland. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 204, n. 10, p. 1561-4, 1994.

KRAWIEC, D. R.; HEFLIN, D. Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 200, n. 8, p. 1119-22, 1992.

KUSTRITZ, M. V. R.; KLAUSNER, J. S.: Prostatic diseases. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders, 2000; pp 1687-1698.

LAUFER - AMORIN, R. **Estudo clínico, laboratorial e anátomo-patológico das próstatas de cães adultos**. Botucatu, 2001. 116p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade Estadual Paulista. 2001.

LEE PARRITZ, D. E.; LAMB, C. R. Prostatic adenocarcinoma with osseous metastases in a dog. **JAVMA**, v. 192, p. 1569-1572, 1988.

LEONG, A. S. Y.; et al. Cytokeratins and vimentin intermediate filament proteins in benign and neoplastic prostatic epithelium. **Histopathology**, v. 13, p. 435-42, 1988.

LEPOR, H., et al. Relationship between prostatic epithelial volume and serum prostate specific antigen levels. **Urology**., v. 44, p. 199-205, 1994.

LEXANDER, H. et al. Differential Protein Expression in Anatomical Zones of the Prostate. **Proteomics**, v. 5, p. 2570-2576, 2005.

LING, G. V. **Lower urinary tract diseases of dogs and cats**. St Louis: Mosby Year Book, p. 235, 1995.

LLOYD, J. W., et al. Androgens and estrogens in the plasma and prostatic tissue of normal dogs and dog with benign prostatic hypertrophy. **Invest. Urol.**, v. 13, p. 220-22, 1975.

MAHAPOKAI, W. et al. Models for Studying Benign Prostatic Hyperplasia. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v. 3, p. 28-33, 2000.

MARKS, L. S., et al. Prevention of benign prostatic hyperplasia disease. **J. Urol.**, v. 176, p. 1299-1306, 2006.

McNEAL, J. E.; BOSTWICH D.G. Intraductal dysplasia: a premalignant lesion of the prostate. **Hum. Path.**, v. 17, p. 64-71, 1986.

MURASHIMA JÚNIOR, J. C. **Mensuração da próstata por ultra-sonografia trans-abdominal, e sua associação com a massa corpórea de cães adultos e clinicamente sadios.** Botucatu, 2001. 47p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade Estadual Paulista. 2001.

MUZZI, L. A. L.; et al. Ultra-sonografia da próstata em cães. **Clínica Veterinária**, ano II, n 11, p. 19 -22, 1997.

MUZZI, L. A. L., et al. Ultra-sonografia e citologia das afecções prostáticas em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 51, p. 9-16, 1999.

NAGLE, R. B., et al. Phenotypic relationships of prostatic intraepithelial neoplasia to invasive prostatic carcinoma. **American Journal of Pathology**, v. 138, p. 119-140, 1991.

NEUMANN, F. et al. Male accessory sex glands: experimental basis and animal models in prostatic tumor research. In: SERIO, M.; MaARTENI, L. **Animal Models in Human Reproduction.** New York: Raven Press, 1980, p. 249.

NIU, Y., et al. Proliferation and differentiation of prostatic stromal cells. **B J U Int.**, v. 87, p. 386-393, 2001.

OLIVEIRA, E. G., et al. Afecções da próstata em cães na região de Botucatu, Estado de São Paulo. In: IX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 7, 1996, Jaboticabal. **Anais**, 1996, p. 327.

OLSON, P. N., et al. Disorders of the canine prostate gland: pathogenesis, diagnosis and medical therapy. **Comp. Cont. Ed.**, v. 9, p. 613-23, 1987.

PENNA. G., et al. Seminal plasma cytokines and chemokines in prostate inflammation: interleukin 8 as a Predictive biomarker in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and benign prostatic hyperplasia. **Eur Urol.**, v.51, p. 524-533, 2007.

PERMAN, V.; et al. Cytology of the dog and cat. **South Bend: Am. Anim. Hosp. Ass.**, p. 159, 1979.

PETER, A. T.; et al. Diagnosis and medical management of prostate disease in the dog. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery**, v. 10, n. 1, p. 35-42, 1995.

ROGERS, K. S.; et al. Diagnostic Evaluation of the Canine Prostate. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v. 8, p. 799-811, 1986.

SENSIBAR, J. A. Analysis of cell death and cell proliferation in embryonic stages, normal adult, and aging prostates in human and animals. **Microsc Res Tech.**, v.30, p.342-50, 1995.

SESSIONS, J. K; BARSANTI, J.A. A dog with an enlarged prostate and bloody preputial discharge. **Veterinary Medicine.**, v. 99 , p. 427-434, 2004.

SHERWOOD, E. R., et al. Differential expression of specific cytokeratin polypeptides in the basal and luminal epithelia of the human prostate. **Prostate**, v. 18, p. 303-314, 1991.

SHERWOOD, E. R., et al. Basic fibroblast growth factor: a potential mediator of stromal growth in the human prostate. **Endocrinology.**, v. 130, p. 2955-63, 1992.

SOUZA, F.F.; TONIOLLO, G. H. Marcadores de tecido prostático no cão. **Rev. de Educ. Contin. CRMV SP**, v. 4, n. 3, p. 63-70, 2001.

SRINIVASAN, G.; et al. Androgen, estrogen, and progesterone receptors in normal and aging prostates. **Microsc Res Tech.**, v. 30, p. 293-304, 1995.

STEINER, M. S. Role of peptide growth factors in the prostate: a review. **Urology.**, v. 42, p. 99-110, 1993.

STEINER, M. S., et al. the chimpanzee as a model of human benign prostatic hyperplasia. **J Urol.**, v. 162, p. 1454-1461, 1999.

THEYER, G., et al. Phenotypic characterization of infiltrating leukocytes in benign prostatic hyperplasia. **Lab Invest.**, v. 66, p. 96-107, 1992.

THRALL, M. A., et al. Cytologic diagnosis of canine prostatic disease. **J.A.A.H.A.**, v. 21, p. 95-102, 1985.

TRAPMAN, J. Molecular mechanisms of prostate cancer. **Eur. J. Cancer**, v. 37, p. 5119-5125, 2001.

TVEDTEN, H. Cytology of neoplastic and inflammatory masses. In: WILLARD, M. D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G. H. (Ed.) **Small Animal Clinical Diagnosis by laboratory methods**. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1994, p. 321-41.

VAN LEENDERS, et al. Demonstration of intermediate cells during human prostate epithelial differentiation in situ and in vitro using triple-staining cofocal scanning microscopy. **Laboratory Investigation**, v. 80, p. 1251-1258, 2000.

VANNUCCHI, C. I.; et al. Afecções prostáticas em cães: sinais clínicos, diagnóstico e tratamento. **Clínica Veterinária**, ano II, n. 11, p. 37-42, 1997.

WATERS, D. J., et al. Prostatic intraepithelial neoplasia in dogs with spontaneous prostate cancer. **Prostate**, v. 30, p. 92-7, 1997.

WATERS, D. J., BOSTWICK, D. G. The canine is a spontaneous model of intraepithelial Neoplasia and prostate cancer progression. **Antic. Res.**, v. 17, P. 1467-70, 1997.

VERHAGEN, A. P., et al. Differential expression of keratins in the basal and luminal compartments of rat prostatic epithelium during degeneration and regeneration. **Prostate**, v. 13, p. 25-38, 1988.

WERNERT, N.; SEITZ, G. Immunohistochemical investigation of different cytokeratins and vimentin in the prostate from the fetal period up to adulthood and in prostate carcinoma. **Path. Res. Pract.**, v. 182, p. 167-626, 1987.

WU, C. L., et al. Analysis of α -methylacyl-CoA racemase (P504S) expression in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. **Human Pathology**, v.35, p.1008-1013, 2004.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi comparar os métodos diagnósticos clínicos, de citologia, histologia e imunoistoquímica, na HPB no cão e as alterações morfológicas e avaliação do padrão histológico referentes a esta afecção.

Comparação dos Métodos de Palpação Retal, Citologia, Histologia e Imunoistoquímica para o Diagnóstico da Hiperplasia Prostática Benigna no Cão.

**Comparasion of Rectal Palpation, Citologic, Histologic and Immunohistochemistry
Methods for Diagnosis of Benign Prostatic Hyperplasia in Dog.**

**Comparación de los Métodos de Palpación Rectal, Citología, Histología e
Imunoistoquímica para o Diagnóstico del Hiperplasia Prostática Benigna en el Perro.**

**Juliana Zanini Shimomura², Flávia de Rezende Eugênio¹, Maria Cecília Rui Luvizotto¹,
Sílvia Helena Venturolli Perri¹**

Instituição Financiadora: Fundação para o Desenvolvimento da UNESP- FUNDUNESP.

¹ Professora Assistente Doutora do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Curso Medicina Veterinária, UNESP –SP. E-mail: eugeniof@fmva.unesp.br

¹ Professora Assistente Doutora do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Curso Medicina Veterinária, UNESP –SP. E-mail: ruimcl@fmva.unesp.br

¹ Professora Assistente Doutora do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Curso Medicina Veterinária, UNESP –SP. E-mail: shvperri@fmva.unesp.br

² Médica veterinária, pós-graduanda do departamento de Clínica, cirurgia e Reprodução Animal, Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista – Campus de Araçatuba - SP- Rua Clóvis Pestana, 763, CEP: 16050680, Bairro Dona Amélia – Araçatuba - SP. Telefone: 18 36363294. E-mail: jzs1976@yahoo.com.br, autora para correspondência.

Resumo

Comparação dos Métodos de Palpação retal, Citologia, Histologia e Imunoistoquímica para o Diagnóstico da Hiperplasia Prostática Benigna no Cão.

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é a afecção mais comum da próstata canina, porém, a comparação dos diferentes métodos diagnósticos como o exame de palpação retal, citologia, histologia e imunoistoquímica é pouco estudada nesta espécie, diferentemente do que ocorre no homem. Este trabalho teve por objetivo estudar, em vinte cães idosos, as alterações cito e histológicas com emprego de imunomarcadores, na glândula prostática. Em todas as glândulas observou-se HPB cística, associada ou não à hiperplasia epitelial ou estromal. A imunomarcagem com citoqueratina (CK) (clone AE1/AE3) foi relevante em ácinos com epitélio adelgado. A Vimentina (VIM) (clone V9) teve expressão moderada em áreas com hiperplasia estromal acentuada. O toque retal e o lavado prostático mostraram ser métodos de auxílio no diagnóstico das prostatopatias, sendo indispensável o uso da histopatologia para um diagnóstico definitivo. O emprego de imunomarcadores teciduais prostáticos infere que próstatas com HPB demonstram alterações metabólicas que respondem à imunomarcagem em células hiperplásicas.

- **Palavras-chave:** cão, hiperplasia prostática benigna, citologia, histologia, imunoistoquímica

Abstract

Comparasion of Rectal Palpation, Citologic, Histologic and Immunohistochemistry Methods for Diagnosis of Benign Prostatic Hyperplasia in Dog.

Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) is the most common affection of the canine prostate, however, the comparison of different diagnostic methods for BPH through, digital rectal examination, cytology, histology and immunohistochemistry has a few studies in this specie, unlike man. The purpose of this study was understood, in twenty old dogs, cytology, histology alterations using immunomarkers in the prostate gland. All the glands showed the presence of cystic BPH, associated or not with epithelial or stromal hyperplasia. The immunolapeling with clone AE1/AE3 cytokeratine was relevant in alveoli with flat epytelium. Clone V9 Vimentine showed to be moderate in areas with a deep stromal hyperplasia. Rectal palpation and the prostatic washing product compose auxiliary diagnostic methods for prostatic diseases, being undismissable the use of histopathology for a conclusive diagnosis. Prostatic

tissue immunomarkers employment to conclude that the prostate with HPB demonstrate metabolic changes which react with immunomarking in hyperplasic cells.

-Key words: dog, Benign Prostatic Hyperplasia, cytologic, histologic, immunohistochemistry

Resumen

Comparación de los Métodos de Palpación Rectal, Citología, Histología e Inmunoistoquímica para el Diagnóstico del Hiperplasia Prostática Benigna en el Perro.

La Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) es la afección más común de la próstata canina, todavía, la comparación de los diferentes métodos diagnósticos, como palpación rectal citología, histología e inmunohistoquímica es poco estudiada en los perros, diferente del hombre. Este trabajo tuvo como objetivo estudiar, en veinte perros ancianos, las alteraciones cito e histológicas con el uso del inmunomarcadores en la glándula prostática. Todas las glándulas demostraron presencia de HPB cística asociadas o no a Hiperplasia epitelial o a estromal. La inmunomarcación con Citoqueratina clone AE1/AE3 fue relevante en acinos con epitelio aplastado. La Vimentina clone V9 nieve expresión moderada en áreas con hiperplasia del estromal resaltada. El tacto rectal y el lavado prostático mostraron ser métodos de auxilio en el diagnóstico de las enfermedades prostáticas, siendo indispensable el uso de la histopatología para un diagnóstico definitivo. El uso del inmunomarcadores de tejido prostáticos infiere que próstatas con HPB demuestran alteraciones metabólicas que responden a la inmunomarcación en células hiperplásicas.

- Palabras clave: perro, Hiperplasia Prostática Benigna, citología, histología e inmunohistoquímica.

INTRODUÇÃO

A próstata é a única glândula sexual acessória do cão (MURASHIMA JÚNIOR, 2001), sendo composta de elementos glandulares e estromais envolvidos por uma cápsula fibromuscular espessa (VANNUCCHI et al., 1997).

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é a alteração mais comum, visto que cerca de 100% dos cães não castrados desenvolvem evidências histológicas de hiperplasia com o avançar da idade (MAHAPOKAI et al., 2000; CURY et al. 2006). Esta afecção ocorre

espontaneamente no homem, cão e chimpanzé (MAHAPOKAI et al., 2000) e as alterações glandulares precedem os sintomas clínicos (BABINSKI et al., 2002).

Delineiam-se várias hipóteses para tentar decifrar o enigma etiopatológico da HPB (AUMÜLLER et al., 1980), considerada de etiologia heterogênea associada, principalmente, à alteração da relação androgênio-estrogênio (BRENDLER et al., 1983) e também relacionada à idade (MAHAPOKAI et al., 2000; GOBELO e CORRADA, 2002).

No cão dois padrões histológicos são identificados: a hiperplasia prostática epitelial (HPEp), hiperplasia prostática cística (HPC). HPEp caracteriza-se histologicamente por aumento simétrico da próstata, onde apenas células secretoras são proliferativas, e o epitélio hipertrófico e hiperplásico projeta-se em direção ao lúmen. HPC pela presença de epitélio do tipo cúbico, com formação de grandes cavidades e aumento na relação estroma/epitélio, com áreas de hiperplasia glandular intercaladas com focos de atrofia. Laufer-Amorin (2001) descreveu a hiperplasia prostática estromal (HPE), caracterizada pela proliferação do estroma fibroso ou muscular, associada, com frequência, à atrofia glandular e infiltrado inflamatório mononuclear.

O diagnóstico definitivo da HPB é realizado por meio do exame histológico (MUZZI et al., 1999). No entanto, o toque retal pode sugerir o aumento da glândula, representando um alerta para a investigação de doenças prostáticas (ANTUNES et al., 2006). No cão, a citologia é uma técnica utilizada na avaliação prostática (TVEDTEN, 1994) e possui vantagens devido à rapidez na obtenção de diagnóstico, muito embora não permita a análise da arquitetura tecidual como na histologia.

A imunoistoquímica é um método diagnóstico importante para a investigação de doenças prostáticas (ARAÚJO-FILHO et al., 2006), pois combina técnicas anatômicas, imunológicas e bioquímicas que permitem localizar componentes tissulares “*in situ*” mediante o emprego de anticorpos específicos e moléculas marcadoras (DI SANTIS, 2003).

A expressão de citoqueratinas e vimentinas foi demonstrada em células prostáticas normais e neoplásicas humanas. São poucos os trabalhos com a expressão destes filamentos de proteína na próstata canina (COLLINS et al., 2001; GRIECO et al., 2003).

Este tema merece mais atenção no que diz respeito à utilização dos imunomarcadores no tecido prostático, sua quantificação a fim de se inferir sobre suas funções fisiológicas na HPB do cão (SOUZA e TONIOLO, 2001). O objetivo deste trabalho foi comparar os métodos diagnósticos clínicos, de citologia, histologia e imunoistoquímica, na HPB no cão e analisar as alterações morfológicas dos padrões histológicos referentes a esta afecção.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados vinte cães machos não-castrados, com idade superior a cinco anos, determinado através da verificação do desgaste dentário, cedidos pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da cidade de Araçatuba.

Avaliação semiológica da próstata foi realizada de forma semi-quantitativa por palpação trans-retal e abdominal simultâneas, observando-se tamanho (normal, aumentado ou diminuído), simetria ou assimetria, consistência (normal ou alterada) e mobilidade (normal ou alterada).

Para a citologia, o material foi obtido por meio de lavado prostático com auxílio de sondagem uretral concomitante à massagem prostática por palpação abdominal e toque trans-retal. O lavado obtido foi corado com Panótico rápido para observação de células inflamatórias, bactérias, hemácias e espermatozóides, quantificados por presença ou ausência. As alterações morfológicas foram avaliadas conforme a normalidade ou alteração do padrão celular. A quantidade de células no lavado foi demonstrada pelo seguinte escore de 0 = ausente; 1 = discreta; 2 = moderada e 3 = acentuado. A morfologia citológica foi avaliada pela coloração de Papanicolaou, observando-se alterações nucleares de figuras de mitose,

anisocariose, nucléolos em número aumentado ou intensamente visíveis ou alteração na relação núcleo/citoplasma.

Seis fragmentos glandulares foram colhidas para a realização da histologia e posteriormente, processadas pelos métodos rotineiros para coloração em Hematoxilina-eosina (HE). As alterações observadas permitiram classificar o tipo de hiperplasia prostática (HP) em: 1) hiperplasia prostática cística (HPC), 2) hiperplasia prostática epitelial (HPEp) e 3) hiperplasia prostática estromal (HPE), além de cistos, dilatação e destruição glandular e atrofia. Estas alterações foram quantificadas pelo escore: 0 = ausente; 1 = discreta; 2 = moderada e 3 = intensa. Quanto ao infiltrado inflamatório avaliou-se a presença ou ausência, a distribuição classificada como focal, multifocal ou difusa; a localização considerada intersticial ou intra-acinar e a celularidade qualificada em mononuclear ou polimorfonuclear.

Para o estudo imunoistoquímico foram utilizados o anticorpo monoclonal Citoqueratina AE1/AE3 (Monoclonal antibody Cytokeratin AE1/AE3 – Zymed, San Francisco, USA) (diluição de 1:300) e o anticorpo contra a Vimentina V9 (Monoclonal antibody Vimentin V9 - Sigma Chemical Company, St Louis, USA) (diluição e 1:400), para avaliar o padrão de imunomarcação das células acinares secretoras e basais e estromais nas glândulas com HPB. Os fragmentos foram desidratados em soluções alcoólicas crescentes, desparafinizados com xilol e rehidratados em álcool (70% a 100%). A recuperação antigênica foi feita com a preparação de um tampão de citrato e lavada com solução tampão de salina de fosfato (PBS). A peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio e a incubação “over night” com os anticorpos primários citoqueratina AE1/AE3 (diluição de 1:300) e Vimentina V9 (diluição e 1:400) foi realizada a uma temperatura de 37°C. Posteriormente, as lâminas sofreram incubação com anticorpo secundário biotinilado (Kit LSAB DAKO/USA) e, para a revelação com substrato cromatígeno, utilizou-se solução de

3,3'diaminobenzidina (DAB + H₂O₂) durante 5 minutos. Os cortes foram contra-corados com Hematoxilina de Haris e analisados em microscópio óptico.

As avaliações foram realizadas por dois analisadores independentes.

Para a análise estatística foi empregado o Teste exato de Fisher para verificar a associação entre variáveis dos achados da palpação retal, da citologia, da histologia e imunoistoquímica. As estatísticas foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram efetuadas empregando-se o programa SAS (Statistical Analysis System).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aumento de volume prostático em todos os cães (Figura 1), foi observado pela palpação retal, foi identificado ao exame macro e microscópico como indicativo de HPB, sendo resultante da proliferação de tecido epitelial e estromal, com incremento no número e tamanho das células epiteliais (DI SANTIS, 2003). A assimetria glandular demonstrada em 25% dos animais analisados associada a nodulações de consistência flutuante a firme, sempre esteve relacionada ao tamanho glandular aumentado na HPB. Todos os animais avaliados apresentaram mobilidade glandular normal pelo exame toque retal (BARSANTI e FINCO, 1992).

A análise citológica de oito animais apresentou alterações sugestivas de HPB demonstrada pela maior celularidade de células prostáticas, indicando hiperplasia (40% das amostras), e pela identificação de células hipertróficas em 45% dos casos. Destes, cinco apresentaram associação do aumento da celularidade e a hipertrofia celular. A literatura veterinária apresenta dados controversos quanto à ocorrência de hiperplasia e hipertrofia na próstata de cães com HPB. No entanto, Barsanti (1999) sugere que ambas estão presentes, no que se refere às células epiteliais, embora a proliferação seja sempre mais evidente. A citologia demonstrou ser útil como exame complementar para o diagnóstico de prostatopatias, devido à rapidez na obtenção de diagnóstico, porém é imprescindível que os achados sejam

comparados aos do exame histopatológico (PERMAN et al., 1979). O mesmo foi confirmado pelo presente trabalho, pois foram obtidos resultados histopatológicos de HPB em 100% dos animais, sem no entanto ser esta alteração identificada na totalidade dos exames citológicos obtidos pelo lavado prostático. Da mesma forma, a visualização de células inflamatórias encontradas no fluido prostático não correspondeu ao número de glândulas que apresentaram infiltrado inflamatório intersticial através da histopatologia. Não foram observadas alterações nucleares nas células epiteliais na citologia submetida à coloração de Papanicolau o que indica a ausência de alterações displásicas e neoplásicas, achado este, no histopatológico corroborando com Raskin e Meyer, 2003.

Em sete amostras (35%) de lavado prostático havia leucócitos polimorfonucleares e, dentre elas, somente em um cão ocorreu associação com mononucleares, demonstrando ser baixa a possibilidade de detecção de células mononucleares no lavado prostático nos casos de proctite crônica, visto que a inflamação apresenta-se intersticial. A análise estatística confirmou não haver correlação entre estas duas variáveis. Ladds (1993); Laufer-Amorim (2001) afirmaram que a cronicidade é distinguida por agregados de linfócitos, plasmócitos e macrófagos no estroma fibromuscular na análise histopatológica de próstatas caninas com hiperplasia prostática benigna.

No presente estudo, os resultados histopatológicos demonstraram que 100% das próstatas apresentaram algum dos 3 tipos de hiperplasia, em concordância com os relatos de Mahapokai et al. (2000); Cury et al. (2006). A hiperplasia prostática, isolada ou em associação em uma mesma glândula foi descrita por Di Santis (2003), que sugeriu que, uma vez instalada qualquer lesão patológica, a próstata se torna susceptível a outras alterações subseqüentes como os processos inflamatórios ou infecciosos. De forma semelhante, as alterações hiperplásicas foram: 100% de HPC, 60% de HPEp e 45% de HPE. A hiperplasia prostática cística (HPC) foi observada em todas as glândulas analisadas (Figura 2) e esteve

presente isoladamente em 25% dos casos. A associação de HPC e HPEp foi observada em 30%, HPC e HPE em 15% e a combinação dos três tipos de hiperplasia foi demonstrada em 30% das amostras analisadas. Houve correlação estatística ($p = 0,0207$) entre a grande quantidade de células observadas à citologia e a presença de HPEp, demonstrando que para esta alteração, a citologia do lavado prostático é um importante método diagnóstico.

Através da histopatologia, nas glândulas com HPC, foi evidenciado adelgaçamento do epitélio luminal quando da presença de ácinos císticos o que está de acordo com BLACK et al., 1998. Em 95% das amostras analisadas foram identificadas estruturas císticas de tamanhos diferentes associados à hiperplasia e distribuídos por todo o parênquima glandular de tamanhos diferentes. Estes achados corroboram com os descritos por Black et al., (1998); Johnston et al. (2000); Di Santis (2003) que caracterizam a hiperplasia cística pelo revestimento epitelial hiperplásico do tipo cúbico, com formação de grandes cavidades, ácinos dilatados, císticos e preenchidos por material eosinofílico. Como este tipo de hiperplasia é descrita como a de maior frequência em cães acima de cinco anos, pontua-se que as alterações hiperplásicas devem se iniciar em animais adultos/jovens como HPEp e evoluírem para HPC como descrito por Vannucchi et al. (1997).

A atrofia da glândula prostática foi observada em 20% das amostras. Estes achados estão de acordo com os relatos de Ladds (1993); Laufer-Amorim (2001) que descreveram a atrofia glandular associada a inflamação da próstata e HPB. A dilatação glandular foi evidenciada em 100% das amostra e em 80% dos animais houve destruição do parênquima em vários graus devido ao processo inflamatório instalado, concordando com Metten (1978 apud DI SANTIS, 2003).

O infiltrado inflamatório intersticial mononuclear, (Figura 3), foi observado em 85% das glândulas prostáticas analisadas, apresentando-se difuso na maioria dos casos,

confirmando a sua alta incidência em cães com idade acima de 5 anos (KRAWIEC, 1994). A evidência de inflamação crônica branda é comum em HPB, corroborando com Barsanti (1999); Sessions e Barsanti (2004). Entretanto, 62,5% das amostras apresentaram infiltrado intersticial mononuclear moderado a intenso associado a atrofia do epitélio glandular, dilatações glandulares, cistos e destruição glandular. Estes achados, segundo Di Santis (2003), são indicativos com prostatite crônica. A ausência de correlação entre os achados de infiltrado intra-acinar (5,88%) e a identificação de células inflamatórias na citologia do lavado (35%), pode ser explicado pela localização intersticial do processo inflamatório crônico.

Na avaliação imunoistoquímica, de acordo com Wernet e Seitz (1987); Grieco et al. (2003), o anticorpo CK AE1/AE3 marcou o epitélio secretório, células basais de glândulas e ductos prostáticos normais. Neste trabalho, a avaliação imunoistoquímica utilizando este mesmo imunomarcador foi positiva em 100% das glândulas, marcando predominantemente, com classificação de escore 1, células epiteliais luminais cúbicas que revestiam a maioria dos ácinos dilatados (Figura 4), indicando que estas células sofrem alterações morfológicas e metabólicas importantes nesta afecção. Não houve imunomarcagem de células basais sem alterações morfológicas presentes ou hiperplásicas e foi rara a marcação do epitélio colunar normal, contrariando os relatos dos autores Wernet e Seitz (1987); Grieco et al. (2003). Não houve marcação de células estromais, concordando com Wernet e Seitz (1987); Grieco et al. (2003).

Wernert e Seitz (1987) afirmam que o epitélio secretório da glândula prostática normal e com hiperplasia expressa a VIM nas regiões basais do citoplasma, e que células basais normais ou hiperplásicas não expressam. Neste trabalho não foi observada expressão da VIM no epitélio secretor normal ou hiperplásico e, porém o epitélio basal normal demonstrou imunomarcagem em 10%. Ao contrário, em 65% das amostras, com o escore variando entre 1, 2 e 3, observou-se a positividade para este imunomarcador em células basais de ácinos

acentuadamente císticos (Figura 5), cujo epitélio luminal encontrava-se extremamente adelgado ou em locais onde havia intensa proliferação do epitélio secretório, concordando com Heatley et al. (1995); Fraga et al. (1998). A diferença na expressão da VIM entre o epitélio normal e o hiperplásico pode estar relacionada com a atividade proliferativa e ambos os tecidos. A maior expressão da VIM no epitélio da HPB estaria relacionada ao maior grau de atividade mitótica, quando comparado ao epitélio normal (FRAGA et al., 1998). De Marzo et al. (1999) demonstraram, utilizando estudos imunoistoquímicos, que há uma maior taxa de proliferação no epitélio basal em próstatas normais. Esta observação reforça a hipótese de que estas células seriam precursoras do epitélio secretório e de possuírem função de “stem cells” (DE MARZO et al., 1999).

As células estromais demonstraram 100% de imunomarcacão para a VIM corroborando com Grieco et al. (2003) que descreveram a expressão da VIM V9 apenas em fibroblastos estromais e células endoteliais prostáticas. A imunomarcacão foi intensa nas regiões de proliferação estromal, incluindo os vasos sangüíneos e fibroblastos.

A comparacão dos métodos de diagnósticos de toque retal, citologia, histologia e imunoistoquímica propostos, demonstrou que o exame do toque retal para avaliar a glândula prostática, deve ser instituído como parte do exame clínico de rotina em cães machos, não castrados, acima de 5 anos, devido a alta porcentagem de animais que apresentaram, neste estudo, associacão do aumento do tamanho glandular com alteracões histológicas compatíveis com hiperplasia prostática benigna.

O uso isolado do exame citológico realizado através do lavado prostático não é indicado para o diagnóstico da HPB no cão, devido às diferenças nos resultados demonstrados, em uma mesmo animal, entre este exame e o histológico. Portanto, o exame de citopatologia mostrou-se útil no auxílio à histopatologia no diagnóstico desta prostatopatia.

A imunoistoquímica mostrou-se de extrema importância para a análise morfológica das células epiteliais prostáticas de glândulas hiperplásicas e de pouco valor para o auxílio no diagnóstico da hiperplasia prostática benigna no cão.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, A. A. et al. Análisis of the Risk Factors for Incidental Carcinoma of the Prostate in Patients With Benign Prostatic Hyperplasia. **Clinics**, v.61, n.6, p.545-550, 2006.
- ARAÚJO-FILHO, J. L. S. et al. Galactina-3 em Tumores de Próstata: Imuno-histoquímica e Análise Digital de Imagens. **J Bras Patol Med Lab.**, v.42, n.6, p.469-475, 2006.
- AUMÜLLER, G.; STOFFT, E.; TUNN, U. Fine structure of the canine prostatic complex. **Anatomy and Embryology**, v.160, p.327-40, 1980.
- BABINSKI, M. A. et al. Morfología y Fracción del Área del Lumen Glandular de la Zona de Transición en la Próstata Humana. **Rev Chil Anat.**, v.20, n.3, p. 255-262, 2002.
- BARSANTI, J. A. Prostatic infections: diagnosis and therapy. **Bayer Select Proceedings**, p.40-9, 1998.
- BARSANTI, J.A. Prostatic hyperplasia: medical therapy. **Proc. Am. Clin.Vet. Int. Med.**, v.17, p.536-8, 1999.
- BARSANTI, J. A.; FINCO, D. R. Moléstias prostáticas do cão. In: ETTINGER, S. J. **Trat. de Med. Int. Vet.**. 3 ed. Ed. Manole Ltda., 1992, p.941-63.
- BLACK, G. M., et al. Prevalence of prostatic cysts in adult, large-breed dogs. **J. Am. Hosp. Assoc.**, v 34, p. 177-80, 1998.
- BRENDLER, C. B., BERRY, S.L., EWING, L. L. Spontaneous benign prostatic hyperplasia in the beagle: Age associate changes in serum hormone levels, and the morphology and secretory function of the canine prostate. **J. Clin. Invest.**, v.71, p.1114-23, 1983.

COLLINS, A. T.; et al. Identification and Isolation of Human Prostate Epithelial Stem Cells Based on $\alpha 2\beta 1$ - Integrin Expression. **J. of Cell Science.**, v.114, p.3865-72, 2001.

CURY, C. A.; AZOUBEL, R.; BATIGALIA, F. Bladder drainage and glandular epithelial morphometry of the prostate in benign prostatic hyperplasia with severe symptoms. **International Braz J Urol.**, V.32, n.2, p.211-215, 2006.

DE MARZO, A. M., et al. New concepts in tissue specificity for prostate cancer and benign prostatic Hiperplasia. **Urology**, v. 53, p. 29-40, 1999.

DI SANTIS, G. W. **Estudo morfológico, morfométrico e imunoistoquímico de próstatas caninas normais e hiperplásicas.** 2003. 128p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

FRAGA, C. H., et al. Enhanced expression of the mesenchymal marker, vimentin, in hyperplastic versus normal human prostatic epithelium. **J. Urol.**, v. 159, p. 270-274, 1998.

GOBELLO, C.; CORRADA, Y. Noninfectious prostatic diseases in dogs. *Compend. Cont. Ed.* v.24, p.99-107, 2002.

GRIECO, V.; et al. Cytokeratin and Vimentin Expression in Normal and Neoplastic Canine Prostate. **J. Comp. Path.**, v.129, p.78-84, 2003.

HEATLEY, M., et al. Vimentin and cytokeratin expression in nodular hyperplasia and carcinoma of the prostate. **J Clin Pathol.**, v.48, p.1031-1034, 1995.

JOHNSTON, S. D.; et al. Prostatic disorders in the dog. **Animal Reprod. Science**, v.60, p. 405-15, 2000.

KRACWIEC, D. R. Canine prostate gland. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.204, n.10, p.1561-4, 1994.

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.

- LAUFER-AMORIN, R. L. **Estudo clínico, laboratorial e anatomo-patológico das próstatas de cães adultos.** 2001. 116p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- MAHAPOKAI, W. et al. Models for Studying Benign Prostatic Hyperplasia. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v.3, p.28-33, 2000.
- MURASHIMA JÚNIOR, J. C. **Mensuração da próstata por ultra-sonografia trans-abdominal, e sua associação com a massa corpórea de cães adultos e clinicamente sadios.** Botucatu, 2001. 47p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade Estadual Paulista. 2001.
- MUZZI, L. A. L. et al. Ultra-sonografia e citologia das afecções prostáticas em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.51, p.9-16, 1999.
- PERMAN, V.; ALSAKER, R. D.; RIIS, R. C. Cytology of the dog and cat. **South Bend: Am. Anim. Hosp. Ass.**, p.159, 1979.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT software:** changes and enhancements through release 6.12. Cary: Statistical Analysis System Institute, 1997, p.1167.
- RASKIN, R. E.; MEYER, D. J. Atlas de citologia de cães e gatos. São Paulo:Roca, 2003. 251p.
- SESSIONS, J. K; BARSANTI, J.A. A dog with na enlarged prostate and bloody preputial discharge. *Veterinary Medicine.*, v. , p.427-434, 2004.
- SOUZA, F.F.; TONIOLLO, G. H. Marcadores de tecido prostático no cão. **Rev. de Educ. Contin. CRMV SP**, v.4, n.3, p.63-70, 2001.
- TVEDTEN, H. Cytology of neoplastic and inflammatory masses. In: WILLARD, M. D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G. H. (Ed.) **Small Animal Clinical Diagnosis by laboratory methods**, 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1994, p.321-41.

VANNUCCHI, C. I.; et al. Afecções prostáticas em cães: sinais clínicos, diagnóstico e tratamento. **Clínica Veterinária**, ano II, n.11, p.37-42, 1997.

WERNERT, N.; SEITZ, G. Immunohistochemical Investigation of Different Cytokeratins and Vimentin in the Prostate from the Fetal Period up to Adulthood and in Prostate Carcinoma. **Path. Res. Pract.**, v.182, p.167-626, 1987.

Comparação dos Métodos de Palpação retal, Citologia, Histologia e Imunoistoquímica para o Diagnóstico da Hiperplasia Prostática Benigna no Cão.

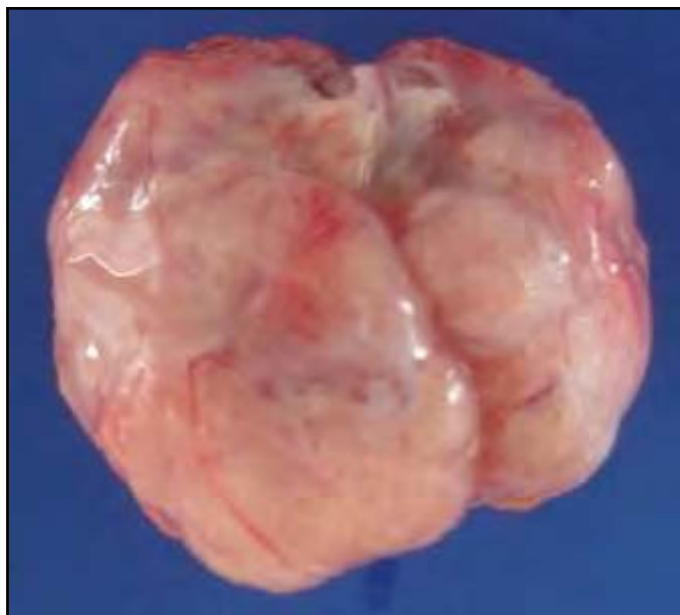


Figura 1: Glândula prostática mostrando alterações macroscópicas de prostatomegalia .

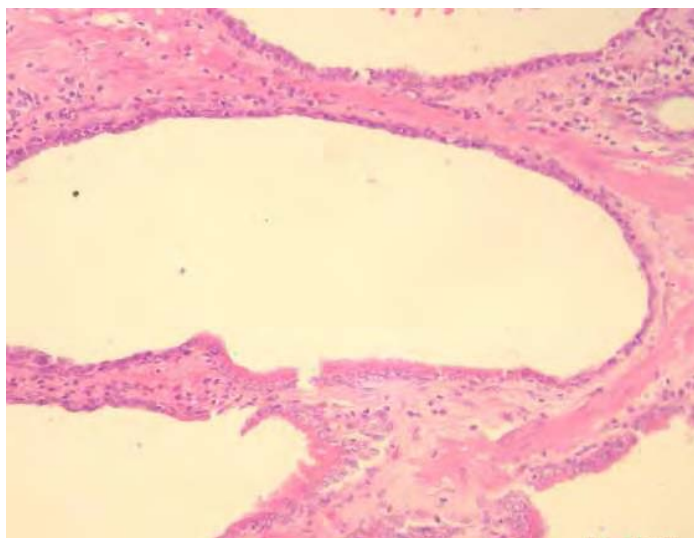


Figura 2: fotomicrografia demonstrando a hiperplasia cística prostática benigna e do epitélio luminal adelgado (H&E 40 X) .

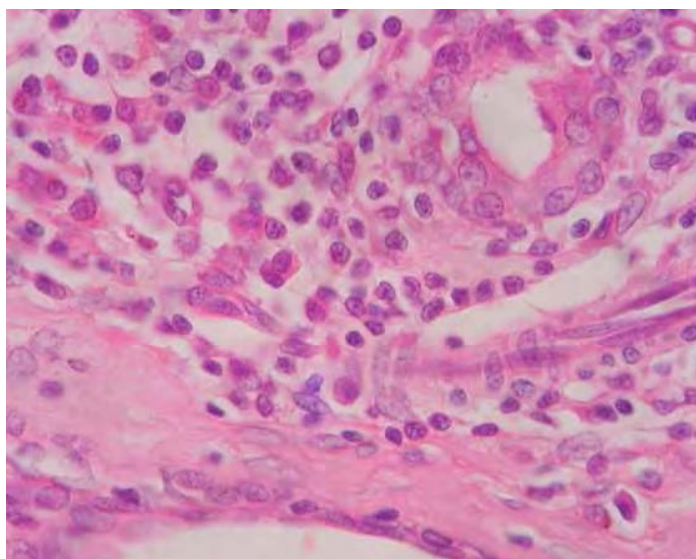


Figura 3: Fotomicrografia da prostatite crônica com presença de infiltrado inflamatório mononuclear no estroma glandular (H&E 100X).

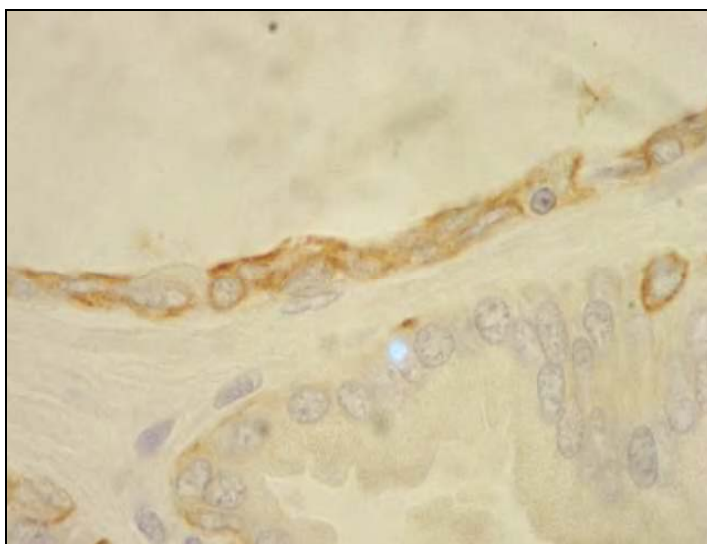


Figura 4: Fotomicrografia da expressão da imunomarcacão com o anticorpo monoclonal CK clone AE1/AE3 na hiperplasia prostática benigna (100X).

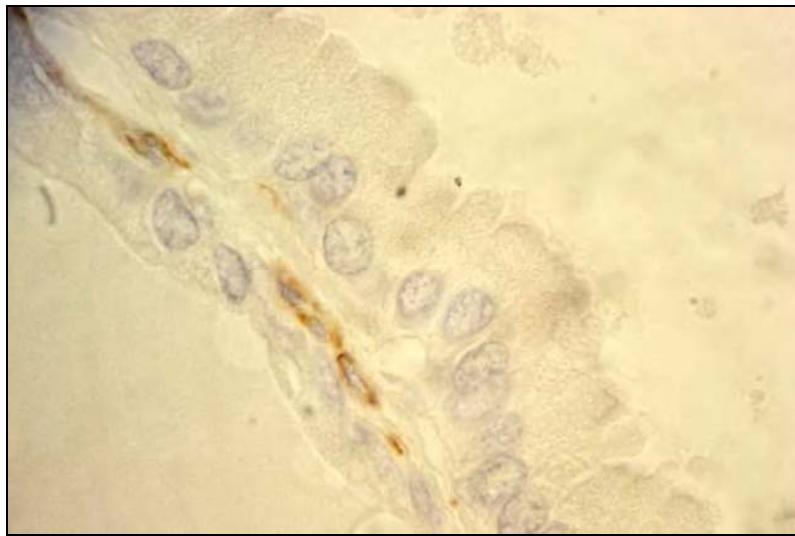


Figura 5: Fotomicrografia da expressão da imunomarcacão com o anticorpo monoclonal VIM clone V9 na hiperplasia prostática benigna (100 X).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados observados no presente estudo, pode-se concluir que:

- O toque retal é um método de triagem para a análise clínica da glândula prostática com HPB no cão.
- Não houve correlação entre os exames histopatológicos e citológicos, de tal forma que a utilização do lavado prostático como método diagnóstico isolado para a hiperplasia prostática benigna no cão não é indicado.
- Houve associação dos três tipos de hiperplasia prostática em uma mesma glândula canina.
- A acentuada expressão da vimentina V9 em células epiteliais basais localizadas sob células luminais adelgaçadas de ácinos císticos, quando comparada com a camada de células basais de ácinos sem alterações morfológicas, indica uma atividade celular intensa e confere a este epitélio a função de possível provedor de células epiteliais secretoras.
- A imunomarcação da CK AE1/AE3 em células luminais patologicamente alteradas, em detrimento ao epitélio luminal normal, demonstra alteração morfológica importante.