



# SOMMARIO

1. INTRODUZIONE.....	6
1.1 EMBRIOLOGIA ED ANATOMIA.....	13
1.2 FISILOGIA, ENDOCRINOLOGIA E PATOFISIOLOGIA .....	23
1.3 PATOLOGIE PROSTATICHE.....	31
1.3.1 NEOPLASIE PROSTATICHE.....	34
1.4 PROTOCOLLO DIAGNOSTICO .....	41
1.4.1 PALPAZIONE, EMATOBIOCHIMICO, MARKERS SIERICI E SEMINALI, ESAME URINE, ESAME DEL FLUIDO PROSTATICO .....	44
1.4.2 ESAME RADIOGRAFICO E CISTOURETROGRAFIA .....	52
1.4.3 ULTRASONOGRAFIA ED ULTRASONOGRAFIA CON COLOR-DOPPLER .....	59
1.4.4 ESAME CITOLOGICO, ESAME BIOPTICO .....	72
1.5 STATO DELL'ARTE DEL MEZZO DI CONTRASTO ECOGRAFICO IN MEDICINA VETERINARIA.....	75
2. MATERIALI E METODI.....	83
3. RISULTATI.....	93
4. DISCUSSIONE.....	106
BIBLIOGRAFIA.....	111

# INDICE DELLE FIGURE E DELLE TABELLE

<b>FIGURA 1:</b> RAPPRESENTAZIONE SCHEMATICA A PARTIRE DALLO STATO INDIFFERENZIATO SOTTO STIMOLAZIONE DEGLI STEROIDI SESSUALI E DEI PEPTIDI REGOLATORI. (KUIPER, 2010) .....	20
<b>FIGURA 2:</b> STADIO PRECOCE DI SVILUPPO DELLA GHIANDOLA PROSTATICA. LE GEMME EPITELIALI ORIGINATESI DALL'URETRA EMBRIONALE (P), MIGRANO ATTRAVERSO IL MESENCHIMA (M) PER FORMARE ISOLE DI CELLULE DAI QUALI SI FORMERANNO GLI ACINI PROSTATICI. (LEROY & NORTHRUP, 2009).....	21
<b>FIGURA 3:</b> STRUTTURA GHIANDOLARE DELLA PROSTATA: NOTARE L'ABBONDANTE TESSUTO CONNETTIVO PRESENTA TRA LE GHIANDOLE.....	21
<b>FIGURA 4:</b> PARTICOLARE DELLA STRUTTURA GHIANDOLARE DELLA PROSTATA, COSTITUITA DA GHIANDOLE TUBULO-ACINOSE COMPOSTE, CHE PRESENTANO NUMEROSI RIPIEGAMENTI.....	22
<b>FIGURA 5:</b> PARTICOLARE DELLA STRUTTURA GHIANDOLARE: NOTARE L'EPITELIO GHIANDOLARE BATIPRISMATICO SEMPLICE, CON CELLULE A NUCLEO BASALE E CITOPLASMA BASOFILO.....	22
<b>Figura 6:</b> REGOLAZIONE ORMONALE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA. PUNTI DI INTERVENTO TERAPEUTICO.....	30
<b>FIGURA 7:</b> ASPETTO MACROSCOPICO DELL'ADENOCARCINOMA PROSTATICO: I MARGINI DELLA GHIANDOLA RISULTANO IRREGOLARI ED IL PARENCHIMA GHIANDOLARE HA ASPETTO LARDACEO.....	40
<b>FIGURA 8:</b> ADENOCARCINOMA PROSTATICO IN STADIO AVANZATO, CON ASPETTO MULTINODULARE.....	40
<b>FIGURA 9:</b> ALGORITMO DIAGNOSTICO DELLE PATOLOGIE PROSTATICHE.....	43
<b>FIGURA 10:</b> ISPEZIONE DIGITO-RETTALE ASSOCIATA A PALPAZIONE DELL'ADDOME CAUDALE.....	52
<b>FIGURA 11:</b> RADIOGRAFIA DELL'ADDOME CAUDALE DI UN CANE. DA NOTARE L'AUMENTO DI VOLUME DELLA GHIANDOLA E LA DISLOCAZIONE IN SENSO CRANIALE DELLA VESCICA.....	58
<b>FIGURA 2:</b> IMMAGINE ECOGRAFICA IN SEZIONE TRASVERSALE DELLA PROSTATA DI UN CANE. DA NOTARE LE MAGGIORI INFORMAZIONI FORNITE DALL'ULTRASONOGRAFIA RISPETTO ALLA RADIOGRAFIA.....	58
<b>FIGURA 3:</b> A- SCANSIONE LONGITUDINALE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA NORMALE; B- SCANSIONE TRASVERSALE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA NORMALE.....	70
<b>FIGURA 4:</b> TECNICA DI ASPIRAZIONE CON AGO-SOTTILE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA PER VIA TRANS-ADDOMINALE ED ECO-GUIDATA.....	73
<b>FIGURA 5:</b> TECNICA DI ASPIRAZIONE CON AGO-SOTTILE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA PER VIA PERIRETTALE.....	74

<b>FIGURA 6:</b> TECNICA PER L'ESECUZIONE DI BIOPSIA CON TRU-CUT, PER VIA TRANS-ADDOMINALE ED ECOGUIDATA.....	74
<b>FIGURA 17:</b> SCANSIONE LONGITUDINALE DI UN PAZIENTE DI 48 MESI ED ORCHIECTOMIZZATO A 19 MESI. DOVE SI EVIDENZIA CAPSULA REGOLARE E PARENCHIMA IPOECOGENO AD ECOSTRUTTURA FINE E GRANULARE.....	86
<b>FIGURA 18:</b> SCANSIONE TRASVERSALE DELLO STESSO PAZIENTE DELLA FIGURA XX. SI APPREZZA LA CARATTERISTICA FORMA OVOIDALE PARENCHIMA IPOECOGENO ED ECOSTRUTTURA FINE E GRANULARE.....	87
<b>FIGURA 19:</b> FRAME SUCCESSIVI DELLA FASE DI WASH IN NEL FILMATO REGISTRATO PER LA PROSTATA IN SCANSIONE LONGITUDINALE DEL CASO 37. SI OSSERVA UN AUMENTO OMOGENEO DELL'ENHANCEMENT DEL PARENCHIMA.....	88
<b>FIGURA 20:</b> FRAME SUCCESSIVI DELLA FASE DI WASH OUT NEL FILMATO REGISTRATO PER LA PROSTATA IN SCANSIONE LONGITUDINALE DEL CASO 37. SI OSSERVA UNA OMOGENEA DIMINUZIONE DI BRILLANZA.....	89
<b>FIGURA 21:</b> ROI (AREA DI INTERESSE) PROSTATICA SELEZIONATA NEL SOGGETTO N°37 PER LIMITARE L'AREA DI STUDIO PERFUSIONALE.....	91
<b>FIGURA 22:</b> SCHERMATA DI LAVORO E SUCCESSIVA RICOSTRUZIONE 3-D DELLE MAPPE OTTENUTE NELLO STUDIO DEL SOGGETTO N°37.....	92
<b>FIGURA 23:</b> A- SCANSIONE LONGITUDINALE DELLA PROSTATA DEL CASO 56, OVE SI NOTA IL PARENCHIMA OMOGENEO E DIFFUSAMENTE IPOECOGENO, CON AL CENTRO UNA LINEA IPOECOICA A DECORSO OBLIQUO CORRISPONDENTE ALL'URETRA, B- SCANSIONE TRASVERSALE DELLA PROSTATA DEL CASO 42, OVE, INVECE, L'URETRA E' LA STRUTTURA CIRCOLARE IPOECOGENA AL CENTRO.....	96
<b>TABELLA 1:</b> RILIEVI LABORATORISTICI IN CORSO DI PATOLOGIA PROSTATICA.....	51
<b>TABELLA 2:</b> DIMENSIONI PROSTATICHE IN CANI INTERI SANI E LORO CORRELAZIONI AL PESO ED ALL'ETÀ.....	70
<b>TABELLA 3:</b> FORMULE DA UTILIZZARE DOPO MISURAZIONI ECOGRAFICHE PER OTTENERE A) VOLUME PROSTATICO E B) PESO PROSTATICO. IN SEZIONE LONGITUDINALE L=LUNGHEZZA, DL=ALTEZZA; IN SEZIONE TRASVERSALE W=LARGHEZZA, DT=ALTEZZA.....	71
<b>TABELLA 1:</b> CLASSIFICAZIONE FARMACOCINETICA DEI MEZZI DI CONTRASTO ECOGRAFICI (USCA, ULTRASOUND CONTRAST AGENTS).....	82
<b>TABELLA 5:</b> SEGNALAMENTO DEI SOGGETTI NORMALI SOTTOPOSTI AD ESAME ECOCONTRASTOGRAFICO.....	83
<b>TABELLA 6:</b> DATI RACCOLTI DURANTE ESAME ECOGRAFICO PRELIMINARE IN B-MODE DEI 64 CANI STUDIATI.....	93
<b>TABELLA 7:</b> VALORI DI INTENSITÀ DI PICCO DI PERFUSIONE (PPI), DI TEMPO AL PICCO (TTP), IL TEMPO DI TRANSITO MEDIO (MTT), IL VOLUME EMATICO REGIONALE (RBV) ED IL FLUSSO EMATICO REGIONALE (RBF) REGISTRATI PER LE PROSTATE DEI 64 SOGGETTI STUDIATI.....	99
<b>TABELLA 8:</b> STATISTICHE DESCRITTIVE VALORI PPI A 15s, 30s, 45s.....	101

<b><u>TABELLA 9</u></b> : TEST DEGLI EFFETTI ENTRO PER SOGGETTI VALORI PPI.....	102
<b><u>TABELLA 10</u></b> : CONFRONTI A COPPIE VALORI PPI.....	102
<b><u>TABELLA 11</u></b> : STATISTICHE DESCRITTIVE VALORI TTP A 15s,30s,45s.....	103
<b><u>TABELLA 12</u></b> : TEST DEGLI EFFETTI ENTRO SOGGETTI PER VALORI TTP.....	104
<b><u>TABELLA 13</u></b> : CONFRONTI A COPPIE VALORI TTP.....	104

## **1. INTRODUZIONE**

I cani sono gli unici mammiferi che, insieme all'uomo, presentano incidenza di tumori prostatici spontanei (Foster,2012) . Anche se studi recenti mostrano la presenza di neoplasie prostatiche spesso a carattere carcinomatoso anche nel gatto (Zambelli D.,2010). A livello istologico i più comuni sono gli adenocarcinomi, i carcinomi indifferenziati e i carcinomi a cellule di transizione .Questi ultimi sono di origine vescicale e possono successivamente coinvolgere anche l'uretra, la prostata e gli strati muscolari circostanti (Marconato e Del Piero,2005). L'incidenza dei carcinomi prostatici nel cane è bassa (0.2-0.6%) (Johnston SD, 2001). Anche se, studi più recenti, riporterebbero una frequenza decisamente più alta (3.6-13%) ( Teske E,2002; Mukaratirwa S,2007).

Il carcinoma prostatico può insorgere sia nei soggetti interi che castrati in una età media compresa tra i 6 e gli 11 anni (McKenzie ,2010). E' un tipo di neoplasia , spesso, ad alto grado di malignità e con alto rischio di metastaticità riscontrato al momento della diagnosi, pari al 40-80% dei casi (Cornell KK.,2000). Numerosi studi correlano la castrazione del cane alla possibilità che si sviluppino tumori maligni prostatici, in particolar modo adenocarcinomi (Teske E. et al 2002 ;Bryan JN. et al,2007). Sembrerebbe infatti che un cane castrato abbia possibilità 8 volte maggiori di sviluppare tale patologia (Francey, 2010; Bell, Klausner, Hayden, Lund, &

Johnston, 1991).La castrazione non sembrerebbe favorire l'instaurarsi di un carcinoma prostatico, ma aumenterebbe le possibilità di un suo rapido sviluppo ( Teske E.,2002). Nei soggetti castrati sembrerebbe infatti aumentare il rischio di sviluppare metastasi, per via linfo-ematogena, ai polmoni e alle ossa (Bryan JN.,et al,2007). Le metastasi scheletriche si riscontrano soprattutto nelle ossa toraciche (coste e scapola) e nelle vertebre lombari. L'alta concentrazione di metastasi vertebrali è dovuta ad una comunicazione tra i complessi venosi vertebrali e prostatici (Marconato e Del Piero,2005).

Esistono molte differenze tra il carcinoma prostatico umano ed il canino: La causa principale di ciò è stato imputato al fatto che i carcinomi prostatici nel cane, a differenza di quanto accade nell'uomo , derivano prevalentemente da cellule epiteliali duttali androgeno - indipendente, e quindi sembrerebbe che, a differenza dell'uomo, gli androgeni non siano responsabili dell'avvio o della progressione dei tumori prostatici (Sorenmo KU. et al,2003; Fan TM,2007).

Nell'uomo,a differenza del cane, ci sono markers per le lesioni pre - maligne e fattori di rischio familiari ,dietetici ed infiammatori. Nell'uomo molti tumori prostatici sono latenti, invece nel cane sono spesso a rapida evoluzione con alto grado di malignità (LeRoy B.E. ,2009).

Lo stadio iniziale di un cancro prostatico umano è una neoplasia intra - epiteliale (PIN). Nel cane la relazione tra PIN e carcinoma prostatico è sconosciuta ,ma si sa che le neoplasie prostatiche canine non esprimono recettori per gli androgeni e quindi la castrazione potrebbe essere associata ad un aumento del rischio di evoluzione di un adenocarcinoma prostatico (Sorenmo K.U., 2003). La castrazione infatti modifica le componenti stromali della ghiandola da cellule muscolari lisce actina- positive a cellule mesenchimali vimentina - positive. Queste variazioni morfologiche/tessutali possono favorire lo sviluppo di un cancro prostatico nei soggetti castrati (Shidaifat F.R. et al, 2004). Il carcinoma prostatico umano inizia a svilupparsi nella zona periferica della ghiandola, invece nel cane non è ancora ben chiaro ,ma si pensa che si possa sviluppare dall'epitelio duttale adiacente alla zona periuretrale ( LeRoy B.E.,2009).

Nell'uomo grazie a mezzi diagnostici all'avanguardia, come il test di immunoreattività al PSA o al PMSA e a markers altamente specie - specifici come l'argina esterasi è possibile arrivare in tempi molto precoci ad una stadiazione tumorale e ad un approccio terapeutico idoneo, che riescono a rallentare lo sviluppo neoplastico. Invece nel cane la diagnosi è spesso molto tardiva ,dovuta ad una sintomatologia spesso aspecifica e quindi le aspettative di vita, dopo la diagnosi , spesso non superano i 30 giorni (LeRoy B.E., 2009).

Nel cane per tutte le affezioni prostatiche, in generale, si riportano sintomi generici, quali anoressia, inappetenza, perdita di peso, dolore, ematuria, disuria, dischezia, che impongono al clinico di considerare nella diagnosi differenziale anche patologie non prostatiche, responsabili di un quadro clinico simile (Holt, 2009). Ed è proprio per questo motivo che spesso l'accurata e precisa diagnosi della patologia prostatica risulta difficoltosa e richiede una completa ed approfondita conoscenza dell'anatomia, della fisiologia, oltre che dei segni clinici correlati (Smith, 2008).

Inoltre, nella maggior parte dei casi è necessario ricorrere a test diagnostici di base, quali l'esame delle urine e/o dell'eiaculato, l'esame l'ematobiochimico completo, tecniche di diagnostica per immagini, quali la radiologia con o senza mezzo di contrasto, l'ultrasonografia con o senza l'utilizzo di Color/Power Doppler, ed, infine, l'esame citologico e/o istologico (Francey, 2010). L'iter diagnostico, quindi, richiede l'approfondita conoscenza delle diverse tecniche utilizzate, il tipo di informazioni che possono fornire, i patterns patologici ed i loro limiti. Nonostante tutto ciò, sempre più spesso, sia per la diagnosi che per il trattamento si ricorre a nuove ed emergenti tecniche, tra le quali l'ultrasonografia con mezzo di contrasto che permette, rispetto al Color/Power Doppler, di individuare con maggiore sensibilità e precisione la vascolarizzazione e quindi la perfusione (Wilson SR. 2010). L'impiego di mezzi di contrasto di seconda generazione (Sonovue, Bracco Italia), caratterizzati da una maggiore elasticità e resistenza, offre il vantaggio di ridurre la distruzione delle

microbolle e consente un'indagine eco - contrastografica dinamica in tempo reale durante tutta la fase perfusionale (Russo et al, 2009). Il mezzo di contrasto utilizzato in ecografia ha una diffusione intravascolare ed è costituito da una soluzione contenente piccole bolle di glicole polietilene, fosfolipidi e acido palmitico che racchiudono al loro interno un gas innocuo (Esafloruro di Zolfo) (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001); ognuna di queste microbolle è più piccola di un globulo rosso, quindi annulla la possibilità di eventuali emboli e riflette il segnale ultrasonografico aumentando l'ecogenicità del sangue rispetto a quella degli altri tessuti (Wilson SR., 2010). Tali dati risultano di estrema utilità poiché, a differenza del tessuto sano, il tessuto patologico presenta diversa vascolarizzazione e perfusione (Ivancic M.,2009). Infatti, aree necrotiche o con infarcimento emorragico, presentano una ridotta perfusione, mentre i tumori, a causa dell'angiogenesi, presentano un aumento della vascolarizzazione (Ivancic M., 2009). Il mezzo di contrasto viene iniettato per via endovenosa attraverso un catetere venoso periferico e dopo la somministrazione rimane in circolo per pochi minuti , tuttavia sufficienti per consentire di identificare e tipizzare la lesione da studiare. Il gas viene poi escreto per via polmonare in fase espiratoria ,quindi eliminando qualsiasi possibilità di accumulo nei reni o nel fegato. In medicina umana questa metodica è già da molti anni di ampio uso per la valutazione di patologie cardiovascolari (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001) nonché

per lo studio di lesioni focali o nodulari a carico di organi parenchimatosi come fegato e mammella (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). In medicina veterinaria viene invece utilizzata per la valutazione di organi e linfonodi prettamente addominali (Wilson SR.2010) per cercare aree di minor vascolarizzazione ( aree necrotiche, ascessi ,aree fibrotiche ) o di maggior vascolarizzazione dovute ad una maggiore angiogenesi che va ad alterare il parenchima strutturale ( tumori primari,metastasi ) .

Una volta raccolti i dati dell' ultrasonografia con mezzo di contrasto risulta sempre più importante avere a disposizione software/algoritmi (Contrast ,Bracco,Italia) in grado di eseguire in modo preciso ed accurato l'analisi della cinetica del tracciante iniettato, fornendo risultati dai parametri emodinamici totalmente accessibili e di facile interpretazione (Thijssen JM., 2005). Tali software permettono di standardizzare un esame contrastografico ,eliminando l'interpretazione soggettiva dell' operatore e di creare mappe quantitative per i parametri di perfusione, analisi segmentali delle aree di interesse (ROI), grafici rispondenti a differenti equazioni matematiche e di salvare le mappe di perfusione e le curve tempo- intensità.

L'ultrasonografia con mezzo di contrasto, in medicina veterinaria, offre notevoli vantaggi rispetto alle più comuni contrastografie in TC o RM (Wilson SR., 2010) .Tali vantaggi sono dovuti al fatto che questo esame diagnostico può essere eseguito senza necessità di sedazione del paziente ed il mezzo di contrasto ,di seconda

generazione , ha un'emivita molto breve pari a 2-5 min. La diffusione è esclusivamente intravascolare, a differenza dei mezzi di contrasto utilizzati per TC e RM ,che invece hanno diffusione intraepiteliale. Quando sta per terminare la sua emivita viene escreto esclusivamente attraverso i polmoni in fase espiratoria evitando, a differenza di altri tipi di contrastografie, rischi di accumulo in fegato e reni. Per le sue caratteristiche funzionali risulta essere quindi un ausilio diagnostico assolutamente non invasivo e grazie alle sue caratteristiche metaboliche risulta applicabile anche su soggetti nefropatici o epatopatici (Seiler G.,2011) permettendo di poter valutare eventuali anomalie vascolari/microstrutturali ancor prima di avere variazioni macroscopiche (Ohlerth S.,2007).

Scopo del presente lavoro sperimentale è stato quello di valutare, mediante utilizzo di ecografia basale, le caratteristiche prostatiche di soggetti orchiettomizzati delineando i pattern ecografici e ,successivamente , dopo somministrazione del mezzo di contrasto ecografico descriverne le caratteristiche soncontrastografiche ed elaborare le mappe di perfusione e le curve di tempo-intensità.

## **1.1 EMBRIOLOGIA ED ANATOMIA**

Lo sviluppo gonadico ed, in particolare, l'embriologia della ghiandola prostatica risultano essere di assoluta utilità per comprendere i processi che portano ad una normale crescita, differenziazione e successivamente all'evoluzione patologica dell'organo stesso (LeRoy & Northrup, 2009). Innanzitutto, il corretto sviluppo degli organi genitali maschili sono determinati dal completamento di una serie di eventi, dipendenti dalle informazioni genetiche contenute nel cromosoma Y dell'embrione (Meyers-Wallen, 1993) (fig.3). Infatti, prima della differenziazione sessuale, le gonadi maschili e femminili sono chiamate indifferenziate, poiché si compongono di creste genitali, dotti di Wolff e di Müller, di un seno urogenitale, di un tubercolo genitale e di cercini genitali indistinguibili tra i due sessi e derivanti dalla cresta urogenitale (Kuiper, 2010). Sotto l'influenza di un gene localizzato nel cromosoma Y (Sry), si ha la produzione di un fattore di trascrizione, chiamato fattore determinante il testicolo, il quale determina lo sviluppo testicolare (Meyers-Wallen, 1993). La successiva crescita e differenziazione delle cellule testicolari porta alla secrezione di due importanti fattori, il primo è la sostanza di inibizione mülleriana (AMH), che determina la regressione dei dotti di Müller a partire dal 36° giorno di gestazione, il secondo è il testosterone, che determina l'ulteriore sviluppo dei dotti maschili (Kuiper, 2010). La parte prossimale del dotto di Wolf si attorciglia e forma l'epididimo, mentre la parte distale forma il condotto deferente (Kuiper, 2010).

Inoltre, il testosterone, a livello delle cellule del seno uro-genitale viene metabolizzato a diidrotestosterone, il quale a partire dalla sesta settimana di gestazione determina lo sviluppo e la crescita del terzo e quarto paio di gemme del seno stesso, portando alla formazione di prostata, uretra e vescica (Evans & Christensen, 1995; LeRoy & Northrup, 2009) (fig. 4). Sotto l'influenza degli androgeni, poi, le gemme prostatiche si allungano, si canalizzano e si ramificano nel tessuto mesenchimale circostante andando a formare la componente secretoria della ghiandola (LeRoy & Northrup, 2009). Gli androgeni, inoltre, promuovono la differenziazione dell'epitelio prostatico primitivo in tre tipi di cellule mature, chiamate cellule basali, cellule luminali e cellule neuroendocrine (LeRoy & Northrup, 2009). Le cellule basali sono la componente di cellule staminali, che si trovano in stretto rapporto con la membrana basale e sono identificate dalla loro caratteristica di co-esprimere la keratina 5 e 14, mentre le cellule luminali rappresentano la componente secretoria e co-esprimono come markers molecolari la keratina 8 e 18 (Clements, 1989). Tali cellule sono responsabili della secrezione della principale proteina prodotta, un'arginina esterasi, che rappresenta l'equivalente canino del PSA umano (Isaacs & Coffey, 1984).

Anatomicamente, sebbene abbia l'aspetto di un organo impari, unico e bilobato, la prostata è in realtà un agglomerato di numerose ghiandole, provviste di altrettanti condotti escretori che si aprono a livello del collicolo seminale, una sporgenza

oblunga situata sulla parte posteriore dell'uretra prostatica (Barone, 1994). Nel cane, se ne riconoscono due gruppi distinti per topografia e per conformazione: uno costituisce una parte conglomerata, detta "corpo della prostata"; l'altro è formato da alcuni lobuli sparsi lungo il decorso dell'uretra membranosa (Barone, 1994). La parte conglomerata, grigiastra e molto consistente, ha, in cani di taglia media, un diametro di circa 2-3 cm ed un peso che oscilla tra i 6 e gli 8 g (Brendler, Berry, Ewing, McCullough, Cochran, & al., 1983). Essa presenta due lobi, destro e sinistro, separati da un netto solco mediano più profondo cranialmente e dorsalmente (Barone, 1994). La sua posizione varia in base all'età ed alle dimensioni del cane, al grado di distensione vescicale ed al suo stato patologico (Evans & Christensen, 1995). Infatti, la ghiandola è totalmente compresa in addome fino all'età di due mesi, quando si ha il cedimento del residuo uracale, mentre dal secondo mese fino alla maturità sessuale si trova nel canale pelvico (Evans & Christensen, 1995). Con l'avanzare dell'età e l'aumentare delle sue dimensioni per effetto dell'iperplasia prostatica, poi, la ghiandola si sposterà cranialmente oltre l'orlo del bacino, sporgendo in addome (Evans & Christensen, 1995). Come per la posizione, anche la dimensione ed il peso della ghiandola prostatica variano notevolmente a seconda delle dimensioni e dell'età del soggetto e tutt'ora per stimare il suo volume ed il suo peso si utilizzano le seguenti formule (Ruel, Barthez, Mailles, & Begon, 1998; Atalan, Holt, Barr, & Brown, 1999):

La sua faccia dorsale, rivestita dal peritoneo, è in rapporto con il retto, mediante l'interposizione dell'abbondante tessuto connettivo retro-peritoneale e del setto fibroso retto-genitale e sulla sua superficie si perdono le fibre più craniali del m. uretrale (Barone, 1994). La sua faccia ventrale, invece, copre la parte prostatica e pre-prostatica dell'uretra, cui aderisce intimamente e contrae rapporti con un plesso venoso che la separa dal muscolo otturatore interno (Barone, 1994). A livello della superficie cranio-dorsale della ghiandola entrano i dotti deferenti, i quali si portano caudo-ventralmente per aprirsi su ciascun lato del collicolo (Smith, 2008). Inoltre, cranialmente alla prostata si individua l'utricolo prostatico, il quale sbocca sulla sommità del collicolo seminale ed altro non è che il residuo della porzione terminale dei dotti paramesofrenici (Evans & Christensen, 1995). Infine, ciascuna faccia laterale è ricoperta interamente dal peritoneo ed è in rapporto con la parete addominale (Francey, 2010; Smith, 2008).

Dal punto di vista istologico, la prostata è un agglomerato di numerose ghiandole tubulo-alveolari, derivanti dall'epitelio dell'uretra pelvica, ognuna delle quali possiede un proprio condotto escretore, il quale confluisce al collicolo seminale, che a sua volta sbocca nell'uretra prostatica (Wrobel, 2000). La ghiandola è avvolta da una capsula (capsulae prostaticae), da cui deriva uno stroma abbondante, ricco di

cellule muscolari lisce tale da essere denominato sostanza muscolare (Brendler, Berry, Ewing, McCullough, Cochran, & al., 1983). Si tratta di un connettivo denso, che contiene anche numerose fibre elastiche e nel quale le cellule muscolari dinanzi menzionate si raggruppano in fasci che sono più numerose a livello del corpo della prostata e si estendono attraverso il parenchima fino a raggiungere lo strato muscolare uretrale (Brendler, Berry, Ewing, McCullough, Cochran, & al., 1983) (fig. 5). La sostanza ghiandolare è formata da ghiandole tubulo-acinose composte, i cui acini contengono ripiegamenti primari e secondari di epitelio secretorio diretti verso il lume dell'acino stesso (Berry, Strandberg, Saunders, & al., 1986) (fig. 6). I tubuli, gli alveoli secernenti ed i condotti intraghiandolari sono costituiti da un epitelio cubico o batiprismatico semplice, nel quale sono presenti alcune cellule basali e che poggia su una membrana basale molto sottile (Wrobel, 2000) (fig. 7). Le sue cellule, con nucleo ovoidale e basale, presentano tutte le caratteristiche di un'attività secernente intensa; il loro citoplasma è infarcito di muco e granuli di secreto, di cui molti sembrano di natura lipidica (Brendler, Berry, Ewing, McCullough, Cochran, & al., 1983). Questo secreto, poi, viene riversato nel lume ghiandolare, raccogliendosi in dilatazioni sacciformi (Wrobel, 2000). In seguito a castrazione, l'epitelio diventa basso e le sue cellule perdono il loro carattere secernente; tuttavia, la somministrazione di testosterone ristabilisce la morfologia primitiva e l'attività funzionale (Barone, 1994). I condotti escretori sono dapprima irregolari e provvisti di

numerose dilatazioni e di diverticoli secernenti, poi confluiscono in canalicoli prostatici, più stretti e meno irregolari, che sboccano nell'uretra (Barone, 1994). Ogni porzione del dotto è rivestita da cellule colonnari e cuboidali, che si trasformano in epitelio di transizione in quelli che si aprono nell'uretra (Dorfman & Barsanti, 1998).

Infine, per quanto riguarda la vascolarizzazione, da ciascuna arteria pudenda interna a livello del margine craniale del mm. elevatore dell'ano si diramano le arterie prostatiche e le arterie uretrali (Barone, 1994) (fig. 8). Entrambe le aa. prostatiche, prima di raggiungere la ghiandola, però, danno origine alle branche che irrorano parte del retto (a. rettale media, relativamente esile), i dotti deferenti (a. deferenziale) e la vescica (a. vescicale caudale, talvolta duplice ed eventualmente sostituisce la craniale) (Barone, 1994). Una volta, penetrate al di sotto della capsula, le due arterie prostatiche si ramificano in tre rami, il craniale, il medio ed il caudale, i quali scendono lungo i setti connettivali fino attorno ai fondi ciechi ghiandolari, dove alimentano una rete capillare particolarmente fitta (Barone, 1994). La micro vascolarizzazione viene, poi, suddivisa in tre zone: la capsulare, la parenchimale e l'uretrale (Stefanov, 2004). Le aa. uretrali, invece, irrorano la parte caudale dell'uretra pelvica e la porzione disseminata della ghiandola prostatica (Barone, 1994). Il drenaggio venoso avviene grazie alla rete venosa satellite delle arteriole che si raccoglie nelle vene prostatiche ed uretrali, le quali a loro volta confluiscono

nella vena iliaca interna, la quale a sua volta si porta alla v. iliaca comune ed, infine, alla v. cava caudale (Evans & Christensen, 1995). I vasi linfatici sono numerosi e si raggruppano in una rete perighiandolare, i cui afferenti si portano ai linfonodi iliaci mediali (Barone, 1994). Infine, per quanto riguarda l'innervazione, il nervo ipogastrico, che origina dal ganglio mesenterico craniale, fornisce il controllo simpatico, mentre il nervo pelvico, che origina dal primo al terzo segmento sacrale, quello parasimpatico: insieme formano il plesso pelvico (Francey, 2010). Le fibre nervose, come le arterie, penetrano la capsula, raggiungendo con le loro fibre persino l'epitelio (Barone, 1994). La stimolazione parasimpatica durante l'erezione determina la secrezione ghiandolare e la contrazione della muscolatura liscia, mentre la stimolazione simpatica durante l'eiaculazione è responsabile dell'eiezione del fluido prostatico nell'uretra (Bruschini, Schmidt, & Tanagho, 1978).

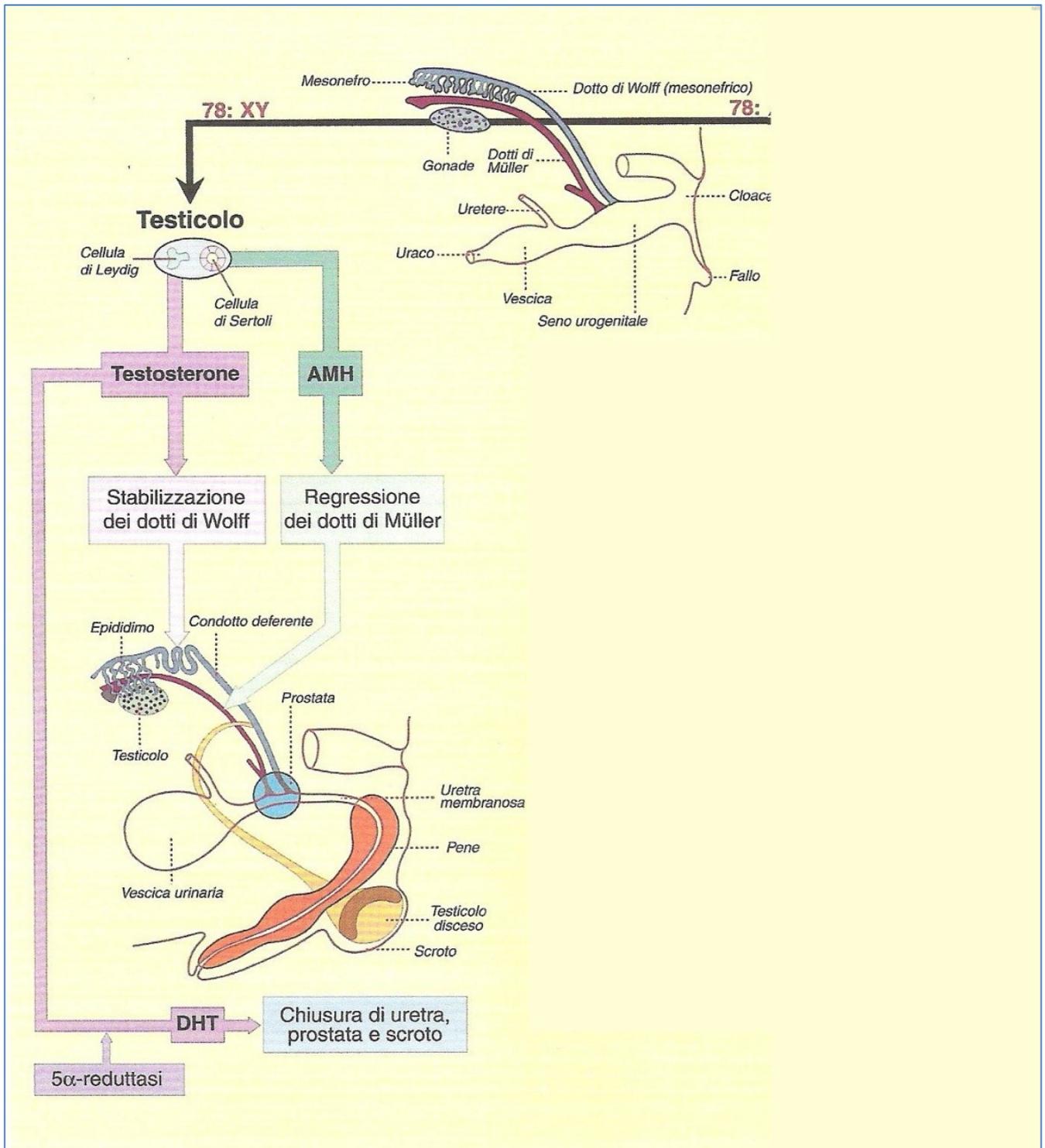


FIGURA 1: RAPPRESENTAZIONE SCHEMATICA A PARTIRE DALLO STATO INDIFFERENZIATO SOTTO STIMOLAZIONE DEGLI STEROIDI SESSUALI E DEI PEPTIDI REGOLATORI. (KUIPER, 2010)

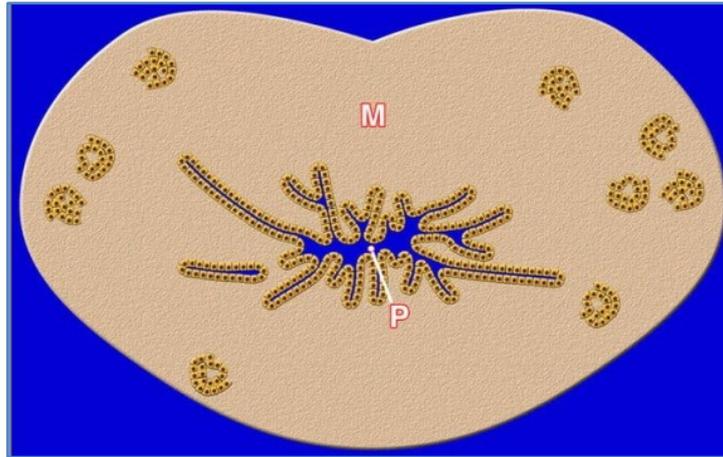


FIGURA 2: STADIO PRECOCE DI SVILUPPO DELLA GHIANDOLA PROSTATICA. LE GEMME EPITELIALI ORIGINATESI DALL'URETRA EMBRIONALE (P), MIGRANO ATTRAVERSO IL MESENCHIMA (M) PER FORMARE ISOLE DI CELLULE DAI QUALI SI FORMERANNO GLI ACINI PROSTATICI. (LEROY & NORTHRUP, 2009)

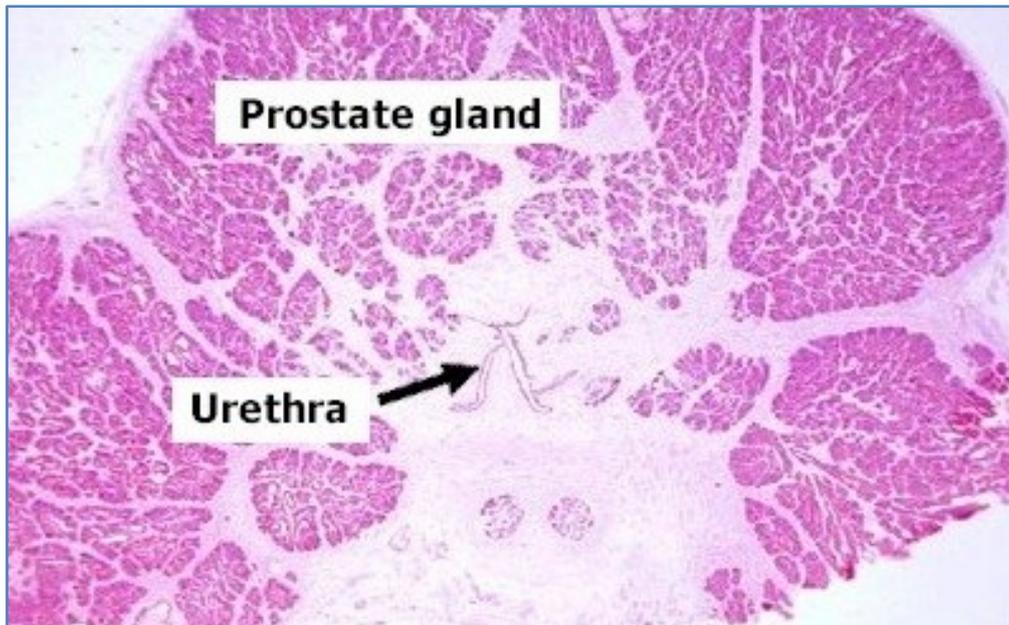


FIGURA 3: STRUTTURA GHIANDOLARE DELLA PROSTATA: NOTARE L'ABBONDANTE TESSUTO CONNETTIVO PRESENTA TRA LE GHIANDOLE.

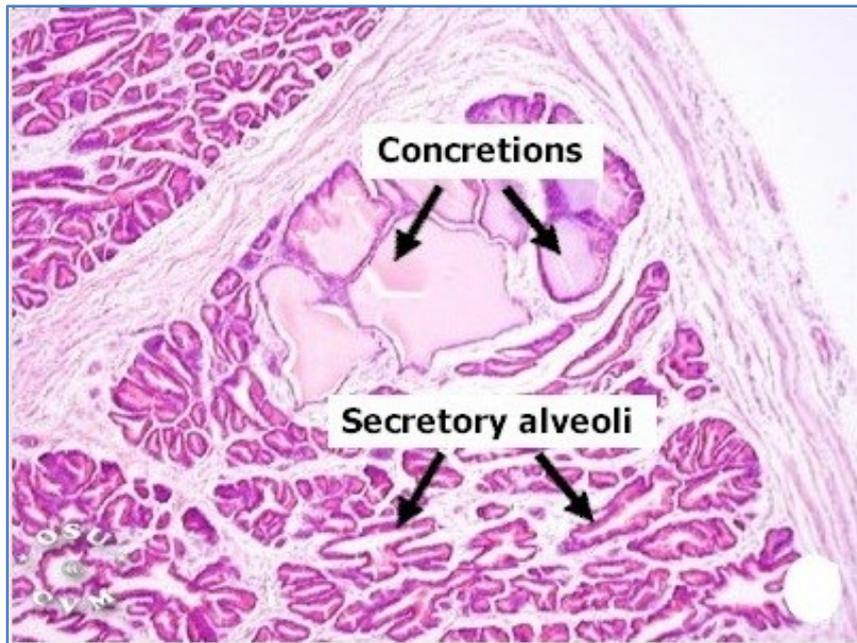


FIGURA 4: PARTICOLARE DELLA STRUTTURA ghiandolare della prostata, costituita da ghiandole tubulo-acinose composte, che presentano numerosi ripiegamenti.

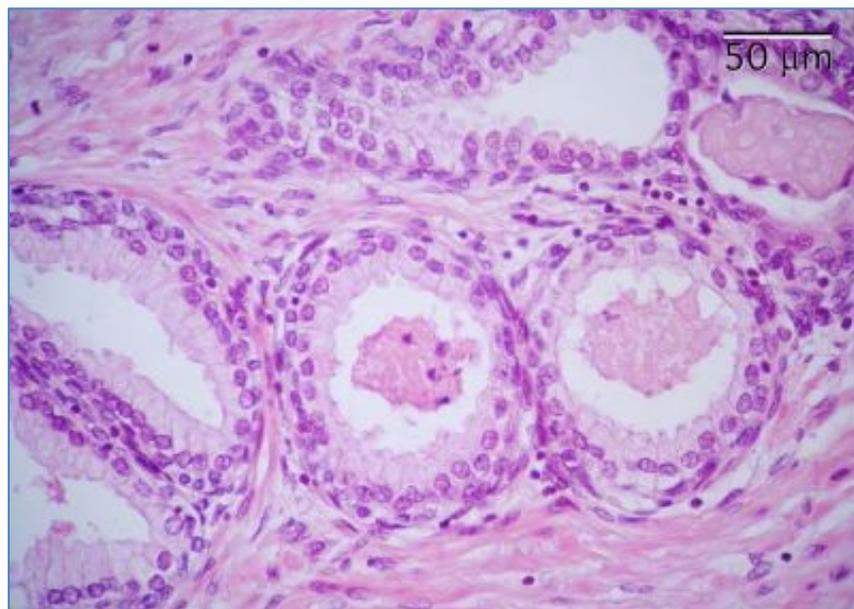


FIGURA 5: PARTICOLARE DELLA STRUTTURA ghiandolare: notare l'epitelio ghiandolare batiprismatico semplice, con cellule a nucleo basale e citoplasma basofilo.

## **1.2 FISIOLOGIA, ENDOCRINOLOGIA E PATOFISIOLOGIA**

La funzione della ghiandola prostatica è quella di secernere un fluido in grado di garantire un ambiente ottimale per la sopravvivenza e la motilità degli spermatozoi (Dorfman & Barsanti, 1998). Esso rappresenta più del 97% del volume totale del liquido seminale e costituisce la maggior parte della prima e terza frazione dell'eiaculato (England & Allen, 1990; Brendler, Berry, Ewing, McCullough, Cochran, & al., 1983). Infatti, dopo stimolazione manuale, è possibile individuare tre frazioni dell'eiaculato:

- Frazione pre-spermatocica, prodotta dall'uretra e dalla prostata, è in genere chiara e generalmente non supera i 2 ml (volume medio 0,5-5 ml);
- Frazione spermatocica, contenente gli spermatozoi, è solitamente lattescente e raramente eccede i 3-4 ml (volume medio 1-4 ml);
- Frazione prostatica è molto abbondante (15 ml), chiara, acellulare, di esclusiva produzione prostatica e può essere emessa in un periodo che va dai 5 min. fino ai 25 min. (Ling, Branam, Ruby, & al., 1983).

Nel cane, il liquido prostatico è chiaro e sieroso, il suo pH oscilla tra 6,0 e 7,4 ed è dotato di proprietà antibatteriche, grazie alla presenza del fattore prostatico antibatterico (PAF), la quale è una sostanza zinco dipendente (Bartlett, 1962). Si

ipotizza, però, che vi sia anche una frazione del PAF, che non dipende dallo zinco (Benazzi, 2002). Il valore di pH del liquido spermatico svolge un ruolo importante sia nel stimolare la motilità spermatica e tamponare l'acidità vaginale, sia nel permettere la diffusione all'interno della ghiandola di taluni farmaci tra cui molti antibiotici (Feldman & Nelson, 2004; Reeves, Rowe, Snell, & al., 1972). Numerose sono le sostanze presenti nel liquido spermatico, tra le più importanti occorre menzionare:

- Fattore inibente la reazione acrosomiale: tale fattore, infatti sarebbe in grado di impedire il legame del progesterone (P4), presente nel liquido follicolare, con i siti di membrana acrosomiale, se ciò avviene prematuramente (Senger, 2002);
- Lattato, fruttosio, colesterolo ed arginina esterasi (Gobello, Castex, & Corrada, 2002);
- Sodio, potassio, calcio, magnesio, cloro, bicarbonato, fosfati acidi, zinco, ferro, rame (Bartlett, 1962).

Come già accennato, la secrezione e l'emissione del secreto spermatico dipende dall'innervazione simpatica e parasimpatica. Infatti, durante la fase di erezione, vi è l'attivazione del sistema parasimpatico, che determina la secrezione di fluido prostatico da parte delle strutture ghiandolari, mentre successivamente sarà il sistema simpatico a determinarne l'emissione, attivando la muscolatura prostatica

diffusa nello stroma ghiandolare (Bruschini, Schmidt, & Tanagho, 1978). Oltre a ciò, però è dimostrato che il liquido prostatico viene prodotto continuamente in piccole quantità che vengono secrete nell'uretra prostatica e che, se non si verifica l'eiaculazione, si riversano in vescica (Francey, 2010).

La crescita prostatica e la sua attività secretoria sono regolate, come del resto tutto il sistema genitale maschile, dall'asse ipotalamo-ipofisi-testicolare, il quale a sua volta riceve l'influenza sia delle aree extra-ipotalamiche (corteccia cerebrale, talamo e mesencefalo) sia di stimoli esterni quali luce, olfatto, tatto (Parkinson, 2008) (fig.9). Il processo ha come punto di partenza la produzione di GnRH (gonadotropin releasing hormone) da parte dell'ipotalamo. La sua secrezione presenta due caratteristiche fondamentali: la prima è che rispecchia il ritmo sonno-veglia, la seconda è che avviene in maniera pulsatile, con picchi di pochi minuti ripetuti nell'arco delle 24 ore circa dalle 4 alle 8 volte (Senger, 2002). Il GnRH, una volta raggiunto, tramite il circolo portale ipotalamo-ipofisario, le cellule gonadotrope dell'ipofisi, che rappresentano il 5-10% della popolazione cellulare adenoipofisaria, determina da parte delle cellule effettrici la produzione e liberazione di FSH (ormone follicolo stimolante) e LH (ormone luteinizzante) (De Benedetti, 2004). Anche, la liberazione di questi due ormoni rispecchia la produzione pulsatile del GnRH, e pertanto, si avranno dei picchi di LH della durata di circa 20 min e di FSH di durata più lunga (Senger, 2002). Ora, LH ha come cellule bersaglio le cellule di Leyding, presenti a

livello dell'interstizio testicolare, determinando al loro interno la trasformazione del colesterolo in pregnenolone, che è un precursore del testosterone. Mentre l'FSH agisce sulle cellule del Sertoli, determinando la produzione di ABP (androgen binding protein), del  $17\beta$ estradiolo, del piruvato e del lattato, che fungono da nutrimento alle cellule germinali, dell'inibina, che svolge un'azione di feedback negativo a livello centrale, impedendo la secrezione di FSH, delle glicoproteine solfato 1 e 2 e della transferrina, che permette una corretta spermatogenesi (De Benedetti, 2004). Il testosterone (T) prodotto, viene, successivamente, metabolizzato all'interno della ghiandola prostatica in diidrotestosterone (DHT), grazie all'azione dell'enzima  $5\alpha$ -reduttasi e in  $17\beta$ estradiolo, grazie all'azione dell'enzima  $5\alpha$ -aromatasi (Johnston, Kamolpatana, Root-Kustritz, & Johnston, 2000; Benazzi, 2002). Quest'ultimo ormone, come già accennato, viene prodotto anche dalle cellule del Sertoli per un 10% e dalla conversione dell'estrone surrenalico per un 50% (Benazzi, 2002). Il diidrotestosterone viene, infine, legato ad un recettore (ABP) ed il complesso DHT-ABP viene trasportato all'interno del nucleo cellulare, dove promuove la sintesi proteica, l'ipertrofia ed iperplasia delle cellule (Gloyna, Siiteri, & Wilson, 1970). La sua azione, come abbiamo già avuto modo di dire, si esplica già durante la vita fetale, determinando lo sviluppo della prostata, del pene e dell'uretra e la regressione dei dotti Mülleriani (Johnston, Kamolpatana, Root-Kustritz, & Johnston, 2000). Durante la pubertà, poi, determina la moltiplicazione degli acini ghiandolari e

di conseguenza aumenta la secrezione di fluido prostatico (Benazzi, 2002). Numerosi studi dimostrano che è tale l'importanza sia del testosterone sia del suo metabolita il diidrotestosterone, che in loro assenza (in conseguenza di castrazioni chirurgiche o chimiche), la prostata involge, diminuendo di volume, a causa dell'atrofia degli elementi ghiandolari e stromali (Cartee, Rumph, Kenter, & al., 1990; Gallardo, Mogas, Barò, & al., 2007; Al-Omari, Shidaifat, & Dardaka, 2005; Lai, Van den Ham, Van Leenders, Van der Lugt, & Teske, 2008). Il  $17\beta$ -estradiolo, invece, assieme ad altri fattori di crescita locali (ad es. endothelin-1, epidermal growth factor, basic fibroblast growth factor, transforming growth factor-beta, interleukin-6, interleukin-8) determinano la proliferazione della componente stromale della ghiandola e l'aumento del numero di ABR, incrementano la degradazione del DHT e, quindi, promuovendo la crescita della ghiandola associata agli androgeni (Grieco, Riccardi, Rondena, & al., 2006; Chevalier, McKercher, & Chapdelaide, 1991). Ciò è stato dimostrato da studi condotti somministrando estrogeni a cani castrati ed annotando che sotto la loro influenza, la ghiandola prostatica subisse un aumento di volume, a livello epiteliale una metaplasia squamosa ed aumento dei recettori per gli estrogeni (Grieco, Riccardi, Rondena, & al., 2006). Tutto il meccanismo fino ad ora descritto si presenta complesso ed elaborato, ma per completezza di trattazione a tutto ciò vanno aggiunti tutti i sistemi di feedback negativi e positivi, che determinano a seconda della necessità un aumento o una diminuzione della produzione degli

ormoni descritti (Francey, 2010). Infatti, il testosterone, come anche l'estradiolo, esercitano un feedback negativo sia a livello ipotalamico, impedendo la produzione e la liberazione di GnRH, sia a livello ipofisario inibendo il rilascio di FSH ed LH (Grieco, Riccardi, Rondena, & al., 2006). L'inibina, invece, determina un feedback negativo sulla produzione e liberazione dell'FSH stesso. Al contrario, gli estrogeni sono in grado di esercitare un feedback positivo aumentando la produzione di diidrotestosterone e di ABP, come anche il sistema parasimpatico che esercita un feedback positivo, aumentando la secrezione di fluido prostatico (Grieco, Riccardi, Rondena, & al., 2006).

Nel cane sessualmente immaturo, poiché manca lo stimolo trofico del sistema endocrino, la prostata si presenta come un piccolo rigonfiamento, che avvolge l'uretra prostatica, composta da densi aggregati di cellule epiteliali senza lume, circondati da sottili strati di cellule stromali (Atalan, Holt, & Barr, 1999; Atalan, Holt, Barr, & Brown, 1999). Al raggiungimento della pubertà (all'incirca nei primi 16 mesi di vita dell'animale), la notevole produzione di androgeni induce una tumultuosa crescita ed espansione delle ghiandole alveolari e l'espansione del tessuto connettivo (Brendler, Berry, Ewing, McCullough, Cochran, & al., 1983; Atalan, Holt, Barr, & Brown, 1999). Successivamente e per i successivi 6 anni, lo stabilizzarsi a valori ematici più bassi di testosterone nel sangue, porta ad un aumento progressivo del peso ed del volume della ghiandola (Brendler, Berry, Ewing, McCullough,

Cochran, & al., 1983; Atalan, Holt, Barr, & Brown, 1999). Infine, nell'età matura, si avrà da una parte una riduzione dei livelli di testosterone circolante, una sua più rapida metabolizzazione ed un aumento della frazione legata all'ABP, dall'altra un progressivo aumento degli estrogeni circolanti, che causeranno un up-regulation dei recettori androgenici negli acini ghiandolari. Tutto ciò, quindi, provocherà la continua stimolazione del tessuto ghiandolare, con conseguente iperplasia ed ipertrofia (Benazzi, 2002).

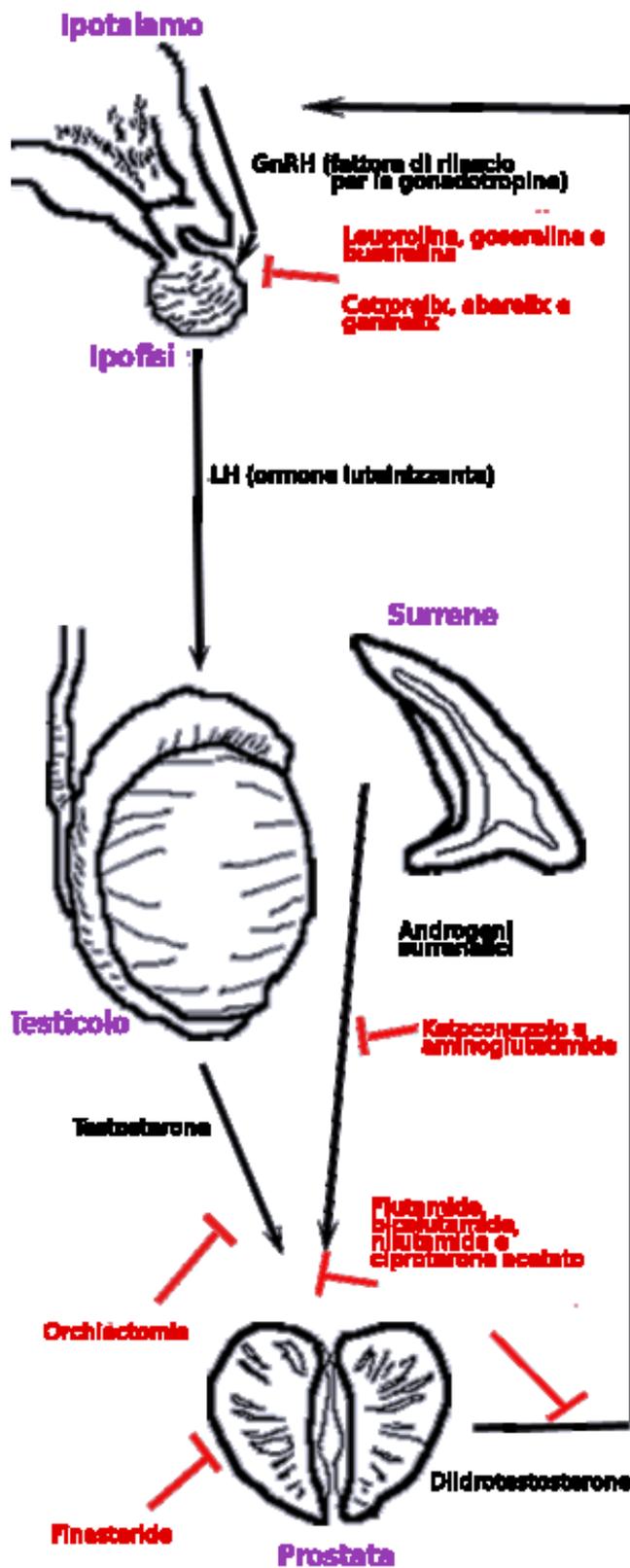


FIGURA 6: REGOLAZIONE ORMONALE DELLA ghiandola prostatica. PUNTI DI INTERVENTO TERAPEUTICO.

### **1.3 PATOLOGIE PROSTATICHE**

Le patologie prostatiche, oltre a ritenersi relativamente comuni nei cani maschi interi, soprattutto in quelli di età superiore ai 6 anni, presentano notevoli analogie con quelle umane e pertanto sono state approfonditamente studiate, per essere poi utilizzate come modello in medicina umana (Smith, 2008; Bryan, Keeler, Henry, & al., 2007). Infatti, si è notato che il cane non solo presentasse similitudini anatomiche e fisiologiche notevoli con l'uomo, ma che fosse tra le poche specie a presentare spontaneamente alterazioni quali iperplasia/ipertrofia e patologie più gravi come il carcinoma prostatico (Bryan, Keeler, Henry, & al., 2007; LeRoy & Northrup, 2009). La più grande differenza tra il cancro alla prostata umano e nel cane è il più alto tasso di androgeni cancro indipendenti nel cane. Questo ha portato a tentativi di caratterizzare la cellula di origine per il tumore prostatico canino. (aggiungi bibliografia 25-27).

Le patologie prostatiche possono suddividersi in:

- Anomalie congenite (infrequenti e solitamente associate ad altre anomalie degli organi genitali maschili):
  - Assenza del solco longitudinale mediale, con perdita dell'aspetto bilobato;
  - Cisti:

- Cisti del dotto paramesofrenico;
- Anomalie acquisite:
  - Di natura non infettiva:
    - Ipofonia/atrofia;
    - Iperplasia/metaplasia;
    - Cisti:
      - Prostatiche:
        - Cisti da ritenzione;
        - Cisti associate ad iperplasia prostatica benigna;
        - Cisti associate a metaplasia squamosa;
    - Neoplasie:
      - Adenoma;
      - Carcinoma;
      - Sarcoma:
        - Emangiosarcoma;
        - Leiomiosarcoma;
        - Linfoma;
        - Osteosarcoma;
  - Di natura infettiva:
    - Prostatiti batteriche acute e croniche;

- Ascessi.

La frequenza, con cui tali patologie si presentano, è riportata in numerosi studi, ma purtroppo notevoli sono le differenze statistiche e numeriche che riportano, anche se tutti in generale concordano sul fatto che la maggior parte dei soggetti venga colpito da iperplasia prostatica e/o prostatiti e più raramente da neoplasia e che le neoplasie colpiscano più frequentemente i cani castrati (Krawiec & Heflin, 1992). Ad esempio, in uno studio di Hornbuckle et al. (1978) su 140 cani si riporta che 34 soffrissero di iperplasia prostatica benigna, 26 di prostatite acuta, 20 di prostatite cronica attiva, 23 di ascessi prostatici, 15 di ascessi prostatici e 22 di carcinoma prostatici, mentre in uno studio di Teske et al. (2002) su 385 cani si nota che 246 (57,1%) cani avessero iperplasia prostatica benigna, 83 (19,3%) avessero prostatite e 56 (13%) avessero il carcinoma prostatico (Hornbuckle, MacCoy, Allan, & al., 1978; Teske, Naan, & al., 2002).

Per quanto riguarda la predisposizione di razza, numerosi studi riportano che tutti i soggetti di razza e non possano essere colpiti da patologie prostatiche, ma Krawiec et al. riportano nel loro studio effettuato su 177 cani, che il Doberman Pinscher era la razza più comunemente colpita (Krawiec & Heflin, 1992).

### **1.3.1 NEOPLASIE PROSTATICHE**

Nei nostri animali da compagnia, i tumori prostatici si presentano con una frequenza nettamente inferiore a quella con la quale si verificano nell'uomo, ma nonostante ciò il cane è stato utilizzato da molti ricercatori come modello per studiare questo tipo di patologia a causa delle sorprendenti similitudini tra le due specie (Bryan, Keeler, Henry, & al., 2007). Nell'uomo, infatti, i dati raccolti per il 2005 negli Stati Uniti dimostrano che sull'intera popolazione americana (circa 295.000.000 persone) 232,090 uomini erano affetti da tumore prostatico, mentre uno dei più recenti studi condotti nel 2004 in America calcola che su 8.000 cani solo 3 presentavano un carcinoma prostatico (LeRoy & Northrup, 2009; Bryan, Keeler, Henry, & al., 2007). Quindi, nel cane la prevalenza registrata in letteratura si attesta intorno al 0,2-0,6% (Bell, Klausner, Hayden, Lund, & Johnston, 1991). Sebbene questi dati permettano effettivamente di sostenere che il tumore prostatico nel cane sia una condizione morbosa rara, molti ricercatori ritengono che la reale incidenza della patologia sia sottostimata a causa dei seguenti motivi (LeRoy & Northrup, 2009). Innanzitutto, vi è l'assenza di test rapidi ed accurati per individuare gli stadi precoci della neoplasia. Infatti, nell'uomo è possibile utilizzare il test di immunoreattività nei confronti del PSA, mentre nel cane non ci sono evidenze chiare che gli anticorpi anti-PSA umani si leghino ad una molecola simile espressa dal tessuto prostatico canino (LeRoy & Northrup, 2009). Ciò purtroppo vale anche per un'altra molecola, frequentemente

usata in medicina umana, chiamata PMSA, che nel cane non viene espressa (Aggarwal, Ricklis, William, & al., 2006). Inoltre, anche l'argina esterasi che nell'uomo rappresenta un ottimo marker precoce di patologia neoplastica, nel cane viene espressa non solo dalla prostata ma anche da altri tessuti del tratto urinario, perdendo il ruolo di marker specifico (LeRoy & Northrup, 2009). Un altro fattore da tenere in considerazione è che molti cani con tumore prostatico vengono scambiati erroneamente per pazienti neurologici a causa di segni clinici quali paresi o paraparesi, dovuti alla presenza di metastasi a livello delle vertebre lombari e/o delle ossa pelviche (Leav & Ling, 1968). Infine, l'ultimo ma non meno importante fattore da valutare, è l'elevata percentuale di falsi negativi a seguito di palpazione digito-rettale o biopsia prostatica eseguiti su animali asintomatici (LeRoy & Northrup, 2009). Nel cane, la neoplasia più frequentemente riportata è l'adenocarcinoma prostatico (PAC), ma molti autori riportano che più della metà di essi presenti eterogenicità intratumorale (Memon, 2007). Dal punto di vista macroscopico, esso può presentarsi con due morfologie tipiche e molto diverse l'una dall'altra:

- Nel primo aspetto, la ghiandola si presenta di dimensioni conservate o addirittura ridotte, di consistenza soda o gommosa ed in sezione, la sua superficie è bianco-giallastra con eventuali formazioni cistiche, ascessuali o

emorragiche, a causa di una reazione sclerosante, che spesso accompagna la neoplasia (fig. 16);

- Nel secondo aspetto, la ghiandola si presenta, asimmetricamente aumentata di volume con una superficie irregolare per la presenza di formazioni dure di aspetto nodulare (fig. 17) (Benazzi, 2002).

Anche dal punto di vista istologico può presentare molteplici aspetti morfologici, poiché la lesione neoplastica può originare dalle cellule dell'epitelio sia ghiandolare che duttale oppure coinvolgere primariamente l'urotelio dell'uretra (Cornell, Bostwick, Cooley, & al., 2000). Vengono definiti adenocarcinomi, dal punto di vista istologico, quando è ben evidente una struttura acinosa o alveolare e le cellule assumono aspetto cuboide e sono disposte in una o due file. Nel lume degli acini, è possibile notare la presenza di quantità variabile di muco o ammassi solidi di cellule e gli acini possono essere circondati da stroma fibroso. In altri casi, l'adenocarcinoma può essere di tipo intra-alveolare, con cellule in grado di formare grandi alveoli all'interno dei quali sono presenti proliferazioni papillari di epitelio ghiandolare. Le cellule sono rotonde o cuboidi, il loro citoplasma è ripieno di vacuoli di materiale proteico o mucoide ed i loro nuclei si presentano ipercromici e con numerose figure mitotiche (Benazzi, 2002). Altre neoplasie meno frequenti, ma riportate in letteratura sono il carcinoma delle cellule di transizione (TCC), derivante dalle cellule dell'uretra prostatica, il carcinoma sarcomatoide, l'emangiosarcoma

primario o metastatico, il linfoma ed il leiomiomasarcoma (Francey, 2010; Winter, J.E., & Pennick, 2006; Bacci, et al., 2010; Dorfman & Barsanti, 1998). L'età media di diagnosi della patologia è generalmente compresa tra i 5 ed i 7 anni (mediana 10 anni) ed alcuni studi suggeriscono che il rischio sia maggiore negli animali castrati (Bryan, Keeler, Henry, & al., 2007; Cornell, Bostwick, Cooley, & al., 2000). Infatti, in uno studio si riporta che il rischio di un cane castrato di sviluppare un adenocarcinoma sia 2,38 volte maggiore che in un animale intero, mentre di sviluppare un carcinoma delle cellule di transizione sia addirittura di 8 volte maggiore (Francey, 2010; Bell, Klausner, Hayden, Lund, & Johnston, 1991). Il motivo di ciò è stato imputato al fatto che i carcinomi prostatici nel cane a differenza di quanto accade nell'uomo sono androgeno-indipendenti, poiché le cellule neoplastiche non esprimono i recettori per tali ormoni (Bell, Klausner, Hayden, Lund, & Johnston, 1991). Per quanto riguarda la predisposizione di razza, si è dimostrato che le neoplasie prostatiche colpiscono meticci, pastori delle Shetland, Scottish Terrier, Airedale Terrier ed i Doberman Pinschers (Bryan, Keeler, Henry, & al., 2007). I rilievi anamnestici e clinici sono stati descritti in numerosi studi retrospettivi ed includono disuria, stranguria, ematuria (riportata nel 62%-66% dei casi), dischezia, tenesmo, dolore agli arti posteriori ed atassia, spesso associata alla paresi e/o paralisi del treno posteriore (LeRoy & Northrup, 2009). Nei casi terminali, si possono osservare anche letargia, anoressia, dimagrimento e cachessia (Parry, 2007). La

disuria è da imputarsi sia alla concomitante prostatite sia alla possibile invasione locale dell'uretra prostatica da parte della neoplasia, che nei casi più gravi sfocia nell'ostruzione uretrale (Francey, 2010). La dischezia, il tenesmo e la ritenzione fecale sono, invece, da attribuirsi o all'aumento di volume della ghiandola causata da una concomitante iperplasia e dalla neoplasia oppure ai deficit neurologici causati dalle metastasi vertebrali (Francey, 2010). Infine, l'atassia, il dolore agli arti posteriori e la paresi sono da imputarsi a diversi fattori tra i quali sia il concomitante processo infiammatorio che coinvolge le strutture circostanti, sia il loro coinvolgimento metastatico (Cornell, Bostwick, Cooley, & al., 2000). A causa della natura aggressiva del tumore prostatico nel cane, si stima che circa l'80% dei soggetti vengono presentati in visita in uno stadio già avanzato della neoplasia e che al momento della diagnosi presentino già diffusione metastatica (Cornell, Bostwick, Cooley, & al., 2000). Infatti, si riporta in letteratura che le sedi più frequenti di metastasi siano i linfonodi lombo-aortici ed iliaci, il polmone, le vertebre lombari, le ossa pelviche, il fegato, i reni, la milza ed il cervello (Cornell, Bostwick, Cooley, & al., 2000). Inoltre, si nota frequentemente la presenza di tessuto neoplastico all'interno della vescica a seguito dell'invasione locale delle cellule neoplastiche (Johnston, Kamolpatana, Root-Kustritz, & Johnston, 2000). Il protocollo diagnostico si basa, generalmente, sull'anamnesi, i segni clinici, le tecniche di diagnostica per immagini, l'esame citologico del liquido prostatico e/o del tessuto prostatico ed infine l'esame

isto-patologico (Parry, 2007). I rilievi radiografici includono prostatomegalia, mineralizzazioni della ghiandola, linfadenomegalia regionale, noduli a livello polmonare e lesione osteoaggressive a livello vertebrale o delle ossa del bacino (Barsanti & D.R., 1986). I rilievi ecografici sono molto simili e comprendono aree iperecogene focali o diffuse, mineralizzazioni e presenza di margini irregolari (Barsanti & D.R., 1986). Sebbene l'esame biotico sia richiesto per una diagnosi definitiva, alcuni ricercatori sostengono che questa procedura da sola possa dare dei falsi negativi e che, quindi, debba essere associata alla biopsia dei linfonodi iliaci ed alle radiografie del torace (Parry, 2007). Infine, la prognosi dei carcinomi prostatici nel cane risulta infausta e spesso i tempi di sopravvivenza variano da poche settimane a qualche mese (Parry, 2007). A tutt'oggi non esistono protocolli terapeutici standardizzati, ma solo casi numericamente limitati e non statisticamente rilevanti (Francey, 2010). Alcuni autori suggeriscono di utilizzare il piroxicam, un inibitore selettivo della ciclossigenasi-1 (COX-1), a 0,3 mg/kg per os una volta al giorno, altri indicano di associarlo al cisplatino, 60 mg/m<sup>2</sup> per via endovenosa ogni 21 giorni, per ottenere la parziale e/o completa remissione dei carcinomi della vescica (Francey, 2010). Ad oggi, l'utilizzo della radioterapia non risulta incrementare i tempi di sopravvivenza ed il suo ruolo nel trattamento della neoplasia prostatica non è chiaro (Francey, 2010). Infine per quanto riguarda le opzioni chirurgiche, frequentemente utilizzate in passato, oggi si ritengono dei

trattamenti palliativi e nella maggior parte dei casi sconsigliate per i seri rischi di complicazioni e per la mancanza di prolungamento dei tempi di sopravvivenza (Francey, 2010).



FIGURA 7: ASPETTO MACROSCOPICO DELL'ADENOCARCINOMA PROSTATICO: I MARGINI DELLA GHIANDOLA RISULTANO IRREGOLARI ED IL PARENCHIMA GHIANDOLARE HA ASPETTO LARDACEO.

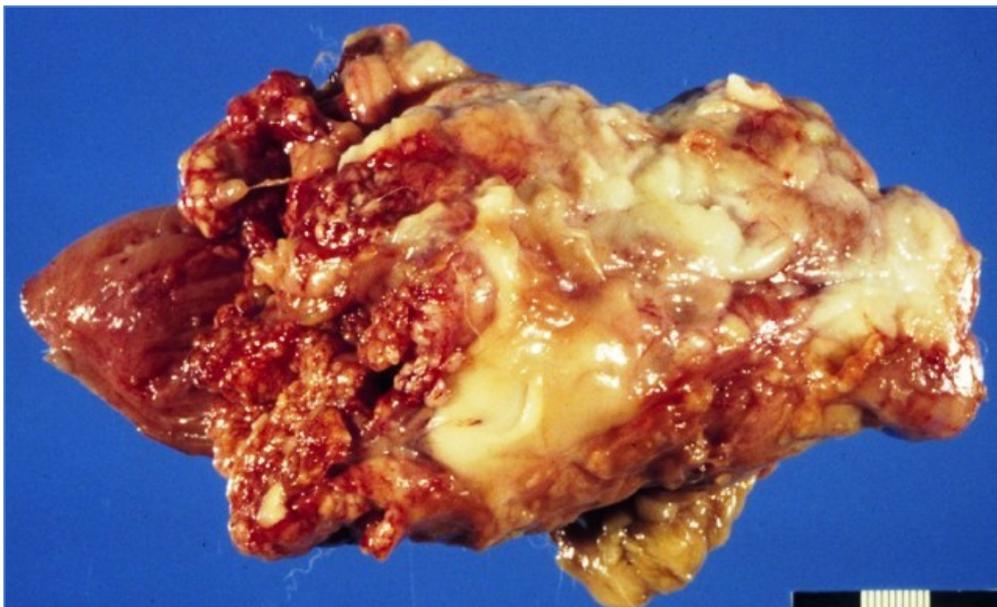


FIGURA 8: ADENOCARCINOMA PROSTATICO IN STADIO AVANZATO, CON ASPETTO MULTINODULARE.

## **1.4 PROTOCOLLO DIAGNOSTICO**

Quando si sospetta l'esistenza di una patologia prostatica, per giungere ad una corretta individuazione della malattia ed ad una precisa prognosi e terapia, occorre seguire attentamente l'algoritmo diagnostico qui di seguito riportato (Francey, 2010) (fig. 18). L'anamnesi mira alla raccolta dei sintomi clinici osservati dal proprietario, la loro durata, la loro evoluzione ed all'annotazione sulle abitudini di minzione e defecazione del soggetto (Dorfman & Barsanti, 1998). Successivamente, si procede con l'osservazione delle manifestazioni cliniche, che nella maggior parte dei casi si possono suddividere in quattro categorie e possono essere variamente associate:

- Segni sistemici;
- Disturbi delle basse vie urinarie;
- Anomalie della defecazione;
- Disordini di locomozione (Dorfman & Barsanti, 1998).

Alla prima categoria appartengono sintomi non specifici come febbre, malessere generalizzato, anoressia, vomito, perdita di peso, rigidità e dolore addominale caudale, i quali in uno studio condotto su 140 cani sono stati riportati nell'82% dei casi affetti da ascessi prostatici, nel 77% dei casi affetti da prostatite acuta e nel 59% dei casi affetti da neoplasia (Hornbuckle, MacCoy, Allan, & al., 1978). Al secondo

gruppo di sintomi, invece, appartengono scolo uretrale emorragico e/o purulento, ematuria intermittente, emospermia, disuria, pollachiuria, stranguria, infezioni ricorrenti del tratto urinario (Costello, 2009). Tali segni, in genere, sono associati ad iperplasia prostatica, infezioni acute o croniche, ascessi e/o cisti prostatiche comunicanti con l'uretra (Dorfman & Barsanti, 1998). Per quanto riguarda le anomalie di defecazione, i soggetti spesso presentano obstipazione, dischezia, ematochezia, tenesmo e feci appiattite (ribbon-like feces), causati dalla compressione dell'organo sul retto, la quale si verifica frequentemente in caso di iperplasia prostatica, di neoplasie, ascessi e/o cisti prostatiche/paraprostatiche di grosse dimensioni (Smith, 2008). Infine, i disordini della locomozione sono rari, ma talvolta conseguono al dolore associato alla prostatite acuta o alla neoplasia ghiandolare (Smith, 2008). Solitamente i disturbi si manifestano con andatura rigida e innaturale, debolezza, zoppia e segni neurologici, quali deficit deambulatori e propriocettivi, causati da discospondiliti o metastasi delle vertebre lombari (W.T.K., 2003). La patologia prostatica, inoltre, non va esclusa nei cani castrati, poiché è stato dimostrato non solo che tale intervento effettuato dopo la maturità sessuale non riduce il rischio di sviluppo del carcinoma prostatico, ma che anzi tali soggetti hanno un odds ratio di 2,38-4.34 in confronto a soggetti interi (Bradbury, Westropp, & Pollard, 2009; Obradovivich, Walshaw, & Goulland, 1987).

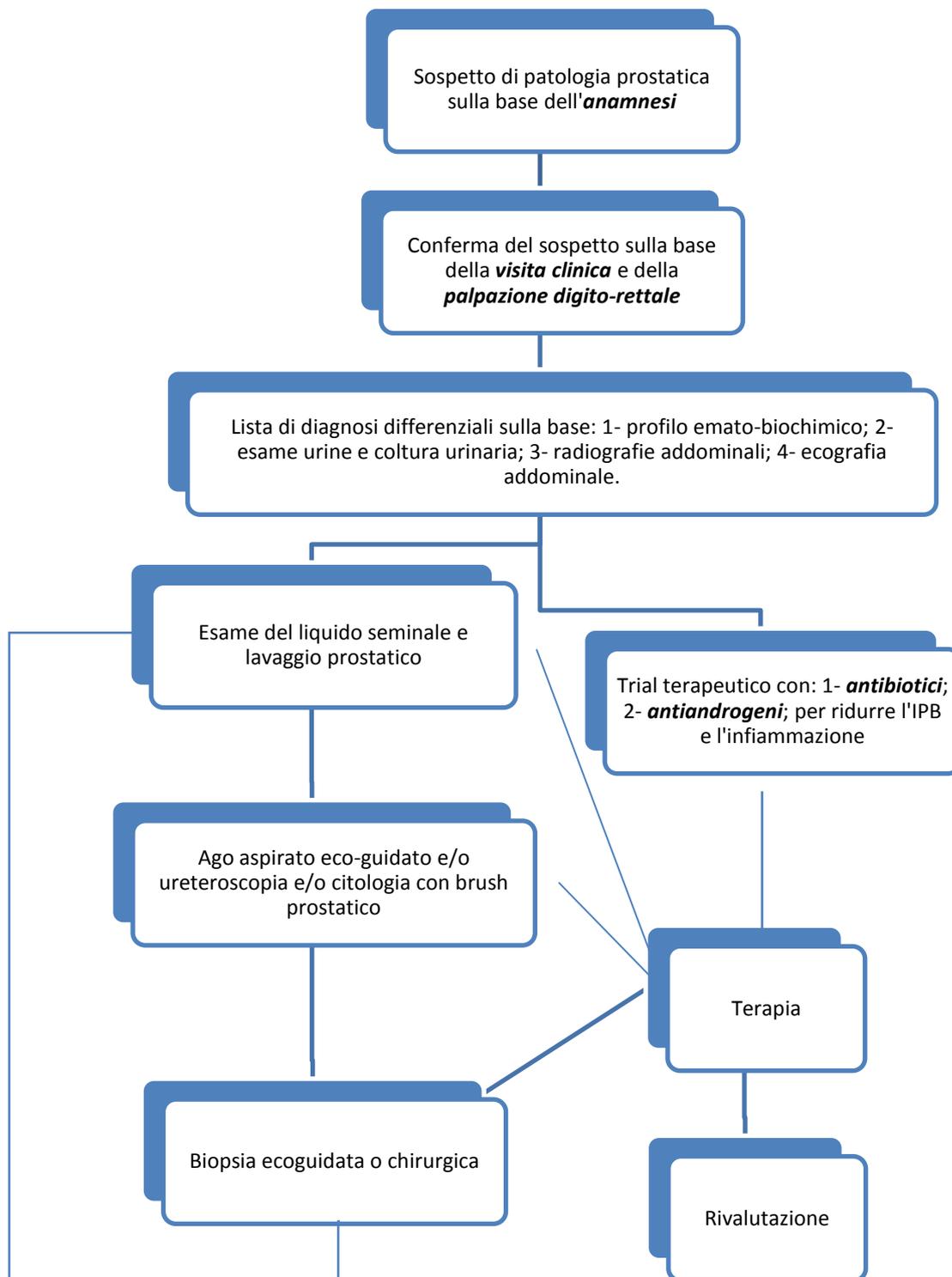


FIGURA 9: ALGORITMO DIAGNOSTICO DELLE PATOLOGIE PROSTATICHE.

## **1.4.1 PALPAZIONE, EMATOBIOCHIMICO, MARKERS SIERICI E SEMINALI, ESAME URINE, ESAME DEL FLUIDO PROSTATICO**

Il primo test diagnostico di screening da effettuarsi, poiché poco invasivo e rapido, è la palpazione digito-rettale (digital rectal examination, DRE), abbinata alla palpazione dell'addome caudale (Smith, 2008) (fig. 19). Tale test permette di apprezzare le dimensioni, la forma, la simmetria, la consistenza, la mobilità dell'organo e la presenza o meno di dolore (W.T.K., 2003). In letteratura, si riporta per questa manualità un alto valore di specificità (75%), ma un insoddisfacente valore di sensibilità (53% in medicina veterinaria, 37,9% in medicina umana) (Mukaratirwa & Chitura, 2007; Miyagawa, et al., 2009). Tale manualità è finalizzata alla valutazione delle dimensioni, della forma, del solco mediano, della simmetria, della dolorabilità e la sua mobilità (Francey, 2010). Infatti, fisiologicamente l'organo si presenta bilateralmente simmetrico, con superficie liscia e regolare, parenchima soffice e non vi deve essere dolorabilità, mentre nella maggior parte delle condizioni patologiche, si presenta aumentata di volume, in maniera uniforme (ad esempio nel caso dell'iperplasia prostatica benigna) o in modo asimmetrico (ad esempio in caso di cisti, ascessi o neoplasie), con superficie irregolare (ad esempio in caso di neoplasie), con aumento di consistenza (ad esempio in caso di neoplasia o metaplasia o a causa di mineralizzazioni), meno mobile, a causa di aderenze (ad esempio in corso di

neoplasie o prostatiti gravi) o dolorante (ad esempio in casi di ascessi, prostatiti, cisti voluminose) (Barsanti & D.R., 1986; Francey, 2010).

Per quanto riguarda l'esame ematobiochimico, nella maggior parte dei casi non mostra nessuna alterazione, risultando, quindi, di scarsa utilità (Dorfman & Barsanti, 1998). In casi sporadici, può manifestarsi in corso di prostatite acuta o in presenza di un ascesso o di una neoplasia una leucocitosi neutrofilica (con o senza spostamento a sinistra) (Dorfman & Barsanti, 1998). In caso di sepsi, inoltre, può presentarsi un innalzamento degli enzimi epatici, ipoalbuminemia e ipoglicemia, mentre in corso di ostruzioni uretrali si avrà innalzamento di urea, creatinina e fosforo (Dorfman & Barsanti, 1998). Inoltre, come è stato già accennato, in corso di metaplasia squamosa, l'iperestrogenismo può provocare anemia non rigenerativa, trombocitopenia, agranulocitosi o granulocitopenia (Parry, 2007). In medicina umana, sono stati studiati e messi a punto negli ultimi decenni markers sierici e seminali, quali il PSA ed il PMSA (Lai, Van den Ham, Van Leenders, Van der Lugt, & Teske, 2008). Queste sostanze vengono definite markers, poiché, essendo prodotte da tessuti specifici sia in condizioni normali che patologiche, permettono di diagnosticare forme patologiche, quando esse sono in fase estremamente precoce (Gobello, Castex, & Corrada, 2002). Infatti, il PSA è dimostrato essere un markers molto specifico e sensibile per i carcinomi prostatici, mentre il PMSA per i carcinomi delle cellule di transizione (Lai, Van den Ham, Van Leenders, Van der Lugt, & Teske,

2008). Ora viste le notevoli analogie tra le due specie, vi sono stati numerosi studi che hanno cercato di individuare altrettanti markers prostatici, applicabili alle patologie prostatiche della specie canina, partendo proprio da i due utilizzati in medicina umana (Lai, Van den Ham, Van Leenders, Van der Lugt, & Teske, 2008). I risultati, però, hanno dimostrato che sia il PSA che il PMSA sono risultati poco utilizzabili nel cane, poiché vi sono evidenze che il PMSA non viene espresso dal tessuto prostatico canino ed il PSA risulta essere talmente diverso da non determinare la reazione anticorpale specifica nel cane (LeRoy & Northrup, 2009; Lai, Van den Ham, Van Leenders, Van der Lugt, & Teske, 2008). Per tale ragione, le ricerche si sono indirizzate su altre molecole, come l'arginina esterasi (CPSE) e la fosfatasi acida prostatica (AcP) (Gobello, Castex, & Corrada, 2002). La prima molecola costituisce più del 90% delle proteine escrete con il seme durante l'eiaculazione ed è presente in concentrazioni simili in tutto l'eiaculato (Gobello, Castex, & Corrada, 2002). Il CPSE viene prodotto dalle cellule epiteliali prostatiche sotto il controllo degli androgeni e la sua produzione cessa in assenza di tali ormoni (Gobello, Castex, & Corrada, 2002). Infatti, si è dimostrato che in seguito a castrazione chimica o chirurgica, il livello seminale di tale proteina cala drasticamente, per aumentare nuovamente in conseguenza di somministrazioni esogene di androgeni (Frenette, Dube, Marconette, & al., 1983). Questa molecola presenta notevoli analogie con il PSA umano, poiché entrambe appartengono alla

stessa classe di proteine, hanno peso molecolare simile (29 kDa per il CPSE, 34 kDa per il PSA), vengono regolate dagli stessi meccanismi ormonali e svolgono la loro attività enzimatica su substrati proteici simili (Gobello, Castex, & Corrada, 2002). Risultati preliminari degli studi condotti dimostrano che i livelli sierici di questa proteina aumentano enormemente in corso di patologia prostatica, ma studi ulteriori sono necessari, poiché i valori non differiscono in maniera significativa in presenza di iperplasia, prostatiti batteriche o neoplasie, non permettendoci di classificarlo come markers specifico di una patologia (Bell, Klausner, Hayden, & al., 1995). Inoltre, si è evidenziato che l'adenocarcinoma prostatico non risulta associato ad incrementi significativi dell'attività di CPSE, poiché, nel cane, lo sviluppo di questa neoplasia è androgeno-indipendente (Gobello, Castex, & Corrada, 2002). Considerazioni molto simili possono essere fatte anche per l'AcP, la quale, nonostante sia molto simile biochimicamente all'enzima umano, viene espresso 100 volte meno sia nel tessuto prostatico che nel plasma rispetto all'uomo (Dube, Lazure, & Tremblay, 1986).

Nel protocollo diagnostico non può essere tralasciato l'esame delle urine, vista la stretta correlazione tra prostata ed apparato urinario. L'esame urine consta della valutazione delle proprietà fisiche (colore, trasparenza, odore, peso specifico), delle proprietà chimiche, valutate con strisce reattive (pH, proteine, sangue, glucosio, chetoni, bilirubina, nitriti), esame del sedimento (eritrociti, cellule epiteliali, cristalli,

cilindri e microorganismi) ed esame colturale con antibiogramma (Chew & DiBartola, 1980). Esso può mettere in evidenza batteriuria, ematuria o piuria in corso di infiammazioni acute o croniche (Paclikova, Kohout, & Vlasin, 2006).

Per quanto riguarda le indagini di laboratorio, infine, occorre eseguire l'esame del liquido seminale, ottenuto per eiaculazione spontanea, massaggio o brush prostatico (Francey, 2010; Smith, 2008; Dorfman & Barsanti, 1998). Con la prima tecnica, è importante porre particolare attenzione alle manualità svolte per evitare contaminazioni che possano alterare i risultati (Paclikova, Kohout, & Vlasin, 2006). Innanzitutto occorre permettere al soggetto di urinare, per ridurre le contaminazioni uretrali, pulire il pene con compresse di garza ed acqua tiepida e, se si usano detergenti, rimuoverli accuratamente (Dorfman & Barsanti, 1998). Dopo tutto ciò, si pone l'animale in luogo tranquillo, in compagnia di una cagna in estro o utilizzando ferormoni, per indurre la stimolazione. Infine, il liquido va raccolto in una provetta sterile (Dorfman & Barsanti, 1998). In taluni casi, però, la raccolta spontanea del liquido seminale può risultare impossibile a causa dell'indole del soggetto, di inesperienza o di dolorabilità (Smith, 2008). In questi casi, il massaggio prostatico, seguito dal lavaggio prostatico risulta essere una buona, accurata e pratica alternativa. Per effettuare tale manualità, è necessario sedare il paziente e cateterizzarlo con tecnica sterile. Successivamente si svuota la vescica e si eseguono numerosi lavaggi della stessa utilizzando soluzione salina sterile. Nella fase

successiva, si rimuove il catetere, per posizionarne un altro questa volta nell'uretra prostatica. Infine si massaggia vigorosamente la prostata per via trans rettale e contemporaneamente si introducono 10 ml di soluzione salina sterile nel catetere. Infine, si aspira il materiale prodotto e si raccoglie all'interno di una provetta sterile (Smith, 2008). Il brush prostatico viene, invece, utilizzato per ridurre le contaminazioni batteriche del fluido prostatico da parte dell'uretra e della vescica e per ottenere campioni citologici diagnostici (Francey, 2010). La tecnica consiste, innanzitutto, nel porre un catetere vescicale sterile, svuotare la vescica e lavare più volte con soluzione salina la vescica. In un secondo momento, si applica nell'uretra prostatica il brush, si stimola anche in questo caso la prostata per via trans rettale e contemporaneamente si muove avanti ed indietro il catetere con il brush applicato. Infine, si retrae il catetere e si colleziona il campione in una provetta sterile (Francey, 2010).

In prima battuta può essere molto utile eseguire l'esame dell'eiaculato, poiché la prostata produce più del 90% del liquido emesso e, quindi, la sua analisi permette spesso di evidenziare delle anomalie (Francey, 2010; Smith, 2008; Dorfman & Barsanti, 1998). Dopo stimolazione manuale, è possibile individuare tre frazioni dell'eiaculato:

- Frazione pre-spermatocitaria, prodotta dall'uretra e dalla prostata, è in genere chiara e generalmente non supera i 2 ml;

- Frazione spermatica, contenente gli spermatozoi, è solitamente lattescente e raramente eccede i 3-4 ml;
- Frazione prostatica è molto abbondante (15 ml), chiara ed essendo quella di esclusiva produzione della ghiandola, è quella utilizzata per l'esame batteriologico e citologico (Francey, 2010; Smith, 2008; Dorfman & Barsanti, 1998).

Dall'esame dell'eiaculato, è opportuno, innanzitutto valutare la qualità del seme, che può deteriorarsi notevolmente in corso ad esempio di prostatiti acute e/o croniche. L'entità delle alterazioni, però, dipendono dall'agente eziologico e dalla durata delle infezioni (Paclikova, Kohout, & Vlasin, 2006). Infatti, si è notato che in corso di infezioni sperimentali con *E. Coli* le alterazioni di concentrazione, motilità e morfologia degli spermatozoi comparivano dopo 5 settimane (Barsanti & D.R., 1986). All'esame citologico dell'eiaculato, è possibile mettere in evidenza, frequentemente, la presenza di una notevole quantità di eritrociti, in caso di emorragia acuta, leucociti, macrofagi e batteri, in caso di processi infiammatori/infettivi, e cellule epiteliali con caratteri di atipia (anisocitosi, anisocariosi), in caso di carcinomi prostatici (Francey, 2010; Smith, 2008; Dorfman & Barsanti, 1998). In uno studio, si riporta che l'80% dei casi che mostravano alterazioni di tipo infiammatorio all'esame del liquido seminale, le presentavano anche a livello istologico (Barsanti & D.R., 1986). L'esame batteriologico del liquido

prostatico, invece, deve essere interpretato con attenzione, poiché vi è la presenza di una normale flora batterica nel tratto urinario distale (Smith, 2008). Per tale motivo viene considerato patologico se sono presenti un elevato numero di Gram-negativi e/o Gram-positivi (> 100.000/ml), associati ad un elevato numero di leucociti (Smith, 2008). Se sono presenti ascessi prostatici, il liquido prostatico può essere purulento e/o emorragico e rilevare la presenza di batteri sia aerobi sia anaerobi. Infine, in corso di metaplasia squamosa, all'esame citologico dell'eiaculato possono evidenziarsi tappeti di cellule epiteliali, privi di segni di malignità.

Si possono, quindi, riassumere i rilevati di laboratorio in corso di patologie prostatiche nella seguente tabella (tab.2):

	Leucocitosi	Ematuria	Piuria	Batteriuria	Fluido prostatico emorragico	Fluido prostatico purulento	Batteri nel fluido prostatico
<b>Iperplasia/Metaplasia</b>	-	+	-	-	+	-	-
<b>Prostatite acuta</b>	+	+	+	+	-	-	-
<b>Prostatite cronica</b>	-	+	+	+	-	+	+
<b>Ascesso</b>	+	+	+	+	-	+	+
<b>Cisti</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Neoplasia</b>	-	+	+	-	+	+	-

TABELLA 1: RILIEVI LABORATORISTICI IN CORSO DI PATOLOGIA PROSTATICA



FIGURA 70: ISPEZIONE DIGITO-RETTALE ASSOCIATA A PALPAZIONE DELL'ADDOME CAUDALE

#### **1.4.2 ESAME RADIOGRAFICO E CISTOURETROGRAFIA**

Ad oggi, è assodato in letteratura che l'esame radiografico dell'addome in bianco e/o con l'utilizzo di mezzo di contrasto è la prima modalità di imaging da utilizzare per accertare la sua localizzazione, il suo rapporto con le strutture adiacenti, le sue dimensioni, i suoi margini e l'eventuale coinvolgimento delle strutture ossee (Hayward, 2006; Feeney, Johnston, & Klausner, 1987). Per visualizzare la ghiandola prostatica in modo ottimale, è richiesto un studio radiografico dell'addome caudale, centrato cranialmente di 1-2 cm rispetto all'articolazione dell'anca, utilizzando una tecnica a bassi kV per rendere al massimo il contrasto tra i tessuti molli (Costello, 2009). Nella proiezione L-L, per avere una corretta visualizzazione della prostata, l'animale deve essere posto in decubito laterale destro con il bacino perpendicolare al tavolo ed allineato in modo da avere le ali dell'ileo sovrapposte l'una all'altra. La

proiezione ventro-dorsale viene normalmente eseguita con l'animale di decubito dorsale, alloggiato all'interno di una culla di materiale radiotrasparente, per facilitarne il posizionamento, e gli arti estesi. Radiograficamente, quindi, si avrà il bacino parallelo al tavolo e perfettamente simmetrico ed i femori paralleli tra loro ed al tavolo (Lattimer & Essman, 2007). Tra le due proiezioni (L-L e V-D), gli autori concordano che la L-L fornisca maggiori informazioni, poiché permette una visualizzazione più rapida e precisa del margine craniale, riducendo le sovrapposizioni tra le diverse strutture anatomiche (Debiak & Balicki, 2009; Costello, 2009; Kevin & McAllister, 2011) (fig. 20). Occorre, però, precisare che la sua chiara visualizzazione nella proiezione L-L dipende dalla presenza di una modica quantità di grasso tra il margine craniale della prostata, dal grado di replezione della vescica urinaria, dallo spessore della parete della cavità addominale, dall'età, dalla maturità sessuale e che la valutazione del margine posteriore è resa impossibile dalla presenza del bacino (Lattimer & Essman, 2007). Infatti, nei cani giovani o castrati, la prostata normalmente non si visualizza, poiché si presenta di piccole dimensioni e spesso si trova all'interno del canale pelvico (Paclikova, Kohout, & Vlasin, 2006). Per questo motivo, radiograficamente non si possono effettuare misurazioni attendibili dell'organo, ma è ritenuto universalmente riconosciuto che presenta dimensioni normali se non supera del 70% la distanza tra il pube ed il promontorio sacrale, mentre si ha prostatomegalia se supera del 90% la distanza sopracitata (Feeney,

Johnston, & Klausner, 1987; Hayward, 2006). Fisiologicamente, la prostata si presenta omogenea con la radiopacità tipica dei tessuti molli, con margini netti e regolari (Paclikova, Kohout, & Vlasin, 2006). Nei casi in cui, però, la prostata subisce alterazioni patologiche, i segni radiografici più eclatanti sono quelli riguardanti le modificazioni delle strutture adiacenti, principalmente vescica e colon, con i quali l'organo presenta intime relazioni (Lattimer & Essman, 2007). Infatti, la vescica viene spesso dislocata cranialmente lungo la parete addominale se vi è un aumento uniforme delle dimensioni prostatiche, come nel caso dell'IPB oppure dorsalmente se vi è una prostatomegalia asimmetrica, come spesso accade nel caso di cisti o ascessi (Lattimer & Essman, 2007). Se la prostatomegalia è severa, come nel caso di cisti prostatiche o paraprostatiche voluminose, si assiste alla scomparsa del triangolo di grasso sopracitato ed un dislocamento in senso craniale non solo della vescica, ma anche degli altri organi addominali (Lattimer & Essman, 2007). Inoltre, nei casi più gravi, la compressione sull'uretra determina ritenzione urinaria con aumento considerevole delle dimensioni vescicali (Lattimer & Essman, 2007). Per quanto riguarda il colon, si possono evidenziare il suo dislocamento in senso dorsale ed il suo restringimento associato a presenza di ritenzione fecale nei tratti più prossimali, soprattutto se l'aumento di volume della ghiandola ne permette ancora il contenimento all'interno della pelvi (Lattimer & Essman, 2007). Infatti, Debiak et al. hanno notato che nei casi di prostatomegalia grave, la prostata si disloca

cranialmente, fuoriuscendo dal canale pelvico e determinando una minor compressione sul colon-retto (Debiak & Balicki, 2009). Le altre alterazioni radiografiche riscontrabili in corso di patologia prostatica riguardano le modificazioni dei margini e le modificazioni di radiopacità dell'organo (Lattimer & Essman, 2007). Infatti, in presenza di emaciazione, cachessia, trauma pelvici, versamento addominale o peritoniti, i margini prostatici e l'intera ghiandola risultano mal definiti, permettendo al clinico di ipotizzare la presenza di patologie acute o aggressive, come neoplasie o prostatiti, mentre se radiograficamente i margini sono lisci e regolari, la patologia molto probabilmente sarà benigna o lentamente progressiva, come nel caso di iperplasia prostatica benigna o delle prostatiti croniche o lievi (Lattimer & Essman, 2007). Per quanto riguarda le modificazioni di radiopacità, qualsiasi cambiamento indica una patologia cronica o aggressiva (Lattimer & Essman, 2007). In letteratura, si riporta che nel 73% dei casi, in cui è possibile radiograficamente evidenziare delle mineralizzazioni del parenchima, si tratta di neoplasie prostatiche, mentre nei restanti casi si tratta di prostatiti croniche o ascessi (Bradbury, Westropp, & Pollard, 2009). Anche la capsula delle cisti paraprostatiche può essere mineralizzata, dando alla lesione un tipico aspetto a guscio d'uovo (Renfrew, Barrett, & K.J., 2008; Kevin & McAllister, 2011). La presenza di aree meno radiopache possono essere segno di presenza di gas all'interno della ghiandola, come si ha in corso di prostatiti batteriche producesti gas

(ad es. coliformi o clostridi) o a causa di cistogrammi con doppio mezzo di contrasto o negative. Infine, per completare l'esame radiografico, occorre sempre analizzare il tratto vertebrale lombare e lo spazio sottolombare (Francey, 2010). A questo livello, infatti, si evidenziano frequentemente reazione periostale a palizzata o liscia del margine ventrale delle vertebre lombari e lesioni occupanti spazio dello spazio sottolombare, entrambi segni di possibile presenza metastatica (Francey, 2010). L'esame radiografico può in alcuni casi essere completato dall'uso di mezzi di contrasto. In letteratura, si riporta che la procedura contrastografica più utilizzata, perché in grado di fornire ulteriori informazioni sulla ghiandola prostatica, è l'uretrografia con mezzo di contrasto positivo (Lattimer & Essman, 2007). Per l'esecuzione di tale tecnica, si richiede di svuotare il colon ed il retto dalle feci, utilizzando un clistere a base di bifosfato o fosfato di sodio, di sedare o anestetizzare il paziente. Successivamente si eseguono le radiografie in bianco dell'addome nelle due proiezioni, in modo da ottimizzare i dati e valutare lo svuotamento del colon. Nella fase successiva si applica un catetere uretrale (meglio un Foley), viene svuotata la vescica e, successivamente, il catetere viene reintrodotto fino ad essere collocato nell'uretra peniena. L'uretra viene, poi, chiusa con delle pinze e si inietta un mezzo di contrasto idro-solubile a base iodica alla concentrazione di 120-400 mg I/ml. Questa procedura permette una valutazione dell'uretra in toto e della sua posizione in relazione alla prostata (Lattimer & Essman, 2007). Infatti, un

andamento tortuoso o asimmetrico dell'uretra può indicare che l'aumento di volume della ghiandola sia non uniforme o che sia estrinseco alla ghiandola stessa (Lattimer & Essman, 2007). Inoltre, un difetto di riempimento o un restringimento dell'uretra prostatica permette di sospettare l'invasione da parte di una neoplasia del canale o una stenosi creata dalla compressione e/o dall'infiammazione (Lattimer & Essman, 2007). L'uretrografia, ancora, chiarisce meglio la posizione della vescica nei casi in cui altre strutture patologiche possano interpersi tra essa e la prostata, come accade nel caso dei testicoli ritenuti aumentati di volume, delle cisti paraprostatiche e delle neoplasie del peritoneo (Lattimer & Essman, 2007). Infine, con l'uretrografia si può evidenziare lo stravasamento del mezzo di contrasto all'interno di formazioni cistiche o neoplastiche, comunicanti con l'uretra (Costello, 2009). Sebbene, lo studio radiografico permetta di fornire tutte le informazioni che fino ad ora abbiamo descritto, sia di rapida esecuzione ed a portata anche dei veterinari di base, presenta purtroppo numerosi limiti. Innanzitutto, numerose patologie prostatiche, quali ad esempio neoplasie o prostatiti croniche, in alcuni casi non determinano né un aumento di volume dell'organo, né una sua modificazione di radiopacità. Inoltre, la radiografia, non permette spesso nei casi di prostatomegalia di distinguere tra un'iperplasia prostatica, una prostatite acuta o una neoplasia, poiché non fornisce alcuna informazione circa la struttura parenchimale dell'organo (fig. 20 e 21). Per tali ragioni, altre tecniche di diagnostica per immagini sono

utilizzate di routine per ampliare le informazioni ed arrivare, infine, ad una diagnosi.

Tra queste un ruolo fondamentale lo riveste l'ultrasonografia.

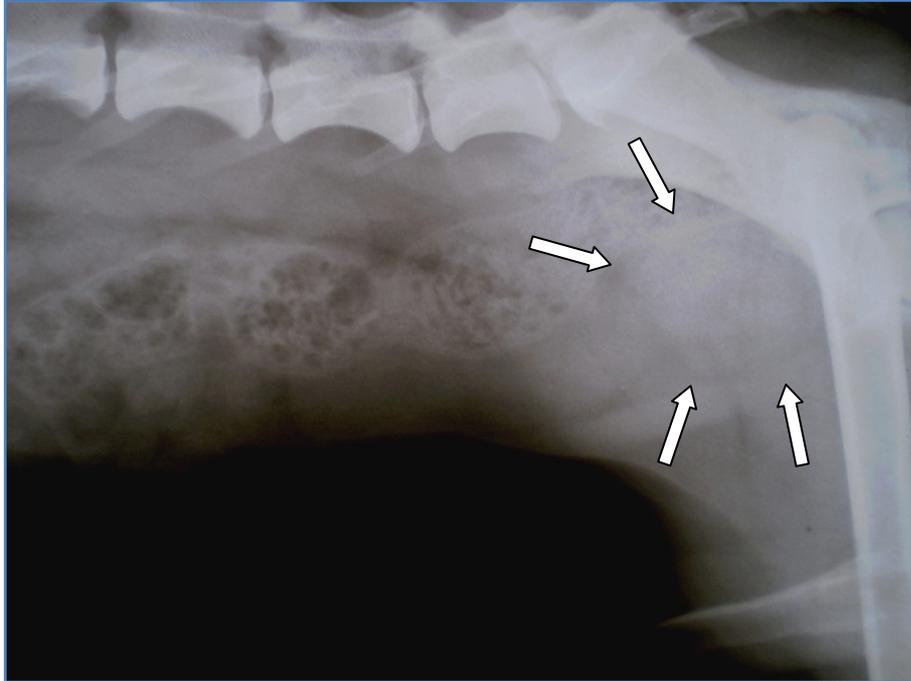


FIGURA 11: RADIOGRAFIA DELL'ADDOME CAUDALE DI UN CANE. DA NOTARE L'AUMENTO DI VOLUME DELLA GHIANDOLA E LA DISLOCAZIONE IN SENSO CRANIALE DELLA VESCICA.

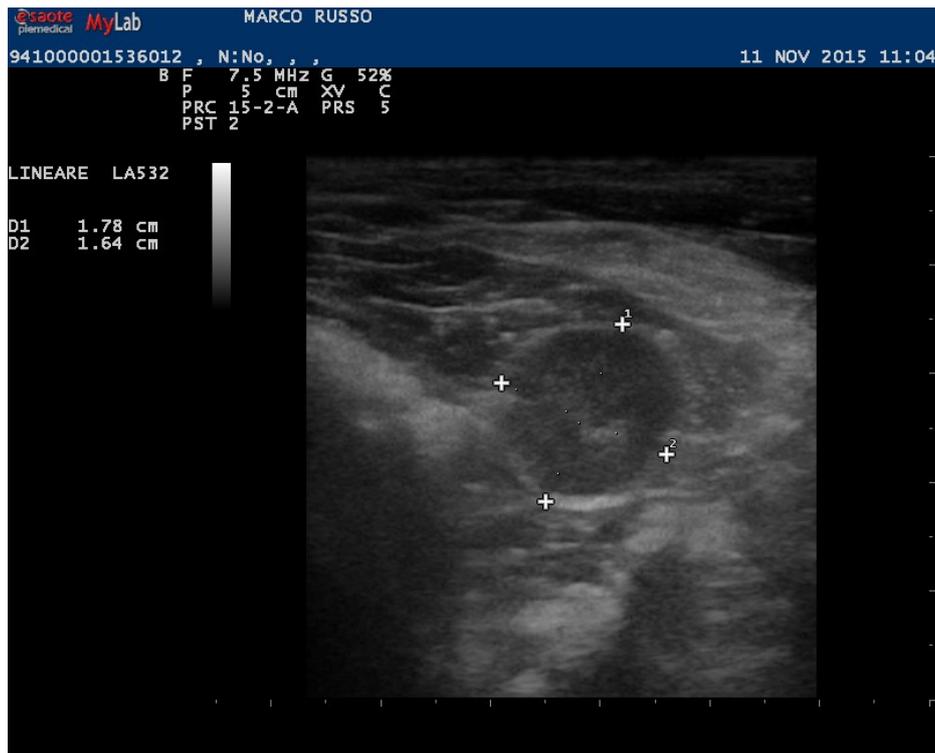


FIGURA 8: IMMAGINE ECOGRAFICA IN SEZIONE TRASVERSALE DELLA PROSTATA DI UN CANE. DA NOTARE LE MAGGIORI INFORMAZIONI FORNITE DALL'ULTRASONOGRAFIA RISPETTO ALLA RADIOGRAFIA.

### 1.4.3 ULTRASONOGRAFIA ED ULTRASONOGRAFIA CON COLOR-DOPPLER

L'aspetto ultrasonografico della ghiandola prostatica permette di fornire informazioni circa la forma, le dimensioni, la struttura lobare e l'ecotessitura del parenchima ghiandolare (Debiak & Balicki, 2009). Permette, inoltre, di valutare l'uretra prostatica, la capsula della ghiandola ed i tessuti adiacenti (Debiak & Balicki, 2009). Oltre a ciò, l'ecografia è una tecnica molto più accurata rispetto all'esame radiografico nell'identificare la presenza di versamento peritoneale e/o riduzione del grasso periprostatico e di identificare lesioni intraparenchimali, quali cisti, ascessi,

ematomi (Paclikova, Kohout, & Vlasin, 2006). Ancora, questo tipo di esame si è dimostrato estremamente utile per guidare l'operatore nei prelievi citologici, biotici e/o nell'aspirazione di ascessi o cisti (Francey, 2010; Boland, Hardie, Gregory, & Lamb, 2003). Infine, l'ecografia è un esame poco invasivo, sicuro, di facile esecuzione e reperibilità, ripetibile e poco costoso (Ruel, Barthez, Mailles, & Begon, 1998; Davidson & Baker, 2009). La tecnica ultrasonografica più diffusamente utilizzata è l'ecografia trans-addominale (TAUS), eseguita in decubito dorsale o dorso-laterale destro, dopo tosatura dell'addome ed applicazione di gel ecografico (Debiak & Balicki, 2009). In casi particolari, è utile eseguire la TAUS anche in stazione quadrupedale, poiché se la vescica è moderatamente repleta, con questa posizione scivola in addome, portandosi dietro la prostata, permettendo, quindi, una sua più completa visualizzazione (Costello, 2009). Esiste, però, un'altra tecnica ecografica utilizzata per la valutazione della prostata, chiamata ecografia trans-rettale (TRUS), la quale viene eseguita in decubito laterale (Hecht, 2008). Quest'ultima tecnica viene impiegata diffusamente ed abitualmente in medicina umana, ove è stata introdotta nel 1970, mentre in medicina veterinaria presenta tutto'ora applicazioni limitate (Hecht, 2008). Uno studio comparativo tra le due tecniche ha evidenziato, però, che la TRUS è la tecnica più adatta a visualizzare quella porzione di ghiandola localizzata all'interno della cavità pelvica e che associata alla TAUS permette di ottenere informazioni più complete circa l'ecotessitura ghiandolare (Debiak & Balicki, 2009).

Si è notato, infatti, che nel 66,6% dei pazienti che non presentano prostatomegalia il margine prostatico caudale non viene visualizzato con l'ecografia trans addominale ed uno studio riporta la notevole difficoltà di diagnosticare cisti paraprostatiche localizzate caudalmente alla ghiandola prostatica (Zohil & Castellano, 1995). Inoltre, tale tecnica è frequentemente impiegata per ottenere materiale biotico con approccio perirettale (Francey, 2010). Per effettuare questo tipo di esame, si preferisce sedare l'animale, lo si pone in decubito laterale o sternale e si introduce la sonda all'interno del retto, protetta da una guaina in lattice riempita di gel (Debiak & Balicki, 2009). L'applicazione limitata della TRUS in medicina veterinaria è da imputarsi principalmente alle difficoltà tecniche, causate dalla mancata collaborazione della maggior parte dei pazienti e dalla necessità, quindi, di una loro sedazione (Debiak & Balicki, 2009). A prescindere dalla tecnica usata, può essere sufficiente una sonda da 5 MHz per visualizzare lesioni prostatiche di grosse dimensioni come ascessi prostatici o cisti paraprostatiche, ma spesso è meglio utilizzare sonde a più alta frequenza (7,5 MHz-10 MHz), per poter essere in grado di visualizzare lesioni di piccole dimensioni e lievi alterazioni dell'ecostruttura (Hecht, 2008). Le tipologie di sonde, ad oggi, più utilizzate sono le convex, le microconvex e le lineari, poiché, grazie alla loro maneggevolezza ed alla loro adattabilità alla regione anatomica da investigare, forniscono maggiori informazioni e danno meno artefatti nelle porzioni periferiche (Matoon & Nyland, 2002). Inoltre, occorre porre il

fuoco in modo che la ghiandola ne sia compresa in esso, in modo da aumentare il potere risolutivo dello strumento (Matoon & Nyland, 2002). L'esame ecografico per via trans-addominale si effettua, previa tricotomia ed applicazione di gel ecografico, appoggiando la sonda in posizione mediana e paramediana prepubica, lateralmente al pene, ottenendo, così sia scansioni longitudinali che trasversali dell'organo (Matoon & Nyland, 2002; Kevin & McAllister, 2011) (fig. 22). Per facilitare l'individuazione dell'organo, si visualizza dapprima la vescica, la quale funge da punto di repere e da ottimo mezzo di contrasto, poiché l'urina risulta perfettamente anecogena, ed in seguito ci si sposta caudalmente (Hecht, 2008). In casi particolari, nei quali la vescica risultasse vuota, si riporta in letteratura la possibilità di riempire con soluzione salina la vescica, previa cateterizzazione (Kevin & McAllister, 2011). Tale tecnica, però, presenta il limite di produrre degli artefatti causati da piccole bollicine d'aria che possono entrare insieme alla soluzione (Feeney, Johnston, Klausner, Perman, Leininger, & Tomlinson, 1987). Inoltre, nei casi nei quali la prostata sia completamente contenuta nel canale pelvico, è di estrema utilità farsi aiutare da un collaboratore che, per via trans-rettale, spinga l'organo cranialmente (Hecht, 2008). L'esame ecografico della prostata va, poi, sempre completato dallo studio dei testicoli, poiché è opinione diffusa ed assodata che in molti casi le lesioni prostatiche possano essere associate a lesioni testicolari (Davidson & Baker, 2009) (fig. 23). L'esame dei testicoli si effettua, utilizzando un trasduttore lineare a

frequenza superiore ai 7,5 MHz con o senza stand-off, previa tricotomia dello scroto ed applicazione di gel ecografico. Anche i testicoli, poi, verranno scansionati sia longitudinalmente che trasversalmente (Davidson & Baker, 2009). La normale struttura testicolare è omogenea, con ecogenicità simile a quella della milza, al centro è possibile visualizzare il mediastino testicolare come una sottile linea iperecogena (Davidson & Baker, 2009). Inoltre, risulta di estrema utilità valutare ecograficamente anche i linfonodi lombo-aortici e gli iliaci mediali, poiché, drenando la linfa proveniente dalla prostata, possono essere coinvolti nei processi patologici riguardanti la ghiandola (Paclikova, Kohout, & Vlasin, 2006). Infatti, in corso è noto che in corso di prostatiti acute, i linfonodi, spesso, si presentano reattivi cioè aumentati di volume, ellittici e ipoecogeni (Paclikova, Kohout, & Vlasin, 2006).

L'esame ecografico è finalizzato, quindi, alla valutazione delle dimensioni, della forma, della superficie e delle caratteristiche parenchimali. Innanzitutto, per la valutazione delle dimensioni, occorre ottenere misurazioni di lunghezza, altezza e larghezza, le quali forniscono la dimensione volumetrica dell'organo stesso (Hecht, 2008; Atalan, Holt, Barr, & Brown, 1999). Quest'ultimo dato risulta particolarmente importante da determinare per poter, successivamente individuare quei casi di iperplasia prostatica, ed è per questo motivo che alcuni ricercatori si sono impegnati nel pubblicare i valori determinati (Atalan, Holt, & Barr, 1999; Ruel, Barthez, Mailles, & Begon, 1998; Kamolpatana, Johnston, & Johnston, 2000). La prima osservazione

riportata è che esiste una significativa correlazione tra il peso e l'età dell'animale con la lunghezza (L), la larghezza (W), la profondità (DL o DT) ed il volume. Gli stessi autori, inoltre, hanno elaborato formule in grado di correlare tra loro tali dati (tab. 3) (Atalan, Holt, & Barr, 1999; Ruel, Barthez, Mailles, & Begon, 1998). I valori riportati sono validi per cani interi e sessualmente maturi, mentre nei cani castrati, la ghiandola si presenta di dimensioni ridotte, ipoecoica, omogenea e spesso non è possibile distinguere i due lobi (Hecht, 2008; Atalan, Holt, Barr, & Brown, 1999). Per quanto riguarda la forma, come per le dimensioni, varia notevolmente a seconda dell'età del cane ed al suo stato riproduttivo. Nel cane prepubere o castrato, presenterà una forma rotondeggiante, mentre nei cani sessualmente maturi la forma più ovoidale per tornare rotondeggiante, ma di dimensioni maggiori nell'età avanzata (Davidson & Baker, 2009). Più in particolare nei cani sessualmente maturi, in sezione trasversale, la ghiandola si presenta semi-ovoidale, lievemente appiattita dorsalmente, a causa del contatto con il retto, e più rotondeggiante ventralmente (Costello, 2009). E' possibile riconoscere i due lobi prostatici simmetrici, separati al centro da un'area ipoecoica (uretra), che spesso produce un'ombreggiatura distale che non va confusa con una lesione (Lattimer & Essman, 2007). In questa scansione, inoltre, è possibile individuare le incisive ventrali e dorsali (Matoon & Nyland, 2002). In scansione longitudinale, invece, la prostata si presenta ovoidale con al centro una linea ipoecoica di spessore variabile (uretra), che decorre in modo obliquo

attraverso la ghiandola (Costello, 2009). I margini prostatici si presentano spesso lisci, regolari ed iperecogeni rispetto al parenchima (Costello, 2009).

Per quanto riguarda l'ecogenicità, anch'essa è fortemente dipendente dall'età e dalla condizione fisiopatologica del soggetto in esame. Nei cani prepuberi e castrati, la ghiandola prostatica si presenta più ecogena di quella di cani sessualmente maturi, poiché aumenta il tessuto periduttale (iperecogeno) a scapito di quello ghiandolare (ipoecogeno) (Matoon & Nyland, 2002). Nel cane giovane ed adulto, la ghiandola presenta ecogenicità uniforme e molto simile alla milza ed al grasso circostante, sebbene si distingue da quest'ultimo per ecotessitura (Hecht, 2008). La prostata, infatti, presenta ecotessitura omogenea da media a fine, mentre il grasso circostante presenta un'ecotessitura grossolana (Hecht, 2008). In scansione trasversale, è spesso individuabile un pattern iperecogeno, chiamato a "farfalla", che corrisponde alla presenza del tessuto duttale, il quale ha più tessuto connettivo rispetto al tessuto ghiandolare (Davidson & Baker, 2009). Infine, per quanto riguarda l'aspetto ecografico normale della prostata, occorre ricordare che molto raramente è possibile osservare delle linee ipoecogene, che decorrono obliquamente attraverso la parte dorsale della prostata e che corrispondono ai dotti deferenti (Costello, 2009).

In corso di patologia prostatica, possiamo suddividere le alterazioni ecografiche in 4 grandi categorie, che possono associarsi in vario modo,:

- Aumento di volume dell'organo;
- Diminuzione di volume dell'organo fino ad arrivare all'atrofia;
- Aumento di ecogenicità sia focale che diffuso (pattern associato spesso a infiammazioni croniche o a neoplasia);
- Diminuzione di ecogenicità fino ad arrivare a lesioni anecogene focali associate a rinforzo distale (pattern associato alla presenza di cisti, ascessi o granulomi) (Costello, 2009; Hecht, 2008; Davidson & Baker, 2009).

Inoltre, ecograficamente è possibile rilevare la presenza di mineralizzazioni, il cui significato deve essere correlato all'età dell'animale, alla presenza o meno dei testicoli ed alle altre lesioni del parenchima prostatico (Bradbury, Westropp, & Pollard, 2009). Bradbury et al., infatti, hanno dimostrato nel loro studio che la presenza di mineralizzazioni in prostate di cani castrati avesse un valore di specificità pari al 100% nell'indicare la presenza di neoplasia prostatica (Bradbury, Westropp, & Pollard, 2009). Mentre, nei cani interi sessualmente maturi, la presenza di mineralizzazioni poteva indicare la presenza sia di una patologia neoplastica che non neoplastica (Bradbury, Westropp, & Pollard, 2009). Gli stessi autori, indicavano in questo caso valori di specificità pari al 77% (Bradbury, Westropp, & Pollard, 2009). Al di là, però, dei caratteri generali è sicuramente di estremo ausilio definire le alterazioni ultrasonografiche in corso delle più frequenti patologie prostatiche. Innanzitutto, in presenza di iperplasia prostatica benigna, la ghiandola si presenterà

aumentata di volume con ecogenicità da normale ad aumentata (Kevin & McAllister, 2011). Nella scansione trasversale, i due lobi si presentano generalmente simmetrici, anche se in alcuni casi possano essere lievemente asimmetrici (Kevin & McAllister, 2011). Le cisti parenchimali sono comuni e si manifestano come aree rotondeggianti di forma irregolare a contenuto anecogeno (Hecht, 2008). In corso, invece, di prostatiti acute o croniche, la ghiandola si presenta da normale ad aumentata, con ecogenicità variabile da normale ad eterogenea. Sebbene i cambiamenti in ecogenicità ed in ecotessitura tendono ad essere più severi di quelli presenti negli animali con iperplasia prostatica benigna, la differenziazione ecografica di queste due condizioni morbose non è spesso possibile, anche perché spesso i processi infiammatori complicano una preesistente condizione di iperplasia. In molto casi di prostatite acuta, è possibile evidenziare la presenza di versamento perighiandolare anecogeno o un aumento dell'ecogenicità del grasso adiacente (Hecht, 2008). Negli animali con prostatite cronica, inoltre, sono evidenziabili, come già accennato, delle mineralizzazioni distrofiche (Kevin & McAllister, 2011). L'aspetto ultrasonografico degli ascessi, invece, è caratterizzato dalla presenza di cavità a parete sottile con all'interno l'accumulo di fluido corpuscolato. Inoltre, spesso sono evidenziabili piccole bolle di gas, causate dalla presenza di batteri anaerobi, e setti di vario spessore (Hecht, 2008). Le cisti paraprostatiche presentano una parete a spessore variabile ed un contenuto da anecogeno ad ecogeno. Possono raggiungere

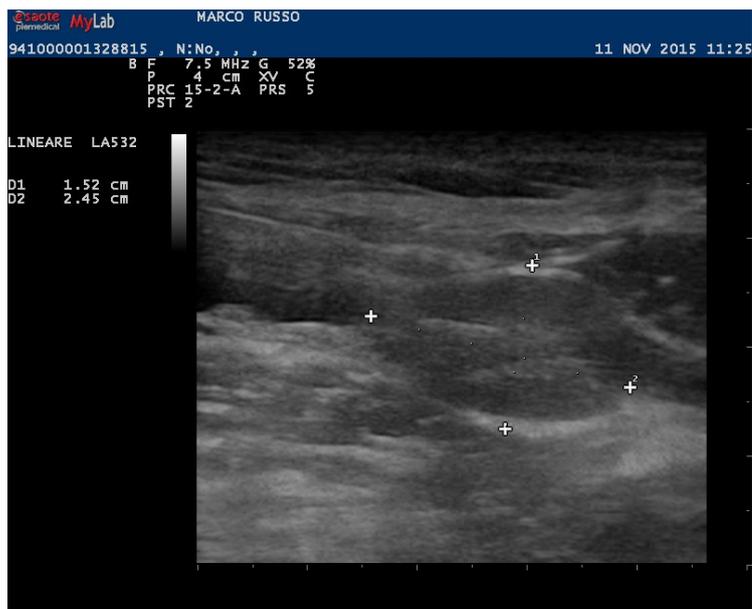
dimensioni ragguardevoli, all'interno possono essere presenti dei setti e la parete può presentare delle mineralizzazioni. A volte, le loro dimensioni sono tali da rendere difficile la distinzione tra vescica e cisti ed è proprio in questi casi che si rende utile la cateterizzazione della vescica ed il suo svuotamento (Hecht, 2008). Infine, per quanto riguarda le neoplasie il loro aspetto è estremamente variabile (Kevin & McAllister, 2011). Nella maggior parte dei casi, si presenta un aumento di volume irregolare, con ecotessitura da ipoecogena ad eterogenea. In scansione trasversale, i lobi prostatici sono asimmetrici e frequentemente sono presenti mineralizzazioni del parenchima (Kevin & McAllister, 2011). Inoltre, spesso vi è l'invasione dell'uretra con conseguente ostruzione e della vescica con aumento dello spessore di parete soprattutto a livello del trigono. In casi eccezionali, tale fenomeno assume una gravità tale da ostruire gli ureteri e causare idronefrosi. In corso di neoplasia, frequentemente saranno interessati i linfonodi iliaci e lombo-aortici, i quali si presenteranno aumentati di volume, irregolari ed ipoecogeni e il grasso perigliandolare, che si presenterà iperecogeno (Hecht, 2008).

Nonostante, quindi, l'ultrasonografia sia sicuramente una tecnica in grado di fornire numerose informazioni circa la struttura dell'organo, sia la tecnica più sensibile nell'individuare alterazioni anatomiche e nel rilevare la presenza di cisti prostatiche, paraprostatiche e ascessi, essa presenta a tutt'oggi il limite di discernere con difficoltà tra lesioni non neoplastiche e lesioni neoplastiche (Costello, 2009; Hecht,

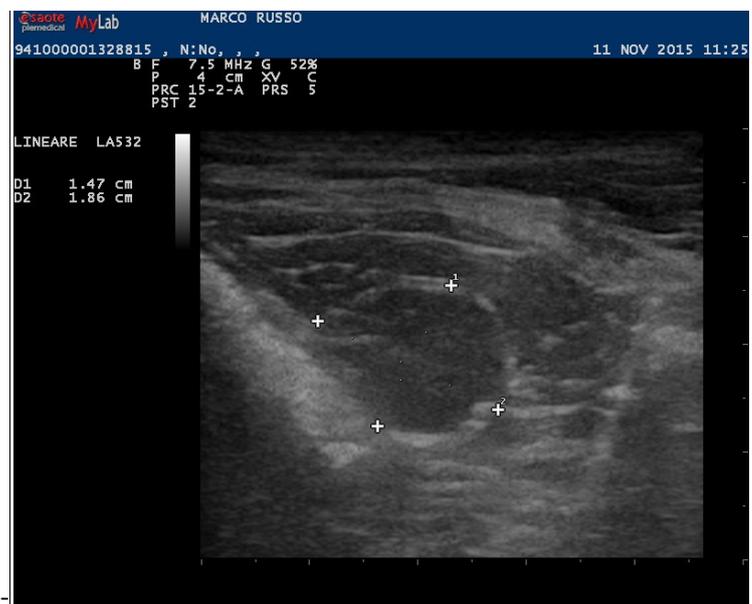
2008; Davidson & Baker, 2009). Ed è per tale ragione che i ricercatori concentrano le loro attenzioni sullo sviluppo di nuove tecniche di ultrasonografia, in grado di fornire maggiori informazioni. Tra queste, una tecnica utile e poco invasiva è l'utilizzo del color Doppler e del Doppler pulsato (Gunzel-Apel, Mohrke, & Poulsen Nautrup, 2001). Tale metodo, infatti, è in grado di dimostrare e misurare il flusso ematico all'interno delle arterie prostatiche sia nella sua porzione laterale, cioè esterna al parenchima, sia nella sua porzione subcapsulare (Gunzel-Apel, Mohrke, & Poulsen Nautrup, 2001). Fisiologicamente, nelle porzioni extraparenchimali, il flusso ematico si presenta ad alta resistenza e bifasico, mentre nelle porzioni subcapsulari il flusso è monofasico ed a bassa resistenza (Gunzel-Apel, Mohrke, & Poulsen Nautrup, 2001). Si è, inoltre, dimostrato che nel 50% dei casi, in cui vi sia iperplasia prostatica, il color Doppler è in grado di rilevare un aumento del flusso sanguigno (Gunzel-Apel, Mohrke, & Poulsen Nautrup, 2001). Nonostante tali risultati siano sicuramente utili, gli stessi autori ritengono ancora insufficienti i dati raccolti e sostengono la necessità di nuovi lavori per poter standardizzare la metodica (Gunzel-Apel, Mohrke, & Poulsen Nautrup, 2001).

Ruel et al 1998	
Lunghezza (cm)	1,7-6,9
Altezza (in scansione trasversale) (cm)	1,3-4,7
Larghezza (cm)	1,8-6,9
Volume (cm <sup>3</sup> )	2,3-80,0
Correlazione tra la lunghezza, l'età ed il peso	$L = (0,055 \times \text{peso}) + (0,143 \times \text{età}) + 3,31$
Correlazione tra l'altezza, l'età ed il peso	$H = (0,044 \times \text{peso}) + (0,083 \times \text{età}) + 2,25$
Correlazione tra la larghezza, l'età ed il peso	$W = (0,047 \times \text{peso}) + 0,089 \times \text{età} + 3,45$
Correlazione tra il volume, l'età ed il peso	$V = (0,867 \times \text{peso}) + (1,885 \times \text{età}) + 15,88$

TABELLA 2: DIMENSIONI PROSTATICHE IN CANI INTERI SANI E LORO CORRELAZIONI AL PESO ED ALL'ETÀ



A-



B

FIGURA 9: A- SCANSIONE LONGITUDINALE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA NORMALE; B- SCANSIONE TRASVERSALE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA NORMALE

Ultrasonographic measurements	G.Atalan et al 1999
Prostate volume	$0.487 \times L \times W \times (DL+DT)/2 + 6.38$
Prostate weight	$0.508 \times L \times W \times (DL+DT)/2 + 3.21$

TABELLA 3: FORMULE DA UTILIZZARE DOPO MISURAZIONI ECOGRAFICHE PER OTTENERE A) VOLUME PROSTATICO E B) PESO PROSTATICO. IN SEZIONE LONGITUDINALE L=LUNGHEZZA, DL=ALTEZZA; IN SEZIONE TRASVERSALE W=LARGHEZZA, DT=ALTEZZA

#### **1.4.4 ESAME CITOLOGICO, ESAME BIOPTICO**

Per quanto riguarda l'aspirazione con ago-sottile, si utilizza, nella maggior parte dei casi sia per campionare liquido, presente all'interno di cisti e/o ascessi, sia per campionare il tessuto parenchimale, per le valutazioni citologiche. La principale controindicazione per l'aspirazione è rappresentata dalla possibilità di disseminare batteri o cellule neoplastiche lungo il tragitto, provocando peritoniti, sepsi o metastasi locali, anche se uno studio condotto su 13 cani, nei quali gli ascessi e le cisti venivano drenate come primo trattamento terapeutico, tale complicazione non si è mai presentata (Smith, 2008; Boland, Hardie, Gregory, & Lamb, 2003). L'aspirazione con ago-sottile può essere eseguita per via trans addominale con guida ecografica (fig. 24), con il paziente sedato ed in decubito laterale o dorsale, oppure per via peri-rettale alla cieca (fig. 25) (Smith, 2008). Infine, ancora oggi, l'esame gold standard per diagnosticare le patologie prostatiche è considerato la valutazione istologica di biopsie (Francey, 2010; Smith, 2008; Dorfman & Barsanti, 1998). Infatti, la biopsia è consigliata in tutti quei casi, nei quali le tecniche diagnostiche meno invasive non hanno dato esito definitivo oppure in quei casi in cui non vi è stata

risposta al trattamento terapeutico (Francey, 2010; Smith, 2008; Dorfman & Barsanti, 1998). In uno studio di Kustriz, si riporta che la biopsia permette di formulare una diagnosi nel 66% dei casi, mentre l'ago-aspirato nel 55% dei pazienti (Smith, 2008). I campioni bioptici possono essere ottenuti per via percutanea, trans addominale eco guidata (fig. 26) o perirettale, oppure chirurgicamente per via laparotomica (Smith, 2008). Le complicazioni più comuni, che possono presentarsi a seguito di tale procedura, sono l'ematuria, secondaria ad un danno uretrale o ad emorragia parenchimale, la peritonite, secondaria al contaminazione batterica, oppure la disseminazione di cellule neoplastiche lungo il tragitto dello strumento (Smith, 2008).



FIGURA 10: TECNICA DI ASPIRAZIONE CON AGO-SOTTILE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA PER VIA TRANS-ADDOMINALE ED ECO-GUIDATA.

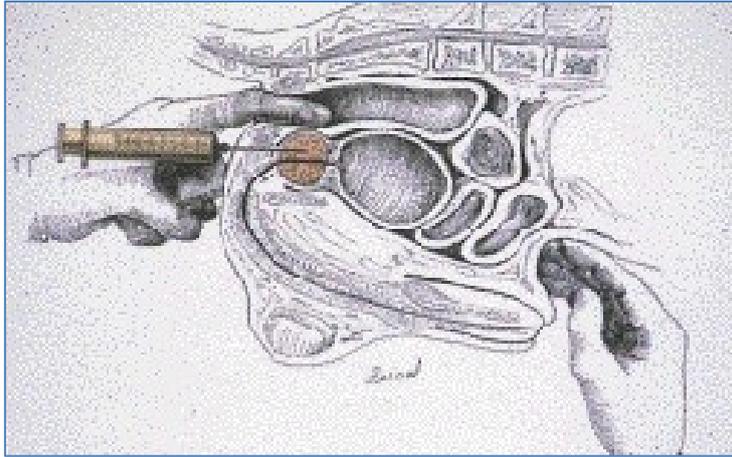


FIGURA 11: TECNICA DI ASPIRAZIONE CON AGO-SOTTILE DELLA GHIANDOLA PROSTATICA PER VIA PERIRETTALE



FIGURA 12: TECNICA PER L'ESECUZIONE DI BIOPSIA CON TRU-CUT, PER VIA TRANS-ADDOMINALE ED ECOGUIDATA

## **1.5 STATO DELL'ARTE DEL MEZZO DI CONTRASTO ECOGRAFICO IN MEDICINA VETERINARIA**

In medicina umana e veterinaria, l'ultrasonografia era forse l'unica tecnica di diagnostica per immagini priva di sostanze, che, somministrate ai pazienti, fossero in grado di migliorare o aumentare la resa diagnostica (Calladia, Campani, Bottinelli, Bozzini, & Sommaruga, 1998). Carattere, questo abbastanza singolare se si pensa che tecniche come la radiografia, la tomografia computerizzata e la risonanza magnetica già da tempo utilizzano con successo mezzi di contrasto appositi (Calladia, Campani, Bottinelli, Bozzini, & Sommaruga, 1998). Tale lacuna è stata solo recentemente colmata con la messa a punto di mezzi di contrasto ecografici, che sono definiti come delle sostanze esogene, che possono essere somministrate, sia per via endovenosa che all'interno di una cavità, per amplificare il segnale ultrasonoro (Calladia, Campani, Bottinelli, Bozzini, & Sommaruga, 1998; Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). In medicina umana, la scoperta e il conseguente sviluppo di queste sostanze sono derivati da una fortunata osservazione del cardiologo Dott. Charles Joiner, nel lontano 1960 (Calladia, Campani, Bottinelli, Bozzini, & Sommaruga, 1998). Egli, infatti, durante l'esecuzione un'ecocardiografia in M-mode, iniettò del verde indocianina al fine di valutare

l'output cardiaco, ma notò che alla fine dell'iniezione si aveva un aumento del segnale acustico (Calladia, Campani, Bottinelli, Bozzini, & Sommaruga, 1998). Tale aumento era causato dalla presenza di piccolissime bolle di aria, che si formavano all'interno del tappo del catetere (Calladia, Campani, Bottinelli, Bozzini, & Sommaruga, 1998). Da questa osservazione, si svilupparono i così detti mezzi di contrasto "fatti a mano", i quali, però, presentavano effetti troppo rapidi e difficilmente ripetibili (Calladia, Campani, Bottinelli, Bozzini, & Sommaruga, 1998). Di conseguenza, si elaborarono nel tempo mezzi di contrasto ecografici più stabili e molto simili a quelli odierni, che consistono in piccolissime microsfele di gas stabilizzate da un guscio esterno (Calladia, Campani, Bottinelli, Bozzini, & Sommaruga, 1998; Haers & Saunders, 2009). A seconda del tipo di guscio utilizzato (ad es. galattosio, albumina, lipidi, polimeri), le microbolle presentano caratteristiche farmacocinetiche diverse e si adattano, quindi, ad utilizzi diversi (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001) (tab. 4). Ad esempio, il Levovist è in grado di accumularsi all'interno del fegato per 20 min dopo la sua iniezione endovenosa, poiché si pensa sia in grado di aderire alla parete dei sinusoidi epatici (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). Altri come il Sonazoid o il Sonavist, permangono più a lungo nel fegato, perché le loro microbolle vengono fagocitate dalle cellule del Küppfer (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). Inoltre, il tipo di gas è in grado di aumentare la

persistenza del mezzo di contrasto nel sangue (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). Infatti, quelli a maggiore durata sono costituiti da gas a bassa solubilità e bassa diffusibilità (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). Tra questi vi è il Sonovue (BR 1, Bracco, Milano, Italia), il quale è costituito da esafluoruro di zolfo, un perfluorocarburo, rivestito da glicole polietilene, fosfolipidi e acido palmitico (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). Il Sonovue, grazie alle sue caratteristiche, viene utilizzato con successo per diagnosticare malattie cardiovascolari, poiché determina un notevole opacamento delle camere cardiache e migliora la definizione della parete endocardica sinistra (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). Inoltre, è stato utilizzato per escludere o individuare anomalie delle arterie cerebrali, delle carotidi esterne o di altre arterie periferiche, rafforzando il segnale Doppler (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). Infine, in medicina umana, è stato registrato anche per individuare e caratterizzare lesioni nodulari a carico di organi, quali fegato e mammella (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). A prescindere dal tipo di gas e/o di guscio esterno, tutti i mezzi di contrasto ecografici sono costituiti da microbolle più piccole dei globuli rossi (1-7  $\mu\text{m}$  di diametro), eliminando il rischio di embolizzazione ed a differenza dei mezzi di contrasto utilizzati in TC o in MRI, rimangono confinate nel circolo ematico per 2-5 min, senza essere in grado di diffondere nello spazio extracellulare (Haers &

Saunders, 2009; Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Il gas contenuto all'interno delle microsfere, poi, è eliminato dal circolo tramite il polmone, mentre i componenti del guscio esterno sono filtrati dai reni ed eliminati dal fegato (Haers & Saunders, 2009). Il comportamento acustico delle microbolle al fascio ultrasonoro è complesso, ma in linea generale si può affermare che esse siano in grado di intensificare il segnale ecografico in gray-scale e in modalità Doppler da 10 a 1000 volte durante un periodo di tempo di circa 5 minuti, a seconda del mezzo di contrasto usato (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Infatti, il gas contenuto nella microbolla riflette completamente gli ultrasuoni a causa dell'enorme differenza di impedenza acustica esistente tra il gas stesso ed il sangue circostante (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Ancor più nello specifico, quando la dimensione della bolla di gas è molto più piccola della lunghezza d'onda degli ultrasuoni, come accade per le microbolle di mezzo di contrasto ecografico, le onde ultrasonore determinano la pulsazione della bolla di gas stessa (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). La pulsazione si verifica, poiché gli ultrasuoni sono costituiti da compressioni e rarefazioni che si alternano e l'entità delle compressioni e rarefazioni dipende dalla ampiezza dell'onda acustica, permettendoci di calcolare l'indice meccanico (MI) (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). L'indice meccanico è visualizzato sul monitor di ogni macchina ad ultrasuoni e può essere controllato dall'operatore (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Se si utilizza un indice meccanico basso, la compressione e

la relativa espansione delle microbolle sono gli stessi, cioè lineari, mentre se utilizziamo indici meccanici più alti, la pulsazione diventa non lineare (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Di conseguenza, nel momento in cui la bolla è compressa, la sua dimensione diminuisce, diventa più rigida e resiste maggiormente ad un ulteriore riduzione del suo raggio (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Nella fase di rarefazione degli ultrasuoni, invece, le bolle diventano meno rigide e, quindi, si espandono di più (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Queste microbolle a risonanza non lineare diverranno, così, una fonte di rumore e l'eco prodotto non conterrà solo la frequenza trasmessa, ma anche frequenze armoniche della stessa (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Le frequenze armoniche sono tutte quelle frequenze multiple della frequenza fondamentale e la seconda armonica, la più intensa tra le frequenze armoniche, è esattamente due volte quella fondamentale (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Chiarito tutto ciò, risulta più semplice comprendere come, nonostante le tecniche convenzionali (B-mode e Doppler) siano in grado di individuare i mezzi di contrasto ecografici, il loro valore diagnostico è limitato. Ed è per questo motivo che sono state messe a punto tecniche ultrasonografiche non convenzionali, le quali sono in grado di aumentare la visualizzazione delle microbolle all'interno dei tessuti, incrementando la sensibilità del trasduttore agli echi del mezzo di contrasto, reprimendo quelli provenienti dai tessuti circostanti e riducendo il più possibile gli artefatti (Correas, Bridal, Lesavre,

Mejean, Claudon, & Helenon, 2001). Le due principali tecniche non convenzionali comunemente usate sono:

- *Conventional harmonic imaging*;
- *Pulse/phase inversion imaging* (Correas, Bridal, Lesavre, Mejean, Claudon, & Helenon, 2001).

La *conventional harmonic imaging* è stata la prima modalità introdotta e si basa sulla ricezione della frequenza seconda armonica, reprimendo con opportuni filtri la frequenza fondamentale (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Tale tecnica richiede una sonda dedicata, in grado di emettere ultrasuoni ad una determinata frequenza e recepire gli echi ad una frequenza esattamente doppia (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). La *pulse/phase inversion imaging*, invece, si distingue dalla prima, poiché, nonostante utilizzi anch'essa frequenze armoniche, ad ogni trasmissione l'impulso viene invertito, ottenendo un effetto di sommazione degli echi non lineari ed un azzeramento di quelli lineari (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003). Questa tecnica presenta il vantaggio rispetto alla convenzionale di dover usare indici meccanici più bassi, riducendo il rischio di rompere le microbolle (Szatmari, Harkanyi, & Voros, 2003).

La tecnica ecografica contrastografica permette, rispetto al color Doppler ed al Doppler pulsato, di individuare con maggiore sensibilità e precisione la

vascolarizzazione di un organo e di misurarne con maggiore accuratezza la perfusione (Haers & Saunders, 2009; Ohlert, Wergin, Rohrer Bley, Del Chicca, & Luluhovà, 2010). Tali dati risultano di estrema utilità, poiché, a differenza del tessuto sano il tessuto patologico presenta diversa vascolarizzazione e perfusione (Haers & Saunders, 2009; Ohlert, Wergin, Rohrer Bley, Del Chicca, & Luluhovà, 2010). Infatti, aree necrotiche o con infarcimento emorragico, presentano una diminuzione di perfusione, mentre i tumori, a causa della neoangiogenesi, presentano un aumento della vascolarizzazione (Haers & Saunders, 2009; Ohlert, Wergin, Rohrer Bley, Del Chicca, & Luluhovà, 2010). Questa tecnica, in medicina veterinaria, è stata usata principalmente per lo studio di fegato, milza, reni, pancreas e linfonodi sia in condizioni normali che in condizioni patologiche, dimostrandosi particolarmente sensibile nell'individuare lesioni focali a minor vascolarizzazione (come ad esempio ematomi, ascessi, aree necrotiche o fibrotiche), rappresentate come aree prive di segnale, o a maggior vascolarizzazione (come ad esempio noduli iperplastici, tumori primari e/o metastatici), rappresentate come aree iperecogene (Haers & Saunders, 2009).

USCA non-transpolmonari	USCA transpolmonari	USCA trans polmonari con fase organo-specifica (fegato, milza)
-------------------------	---------------------	--

<b>Microbolle libere</b>	Breve emivita (< 5 min dopo bolo endovenoso):  <ul style="list-style-type: none"> <li>• Albunex</li> <li>• Levovist (SHU 508 A)</li> </ul>	Levovist (SHU508 A)
<b>Echovist (SHU 454)</b>	Lunga emivita (> 5 min dopo bolo endovenoso):  <ul style="list-style-type: none"> <li>• EchoGen, SonoGen</li> <li>• Optison (FSO 69)</li> <li>• SonoVue (BR1)</li> <li>• Definity (DMP 115)</li> <li>• Sonazoid (NC100100)</li> <li>• Imagent/Imavist (AF0150)</li> <li>• Sonavist (SHU 563 A)</li> </ul>	Sonazoid (NC100100)
		Sonavist (SHU 563 A)

TABELLA 2: CLASSIFICAZIONE FARMACOCINETICA DEI MEZZI DI CONTRASTO ECOGRAFICI (USCA, ULTRASOUND CONTRAST AGENTS)

## 2. MATERIALI E METODI

Per il presente lavoro ci siamo recati, da giugno 2015 a gennaio 2016, presso il canile “Zia Giuseppina” in Caivano (Na)Italia accompagnati da due colleghi veterinari, dipendenti A.S.L. , addetti al controllo sanitario del canile. Sono stati presi ad esame 64 cani maschi clinicamente sani, orchiettomizzati da almeno 6 mesi (con età compresa tra i 2 e i 14 anni e peso compreso tra i 7 ed i 55 kg). I soggetti presi ad esame dovevano essere stati castrati da almeno 6 mesi perché ,come riportato in letteratura, dopo circa 3 mesi dall’interruzione della stimolazione prostatica da parte del testosterone testicolare, si inizia ad avere una riduzione ipotrofica/funzionale della prostata fino ad arrivare a circa 6 mesi ad una dimensione orientativa di 2 cm (Mckenze 2010). Durante tutto il periodo del lavoro sperimentale gli incontri al canile sono stati a cadenza settimanale. Ad ogni incontro sono stati valutati 8 pazienti e per ciascun soggetto è stato fatto un prelievo ematico per esami serologici ed una valutazione ecografica b-mode, color/power doppler e contrastografica.

	Peso	ETA'	ETA' CASTRA.	Razza
	(kg)	mesi	(mesi)	
CASO 1	7	72	24	Meticcio
CASO 2	8	144	24	Meticcio
CASO 3	8	60	21	Meticcio
CASO 4	9	72	51	Meticcio
CASO 5	9	36	30	Meticcio

CASO 6	9	24	8	Meticcio
CASO 7	10	48	23	Meticcio
CASO 8	10	36	13	Meticcio
CASO 9	11	84	27	Meticcio
CASO 10	11	60	10	Meticcio
CASO 11	11	108	8	Meticcio
CASO 12	12	144	136	Meticcio
CASO 13	12	36	24	Meticcio
CASO 14	13	96	84	Meticcio
CASO 15	13	24	7	Meticcio
CASO 16	14	36	16	Meticcio
CASO 17	16	60	12	Meticcio
CASO 18	17	48	19	Meticcio
CASO 19	17	84	34	Meticcio
CASO 20	17	24	10	Meticcio
CASO 21	18	96	29	Meticcio
CASO 22	18	96	64	Meticcio
CASO 23	18	60	17	Meticcio
CASO 24	18	12	10	Meticcio
CASO 25	19	36	15	Meticcio
CASO 26	20	24	12	Meticcio
CASO 27	20	108	9	Meticcio
CASO 28	20	48	28	Meticcio
CASO 29	22	36	11	Meticcio
CASO 30	22	36	24	Meticcio
CASO 31	22	120	71	Meticcio
CASO 32	24	36	14	Meticcio
CASO 33	24	48	26	Meticcio
CASO 34	24	36	26	Meticcio
CASO 35	24	36	12	Meticcio
CASO 36	25	60	44	Meticcio
CASO 37	25	72	48	Meticcio

CASO 38	25	36	24	Meticcio
CASO 39	26	72	13	Meticcio
CASO 40	27	84	22	Meticcio
CASO 41	27	24	20	Meticcio
CASO 42	27	120	84	Meticcio
CASO 43	28	108	34	Meticcio
CASO 44	28	108	72	Meticcio
CASO 45	30	60	26	Meticcio
CASO 46	30	108	71	Meticcio
CASO 47	30	60	16	Meticcio
CASO 48	31	96	39	Meticcio
CASO 49	32	60	57	Meticcio
CASO 50	32	24	12	Meticcio
CASO 51	32	144	36	Meticcio
CASO 52	34	60	29	Meticcio
CASO 53	34	24	12	Meticcio
CASO 54	35	108	44	Meticcio
CASO 55	35	36	30	Meticcio
CASO 56	37	48	41	Meticcio
CASO 57	38	48	36	Meticcio
CASO 58	38	48	25	Meticcio
CASO 59	39	156	137	Meticcio
CASO 60	40	72	21	Meticcio
CASO 61	41	96	93	Meticcio
CASO 62	42	96	60	Meticcio
CASO 63	48	84	75	Meticcio
CASO 64	55	108	71	Meticcio

TABELLA 5 : SEGNALAMENTO DEI SOGGETTI NORMALI SOTTOPOSTI AD ESAME ECOCONTRASTOGRAFICO

## ESAME ECOGRAFICO-ECOCONTRASTOGRAFICO

In seguito ad applicazione nella vena cefalica di un catetere venoso da 20 G, i cani sono stati posizionati in decubito laterale destro. Si è, quindi, eseguito l'esame ecografico dell'addome caudale, utilizzando una sonda lineare con frequenza dai 5 ai 7,5 MHz e con la capacità di codificare la frequenza armonica (MyLab 30, Esaote-CnTI System; Esaote, Genova, Italy). Per ogni caso, sono stati misurati e registrati i diametri prostatici sia in scansione longitudinale (figura 17) che trasversale (figura 18) ed è stato eseguito l'esame color-doppler. Quest'ultimo esame risulta essere di primaria importanza per poter valutare l'arborizzazione vascolare intra ed extra prostatica (Kelly IMG.1993).

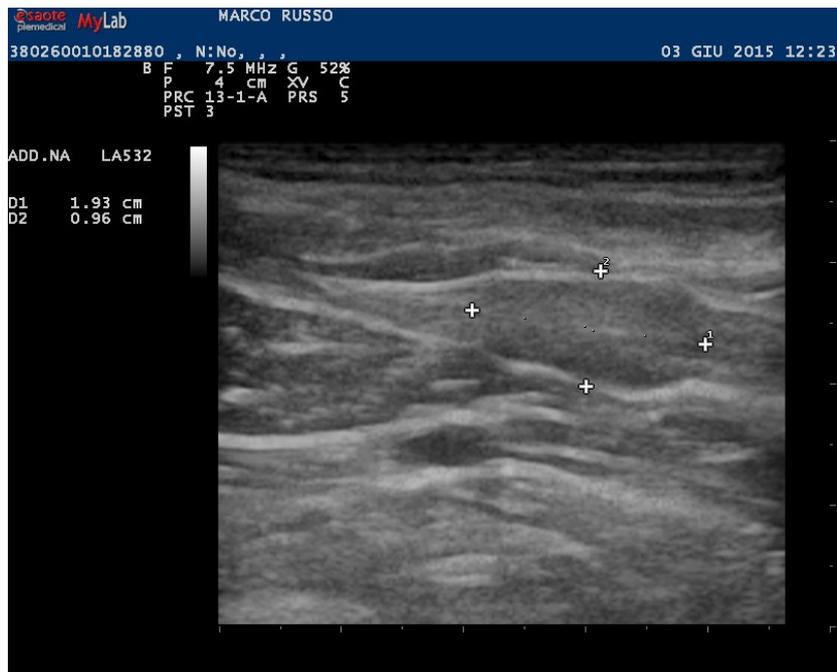


FIGURA 17: SCANSIONE LONGITUDINALE DI UN PAZIENTE DI 48 MESI ED ORCHIECTOMIZZATO A 19 MESI. SI EVIDENZIA CAPSULA REGOLARE E PARENCHIMA IPOECOGENO AD ECOSTRUTTURA FINE E GRANULARE

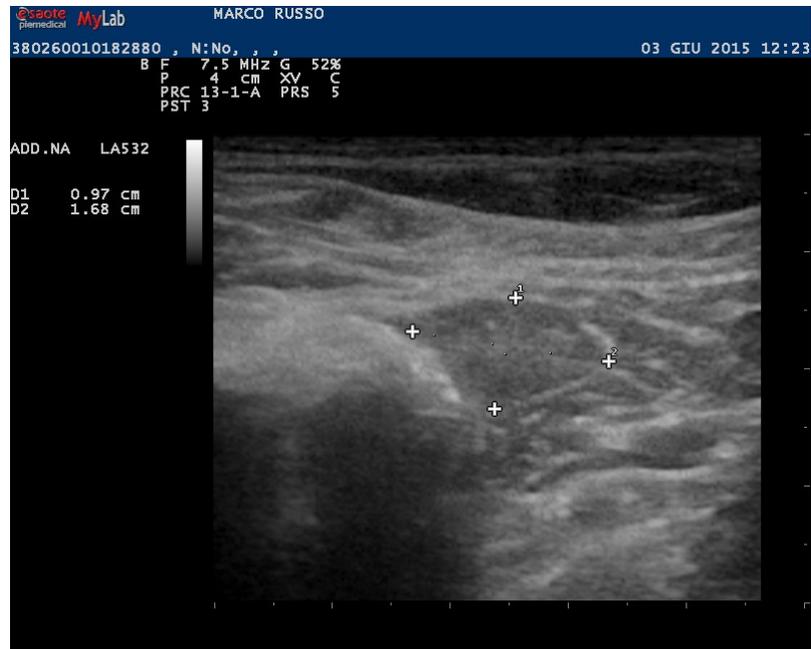


FIGURA 18: SCANSIONE TRASVERSALE DELLO STESSO PAZIENTE DELLA FIGURA 17. SI APPREZZA LA CARATTERISTICA FORMA OVOIDALE PARENCHIMA IPOECOGENO ED ECOSTRUTTURA FINE E GRANULARE.

Per l'esame contrastografico si è utilizzato il Sonovue ( Bracco Imaging S.p.A, Milano, Italy) che è un mezzo di contrasto di seconda generazione e un software dedicato (Contrast Tuned Imaging- CnTI™-Contrast Tuned Imaging Technology; Esaote). Per ridurre il più possibile l'impatto acustico del fascio ultrasonoro sulle microbolle ed incrementare la persistenza del mezzo di contrasto nel torrente ematico, si è deciso di utilizzare un basso indice meccanico (range 0,05-0,1), che corrisponde ad una pressione acustica inferiore a 45 kPa. Si è, quindi, identificata una singola zona focale nella porzione più profonda del parenchima ed i guadagni

sono stati settati in modo da annullare i segnali provenienti dal tessuto prostatico e lasciando come unico segnale di riferimento quello proveniente dalla capsula. A questo punto, si è iniettata la soluzione a 5mg/ml di mezzo di contrasto nella vena cefalica al dosaggio di 0,03 ml/Kg, seguita da un rapido bolo di 5 ml di soluzione fisiologica. Al momento dell'iniezione T0, viene attivato il timer e viene fatta partire la registrazione dell'intero esame (durata 60 sec), seguendo anche in real time il flusso di mezzo di contrasto all'interno dell'organo (figura 19-20 ).

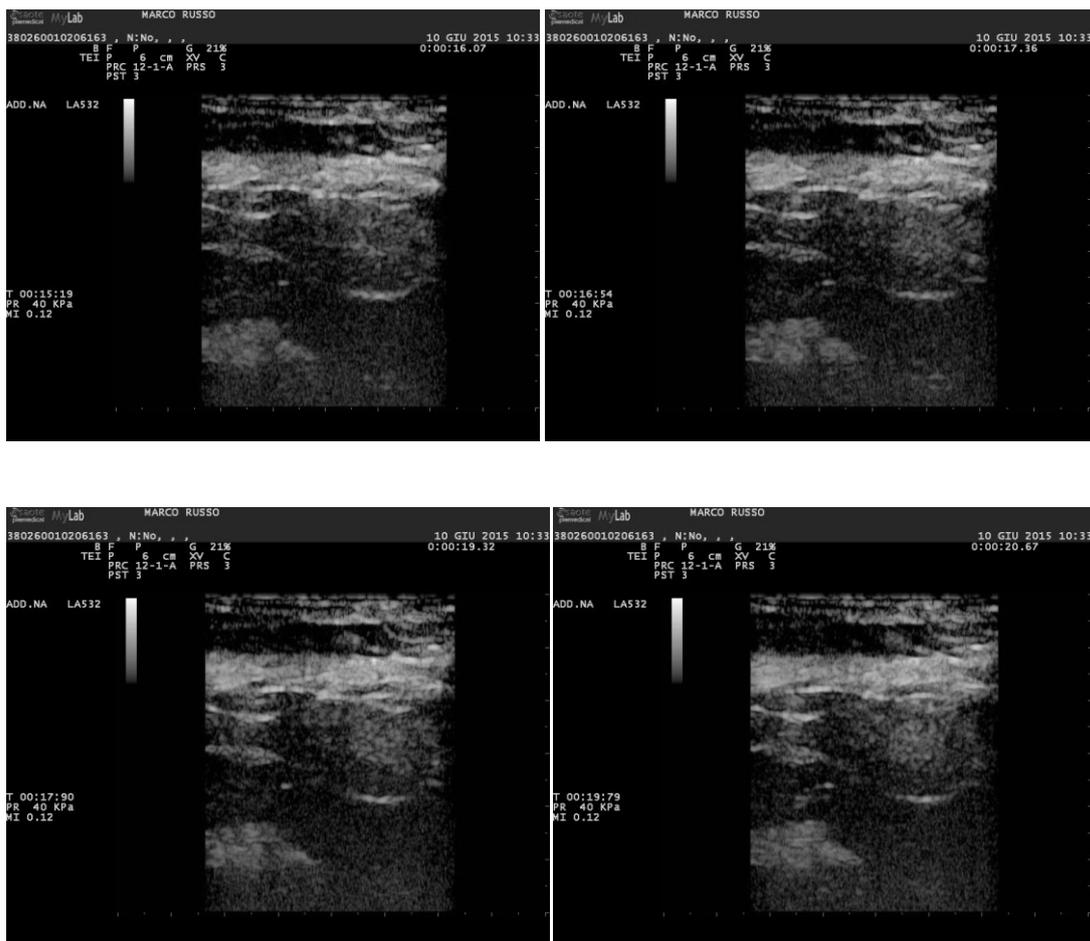


FIGURA 19: FRAME SUCCESSIVI DELLA FASE DI WASH IN NEL FILMATO REGISTRATO PER LA PROSTATA IN SCANSIONE LONGITUDINALE DEL CASO 37. SI OSSERVA UN AUMENTO OMOGENEO DELL'ENHANCEMENT DEL PARENCHIMA

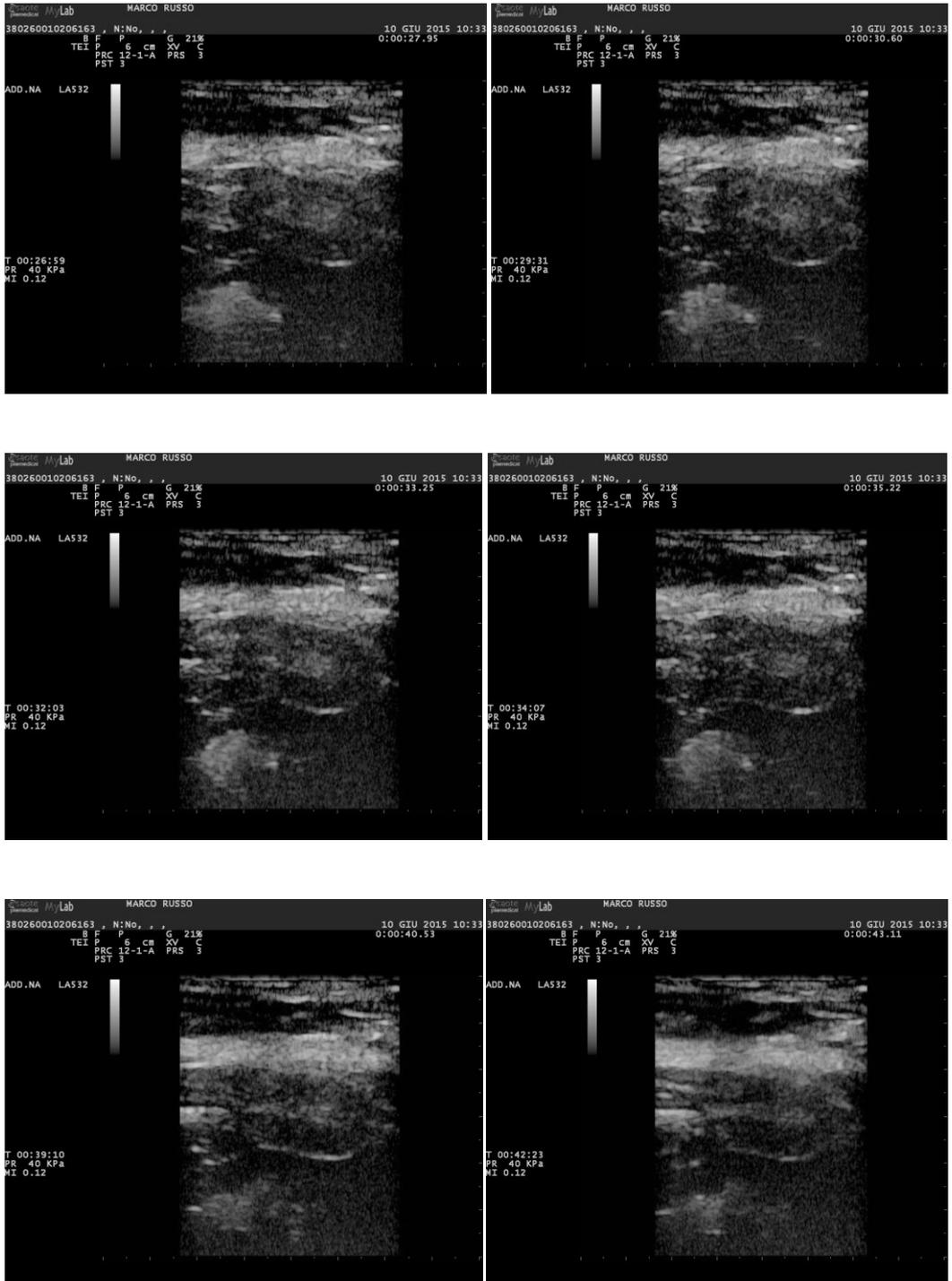
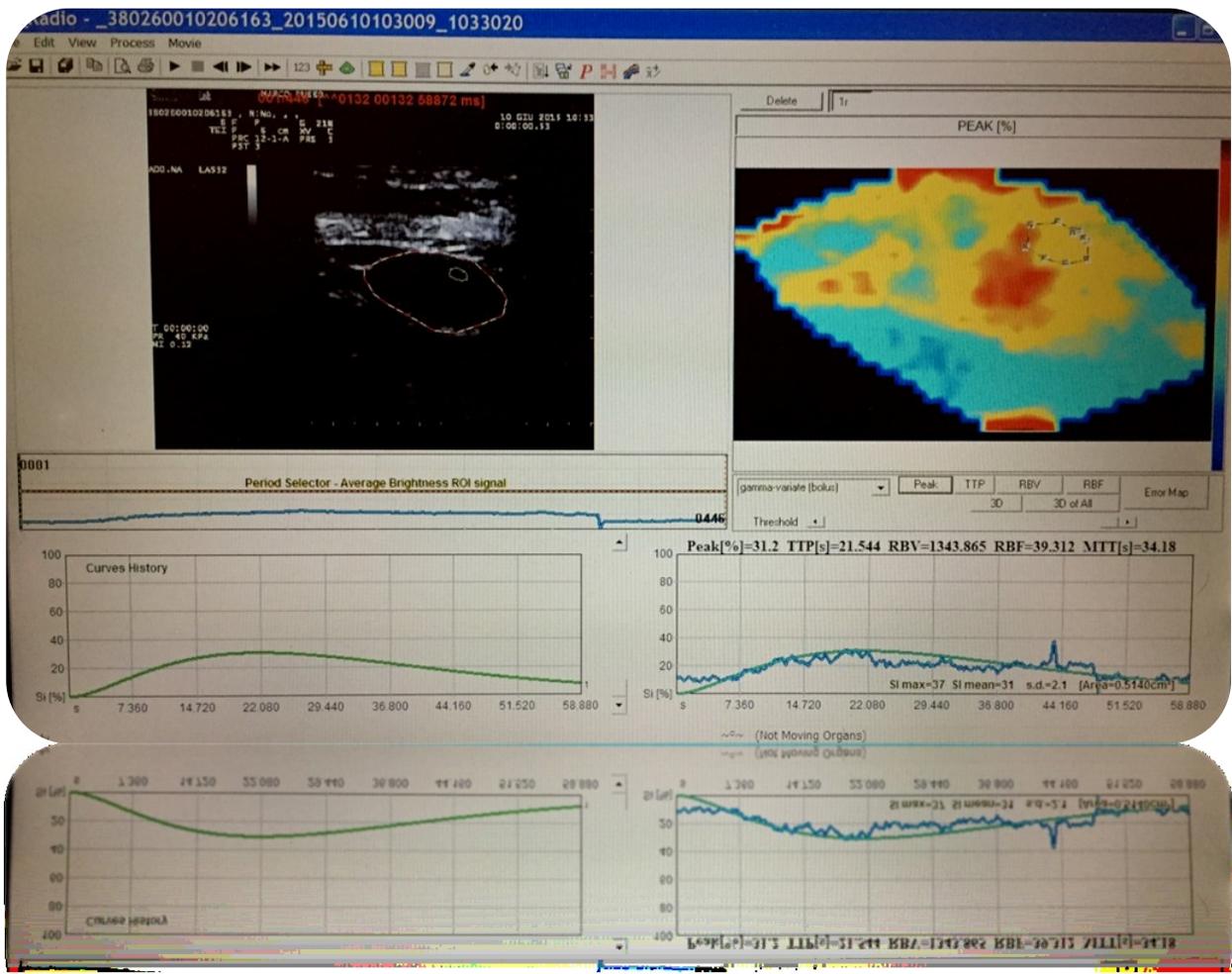


FIGURA 20: FRAME SUCCESSIVI DELLA FASE DI WASH OUT NEL FILMATO REGISTRATO PER LA PROSTATA IN SCANSIONE LONGITUDINALE DEL CASO 37. SI OSSERVA UNA OMOGENEA DIMINUZIONE DI BRILLANZA

Una volta terminata la valutazione in campo e salvate le clip, tutti gli studi effettuati sono stati revisionati ed è stata soggettivamente valutata la diffusione del mezzo di contrasto e grazie all'utilizzo di un software per la contrastografia (QONTRAST, Milano, Italia) è stato possibile elaborare le mappe di perfusione e le curve di tempo- intensità. Per ottenere tali dati è stata selezionata manualmente una ROI (area di interesse) (figura 21) e valutati tutti i frame dei 60 secondi di ogni video . Una volta ottenute le curve (figura 22) sono stati calcolati il PPI (l'intensità del picco di perfusione) espresso in percentuale, il TTP (il tempo di picco da T0) espresso in secondi, MTT (il tempo di transito medio) espresso in secondi, RBV (il volume ematico regionale) ed il RBF (il flusso ematico regionale). Successivamente nelle elaborazioni statistiche è stato calcolato per ciascun parametro perfusionale media, mediana e deviazione standard. E' stata poi eseguita un'analisi della varianza per misure ripetute per verificare se vi fossero differenze nei valori medi in % di PPI e nei valori medi di TTP (s) in tre diversi momenti della diffusione del mezzo di contrasto (15s,30s,45s). In fine sono stati eseguiti test post-hoc, eseguiti con correzioni di Bonferroni, per evidenziare eventuali differenze significative tra i valori medi di PPI e di TTP a 15s, 30s e 45s.



FIGURA 21: ROI (AREA DI INTERESSE) PROSTATICA SELEZIONATA NEL SOGGETTO N°37 PER LIMITARE L'AREA DI STUDIO PERFUSIONALE



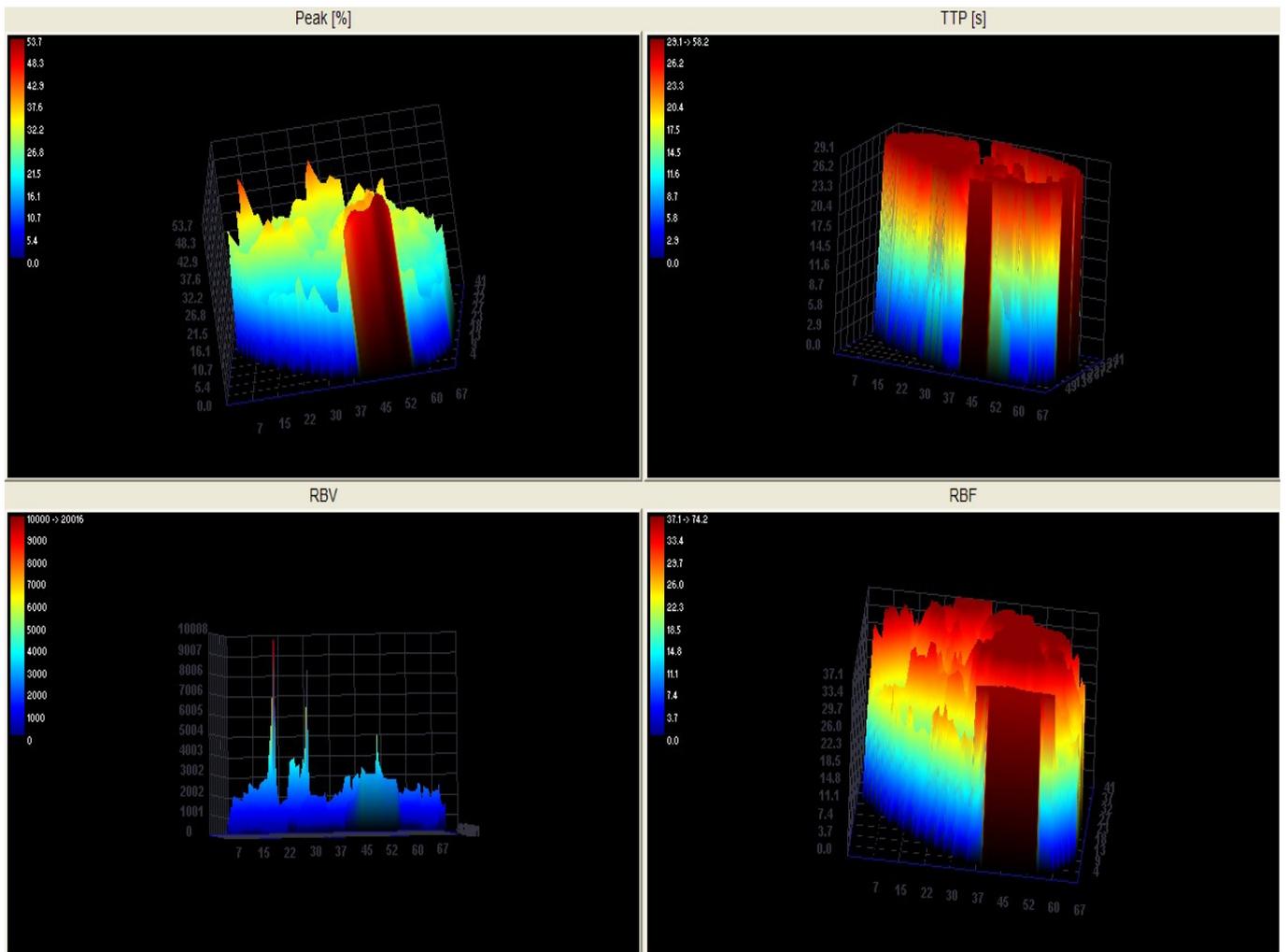


FIGURA 22: SCHERMATA DI LAVORO E SUCCESSIVA RICOSTRUZIONE 3-D DELLE MAPPE OTTENUTE NELLO STUDIO DEL SOGGETTO N°37

## 2. RISULTATI

Tutti gli esami sono stati eseguiti senza problemi di reazioni avverse gastroenteriche o anafilattiche. Tutti i pazienti analizzati non hanno avuto problemi nel mantenere la posizione di decubito laterale destro e lo studio completo (ecografia b-mode, doppler e contrastografica) non ha superato i 15 minuti per soggetto. In tutti i 64 cani studiati, l'esame ecografico in B-Mode metteva in evidenza un parenchima omogeneo, diffusamente ipoecoico ed altezza compresa tra 0,9 ed i 1,8 cm ed un volume prostatico medio di 8 cm<sup>3</sup>. Nella tabella seguente sono stati riportati tutti i pazienti oggetto dello studio e le caratteristiche prostatiche valutate con ecografia b- mode.

PAZIENTE	FORMA PROSTATA	VOLUME PROSTATA	MARGINI	VARIAZIONI FOCALI	LINF. ILIACI	ECOGENICIT A'	ECOSTRUT.
	ovalare/irregolare	Cm <sup>3</sup>	netti/frastagliati		regolari/au mentati	iper/iso/ipo	omog./disomog .
CASO 1	ovalare	7,30	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 2	ovalare	8,67	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 3	ovalare	7,53	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 4	ovalare	7,62	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 5	ovalare	7,48	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 6	ovalare	7,37	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 7	ovalare	7,46	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 8	ovalare	6,97	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 9	ovalare	6,65	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 10	ovalare	7,53	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 11	ovalare	7,82	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea

CASO 12	ovalare	11,33	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 13	ovalare	10,09	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 14	ovalare	10,8	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 15	ovalare	8,30	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 16	ovalare	8,87	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 17	ovalare	9,25	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 18	ovalare	7,89	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 19	ovalare	7,75	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 20	ovalare	10,06	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 21	ovalare	7,49	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 22	ovalare	7,64	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 23	ovalare	8,17	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 24	ovalare	8,29	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 25	ovalare	7,40	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 26	ovalare	8,95	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 27	ovalare	7,42	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 28	ovalare	8,36	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 29	ovalare	7,74	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 30	ovalare	8,76	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 31	ovalare	10,02	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 32	ovalare	7,15	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 33	ovalare	8,19	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 34	ovalare	10,61	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 35	ovalare	8,12	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 36	ovalare	8,24	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 37	ovalare	12,03	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 38	ovalare	7,91	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 39	ovalare	7,65	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 40	ovalare	9,24	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 41	ovalare	8,20	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 42	ovalare	10,07	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 43	ovalare	10,63	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea

CASO 44	ovalare	9,68	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 45	ovalare	7,94	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 46	ovalare	8,69	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 47	ovalare	8,27	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 48	ovalare	9,03	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 49	ovalare	9,24	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 50	ovalare	8,13	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 51	ovalare	9,20	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 52	ovalare	7,15	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 53	ovalare	9,10	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 54	ovalare	8,24	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 55	ovalare	7.80	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 56	ovalare	8,72	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 57	ovalare	10,22	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 58	ovalare	7,35	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 59	ovalare	17,25	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 60	ovalare	7,87	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 61	ovalare	17,07	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 62	ovalare	9,40	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 63	ovalare	16,91	netti	nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea
CASO 64	ovalare	10,53	netti	Nessuna	regolari	ipoecogena	omogenea

TABELLA 6: DATI RACCOLTI DURANTE ESAME ECOGRAFICO PRELIMINARE IN B- MODE DEI 64 CANI STUDIATI

L'uretra era sempre visibile come una linea anecoica o ipoecoica nella scansione longitudinale o una struttura rotondeggiante nella scansione trasversale, circondata da una parete iperecogena (figura 23). In tutti i cani studiati, nonostante venisse utilizzato un PRF (frequenza di ripetizione del segnale doppler) molto basso e quindi

capace di percepire flussi vascolari lenti ,non è stato possibile visualizzare le branche dell'arteria prostatica e le sue diramazioni . Esse, infatti, si addentrano al di sotto della capsula e si diramano in tanti vasi più piccoli che si distribuiscono nel parenchima



Figura 23: A) Scansione longitudinale della prostata del caso 56, ove si nota il parenchima omogeneo e diffusamente ipoecogeno, con al centro una linea ipoecoica a decorso obliquo corrispondente all'uretra. B) Scansione Trasversale della prostata del caso 42, ove, invece, l'uretra e' la struttura circolare ipoecogena al centro.

Dopo aver eseguito l'esame ecografico basale si è passato all'esame eco contrastografico. Anche tale esame è stato eseguito senza particolari difficoltà tecniche o reazioni avverse. Sono stati infatti monitorati i soggetti, per eventuali effetti collaterali, nelle 2 ore successive all'inoculo del mezzo di contrasto di seconda generazione (Sonovue, Bracco, Milano, Italia). Le uniche difficoltà incontrate sono state associate allo studio di soggetti particolarmente obesi, con un BCS (body condition score) di 4, in cui la prostata era collocata in posizione intrapelvica, rispetto alla fisiologica posizione retro-peritoneale, creando lievi problemi dovuti alla necessità per l'ecografista di esercitare una maggiore pressione con la sonda sulla parete pelvica e mantenere tale posizione immobile per un minuto, cioè il tempo dell'intera valutazione eco contrastografica.

Dopo aver inoculato il mezzo di contrasto abbiamo azionato il timer dell'ecografo e si evidenziava diffusione del contrasto dopo 15 secondi dall'inoculo nella fase di wash in contrasto grafico ed in tale fase si apprezzava un aumento omogeneo del enhancement parenchiamale per poi avere una riduzione omogenea della brillantezza a 45 secondi nella fase definita di wash out. In tutti gli studi l'uretra era visibile

costantemente come una linea (scansione longitudinale) o un cerchietto (scansione trasversale) iperecogeni .

Dopo aver eseguito gli studi sul campo, tutti i dati raccolti sono stati inseriti nel software di elaborazione (Q-contrast,Milano,Italia), così come descritto precedentemente nei materiali e metodi per valutare le mappe di perfusione e le curve intensità tempo .

Per i 64 cani, il PPI era in media 45.3% ( $\pm 8.3$  SD) con una mediana del 43.3 % , il TTP era in media 34 ( $\pm 7.9$  s) con una mediana di 31.77 s , l'RBV era in media 3192.62 con una mediana di 2845.80 , l'RBF era in media 56.19 con una mediana di 54.35 ed in fine l'MTT era in media 55.83 s con una mediana di 51.45 s

PAZIENTE	Perfusione				
	PPI (%)	TTP (s)	RBV	RBF	MTT (s)
CASO 1	55.0	29.300	3709.657	72.521	51.15
CASO 2	43.3	48.110	2919.920	46.780	62.42
CASO 3	58.8	40.176	4751.164	74.669	63.63
CASO 4	61.2	32.051	4207.212	84.271	49.92
CASO 5	57.2	28.361	3907.652	79.125	49.39
CASO 6	56.8	38.289	4903.769	74.621	65.72
CASO 7	57.0	35,310	3745.104	69.467	53.91
CASO 8	45,9	25,086	2494.905	58.493	42.65
CASO 9	53,5	25,270	2172.764	39.893	54.47
CASO 10	52.0	25.231	3876.876	71.773	54.02
CASO 11	35.2	33.006	5169.884	43.261	119.51

CASO 12	58,5	46.699	9398.532	81.175	115.78
CASO 13	48.0	27.780	1689.055	49.398	34.19
CASO 14	39.9	30.802	3327.313	54.163	61.43
CASO 15	55.8	33.399	1750.566	46.087	37.98
CASO 16	45.3	32.936	2457.766	53.531	45.91
CASO 17	52.3	26.063	4537.130	72.224	62.82
CASO 18	41.3	23.651	1773.288	53.010	33.45
CASO 19	43.4	30.763	3245.529	57.855	56.10
CASO 20	36.6	30.843	2271.878	46.424	48.94
CASO 21	46.3	41.093	3075.726	53.881	57.08
CASO 22	45.0	36.992	3493.780	57.899	60.34
CASO 23	39.9	43.029	3369.000	50.186	67.13
CASO 24	63.5	27.349	4416.749	85.334	51.76
CASO 25	45,5	29.869	2062.333	58.296	35.38
CASO 26	42.9	30.056	2378.234	52.792	45.05
CASO 27	46.2	31.643	2829.092	63.058	44.87
CASO 28	42.4	40.381	3467.593	54.546	63.57
CASO 29	37.3	32.196	1952.324	47.828	40.82
CASO 30	48.2	25.063	3728.260	66.336	56.20
CASO 31	35.0	46.421	3893.828	48.034	81.06
CASO 32	52.2	29.831	2693.268	71.274	37.79
CASO 33	34.4	35.019	1307.133	31.578	41.39
CASO 34	56.1	46,304	2805.480	76.280	67.87
CASO 35	26.9	29.501	1953.448	35.941	54.35
CASO 36	45,5	31.869	2062.333	58.296	35.38
CASO 37	32.1	24.877	1192.800	35.882	33.24
CASO 38	42.9	33.738	2521.257	51.590	48.87
CASO 39	52.9	24.569	2754.603	70.119	39.28
CASO 40	45.9	38.343	1653.368	37.914	43.61
CASO 41	41.2	53.666	3607.391	48.142	74.93
CASO 42	45.3	27.410	1972.533	60.800	32.44
CASO 43	38,3	31.674	1485.378	38.128	38.96

CASO 44	47.0	34.278	3132.098	59.939	53.14
CASO 45	56.8	46.856	9477.404	78.542	120.67
CASO 46	39.4	27.523	1567.832	43.178	36.31
CASO 47	42.8	28.991	1629.118	43.817	37.18
CASO 48	31,4	26.926	1567.308	38.825	40.37
CASO 49	52.5	41,866	4937.785	68.950	71.61
CASO 50	43.4	27.178	2579.842	59.947	43.04
CASO 51	46.2	53.868	7428.848	63.408	117.17
CASO 52	32.1	30.877	1292.800	38.882	33.24
CASO 53	42.6	34.626	3481.448	56.428	61.70
CASO 54	47.0	31.686	1995.473	49.485	40.32
CASO 55	46.9	27.640	2312.039	56.943	40.60
CASO 56	37.6	25.498	1324.094	40.257	32.89
CASO 57	44,1	25.934	2079.619	53.873	38.60
CASO 58	51,3	32.311	3742.325	67.102	55.77
CASO 59	43.0	45.979	3468.180	51.838	66.90
CASO 60	37.9	25.476	3162.136	52.029	60.78
CASO 61	38,9	41.444	2862.525	47.126	60.74
CASO 62	46.7	49.577	7231.679	64.327	112.42
CASO 63	26,2	38.910	1037.717	23.040	45.04
CASO 64	41.6	49.281	5031.746	55.632	90.45

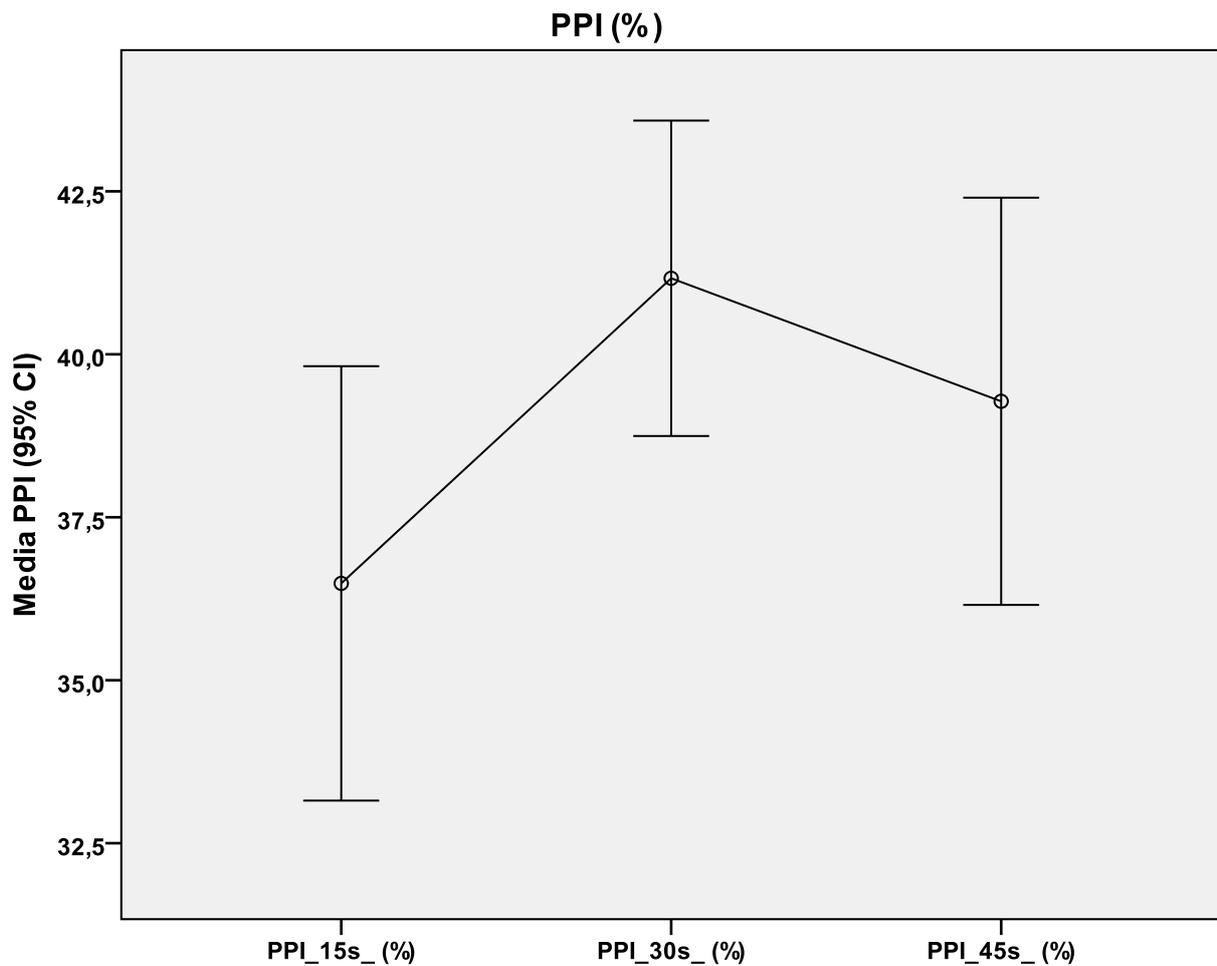
TABELLA 7: VALORI DI INTENSITÀ DI PICCO DI PERFUSIONE (PPI) , DI TEMPO AL PICCO (TTP), IL TEMPO DI TRANSITO MEDIO (MTT), IL VOLUME EMATICO REGIONALE (RBV) ED IL FLUSSO EMATICO REGIONALE (RBF) REGISTRATI PER LE PROSTATE DEI 64 SOGGETTI STUDIATI

È stata eseguita un'analisi della varianza per misure ripetute per verificare se vi fossero differenze nei valori medi in % di PPI e nei valori medi di TTP (s) in tre diversi momenti della diffusione del mezzo di contrasto (15s, 30s, 45s).

**PPI.** Il test si è rivelato significativo (Tabella 8) :  $p < 0.01$ .

I successivi test post-hoc, eseguiti con correzione di Bonferroni, mostrano come vi sono differenze significative tra i valori medi di PPI a 15s e 30s (Tabella 9), mentre non ci sono differenze statisticamente significative tra i valori medi di PPI a 15s e 45s e tra 30s e 45s.

Tabella 8. Statistiche descrittive			
PPI	Media	Deviazione standard	N
PPI_15s_ (%)	36,4855	13,12037	64
PPI_30s_ (%)	41,1661	9,52708	64
PPI_45s_ (%)	39,2790	12,30036	64



**Tabella 9. Test degli effetti entro soggetti**

Misura:MEASURE\_1

Sorgente		Somma dei quadrati Tipo III	df	Media dei quadrati	F	Sig.	Eta quadrato parziale
PPI	Assumendo la sfericità	687,652	2	343,826	6,003	,003	,090
	Greenhouse-Geisser	687,652	1,788	384,697	6,003	,005	,090
	Huynh-Feldt	687,652	1,838	374,153	6,003	,004	,090
	Limite inferiore	687,652	1,000	687,652	6,003	,017	,090
Errore(PPI)	Assumendo la sfericità	6987,348	122	57,273			
	Greenhouse-Geisser	6987,348	109,038	64,082			
	Huynh-Feldt	6987,348	112,111	62,325			
	Limite inferiore	6987,348	61,000	114,547			

**Tabella 10. Confronti a coppie**

Misura:MEASURE\_1

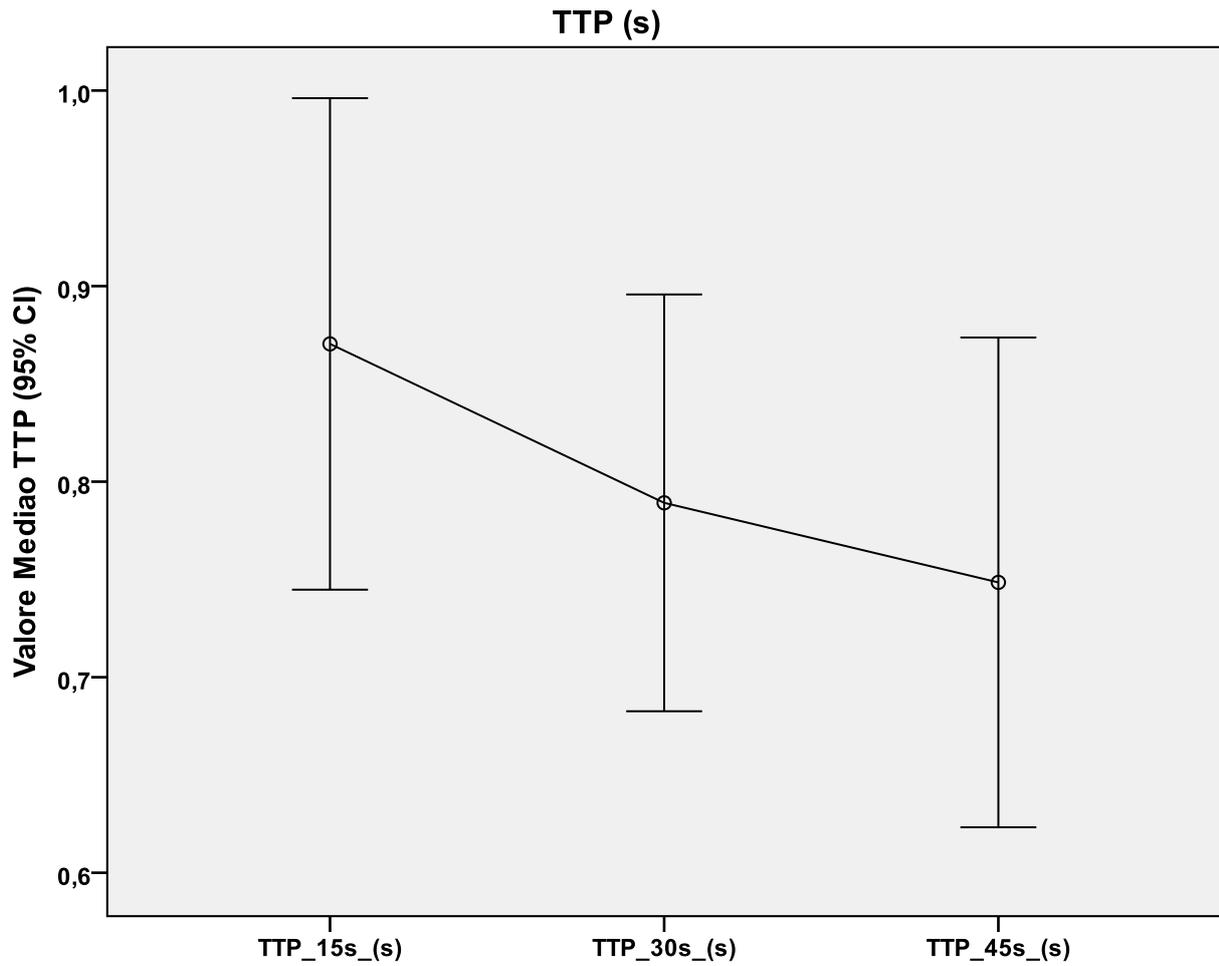
(I) PPI	(J) PPI	Differenza media (I-J)	Deviazione standard Errore	Sig.a	Intervallo di confidenza per la differenza al 95%a	
					Limite inferiore	Limite superiore
1	2	-4,681	1,140	,000	-7,486	-1,875
	3	-2,794	1,550	,229	-6,609	1,022
2	1	4,681	1,140	,000	1,875	7,486
	3	1,887	1,357	,508	-1,454	5,228
3	1	2,794	1,550	,229	-1,022	6,609
	2	-1,887	1,357	,508	-5,228	1,454

**TTP.** Il test NON si è rivelato significativo (Tabella 11) :  $p=0.299$ .

Anche i successivi test post-hoc mostrano che non vi sono differenze statisticamente significative nei valori medi di TTP tra i tre momenti (Tabella 12.)

Tabella 11. Statistiche descrittive

	Media	Deviazione standard Variabile	N
TTP_15s_(s)	,8704	,49489	64
TTP_30s_(s)	,7892	,41964	64
TTP_45s_(s)	,7485	,49311	64



**Tabella 12. Test degli effetti entro soggetti**

Misura:MEASURE\_1

Sorgente		Somma dei quadrati Tipo III	df	Media dei quadrati	F	Sig.	Eta quadrato parziale
TTP	Assumendo la sfericità	,478	2	,239	1,218	,299	,020
	Greenhouse-Geisser	,478	1,947	,246	1,218	,299	,020
	Huynh-Feldt	,478	2,000	,239	1,218	,299	,020
	Limite inferiore	,478	1,000	,478	1,218	,274	,020
Errore(TTP)	Assumendo la sfericità	23,943	122	,196			
	Greenhouse-Geisser	23,943	118,766	,202			
	Huynh-Feldt	23,943	122,000	,196			
	Limite inferiore	23,943	61,000	,393			

**Tabella 13. Confronti a coppie**

Misura:MEASURE\_1

(I) TTP	(J) TTP	Differenza media (I-J)	Deviazione standard Errore	Sig.a	Intervallo di confidenza per la differenza al 95%a	
					Limite inferiore	Limite superiore
1	2	,081	,077	,879	-,107	,270
	3	,122	,076	,339	-,065	,309
2	1	-,081	,077	,879	-,270	,107
	3	,041	,086	1,000	-,171	,252
3	1	-,122	,076	,339	-,309	,065
	2	-,041	,086	1,000	-,252	,171

Tutti i valori ottenuti elaborati come media, mediana e deviazione standard sono stati confrontati con i valori raccolti durante gli studi precedenti (Russo et al,2009,Russo et al 2011).In tali studi vengono infatti forniti I parametri di intensità di picco di perfusione (PPI) e di tempo al picco (TTP) riguardanti prostate fisiologiche ,con spiccata angiogenesi (adenocarcinomi) e con ridotta angiogenesi (leiomiocarcomi).

### **3. DISCUSSIONI**

A tutt'oggi, risulta essere molto comune nella pratica clinica l'impiego dell'esame ecografico per studiare e diagnosticare le patologie prostatiche nel cane. Infatti, l'esame eseguito in B-mode permette di misurare e registrare le dimensioni prostatiche, valutare alterazioni dell'ecostruttura ed individuare il coinvolgimento delle strutture adiacenti. Nel nostro studio in ecografia B-mode, oltre ad essere stati valutati, per ogni caso, caratteristiche relative alla prostata come forma, ecogenicità, eco struttura, variazioni focali, margini e ai relativi linfonodi zonali (iliaci); sono stati misurati e registrati i diametri prostatici sia in scansione longitudinale che trasversale. Utilizzando le formule dello studio di Atalan G. del 1999 ci è stato possibile, non solo calcolare il volume prostatico, ma anche confermare che, nei soggetti orchiettomizzati, la prostata ha un volume medio indipendente dalla taglia e dall'età del soggetto studiato. Nel nostro studio ci sono stati solo due soggetti con un volume prostatico particolarmente alto rispetto agli altri pazienti studiati. Nel caso 61 il tempo tra la castrazione e la nostra valutazione è stato inferiore ai 6 mesi e quindi probabilmente non c'era stata ancora una completa riduzione ipotrofica/funzionale della ghiandola (Mckenzee,2010) e nel caso 59, essendo cani non padronali con anamnesi muta, non ci era possibile conoscere il volume prostatico al momento della castrazione, ma dato che era stato orchiettomizzato in età senile, possiamo ipotizzare che avesse potuto avere alterazioni prostatiche

pregresse alla chirurgia compatibili con l'età (Lowseth LA,1990; Johnston SD, 2001) .

Ciò nonostante, possiamo rilevare in accordo con la letteratura l'impossibilità dell'ecografia B-mode di rilevare pattern patognomoniche delle diverse patologie prostatiche e l'estrema difficoltà di distinguere tra lesioni benigne e maligne (Matoon & Nyland, 2002). Ed è proprio riconoscendo tali limiti dello studio ecografico che si è pensato di approfondire l'esame, utilizzando il MDC ecografico.

Tale tecnica è già ampiamente utilizzata e standardizzata in medicina umana, dove uno studio condotto da Unal et al. ha permesso di identificare il 68-79% di tumori aventi dimensioni maggiori ai 5 mm, utilizzando il CEUS associato allo studio in power Doppler tridimensionale trans rettale (3DPD) (Unal, Sedelaar, Van Leenders, Wijkstra, Debruyne, & J.J., 2000). Nonostante il carcinoma prostatico nel cane, come abbiamo visto in precedenza, differisca da quello umano per l'origine data delle cellule epiteliali androgeno- indipendenti (Sorenmo KU. Et al,2003; Fan TM,2007) lo scopo del presente progetto di ricerca è stato quello di applicare il sonovue allo studio della ghiandola prostatica, valutare la perfusione prostatica, standardizzare i dati ottenuti elaborandoli con un software commerciale (QOCONTRAT,Bracco,Italia) ottenendo le mappe di perfusione e le curve intensità tempo. Tali dati sono stati raccolti e valutati per avere una prova dell' utilità di tale tecnica diagnostica come primo indicatore di alterazioni patologiche/neoplastiche soprattutto nei cani orchiettomizzati ,che come riportato in letteratura, hanno maggiori possibilità di

sviluppare adenocarcinomi prostatici rispetto ai soggetti sani (Bryan JN.2007; McKenzie, 2010)

Dai primi dati raccolti in questo lavoro sperimentale e confrontandoli con gli studi precedenti (Russo, Vignoli, Catone, Rossi, Attanasi, & England, 2009; Vignoli, Russo, Catone, Rossi, Attanasi, & al., 2010) è possibile asserire che ci siano differenze significative di perfusione prostatica, nei soggetti orchiettomizzati clinicamente sani rispetto agli interi e ai patologici, per quanto concerne il PPI (intensità del picco di perfusione), ma non per quanto riguarda il TTP (tempo di picco da T0). Nello studio di Vignoli e Russo 2010, le prostate dei soggetti interi clinicamente sani avevano un PPI in media del 16.8 % con un TTP di media di 33.6 s. Rispetto ai valori perfusionali ottenuti nelle prostate fisiologiche i soggetti interi con adenocarcinoma prostatico e quindi con una spiccata angiogenesi tumorale avevano un aumento della perfusione con un PPI in media di 23.7% e un TTP di 26.9 s, mentre i soggetti con leiomiomasarcoma, neoplasia caratterizzata da bassa proliferazione vascolare patologica, avevano una riduzione della perfusione con un PPI in media di 14.1 e un TTP di 41.3. Nel nostro studio un valore del PPI di media di 45.3 % e un TTP di media di 34 s è probabilmente dovuto al fatto che, dopo circa 6 mesi dall'orchietomia, la prostata risulta avere una dimensione parenchimale ridotta, mediamente di 2 cm di diametro in asse longitudinale, ma conserva la stessa arborizzazione vascolare intraparenchimale. Tale variazione parenchimale comporta una riduzione della

diffusione del mezzo di contrasto e quindi un aumento di concentrazione della brillantezza che si traduce in aumento dell'intensità del picco di perfusione (PPI). Poichè nessuno dei 64 casi presi ad esame ha mostrato caratteristiche perfusionali sovrapponibili a quelle riportate, negli studi precedenti, per gli adenocarcinomi prostatici, sorge spontaneo chiedersi se la carenza di tali risultati sia stata dovuta ad una ridotta casistica oppure ad una impossibilità di valutare correttamente, data la riduzione ipotrofica/funzionale della ghiandola dopo orchietomia, le caratteristiche perfusionali così come viene fatto con i cani interi. A conferma di quest'ultima ipotesi nel nostro studio si è visto che nonostante venisse utilizzato un PRF (frequenza di ripetizione del segnale doppler) molto basso e quindi capace di percepire flussi vascolari lenti, non è stato possibile visualizzare le branche dell'arteria prostatica e le sue diramazioni. Esse, infatti, si addentrano al di sotto della capsula e si diramano in tanti vasi più piccoli che si distribuiscono nel parenchima. Viene da se che per avere conferma dell'assenza di adenocarcinomi prostatici nei soggetti studiati si sarebbe dovuto procedere ad esame bioptico eco guidato, ma dato che nessuno dei soggetti presentava alterazioni cliniche rilevanti da poter giustificare tale intervento diagnostico, abbiamo escluso tale possibilità rispettando le norme del benessere animale.

In conclusione i dati di tale lavoro sperimentale confermano i risultati degli studi precedenti sulla maggiore utilità dello studio ecografico con MDC rispetto alla

tecnica B- mode nel delineare le caratteristiche prostatiche attraverso la valutazione della cinetica di perfusione vascolare (Russo 2009; Vignoli e Russo, 2010).

L'ultrasonografia contrastografica ha mostrato caratteristiche che possono essere promettenti per il suo uso come strumento diagnostico per i cani con disturbi prostatici, in particolare per differenziare le patologie prostatiche benigne dalle maligne. Necessitano ulteriori indagini con ecografia con MDC su un maggior numero di casi per valutare se il CEUS possa essere abbastanza accurato per essere usato da solo o necessariamente in combinazione con altre tecniche diagnostiche per la valutazione delle patologie prostatiche.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Aggarwal, S., Ricklis, R., William, S., & al., e. (2006). Comparative study of PMSA expression in the prostate mouse, dog, monkey and human. *The prostate* , 66, 903-910.
- Al-Omari, R., Shidaifat, F., & Dardaka, M. (2005). Castration induced changes in dog prostate gland associated with diminished activin and activin receptor expression. *Life Sciences* , 77, 2752-2759.
- Atalan, G., Holt, P., & Barr, F. (1999). Ultrasonographic estimation of prostate size in normal dogs and relationship to bodyweight and age. *J Small Anim Practice* , 40 (3), p. 119-122.
- Atalan, G., Holt, P., Barr, F., & Brown, P. (1999). Ultrasonographic estimation of prostatic size in canine cadavers. *Research in Veterinary Science* , 67, 7-15.
- Bacci, B., Vignoli, M., Rossi, F., Gallorini, F., Terragni, R., Laddaga, E., et al. (2010). Primary prostatic leiomyosarcoma with pulmonary metastases in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* , 46, p. 103-106.
- Bartlett, D. (1962). Studies on dog semen: II biochemical characteristics. *J Reprod Fertil* , 3, 190-205.

- Barone, R. (1994). B-Arteria iliaca interna. In B. R., *Anatomia comparata dei mammiferi domestici* (Vol. 5° Angiologia, p. 352-355). Edagricole.
- Barone, R. (1994). Ghiandole annesse all'uretra: prostata. In R. Barone, *Anatomia comparata dei mammiferi domestici* (Vol. 4, p. 156-165). Edagricole.
- Barsanti, J., & D.R., F. (1986). Canine prostatic disease. *Vet Clin North Am* , 16, p. 587-599.
- Bell, F., Klausner, J., Hayden, D., Lund, F., & Johnston, S. (1991). Clinical and pathologic features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs: 31 cases (1970-1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 199, p. 1623-1630.
- Bell, F., Klausner, J., Hayden, D., & al., e. (1995). Evaluation of serum and seminal plasma markers in the diagnosis of canine prostatic disorders. *J Vet Intern Med* , 9, 149-153.
- Benazzi, C. (2002). Sistema genitale maschile. In M. P.S., *Patologia sistemica veterinaria* (p. 989-995). Bologna: Edagricole.
- Berry, S., Strandberg, J., Saunders, W., & al., e. (1986). Development of canine benign prostatic hyperplasia with age. *Prostate* , 9, 363-373.

- Boland, L. E., Hardie, R. J., Gregory, S. P., & Lamb, C. R. (2003). Ultrasound guided percutaneous drainage as the primary treatment for prostatic abscesses and cysts in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* , 39, p. 151-159.
- Bradbury, C. A., Westropp, J. L., & Pollard, R. E. (2009). Relationship between prostatomegaly, prostatic mineralization and cytologic diagnosis. *Vet Radiol & Ultrasound* , 50, p. 167-171.
- Brendler, C., Berry, S., Ewing, L., McCullough, A., Cochran, R., & al., e. (1983). Spontaneous Benign Prostatic Hyperplasia in the Beagle. *J. Clin. Invest.* , 71, 1114-1123.
- Brennen McKenzie\*(2010). Evaluating the benefits and risks of neutering dogs and cats. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 2010 5, No. 045
- Bryan, J., Keeler, M., Henry, C., & al., e. (2007). A population study of neutering status as a risk factor for canine cancer prostate cancer. *The Prostate* , 67, 1174-1181.
- Bruschini, H., Schmidt, R., & Tanagho, E. (1978). Neurologic control of prostatic secretion in the dog. *Invest. Urol.* , 15 (4), 288-290.

- Calladia, F., Campani, R., Bottinelli, O., Bozzini, A., & Sommaruga, M. (1998). Ultrasound contrast agents: Basic principles. *Eur. J. Radiol.* , 27 (S2), p. S157-S160.
- Cartee, R., Rumph, P., Kenter, D., & al., e. (1990). Evaluation of drug-induced prostatic involution in dogs by transaddominal B-mode ultrasonography. *Am J Vet Res* , 51 (11), 1773-1778.
- Chevalier, S., McKercher, G., & Chapdelaide, A. (1991). Serum and prostatic growth-promoting factors for steroid-independent epithelial cells of adult dog prostate. *Prostate* , 19 (3), 207-220.
- Chew, J., & DiBartola, S. (1980). Interpretazione dell'analisi dell'urina. In J. Chew, & S. DiBartola, *L'interpretazione dell'esame urine nel cane e nel gatto* (M. Caldin, Trad., p. 23-44). St. Louis: Ralstom Purina Company.
- Clements, J. (1989). The glandular kallikrein family of enzymes: tissue specific expression and hormonal regulation. *Endocrine Reviews* , 10, 393-419.
- Cornell KK, Bostwick DG, Cooley DM, Hall G, Harvey HJ, Hendrick MJ, et al. Clinical and pathologic aspects of spontaneous canine prostate carcinoma: a retrospective analysis of 76 cases. *Prostate* 2000;45(2):173–83.

- Correas, J., Bridal, L., Lesavre, A., Mejean, A., Claudon, M., & Helenon, O. (2001). Ultrasound contrast agents: properties, principles of action, tolerance and artifacts. *Eur. Radiol.* , 11, p. 1316-1328.
- Costello, M. (2009). The male reproductive system. In R. O'Brien, & F. Barr, *BSAVA Manual of Canine and Feline Abdominal Imaging* (p. 237-243). BSAVA.
- Davidson, A., & Baker, T. (2009). Reproductive Ultrasound of the Dog and Tom. *Topics in Companion Animal Medicine* , 24 (2), p. 64-70.
- De Benedetti, A. (2004). Ipofisi. In G. Aguccini, V. Beghelli, & L. Giulio, *Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia* (p. 668-687). Torino: UTET.
- Debiak, P., & Balicki, I. (2009). Diagnostic imaging of the canine prostate gland subject to its location and size. *Bull Vet Ist Pulway* , 53, p. 313-317.
- Dorfman, M., & Barsanti, J. (1998). Le malattie della prostata nel cane. *Veterinaria* , 12 (4), p. 59-71.
- Dube, J., Lazure, C., & Tremblay, R. (1986). Dog prostete arginina esterasi is related to human prostate-specific antigen. *Clin Invest Med* , 1986, 51-54.
- England, G., & Allen, W. (1990). An investigation into the origin of the first fraction of the canine ejaculate. *Res Vet Sci* , 49, 66-70.

- Evans, H., & Christensen, G. (1995). Miller's Anatomy of the dog. p. 565.
- Fan TM, de Lorimier L. Tumors of the male reproductive system. In: Winthrow SJ, Vail DM, editors. Winthrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 4th edn. WB Saunders Elsevier, St. Louis, MO; 2007. p. 637–48.
- Feeney, D., Johnston, G., & Klausner, J. (1987). Canine prostatic disease--comparison of radiographic appearance with morphologic and microbiologic findings: 30 cases (1981-1985). *J Am Vet Med Assoc* , 190, p. 1018.
- Feeney, D., Johnston, G., Klausner, J., Perman, V., Leininger, J., & Tomlinson, M. (1987). Canine prostatic disease--comparison of ultrasonographic appearance with morphologic and microbiologic findings: 30 cases (1981-1985). *J Am Vet Med Assoc* , 190 (8), 1027-1034.
- Feldman, E., & Nelson, R. (2004). Prostatitis. In N. R. Feldman E.C., *Canine and feline endocrinology and reproduction* (p. 977-985). Philadelphia: Saunders.
- Foster RA.(2012)Common lesions in the male reproductive tract of cats and dog.Vet clin.North Am Small Anim Pract.
- Francey, T. (2010). Prostatic Diseases. In *Textbook of veterinary internal medicine diseases of the dog and the cat* (7th edition ed., Vol. 2, p. 2047-2058). Ettinger S.J. and Feldmann E.C.

- Frenette, G., Dube, J., Marconette, J., & al., e. (1983). Effects of castration and steroid syntethesis on the activity of some hydrolitic enzymes in the dog prostate. *Prostate* , 4, 206-210.
- Gallardo, F., Mogas, T., Barò, T., & al., e. (2007). Expression of androgen, oestrogen alfa and beta, and progesterone receptors in the canine prostate: differences between normal,inflamed, hyperplastic and neoplastic glands. *J Comp Path* , 136, 1-8.
- Gloyna, R., Siiteri, P., & Wilson, J. (1970). Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. II The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic canine prostate effect of the dihydrotestosterone on prostate growth in the dog. *J Clin Invest* , 49, 1746.
- Gobello, C., Castex, G., & Corrada, Y. (2002). Serum and seminal markers in the diagnosis of the genital tract of the dog: a mini-review. *Theriogenology* , 57, 1285-1291.
- Grieco, V., Riccardi, E., Rondena, M., & al., e. (2006). The distribution of oestrogen receptors in normal, hyperplastic and neoplastic canine prostate, as demonstrated immunohistochemically. *J Comp Pathol* , 135, 11.
- Gunzel-Apel, A., Mohrke, C., & Poulsen Nautrup, C. (2001). Colour-Coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate

- gland: physiological and pathological findings. *reprod Dom Anim* , 36 (5), p. 236-240.
- Haers, H., & Saunders, J. (2009). Review of clinical characteristics and application of contrast-enhanced ultrasonography in dogs. *J Am Vet Med Assoc* , 234 (4), p. 460-470.
  - Hayward, N. (2006). Practical guide to imaging abdominal masses. *In Practice* , 28, 84-93.
  - Hecht, S. (2008). Male Reproductive Tract. In D. Penninck, & M. D'Anjou, *Atlas of small animal ultrasonography* (p. 417-429).
  - Holt, P. (2009). Urologia del cane e del gatto: indagini, diagnosi e trattamento. p. 91-105.
  - Hornbuckle, W., MacCoy, D., Allan, G., & al., e. (1978). Prostatic disease in the dog. *Cornell Vet* , 68 (suppl 7), 284-305.
  - Isaacs, W., & Coffey, D. (1984). The predominant protein of canine seminal plasma is an enzyme. *J. Biol. Chem.* , 259, 11520-11526.
  - Ivancić M, Long F, Seiler GS.(2009). Contrast harmonic ultrasonography of splenic masses and associated liver nodules in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2009 Jan 1;234(1):88-94. doi: 10.2460/javma.234.1.88.

- Johnston, S., Kamolpatana, K., Root-Kustritz, M., & Johnston, G. (2000). Prostatic disorders in the dog. *Anim Repro Sci* (60-61), p. 405-415.
- Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS. Canine and Feline Theriogenology. WB Saunders, Philadelphia, PA;2001. p. 80–7.
- Kamolpatana, K., Johnston, G., & Johnston, S. (2000). Determination of canine prostatic volume using transabdominal ultrasonography. *Vet Radiol Ultrasound*, 41 (1), 73-77.
- Kelly IMG, Lees WR, Richards D., 1993: Prostate cancer and the role of color Doppler US. *Radiology* 189, 153-156
- Kevin, K., & McAllister, H. (2011). The Prostate Gland. In K. Kevin, & H. McAllister, *Diagnostic Radiology and Ultrasound of the Dog and Cat* (p. 175-181). St. Louis: Sanders.
- Krawiec, D., & Heflin, D. (1992). Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986). *J Am Vet Med Assoc*, 200 (8), 1119-1122.
- Kuiper, H. (2010). Sviluppo gonadico e disturbi della differenziazione sessuale. In A. R. Koistra (A cura di), *Endocrinologia clinica del cane e del gatto* (F. Fracassi, Trad., 2 th ed., p. 161-173).

- Lai, C.-L., Van den Ham, R., Van Leenders, G., Van der Lugt, J., & Teske, E. (2008). Comparative characterization of the canine normal in intact and castrated animals. *The Prostate* , 68, p. 498-507.
- Lattimer, J. C., & Essman, S. C. (2007). The prostate gland. In *Textbook of veterinary diagnostic radiology* (5th edition ed., p. 729-737). Thrall.
- Leav, I., & Ling, G. (1968). Adenocarcinoma of the prostate gland. *Cancer* , 22, 1329-1345.
- LeRoy, B., & Northrup, N. (2009). Prostate cancer in dogs: Comparative and clinical aspects. *The Veterinary Journal* , 180, p. 149-162.
- Ling, G., Branam, J., Ruby, A., & al., e. (1983). Canine prostatic fluid: techniques of collection, quantitative bacterial culture and interpretation of results. *J Am Vet Med Assoc* , 183, 201.
- Lowseth LA, Gerlach RF, Gillett NA, Muggenburg BA. Age-related changes in the prostate of the beagle dog. *Veterinary Pathology* 1990;27:347–53.
- Marconato L., Del Piero F. (2005): Tumori vescicali. In: *Oncologia medica dei piccoli animali*. Poletto editore.
- Matoon, J., & Nyland, T. (2002). Prostate and testes. In *Small Animal Diagnostic Ultrasound* (Vol. 2th edition, p. 250-266). W.B. Saunders Company.

- McKenzie B.,(2010). Evaluating the benefits and risks of neutering dogs and cats. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 2010 5, No. 045
- Memon, M. (2007). Common causes of male dog infertility. *Theriogenology* , 68, 322-328.
- Meyers-Wallen, V. (1993). Genetics of sexual differentiation and anomalies in dogs and cats. *J Reprod Fertl Suppl* , 47, p. 441-452.
- Mukaratirwa S, Chitura T. Canine subclinical prostatic disease: histologic prevalence and validity of digital rectal examination as a screening test. *Journal of the South African Veterinary Association* 2007;78(2):66–8.
- Obradovivich, J., Walshaw, J., & Goulland, E. (1987). The influence of castration on the development of prostatic carcinoma in the dog. 43 Cases (1978-1995). *J Vet Intern Med* , 1, p. 183-187.
- Ohlerth S, Dennler M, Rüefli E, Hauser B, Poirier V, Siebeck N, Roos M, Kaser-Hotz B.(2008). Contrast harmonic imaging characterization of canine splenic lesions. *J Vet Intern Med*. 2008 Sep-Oct;22(5):1095-102. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0154.x. Epub 2008 Aug 4.
- Ohlert, S., Wergin, M., Rohrer Bley, C., Del Chicca, F., & Luluhovà, D. a. (2010). Correlation of quantified contrast-enhanced power Doppler ultrasonography

with immunofluorescent analysis of microvessel density in spontaneous canine tumors. *The Veterinary Journal* , 183, p. 58-62.

- Paclikova, K., Kohout, P., & Vlasin, M. (2006). Diagnostic possibilities in the management of canine prostatic disorders. *Veterinarni Medicina* , 51, 1-13.
- Parkinson, T. (2008). Riproduzione negli animali maschi. In D. Noakes, T. Parkinson, & G. England, *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetric* (p. 649-671). Philadelphia: Saunders.
- Parry, N. M. (2007). The canine prostate gland: Part 1. Non-inflammatory diseases. *UK Vet* , 12 (1), p. 1-5.
- Renfrew, H., Barrett, E. L., & K.J., B. (2008). Radiographic and ultrasonographic features of canine paraprostatic cystitis [abstract]. *Vet Radiol & Ultrasound* , 49, p. 444.
- Reeves, D., Rowe, R., Snell, M., & al., e. (1972). Further studies on the secretion of antibiotics in the prostatic fluid of the dog. *Proc second Nati Symp Urin Tract Infec* , 197-205.
- Ruel, Y., Barthez, P., Mailles, A., & Begon, D. (1998). Ultrasonographic evaluation of the prostate in healthy intact dogs. *Vet Radiol & Ultrasound* , 39 (3), p. 212-216.

- Russo, M., Vignoli, M., Catone, G., Rossi, F., Attanasi, G., & England, G. (2009). Prostatic perfusion in the dog using contrast-enhanced Doppler ultrasound. *Reprod Dom Anim* , 44 (suppl. 2), 334-335.
- Seiler GS1, Brown JC, Reetz JA, Taeymans O, Bucknoff M, Rossi F, Ohlerth S, Alder D, Rademacher N, Drost WT, Pollard RE, Travetti O, Pey P, Saunders JH, Shanaman MM, Oliveira CR, O'Brien RT, Gaschen L.(2011). Safety of contrast-enhanced ultrasonography in dogs and cats: 488 cases (2002-2011). *J Am Vet Med Assoc*. 2013 May 1;242(9):1255-9. doi: 10.2460/javma.242.9.1255.
- Senger, P. (2002). Endocrinology of the male and spermatogenesis . In S. P.L., Pathways to pregnancy and parturition: current conceptions (p. 214-239). Washington: Inc.
- Shidaifat F<sup>1</sup>, Daradka M, Al-Omari R. (2004). Effect of androgen ablation on prostatic cell differentiation in dogs. *Endocr Res*. 2004 Aug;30(3):327-34
- Smith, J. (2008). Canine prostatic disease: a review of anatomy, pathology, diagnosis and treatment. *Theriogenology* , 70, p. 375-383.
- Sorenmo KU, Goldschmidt M, Shofer F, Goldkamp C, Ferracone J. Immunohistochemical characterization of canine prostatic carcinoma and

- correlation with castration status and castration time. *Veterinary Comparative Oncology* 2003;1(1):48–56.
- Stefanov, M. (2004). Extraglandular and intraglandular vascularization of canine prostate. *Microscopy Research and Technique* , 63, 188-197.
  - Szatmari, V., Harkanyi, Z., & Voros, K. (2003). A review of nonconventional ultrasound techniques and contrast-enhanced ultrasonography of noncardiac canine disorders. *Vet Radiol & Ultrasound* , 44 (4), p. 380-391.
  - Teske E, Naan EC, van Dijk EM, Van Garderen E, Schalken JA. Canine prostate carcinoma: epidemiological evidence of an increased risk in castrated dogs. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2002;197(1–2):251–5.
  - Thijssen JM, de Korte CL.(2005). Modeling ultrasound contrast measurement of blood flow and perfusion in biological tissue. *Ultrasound Med Biol.* 2005 Feb;31(2):279-85
  - Unal, D., Sedelaar, J., Van Leenders, G., Wijkstra, H., Debruyne, F., & J.J., D. I. (2000). Three-dimensional and conventional examination methods: the value of diagnostic predictors of prostate cancer. *BJU Int* , 86, p. 58-64.
  - Vignoli, M., Russo, M., Catone, G., Rossi, F., Attanasi, G., & al., e. (2010). Assessment of vascular perfusion kinetics using contrast-enhanced ultrasound for the diagnosis of prostatic disease in dogs. *Reprod Dom Anim* , 1-5.

- W.T.K., B. (2003). Malattie della prostata. In A. S. (A cura di), *Manuale Merck Veterinario* (ottava edizione ed., p. 1028-1031).
- Wilson SR, Burns PN (2010). Microbubble-enhanced US in body imaging: what role?. *Radiology*. 2010 Oct;257(1):24-39. doi: 10.1148/radiol.10091210.  
  
Review
- Winter, M., J.E., L., & Pennick, D. (2006). Imaging diagnosis of urinary obstruction secondary to prostatic lymphoma in a young dog. *Vet Radiol & Ultrasound*, 47, p. 597-601.
- Wrobel, K. (2000). Apparato genitale maschile. In E. J. Dellmann H.D., *Istologia ed anatomia microscopica veterinaria* (p. 303-329). Milano: Casa editrice Ambrosiana.
- Zambelli D, Cunto M, Raccagni R, Merlo B, Morini M, Bettini G. Successful surgical treatment of a prostatic biphasic tumour (sarcomatoid carcinoma) in a cat. *J Feline Med Surg*. 2010 Feb;12(2):161-5. doi: 10.1016/j.jfms.2009.07.016. Epub 2009 Sep 9.
- Zohil, A., & Castellano, C. (1995). Prepubic and transrectal ultrasonography of canine prostate: a comparative study. *Vet Radiol Ultrasound*, 36, 393-396.

..... a mio Padre