

Carolina Vilaça Santana

**ESTUDO HISTOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DE PRÓSTATA DE CÃES EM DIFERENTES
IDADES**

Dissertação apresentada à Escola de
Veterinária da Universidade Federal de
Minas Gerais, como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Medicina
Veterinária

Área de concentração: Reprodução Animal
Orientador: Ernane Fagundes do Nascimento

Belo Horizonte
UFMG - Escola de Veterinária
2006

S232e

Santana, Carolina Vilaça, 1973-

Estudo histológico e histoquímico de próstata de cães em diferentes idades / Carolina Vilaça Santana. - 2006.

75 p. : il.

Orientador: Ernane Fagundes do Nascimento

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1. Cão – Teses. 2. Próstata – Secreções – Teses. 3. Histoquímica – Teses. 4. Glicoconjugados – Teses. I. Nascimento, Ernane Fagundes do. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.708 9

*Aos meus queridos pais Dalva e Carlos,
que sempre caminharam ao meu lado em todas as etapas de minha vida.*

*Ao meu companheiro Rodrigo,
pelo grande apoio, carinho e paciência nas horas difíceis.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde, pelos amigos por ele revelados e por guiar-me neste caminho acadêmico.

Ao meu orientador, Prof. Ernane Fagundes do Nascimento, pela confiança, apoio, oportunidade e lições de caráter que colaboraram para a minha formação de Veterinária.

A “Família Recanto Animal”, Maria Teresa, Jair, Tatiana, Virgínia, Aparecida, Dagmar, Patrícia, Marcelo, Tiago, Kemersom, Janaína e em especial à nossa “mãe Elizabeth” que, não só forneceu os animais para o experimento, como também horas de aprendizado técnico e de vida. Muito obrigada por tudo!

Ao Prof. José Carlos Nogueira, pelas valiosas sugestões, apoio e coorientação.

Ao Prof. Guilherme Valle e Maristela Palhares pelo apoio nas análises estatísticas.

Ao Prof. Geovanni Dantas Cassali do Laboratório de Patologia Comparada do ICB-UFMG, pelas análises de imunohistoquímica.

A Prof. Rogéria Serakides pelo carinho, apoio e incentivo nos momentos de importantes decisões.

Aos professores do Setor de patologia Roselene Ecco, Renato Lima Santos e Roberto Guedes pelo apoio e ensinamentos.

As estagiárias Juliana e Michele pelas colorações especiais e Wanessa pela imuno.

As amigas Mel e Marilene pelo preparo com carinho do material e pela agradável convivência no laboratório.

A “irmã” Tatiane pelo convívio, apoio na leitura do trabalho e análises estatísticas.

As amigas Silvia e Jankerle pela convivência e pelas fotografias.

A Patrícia, residente de patologia, pelas oportunas sugestões.

As “patológicas” Alcina, Natália, Regina, Fabiana, Taismara e o Edmilsom pela agradável convivência.

Aos animais que conceberam este experimento, meu total respeito e gratidão. Vocês foram especiais!

Aos amigos e familiares que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

E a todos aqueles que não citados, direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta importante etapa da minha vida.

*“ Mesmo que tu já tenhas feito uma longa caminhada,
há sempre um caminho a fazer”.*

Santo Agostinho

SUMÁRIO

	RESUMO	17
	ABSTRACT	19
1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DELITERATURA	22
	2.1 Anatomia e histologia.....	22
	2.2 Fisiologia.....	22
	2.3 Bioquímica.....	23
	2.4 Patologia.....	24
	2.4.1 Hiperplasia Prostática Benigna (HPB).....	24
	2.4.2 Prostatites.....	26
	2.4.3 Neoplasia.....	27
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
	3.1 Procedência do material e técnicas histológicas.....	28
	3.2 Grupos experimentais.....	28
	3.3 Estudo histoquímico.....	28
	3.4 Análise estatística.....	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
	4.1 Descrição histológica.....	30
	4.2 Alterações histopatológicas.....	31
	4.3 Histoquímica.....	43
	4.4 Relação entre patologias e secreções prostáticas.....	58
	4.5 Comentários Finais.....	65
5	CONCLUSÕES	66
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
7	ANEXOS	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Número de próstatas submetidas às colorações especiais nos 3 grupos etários.....	28
Tabela 2	Presença e ausência de alterações histopatológicas na próstata dos 67 cães examinados de acordo com três grupos etários.....	39
Tabela 3	Comparação da frequência absoluta da presença de alterações histopatológicas na próstata de cães do grupo de animais jovens e adultos com velhos.....	39
Tabela 4	Comparação da frequência absoluta da presença de alterações histopatológicas na próstata de cães do grupo de animais jovens e velhos com adultos.....	39
Tabela 5	Comparação da frequência absoluta da presença de alterações histopatológicas na próstata de cães do grupo de animais adultos e velhos com jovens.....	40
Tabela 6	Comparação da frequência absoluta da presença de alterações histopatológicas na próstata de cães quando comparadas as faixas etárias ente si.....	40
Tabela 7	Intensidade da coloração* pela técnica de PAS do parênquima glandular nos diferentes grupos.....	43
Tabela 8	Intensidade da coloração* pela técnica de PAS-a do parênquima glandular nos diferentes grupos.....	44
Tabela 9	Diferença de intensidade da coloração* pela técnica de PAS – PAS-a do parênquima glandular nos diferentes grupos para detecção de glicogênio prostático.....	44
Tabela 10	Intensidade da coloração* pela técnica de AB pH 2,5 do parênquima glandular nos diferentes grupos.....	49
Tabela 11	Intensidade da coloração* pela técnica de AB pH 0,4 do parênquima glandular nos diferentes grupos.....	49
Tabela 12	Diferença de intensidade da coloração* pela técnica de AB pH 2,5– AB pH 0,4 do parênquima glandular nos diferentes grupos.....	49
Tabela 13	Intensidade da coloração* pela técnica de Ninhidrina-Shiff do parênquima glandular nos diferentes grupos.....	57
Tabela 14	Níveis de significância (P) e coeficientes de correlação (r) das correlações entre intensidade de coloração e a idade dos cães.....	58
Tabela 15	Níveis de significância (P) e coeficientes de correlação (r) das correlações entre intensidade de coloração e presença de patologias.....	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Classificação das mucossustâncias.....	24
Figura 2	Métodos histoquímicos utilizados na demonstração de mucossustâncias e proteínas.....	29
Figura 3	Fotomicrografias da próstata normal de cães em diferentes idades. Observar a evolução histológica do parênquima em relação ao estroma glandular. A) Próstata de animal adulto com dois anos de idade. Parênquima glandular iniciando produção de secreção. HE 150X. B) Próstata de animal adulto com quatro anos de idade. Observar presença de secreção PAS positiva em grande quantidade nas células epiteliais (seta aberta) e estroma formado por fibroblastos (seta), fibras colágenas e células musculares lisas. PAS 200X.....	33
Figura 4	Fotomicrografias da próstata de cães com 14 anos de idade A e B, evidenciando Hiperplasia Prostática Benigna no parênquima glandular com áreas de formações hiperplásicas císticas (setas). A atividade secretora é normal nas áreas císticas (seta aberta). Observar infiltrado inflamatório no estroma glandular em A e B (seta pontilhada) HE 100X.....	35
Figura 5	Fotomicrografias da próstata de cão de 14 anos de idade evidenciando infiltrado inflamatório (seta) linfocitoplasmocitário no estroma. Observar intensa descamação de células epiteliais secretoras em B com evidente modificação na altura do epitélio secretor (seta aberta) HE 200X.....	37
Figura 6	Número de animais com alterações prostáticas no grupo Jovens.....	41
Figura 7	Número de animais com alterações prostáticas no grupo Adultos.....	41
Figura 8	Número de animais com alterações prostáticas no grupo Velhos.....	42
Figura 9	Porcentagem de animais com Prostatite, HPB e HPB associada a prostatite independentemente das faixas etárias estudadas.....	42
Figura 10	Fotomicrografia da próstata normal de cães em diferentes idades. Observar a evolução histológica do parênquima em relação ao estroma glandular. A) Próstata de animal jovem com dois meses de idade. Predomínio da região estromal em relação a epitelial. Parênquima glandular pouco desenvolvido com pequenas formações glandulares sem presença de ductos ou muito diminuídos quando presentes. HE 40X. B) próstata normal de animal jovem com quatro meses de idade. Parênquima glandular mais desenvolvido porém sem atividade secretora. HE 40X.....	45
Figura 11	Fotomicrografia da próstata de cão com quatro anos de idade. Observar intensa PAS positividade no epitélio secretor (seta vazia). PAS x HE 200X.....	47
Figura 12	Fotomicrografia da próstata de cão com quatro anos de idade. Rica secreção de mucossustâncias neutras no citoplasma supra-nuclear das células secretoras (seta). PAS-a x HE 600X.....	47
Figura 13	Fotomicrografias da próstata de cão A e B de três anos de idade. Observar presença de secreção (mucossustância ácida) no epitélio secretor (seta). Alcian Blue pH 2,5 200X.....	51

Figura 14	Fotomicrografias da próstata de cão A e B de dois anos de idade evidenciando secreção de mucossubstâncias ácidas sulfatadas no epitélio secretor (seta). Alcian Blue pH 0,4 200 X.....	53
Figura 15	Fotomicrografias A e B da próstata de cão de 10 anos de idade evidenciando secreção de material protéico rico em radical NH ₂ no epitélio secretor (seta). Ninhidrina-Schiff 600X.....	55
Figura 16	Variação da intensidade média de secreções de mucossubstâncias prostáticas nos diferentes grupos etários.....	57
Figura 17	Intensidade de coloração pela técnica de PAS de acordo com a idade dos cães em meses.....	590
Figura 18	Intensidade de coloração pela técnica de PAS após digestão com amilase salivar de acordo com a idade dos cães em meses.....	59
Figura 19	Intensidade de coloração pela técnica de AB pH 0,4 de acordo com a idade dos cães em meses.....	60
Figura 20	Intensidade de coloração pela técnica de AB pH 2,5 de acordo com a idade dos cães em meses.....	60
Figura 21	Intensidade de coloração pela técnica de Ninhidrina-Schiff de acordo com a idade dos cães em meses.....	61
Figura 22	Correlação entre intensidade média de coloração pelo PAS X patologias.....	62
Figura 23	Correlação entre intensidade média de coloração pelo PASa X patologias.....	63
Figura 24	Correlação entre intensidade média de coloração pelo AB pH 2,5 X patologias.....	63
Figura 25	Correlação entre intensidade média de coloração pela Ninhidrina-Schiff X patologias.....	64
Figura 26	Correlação entre intensidade média de coloração pelo AB pH 0,4 X patologias.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

AB pH 0,4	Alcian Blue pH 0,4
AB pH 2,5	Alcian Blue pH 2,5
CHPB-P	Complexo hiperplasia prostática benigna-prostatite
CPSE	Esterase Prostática Específica Canina
DHT	Diidrotestosterona
DP	Desvio Padrão
EGF	Fator de crescimento da epiderme
EPSC	Esterase prostática secretória canina
FIV	Fertilização “ in vitro”
GF	Fator de crescimento
GNRH	Hormônio liberador do hormônio do crescimento
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
HS	Sulfato de heparina
IGF-1	Fator de crescimento semelhante insulina tipo I
IGF-II	Fator de crescimento semelhante insulina tipo II
KGF	Fator de crescimento de ceratinócito
P	Nível de significância
PAF	Fator antibacteriano prostático
PAP	Fosfatase ácida prostática
PAS	Periodic acid schiff
PAS-a	Periodic acid schiff com digestão prévia pela amilase salivar
PSA	Antígeno Prostático Específico
PIN	Neoplasia intraepitelial prostática
r	Coefficiente de correlação
SHGB	Hormônio ligador de globulinas

SRD	Sem raça definida
TGB- β	Fator de crescimento transformante- β
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo caracterizar através de histoquímica as secreções das próstatas de cães em diferentes idades. Foram estudadas 67 próstatas de cães distribuídas em três grupos etários: grupo Jovens (dois meses a dois anos e meio de idade), grupo Adultos (três a seis anos) e grupos Velhos (sete a dezessete anos). Em todos os três grupos foram observadas alterações prostáticas a saber: 12 próstatas com HPB, 10 com prostatite e 30 com HPB associado a prostatite. Histoquimicamente, foi observado maior intensidade de secreção de mucossustâncias neutras e ácidas não sulfatadas nos grupos Velhos e Adultos respectivamente. A intensidade de mucossustâncias ácidas sulfatadas foi mais acentuada no grupo Adultos com decréscimo estatisticamente significativo no grupo Velhos. A secreção de proteínas ricas em radicais NH_2 foi mais intensa no grupo Adultos. Conclui-se que a próstata secreta mucossustância neutras, ácidas carboxiladas com maior intensidade no grupo Velhos e ácidas não sulfatadas no grupo Adultos. Existe uma correlação entre aumento da intensidade de secreção de mucossustâncias neutras e mucossustâncias com radical NH_2 no grupo Adultos e Velhos e aumento da patologia Complexo HPB- prostatite nos referidos grupos.

Palavras chaves: Próstata, glicoconjugados, histoquímica, canino.

ABSTRACT

The current work aimed at characterising secretions of canine prostates at different ages by means of Histochemistry. Sixty-seven canine prostates divided into three age groups have been studied: the first including young animals with ages between two months and 2.5 years old, the second with adult animals whose ages varied from three to six years old, and the third group with old animals with ages varying from seven to seventeen years old. Prostatic alterations have been noticed in all the three groups: 12 prostates had BPH (Benign Prostate Hyperplasia), 10 had prostatitis, and 30 animals had BPH associated to prostatitis. Histochemically, a bigger intensity of neutral and nonsulfated acid mucosubstances secretion has been noticed in the adult and old groups, respectively. The intensity of sulfated acid mucosubstances was more noticeable in the adult group with statistically significant decrease in the old group. The production of proteins rich in NH_2 radicals was higher in the adult group. Therefore, one may conclude that the prostate produces neutral carboxylated acid mucosubstances with more intensity in the old group and acid nonsulfated ones in the adult group. There is a correlation between the increase of secretion intensity of neutral mucosubstances and those mucosubstances with NH_2 radicals in the adult and old groups and an increase of the BPH-prostatitis Complex in the related groups.

Keywords: Prostate, glycoconjugates, histochemistry, canine.

1. INTRODUÇÃO

O estudo da próstata de cães é de interesse não só de veterinários e criadores, bem como de pesquisadores, devido às semelhanças morfológica e funcional com a próstata humana, constituindo um importante modelo para estudo das patologias da próstata do homem.

Fornecer dados importantes sobre fisiopatologia e proporcionar melhor interpretação da interferência ambiental exercida nas alterações, que na espécie humana, constitui uma das principais causas de óbitos (Orgad et al., 1984, Lowseth et al., 1990, Cowan et al. 1991, Dorfman e Barsanti, 1995 e Waters, 1999).

A principal função da próstata é secretar o líquido prostático que faz parte do plasma seminal, constituído basicamente pelo ácido cítrico e frutose (Mann, 1981) essencial para a sobrevivência e capacidade fertilizante dos espermatozoides. O líquido prostático representa a terceira fração do ejaculado canino, sendo normalmente límpido e seroso (Valle, 2002). Apresenta função bactericida mediada pela produção de globulinas (Mann, 1964) e da substância dependente de zinco (Dorfman e Barsanti, 1995).

Doenças da próstata são comuns em cães de qualquer raça (Krawiec, 1994) sendo observadas com maior freqüências em cães adultos com mais de 5 anos (Thrall et al., 1984). Dentre as afecções prostáticas dos cães destacam-se os processos proliferativos particularmente a hiperplasia prostática benigna (HPB) (Peter et al., 1995 e Ettinger e Feldman, 1997) e as alterações inflamatórias (Cowan et al, 1991, Nascimento e Santos, 2003), que são bastante freqüentes e capazes

de desencadear transtornos clínicos de difícil tratamento e recuperação.

Técnicas de histoquímica vem sendo empregadas para detecção de mucossubstâncias através de moléculas marcadoras secretadas na próstata, principalmente em condições patológicas (Iida et al., 1997).

A próstata apresenta atividade secretora que sofre alterações qualitativas desde o início da puberdade até a senilidade. O epitélio secretor prostático produz uma série de macromoléculas dentre elas as glicoproteínas. A escassez de informações sobre a natureza química das secreções prostáticas motivou a realização deste trabalho que teve os seguintes objetivos:

O estudo sistemático da histologia da única glândula sexual acessória de cães em diferentes idades,

Reconhecer os grupos de glicoproteínas presentes na próstata,

Verificar as diferenças quantitativas e qualitativas de glicoproteínas em diferentes idades na próstata normal ou alterada,

Confirmar que animais com idade mais avançada apresentam maior incidência de patologias.

Relacionar a intensidade de produção das secreções com o aparecimento das diferentes patologias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Anatomia e histologia

Nos cães, a próstata, única glândula genital acessória importante (Sisson e Grossman, 1975 e Peter et al., 1995) localiza-se na cavidade pélvica, circundando completamente a porção cranial da uretra adjacente à bexiga. Está posicionada ventralmente ao reto nos animais adultos, enquanto nos jovens até dois anos de idade se localiza na cavidade abdominal (Dorfman e Barsanti, 1995). Sua origem embrionária está no epitélio do seio urogenital e botão endodérmico da uretra primitiva (Aumuller, 1979).

Cooney et al. (1992) observaram que a próstata é constituída por um conjunto de adenômeros túbulo-acinares ramificados, cujos ductos desembocam na uretra prostática. Apresenta-se envolta por uma cápsula fibroelástica rica em fibras musculares lisas, que emitem septos os quais penetram no parênquima formando o estroma que envolve o parênquima glandular. A uretra prostática apresenta tecido epitelial colunar pseudo-estratificado. O estroma é formado por células musculares lisas, fibroblastos, fibras colágenas, fibras elásticas, vasos sanguíneos e linfáticos, proteoglicanos e tecido nervoso (Bartsch et al., 1987 e Cardoso et al., 2000). Os túbulos acinosos são revestidos por epitélio colunar ou cilíndrico biestratificado, com células secretoras (luminais) e basais (Junqueira e Carneiro, 1999 e El-Alfy, 2000). Os ductos secretores apresentam epitélio transicional e se abrem na uretra ao redor dos ductos deferentes, formando o colículo seminal (Barsanti e Finco, 1992, Dorfman e Barsanti, 1995). As células basais não se comunicam com a membrana basal segundo Merk et al. (1982)

em casos de metaplasia, ao contrário do que ocorre na hiperplasia e próstata normal.

O papel das células basais está relacionado com desenvolvimento e organização do ductos e ácinos da próstata canina, além disso existem duas populações de células basais distintas: uma mais susceptível ao desenvolvimento da hiperplasia e outra da neoplasia. (leav et al. 2001)

É um órgão hormônio dependente, uma vez que, a retirada dos testículos, leva a atrofia do tecido glandular e a presença ou variações hormonais, leva ao aumento gradual dos componentes epiteliais e do estroma glandular (Barsanti e Finco, 1992).

O tamanho da glândula é variável de acordo com a idade do cão. Até os 2 anos de idade a glândula representa 0,66 g/Kg, dos 3 aos 5 anos chega a pesar 0,67g/Kg e dos 6 ao 16 anos pode pesar a 1g/Kg. Após essa idade ocorre involução senil (Poulet, 1985).

2.2. Fisiologia

O líquido prostático, produzido por estímulo parassimpático através do nervo hipogástrico, é constituído basicamente pelo ácido cítrico e frutose (Mann, 1981 e Jonhston et al., 2000) que é essencial para a sobrevivência e capacidade fertilizante dos espermatozoides. O líquido prostático representa a terceira fração do ejaculado canino, sendo normalmente límpido e seroso (Valle, 2002). Além disso é responsável pela variação do volume e características do ejaculado. Apresenta função bactericida mediada pela produção de globulinas (Mann, 1964) e da substância dependente de zinco (Dorfman e Barsanti, 1995). No homem, função semelhante foi observada com o *prostatic antibacterial factor* (PAF) (Bell et al.,

1995).O pH da secreção prostática, que varia entre 6,0 e 7,4 é importante para a difusão de drogas usadas na próstata (Dorfman e Barsanti, 1995).

Na próstata canina, há baixa produção do antígeno prostático específico (PSA), uma glicoproteína, presente no líquido prostático humano. A concentração de PSA no plasma seminal humano é variável entre as glândulas normais e alteradas, possibilitando sua utilização como marcador das patologias prostáticas auxiliando no diagnóstico e na avaliação da extensão da patologia, além de ser indicador de eficácia da terapêutica empregada. Em cães, as células epiteliais, sob estímulo da testosterona e diidrotestosterona (hormônio proveniente da ação da enzima 5 α redutase sobre a testosterona), secretam a esterase prostática secretória canina (EPSC), cuja função ainda não está bem estabelecida (Bell et al., 1995), porém em casos de hiperplasia prostática benigna, (HPB) apresenta-se concentrações elevadas nos soros sanguíneos (Gobello et al., 2002).

2.3. Bioquímica

Várias substâncias produzidas na próstata desempenham importante papel na atividade secretora da glândula, nas interações parácrinas entre epitélio-estroma e nas patologias prostáticas.

De acordo com Albert et al.(1997), os fatores de crescimento (GF), são componentes vitais fornecidos pelo soro sanguíneo, altamente específicos e requisitados em pequenas concentrações. Vários GFs foram encontrados nos tecidos prostáticos humanos com suas respectivas famílias e desempenham diversas atividades como o Fator de Crescimento de Epiderme (EGF), fator que estimula proliferação celular, Fator

de Crescimento de Ceratinócitos (KGF), o Fator de Crescimento Transformante β (TGF β), Fator de Crescimento tipo Insulina (IGF-I e IGF-II) (Ittman e Mansukhani, 1997 e Srougi, 1995). Segundo Srougi (1995), os GFs apresentam atividade mitogênica na próstata humana mais potente que a diidrotestosterona (DHT) e ocorre uma interação parácrina e autócrina na proliferação das células prostáticas com os hormônios androgênicos. Os hormônios esteróides também podem funcionar como fatores de crescimento ligando-se a receptores intracelulares (Theyer, 1992 e Albert et al., 1997) proporcionando aumento do número de células epiteliais e de células do sistema imune, principalmente linfócitos e macrófagos, favorecendo a hiperplasia e a prostatite não bacteriana.

Segundo Lagow et al. (1999) outra classe de substâncias encontradas no tecido prostático são os glicoconjugados ou mucossustâncias. As mucossustâncias são carboidratos associados a proteínas com várias funções tais como: lubrificação da superfície epitelial, prevenção da desidratação tecidual, promoção da adesão celular favorecendo a comunicação entre as células, proteção tecidual da invasão bacteriana favorecendo a resposta imunológica aumentando o influxo de macrófagos e neutralizando a atividade bacteriana. Além disso, mantém a estrutura celular, favorecem o reconhecimento da célula para o sistema imune, inibem ou estimulam a apoptose. As mucossustâncias são divididas em 2 grupos: Neutras e ácidas (Figura 1).

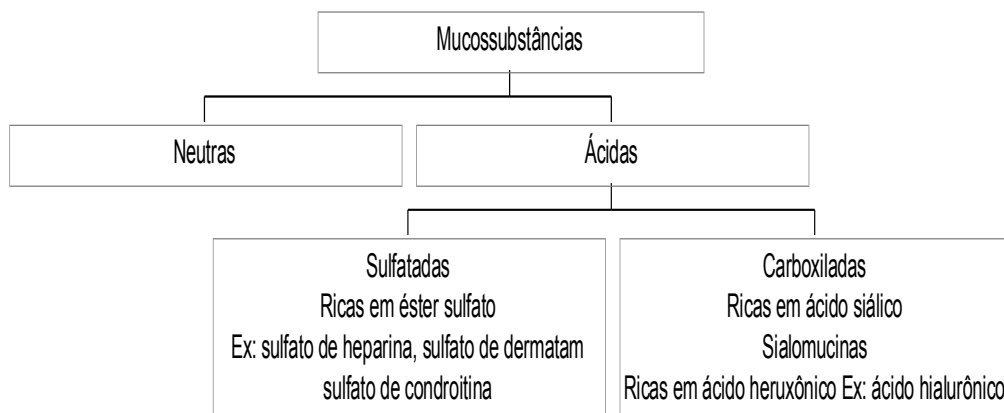


Figura 1. Classificação das mucossustâncias.

As ácidas se dividem em sulfatadas como sulfato de keratam, sulfato de dermatam, sulfato de heparina, sulfato de condroitina encontradas no tecido estromal dos órgãos. As mucossustâncias não sulfatadas são ácido hialurônico e a condroitina ricas em ácido heruxônico e as sialomucinas ricas em ácido siálico (Spicer et al., 1965, Albert et al., 1997, Lagow et al., 1999) encontradas nos tecidos epiteliais.

As mucossustâncias exercem importante papel na sinalização química entre as células inibindo ou ativando uma série de fatores de crescimento (Lagow et al., 1999)

Uma importante função das mucossustâncias ácidas, particularmente a heparina, no processo reprodutivo é o efeito sobre o processo de capacitação dos espermatozoides. “In vitro” nos casos de fertilização “in vitro” (FIV), utiliza-se a heparina para capacitar os espermatozoides, tornando-os aptos à fecundação (Nascimento, 2006)¹.

No estroma da próstata humana normal e com patologias, já foram determinados sulfato

dermatam, de heparina e de condroitina. Observou-se que ocorre modificação na secreção de mucossustâncias neutras para ácidas em próstata com carcinomas (Cardoso et al., 2000).

2.4. Patologias

As alterações prostáticas são frequentes em cães adultos não havendo predisposição racial (Thrall et al., 1984, Cowan et al., 1991, Krawiec, 1994, Peter et al., 1995, Ettinger e Feldman, 1997, Nascimento e Santos, 2003). As alterações prostáticas morfológicas e ou funcionais resultam na diminuição da fertilidade e em transtornos clínicos, podendo acarretar o óbito em cães à semelhança ao que ocorre frequentemente em homens com neoplasias malignas (Franks, 1956).

2.4.1. Hiperplasia Prostática benigna (HPB)

É a patologia da próstata mais comum de cães adultos não castrados. É uma condição espontânea e relacionada com a idade avançada. Acomete 100% dos cães com mais de 6 anos e associa-se a presença funcional dos testículos. Cães castrados não apresentam

¹Nascimento, E. F. 2006 Informação pessoal.

essa alteração hiperplásica. A etiopatogenia da HPB parece estar relacionada ao desequilíbrio da diidrotestosterona com estrógeno resultando em crescimento hiperplásico do epitélio glandular e estroma (Lowseth et al., 1990, Dorfman e Barsanti, 1995). Segundo Lee et al. (1997), o aumento dos níveis de DHT no epitélio prostático, estimula receptores de estrógeno localizados nas células do estroma e a produção de estrógenos favorece a proliferação de células epiteliais através da síntese do fator de crescimento semelhante a insulina I e II. Coffey (2001) demonstrou que o estrógeno diminui a taxa de apoptose, favorece a formação de agentes oxidativos, diminuindo a atividade secretória epitelial e, induz a reação inflamatória.

No cão, o padrão histológico das HPB difere do homem, pois, a proliferação ocorre somente no componente epitelial; já no homem a proliferação ocorre no componente estromal e epitelial (Dorfman e Barsanti, 1995). Lowseth et al. (1990) relatou um tipo especial de HPB canina, hiperplasia complexa, onde ocorre o envolvimento também do estroma com aumento de volume e presença de infiltrado inflamatório. Ele ainda sugere o cão como modelo de estudo para HBP humana.

Outra teoria relaciona a patogenia da hiperplasia, com desequilíbrio mais complexo entre proliferação e morte celular causado por Fatores de Crescimento de Ceratinócitos (KGF) e Fator de Crescimento Transformante β (TGF β) (Niu et al., 2003). Esses fatores são encontrados no estroma da próstata, sendo o KGF um potente fator mitogênico presente nos fibroblastos e o TGF β um potente inibidor do epitélio prostático presente nas células musculares lisas. As células epiteliais possuem receptores para ambos e permanecem em equilíbrio quando a glândula

está normal, sugerindo um mecanismo parácrino na reorganização e crescimento epitélio-estroma (Cardoso et al., 2000). A alteração na relação epitélio-estroma promovida pelo desequilíbrio androgênico resulta no descontrole da relação entre os dois fatores de crescimento e conseqüentemente desequilíbrio entre proliferação e morte celular (Niu et al., 2003).

O diagnóstico definitivo da HPB é realizado por biópsia. Exames complementares como radiografia abdominal, ultra-sonografia, análise do fluido prostático, urinálise, exame hematológico, palpação retal, avaliação do sêmen e histórico do animal são essenciais para definir as patologias da próstata, uma vez que duas ou mais alterações podem estar presentes (Barsanti e Finco, 1992 e Muzzi et al., 1999). A citologia ou biópsia não são recomendada em cães com suspeita de abscesso ou infecção aguda devido ao risco de peritonite (Barsanti e Finco, 1992, Dorfman e Barsanti, 1995).

Outros fatores envolvidos na gênese da HPB humana incluem hormônios capazes de promover o crescimento prostático como prolactina, Hormônio liberador do hormônio do crescimento (GnRH), hormônio ligador de globulinas (SHBG) produzido pelas células de Sertoli (Lee, 1997).

Fatores ambientes como reação imunológica promovida pelas secreções prostáticas da HPB, atraem linfócitos e macrófagos através da liberação de interleucinas 1 e 6, fatores de crescimento promotores de neovascularização, criando um ambiente favorável à HPB. Além disso, homens com deficiência da enzima 5α redutase apresentam próstata rudimentar (Lee, 1997).

Segundo Theyer et al. (1992) e Billis (1997), um infiltrado inflamatório está presente nas próstatas humanas com hiperplasia sugerindo uma ação imunológica celular. Esses autores acrescentam ainda que a próstata com o passar do tempo desenvolve um processo auto-imune gerado por antígenos específicos locais criando um ambiente favorável ao crescimento glandular.

A maioria dos cães não apresenta sinais clínicos e, quando presentes, são favorecidos pela localização anatômica, pois a glândula envolve o colo da bexiga levando à obstrução uretral, uremia, disúria, corrimento uretral hemorrágico além de constipação intestinal e tenesmo. Muitos cães não apresentam sinais clínicos, somente próstata simetricamente aumentada, indolor e com superfície levemente irregular Ettinger e Feldman, 1997.

O tratamento deve ser realizado em cães sintomáticos. Embora o tratamento mais recomendado para hiperplasia no cão seja a castração, baixas doses de estrógenos do tipo dietilestilbestrol na dose de 0,2 a 1,0 mg/dia durante 5 dias ou a intervalos de alguns dias por 3 semanas já foram utilizados, porém efeitos adversos tais como pancitopenia, metaplasia escamosa, formação de cistos prostáticos, implicaram no desuso desta droga. Outras drogas sugeridas são: acetato de megestrol, acetato de medroxiprogesterona, por não apresentarem efeitos na qualidade do sêmen e na libido. Entretanto segundo Bamberg-Thalen e Linde-Forsberg, (1993) somente 53% dos cães tiveram redução do tamanho da glândula e alguns cães desenvolveram *diabetes melitus* e nódulos mamários. A classe de inibidores da 5 α -redutase, como finasterida, segundo Ouada e Verstegen (1997), não altera a libido e qualidade do sêmen. Cetoconazol, diminui o epitélio e estroma glandular porém

promove efeitos hepatotóxicos. Flutamida (receptor bloqueador de andrógeno) diminui a formação de DHT no tecido prostático (Peter et al., 1995).

2.4.2. Prostatites

A prostatite ocorre em todas as espécies domésticas, tendo maior importância no cão. Essa alteração está freqüentemente associada à hiperplasia prostática em cães velhos (Nascimento e Santos, 2003). As enfermidades inflamatórias mais comuns da próstata canina estão relacionadas à infecção bacteriana aguda ou crônica. Deste modo, a glândula fica predisposta à infecções por vias ascendente, hematogena, difusões renais, testiculares, peritoniais ou por afecções da própria próstata como, neoplasias, cistos e metaplasia escamosa (Ettinger e Feldman, 1997).

As prostatites são classificadas em agudas (com infiltrado inflamatório neutrofílico associado a presença de bactérias, edemas e dor) e crônicas (com infiltrado inflamatório linfocitoplasmocitário, hipotrofia da glândula e proliferação de tecido fibroso preenchendo o estroma).

Uma vez iniciada, a prostatite bacteriana pode se tornar crônica e somente serão selecionados antimicrobianos capazes de atravessar a barreira hematoprostática que contribui para a baixa taxa de resolução de prostatites humanas. Nos cães, é comum o uso de antimicrobianos associado à castração após início da antibioticoterapia (Cowan et al., 1991).

A prostatite bacteriana aguda é mais fácil de diagnosticar e tratar de que a prostatite crônica, segundo Dorfman e Barrsanti (1995).

Theyer et al. (1992), Billis (1997) e Nickel (1997) sugerem que a etiologia das prostatites está relacionada a fatores anatômicos, microbiológicos e imunológicos. Uma reação imunológica local favorece o aparecimento de linfócitos-T regulado por algum antígeno específico local ainda desconhecido e formaria um microambiente próximo as células epiteliais aumentando o número de linfócitos e fatores de crescimento favorecendo também a hiperplasia.

Alterações clínicas na prostatite aguda incluem dor à palpação associado a febre, anorexia, letargia, descargas uretrais, dor abdominal e lombar, deambulação rígida, distensão de membros. Na crônica, as alterações mais significativas estão relacionadas à diminuição da qualidade do sêmen e da libido e, em alguns casos, infertilidade. O diagnóstico é baseado no exsudato inflamatório do fluido prostático, sinais de infertilidade e diminuição da libido.

As metaplasias escamosas aparecem quando ocorre transição do epitélio glandular para epitélio escamoso bem diferenciado. Está associadas ao hiperestrogenismo endógeno ou exógeno que favorece a estase secretora e formação de cistos de retenção, prostatites e abscessos (Merk et al., 1982, Dorfman e Barsanti, 1995 e Vannucchi et al., 1997)

2.4.3. Neoplasias

Segundo Nascimento e Santos (2003), ao contrário do que ocorre com o homem, as neoplasias da próstata são incomuns entre os animais domésticos.

Das mais comuns na próstata de cães e do homem destacam-se o carcinoma indiferenciado e adenocarcinoma (Bell et al., 1991, Dorfman e Barsanti, 1995 e Ettinger e

Feldman, 1997). A prevalência de carcinomas prostáticos nos cães está entre 0,2 a 0,6%. Contrastando com a maioria das afecções prostáticas, a neoplasia prostática pode desenvolver tanto em cães castrados como em cães não castrados (Bell et al., 1991, Ettinger e Feldman, 1997 e Nascimento e Santos, 2003).

A neoplasia intraepitelial prostática (PIN) aparece na fase pré-maligna do adenocarcinoma e surge como uma lesão não invasiva formada por múltiplos focos de proliferação intra-acinar, discreta anaplasia nuclear e perda da polaridade celular. A PIN no cão e homem apresenta semelhanças morfológicas, imunológicas e está relacionada ao adenocarcinoma sendo, por isso, o cão um bom modelo biomédico para o estudo de PIN no homem (Waters e Bostwick, 1997 e Bostwick et al., 2004).

Devido a alta incidência de adenocarcinoma em cães castrados, há indícios de que o desenvolvimento da neoplasia possa estar relacionado com células epiteliais basais não hormônio-dependentes (El-Alfy et al., 2000). É possível que a etiopatogênese desta lesão tenha outros fatores envolvidos além do componente hormonal andrógeno (Bell et al., 1991 e Johnston et al., 2000).

Outras neoplasias prostáticas são o carcinoma de células escamosas, carcinoma indiferenciado, carcinoma de células de transição e metástases de tumores primários (Peter et al., 1995 e Ettinger e Feldman, 1997).

Devido à natureza invasiva e metastática do adenocarcinoma, o tratamento é difícil. Poucos cães, apresentam o tumor confinado à próstata e, por isso, a prostatectomia é raramente curativa; além de tecnicamente

difícil, proporciona o risco de incontinência urinária pós-operatória. Em alguns cães com adenocarcinoma prostático, confinado à próstata, a radioterapia intra-operatória trouxe benefícios (Ettinger e Feldman, 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Procedência do material e técnicas histológicas

As próstatas utilizadas na presente pesquisa, procederam de 67 cães, não definidos racialmente (SRD) na sua maioria com idade variando de dois meses a mais de 84 meses. Os animais foram eutanasiados com autorização do proprietário, sem diagnóstico clínico de alterações reprodutivas e as próstatas foram retiradas imediatamente após a eutanásia (Anexo 1).

Fragmentos da próstata de cada animal foram colhidos e fixados em formalina neutra tamponada a 10%, durante 24 horas. Após a fixação, o material foi recortado, desidratado, diafanizado, incluído em parafina, seccionado com cinco micrometros, corado pela técnica da hematoxilina-eosina (HE) (Prophet, 1992) e examinados em microscópio óptico para descrição das características histológicas.

3.2. Grupos experimentais

Para efeito de análise, os dados relativos aos 67 animais foram organizados de acordo com três grupos etários (De Paula, 1992)

Grupo Jovens em número de 20 com idade de dois meses a 30 meses,

Grupo Adultos em número de 23 com idade de três a seis anos e,

Grupo Velhos em número de 24 com idade de sete a dezessete anos.

3.3. Estudo histoquímico

Para estudo histoquímico do glicogênio e das mucossustâncias foram utilizadas as colorações de *Periodic Acid Schiff* (PAS) com e sem digestão prévia pela amilase salivar, Alcian blue (AB) em pH 2,5 e 0,4 e Ninhidrina-Schiff (McManus, 1946, Yasuma e Ichikawa, 1953, Mowry, 1956, Lison, 1960 e Prophet, 1992). Essas colorações foram realizadas no laboratório de Histopatologia da Escola de Veterinária da UFMG.

A tabela 1 sumariza o número de próstatas que foram coradas nas respectivas colorações.

Tabela 1. Número de próstatas submetidas às colorações especiais nos 3 grupos etários.

Grupos/colo rações	PAS ¹	PAS-a ²	PAS-PASa	AB 0,4 ³	AB 2,5 ⁴	AB0,4-AB2,5	N ⁵
Jovens	18	19	19	19	19	19	18
Adultos	23	23	23	22	22	22	22
Velhos	21	21	20	24	24	24	24
Total	62	63	62	65	65	65	64

1) PAS Acid-Periodic-Schiff

2) PAS-a Acid-Periodic-Schiff com digestão prévia pela amilase salivar

3) AB 0,4 Alcian Blue pH 0,4

4) AB 2,5 Alcian Blue pH 2,5

5) N Ninhidrina Schiff

A Figura 2, mostra os métodos histoquímicos usados, as reações químicas envolvidas e a

interpretação dos resultados.

Método histoquímico	Reação química envolvida	Resultado
<i>Periodic Acid Schiff</i> (PAS) McManus (1946)	Oxidação de grupos vic-gliol em aldeídos pelo ácido periódico. Os aldeídos formam complexos corados com reativo de Schiff.	Polissacarídeos e mucossustâncias coram-se em vermelho.
Amilase salivar + PAS(PAS-a) Lison (1960)	A amilase salivar hidrolisa o glicogênio	Perda de PAS-positividade em locais contendo glicogênio.
Alcian blue em pH 2,5(AB 2,5) Mowry (1956)	Promove dissociação dos radicais -COOH e HSO ₃ dos carboidratos, os quais formam complexos corados com AB.	Carboximucinas e as sulfomucinas fracamente ácidas coram-se em azul. Sulfomucinas muito ácidas não se coram ou o fazem fracamente.
Alcian blue em pH 0,4(AB 0,4) Prophet et al. (1992)	Promove dissociação dos grupamentos HSO ₃ das sulfomucinas para se combinarem com AB.	Sulfomucinas fraca e fortemente ácidas coram-se, especificamente em azul.
Ninhidrina-Schiff Yasuma e Ichikawa (1953)	A ninhidrina oxida os grupos amina das extremidades da molécula protéica, reduzindo-se, formando grupos aldeídos que se combinam com o reativo de Schiff produzindo compostos corados.	α-amino livres coram-se em vermelho.

Figura 2. Métodos histoquímicos utilizados na demonstração de mucossustâncias, carboidratos e proteínas.

Como nomenclatura histoquímica de componente ricos em carboidratos, adotou-se a sugerida por Spicer et al. (1965) e Nalavade (1974):

Mucossustâncias: são definidas por substâncias fundamentalmente protéicas, ricas em carboidratos;

Mucossustâncias neutras: são aquelas cujo componente glicídico tem grupos vic-gliol

reativos ao periodato. São PAS-positivas e AB-negativas;

Mucossustâncias ácidas sulfatadas: são ácidas contendo éster sulfato. São PAS-negativas e AB-positivas a pH 0,4 e 2,5;

Mucossustâncias ácidas carboxiladas: são ácidas contendo grupo -COOH. São ricas em ácido siálico e mostram-se PAS-positivas e AB-positivas a pH 2,5.

Segundo Lagow et al. (1999), a nomenclatura mais correta é mucina e mucinas ácidas sulfatadas são denominadas sulfomucinas mucinas ácidas carboxiladas são denominadas carboximucinas e sialomucinas (ricas em ácido siálico).

A secreção prostática detectada foi classificada quanto à intensidade em:

Ausente (valor 0): Quando a positividade da secreção não foi visualizada;

Discreta (valor 1): Quando a positividade da secreção foi localizada focalmente no citoplasma ou ápice das células secretórias, ou ainda em quantidade mínima no lume.

Moderada (valor 2): Quando o lume e as células secretórias apresentavam cerca de 50 % de secreção positiva, sob a forma de grânulos ou extrusões citoplasmáticas; e

Intensa (valor 3): Quando grande parte das células secretórias e do lúmen apresentavam grânulos secretórios ou extrusões citoplasmáticas.

A detecção do glicogênio foi obtida pela diferença de intensidade de coloração entre as técnicas de PAS – PAS-a; e a detecção das mucossubstâncias ácidas carboxiladas foi obtida pela diferença de intensidade de coloração entre as técnicas de AB 2,5 – AB 0,4.

3.4 Análise estatística

O χ^2 (qui-quadrado), um teste de dependência e verificação da significância do coeficiente de correlação, foi aplicado para verificar se a presença de alterações histopatológicas na próstata apresenta ou não associação com a idade dos animais. Esse

teste é apropriado quando há correlação entre variáveis distintas e os dados se apresentam sob forma de dicotomias autênticas. Esse teste foi também usado para estimar a magnitude da relação entre HPB e prostatite.

O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para verificar o grau de significância entre secreções e patologias prostáticas.

Os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram utilizados para comparação de médias das colorações entre os grupos (Sampaio, 2002) e entre secreções prostáticas e patologias.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Descrição histológica

A próstata do cão adulto é do tipo bem individualizada, bilobulada e possui forma ovalada. As formações conjuntivo-musculares de sustentação são representadas por uma cápsula miofibroelástica, associada a gânglios nervosos viscerais do parassimpático. A cápsula emite septos para o interior da glândula e destes originam-se as fibras que formam o estroma de sustentação para o parênquima. O estroma é formado por fibroblastos, fibras reticulares (predominantemente colágeno tipo III), colágenas, elásticas e fibras musculares lisas. Células sanguíneas migradas podem ser encontradas entremeadas ao estroma. O parênquima glandular é formado por um conjunto de adenômeros túbulo-acinosos, revestidos por dupla camada de células epiteliais cilíndrica secretoras e células basais entremeadas, suportadas por desenvolvida membrana basal. Os ductos excretores, inicialmente são formados por epitélio semelhante ao do túbulo-ácino, passando a bi-estratificado que também são secretores, e

a medida que se aproximam do lume uretral tornam-se estratificado prismático ou de transição não secretor. Na lâmina própria da uretra encontram-se numerosos vasos sanguíneos, linfáticos e fibras nervosas Figura 3 A e B. O padrão histológico observado no presente trabalho foi semelhante ao descrito por Aumuller (1979) Bartsch et al. (1987) Cooney et al. (1992) Nickel (1997) Cardoso et al. (2000) e Nogueira (2006)².

As próstatas dos animais jovens até 10 meses de idade, apresentam grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso, ductos glandulares pouco desenvolvidos e com diâmetro do lume reduzido. Apresentam-se com uma infinidade de vasos sanguíneos ao redor da uretra diminuindo a quantidade no estroma da glândula. O epitélio glandular nesta fase é pouco desenvolvido, diâmetro do lume reduzido e em alguns pontos ausentes. Padrão histológico semelhante ao descrito por Bartsch et al. (1987) Leav et al (2001).

A próstata hiperplásica apresenta-se com parênquima glandular bem desenvolvido, epitélio secretor ativo com bastante secreção no lúmen ou não. Em alguns pontos o lúmen se apresenta dilatado com ou sem secreção o que caracteriza a hiperplasia cística. Os achados histológicos são comparados aos de McEntee, 1990, Jubb et al., 1993, Dorfman e Barsanti, 1995, Figura 4 A e B.

A prostatite se caracteriza por múltiplos focos de infiltrado linfohistioplasmocitário na região do estroma com redução do número de fibroblastos, fibras elásticas, musculares lisas e colágenas. Apresenta-se associada ou não com a hiperplasia (McEntee, 1990 e Jubb et al., 1993) (Figura 5 A e B).

4.2. Alterações histopatológicas

Foram avaliados histologicamente 67 animais com idade entre dois meses e 17 anos. O achado de HPB associado a infiltrado inflamatório linfohistioplasmocitário foi visualizado a partir dos dois anos de idade, porém só a partir dos 3 anos, as alterações histopatológicas foram mais frequentes e de maior importância.

Os animais dos grupos adultos e velhos foram os mais afetados de lesões da próstata. As alterações histopatológicas que foram mais presentes nos três grupos estão sumarizadas na figura 9. A tabela 2 expressa a presença e ausência de patologias nos diferentes grupos etários.

² Nogueira, J.C, 2006 Informação pessoal

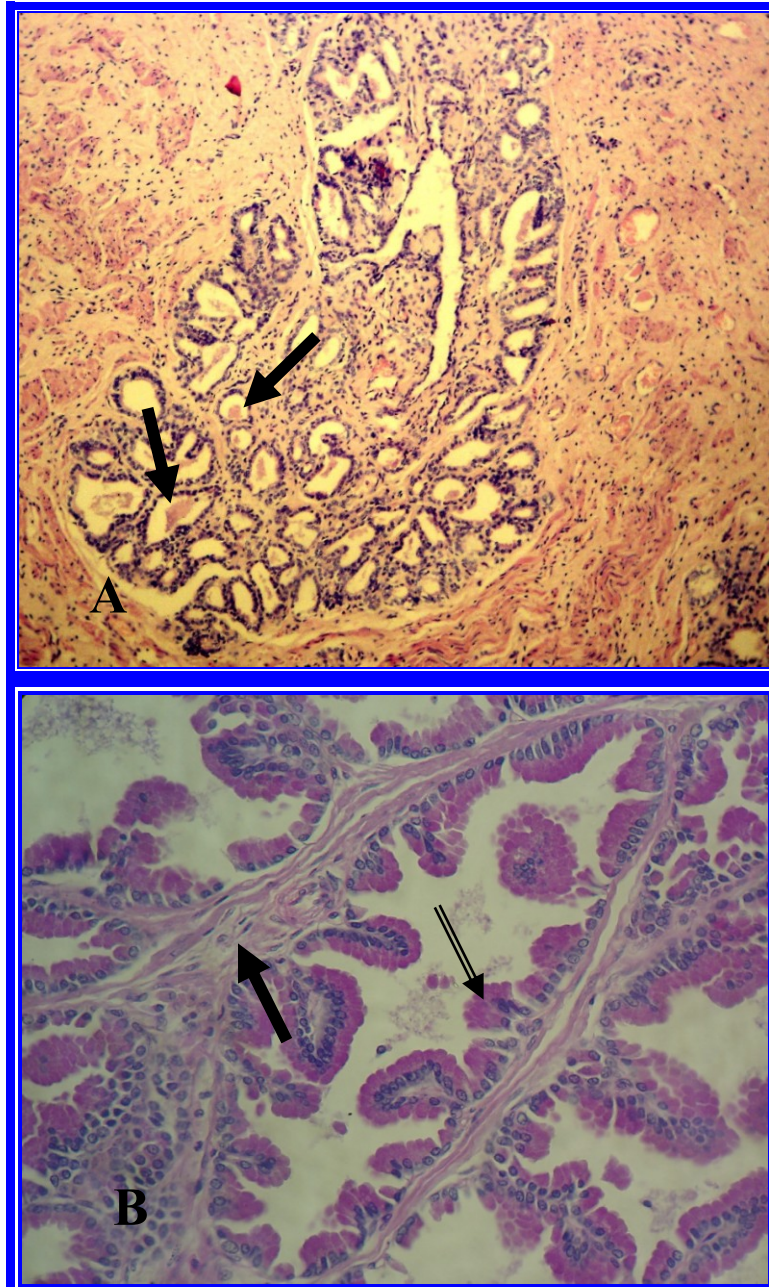


Figura 3 Fotomicrografias da próstata normal de cães em diferentes idades. Observar a evolução histológica do parênquima em relação ao estroma glandular. A) Próstata de animal adulto com dois anos de idade. Parênquima glandular iniciando produção de secreção (seta). HE 150 X. Próstata de animal adulto com quatro anos de idade. Observar presença de secreção PAS positiva em grande quantidade nas células epiteliais (seta aberta) e estroma formado por fibroblastos (seta), fibras colágenas e células musculares lisas. PAS 200X.

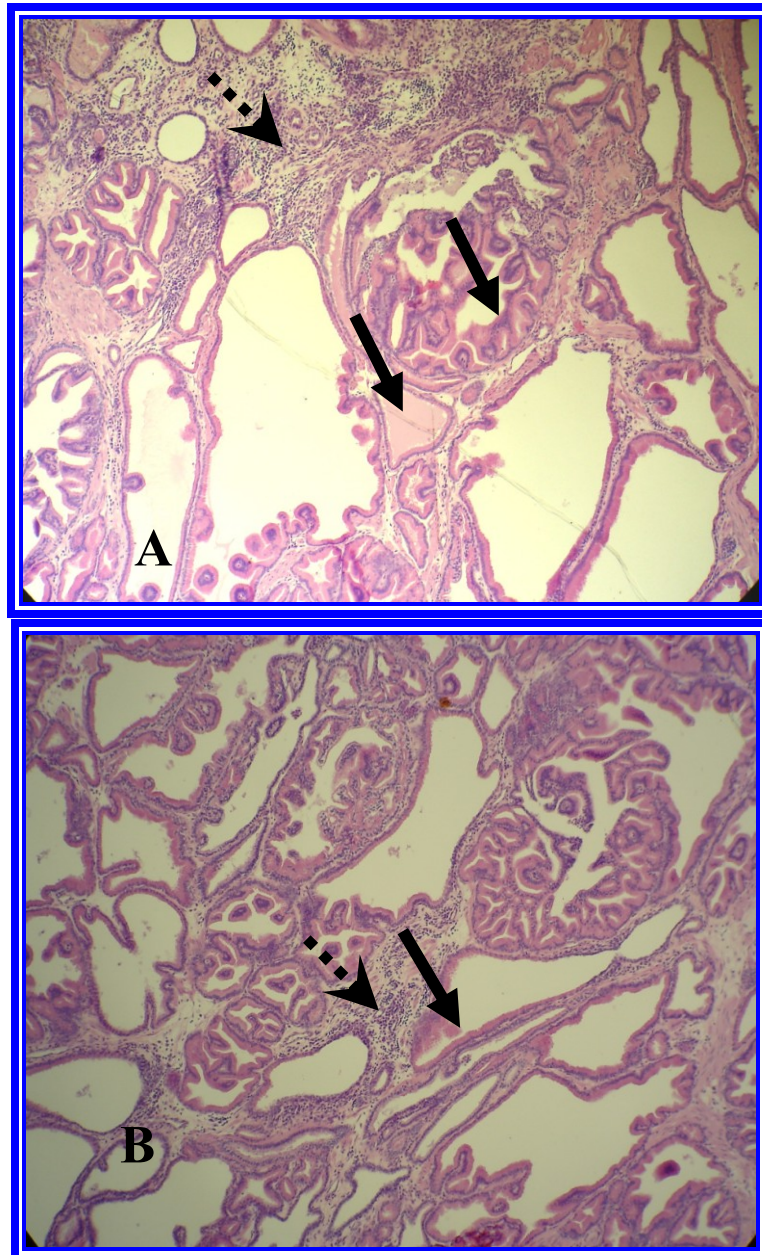


Figura 4. Fotomicrografias da próstata de cães com 14 anos de idade A e B, evidenciando Hiperplasia Prostática Benigna no parênquima glandular com áreas de formações hiperplásicas císticas (setas). A atividade secretora é normal nas áreas císticas (seta aberta). Observar infiltrado inflamatório no estroma glandular em A e B (seta pontilhada) HE 100X.

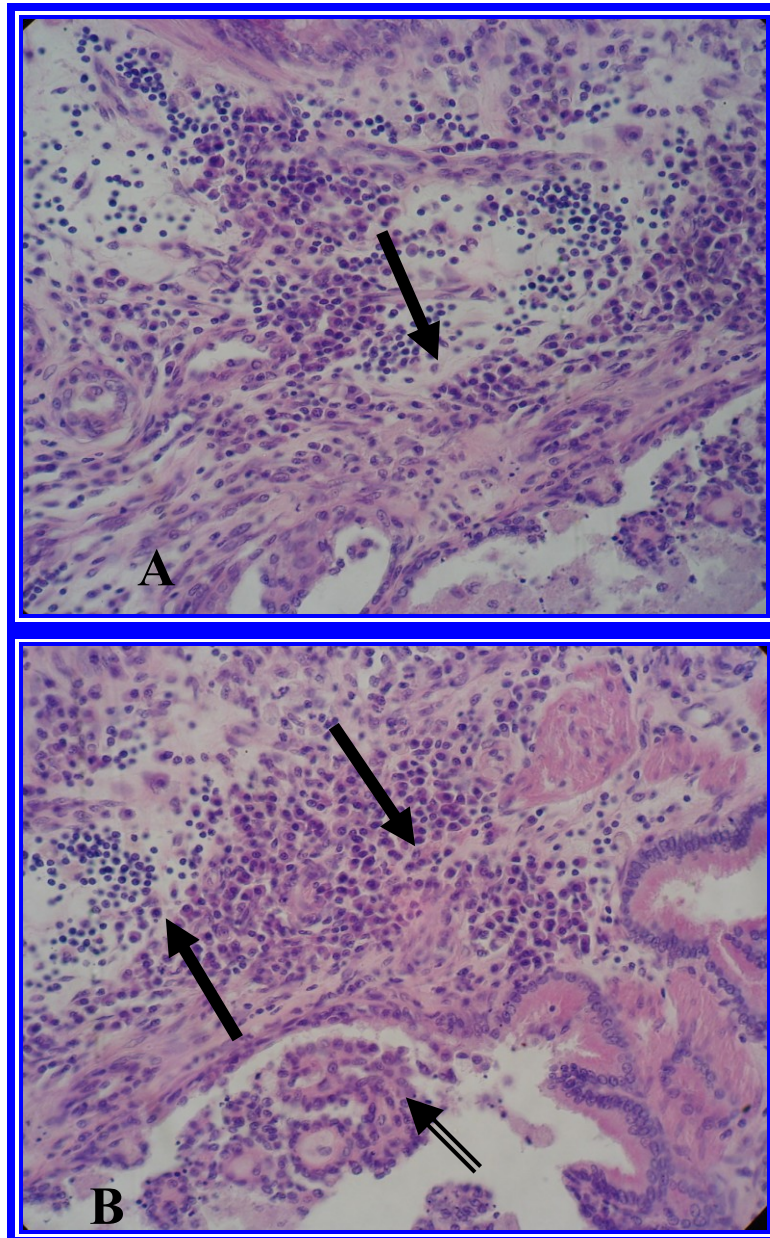


Figura 5. Fotomicrografias da próstata de cão de 14 anos de idade evidenciando infiltrado inflamatório (seta) linfohistioplasmocitário no estroma. Observar intensa descamação de células epiteliais secretoras em B com evidente modificação na altura do epitélio secretor (seta aberta) HE 200X.

Tabela 2. Presença e ausência de alterações histopatológicas na próstata dos 67 cães examinados de acordo com três grupos etários.

Grupos etários	Alterações histológicas		Total
	Presentes	Ausentes	
Jovens	9	11	20
Adultos	21	2	23
Velhos	23	1	24
Total	53	14	67

Segundo Lowseth et al. (1990), Dorfman e Barsanti (1995), Lee et al. (1997) e Niu et al. (2003), a presença dos testículos funcionais induz atividade hormonal favorecendo a interação estroma-epitélio e, assim, ativa os fatores parácrinos e autócrinos na glândula relacionados com a atividade secretória e com as lesões como a HPB e prostatite. As tabelas 3, 4 e 5 apontam a maior prevalência de lesões ocorrendo entre os animais do grupo jovens e adultos quando comparados com

velhos, jovens e velhos quando comparados com adultos e adultos e velhos quando comparados com jovens, sendo significativo estatisticamente, ($P < 0,05$). O que não constitui surpresa, porém observam-se no grupo dos animais jovens, nove casos de patologias prostáticas. Entretanto, todos estes casos eram em cães com idade superior a 18 meses (Anexo 2). Poulet (1985) descreve alterações histológicas a partir de 24 meses.

Tabela 3. Comparação da freqüência absoluta da presença de alterações histopatológicas na próstata de cães do grupo de animais jovens e adultos com velhos.

Grupos etários	Alterações histológicas		Total
	Presentes	Ausentes	
Jovens e Adultos	30	13	43
Velhos	23	1	24
Total	53	14	67

Significativo ao nível $P < 0,05$

Tabela 4. Comparação da freqüência absoluta da presença de alterações histopatológicas na próstata de cães do grupo de animais jovens e velhos com adultos.

Grupos etários	Alterações histológicas		Total
	Presentes	Ausentes	
Jovens e Velhos	32	12	44
Adultos	21	2	23
Total	53	14	67

Significativo ao nível $P < 0,05$

Tabela 5. Comparação da frequência absoluta da presença de alterações histopatológicas na próstata de cães do grupo de animais adultos e velhos com jovens.

Grupos etários	Alterações histológicas		Total
	Presentes	Ausentes	
Adultos e Velhos	44	3	47
Jovens	9	11	20
Total	53	14	67

Significativo ao nível $P < 0,05$

A tabela 6 mostra a existência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos

quando se comparam presença e ausência de alterações histopatológicas.

Tabela 6. Comparação da frequência absoluta da presença de alterações histopatológicas na próstata de cães quando comparadas as faixas etárias ente si.

Combinação de grupos etários	Alterações histológicas		Total
	Presentes	Ausentes	
Adultos e Velhos	44	3	47
Adultos e Jovens	30	13	43
Jovens e Velhos	32	12	44
Total	106	28	134

$P < 0,05$

Do 67 animais estudados, 14 (20,9%) apresentaram próstata histologicamente normal, sendo 11 do grupo Jovem, 2 do grupo Adultos e 1 do grupo Velhos (Tabela 2).

No grupo Velho, dos 24 animais, 1 apresentou próstata normal, e 3 hiperpásicas, 4 com prostatite e 16 com hiperplasia associado a prostatite (Figura 8).

No grupo jovem, dos 20 animais, 11 apresentavam próstata normais, 4 hiperpásicas, 4 com prostatite e 1 com hiperplasia associada a prostatite (Figura 6).

De acordo com Thrall et al. (1984), com o avançar a idade, o número de patologias prostáticas, tem um aumento significativo; fato tal também encontrado no presente trabalho. Dos 53 animais com alterações histopatológicas, 16,98% apresentaram a glândula com HPB, 22,64% apresentaram prostatite e 58,49% apresentaram a HPB associada à prostatite, ou seja, a grande maioria dos animais com HPB, apresentam alterações no estroma que levam a aporte maior de células inflamatórias sugerindo interação entre as duas patologias (Figura 9).

No grupo adulto, dos 22 animais, 2 apresentavam próstata normais, 5 hiperpásicas, 2 com prostatite e 13 com hiperplasia associado a prostatite (Figura 7).

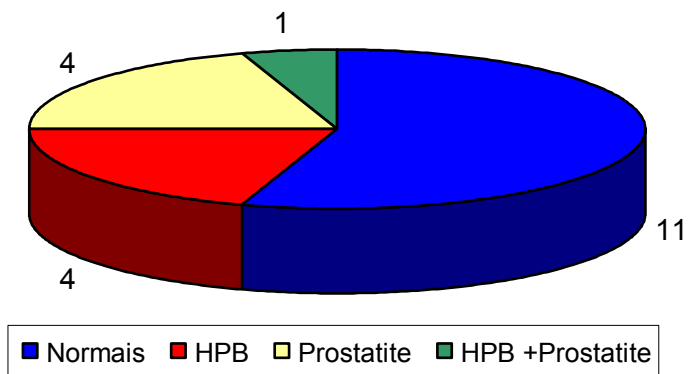


Figura 6. Número de animais com alterações prostáticas no grupo Jovens.

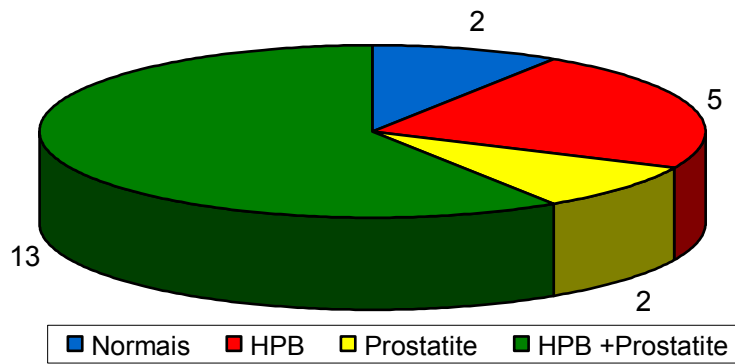


Figura 7. Número de animais com alterações prostáticas no grupo Adultos.

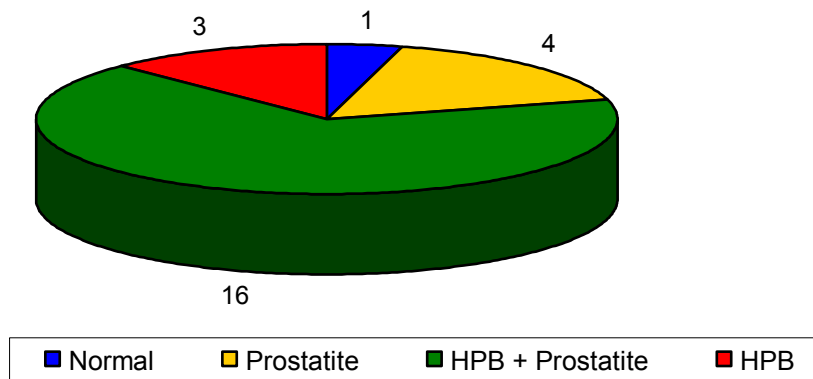


Figura 8. Número de animais com alterações prostáticas no grupo Velhos.

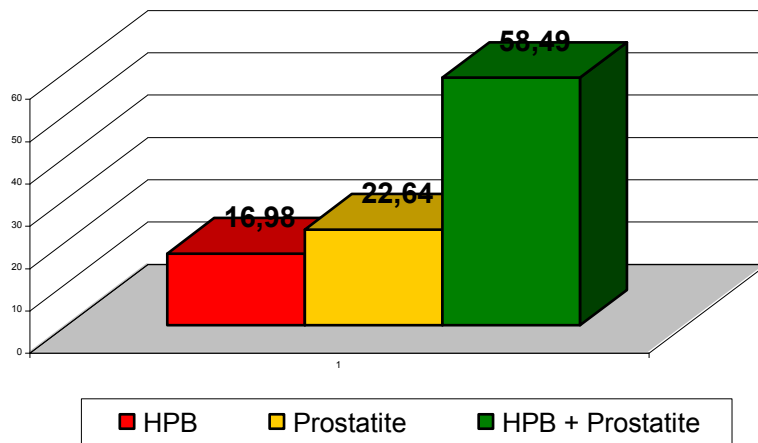


Figura 9. Porcentagem de animais com Prostatite, HPB e HPB associada a prostatite independentemente das faixas etárias estudadas.

Segundo Theyer et al. (1992), Billis (1997) e Nickel (1997) a prostatite, pode estar intimamente relacionada com a HPB uma vez que em humanos a incidência de prostatite não bacteriana é alta em próstatas retiradas cirurgicamente com quadro de HPB. A

inflamação se apresenta como uma alteração secundária a HPB criando um Complexo Hiperplasia Prostática Benigna Prostatite. O extravasamento de secreção para o estroma pode atrair fatores envolvidos na proliferação de células do sistema imune como linfócitos

T e B. Acredita-se que o estrógeno esteja relacionado ao processo de inflamação não só por HPB como também por um mecanismo desconhecido (Coffey, 2001).

Neste trabalho não foram observadas alterações neoplásicas, metaplásicas e nem a presença de corpos amiláceos que na espécie humana segundo Prather e Skinner (1956) e Morales et al. (2005) é um achado comum em homens mais velhos.

A dupla camada do epitélio glandular apresentou células secretoras e células basais. As células basais como sugerido por El-Alfy, (2000) podem estar diretamente relacionadas com as funções das células luminais promovendo suporte para essas realizarem suas atividades por mecanismos parácrinos entre elas, mantendo ou não a integridade do epitélio prostático e envolvidas com origem das neoplasias não hormônio dependentes que ocorrem em cães intactos.

4.3. Histoquímica

Os animais entre dois e nove meses não apresentaram atividade secretora (Figura 10). Somente a partir dos 10 meses de idade, foram observadas atividades secretoras em todas as próstatas. Nessa faixa etária, a atividade prostática ainda não está sob a influência dos hormônios esteróides testiculares (Lowseth et al., 1990 e Dorfman e Barsanti, 1995). Tal fato, explica a baixa atividade secretora da glândula no grupo dos jovens conforme demonstrado em todas as colorações especiais.

Os animais apresentaram variação na intensidade de coloração pelas técnicas especiais entre os grupos. As tabelas 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13 sumarizam as médias obtidas.

A coloração por PAS foi observada no 3 grupos etários. Porém a intensidade da coloração variou entre os grupos (Tabela 7).

Tabela 7. Intensidade da coloração* pela técnica de PAS do parênquima glandular nos diferentes grupos.

Grupos	n**	Intensidade de coloração (Média ±DP)
Jovens	18	1,44 (±1,15) ^a
Adulto	24	2,41 (±0,88) ^b
Velhos	21	2,61 (±0,59) ^b

* 0 = nenhuma; 1 = fraca; 2 = moderada; 3 = intensa

**n= Número de observações

Médias seguidas por letras diferentes, diferem (p< 0,05)

A intensidade de coloração pela técnica PAS (Figura 11) se apresentou estatisticamente significativa (P<0,05) quando comparada entre os animais adultos e velhos com jovens, contradizendo os achados de Aumuller (1979) que sinaliza uma diminuição de mucossustâncias neutras com o avançar da

idade em detrimento das mucossustâncias ácidas.

A técnica de PAS após digestão prévia pela amilase salivar (Figura 12), apresentou marcação positiva semelhantes a aquelas PAS sem digestão prévia pela amilase (Tabelas 7 e 8).

Tabela 8: Intensidade da coloração* pela técnica de PAS-a do parênquima glandular nos diferentes grupos.

Grupos	n**	Intensidade de coloração (Média ±DP)
Jovens	19	1,21 (±0,92) ^a
Adultos	23	2,26 (±0,81) ^b
Velhos	21	2,56 (±0,60) ^b

* 0 = nenhuma; 1 = fraca; 2 = moderada; 3 = intensa

**n= Número de observações

Médias seguidas por letras diferentes diferem (P< 0,05)

A intensidade de coloração da diferença entre as técnicas de PAS – PAS-a apresentou uma diminuição da intensidade de secreção do glicogênio com o avançar da idade, porém não foi considerada estatisticamente significativa (Tabela 9). A produção do glicogênio segundo Gunanga et al. (1972), está relacionada a hormônio androgênicos, pois em ratos que apresentaram aumento da testosterona com o avançar da idade, apresentaram aumento do conteúdo de

glicogênio na próstata, postulou-se que o glicogênio é um dos principais componentes de energia para os espermatozoides e, se ocorre aumento de testosterona, ocorre aumento no número de espermatozoides e ocorre aumento na concentração de glicogênio prostático para nutrição destes. O glicogênio assim como as mucossubstâncias neutras tem como principal função nutrição e manutenção do espermatozóide (Lagow et al. 1999).

Tabela 9. Diferença de intensidade da coloração* pela técnica de PAS – PAS-a do parênquima glandular nos diferentes grupos para detecção de glicogênio prostático

Grupos	n**	Intensidade de coloração (Média ±DP)
Jovens	21	0,28 (±0,46)
Adultos	24	0,25 (±0,53)
Velhos	20	0,1 (±0,44)

* 0 = nenhuma; 1 = fraca; 2 = moderada; 3 = intensa

**n= Número de observações

P>0,05

A intensidade de coloração pela técnica de

AB pH 2,5 (Figura 13), foi maior nos animais

adultos e velhos em relação aos jovens sendo P<0,05 considerado estatisticamente significativo. Tabela 10.

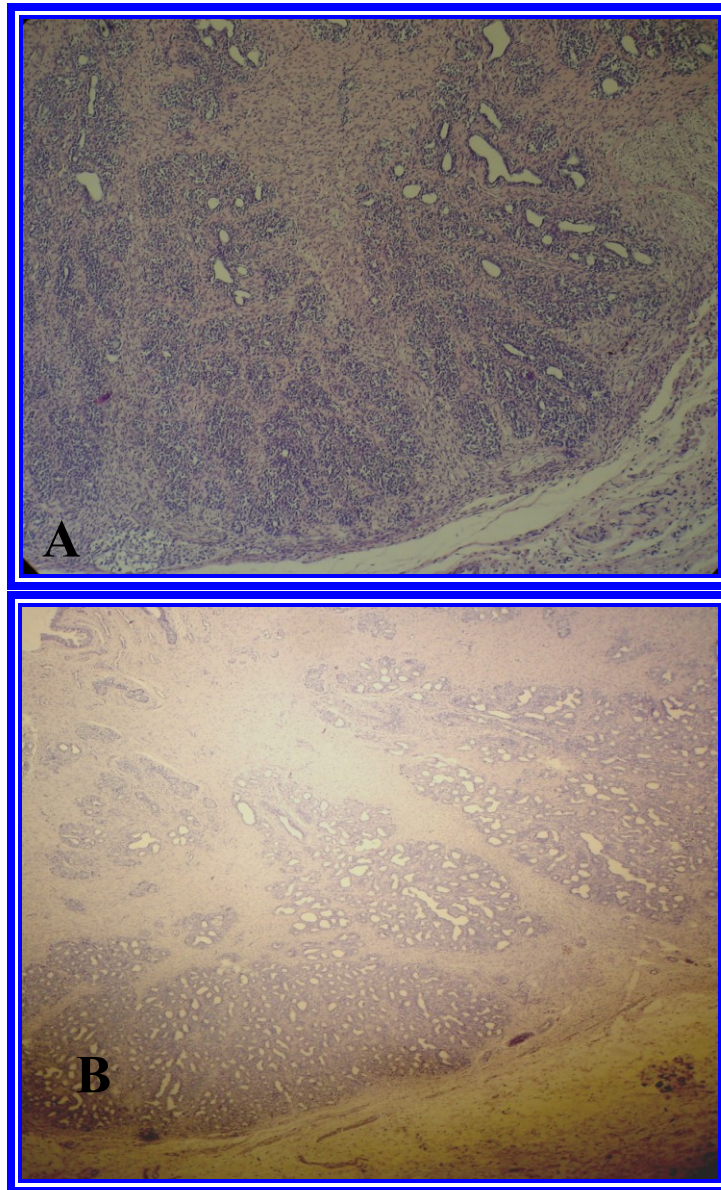


Figura 10. Fotomicrografia da próstata normal de cães em diferentes idades. Observar a evolução histológica do parênquima em relação ao estroma glandular. A) Próstata de animal jovem com dois meses de idade. Predomínio da região estromal em relação a epitelial. Parênquima glandular pouco desenvolvido com pequenas formações glandulares sem presença de ductos ou muito diminuídos quando presentes. HE 40X. B) próstata normal de animal jovem com quatro meses de idade. Parênquima glandular mais desenvolvido porém sem atividade secretora. HE 40X.

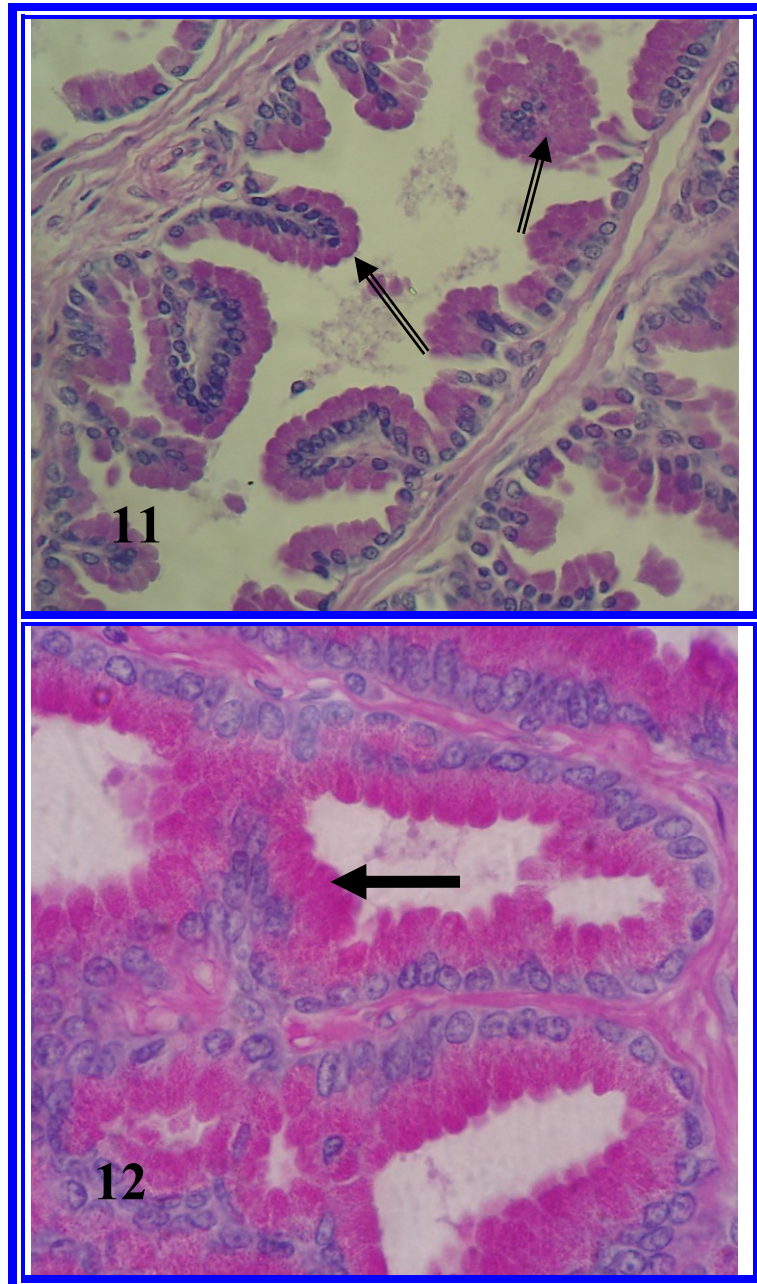


Figura 11. Fotomicrografia da próstata de cão com quatro anos de idade. Observar intensa PAS positividade no epitélio secretor (seta vazia). PAS x HE 200X.

Figura 12. Fotomicrografia da próstata de cão com quatro anos de idade. Rica secreção de mucosubstâncias neutras no citoplasma supra-nuclear das células secretoras (seta). PAS-a x HE 600X.

Tabela 10. Intensidade da coloração* pela técnica de AB pH 2,5 do parênquima glandular nos diferentes grupos.

Grupos	n**	Intensidade de coloração(Média ±DP)
Jovens	19	1,21 (±0,79) ^a
Adultos	22	2,27 (±0,78) ^b
Velhos	24	2,12 (±0,64) ^b

* 0 = nenhuma; 1 = fraca; 2 = moderada; 3 = intensa

**n= Número de observações

Médias seguidas por letras diferentes diferem (P< 0,05)

As mucossubstâncias ácidas sulfatadas (Figura 14) tiveram um decréscimo de produção estatisticamente significativa nos

animais mais velhos em relação aos mais adultos e jovens sendo P<0,05 considerado significativo estatisticamente. Tabela 11.

Tabela 11. Intensidade da coloração* pela técnica de AB pH 0,4 do parênquima glandular nos diferentes grupos.

Grupos	n**	Intensidade de coloração(Média ±DP)
Jovens	19	0,78 (±1,13) ^a
Adultos	21	0,95 (±0,59) ^b
Velhos	24	0,42 (±0,53) ^b

0 = nenhuma; 1 = fraca; 2 = moderada; 3 = intensa

**n= Número de observações

Médias seguidas por letras diferentes diferem (P< 0,05)

A diferença entre a intensidade de coloração pela técnica de AB pH 2,5 e AB pH 0,4 (AB 2,5 – AB 0,4) indica o aumento da produção de secreção de mucossubstâncias

carboxiladas e ricas em ácido siálico (AB pH 2,5) com o avançar da idade e diminuição da secreção de mucossubstâncias ácidas ricas em éster sulfato (AB pH 0,4). Tabela 12.

Tabela 12. Diferença de intensidade da coloração* pela técnica de AB pH 2,5– AB pH 0,4 do parênquima glandular nos diferentes grupos.

Grupos	n**	Intensidade de coloração(Média ±DP)
Jovens	19	0,84 (±0,83) ^a
Adultos	22	1,00 (±0,69) ^a
Velhos	24	1,75 (±0,89) ^b

* 0 = nenhuma coloração; 1 = coloração fraca; 2 = coloração moderada; 3 = coloração intensa

**n= Número de observações

Médias seguidas por letras diferentes diferem (P< 0,05)

A intensidade de coloração pela técnica Ninhidrina-Shiff (Figura 15) para mucossubstâncias com grupos α-amino livres

foi mais intensa nos animais Adultos e Velhos (P< 0,05) (Tabela 13).

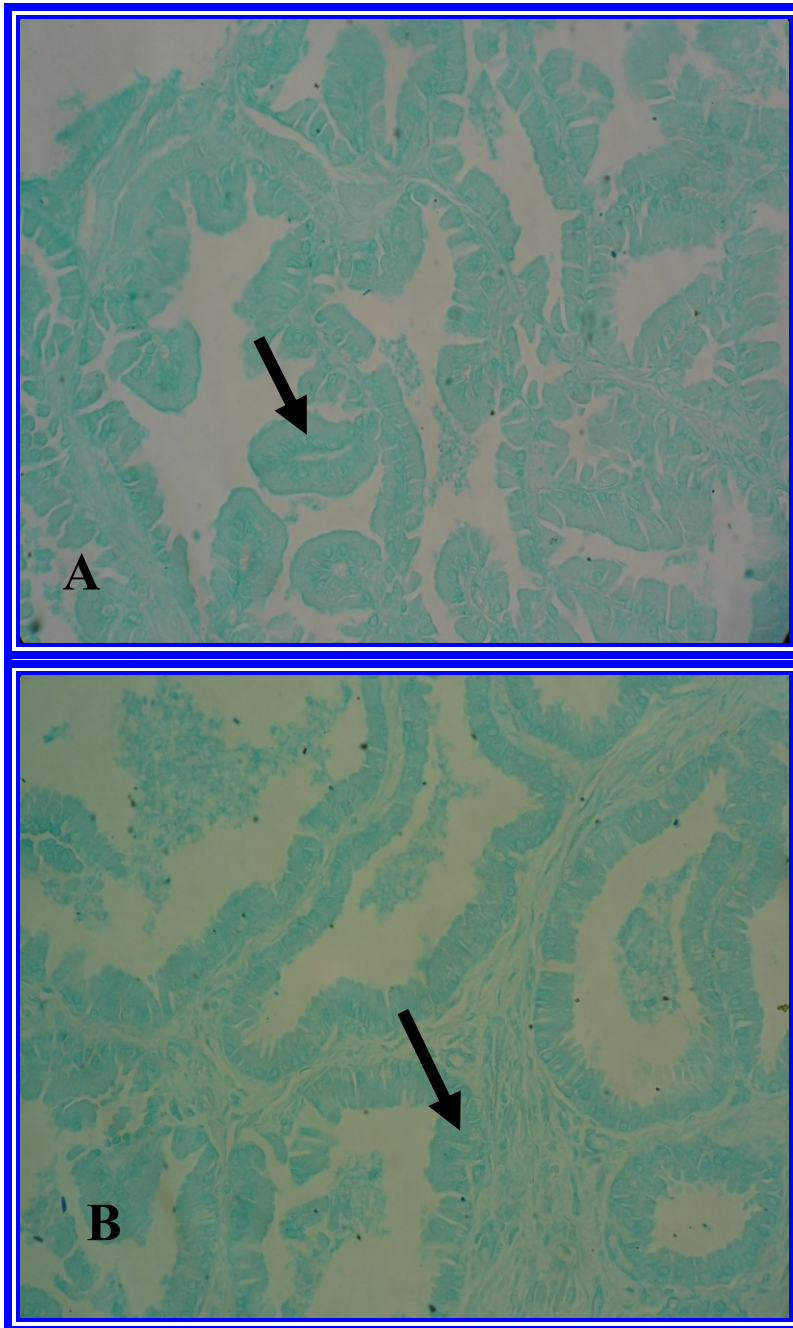


Figura 13. Fotomicrografias da próstata de cão A e B de três anos de idade. Observar presença de secreção (mucossustância ácida) no epitélio secretor (seta). Alcian Blue pH 2,5 200X.

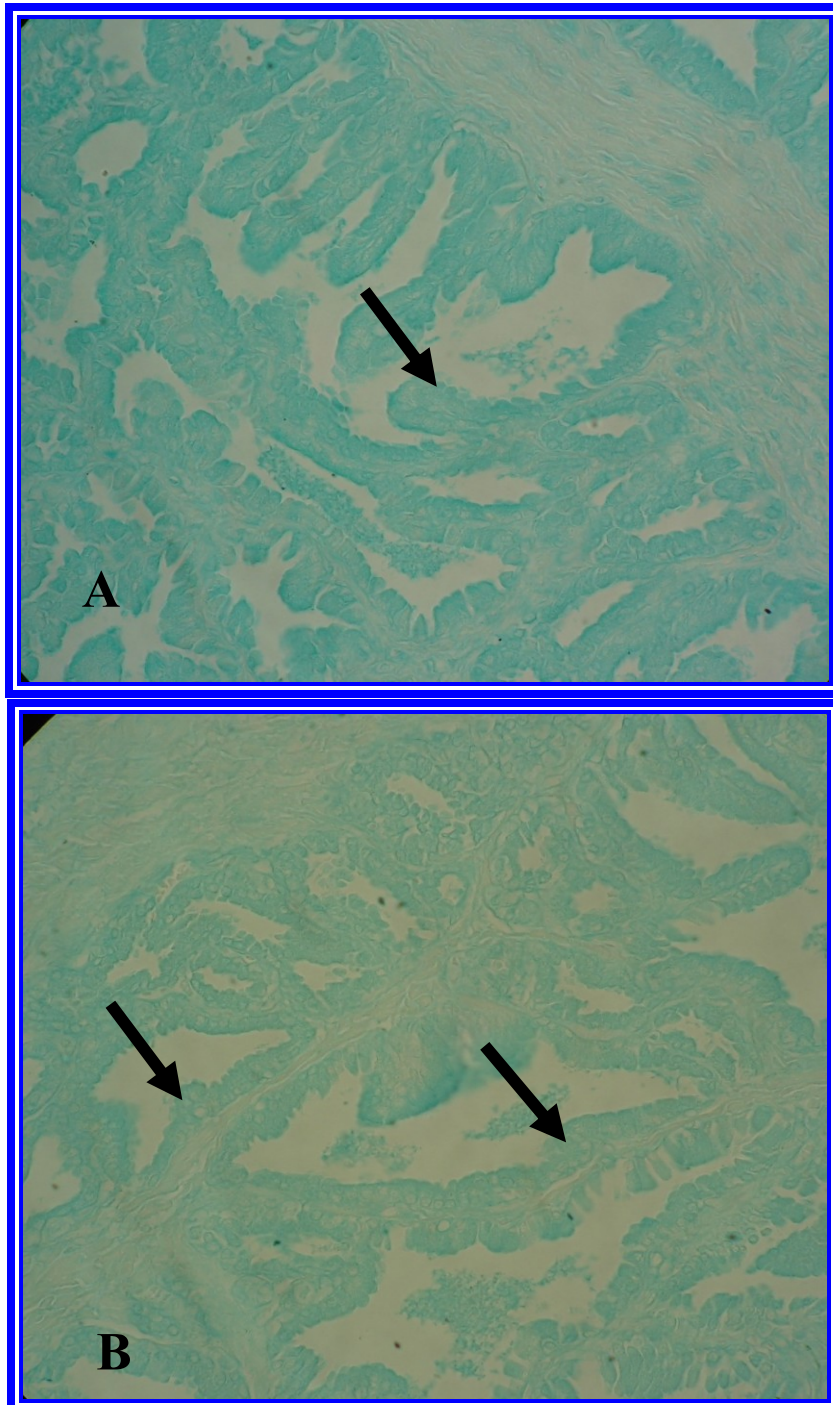


Figura 14. Fotomicrografias da próstata de cão A e B de dois anos de idade evidenciando secreção de mucosubstâncias ácidas sulfatadas no epitélio secretor (seta). Alcian Blue pH 0,4 200 X.

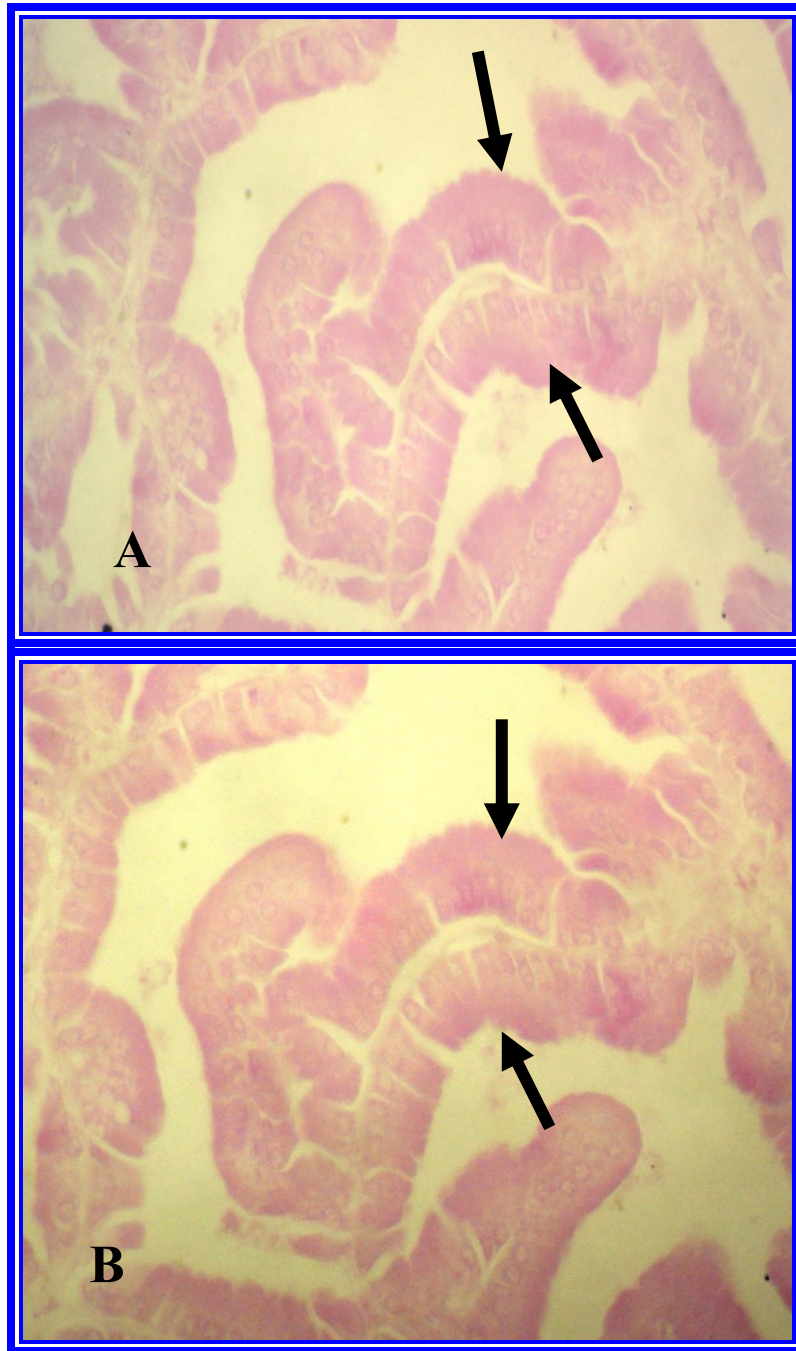


Figura 15. Fotomicrografias A e B da próstata de cão de 10 anos de idade evidenciando secreção de material protéico rico em radical NH_2 no epitélio secretor (seta). Ninhidrina-Schiff 600X.

Tabela 13. Intensidade da coloração* pela técnica de Ninhidrina-Schiff do parênquima glandular nos diferentes grupos.

Grupos	n**	Intensidade de coloração (Média ±DP)
	18	1,11(±0,96) ^a
Adultos	22	2,27 (±1,03) ^b
Velhos	24	2,12 (±0,74) ^b

* 0 = nenhuma; 1 = fraca; 2 = moderada; 3 = intensa

**n= Número de observações

Médias seguidas por letras diferentes, diferem (P< 0,05)

Segundo Gobello (2002), secreção de proteína CPSE, aumenta em quadros de HPB e não tem aumento significativo em cães com

neoplasias ou prostatite quando comparados à próstata de animais normais. A CPSE é uma proteína cuja função não está ainda bem esclarecida, é secretada pelo epitélio prostático e compõe o plasma seminal.

A figura 16 sumariza a intensidade média das colorações especiais nos três grupos etários.

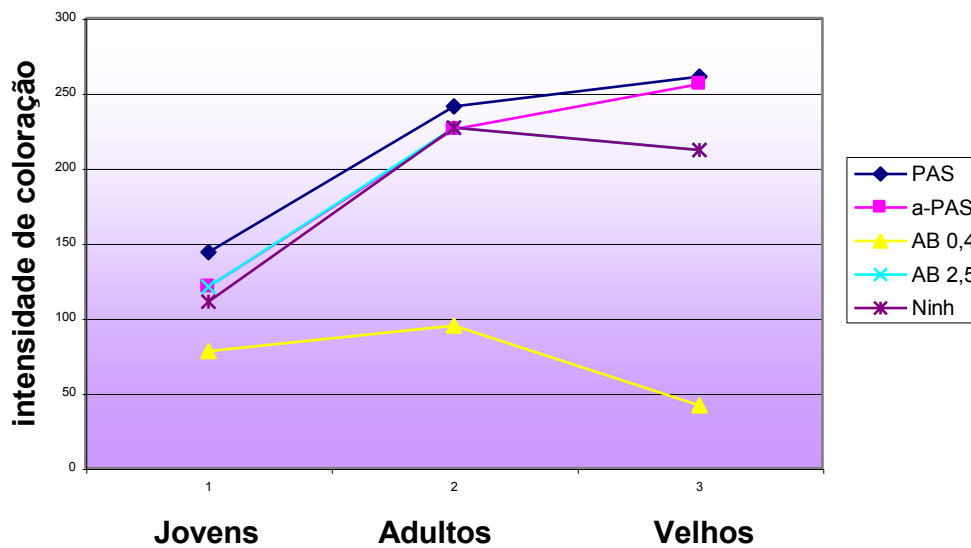


Figura 16. Variação da intensidade média de secreções de mucosubstâncias prostáticas nos diferentes grupos etários.

4. 4 Relação entre patologias e secreções prostáticas

No sistema genital masculino as mucossustâncias são essenciais para a sobrevivência do espermatozóide. Como no cão a única glândula genital é a próstata, essa produz todas as secreções importantes para o sucesso do processo reprodutivo. As principais funções das mucossustâncias são: impedir a adesão do espermatozóide no sistema genital do macho ou da fêmea durante o seu trânsito, proteger o espermatozóide do ataque do sistema imune protegendo-o e da ação proteolítica além de outras atividades (Lagow et al. 1999).

A próstata é uma glândula hormônio dependente e sua atividade secretória aumenta de acordo com a idade. Segundo Billis (1997), quando ocorre extravasamento de secreção epitelial no estroma prostático, um influxo de células inflamatórias mediado por interleucinas e GFs, iniciam um quadro de prostatite linfocitoplasmocitária. Paralelamente ao aparecimento de prostatite, um quadro de HPB já está se iniciando, pois,

a glândula está com plena atividade secretora e suas secreções ativam outros GFs relacionados com o crescimento hiperplásico, que por mecanismo de *turn over* intensificam e mantêm a HPB.

Utilizando o teste de correlação de Sperman, foi confirmado estatisticamente que as secreções prostáticas aumentam com o avançar da idade. Utilizando o teste de Kruskal-Wallis, foi confirmado que o aparecimento de alterações histopatológicas principalmente a HPB associada a prostatite está relacionado com o aumento de secreção de mucossustâncias neutras e ricas em radicais NH₂. A medida que avança a idade, a secreção de substâncias coradas por PAS, PAS-a, AB pH 2,5 e Ninhidrina-Schiff, também aumentam a intensidade. Somente a secreção de AB pH 0,4, atinge um pico de intensidade de secreção quando adultos e cai com o avançar da idade como mostram as figuras 17, 18, 19, 20 e 21.

A tabela 14 mostra os valores de P e r referentes as correlações entre intensidade de secreção e idade dos animais.

Tabela 14. Níveis de significância (P) e coeficientes de correlação (r) das correlações entre intensidade de coloração e a idade dos cães.

Valores de P e r	Correlações				
	PAS	PAS-a	AB 0,4	AB 2,5	Ninhidrina
P*	0,0004	0,0001	0,4	0,0001	0,0090
r**	0,4354	0,5311	- 0,1021	0,5057	0,3239

P= Nível de significância

r= Coeficiente de correlação

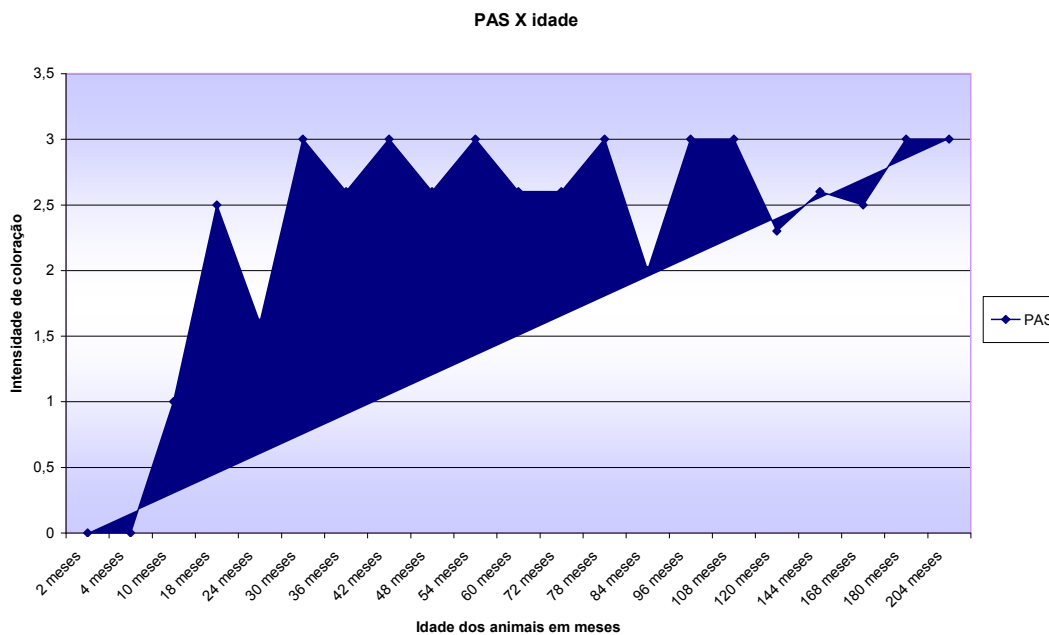


Figura 17. Intensidade de coloração pela técnica de PAS de acordo com a idade dos cães em meses.

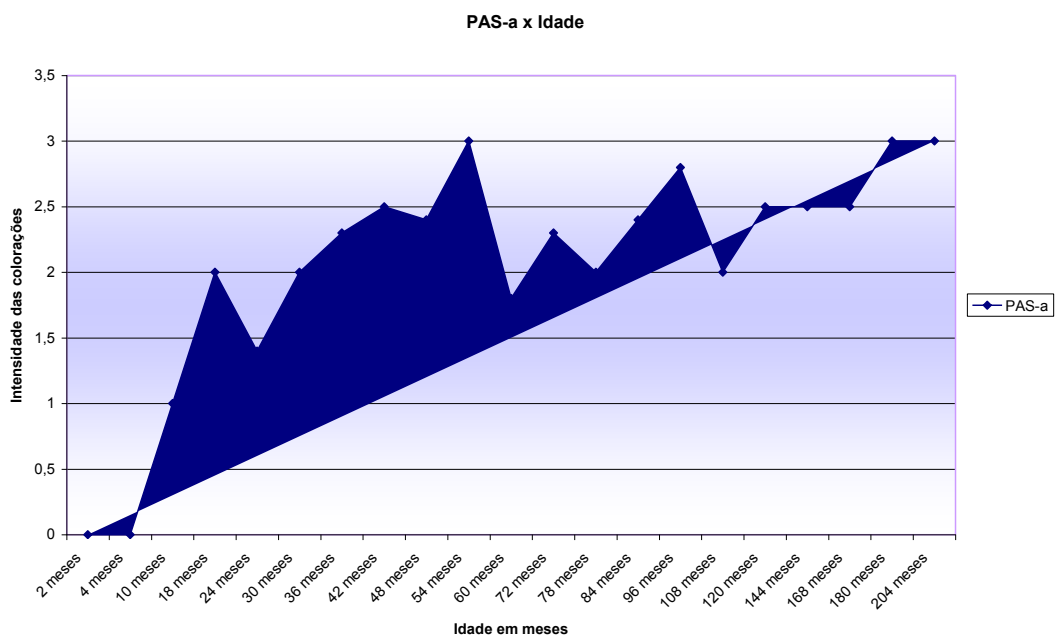


Figura 18. Intensidade de coloração pela técnica de PAS após digestão com amilase salivar de acordo com a idade dos cães em meses.

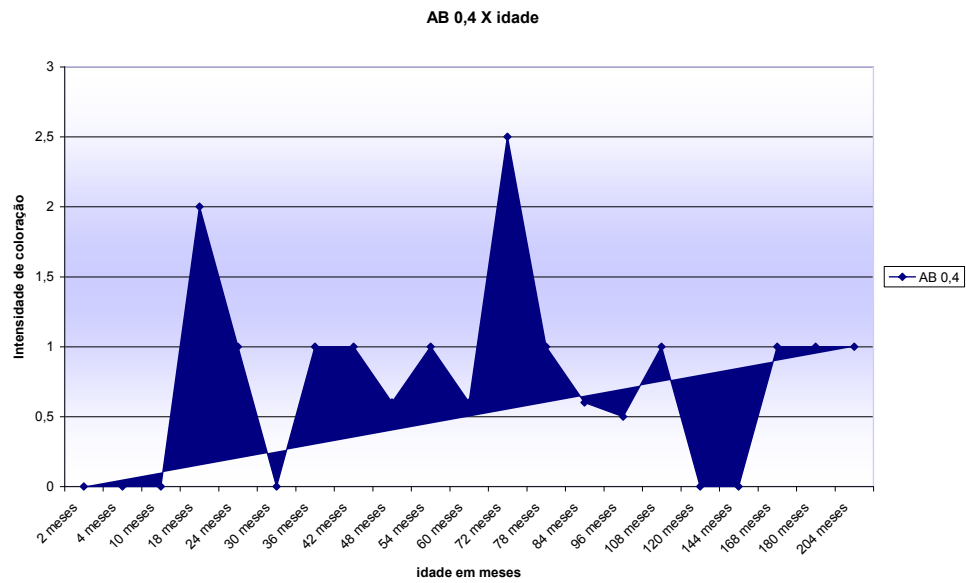


Figura 19. Intensidade de coloração pela técnica de AB pH 0,4 de acordo com a idade dos cães em meses.

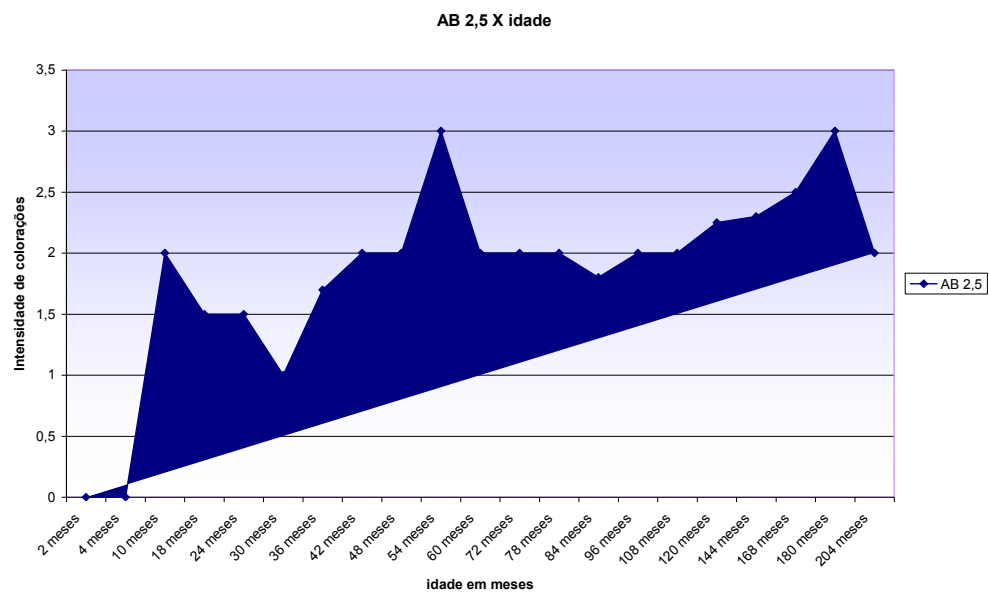


Figura 20: Intensidade de coloração pela técnica de AB pH 2,5 de acordo com a idade dos cães em meses.

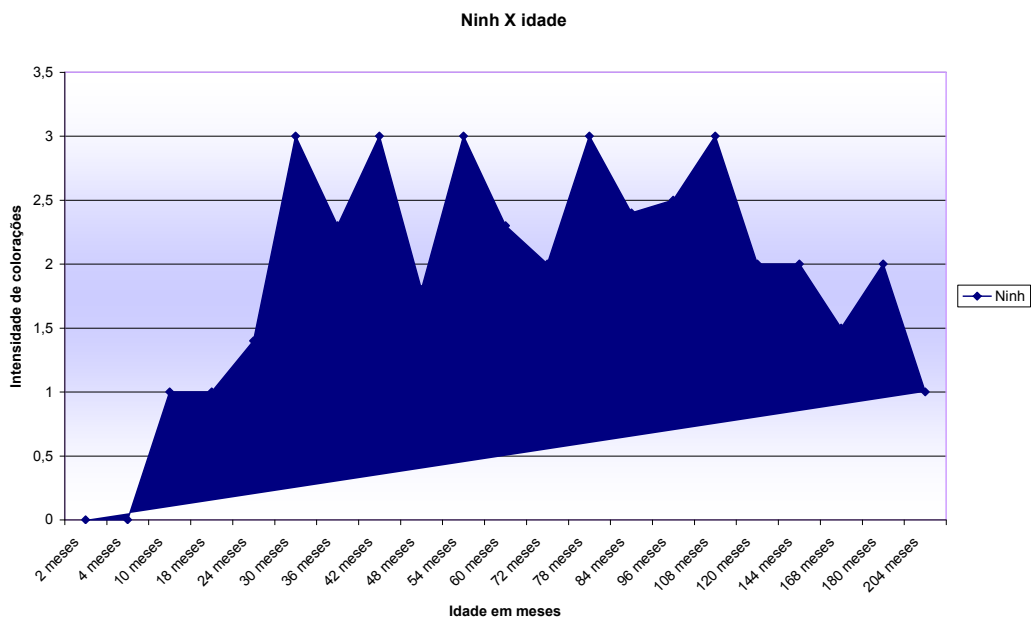


Figura 21. Intensidade de coloração pela técnica de Ninhidrina-Schiff de acordo com a idade dos cães em meses.

De Klerk (1983) encontrou que determinadas mucossustâncias como sulfato de condroitina, estão presentes em maiores concentrações de próstatas com HPB. O autor sugere ainda, um íntima relação entre a matriz extracelular e a secreção epitelial ou seja, a secreção é influenciada por hormônios, GFs e mucossustâncias. No presente trabalho, foi observado que a intensidade das secreções aumentam quando a glândula apresenta patologias. A intensidade de coloração das secreções por PAS, PAS-a, AB pH 2,5 e Ninhidrina-Schiff apresentaram correlação de Sperman positiva sendo, os maiores scores na presença da patologia HPB associada à prostatite quando comparadas a próstatas normais, próstatas com HPB e com prostatite somente. O teste de Kruskal-Wallis também se mostrou

significativo estatisticamente para a intensidade de coloração de PAS, PAS-a e ninhidrina-Schiff e presença da patologia HPB associada à prostatite.

Mucossustâncias ácidas sulfatadas coradas com AB pH 0,4 como o sulfato de heparina apresentaram tendência a diminuir a intensidade de secreção quando a próstata apresenta-se com HPB associada à prostatite. Figura 22, 23, 24, 25 e 26 mostram a intensidade de coloração onde a cor azul indica próstatas normais, o vermelho as com HBP, o amarelo com prostatite e o verde as com HPB associado a prostatite.

A tabela 15 sumariza os níveis de significância (P) e coeficiente de correlação (r) segundo Sperman e Kruskal-wallis.

Tabela 15. Níveis de significância (P) e coeficiente de correlação (r) entre intensidade média de coloração e presença de patologias.

P e r/ correlação	PAS x Patol	PAS-a x Patol	AB 0,4 x Patol	AB 2,5 x Patol	Ninh x Patol
P (Sperman)	0,0397	0,0003	0,4	0,0089	0,0105
P (Kruskall-Wallis)	0,006	0,0002	0,07	0,06	0,004
r (Sperman)	0,43	0,43	0,09	0,32	0,31

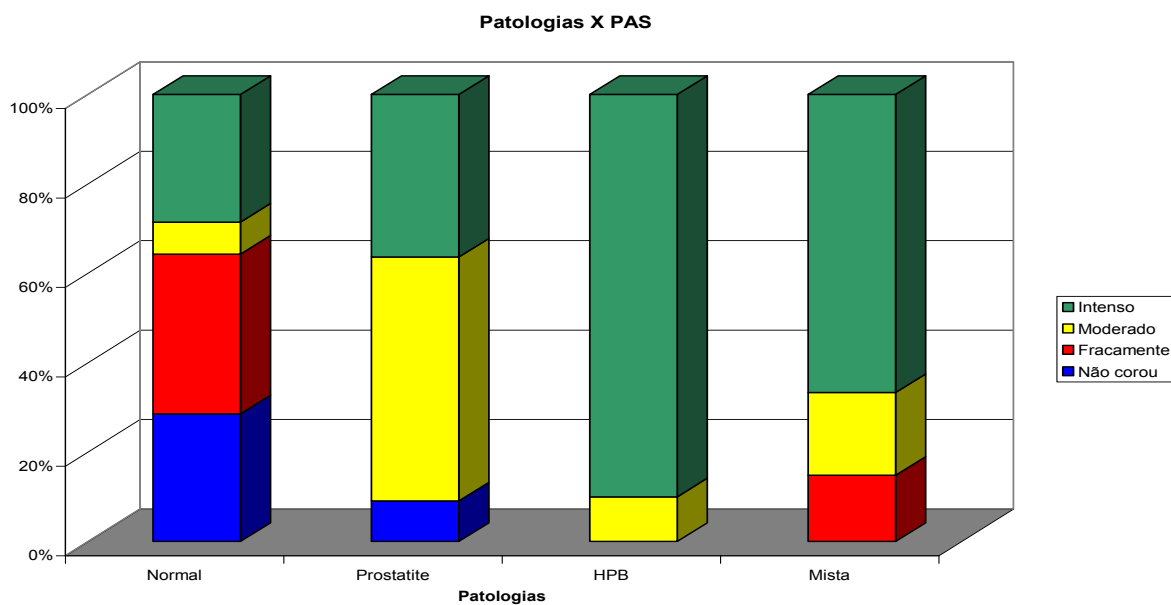


Figura 22. Correlação entre intensidade média de coloração pelo PAS X patologias.

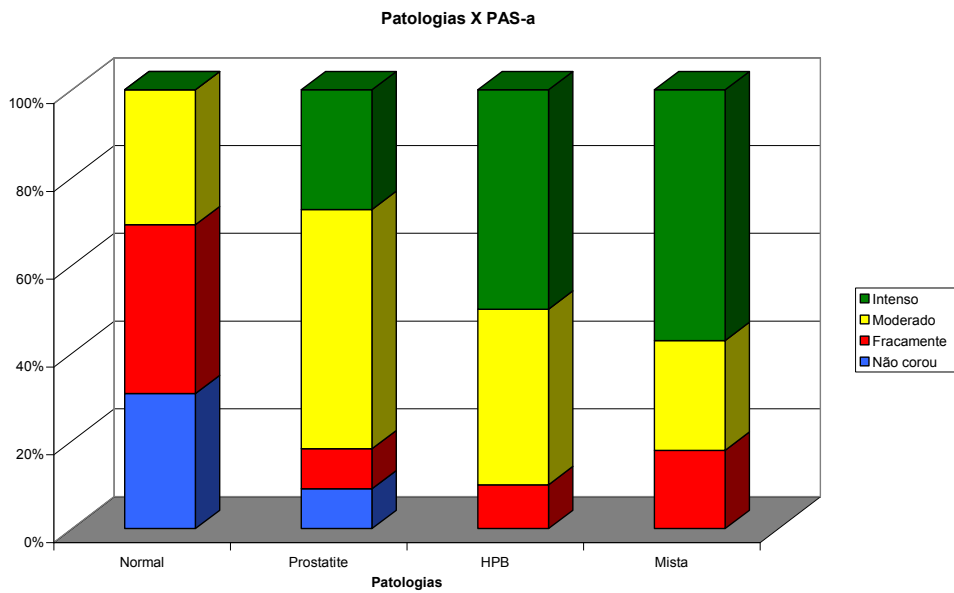


Figura 23. Correlação entre intensidade média de coloração pelo PAS-a X patologias.

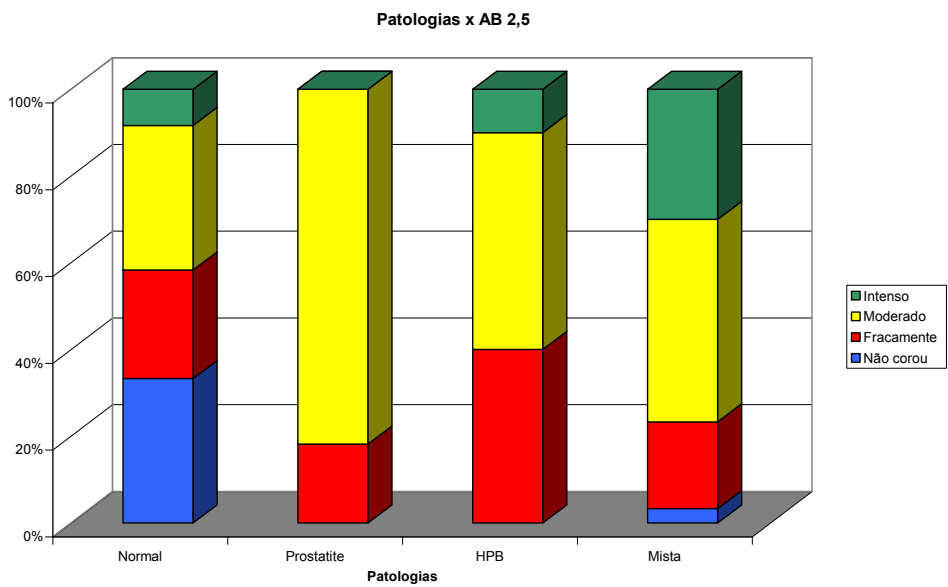


Figura 24. Correlação entre intensidade média de coloração pelo AB pH 2,5 X patologias.

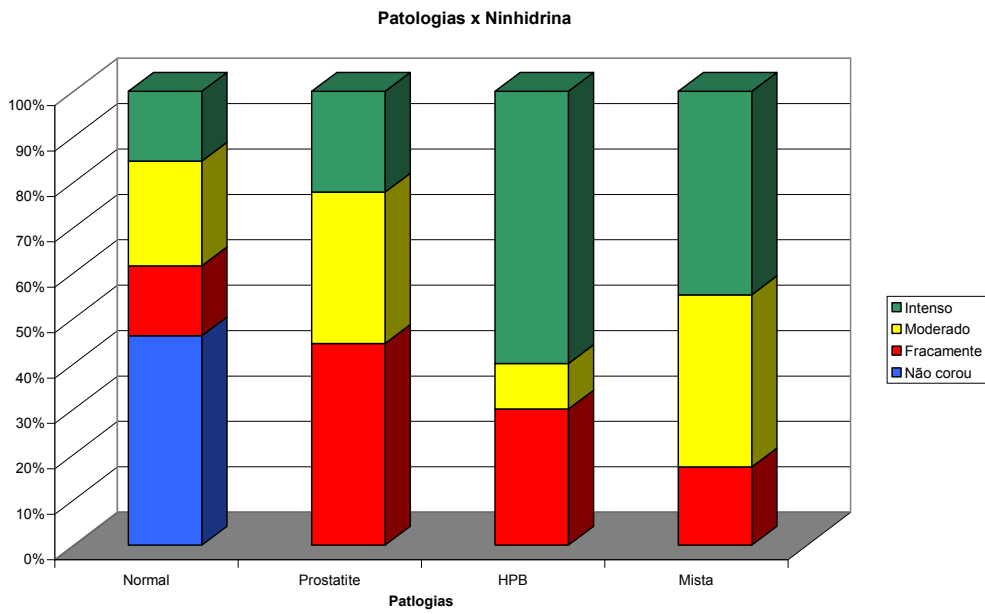


Figura 25. Correlação entre intensidade média de coloração pela Ninhidrina-Schiff X patologias.

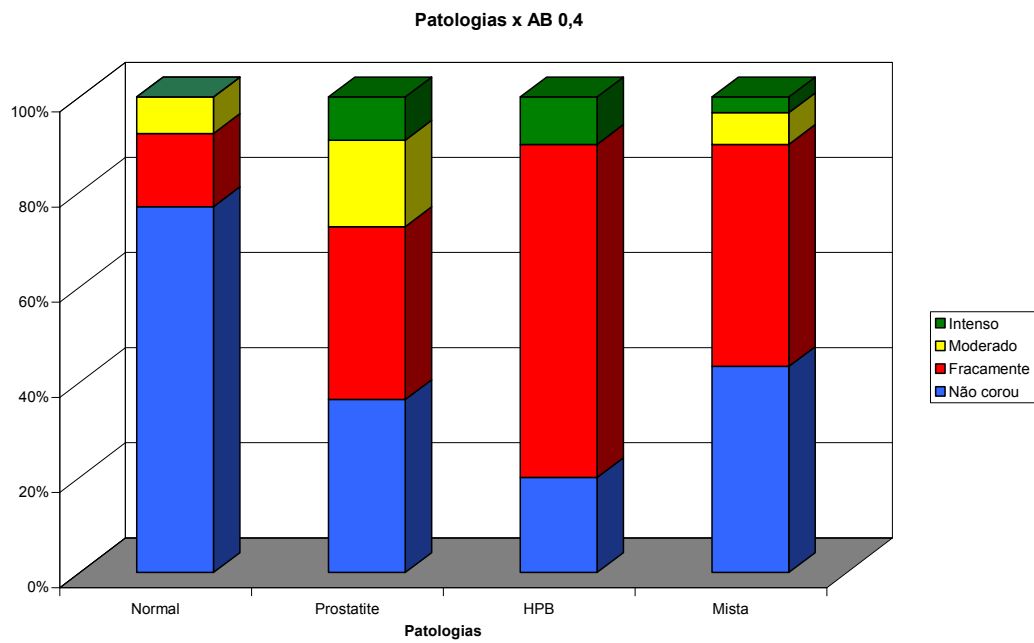


Figura 26. Correlação entre intensidade média de coloração pelo AB pH 0,4 X patologias.

Segundo Orgad (1984) e Iida (1997), no homem as mucossubstâncias ácidas sulfato de condroitina e sulfato de dermatan estão envolvidas nos processos proliferativos da HPB e nas neoplasias prostáticas enquanto o sulfato de heparina (HS) sofre uma diminuição nos processos proliferativos da próstata. Para De Klerk (1983), essa diminuição da secreção de HS relaciona-se especialmente com fatores de crescimento envolvidos na angiogênese e o autor acrescenta ainda que a dessulfatação do HS pode estar relacionada com o desenvolvimento de câncer prostático. Níveis mais baixos de HS foram encontrados em próstatas com câncer em relação às próstatas normais. Considerando que, as mucossubstâncias da próstata humana exercem função semelhante na próstata canina, é aceitável a maior intensidade de secreção mucinas neutras e ricas em radicais NH_2 nos animais adultos e diminuição das ácidas sulfatadas como o sulfato de heparina nos velhos. Ainda foram encontrados, condroitina, sulfato de heparina e ácido hialurônico no estroma de próstatas humanas.

O ácido siálico segundo Aumuller (1979), Orgad (1984) e Lagow (1999) tem concentrações mais elevadas em tecidos com processos inflamatórios e neoplásicos. Esses fatos reforçam a hipótese que, os processos proliferativos e de modificação celular, são influenciados por mucossubstâncias, especialmente as sialomucinas e fatores de crescimento. Dessa forma, o grupo que apresenta maior número de animais com HPB e HPB associada à prostatite também apresenta maior intensidade de mucossubstâncias carboxiladas.

As mucossubstâncias ácidas carboxiladas, ricas em ácido siálico, apresentaram um aumento estatisticamente significativo nos animais velhos em relação aos jovens, fato tal

está correlacionado com o aparecimento de patologias prostática em animais adultos e velhos.

4.5 Comentários finais

É limitado o conhecimento sobre o mecanismo das afecções de próstatas de cães não só do ponto de vista científico como efeito sobre a fertilidade em cães.

A ocorrência de lesões prostáticas como a HPB, a prostatite ou a associação de ambas é bastante elevada. Os resultados da presente pesquisa, levam a supor uma frequência elevada de transtornos orgânicos ligados à fertilidade em cães afetados de lesões prostáticas. Tanto assim que dos 67 cães estudados 79% revelaram-se portadores de alterações prostáticas. A possibilidade e ocorrência de lesões da próstata de cães em qualquer idade ficou clara nos resultados dos exames histopatológicos obtidos na presente pesquisa.

A alta frequência de alterações prostáticas em cães velhos não causa surpresa dado o intervalo etário pertinente (Thrall et al., 1984, Cowan et al., 1991, Krawiec, 1994 e Peter et al., 1995). Também os animais adultos de três a seis anos apresentam alto índice de lesões prostáticas. Esta constatação é importante, porquanto se espera que na referida faixa etária o cão deveria manifestar o máximo de sua vitalidade, reunindo condições favoráveis à reprodução.

Em função da idade, a secreção prostática se apresenta mais ativa no grupo de animais adultos (Gobello, 2002) e conseqüentemente o aparecimento das alterações histopatológicas surgem da transição do processo fisiológico para o patológico.

Segundo Theyer et al. (1992), Billis (1997) e Nickel (1997), o extravasamento dessas secreções além de induzir a proliferação do estroma também induz ao infiltrado inflamatório linfocitoplasmocitário que no cão, apresenta-se na forma de um Hiperplasia Prostática Benigna associada a Prostatite sem proliferação dos outros componentes do estroma, como na espécie humana.

O estudo das mucossustâncias da próstata do cão podem contribuir significativamente no conhecimento da relação epitélio-estroma e conseqüentemente dos processos da HPB no homem, uma vez que no cão, apenas o epitélio é o componente que prolifera.

Outro fator relevante no reconhecimento das mucossustâncias presentes na próstata canina se refere à sobrevivência do espermatozóide no trato genital masculino, pois esta é a única glândula acessória do cão que secreta todas substâncias importantes para ocorrência da viabilidade espermática, reação acrossômica e fecundação. Assim, é importante o conhecimento dessas mucossustâncias para aprimoramento das técnicas de armazenamento de sêmen e inseminação artificial nessa espécie ampliando assim os recursos na reprodução canina assistida.

5. CONCLUSÕES

O presente estudo, baseado nos resultados obtidos, permite concluir que:

1- A produção de secreção inicia-se à partir dos 10 meses de idade e atinge o máximo nos cães adultos. Ocorre decréscimo das substâncias ácidas sulfatadas, ricas em éster sulfato, nos animais velhos. A secreção de mucossustâncias neutras com ou sem digestão prévia pela amilase é crescente nos

jovens para os adultos e velhos. A secreção de mucossustâncias ácidas carboxiladas ricas em ácido siálico importante mucina encontrada nos processos inflamatórios e neoplásicos, e substâncias protéicas com radicais NH_2 , tem o máximo nos cães entre três a seis anos.

2- O padrão de secreção é mais intenso na faixa etária dos três ao seis anos coincidindo com o momento de maior atividade reprodutiva do cão.

3- A próstata de cães apresenta secreção composta predominantemente de proteínas ricas em radicais NH_2 , mucossustâncias neutras, glicogênio, mucossustâncias ácidas carboxiladas e ácidas sulfatadas.

4- A hiperplasia prostática benigna associada a prostatite com infiltrado linfocitoplasmocitário, foi encontrada em 46% dos animais estudados e corresponde a 58% dos casos de alterações histopatológicas.

5- A secreção de glicogênio é mais intensa entre os jovens diminuindo sua intensidade nos adultos e velhos.

6- Com o avançar da idade, a intensidade de secreção das mucossustâncias neutras, ricas em radicais NH_2 e ácidas não sulfatadas, aumenta associada ao aparecimento de patologias, sendo que, a intensidade máxima ocorre quando as próstatas apresentam alteração histopatológica do tipo Hiperplasia Prostática Benigna associada a Prostatite ou “Complexo hiperplasia prostática benigna-prostatite”.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; et al. *Biologia molecular*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 1997. 1339p.

AUMULLER, G.; *Prostate gland and seminal vesicles*. New York: Springer-Verlag Berlin-Heidelberg. 1979. 380p.

BAMBERG-THALEN, B.; LINDEFORSBERG, C.; Treatment of canine benign prostatic hyperplasia with medroxyprogesterone acetate. *Jornal Americam Animal Hospital Association*. n. 29, p. 221-226, 1993.

BARSANTI, J.A.; FINCO, D.R.; Moléstias prostáticas do cão. In: ETTINGER, SJ (Ed) *Tratado de medicina interna veterinária*. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992, v. 4, p. 1941-1963.

BARTSCH, G.; BRUENGGER, A.; DE KERKLEK, D.P. et al. Light-microscopic stereologic analysis of spontaneous and steroid-induced canine prostatic hyperplasia. *The Journal of Urology*, n. 137, p. 552-558, 1987.

BELL, F.W.; KLAUSNER, J.S.; HAYDEN, D.W. et al. Evaluation of serum and seminal plasma markers in the diagnosis of canine prostatic disorders. *Journal Veterinary Internal Medicine*, v.9, n. 3, p.149-153, 1995.

BELL, F.W.; KLAUSNER, J.S.; HAYDEN, D.W. et al. Clinical and pathologic features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs: 31 cases (1970-1987). *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 199, n.11, 1623-1630, 1991.

BILLS A., *Uropatologia da próstata: guia prático para diagnóstico anatomopatológico*. São Paulo: EFG, 1997, 210p.

BOSTWICK, D.G.; BURKE, H.B.; DJAKIEW, D. et al. Human prostate risk factors. *Cancer*, v.101, n.10, supl. 15, p.2371-2490, 2004.

CARDOSO, L.E.M.; COSTA, W.S.; SAMPAIO, F.J.B., Stromal modifications in benign prostatic hyperplasia as evidenced by glycosaminoglycan composition. *Investigative Urology*, v. 26, n.6, p. 630-634, 2000.

COFFEY, D., Similarities of prostate and breast cancer: evolution, diet and estrogens. *Urology*, v. 51, n. 4, supl. 1, p. 31-38, 2001.

COONEY, J.C.; CARTEE, R.E.; GRAY, W.; RUMPH, P.F. Ultrasonography of the canine prostate with histologic correlation. *Theriogenology*, n. 38, p.877-895, 1992

COWAN, L.A.; BARSANTI, J.A.; CROWELL, W.; BROWN, J. Effects of castration on chronic bacterial prostatitis in dogs, *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 199, n.3, p. 346-350, 1991.

DE KLERK D. The glycosaminoglycans of normal and hyperplastic prostate. *The prostate*, v. 4, n. 1, p.73-81, 1983.

DE PAULA, T.A.R. *Estudo histológico quantitativo da atividade espermatogênica do cão, em diferentes faixas etárias após a puberdade*. 1992. 65f. Dissertação. (Mestrado em Morfologia) – Instituto de Ciências Biológicas- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

- DORFMAM, M.; BARSANTI, J. Diseases of the canine prostate gland. *Small Animal*, v. 17, n. 6, p. 792- 810, 1995.
- EL-ALFY, M.; PELLETIER, G.; HERMO, L.S.; LABRIE, F. Unique features of the basal cells of human prostate epithelium. *Microscopy Research and Technique*, v. 51, p. 436-446, 2000.
- ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. *Medicina interna veterinária*.4. ed. São Paulo: Malone,1997. 3020p.
- FRANKS, L.M. The spread of prostatic cancer. *Journal Pathologic Bacterial*.v.72, p. 603-611, 1956.
- GUNANGA, K.P.; CHITRA, RAO; M., SHETH, A.R.; RAO, S.S. The role of glycogen during the development of the rat testis and prostate. *Journal Reproduction Fertility*, v. 1, n. 29, p. 157-162, 1972.
- GOBELLO, C.; CASTEX, G.; CORRADA, Y. Serum seminal markers in diagnosis of disorders of the genital tract of the dog: a mini-review. *Theriogenology*, v. 57, p. 1285-1291, 2002.
- IIDA, S.; SUZUKI, K.; MATSOUKA, K. et al. Analysis of glicosaminoglycans in human prostate by high-performamce liquid chromatography. *British Journal of Urology*, v. 79, n.1, p. 763-769, 1997.
- ITTMAN, M.; MANSUKHANI, A. Expression of fibroblast growth factors (FGFs) and FGF receptors in human prostate. *The Journal of Urology*. v. 157, n. 1, p. 351-356, 1997.
- JOHNSTON, S.D.; KAMOLPATANA, K.; ROOT-KUSTRIZ, M.V.; JOHNSTON, G.R. Prostatic disorders in dog. *Animal Reproduction Science*, v. 60-61, n. 1, p. 405-415, 2000.
- JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. *Pathologic of domestic animals*.4 ed. New York: Academic, 1993. V. 3, cap 5. 529p.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 427p.
- KRAWIEC, D.R. Canine prostate disease. *Jornal of American Veterinary Medicine Association* , v. 204, n. 10, p. 1561-1564, 1994.
- LAGOW, E.; DE SOUZA, M.M.; CARSON, D.D. Mammalian reproductive mucins. *Human Reproduction Update*, v. 5, n. 4, p. 280-292, 1999.
- LEAV, I.; SCHELLING, K. H.; ADAMS, J.Y.et al 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, n. 1, p. 149-163, 2001.
- LEE, C.; KOZLOWSKI, J.M.; GRAYHACK, J.T. Intrinsic and extrinsic factors controlling benign prostatic growth. *The Prostate*. v. 31, n. 1, p.131-138, 1997.
- LISON, L. *Histochemie al cytochimie animals. Principles and methods*. 3. ed. Paris: Gauthier-Villars, 1960. 315p.
- LOWSETH, L.A.; GERLACH, R.F.; GILLETT, N.A.; MUGGENBURG, B.A. Age-related changes in the prostate and testes of the beagle dog, *Veterinary of Pathology*, v. 27, n. 1, p. 347-353, 1990.

MANN, T.; MANN, C.L. *Male reproductive function and semen*. New York: John Wiley & Sons, 1981. 495p.

MANN, T. *The Biochemistry of semen and of the male reproductive tract*. London: John Wiley & Sons, 1964. 493p.

McENTEE, K. *Reproductive pathology of domestic mammals*. California: Academic Press, 1990. p 94-109.

McMANUS, J.F.A. Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, v. 158, n.1, p. 202. 1946.

MERK, F.B.; OFNER, P.; KWAN, P.W.L. et al. Ultrastructural and biochemical expression of divergent differentiation in prostates of castrated dogs treated with estrogen and androgen. *Laboratory Investigation*, v. 47, n. 5, p. 437-450, 1982.

MOWRY, R.W. Alcian Blue technique for the histochemical study of acidic carbohydrates. *Journal of Histochemistry Cytochemistry*, v. 4, n.1, p. 407, 1956.

MORALES, E.; POLO, L. A.; PASTOR, L.M. et al. Characterization of corpora amylacea glycoconjugates in normal and hiperplastic glands of human prostate. *Journal of molecular histology*, v. 36, n.1, p. 235-242, 2005.

NALAVADE, M.N. *Studies on mucopolysaccharides of tongue*. 1974. 545f. PhD. (Tesis) Shivaji University, Maharashtra, Índia.

NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. *Patologia da reprodução dos animais domésticos*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 108p.

NICKEL, J.C., Etiologia das prostatites: a grande desconhecida. *Urologia Contemporânea*, v. 3, n. 1, p. 22-28, 1997.

NIU, Y.; MA, T.X.; ZHANG, J. et al. Androgen and prostatic stroma. *Asian Journal of Andrology*, v.1, n. 1, p. 19-26, 2003.

ORGAD, U.; ALROY, J.; UCCI, A.; MERK, F. Histochemical studies of epithelial cell glycoconjugates in atrophic, metaplastic, hiperplastic, and neoplastic canine prostate. *Laboratory Investigation*, v. 50, n. 3, p. 294-302, 1984.

OUADA, M.I.; VERSTEGEN, J.P. Effect of finasteride (Proscar MSD) on seminal composition, prostate function and fertility in male dogs. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, v. 51, n. 1, p. 139-149, 1997.

PETER, A.T.; STEINER, J.M.; ADAMS, L.G. Diagnosis and medical management of prostate disease in the dog. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, v. 10, n. 1, p. 33-42, 1995.

POULET, F. Evolution de la prostate canine en fonction de l'age. *Annales Médecine Vétérinaire*, v. 129, n.1, p. 567-584, 1985.

PRATHER, G. C.; SKINNER, D., Prostatic corpora amylacea. *Journal of Urology*, v. 76, n.1, p. 107-114, 1956.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B. et al. *Afip laboratory methods in histotechnology*. Washington: Am. Registry of Pathology, 1992. 278p.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2. ed. Belo Horizonte: FEPMVZ-Editora, 2002. 265p.

SISSON, S.; GROSSMAN, J.D. *Anatomia dos animais domésticos*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1975. 2000p

SPICER, S.S.; LEPPI, T.J.; STOWARD, P.J. Suggestions for a histochemical terminology of carbohydrate rich tissue components. *Journal Histochemistry and Cytochemistry*, v. 13, n. 7, p. 599-603, 1965.

SROUGI, M. *Hiperplasia prostática benigna*. Rio de Janeiro: ABDR, 1995. 299p.

THEYER, G.; KRAMER, G.; ASSMANN, I. et al. Phenotypic characterization of infiltrating leukocytes in benign prostatic hyperplasia. *Laboratory Investigation*, v. 66, n.1, p. 96-107, 1992.

TRALL, M.A.; OLSON, P.N.; FREEMYER, F.G. Cytologic diagnosis of canine prostatic disease. *Journal of American Hospital Association*, v. 21, n.1, p. 95-102, 1984.

VANNUCCHI, C.I.; VENTURA, P.C.F.; SATZINGER, S.; SANTOS, S.E.C. Afecções prostáticas em cães: sinais clínicos, diagnóstico e tratamento. *Clinica Veterinária*, v. 2, n. 11, p. 37-41, 1997.

VALLE, G. R. *Aspectos morfofuncionais da tuba uterina de bovinos*. 2004. 227 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal)_ Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

VALLE, G.R. Inseminação artificial em cães. *Caderno Técnico da Escola de veterinária*, n. 36, p. 79-93, 2002.

WATERS, D.J.; BOSTWICK, D.G. Prostatic intraepithelial neoplasia occurs spontaneously in canine prostate. *The Journal Urology*, v. 157, n.1, p. 713-716, 1997.

WATERS, D.J. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia in dogs. *European Urology*, v. 35, n. 5-6, p. 458-459, 1999.

YASUMA, A.; ICHIKAWA, T. Ninhidrina-Schiff and alloxan-Schiff staining. a new histochemical staining method for protein. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, v. 41, n.1, p. 296-299, 1953.

7. Anexos

Tabela 1. Relação dos animais segundo a raça, idade e diagnóstico clínico.

No	Raça	Idade	Diagnóstico clínico
1	SRD	2 anos	Leishmaniose
3	Fila	2 anos	Babesiose
18	Cocker	4 meses	GEH
20	Fila	2 anos	Leishmaniose
25	Pastor	1,5 anos	Crises convulsivas constantes
29	Pequinês	2 meses	Verminose
32	SRD	2 meses	Cinomose
38	Basset Hound	1,5 anos	Leishmaniose
40	Poodle	4 meses	Cinomose
43	SRD	2,5 anos	Leishmaniose
44	SRD	2 anos	Leishnamiose
48	SRD	2 anos	Cinomose
54	Rottweiler	2 anos	Cinomose
56	SRD	2 anos	Leishmaniose
57	Poodle	2 anos	Traumatismo por atropelamento
58	Dogue Alemão	2 anos	Babesiose e leishmaniose
62	SRD	2 anos	Leishmaniose
65	Poodle	2 anos	Miíase anal
69	Pit Bull	10 meses	Babesiose
70	Poodle	2 anos	Cinomose

Tabela 2. Relação dos animais segundo a raça, idade e diagnóstico clínico.

No	Raça	Idade	Diagnóstico clínico
7	SRD	7 anos	Dermatite crônica
8	SRD	4 anos	Leishmaniose
15	Pastor Alemão	3 anos	Babesiose e leishmaniose
19	Fila	6 anos	Neoplasia no pescoço
26	Cocker Spaniel	7 anos	Babesiose e leishmaniose
35	SRD	4,5 anos	Babesiose
36	Poodle	3 anos	Leishmaniose
37	Poodle	3,5 anos	Leishmaniose
42	Pastor	7 anos	Leishmaniose
50	Teckel	5 anos	Lesão medular
51	SRD	4 anos	Traumatismo por atropelamento
52	SRD	4 anos	Leishmaniose
53	Poodle	4 anos	Traumatismo por queda
60	Poodle	3 anos	Cinomose
61	SRD	3 anos	Cinomose
63	Boxer	3 anos	Leishmaniose
64	SRD	5 anos	Leishmaniose
66	Pastor	6 anos	Infarto do miocárdio
67	Pinscher	4 anos	Leishmaniose
68	SRD	6 anos	Babesiose
72	Pastor	7 anos	Leishmaniose
75	Fox paulistinha	3 anos	Cinomose
76	Colie	3,5 anos	Leishmaniose
78	Rottweiler	5 anos	Leishmaniose
79	Basset Teckel	5 anos	Traumatismo por queda
80	Poodle	6,5 anos	Leishmaniose
81	SRD	7 anos	Babesiose
82	SRD	3 anos	Sarna
83	Doberman	4,5 anos	Neoplasia cutânea

Tabela 3 Relação dos animais segundo a raça, idade e diagnóstico clínico.

No	Raça	Idade	Diagnóstico clínico
4	SRD	14 anos	Parada cardio-respiratória
5	Wipet	12 anos	Neoplasia
11	SRD	17 anos	Miíase generalizada
13	Dogue Alemão	10 anos	osteossarcoma
28	Pastor belga	8 anos	Sertolioma e neoplasia cutânea
30	SRD	12 anos	Neoplasia de mama
31	Poodle	12 anos	Intoxicação por chumbinho
39	SRD	8 anos	Leishmaniose
41	SRD	12 anos	Velhice e caquexia
45	SRD	8 anos	Leishmaniose
46	Poodle	12 anos	Velhice e caquexia
47	Doberman	10 anos	Leishmaniose
49	Poodle	15 anos	Crises convulsivas constantes
55	SRD	10 anos	Leishmaniose
71	Doberman	12 anos	Osteossarcoma
73	SRD	8 anos	Neoplasia no pescoço
74	Pastor	14 anos	Neoplasia testicular
77	Pastor	10 anos	Osteossarcoma
84	Poodle	9 anos	Velhice e crises convulsivas
85	Poodle	10 anos	Miíase generalizada

Tabela 4 Patologias presentes nos animais estudados.

G 1	Animais	idade	Patologias
1	29	2 meses	Normal
1	32	2 meses	Normal
1	18	4 meses	Normal
1	40	4 meses	Normal
1	69	10 meses	Normal
1	25	18 meses	Prostatite
1	38	18 meses	Prostatite
1	1	24 meses	Complexo*
1	3	24 meses	Normal
1	20	24 meses	HPH**
1	44	24 meses	Normal
1	48	24 meses	Prostatite
1	54	24 meses	Prostatite
1	56	24 meses	Normal
1	57	24 meses	Normal
1	70	24 meses	Prostatite
1	58	24 meses	Normal
1	62	24 meses	HPH
1	65	24 meses	Complexo
1	43	30 meses	Normal

G 2	Animais	idade	Patologias
2	15	36 meses	Complexo
2	36	36 meses	Complexo
2	60	36 meses	Complexo
2	61	36 meses	Complexo
2	63	36 meses	Normal
2	75	36 meses	HPB
2	82	36 meses	Complexo
2	37	42 meses	HPB
2	76	42 meses	HPB
2	8	48 meses	Complexo
2	51	48 meses	Prostatite
2	52	48 meses	Prostatite
2	53	48 meses	HPB
2	67	48 meses	HPB
2	35	54 meses	Complexo
2	59	60 meses	Normal
2	79	60 meses	Complexo
2	50	60 meses	Complexo
2	64	60 meses	Complexo
2	19	72 meses	Prostatite
2	66	72 meses	Complexo
2	68	72 meses	Complexo
2	80	78 meses	Complexo

**HPB: Hiperplasia prostática benigna

*Complexo: Hiperplasia prostática benigna associada à prostatite

G 3	Animais	idade	Patologias
3	7	84 meses	Complexo
3	26	84 meses	Prostatite
3	42	84 meses	Complexo
3	72	84 meses	Complexo
3	81	84 meses	Complexo
3	28	96 meses	Complexo
3	39	96 meses	HPB
3	45	96 meses	Prostatite
3	73	96 meses	Complexo
3	84	108 meses	HPB
3	13	120 meses	Complexo
3	47	120 meses	Complexo
3	55	120 meses	Prostatite
3	77	120 meses	Complexo
3	5	144 meses	Complexo
3	30	144 meses	Complexo
3	31	144 meses	Prostatite
3	41	144 meses	HPB
3	46	144 meses	Normal
3	71	144 meses	Complexo
3	4	168 meses	Complexo
3	74	168 meses	Complexo
3	49	180 meses	Complexo
3	11	204 meses	Complexo

Tabela 5. Média das intensidades de colorações para mucossubstâncias nos diferentes grupos.

Grupos/ colorações	PAS	PAS-a	PAS-PAS-a	AB 0,4	AB 2,5	AB 0,4 –AB 2,5	N-S
Jovens	1,52	1,21	0,31	0,78	1,21	0,47	1,05
Adultos	2,47	2,26	0,21	0,95	1,95	0,9	2,27
Velhos	2,61	2,52	0,2	0,41	2,16	1,75	2,15

1) PAS Acid-Periodic-Schiff

2) PAS-a Acid-Periodic-Schiff com digestão prévia pela amilase salivar

3) AB 0,4 Alcian Blue pH 0,4

4) AB 2,5 Alcian Blue pH 2,5

5) N-S Ninhidrina Schiff