

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

Tomas Laurusevičius

**ŠUNŲ BESIMPTOMĖS GERYBINĖS
PROSTATOS HIPERPLAZIJOS
DIAGNOSTINIŲ METODŲ ĮVERTINIMAS**

Daktaro disertacija
Žemės ūkio mokslai,
veterinarija (A 002)

Kaunas, 2025

Disertacija rengta 2018–2025 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos fakulteto Stambiųjų gyvūnų klinikoje.

Mokslinis vadovas

prof. habil. dr. Henrikas Žilinskas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002).

Disertacija ginama Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkas

prof. dr. Gintaras Zamokas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002).

Nariai:

prof. habil. dr. Saulius Petkevičius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002);

prof. dr. Ramūnas Antanaitis (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002);

doc. dr. Romas Ruibys (Vytauto Didžiojo universitetas, žemės ūkio mokslai, gyvūnų mokslai – A 003);

dr. Tiberiu Nicolae Constantin (Bukarešto agronomijos mokslų ir veterinarinės medicinos universitetas, veterinarija – A 002).

Disertacija bus ginama viešajame Veterinarijos mokslo krypties tarybos posėdyje 2025 m. birželio 26 d. 14:00 val. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos dr. S. Jankausko auditorijoje.

Disertacijos gynimo vietos adresas: Tilžės 18 g., LT-47181, Kaunas, Lietuva.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES

Tomas Laurusevičius

**COMPARATIVE EVALUATION
OF DIAGNOSTIC METHODS FOR
SUBCLINICAL BENIGN PROSTATIC
HYPERPLASIA IN INTACT MALE DOGS**

Doctoral Dissertation
Agricultural Sciences,
Veterinary (A 002)

Kaunas, 2025

Dissertation has been prepared at the Department of Large Animal Clinic of the Faculty of Veterinary of the Lithuanian University of Health Sciences from 2018 to 2025 year.

Scientific Supervisor

Prof. Habil. Dr. Henrikas Žilinskas (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – A 002).

Dissertation is defended at the Veterinary Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences:

Chairperson

Prof. Dr. Gintaras Zamokas (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – A 002).

Members:

Prof. Habil. Dr. Saulius Petkevičius (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary– A 002);

Prof. Dr. Ramūnas Antanaitis (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – A 002);

Assoc. Prof. Dr. Romas Ruibys (Vytautas Magnus University, Agricultural Sciences, Animal Sciences – A 003);

Dr. Tiberiu Nicolae Constantin (University of Agriculture and Veterinary Medicine, Agricultural Sciences, Veterinary– A 002).

Dissertation will be defended at the open session of the Veterinary Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences on the 26th of June, 2025 at 2 p.m. in the dr. S. Jankauskas Auditorium of the Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences.

Address: Tilzes str. 18, LT-47181, Kaunas, Lithuania.

TURINYS

SANTRUMPOS	8
ĮVADAS	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	13
1.1. Šunų patinų lytinė sistema.....	13
1.2. Šunų lytinės sistemos hormoninė ašis	14
1.3. Prostatos anatomiciniai, histologiniai ir fiziologiniai aspektai	16
1.3.1. Prostatos anatomija.....	16
1.3.2. Prostatos histologija.....	17
1.3.3. Prostatos fiziologija	18
1.4. Veisimo tinkamumo tyrimo principai šunų andrologijoje.....	19
1.5. Prostatos vaidmuo ir svarba šunų patinų reprodukcijoje	19
1.6. Prostatos ligos ir jų įtaka šunų reprodukcinei sveikatai	20
1.6.1. Gerybinė prostatos hiperplazija.....	20
1.6.2. Prostatitas.....	22
1.6.2.1. Ūminis prostatitas.....	23
1.6.2.2. Lėtinis prostatitas	23
1.6.3. Prostatos cistos	24
1.6.4. Prostatos neoplazija	24
1.6.5. Prostatos abscesai	25
1.6.6. Prostatos metaplazija	26
1.7. Šunų besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos diagnostika.....	27
1.7.1. Rektinis tyrimas.....	28
1.7.2. Prostatos rentgeninis tyrimas.....	29
1.7.3. Prostatos ultragarso tyrimas.....	30
1.7.4. Prostatos biopsija ir citologinis tyrimas.....	32
1.8. Modernūs šunų besimptomės GPH formos diagnostikos tyrimai	33
1.8.1. Šunų prostatos specifinė esterazė	33
1.8.2. Kompiuterinė tomografija	34
1.8.3. Magnetinis rezonansas.....	36
2. MOKSLINIO TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGOS.....	37
2.1. Tyrimo vieta, eiga ir atlikimo planas.....	37
2.2. Pirmasis tyrimo etapas. Prostatos būklės vertinimas.....	37
2.2.1. Klinikinė apžiūra ir rektinis tyrimas.....	37
2.2.2. Prostatos vertinimas ultragarsu.....	40
2.2.3. Spermos surinkimas ir vertinimas	41
2.2.4. Spermos kokybės vertinimo kriterijai.....	43
2.3. Sveikų šunų patinų ir šunų, įtariamų besimptomė GPH, atrinkimas sekančiam tyrimo etapui.....	44
2.4. Antrasis tyrimo etapas. Sveikų ir besimptomė GPH forma sergančių šunų prostatos kompiuterinė tomografija ir dalinė pelvimetrija	44
2.4.1. Prostatos citologinio tyrimo mėginio paėmimas	45

2.4.2. Prostatos kompiuterinė tomografija.....	45
2.4.3. Prostatos tūrio skaičiavimas	46
2.4.4. Prostatos ir L6 slankstelio ilgio santykinų reikšmių nustatymas.....	46
2.4.5. Dalinės pelvimetrijos pritaikymas naudojant KT	47
2.5. Trečias tyrimo etapas. Šunų prostatos specifinės esterazės ir ultrasonografijos tyrimo metodai vertinant sveikų ir besimptomė GPH sergančių šunų prostatos būklę	49
2.5.1. Prostatos ultrasonografija	49
2.5.2. Prostatos kraujotakos vertinimas spalvinio Doplerio metodu	50
2.5.3. Šunų prostatos specifinės esterazės tyrimas	50
2.6. Statistinė analizė.....	51
2.7. Etikos principai.....	51
3. MOKSLINIO DARBO REZULTATAI	53
3.1. I tyrimo etapas. Prostatos būklės vertinimas	53
3.1.1. Rektinio tyrimo rezultatai.....	53
3.1.2. Prostatos echoskopijos rezultatai.....	53
3.1.3. Spermos vertinimas	55
3.2. II tyrimo etapo rezultatai. Sveikų ir besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos paveiktos prostatos kompiuterinės tomografijos ir dalinės pelvimetrijos matavimai	58
3.2.1. Citologinio tyrimo rezultatai	58
3.2.2. Prostatos matmenys ir tūris, įvertinus kompiuterinės tomografijos būdu	58
3.2.3. Prostatos matmenų santykis su L6.....	59
3.2.4. Dalinės pelvimetrijos rezultatai	64
3.2.5. Prostatos kontrastavimas	66
3.2.6. Prostatos tūrio ir kontrastavimo fazių ryšys	68
3.2.7. Ryšys tarp intraprostatos cistų ir HU reikšmių.....	69
3.3. III tyrimo etapo rezultatai. Sveikų ir besimptomės GPH paveiktų šunų prostatos specifinės esterazės koncentracijos ribų ir ultragarso specifinių parametų ribinių verčių nustatymas.	70
3.3.1. Citologinio tyrimo rezultatai	70
3.3.2. Prostatos ultrasonografija	71
3.3.3. Prostatos tūrio analizė.....	71
3.3.4. Spalvinė Doplerio analizė.....	74
3.3.5. Šunų prostatos specifinės esterazės analizė.....	76
4. MOKSLINIO TYRIMO REZULTATŲ APTARIMAS.....	82
4.1. I tyrimo etapas. Prostatos būklės vertinimas	82
4.1.1. Rektinis tyrimas.....	82
4.1.2. Prostatos echoskopija	83
4.1.3. Spermos vertinimas	83
4.2. II etapas. Sveikų ir besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos paveiktos prostatos kompiuterinės tomografijos ir dalinės pelvimetrijos matavimai.....	84
4.2.1. Prostatos matmenys ir tūris, apskaičiuoti remiantis KT vaizdais	84
4.2.2. Prostatos matmenų santykis su L6 slanksteliu	86

4.2.3. Dalinės pelvimetrijos pritaikymas prostatos dydžio vertinime	87
4.2.4. Prostatos audinio tankio matavimai	88
4.3. III etapas. Sveikų ir besimptomės GPH paveiktų šunų prostatos specifinės esterazės koncentracijos ribų ir ultragarso specifinių parametrų ribinių verčių nustatymas	89
4.3.1. Prostatos tūrio vertinimas ultragarsu	89
4.3.2. Prostatos kraujotakos vertinimas spalviniu Dopleriu	90
4.3.3. CPSE ribinių reikšmių nustatymas	91
IŠVADOS.....	93
REKOMENDACIJOS	95
SUMMARY	96
LITERATŪROS SĄRAŠAS	157
PASKELBTOS PUBLIKACIJOS.....	170
STRAIPSNIAI, KURIUOSE BUVO PASKELBTI DISERTACIJOS TYRIMŲ REZULTATAI.....	173
CURRICULUM VITAE	198
PADĖKA	199

SANTRUMPOS

GPH	– gerybinė prostatos hiperplazija
USG	– ultrasonografija
KT	– kompiuterinė tomografija
CPSE	– šunų prostatos specifinė esterazė (angl. <i>canine prostatic specific esterase</i> , CPSE)
DHT	– dihidrotestosteronas
GnRH	– gonadotropinus atpalaiduojantis hormonas
FSH	– folikulus stimuliuojantis hormonas
LH	– liuteinizuojantis hormonas
PSA	– prostatos specifinis antigenas
ROS	– reaktyviosios deguonies formos (angl. <i>reactive oxygen species</i> , ROS)
MRT	– magnetinis rezonansas
TRUS	– transrektinis ultragarsas
CEUS	– kontrastinė ultrasonografija (angl. <i>contrast enhanced ultrasonography</i> , CEUS)
HU	– Hounsfieldo vienetai (angl. <i>Hounsfield Units</i> , HU)
L6	– šeštasis nugaros juosmens slankstelis
rL	– prostatos ilgio ir šeštojo nugaros juosmens slankstelio ilgio santykis
rH	– prostatos aukščio ir šeštojo nugaros juosmens slankstelio aukščio santykis
rW	– prostatos pločio ir šeštojo nugaros juosmens slankstelio pločio santykis
ppW	– prostatos pločio ir priekinės dubens atvaros pločio santykis
ppH	– prostatos aukščio ir priekinės dubens atvaros aukščio santykis
PSV	– sistolės tėkmės greitis (angl. <i>peak systolic velocity</i> , PSV)
EDV	– diastolės pabaigos greitis (angl. <i>end diastolic velocity</i> , EDV)
RI	– atsparumo indeksas (angl. <i>resistive index</i> , RI)
PT	– prostatos tūris
SD	– standartinis nuokrypis (angl. <i>standard deviation</i> , SD)
ROC	– sprendimus priimančiojo ypatybių kreivė (angl. <i>receiver operating characteristic</i>)
AUC	– plotas po ROC kreive (angl. <i>area under the ROC curve</i>)
ELISA	– imunofermentinė analizė (angl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)

IVADAS

Gerybinė prostatos hiperplazija (GPH) yra dažniausiai pasitaikanti prostatos patologija, kuri paveikia visus nekastruotus patinus, nepriklausomai nuo veislės. Remiantis Socha ir bendraautorių atliktu tyrimu, ši prostatos būklė su klinikiniais simptomais dažniau pasireiškia didelių ir milžiniškų veislių šunims, vyresniems nei 4 metų [1]. Tačiau GPH gali pasireikšti ir jauniems šunims. Lowseth ir kolegų atlikta studija parodė, kad prostatos hiperplazija gali pradėti vystytis jau 2 metų amžiaus patinams [2].

Svarbu paminėti, kad šunų prostata, kaip ir žmonių, pasižymi panašia anatominė ir histologine struktūra bei atlieka tas pačias fiziologines funkcijas. Priešinė liauka ne tik sintetina hormonus, bet ir yra itin jautri organizme cirkuliuojantiems lytiniais hormonams, ypač androgenams [3]. GPH pasireiškimo laipsnis tiesiogiai priklauso nuo androgenų koncentracijos patino organizme. Androgenų poveikis prostatoje inicijuoja epitelinių ląstelių skaičiaus ir dydžio pokyčius: ląstelių skaičius didėja (hiperplazija), o ląstelių dydis auga (hipertrofija). Dėl šių procesų prostata išvešėja ir gali sukelti įvairių sveikatos sutrikimų [4].

Dėl gerybinės prostatos hiperplazijos gali atsirasti tokių klinikinių simptomų kaip hematurija, anurija, konstipacija, balanopostitas, nugaros skausmas, šlubavimas, kraujingų išskyrių iš penio pasirodymas ar net šlapimo nelaikymas [5]. Be to, GPH turi didelę įtaką šunų reprodukcinei sveikatai. Pasireiškus GPH patinams gali sumažėti lytinis potraukis, pablogėti spermos kokybė ar išsivystyti nevaisingumas [6]. Buvo įrodyta, kad prostatos liauka yra atsakinga už pirmąją ir trečiąją šuns ejakuliacijos frakcijas ir kad šių komponentų pokyčiai gali sukelti patino reproduktoriaus vaisingumo pablogėjimo rizikas [7]. Be to, progresuojant nekontroliuojamai prostatos hiperplazijai didėja rizika kitoms prostatos patologijoms išsivystyti, tokios kaip prostatitas, intra-prostatinės ir paraprostatinės cistos bei prostatos neoplazijos ar perinealinė išvarža. Dėl šių GPH komplikacijų nukenčia ne tik bendra patino sveikatos būklė, bet ir reprodukcinės savybės [8,9].

Šiuo metu veterinarinėje praktikoje yra nemažai diagnostinių priemonių prostatos būklei įvertinti, tačiau besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos formos nustatymas išlieka iššūkiu. Praktikoje prostatos vertinimas pradedamas nuo rektinio tyrimo, kuris yra viena iš pagrindinių metodikų liaukos būklei įvertinti tiek žmonėms, tiek gyvūnams. Tačiau šis tyrimas yra subjektyvus ne tik dėl to, kad palpuojama tik dorsoventralinė prostatos dalis, bet ir todėl, kad kiekvienas gydytojas prostatą gali įvertinti skirtingai. Be to, tiesiosios žarnos palpacija gali kelti iššūkių mažų veislių šunims dėl jų dydžio,

turint omenyje faktą, kad tyrimas mažiems šunims gali sukelti skausmą ir diskomfortą dėl jų anatomicinės kūno struktūros [10,11].

Siekiant išsamesnio prostatos būklės vertinimo, yra naudojamos diagnostinės vaizdavimo priemonės: rentgenas, ultragarso tyrimas, kompiuterinė tomografija ar magnetinis rezonansas. Diagnostinės vaizdavimo priemonės yra laikomos efektyviausiomis veterinarinėje medicinoje, siekiant išsamiai įvertinti prostatos sveikatos būklę [12,13].

Kalbant apie skirtingus diagnostinius vaizdavimo metodus, rentgeno tyrimas prostatos liaukai tirti gali būti naudojamas nustatant tik organo anatomicinę lokalizaciją, dydį ar didelių cistų pasireiškimą. Be to, rentgeno tyrimo vertė yra ribota ir dėl kitų pilvo organų vaizdinių trukdžių bei prastos kokybės liaukos kontrastavimo. Dėl šios priežasties klinikinėje praktikoje dažniausiai yra pasirenkama ultragarsinė diagnostika [13,14]. Vis dėlto ultragarsinės diagnostikos efektyvumas labai priklauso nuo operatoriaus patirties, ne tik vaizdų interpretavimo, bet ir procedūros techninių aspektų išmanymo. Prostatos kraštų, ypač užpakalinio kontūro, tikslus nustatymas ir optimalių vaizdavimo plokštumų pasirinkimas ultragarso matavimams tebėra sudėtinga užduotis ultragarso tyrimus atliekančiam gydytojui. Nepaisant šių apribojimų, klinikinėje praktikoje ultragarsas laikomas „auksiniu“ standartu vertinant prostatos būklę dėl ultragarso prieinamumo ir efektyvumo [12,15,16]. Tačiau naujausi moksliniai tyrimai rodo, kad ultragarso tyrimas ne visada tinkamai įvertina prostatos patologijas, ypač siekiant tiksliai apskaičiuoti prostatos tūrį, kuris yra svarbus GPH laipsnio nustatymo kriterijus [17,18]. Tokiu atveju rekomenduojama atlikti kompiuterinę tomografiją, jei ultragarso diagnostika nėra patikimas pasirinkimas arba prostatos būklė kelia rimtų įtarimų dėl prostatos neoplazijos. Nors KT dažniausiai naudojama sunkiems atvejams tirti, šis tyrimas yra neatsiejama vidaus organų ligų diagnostikos dalis, įskaitant ir prostatos ligas [19,20]. Kompiuterinė tomografija siūlo naujų ir modernių vaizdavimo diagnostikos galimybių, o mokslinių publikacijų apie prostatos vaizdavimą naudojant kompiuterinę tomografiją literatūroje nėra daug [21].

Veterinarinėje praktikoje visada siekiama vengti invazyvių diagnostinių metodų. Nors minėti tyrimai nepriklauso invazyvių metodų kategorijai, svarbu pabrėžti, kad patikimiausias GPH diagnostikos metodas yra prostatos audinio citologinis arba histopatologinis tyrimas [22].

Siekiant išvengti invazyvių tyrimų, pastaruoju metu veterinarinėje praktikoje vis plačiau pradėtas naudoti GPH biomarkeris – šunų specifinė prostatos esterazė (angl. *Canine Prostatic Specific Esterase*, CPSE). Šis biomarkeris yra identiškas žmonių medicinoje naudojamam prostatos specifiniam antigenui, kuris skirtas vyrų prostatos susirgimų diagnostikai [23]. CPSE ir PSA yra serinų proteazės, kurios yra specifinės prostatos audiniui ir naudojamos kaip biomarkeriai prostatos sveikatos įvertinimui. CPSE yra ypač naudingas

šunų prostatos ligų diagnostikoje, nes jo koncentracija kraujyje padidėja esant prostatos hiperplazijai, suteikiant veterinarijos gydytojams vertingą priemonę ankstyvai GPH diagnostikai [24,25]. CPSE metodas yra neinvazyvus, greitas ir ekonomiškas, todėl vis dažniau taikomas tiek diagnostikos tikslams, tiek prostatos būklės stebėsenos programose kaip biomarkeris, leidžiantis sekti GPH progresiją šunims senstant [26].

Svarbu pabrėžti, kad nors galutinė GPH diagnozė gali būti patvirtinta tik atlikus invazyvius citologinius ar histopatologinius tyrimus, veterinarinėje praktikoje siekiant išvengti šių metodų, siūloma kombinuoti anksčiau išvardintas neinvazyvias diagnostines procedūras. Tokia praktika gali pagerinti besimptomės GPH diagnostikos protokolus, išvengiant invazyvių diagnostinių metodų taikymo bei laiku diagnozuoti prostatos susirgimus [27,28]. Taipogi svarbu atkreipti dėmesį, jog taikant kompiuterinę tomografiją šunims, kuriems tyrimas atliekamas dėl kitų priežasčių, nesusijusių su reprodukciniu traktu (pavyzdžiui: pilvo ir dubens srities, urogenitalinės sistemos ar išsamus pilvo ertmės organų tyrimas) ne retai įtraukiama ir prostata, kurią įvertinus remiantis specifiniais KT parametrais, galima nustatyti ar įtarti įvairius liaukos susirgimus, įskaitant ir GPH [29].

Mokslinio darbo tikslas

Įvertinti ir palyginti naujus bei klinikinėje praktikoje taikomus diagnostikos metodus, skirtus nekastruotų šunų patinų besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos nustatymui.

Mokslinio darbo uždaviniai:

1. Įvertinti įvairaus amžiaus, svorio ir veislės nekastruotų šunų prostatos būklę ir spermos kokybę klasikiniiais metodais.
2. Įvertinti kliniškai sveikų ir besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos paveiktų šunų prostatos kompiuterinės tomografijos ir dalinės pelvimetrijos matavimus ir nustatyti diagnostines ribines vertes.
3. Nustatyti kliniškai sveikų ir besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos paveiktų šunų prostatos specifinės esterazės koncentracijos ir ultragarso specifinių parametrų ribines vertes.

Mokslinio tyrimo naujumas ir praktinė reikšmė:

Ši mokslinė studija išryškina šunų patinų andrologijos srities naujoves, analizuodama besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos diagnostiką ir jos įtaką veisimui naudojamų šunų reprodukcinei sistemai. Tyrimas atkreipia dėmesį į jau klinikinėje praktikoje naudojamus ir naujus diagnostikos metodus, kurie svarbūs prostatos būklei įvertinti. Kompiuterinė tomografija (KT) kaip diagnostikos metodas smulkiųjų gyvūnų reprodukcijos srityje vis dar lai-

koma naujove, tačiau šio tyrimo diagnostinė reikšmė vertinant reprodukcinio trakto organus vis plačiau aptariama tiek veterinarinėje praktikoje, tiek mokslinėje literatūroje. Šiame tyrime KT pritaikyta besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos (GPH) atvejais, todėl gauti rezultatai ir aprašyta tyrimo metodika atveria naujas galimybes ne tik tolesniems moksliniams tyrimams besimptomės GPH kontekste, bet gali pasitarnauti ir veterinarijos gydytojams, vertinant prostatos pokyčius. Be to, autoriai įtraukė dalinės pelvimetrijos metodiką panaudojant specifinius kompiuterinės tomografijos trimačius (3D) vaizdinius. Ši inovatyvi metodika leidžia detaliau įvertinti prostatos dydį ir formą bei užimamą plotą priekinės dubens atvaros zonoje, kas gali parodyti GPH pasireiškimą.

Mokslinėje studijoje buvo atliekami ir klasikiniai prostatos būklės vertinimo metodai, įskaitant rektinę palpaciją bei ultragarso tyrimą. Mokslinio tyrimo naujumo aspektas – autorių pasiūlytos rektinio tyrimo vertinimo skalės bei detalių ultragarso tyrimo specifinių parametrų vertinimo metodika ir ribinių verčių, skiriančių sveikus ir besimptomę GPH paveiktus šunis, nustatymas. Ultragarso tyrimo pritaikymas ir specifinių parametrų analizė ne tik patvirtina šio metodo efektyvumą, bet ir praplečia jo taikymo galimybes vertinant priešinę liauką klinikinėje praktikoje.

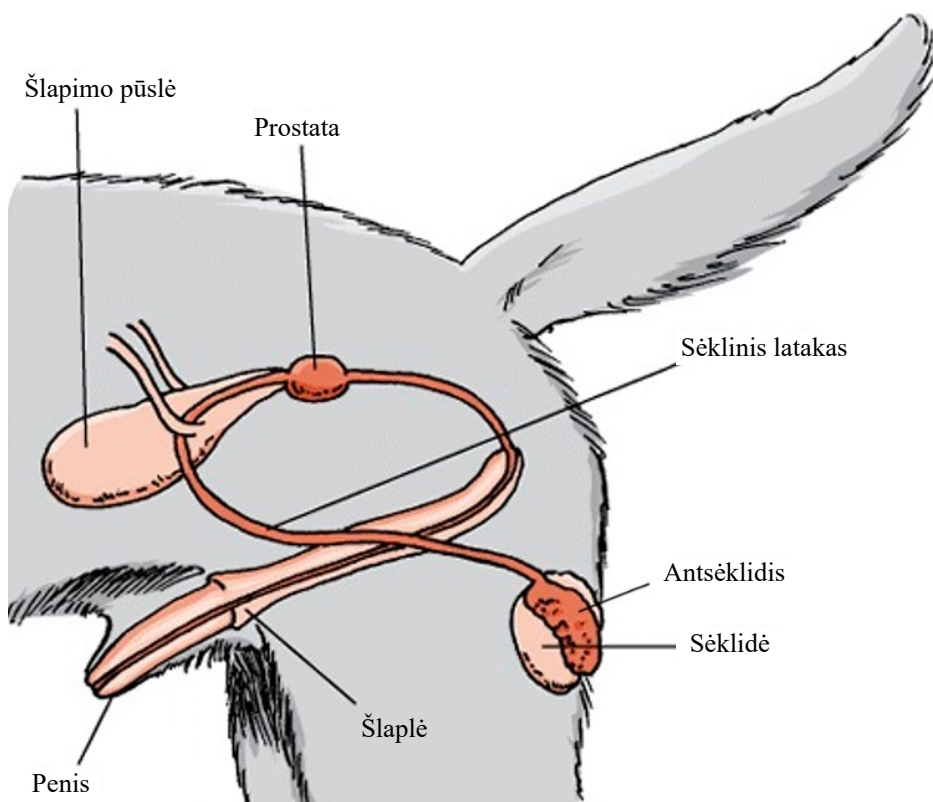
Darbe buvo pristatyta šunų specifinės prostatos esterazės analizė, kuri mokslinėje literatūroje yra minimaliai dokumentuota besimptomės GPH formos kontekste kaip papildoma diagnostikos priemonė. CPSE koncentracijos nustatymas ir ribinių reikšmių pateikimas gali būti naudingas, padedant diagnozuoti besimptomę GPH formą, netaikant invazyvių diagnostinių metodų. Šis tyrimas klinikinėje veterinarinėje praktikoje taikomas neseniai, o besimptomės GPH kontekste mokslinėje literatūroje nėra plačiai aprašytas, todėl studijoje pateikti rezultatai gali prisidėti tiek praktikoje, tiek akademinėje veikloje.

Visi moksliniame darbe išanalizuoti metodai ir jų platus ribinių reikšmių bei statistinių priklausomybių spektras, skiriant sveikus ir sergančius besimptomę GPH forma šunis, leidžia sukurti naujas šios ligos diagnostikos strategijas ir stebėsenos programas, kurios padeda užtikrinti patinų reprodukcinės sveikatos apsaugą ir tinkamumą šunis naudoti veisimui.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Šunų patinų lytinė sistema

Šunų patinų lytinė sistema yra sudaryta iš šių organų: porinių sėklidžių (lot. *testes*), sėklidės prielipo (lot. *epididymis*), sėklinio latakų (lot. *vas deferens*), šlaplės (lot. *urethra*), penio (lot. *penis*) ir priešinės liaukos (lot. *prostatata*) (1.1.1 pav.) [28]. Lytiniai organai embriogenezės metu pradeda vystytis 30–35 nėštumo dieną, o jau 36 nėštumo dieną prasideda sėklidžių diferenciacija bei antimiulerinio hormono produkcija ir sekrecija [30]. Šis hormonas yra glikoproteinas, kurį sėklidėse sekretuoja Sertoli ląstelės. Ši medžiaga skatina paramezonefrinių latakų regresiją tarp 36 ir 46 nėštumo dienos. Vėliau, atrofavusis šiems latakams, pradedamas produkuoti testosteronas, dėl kurio vystosi kiti vyriški lytiniai organai, įskaitant prostatą [31]. Testosterono metabolitas dihidrotestosteronas (DHT) yra atsakingas už šlaplės ir prostatos formavimąsi iš urogenitalinio sinuso, penio – iš lytinio tuberkulo, varpos – iš lytinių raukšlių, o mažinės – iš lytinių iškilimų [32,33]. Konkrečiai priešinės lytinės liaukos formavimasis prasideda iš šlaplės endoderminio epitelio. Šis epitelis formuoja daugybinius prostatos pumpurus, kurie skverbiasi į aplinkinę mezenchimą ir toliau diferencijuojasi į jungiamojo bei lygiųjų raumenų ląsteles, kurios ir sudaro prostatos stromą [34,35]. Vėliau minėtuose prostatos pumpuruose susiformuoja vamzdelių bei pūslelių struktūros, o dar vėliau, apie 6 nėštumo savaitę – liaukos ištekamieji latakėliai. Prostatos skiltys susiformuoja iš abipus susidariusio liaukinio audinio ir jį gaubiančios stromos, o vidinė pertvara susiformuoja iš prostatą gaubiančios skaidulinės ir raumeninės kapsulės [36–39].



1.1.1 pav. Šunų patinų lytinės sistemos struktūra

1.2. Šunų lytinės sistemos hormoninė ašis

Šuns patino lytinė hormoninė sistema yra reguliuojama hipotalamo, hipofizės ir sėklidžių ašies. Šiai sistemai tenka pagrindinis vaidmuo reguliuojant lytinę funkciją ir bendrą organizmo homeostazę [40].

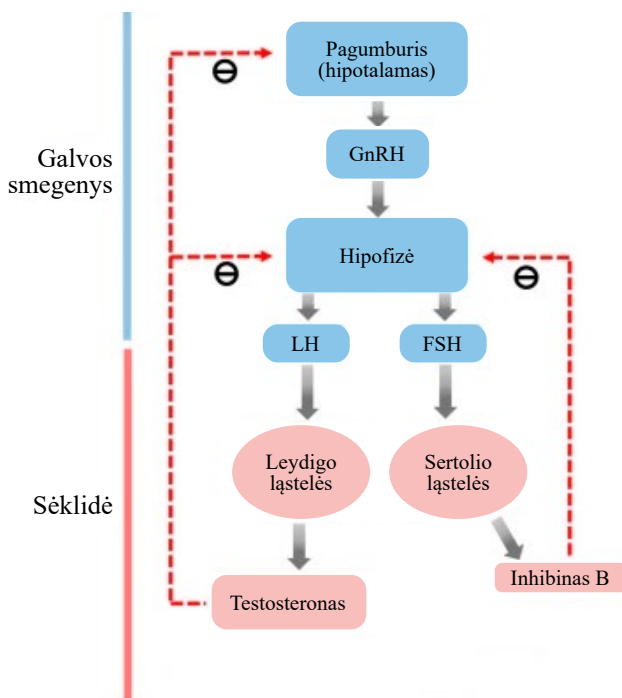
Hipotalamas (pagumburis, arba pagumburio smegeninė liauka) yra smegenų dalis, atsakinga už daugelio endokrininių procesų reguliavimą. Jis išskiria gonadotropinus atpalaiduojantį hormoną (GnRH), kuris yra pirmasis signalas hormonų kaskadoje, reguliuojančioje reprodukcinės funkcijas. GnRH veikia hipofizės priekinę dalį, skatindamas kitų hormonų išsiskyrimą [33].

Hipofizė yra maža liauka, esanti smegenų pagrinde. Ji yra suskirstyta į priekinę ir užpakalinę dalis; priekinė dalis yra ypač svarbi reguliuojant lytinę funkciją. Priekinė dalis išskiria folikulus stimuliuojantį hormoną (FSH) ir liuteinizuojantį hormoną (LH), kurie tiesiogiai veikia sėklides. Folikulus stimuliuojantis hormonas skatina spermatozoidų gamybą, o liuteinizuojantis hormonas skatina testosterono gamybą sėklidėse [41].

Sėklidės yra pagrindinės vyriškosios lytinės liaukos, esančios šlaunies maišelyje. Jos atlieka dvigubą funkciją: gamina spermatozoidus ir testosteroną. Testosteronas yra pagrindinis vyriškasis lytinis hormonas, turintis įtakos įvairiems fiziniams ir elgesio aspektams, įskaitant raumenų ir kaulų vystymąsi, antrinių lytinių požymių atsiradimą ir lytinį elgesį [42,43].

Patinų lytinė ašis yra reguliuojama centrinės nervų sistemos per hipotalamą, kuris sintezuoja ir išskiria gonadotropiną išskiriantį hormoną (GnRH). Šis hormonas pulsaciškai veikia hipofizės gonadotropines ląsteles, moduliudamas folikulus stimuliuojančio hormono ir liuteinizuojančio hormono išsiskyrimą, kur mažos amplitudės impulsai skatina FSH, o didelės – LH sekreciją. LH hormonas tiesiogiai veikia sėklides, aktyvuodamas Leidigo ląsteles sintetinti testosteroną iš acetato ir cholesterolio [44].

Androgenai daro neigiamą atgalinį poveikį hipotalamo–hipofizės–sėklidžių ašiai, siekiant reguliuoti savo sintezę. Leidigo ląstelėse produkuojamas testosteronas, išskiriamas sėklidžių kaip atsakas į LH, savo ruožtu slopina LH sekreciją iš priekinės hipofizės dalies. Šis slopinimas daugiausia yra tiesioginio testosterono poveikio hipotalamui, mažinant GnRH sekreciją, rezultatas. Šis poveikis savo ruožtu mažina LH ir FSH sekreciją, dėl to sumažėja testosterono sekrecija iš sėklidžių. O Sertoli ląstelėse pagamintas glikoproteinas inhibinas B hipofizėje reguliuoja FSH išsiskyrimą [41,45]. Patinų lytinių hormonų ašis pateikta 1.2.1 paveiksle.



1.2.1 pav. Patinų lytinės ašies schema

1.3. Prostatos anatominiai, histologiniai ir fiziologiniai aspektai

1.3.1. Prostatos anatomija

Anatomiškai prostata yra tarp šlapimo pūslės ir tiesiosios žarnos. Prie proksimalinės šlaplės organas prisitvirtina periprostatiniais raiščiais, o dorsalinio aspektu liauka turi sąlytį su tiesiąja žarna, nuo kurios yra atskirta dviem pilvaplėvės raukšlių sluoksniais [46,47].

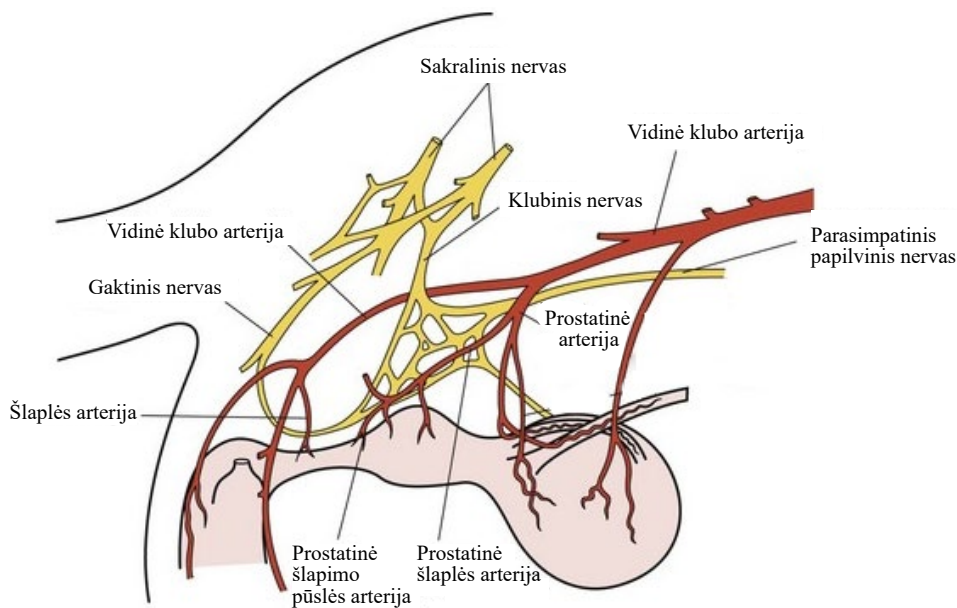
Pediatrinio amžiaus šuniukų (iki lytinės brandos) prostata lokalizuojasi dubens ertmėje ir guli ant dubens kaulų. Vėliau, šuniui lytiškai subrendus (8–12 mėnesių), prostata pailgėja kranialine kryptimi ir palaipsniui pasislenka į retroperitoninio kranialinę dalį. Vyresnio amžiaus šunų (5–10 metų) prostatą galima aptikti pasislinkus kranialine kryptimi į retroperitoninio sritį [2,48].

Prostata krauju aprūpinama iš pagrindinės kraujagyslės – prostatos arterijos (*a. prostatica*) [49]. Arterinis kraujas į prostatą patenka iš abdominalinės aortos, kuri šakojasi į porinę vidinę klubo arteriją, o ši formuoja atšaką į prostatos arteriją. Pastaroji dar šakojasi į dvi smulkesnes šakas: prostatinę šlaplės ir prostatinę šlapimo pūslės. Šios arterijos formuoja smulkesnes arterines kraujagysles, kurios maitina prostatą bei prostatą kertančią šlaplės

dalį. Prostatos venos yra vienvardės ir yra išsidėsčiusios šalia arterijų. Veninis kraujas grįžta prostatos ir uretros venomis, kurios galutinai susijungia su didžiąja klubine vena [50,51].

Limfinę prostatos apytaką formuoja smulkios limfagyslės, išeinančios greitai veninės liaukos sistemos kraujagyslių. Limfagyslėmis limfa iš prostatos nuteka į dubens ir pojuosmeninius limfinius mazgus. Limfos drenavimas vyksta per pagrindinį klubo limfinį mazgą [52].

Prostatą inervuoja dubens gangliono (*pelvis plexus*) du pagrindiniai nervai: parasimpatinis papilvės nervas (*n. hypogastricus*) ir simpatinis dubens nervas (*n. pelvis*) [53]. Šie nervai eina paraleliai prostatą aprūpinančiam kraujotakos tinklui ir yra atsakingi už prostatos augimą bei funkcinę veiklą. Papilvės nervas stimuliuoja lygiųjų raumenų bei sekrecinio epitelio susitraukimus, o dubens nervas atlieka cholinerginę parasimpatinę lygiųjų raumenų inervaciją ir silpnai veikia sekrecinį epitelį [54]. Šunų reprodukcinį organų ir urogenitalinės sistemos organai, kraujotaka ir nervų sistema pavaizduoti 1.3.1.1 paveiksle.



1.3.1.1 pav. Patino reprodukcinį ir urogenitalinių organų nervinę ir kraujotakos sistema

1.3.2. Prostatos histologija

Histologiškai šuns prostatos liauka turi dvi pagrindines dalis: kūną (*corpus prostatea*) ir periuretrinę dalį (*pars desiminata prostatea*). Prostatos kūnas

yra apsuptas kolageninio audinio sudarytos kapsulės, o organo kairiąją ir dešiniąją skiltis skiria pertvara, atsišakojanti iš minėtos kapsulės [55,56].

Histologiniu požiūriu prostatą sudaro trys pagrindiniai struktūriniai elementai: stroma, epitelis ir liaukinis audinys. Prostatos visumą sudaro stroma – tai yra liaukos karkasas, kuris yra suformuotas iš kolageninių skaidulų bei lygiųjų raumenų audinio. Stroma yra pagrindinė prostatos kūno audinio struktūra, o periuretrinę dalį sudaro liaukinis vamzdinis bei pūslinis audinys, kuris išsidėstęs per visą priešinės šlaplės dalies ilgį. Fibromuskulinis audinys, tarpląstelinė matrica ir įvairūs ląsteliniai elementai sudaro prostatos stromą, kuri yra esminis liaukos komponentas [57,58].

Periuretrinė šunų prostatos dalis, esanti aplink šlaplę, sudaryta iš liaukinių ir lygiųjų raumenų audinių. Būtent šioje srityje vyksta prostatos sekreto gamyba ir lygiųjų raumenų susitraukimai ejakuliacinio proceso metu [59].

Prostatos epitelyje išskiriami trys pagrindiniai ląstelių tipai: sekrecinės, nesekrecinės (bazinės) ir neuroendokrininės ląstelės. Sekrecinės ląstelės – tai kubinis arba stulpelinis sekrecinis epitelis, formuojantis liaukinius acinus. Bazinės ląstelės, esančios prostatos stromoje, yra germinatyvinės, formuojančios bazalinį sluoksnį. O neuroendokrininių ląstelių funkcija nėra visiškai aiški, tačiau yra duomenų, kad šios ląstelės atsakingos už prostatos funkciją ir aplinkinio audinio augimą [60].

1.3.3. Prostatos fiziologija

Prostatos pagrindinė fiziologinė funkcija yra produkuoti prostatinį sekretą. Sekreto gamyba yra ypač svarbus procesas, kuris nuolat vyksta prostatos liaukiniame audinyje. Prostatos sekreto produkcija yra reguliuojama androgenų, daugiausia testosterono. Sekreto kiekis varijuoja priklausomai nuo patino amžiaus, dydžio, veislės ir sveikatos būklės. Sekreto tūris gali svyruoti nuo 2 iki 80 ml, priklausomai nuo patino veislės kategorijos [7,61,62].

Prostatos sekretas yra sudarytas iš daugelio skirtingų enzymų, mikro- ir makroelementų, vandens, lipidų, cukrų, antimikrobinių peptidų, hormonų, fermentų ir kitų baltymų [62]. Vienas iš svarbiausių tyrinėtų baltymų, kurį gamina tiek žmonių, tiek šunų prostatos epitelis, yra prostatos specifinis antigenas (PSA). Žmonių PSA baltymą koduoja KLK3 genas, tačiau šunų genome šio geno nėra. Vietoj jo šunys gamina homologinį fermentą, vadinamą šunų prostatos specifine arginino esteraze (CPSE), kuris priklauso serino proteazių klasei [26,63].

Prostatoje, priklausomai nuo androgenų sintezės, vyksta ląstelių hiperplazijos bei hipertrofijos procesai. Svarbu atkreipti dėmesį į tai, kad prostatoje yra gerai išreikšti androgenų ir estrogenų receptoriai [64]. Testosteronas, perėjęs hematotransfuzinį barjerą, patenka į prostatos audinį ir jungiasi prie

specifinių testosterono receptorių, o vykstanti šio hormono sintezė prostatoje gali sukelti hiperplazijos ir ląstelių hipertrofijos procesus [65,66]. Analogiški procesai galimi ir aukštame estrogenų fone, kuomet šie hormonai taip pat gali sukelti analogiškus procesus kaip ir androgenai [4].

1.4. Veisimo tinkamumo tyrimo principai šunų andrologijoje

Veisimo tinkamumo tyrimas šunų andrologijoje yra sudėtingas procesas, kurio tikslas – nustatyti patino gebėjimą efektyviai dalyvauti veisimo procese ir susilaukti palikuonių. Visų pirma, atliekamas išsamus klinikinis tyrimas, įskaitant bendros sveikatos būklės, lytinių organų ir fizinės būklės įvertinimą, siekiant identifikuoti galimas anatomines ar fiziologines anomalijas, kurios gali turėti neigiamos įtakos veisimo procesams [67].

Svarbus tyrimo etapas yra spermos analizė, kurioje vertinamas spermos tūris, judrumas, morfologija, koncentracija, gyvybingumas bei pašalinių ląstelių ir spermos DNR defragmentacijos pasireiškimas. Šie rodikliai lemia spermos gebėjimą apvaisinti kiaušinėlių [68].

Be to, gali būti atliekami genetiniai tyrimai siekiant nustatyti paveldimas ligas, kurios gali būti perduodamos palikuoniams, taip pat hormonų lygių nustatymą, kuris padeda įvertinti reprodukcinę funkciją [69,70]. Elgesio įvertinimas taip pat yra svarbus, kadangi netinkamas elgesys gali apsunkinti ar net padaryti neįmanomą veisimo procesą [71]. Ligų profilaktika ir kontrolė – dar vienas būtinas veiksnys, siekiant užtikrinti tinkamą patino reprodukcinį statusą [72].

1.5. Prostatos vaidmuo ir svarba šunų patinų reprodukcijoje

Prostata šunų lytinėje sistemoje atlieka ypač svarbų vaidmenį ir yra atsakinga už patino reprodukcinį statusą [15]. Dažnu atveju, esant prostatos ligoms, nukenčia patino reprodukcinės funkcijos bei bendra sveikatos būklė. Tokiu atveju šunys patinai, kurie yra veisiami, gali prarasti galimybę apvaisinti kales [27]. Šis aspektas ypač svarbus siekiant pratęsti šuns genetinę liniją ir susilaukti naujų palikuonių vados [73]. Šiuo atveju prostata turi didelę įtaką spermos kokybei – tai iš esmės ir lemia sėkmingą veisimą [74]. Dažniausiai pasitaikantis prostatos susirgimas yra gerybinė prostatos hiperplazija. Šią patologiją galima apibūdinti kaip natūralų procesą, susijusį su androgenų produkcija ir veikimo prostatoje mechanizmu [75,76]. Svarbu pabrėžti, kad dažnu atveju GPH yra besimptomė ankstyvuoju laikotarpiu, todėl patinai yra kliniškai sveiki [77]. Visgi vykstant prostatos hiperplazijos procesui, keičiasi prostatos sekreto sudėtis – tai turi didelį poveikį spermos kokybei [78]. Dėl šios priežasties labai svarbu tinkamu laiku diagnozuoti besimptomę GPH for-

mą ir įvertinti patino reproduktoriaus spermos kokybę. Be to, esant prostatos išvešėjimui, galimos įvairios komplikacijos, tokios kaip prostatitas ar prostatos neoplazija bei perinealinės išvaržos rizika, o tai taip pat daro didelę įtaką patino reprodukciniam statusui [79,80]. Atsižvelgiant į šiuos faktus svarbu pabrėžti, kad priešinė liauka yra svarbus šunų reprodukcinio trakto organas, atsakingas už patino reprodukcinę savybę, o ypač už spermą kokybę. Laiku aptikti hiperplazijos procesai prostatoje padeda išvengti ne tik spermą kokybės pablogėjimo, bet ir užtikrina šuns gebėjimą tinkamai sukergti kalę [10,81].

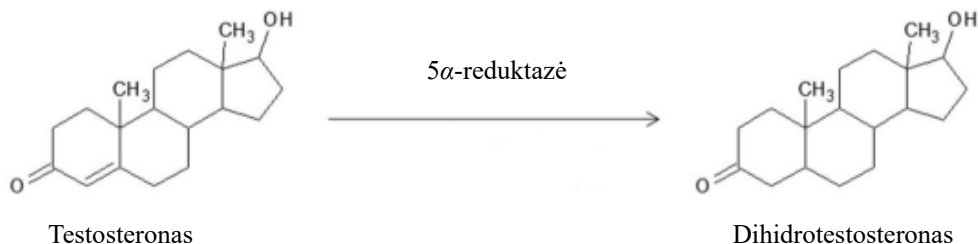
1.6. Prostatos ligos ir jų įtaka šunų reprodukcinei sveikatai

Prostatos ligos dažnai susijusios tiek su bendra sveikatos būkle, tiek su reprodukcinė patinų funkcija. Svarbu atkreipti dėmesį, kad daugelis prostatos ligų pradinėse stadijose nepasireiškia jokiais klinikiniais simptomais. Ligai progresuojant pasireiškia klinikiniai simptomai, kurie dažnai yra susiję su kitų organų, pavyzdžiui, urogenitalinio ar gastroenterologinio trakto, ligomis, dėl to prostatos ligų simptomatika gali būti painiojama su kitų organų ar organų sistemų ligomis ir galutinė diagnozė gali būti nesusijusi su priešine liauka. Dėl šios priežasties klinikinėje praktikoje yra ypač svarbu, kad prostatos apžiūra būtų atliekama reguliariai, ne tik tada, kai pasireiškia klinikiniai simptomai, bet ir profilaktinės šuns sveikatos apžiūros metu [27,61].

1.6.1. Gerybinė prostatos hiperplazija

Gerybinė prostatos hiperplazija yra patologinis procesas, pasireiškiantis priešinės liaukos parenchiminių ląstelių gausėjimu ir organo tūrio didėjimu. Ši patologija dažniausiai pasitaiko vyresnio amžiaus nekastruotiems šunims ir tiesiogiai susijusi su šuns amžiumi [82]. Svarbu pabrėžti, kad GPH yra spontaniškas, nevėžinis procesas, kurį lemia endogeninių arba egzogeninių lytinių hormonų pokyčiai. GPH procesas dažniausiai susijęs su androgenais, tačiau prostatos audinyje yra gerai išreikšta estrogenų receptorių sistema, kuri reaguoja į padidėjusius estrogenų kiekius, skatindama hiperplazinius procesus [4]. Prostatos hiperplazijos procesas prasideda, kai testosteronas iš sėklidžių patenka į kraują. Laisvoji testosterono forma per kraują pasiekia įvairius audinius, įskaitant ir prostatą. Prostatos audinyje testosteronas yra konvertuojamas į dihidrotestosteroną (DHT) dėl 5-alfa-reduktazės veiklos, fermento, turinčio dvi izoformas: I tipo ir II tipo [83]. DHT turi didesnę afinitetą prie androgenų receptorių nei testosteronas ir yra daug aktyvesnis indukuojant prostatos audinio augimą. DHT susijungia su androgenų receptoriais, esančiais prostatos epitelyje ir perneša šiuos kompleksus į ląstelių branduolį, kur jie dalyvauja reguliuojant genų ekspresiją, atsakingą už ląstelių augimą

ir proliferaciją [84]. Be to, DHT skatina citokinų ir augimo faktorių gamybą, kurie taip pat prisideda prie ląstelių proliferacijos ir prostatos audinio augimo [85]. Su amžiumi mažėjant testosterono lygiui, prostatos veikla silpnėja, tai lemia liaukos atrofijos procesą, sumažindama intensyvių androgenų poveikį [86]. Testosterono sintezės procesas pateiktas 1.6.1.1 paveiksle.



1.6.1.1 pav. Testosterono sintezė į dihidrotestosteroną

Gerybinė prostatos hiperplazija sukelia prostatos sekreto pokyčius, kurie daro reikšmingą įtaką spermos kokybei. Priežastys, dėl kurių GPH procesas turi įtakos spermatozoidų savybės pokyčiams, yra susijusios su hormonų disbalansu, veikiančiu tiek spermatogenezę, tiek spermos brandos procesus antsklidyje [87]. Be to, šunims sergant gerybine prostatos hiperplazija, keičiasi prostatos sekreto biocheminė sudėtis, o tai gali paveikti spermos kokybę ir apriboti spermatozoidų gebėjimą apvaisinti kiaušinę [88]. Liaukos hiperplazijos proceso metu vyksta oksidacinis stresas, kurio metu susidaro reaktyviosios deguonies formos (angl. *reactive oxygen species*, ROS). Nedidelis ROS kiekis yra būtinas apsauginėms ląstelės funkcijoms bei apoptozės procesui užtikrinti, tačiau pernelyg intensyvi ROS sintezė skatina įvairius pažeidimus ląstelės struktūroje ir įtaką fiziologiniams procesams. Yra žinoma, kad ROS gali pažeisti spermatozoidų branduolio ir mitochondrijų DNR, o tai gali turėti įtakos kiaušinėlio apvaisinimui bei vaisiaus embriogenezės procesams [89]. Patino spermatozoidai yra ypač jautrūs oksidaciniam stresui, nes jų citoplazmos kiekis yra nedidelis, o tai turi įtakos žemai enziminio antioksidanto koncentracijai, kuris skatina ROS neutralizaciją, tokiu būdu sumažindamas oksidacinio streso poveikį ląstelėse [90]. Viena iš reaktyviųjų deguonies rūšių klasės medžiagų yra reaktyviosios azoto rūšys (azoto oksidas, peroksinitritas, nitroksido jonai ir kt.), atsakingos už tam tikro tipo oksidacinį stresą, vadinamą nitrozaciniu stresu [91]. Domoslawska su bendraautoriais atlikto tyrimo duomenimis, šunų, sergančių gerybine prostatos hiperplazija, spermos analizė parodė, kad padidėjusi azoto oksido gamyba GPH proceso metu daro įtaką spermos kokybės rodikliams [92]. Taigi, oksidacinis stresas, pasireiškiantis GPH proceso metu, gali padidinti spermos ląstelių pažeidimą, sumažindamas

spermos judrumą, judėjimą ir morfologinį vientisumą [93]. Be to, sutrinka svarbios spermos funkcijos, tokios kaip biocheminiai mechanizmai ir spermatozoidų DNR vientisumas [94]. Krakowski ir bendraautorių atliktos studijos išvadose rašoma, kad sumažėjęs GPH sergančių šunų spermatozoidų DNR vientisumas yra susijęs su vario ir cinko koncentracijų pasikeitimais prostatos sekrete [88]. Šie jonai katalizuoja hidroksilo radikalo susidarymą (Fentono reakcija), kuris laikomas labiausiai nestabiliu ROS ir tiesiogiai dalyvauja oksidacinio streso žalos pasireiškimu procese [95,96]. Analogiškai procesai vyksta ir GPH sergančių vyrų organizme: lipidų peroksidacijos žymenų ir antioksidacinių fermentų pasikeitimai bei sumažėjęs spermatozoidų DNR vientisumas [97,98]. Flores ir bendraautorių atliktoje studijoje nustatyta, kad šunų, sergančių GPH, spermatozoidų DNR vientisumas buvo žemesnis, palyginti su sveikais gyvūnais [94]. Jackson ir kt. studijos rezultatai parodė, jog aukštas fragmentuotos DNR spermatozoidų procentas yra susijęs su vietiniu oksidaciniu stresu, kuris pasireiškė kaip šunų GPH pasekmė – tai nulėmė nuolatinį ROS procesą ir organizme sumažėjusią antioksidacinę gynybą [99].

Dar vienas iš klinikinių GPH simptomų yra hemospermija. Raudonųjų kraujo kūnelių perteklius ejakuliate gali turėti įvairių pasekmių spermatozoidams, tiesiogiai dėl padidėjusios geležies koncentracijos ejakuliate [100]. Laisva, arba nesurišta, geležis reaguoja su deguonimi sukeldama ROS produkciją. Be to, perteklinis ROS prostatos sekrete gali skatinti nesubrendusių spermatozoidų ankstyvąjį hiperaktyvumą [101,102]. Todėl yra įmanoma, kad GPH sukeltas oksidacinis stresas keičia ir spermatozoidų mitochondrijų veiklą, judėjimo modelį ir morfologinius spermos pokyčius [103].

GPH neigiamai veikia ne tik spermos kokybę, bet ir bendrą patinų sveikatos būklę. Dažnai pažengusios GPH formos gali sukelti koprostazę, diarėją, tenezmą, stranguriją, hematuriją, dizuriją arba silpnumą galinėse kojose ir nugaros skausmus [5,82,104]. Tokiu atveju patinas gali tapti letargiškas, jam gali sutrikti apetitas ir bendras aktyvumas. Dėl minėtų klinikinių simptomų sumažėja patino libido, ejakuliacijos procesas gali būti skausmingas, o ligos progresavimas be gydymo ar kontrolės gali sukelti rimtų komplikacijų, tokių kaip peritonitas [61,105].

1.6.2. Prostatitas

Prostatitas yra antra pagal dažnį patologinė prostatos būklė. Šią būklę daugeliu atvejų sukelia bakterinės kilmės infekciniai užkratai, tačiau septinis prostatitas taip pat yra prostatos būklė, tačiau pasitaikanti rečiau [106,107]. Pasak Boucif ir bendraautorių atliktos studijos, tik trečdalis prostatito atvejų yra sukelti vienos bakterijos rūšies, o kitais atvejais nustatomas mišrios bakterijų kultūros infekcinis prostatitas [108]. Infekcijos prostatos liaukoje

gali būti sukeltos aerobinių, gramteigiamų arba gramneigiamų bakterijų, tokių kaip *E. coli*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma* spp. ir kitų mikroorganizmų. Infekcijos anaerobinėmis bakterijomis yra mažai tikėtinos [10,79,109].

Predisponuojantys veiksniai prostatos infekcijai gali būti gerybinė prostatos hiperplazija, prostatos cistos, plokščiųjų ląstelių metaplazija ir neoplazija [104]. Bakterinis prostatitas būna ūminis arba lėtinis [110].

1.6.2.1. Ūminis prostatitas

Ūminis prostatitas paprastai pasireiškia ūmiais klinikiniais simptomais: anoreksija, karščiavimu, pūlingomis išskyromis iš apyvarpės, skausminga galine kūno dalimi ar net vėmimu ar diarėja. Patinai turi gerai išreikštus gynybinius mechanizmus, apsaugančius prostatą nuo infekcijų, tačiau, kai prostata yra pažeista gerybinės prostatos hiperplazijos ar cistų, ši patologija gali išsivystyti kaip antrinis susirgimas. Bakterinis prostatitas dažniausiai yra sukeltas šlaplėje esančių bakterijų, tačiau patologija gali išsivystyti ir dėl hematogeniniu keliu atnešto užkrato [61,111]. Infekcijos prostatos liaukoje gali būti sukeltos aerobinių, gramteigiamų arba gramneigiamų bakterijų, tokių kaip *E. coli*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma* spp. ir kitų mikroorganizmų. Prostatos infekcijos, kurias sukelia anaerobinės bakterijos, yra mažai tikėtinos, o grybelinės ligos, tokios kaip blastomikozė ir kriptokokozė, retai šunims sukelia prostatitą [10,79,109].

Diagnozės metodai yra identiški kaip ir GPH, tačiau prostatito atveju atliekama šlapimo ir prostatos sekreto bakteriologinė analizė. Ultragarso tyrimu gali būti nustatytas difuzinis prostatos echogeniškumo padidėjimas, kuris laikui bėgant tampa ryškesnis. Šlapimo ir prostatos sekreto bakteriologiniai tyrimai paprastai atskleidžia mišrių patogeninių bakterijų kultūrą, o didelės koncentracijos bakteriniai užkratai spermoje daro didžiulę įtaką spermos kokybei ir patino reprodukciniam statusui [61,112,113].

1.6.2.2. Lėtinis prostatitas

Lėtinis prostatitas dažniau pasitaiko tarp vyresnių patinų. Gerybinei prostatos hiperplazijai tenka pagrindinis vaidmuo lėtinio prostatito patogenezėje. Lėtinį prostatitą nustatyti sunkiau, nes dauguma šunų neturi klinikinių simptomų arba jie nėra gerai išreikšti. Skirtingai nei ūmus prostatitas, sisteminiai klinikiniai požymiai (pvz., karščiavimas, anoreksija, diarėja) ir skausmas nėra būdingi. Dažniausi su lėtiniu prostatitu susiję klinikiniai požymiai yra išskyros iš šlaplės, hematurija ar tenezmas. Šlaplės išskyros gali būti skaidrios,

pūlingos ar su kraujo priemaišomis [61]. Be to, šlapimo sistemos ligų simptomai (hematurija, polakiurija, strangurija, dizurija, piurija, poliiurija) pasireiškia daugiau nei 50 proc. šunų, patiriančių lėtinį prostatitą. Nors plačiai aprašomas kaip su prostatitu susijęs klinikinis požymis, tenezmas pasireiškia tik tada, kai prostata yra labai padidėjusi, o daugelis šunų su lėtiniu prostatitu yra besimptomiai. Kraujo laboratoriniai tyrimai sergant šia liga paprastai neviršija normos ribų [107]. Ultragarso tyrime matoma padidėjusi, simetriška, hiperechogeniškos audinio struktūros prostata su heteroechogeniškų zonų regionais. Galimas ir ypač nedidelių difuziškai išplitusių cistinių ir distrofinės mineralizacijos vaizdas, atsirandantis dėl fibrozės ir lėtinio uždegimo [114].

Lėtinis prostatitas diagnozuojamas spermos vertinimo metu, kai ejakuliate aptinkama padidėjusi leukocitų koncentracija. Prostatos sekreto, surinkto ejakuliacijos ar prostatos praplovimo būdu, tyrimas rodo lėtinio uždegimo požymius. Prostatos sekreto kultūroje dažniausiai išauga vienos rūšies bakterinės kultūros mikroorganizmai. Nepaisant to, prostatos audinių kultūra yra tiksliausias metodas nustatant lėtinės kilmės prostatitą. Be to, svarbu paminėti, kad kaip ir ūminio, taip ir lėtinio prostatito atveju kinta prostatos sekreto sudėtis ir sekrete esantis užkratas gali neigiamai paveikti patino spermą [109].

1.6.3. Prostatos cistos

Prostatos cistos dažniausiai yra susijusios su gerybine prostatos hiperplazija ir formuojasi, kai prostatos sekreciniai kanalėliai yra blokuojami ir užsikemša, tokiu būdu formuojant skysto turinio pripildytas ertmes [115].

Cistos skirstomos į intraprostatines ir paraprostatines cistas. Intraprostatinės cistos susidaro, kai prostatos parenchimoje įvyksta prostatos acinusų ertminiai pažeidimai, blokuojami išeinamieji liaukiniai kanalėliai ir ertmės užsipildo skysčiu. Šios cistos dažnai jungiasi su šlaple [59].

Paraprostatinės cistos aptinkamos už prostatos ribų ir siejamos su likusiais *uterus masculinus* elementais. Šios cistos dažnai būna labai didelės ir gali būti apčiuopiamos per pilvo sieną. Paprastai jos yra prijungtos prie prostatos cistinės ertmės audinio elementu arba sąaugomis [116].

Prostatos cistos paprastai diagnozuojamos atliekant ultragarso tyrimą. Mažos cistinės struktūros gali ne visada būti pastebimos prostatos parenchimoje, tačiau didesnės anechoiško turinio pripildytos ertmės matomos gan aiškiai. Tuo tarpu paraprostatinės cistos gali būti ultragarsu pastebimos nesunkiai [28].

1.6.4. Prostatos neoplazija

Dauguma prostatos navikų šunims histopatologiškai identifikuojami kaip adenokarcinomos arba urotelių karcinomos, tačiau aptinkama ir kitų tipų;

nors šunų prostatos navikai ir reti, jie dažniausiai yra piktybiniai, o adenokarcinoma yra labiausiai paplitęs naviko tipas [117]. Vidutinis amžius, kai diagnozuojama prostatos neoplazija šunims, yra 10 metų [109]. Paprastai prostatos navikai diagnozuojami vėlesnėse ligos stadijose, kai pastebimi klinikiniai požymiai tokie kaip hematurija, strangurija, ataksija, kacheksija [118,119]. Klinikiniai prostatos neoplazijos simptomai gali skirtis priklausomai nuo diagnozavimo laiko, invazyvumo laipsnio ir metastazių pasireiškimo [120]. Diagnozavimo metu šunų prostatos karcinoma paprastai apima aplinkinius audinius, su dideliu polinkiu į regionines (30 proc.) ir tolimas metastazes (50 proc.). Dažniausiai metastazės aptinkamos plaučiuose, juosmens stuburo (dubens) srityje arba juosmens regioniniuose limfmazgiuose [121,122].

Rektinis tyrimas šunims, sergantiems prostatos neoplazija, dažnai atskleidžia netaisyklingą, asimetrišką, padidėjusią prostatą, kuri gali būti skausminga. Prostatą paprastai vis dar yra dubens kanale, bet pažengusiais atvejais ji gali būti pilve dėl didėjančio dydžio. Kiekvieną kartą, kai atliekant rektinį tyrimą kastruotam patinui, aptinkama prostata, turėtų kilti įtarimų dėl prostatos neoplazijos; tokiu atveju turėtų būti atliekami papildomi diagnostiniai tyrimai [61]. Prostatos vėžių prognozė laikoma nepalankia dėl didelės metastazių tikimybės, pavėluotos diagnozės ir ribotos selektyvios chemoterapijos taikymo [123]. Sorenmo *et al.* (2004) atliko tyrimą, kuriame dalyvavo 17 šunų, sergančių prostatos karcinoma, iš kurių 15 negavo gydymo; šių šunų išgyvenimo trukmės mediana buvo 21 diena [124].

Prostatos naviką galima įtarti atlikus rektinį tyrimą bei diagnostinio vaizdavimo tyrimus, tokius kaip rentgeno nuotrauka, echoskopija, kompiuterinė tomografija ar magnetinis rezonansas [28,125]. Rentgeno radiniai šunims, sergantiems prostatos neoplazija, gali apimti prostomegaliją, prostatos mineralizaciją, regioninę limfadenopatiją ir metastazių į plaučius bei skeletą įrodymus [126]. Ultragarsiniai radiniai yra panašūs, tačiau taip pat apima lokalizuotas iki difuzinių hiperechogenines sritis, mineralizaciją ir normalios prostatos kontūro praradimą [127]. Išsamesni tyrimai, tokie kaip KT ar magnetinis rezonansas (MRT), pateikia ženkliai daugiau informacijos apie organą, todėl yra rekomenduojami atlikti, jei yra įtariama prostatos neoplazija [20]. Vis dėlto tiksli prostatos neoplazijos diagnozė nustatoma atlikus histologinį prostatos audinio tyrimą šunims, kuriems pasireiškia būdingi klinikiniai simptomai, susiję su prostatos vėžiu. Prostatos biopsijos atliekamos naudojant ultragarsą ar kompiuterinę tomografiją [29,128].

1.6.5. Prostatos abscesai

Prostatos abscesas yra lėtinio prostatito arba infekuotos prostatos cistos komplikacija, pasireiškianti pūlingo sekreto sanakaupa prostatos parenchimo-

je [79]. Klinikiniai simptomai skiriasi priklausomai nuo absceso dydžio ir infekcijos paplitimo organizme. Dažniausiai atsiradus prostatos abscesams šunims kyla kūno temperatūra, pasireiškia skausmai pilvo kaudalinėje dalyje, šuo gali vemti, sunkiai vaikščioti ar atsisakyti ēsti. Ypač dideli prostatos abscesai gali sukelti tenezmą ar dizuriją dėl spaudimo žarnyne ar šlaplėje [129]. Labai dažnai pasireiškia pūlingos išskyros iš penio. Patino ejakuliatas būna pūlingas, tiriant spermą diagnozuojama piospermija ir nekropermija [96].

Prostatos abscesų diagnostika dažniausiai remiasi prostatos rektiniu tyrimu, ultragarsiniu tyrimu ir prostatos sekreto bakteriologine analize. Taip pat rekomenduojama atlikti ir kraujo tyrimus: kraujo morfologiją, biochemines analizes ir C reaktyvinio baltymo tyrimą [79].

Rektinė palpacija dažnai atskleidžia padidėjusią, vietomis ypač minkštos konsistencijos ir ypač skausmingą prostatą. Ultragarso tyrimo metu prostatos abscesas matomas kaip heteroechogeniško ar turinio pripildyta ertmė su hiperechogeniška kapsule. Analogiškai abscesus galima diagnozuoti ir KT bei MRT tyrimais [28,130,131].

1.6.6. Prostatos metaplazija

Prostatos metaplazija apibrėžiama kaip epitelio ląstelių degeneracija, kurią sukelia per didelis egzogeninių ar endogeninių estrogenų fonas šuns organizme [132]. Jei patino organizme nustatoma aukšta estrogenų koncentracija, paprastai tai siejama su Sertoli ląstelių naviku, kuris ir sukelia šią prostatos patologiją. Prostatoje vienasluoksnis epitelis tampa daugiasluoksniu epiteliu su keratino ląstelėmis (plokščialąstelinis). Prostatos metaplazija skirstoma į plokščiąją bei mieloidinę. Plokščioji metaplazija dažniausiai atsiranda dėl estrogenų poveikio, pavyzdžiui, ilgalaikės gydomosios hormonų terapijos ar Sertoli ląstelių naviko. Dėl epitelio ląstelių sekretinio aktyvumo praradimo sumažėja prostatos sekreto kiekis, o keratinizacijos procesai gali blokuoti liaukinius kanalėlius, skatindami cistų formaciją. Mieloidinė metaplazija dažniausiai susijusi su lėtiniu uždegimu ar hormoniniais pokyčiais, skatina uždegiminių citokinų (pvz., IL-6, TNF- α) aktyvaciją, keičia prostatinio sekreto pH bei sumažina jo antibakterines savybes, taip pat mažindama cinko ir citratų koncentraciją, svarbią spermos apsaugai [79,132–134]. Androgenų dariniai skatina ląstelių hiperplaziją ir sensibilizuoja prostatos ląsteles estrogenų poveikiui; estrogenai sukelia prostatos ląstelių struktūrinius pokyčius (metaplaziją), didina androgenų receptorių skaičių ir gali netgi sukelti ląstelių pažeidimus, susijusius su laisvaisiais radikalais [135]. Prostatos metaplaziją galima įtarti atlikus rektinį tyrimą, ultragarso tyrimą ar kitus diagnostinius vaizdavimo tyrimus. Visgi galutinę diagnozę patvirtinama tik citologinio ar histopatologinio tyrimo metu, imant mėginį iš prostatos audinio [10,134].

Prostatos metaplazija gali neigiamai paveikti šuns patino reprodukcinį statusą dėl hormoninių pusiausvyros sutrikimų. Estrogenų, kurie yra pagrindiniai metaplazijos vystymosi veiksniai, perteklius gali slopinti testosterono gamybą, o tai savo ruožtu mažina spermos gamybą ir jos kokybę. Ši liga šunims gali sukelti skausmą ir diskomfortą kergimo metu, dėl ko gali sumažėti jų libido ir gebėjimas dalyvauti veisimo procese [59].

1.7. Šunų besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos diagnostika

Besimptomės GPH diagnozei nustatyti taikomi įvairūs metodai – pradedant nuo šuns ligos istorijos bei klinikinės apžiūros ir baigiant ypač moderniais metodais, tokiais kaip kompiuterinė tomografija, magnetinis rezonansas, prostatos audinio citologiniai, histopatologiniai ir bakteriologiniai tyrimai. Vis dėlto, nesant klinikiniams simptomams, šios prostatos būklės diagnostika yra ypač sudėtinga. Tokiu atveju dažnai patinams reproduktoriams yra atliekama spermos analizė, siekiant įvertinti ar galimai progresuojanti besimptomės GPH forma turi įtakos patino spermos kokybei [61].

Papildomai yra atliekami ir šlapimo tyrimai (bakteriologinis šlapimo tyrimas, šlapimo sudėties analizė, šlapimo citologinis tyrimas) bei kraujo tyrimai: morfologinės bei biocheminės kraujo analizės. Vis dėlto minėti tyrimai paprastai atliekami jau pasireiškus GPH klinikiniams simptomams. Kalbant apie besimptomės GPH diagnostiką, svarbiausia yra laiku aptikti šią būklę, siekiant sumažinti rimtų komplikacijų riziką, todėl diagnostikai yra naudojami ne vienas, o keli metodai, kurių rezultatai yra derinami ir analizuojami ar yra sąsaja su prostatos hiperplazijos procesais [79,136].

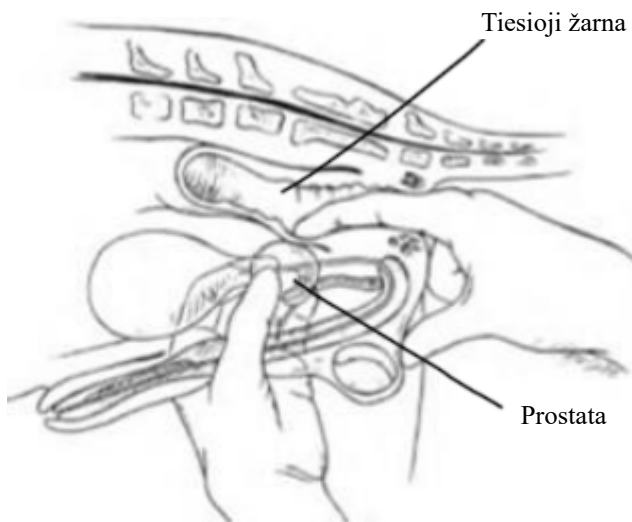
Visgi reikėtų pabrėžti, kad galutinei diagnozei nustatyti dažniausiai remiamasi plonos adatos aspiracijos ar prostatos audinio biopsijos tyrimo rezultatais. Kadangi prostatos biopsija yra itin invazyvus metodas, veterinarinėje praktikoje šios procedūros stengiamasi išvengti dėl galimybės, kad navikinės ląstelės išplistų į kitus organus (esant prostatos naviko įtarimams), dėl dalinio prostatos šlaplės pažeidimo, taip pat dėl galimybės susirgti prostatitu, išsivystyti peritonitui, pasireikšti, hematurija ar kitomis komplikacijomis. Dėl šių priežasčių klinikinėje praktikoje siekiama sudaryti besimptomės GPH diagnostinį planą, kuris apimtų mažiau invazyvius metodus. Derinant skirtingų diagnostinių metodų vertinimo rezultatus yra galimybė diagnozuoti besimptomę GPH netaikant minėtų invazyvių metodų [27,137].

Veterinarinėje praktikoje besimptomės GPH diagnozei dažniausiai yra naudojami keli metodai: rektinis tyrimas, diagnostinio vaizdavimo metodai, CPSE tyrimas bei spermos analizė esant patino reproduktoriaus suprastėjusiai vaisingumo istorijai [7,28,138].

1.7.1. Rektinis tyrimas

Rektinis tyrimas, kuris yra dažniausiai naudojamas metodas tiek žmonių medicinoje, tiek veterinarijos praktikoje, siekiant įvertinti prostatos būklę [13,67]. Tai yra mažai invazyvus metodas, kuris leidžia įvertinti prostatos anatominę lokalizaciją, dydį, skilčių simetriškumą, liaukos paviršiaus grublėtumą, skausmingumą, konsistenciją ir prostatos mobilumą [139]. Sveiko šuns prostata lokalizuojasi dubens ertmėje, ventralinėje gaktikaulio simfizės plokštumoje. Liauka yra priglodusi prie šlapimo pūslės kaudokranialiniu aspektu, o dorsalinė prostatos dalis turi sąlytį su tiesiąja žarna [57]. Palpuojant sveiką prostatą liaukos skiltys yra simetriškos, lygiu paviršiumi, organas yra paslankus ir neskausmingas [61]. GPH atveju prostata čiuopiant rektaliai yra padidėjusi dažniausiai tais atvejais, kai yra išreikšti klinikiniai simptomai, susiję su prostatomegalija. Priešingu atveju, esant besimptomei formai, liaukos tūrio padidėjimo rektaliai galima ir nepajauti. GPH atveju prostatos skiltys gali būti simetriškos arba asimetriškos, konsistencija minkšta, liauka neskausminga, paslanki, dėl padidėjusio tūrio gali būti pasislinkusi kranialiau nuo gaktikaulio [61,79,114].

Nepaisant to, kad rektinio tyrimo metu galima įvertinti nemažai aspektų, šis tyrimas yra subjektyvus. Visų pirma, rektinį tyrimą atlikti mažos ir miniatūrinės veislės šunims yra gana skausminga procedūra, o metodas invazyvus. Be to, vertinant prostatą, yra čiuopiama tik dorsalinė liaukos dalis, o ventralinė dalis yra nepasiekiamą ir lieka neįvertinta [79,140]. Nepaisant tam tikrų apribojimų, veterinarinėje praktikoje rekomenduojama visiems patinams atlikti rektinį tyrimą, nes ši procedūra yra vertinga kaip pirminis prostatos būklės vertinimo metodas. Rektinio tyrimo metu surinkta informacija gali padėti nustatyti galimas prostatos patologijas, o pastebėjęs įtartinus pokyčius, veterinarijos gydytojas gali sudaryti tolesnį diagnostinį planą, skirtą prostatos ligų diagnostikai atlikti [11,114,141]. Rektinio tyrimo procedūra pavaizduota 1.7.1.1 paveiksle.

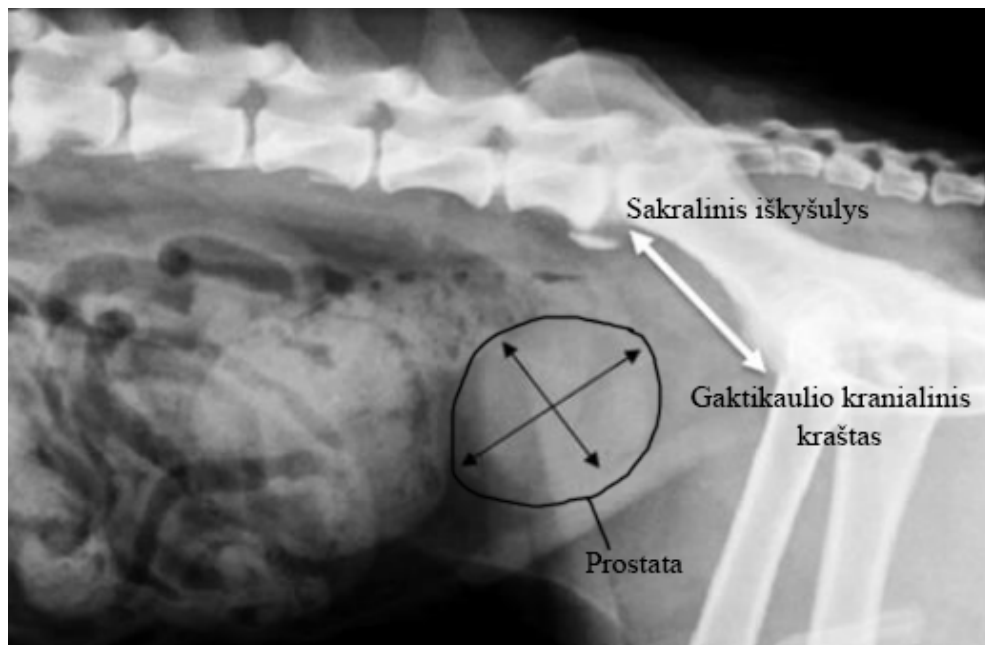


1.7.1.1. pav. *Prostatos rektinis tyrimas*

1.7.2. Prostatos rentgeninis tyrimas

Rentgeno tyrimas vertinant prostatą yra ribotos vertės. Radiografija gali būti naudojama prostatos dydžiui, formai, kontūrai ir anatomicinei lokalizacijai nustatyti [137]. Vertinant rentgeno nuotrauką negalima tiksliai diagnozuoti konkrečių prostatos ligų. Norint išgauti geros kokybės prostatos vaizdą, šuo turi būti guldomas ant šono ir ramiai gulėti, kol bus atlikta nuotrauka, o dažniausiai tai reikalauja sedacijos ar pagalbinių asmens [79]. Be to, prostata ventrodorsalinėse projekcijose yra dubens zonoje ties gaktikauliu, dėl to ją sunku vizualizuoti ir vertinti, nes vaizdą gali blokuoti kiti organai bei žarnyne susikaupusios dujos [142]. Nepaisant ribotos tyrimo vertės, atlikus rentgeno nuotrauką galima prostatoje aptikti dideles intraprostatines cistas, išmatuoti prostatos dydį bei įvertinti organo formą [143]. Normalios prostatos dydis turėtų būti ne daugiau kaip 50 proc. priekinės dubens atvaros pločio ventrodorsalinėje pozicijoje (1.6.4 pav.) [14]. Remiantis kita studija, prostatos ilgis arba aukštis, didesnis nei 70 proc. atstumo nuo sakralinio iškyšulio iki gaktos krašto, apibrėžiamas kaip padidėjęs, o ilgis, lygus arba mažesnis nei 70 proc., laikomas normaliu [144]. Kontrastinė radiografija arba kontrastinis cistogramos naudojimas leidžia geriau vizualizuoti šlapimo pūslę, kuri yra orientyras lokalizuojant prostatą. Prostatos dalis šlaplėje gali būti tiriama atliekant retrogradinę uretrocistografiją [145]. Tais atvejais, kai kyla įtarimų dėl neoplazijos, galima atlikti krūtinės ląstos ir pilvo radiografijas, siekiant įvertinti galimas metastazes dubens limfmazgiuose, stuburo kauluose ir plau-

čiuose [146]. Prostatos dydžio matavimas rentgenogramoje pateiktas 1.7.2.1 paveiksle.



1.7.2.1 pav. Prostatos ir dubens kaulų matavimai vertinant prostatos dydį

1.7.3. Prostatos ultragarso tyrimas

Ultrasonografija, pradėta taikyti 1967 m. žmogaus prostatai įvertinti, tapo nebrangia, neinvazyvia ir prieinama prostatos būklės vertinimo metodika [147]. Echoskopuojant prostatą galima įvertinti prostatos anatominę lokalizaciją, audinio struktūrą, kraujotakos rodiklius, liaukos formą bei matmenis (ilgį, plotį ir aukštį bei tūrį) ir aplinkinius prostatos limfinius mazgus bei kitus regioninius organus [148]. Šiai procedūrai gali būti naudojami kelių rūšių echoskopijos davikliai: transrektiniai bei abdominaliniai [144].

Transrektinis ultragarsas (TRUS) yra tikslus prostatos vizualizavimo metodas [149]. Atliekant šią procedūrą reikia ne tik specialios ultragarso įrangos, bet ir paciento sedacijos. Šunims transrektalinė ultrasonografija sukelia diskomfortą, kai daviklis įvedamas į tiesiąją žarną, ypač jei yra prostatomegalija. Be to, reikų paminėti, jog šios procedūros metu yra taikoma anestezija [150]. Nors TRUS metodika gali būti naudojama bendram prostatos liaukos ir gretimų struktūrų ultrasonografiniam vertinimui atlikti, dažniau ji taikoma atliekant transrektines procedūras (pvz., biopsijai ir citologiniam mėginiui paimti) [50,151]. Ši metodika paprastai naudojama žmonių medicinoje,

o veterinarinėje praktikoje labiau prieinamas yra abdominalinis ultragarsas [152,153].

Veterinarinėje praktikoje, siekiant išvengti paciento sedacijos, dažniausiai naudojamas abdominalinis ultragarsas [148]. Atliekant prostatos ultragarsą, pacientas gali būti guldomas ant šono arba į ventrodorsalinę poziciją. Kartais procedūra atliekama šuniui stovint. Galima rinktis linijinį arba konusinį (sektorinį) daviklį. Rekomenduojamas 7,5 iki 10,0 MHz dažnis, o prostatos vizualizaciją palengvina, jei patino šlapimo pūslėje yra turinio [28,154]. Vaizdavimas visada turėtų būti atliekamas tiek skersiniame, tiek išilginiame pjūvyje. Normalios šuns prostatos liaukos audinio struktūra yra homogeniška su vidutiniu echogeniškumu. Liaukos skiltys simetriškos, su aiškiai matomais kontūrais ir vientisa kapsule. Prostata yra lokalizuota kaudaliau šlapimo pūslės. Tyrimo metu taip pat yra stebimas ventrodorsalinis sąlytis su tiesiąja žarna. Skersiniame vaizde matomos dvi prostatos skiltys, o jų centriniame taške – prostatą kertanti šlaplės dalis, kuri yra mažesnio echogeniškumo zona arba anechoiška [15,155].

Pasireiškus prostatos ligoms visų pirma keičiasi prostatos audinio echogeniškumas ir liaukos dydis. Prostatito atveju audinys yra ypač hiperechogeniškas, o prostatos neoplazijos atveju gali būti stebimas liaukos audinio heteroechogeniškumas bei kalcinatai ir cistos ir dažnu atveju – pakitę regioniniai limfiniai mazgai [27,125]. O echoskopuojant GPH paveiktą prostatą, stebimas padidėjęs parenchimos echogeniškumas su mišraus echogeniškumo lokaliomis arba difuziškai išplitusiomis zonomis. Be to, prostatos liaukos gali būti saikingai asimetriškos formos, o kapsulės kontūras pažeistas [10,104]. Vertinant cistų pasireiškimą, dažniausiai dominuoja difuziškai išplitusios intraprostatinės iki <10 mm skersmens cistos, tačiau kai kuriais atvejais galima aptikti ir pavienių ar išplitusių didesnio skersmens cistų (>10 mm) [156]. Nizański ir bendraautorių atliktame tyrime buvo pastebėtas ir paraprostatinių cistų pasireiškimas GPH sergantiems šunims, kurių ligos klinikiniai simptomai buvo aiškiai išreikšti [157].

Atliekant šunų prostatos echoskopiją praktikoje pradėta naudoti Doplerio ultrasonografija. Ši metodika suteikia naudingų duomenų apie kraujo tekėjimo modelius ir greitį, susijusį su prostatos liaukos būkle. Šuns prostatos liaukos skiltys turi nepriklausomą kraujotaką, taigi kiekviena prostatos skiltis yra aprūpinama skirtingomis kraujagyslėmis, todėl esant prostatos patologijoms galima stebėti skilčių asimetriškumą [158,159]. Spalviniu Dopleriu vertinamos trys prostatos arterijos lokacijos: marginalinė, subkapsulinė ir parenchiminė. Aptikus šias kraujagyslės lokacijas, ultragarso aparatu nustatomas matavimo žymeklis ant kraujagyslės skersinio pjūvio ir atliekamas kraujo tėkmės rodiklių matavimas. Registruojamas sistolinės tėkmės greitis (PSV), diastolės pabaigos greitis (EDV) ir atsparumo indeksas (RI) [160].

Moksliniuose tyrimuose pastebėta, kad diagnozavus GPH šunų prostatose, minėti rodikliai kinta, priklausomai nuo išreikštos prostatomegalijos laipsnio, todėl ši metodika yra rekomenduojama kaip papildomas tyrimas, kuris suteikia reikšmingos informacijos vertinant prostatos būklę [157].

Neseniai veterinarinėje praktikoje pradėta naudoti kontrastinė ultrasonografija (angl. CEUS) [161]. Ši metodika leidžia įvertinti organo kraujagyslių tinklą naudojant kontrastines medžiagas, pavyzdžiui, sieros heksafluoridą. CEUS technika yra paremta intraveniniu kontrastinės medžiagos, sudarytos iš mažesnių nei 7 mikronų dydžio dujų mikroburbulų, aplikavimu į šuns kraujotaką. Kontrastinių medžiagų suleidimas lemia laikiną echosignalo sustiprėjimą prostatoje, kurį galima aptikti naudojant specifinę ultragarso įrangą [127]. Tokiu atveju prostata yra ypač gerai vizualizuojama, lengviau atlikti matavimus, įvertinti prostatos ribas, dydį, echogeniškumą bei cistų pasireiškimą parenchimoje. Vis dėlto kontrastinė medžiaga yra brangi, o specifinė ultragarso operacinė sistema prieinama ne visuose aparatuose, todėl ši metodika veterinarinėje praktikoje naudojama gana retai [28,162]. Nepaisant to, CEUS ultrasonografija yra perspektyvi metodika vertinant prostatą, o ypač specifinius pokyčius ir rodiklius pasireiškus GPH [163].

Svarbu paminėti, kad abdominalinis echoskopinis tyrimas taip pat yra naudojamas kaip pagalbinis instrumentas atliekant prostatos audinio mėginių ėmimą citologiniam tyrimui ar atliekant prostatos biopsiją [164].

1.7.4. Prostatos biopsija ir citologinis tyrimas

Ultragarso asistuojama plonos adatos aspiracija ir prostatos audinio biopsija yra tiksliausi tyrimai, siekiant diagnozuoti prostatos patologijas [136]. Plonos adatos aspiracija gali būti naudojama ne tik prostatos audiniui paimti, bet ir intraprostatinių cistų drenažui ar turinio surinkimui citologiniam bei mikrobiologiniam tyrimams atlikti [16,61,143]. Pagrindinė kontraindikacija prostatos turiniu pripildytų ertmių aspiracijai yra prostatos abscesas. Absceso drenavimas yra rizikingas dėl pūlingo turinio išsiliejimo į pilvo ertmę ar užkrato perdavimo į kitus regioninius organus ar pilvo ertmę. Nepaisant šių rizikų, prostatos cistų ar abscesų aspiracija ir drenažas yra vienas iš gydymo metodų pasirinkimo veterinarinėje praktikoje [130].

Prostatos plonos adatos aspiracija bei audinio biopsija yra atliekama šuni seduoiant. Aspiracija paprastai atliekama naudojant abdominalinę ultragarsą, tačiau aprašytos perirektalinės ir rektalinės prostatos aspiracijos. Verta paminėti, jog šią procedūrą galima atlikti ir skenuojant šunį kompiuteriniu tomografu [165]. Prostatos citologinio tyrimo metu naudojama spinalinė adata ir sterilus švirkštas [22,115]. Surinktas turinys iš prostatos yra aspiruojamas ant mikroskopinio stikliuko, fiksuojamas ir siunčiamas citologiniam vertinimui

atlikti. Jei yra įtarimų dėl bakterinės kilmės užkrato prostatoje, rekomenduojama atlikti ir bakteriologinį tyrimą iš surinkto turinio prostatoje [60,129].

Prostatos biopsija yra laikoma „auksiniu“ standartu nustatant prostatos patologijas [166]. Dėl didelio invazyvumo prostatos audinio biopsija yra dažniausiai atliekama įtariant prostatos onkologiją, siekiant tiksliai diagnozuoti neoplazijos tipą bei atitinkamai paskirti gydymą [79]. Biopsijos mėginiai gali būti paimti keliais būdais: atliekant dūrį per pilvo sieną į prostatą, perirektiniu būdu arba chirurginės ar laparoskopinės operacijos metu [22,147,167].

Naudojant perirektalinį metodą biopsijos įrankis valdomas tuo pačiu metu atliekant transrektalinę palpaciją, o transabdominalinis metodas paprastai valdomas ultragarsu [168]. Atliekant chirurginę operaciją yra daromas pjūvis per pilvo sieną, vizualizuojama prostata ir tuomet imamas mėginys [169]. Atliekant laparoskopinę audinio biopsiją, naudojami specialūs instrumentai, o pats operacijos principas yra minimaliai invazyvus, palyginus su atviro pjūvio operacija [167].

Vis dėlto prostatos audinio plonos adatos citologija ar audinio biopsija yra ypač invazyvi technika, kuri reikalauja ne tik gyvūno sedacijos ar anestezijos, bet dažnai susiduriama ir su komplikacijomis [114].

1.8. Modernūs šunų besimptomės GPH formos diagnostikos tyrimai

Veterinarinėje praktikoje naudojami diagnostiniai metodai prostatos būklei vertinti dažniausiai yra rektinis tyrimas ir ultragarso tyrimas. Nepaisant to, kad ultragarso tyrimas yra ypač naudingas vertinant prostatą, šių laikų veterinarinėje medicinoje yra vis dažniau naudojami ir modernūs metodai, kurie yra ženkliai informatyvesni. Prostatos ligų diagnostikai yra naudojama kompiuterinė tomografija, magnetinis rezonansas, elastografija bei šunų prostatos specifiniai markeriai – CPSE [20,26,28,131,170].

1.8.1. Šunų prostatos specifinė esterazė

Žmonių medicinoje prostatos ligų diagnostikos priemonės patyrė didelę pažangą, kai buvo ištirtas prostatos specifinis antigenas [171]. Dėl šio pasiekimo padidėjo diagnozuotų prostatos ligų atvejų skaičius, nes atsirado galimybė nustatyti besimptomius atvejus. PSA yra proteolitinis glikoproteinas, esantis vyrų prostatos audinyje, o jo koncentracija didėja sergant gerybine prostatos hiperplazija, prostatitu ir piktybiniais navikais [23,172]. Dėl minėtų priežasčių mokslininkai pradėjo tirti ir šunų patinų specifinius prostatos biomarkerius, kurie galėtų padėti diagnozuoti prostatos ligas ankstyvojoje stadijoje [25]. Svarbiausi trys šunų prostatos žymenys yra šarminė fosfatazė, karnitinas ir specifinė prostatos esterazė. Šarminė fosfatazė ir karnitinas siejami su antsėklidžio ir sėklidės kanalėlių tinklo sutrikimais [173].

Žmonių medicinoje šarminė fosfatazė ir PSA yra naudojami prostatos karcinomos diagnostikai atlikti, tačiau šie žymenys šunims tebėra diskutuoti, nes abiejų markerių koncentracija nebuvo pakitusi prostatos neoplazijų atvejais, todėl klinikinėje praktikoje šie biomarkeriai nėra naudojami identifikuojant prostatos ligas [26]. Šunų prostata yra vienintelis organas, produkuojantis CPSE [174]. Šis fermentas yra aptiktas prostatos sekrete ir prostatos epitelinėse ląstelėse [175]. Neseniai atlikti tyrimai parodė, kad CPSE koncentracija didėja vykstant prostatos hiperplazijos procesams vyresnio amžiaus šunų populiacijoje [24,25,138]. Svarbu paminėti, kad CPSE yra atsakingas ir už spermatozoidų geba prisijungti prie cinko jonų bei apvaisinti kiaušialąstę [176–178].

Kasdienėje klinikinėje praktikoje CPSE tyrimas taikomas trimis pagrindiniais androloginio vertinimo aspektais: pirma, jis veikia kaip diagnostinė priemonė prostatos sutrikimams nustatyti; antra, naudojamas kaip biomarkeris ankstyvajai prostatos hiperplazijos diagnostikai; trečia, yra svarbus atiekant prostatos hiperplazijos stebėseną. [24,26,138]. Svarbu pabrėžti, kad CPSE yra ne tik inovatyvus, bet ir neinvazivus ir nebrangus tyrimas [63].

1.8.2. Kompiuterinė tomografija

Kompiuterinė tomografija yra vienas iš svarbiausių medicinos diagnostinio vaizdavimo atradimų. Pirmasis klinikinis KT tyrimas žmogui buvo atliktas 1971 metais Anglijoje, naudojant prototipinę galvos skenerį, o veterinarinėje medicinoje ši metodika pradėta taikyti tik po beveik 10 metų, kai 1980 metais KT buvo pirmą kartą atlikta šuniui, nustatant neoplazijas stuburo ir galvos srityse [21,170]. Kaip ir žmonių medicinoje, taip ir veterinarijoje, KT pradėta naudoti įvairių ligų diagnostikai atlikti.

Kompiuterinė tomografija veterinarinėje praktikoje yra naudojama diagnozuojant skeleto lūžius, sąnarių patologijas ir displazijas, galvos ir stuburo smegenų pažeidimus, krūtinės ląstos bei pilvo organų vertinimui bei onkologiniams pakitimams ir metastazėms aptikti [179]. Kompiuterinė tomografija yra ženkliai pranašesnis tyrimas negu rentgenografija ar ultragarso tyrimas. Priešingai nei diagnostinė rentgenografija, KT formuoja tiriamosios srities ašinį pjūvį ir gali išgauti trimatį organo vaizdą. Be to, šis diagnostinis metodas leidžia geriau atskirti minkštųjų audinių struktūras, palyginus su rentgeno ar ultragarso tyrimais. KT vaizdų interpretacija yra mažiau subjektyvi ir nepriklauso nuo operatoriaus įgūdžių. Procedūros metu dažnai aplikuojama kontrastinė medžiaga, kuri leidžia vertinti minkštųjų audinių tankį ir atskirti patologinius procesus [142,180,181].

Kompiuterinė tomografija tiriant prostatą literatūroje nėra dažnai aprašoma, tačiau susidomėjimas šiuo metodu yra didelis dėl reprodukcinių organų

vertinimo galimybių [180]. KT šunų prostatos tyrimams gali būti naudinga, nes suteikia informacijos apie liaukos anatominę lokalizaciją, organo audinio morfologines savybes, regioninių limfmazgių bei organų būklę ir dėl metastazinių židinių aptikimo ir paplitimo vertinimo [29,142]. Kontrasto aplikavimas KT tyrimo metu yra vertingas metodas, nes esant skirtingiems prostatos susirgimams yra stebimas skirtingos prostatos audinio tankio kontrastavimosi vertės bei pačios audinio struktūros vaizdas [131,182]. Taip pat kontrastinės medžiagos naudojimas KT tyrimuose gali padėti vertinti ir prostatos kraujotakos sistemą [183].

Šunų prostatos tūris neseniai buvo išmatuotas naudojant KT vaizdus bei specialią operacinę sistemą, pasitelkus trimatį prostatos vaizdą. Palyginus prostatos tūrį, naudojant ultragarsą ir kompiuterinę tomografiją, pastebėti reikšmingi neatitikimai. Dėl šių neatitikimų echoskopijos metu apskaičiuotas prostatos tūris nėra tikslus, todėl klinikinėje praktikoje reiktų atkreipti dėmesį į šį faktą [17,184,185]. Be to, vertinant prostatos onkologinius susirgimus, KT yra efektyvesnis metodas, leidžiantis tiksliai apibrėžti prostatos formą, dydį, tankį, tūrį, intersticinius pakitimus bei regioninius limfinius mazgus, organus ir galimas metastazes [186].

Šiuo metu veterinarinėje praktikoje KT yra lengvai prieinama ir nebrangi procedūra. Nepaisant to, jog procedūros metu yra taikoma bendroji nejautra, tyrimo trukmė paprastai užtrunka iki 30 minučių, [187].

Svarbu paminėti, jog KT leidžia įvertinti prostatą kaip su tyrimu nesusijusį organą, kuris nuskenuojamas, kartu vykdant aplinkinių organų tyrimą, pvz.: apžvalginę pilvo diagnostinę KT. Pasak Caspanello ir bendraautorių, kompiuterinė tomografija yra pažangi vaizdavimo technika, galinti lemti atsitiktinių organų patologijų nustatymą, kurie gali vadintis „incidentaloma“, arba atsitiktiniu radiniu. Šis terminas apibrėžia KT metu aptikus besimptomius kitų skenuojamų organų pakitimus, kurie pastebėti visai su tyrimo tikslu nesusijusiomis aplinkybėmis, įvertinus kitą organą, kuris nuskenuotas atsitiktinai. Atlikus retrospektyvią studiją, Caspanello ir kt. tyrimo rezultatai parodė, kad peržiūrėjus 561 KT skenavimus, kurie per šešerius metus buvo atlikti 512 šunims bei 49 katėms vienoje Italijos veterinarinėje klinikoje buvo rasta net 80 atsitiktinių radinių (57 šunims ir 4 katėms). Taigi, darant su prostata nesusijusį KT tyrimą ir nuskanavus prostatą kaip antrinį organą, yra tikimybė aptikti įvairias šio organo patologijas arba atlikus atitinkamus organo vertinimus įtarti prostatos patologiją [29].

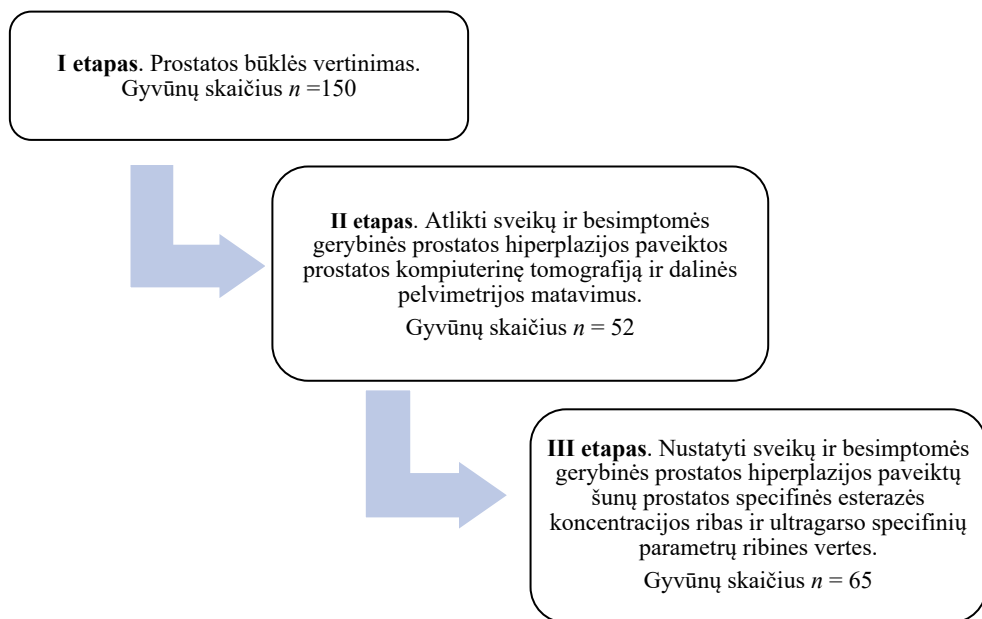
1.8.3. Magnetinis rezonansas

Magnetinis rezonansas veterinarinėje medicinoje pradėtas naudoti tik 1990 metais [188]. Pradžioje dauguma veterinarinių MRT tyrimų buvo atliekami šunų galvos ir smegenų srityje ir tik vėliau buvo naudojami nugaros ir ortopedinių patologijų tyrimams atlikti [116]. Praktikoje naudojami skirtingo magnetinio lauko stiprumo magnetinio rezonanso prietaisai: žemo stiprumo (0,2–0,4 teslų), vidutinio (0,5–1 T) ir aukšto (> 1 T) lauko stiprumo įrenginiai [189]. Aukšto magnetinio lauko stiprumo sistemos gerina vaizdų kokybę, jos yra skirtos smegenų tyrimams atlikti ir leidžia taikyti pažangias sekas, siekiant išgauti itin geros kokybės vaizdus. Deja, šios sistemos yra itin brangios, dideli eksploatavimo kaštai bei techninė priežiūra. Skirtingai nuo jų, žemesnio magnetinio lauko stiprumo MRT skeneriai yra labiausiai paplitę veterinarinėje praktikoje ne tik dėl prieinamos kainos, bet ir paprastesnio įrengimo bei priežiūros [190]. MRT tyrimas veterinarinėje praktikoje dažniausiai taikomas smulkių gyvūnų CNS pažeidimams vertinti, navikiniams susirgimams smegenyse diagnozuoti bei nugaros išvaržoms lokalizuoti. Magnetinio rezonanso tyrimas šunų reprodukciniam traktui vertinti paprastai rekomenduojamas atlikti įtariant onkologinius procesus [21]. Yra atlikta ne viena studija vertinant prostatos vėžinius susirgimus, naudojant MRT, tačiau diagnozuojant mažesnę riziką šuns sveikatai sukeliančias ligas, tokias kaip GPH ar prostatitas, šis tyrimas nėra rekomenduojamas dėl ilgo pacientų paruošimo laiko, daugiau nei valandą laiko trunkančios bendrosios nejautos ir galimos reakcijos į po-odinius metalinius implantus. Be to, dėl didelės tyrimo kainos ir galimo kitų diagnostinių metodų pasirinkimų spektro, kurie yra tinkami diagnozuoti ir diferencijuoti prostatos susirgimus [123,191–193].

2. MOKSLINIO TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGOS

2.1. Tyrimo vieta, eiga ir atlikimo planas

Mokslinis tyrimas buvo atliekamas veterinarijos klinikoje Kaune (veterinarijos klinika „Kauno veterinarijos praktika“), Vilniuje (veterinarijos klinika „Jakovo veterinarijos centras“), Lietuvos sveikatos mokslų universitete, Veterinarijos fakulteto Stambijų Gyvūnų Klinikos gyvūnų reprodukcijos laboratorijoje ir Veterinarinės patobiologijos katedros Patologijos centre. Tyrimai buvo atliekami 2018–2023 m. Vadovaujantis tyrimo uždaviniais, mokslinis darbas buvo suskirstytas į tris etapus (2.1.1 pav.).



2.1.1 pav. Mokslinio tiriamojo darbo schema

2.2. Pirmasis tyrimo etapas. Prostatos būklės vertinimas

2.2.1. Klinikinė apžiūra ir rektinis tyrimas

Pirmame tyrimo etape buvo ištirta 150 didelių ir milžiniškų veislių kliniškai sveikų, nekastruotų šunų reproduktorių, kurių svoris buvo didesnis nei 25 kg (nuo 25 kg iki 70 kg, vidurkis – 39,1 kg), o amžius daugiau nei 3 metai (nuo 3 iki 10 metų, vidurkis – 6 metai). Šunys profilaktinei apžiūrai buvo atvežti į veterinarijos klinikas Kaune ir Vilniuje. Į klinikinės apžiūros protokolą buvo įtraukta:

1. Paciento klinikinės istorijos analizė;
2. Fizinė apžiūra (kūno masės indekso, stovėsenos ir eisenos vertinimas, temperatūros matavimas, svorio fiksavimas, nugaros – galūnių – kaklinės kūno dalies palpacija skausmui įvertinti);
3. Odos ir kailio apžiūra (vertinant, ar nėra išplikimų, odos ar kailio pažeidimų);
4. Akių, ausų ir burnos ertmės apžiūra (akių būklės vertinimas vizualiai apžiūrint išoriškai, ausų apžiūra bei vidurinės ausies kanalo stebėjimas naudojant otoskopą, burnos ertmės ir dantų būklės vertinimas vizualiai, išžiodžius šunį);
5. Kvėpavimo sistemos apžiūra (plaučių auskultacija, kvėpavimo dažnio vertinimas, trachėjos palpacija);
6. Kardiovaskulinės sistemos apžiūra (širdies auskultacija, kraujospūdžio matavimas, dantenų gleivinės kapiliarų prisipildymo greičio įvertinimas);
7. Pilvo palpacija (pilvo organų apčiuopa atliekama išoriškai, per pilvo sieną);
8. Neurologinis tyrimas (koordinacijos, refleksų bei skausmo atsako įvertinimas spaudžiant galinės kojos pėdą atsakas).

Atlikus klinikinę profilaktinę kliniškai sveikų patinų apžiūrą, buvo atlikta reprodukcinų organų patikra. Pradžioje buvo įvertinti išoriniai lytiniai organai: apyvarpė, penis ir sėklidės. Apyvarpė vertinama vizualiai, apžiūrint išoriškai apyvarpės odą, kailį ir anatominę struktūrą. Atsmaukus apyvarpės odą įvertinta vidinė apyvarpės gleivinė. Penisas, atsmaukus apyvarpę, buvo vertinamas vizualiai, apžiūrint, ar nėra mukopurulentinių gleivių, kraujingų išskyurų, petechijų, žaizdų, galimų onkologinių darinių bei anatominių anomalijų. Sėklidės buvo vertinamos palpacijos principu: pirštais palpuojant kiekvieną sėklidę atskirai, vertinant organų formą, konsistenciją, skausmingumą, dydį ir mašnelės odos būklę. Įvertinus išorinių reprodukcinų organų būklę, buvo atliktas rektinis tyrimas prostatai įvertinti.

Rektinis patinų tyrimas atliktas stovėjimo pozėje. Naudojant vienkartinės lateksines pirštines rodomasis pirštas buvo pateptas specialiu androloginiu geliu („ReproJelly“, „Minitube GmbH“, Tiefenbachas, Vokietija) ir įvestas į tiesiąją žarną. Rektiniu tyrimu prostata buvo vertinama pagal šiuos kriterijus:

1. Dydis (pagal autorių pasiūlytą skalę, 2.2.1.1 lentelė);
2. Skausmingumas (pagal autorių pasiūlytą skalę, 2.2.1.2 lentelė);
3. Forma – simetriška, asimetriška;
4. Konsistencija – kieta, vidutinio kietumo, minkšta;
5. Paviršius – lygus, grublėtas;

6. Anatininė lkalizacija – dubens srityje, pasislinkusi kaudaliai dubens, pasislinkusi kranialiai dubens.

Prostatos dydis ir skausmingumas buvo vertinami pagal autorių sudarytą taškų vertinimo skalę, kuri leidžia subjektyviau įvertinti minėtus rodiklius. Prostatos dydis vertinamas 4-ių balų sistema: nuo 0 iki 3, kur 0 laikomas pirmuoju tašku, o 3 – ketvirtuoju, atsižvelgiant į žemiau pateiktus vertinimo kriterijus (2.2.1.1 lentelė).

2.2.1.1 lentelė. Prostatos dydžio vertinimo balais skalė ir kriterijai

Balai	Vertinimo kriterijai
0 (nulis)	Prostata palpuojant sunkiai juntama, įvertinti sudėtinga, organas užima labai nedidelę tiesiosios žarnos spindžio dalį.
1 (vienas)	Prostata palpuojant jaučiama gerai, vertinti rodiklius nesudėtinga, organas užima nedidelę tiesiosios žarnos spindžio dalį.
2 (du)	Prostata palpuojant jaučiama itin gerai, vertinti kriterijus lengva, organas užima iki pusės tiesiosios žarnos spindžio.
3 (trys)	Prostata jaučiama labai lengvai, vertinti kriterijus paprasta, organas užima daugiau nei pusę tiesiosios žarnos spindžio.

Vertinant prostatos skausmingumą, buvo pasirinkta autorių suformuota keturių balų skausmo vertinimo skalė (2.2.1.2. lentelė).

2.2.1.2 lentelė. Prostatos skausmingumo vertinimo skalė ir kriterijai

Balai	Vertinimo kriterijai
0 (nulis)	Palpuojant prostatą šuo nerodo jokios reakcijos.
1 (vienas)	Spaudžiant prostatos skiltis šuo jaučia nedidelį diskomfortą, kuris pasireiškia nežymiu pilvo tempimu, nugaros rietimu, tačiau šuo išlieka ramus, necypia, neloja, neurzgia, nesitraukia nuo gydytojo.
2 (du)	Spaudžiant organą šuo jaučia diskomfortą, bando atsitraukti, riečia nugarą, tempia pilvo sieną, tačiau necypia, neloja, neurzgia.
3 (trys)	Palpuojant prostatą šuo jaučia skausmą, cypia, bando atsitraukti, stipriai riečia nugarą, traukia pilvo sienos raumenis, šuo gali urgzti arba loti.

Po klinikinės apžiūros, išorinių lytinių organų ir prostatos rektinio tyrimo buvo atlikta išplėstinė androloginė apžiūra, kurios metu atlikta prostatos ir sėklidžių echoskopija bei šviežios spermos analizė (spermograma). Šiai apžiūrai buvo atrinkti kliniškai sveiki šunys, kurie neturėjo reprodukcinę organų ligų, nevartojo vaistų, galinčių paveikti reprodukcinę sistemą ir nebuvo ejakulavę ilgiau nei šešis mėnesius.

2.2.2. Prostatos vertinimas ultragarsu

Prostatos ultragarso tyrimą atliko smulkiųjų gyvūnų diagnostinio vaizdinimo specialistas. Tyrimui atlikti buvo naudojamas ultragarso aparatas „Mindray Vetus-7“ („Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.“, Šendženas, Kinija). Šunys buvo paguldyti ant nugaros (dorsoventralinė pozicija) naudojant minkštas poziciją fiksuojančias pagalvėles, kurių dydis parinktas individualiai pagal šuns kūno sudėjimą.

Prostatos liauka buvo skenuojama naudojant sektorinį, gaubtos formos (konvekcinį) pilvinį daviklį (angl. *microconvex*). Organas buvo vertinamas išgavus ir sustabdžius aukščiausios kokybės vaizdinius skersinėje ir išilginėje plokštumoje. Dažnio diapazonas buvo nustatytas tarp 5,0 ir 7,5 MHz, atsižvelgiant į vaizdinio kokybę. Siekiant išgauti aukščiausios kokybės vaizdinius, buvo naudojamos papildomos aparato funkcijos: rezoliucijos nustatymas, sritinis priartinimas arba nutolinimas ir fokusavimo sektoriaus valdymas. Prostatos audinio atvaizdas klasifikuojamas remiantis organo parenchimos echogeniškumu: homogeniška arba heteroechogeniška, palyginti su aplinkiniais audiniais.

Intraprostatinės cistos echoskopiškai buvo identifikuojamos kaip aiškiai riboti, anechoiško turinio užpildyti, lokalizuoti arba difuziškai išplitę dariniai su posteriorine akustine amplifikacija. Šunys, kurių prostatoje buvo aptikta hipodensinių kalcinātų, tyrime nedalyvavo.

Šiame etape vizualiai įvertintas prostatos dydis, atsižvelgiant į bendrą organo santykinį dydį, palyginus su aplinkiniais organais (pvz., šlapimo pūsle ar inkstais), kontūrų pasireiškimą (lygūs ar nelygūs), prostatos sąlytį su tiesiosios žarnos spindžiu ir proksimalinės šlaplės skersmeniu. Įvertinus vizualiai, prostata buvo kategorizuojama kaip vizualiai padidėjusi arba nepadidėjusi.

Atlikus prostatos echoskopiją, buvo skenuojami prostatos regioniniai limfiniai mazgai (*nodī lymphoidei iliaci interni*). Vertinant limfinius mazgus atsižvelgta į dydį (mazgo skersmuo neviršijo 1 cm sagitalinėje plokštumoje), formą (nesuapvalėję, aiškaus kontūro) bei struktūrą (homogeniški, be heteroechogeniškų zonų). Šunys, kurių limfiniai mazgai buvo padidėję arba turėjo struktūrinių pokyčių, tyrime nedalyvavo.

Toliau ultragarso aparatu skenuotos sėklidės. Vertinant sėklides, buvo naudojamas tas pats ultragarso aparato daviklis kaip ir prostatai bei aplinkiniams limfiniams mazgams įvertinti. Dažnio diapazonas buvo nustatytas tarp 5,0 ir 7,5 MHz, atsižvelgiant į vaizdinio kokybę. Sėklidės skenuotos po vieną atskirai. Vertinant sėklidžių būklę, buvo atsižvelgta į organo dydį, formą ir echogeniškumą. Skenavimo metu buvo vertinamas antsėklidis. Šunys, kuriems nustatyti sėklidžių ar antsėklidžio pakitimai tyrime nedalyvavo.

2.2.3. Spermos surinkimas ir vertinimas

Sperma buvo mėginama surinkti iš visų 150 šunų, tačiau visas ejakuliatas surinktas tik 117 šunų. Dėl šios priežasties 33 šunys tolesniuose tyrimo etapuose nedalyvavo.

Prieš pradėdant spermos surinkimo procedūrą, buvo paruošti spermos surinkimui skirti instrumentai ir prietaisai:

1. Elektrinis termostatinis inkubatorius „Lab incubator DNP-915“ (CNWTC, Nankinas, Kinija). Įjungus prietaiso šildymo režimą nustatyta 37 °C temperatūra.
2. Šildymo puodelis „Semen collection cup“ („Minitube“, Tiefenbachas, Vokietija). Tai plastikinis indas, kuriame yra anga, skirta mėgintuvėliams. Puodelis pripildomas 37 °C temperatūros vandens ir dedamas į termostatą, kur palaikoma 37 °C temperatūra. Išimamas iš termostato tik prieš pradėdant spermos surinkimo procedūrą. Į puodelį sudedami spermos surinkimo mėgintuvėliai išlaikant optimalią 37 °C temperatūrą.
3. Spermos surinkimo mėgintuvėliai „Canine collection system for all breeds, three-step“ („Minitube“, Tiefenbachas, Vokietija). Šie mėgintuvėliai yra pagaminti iš specialaus plastiko, kuris nėra spermatoksiškas ejakuliatui. Mėgintuvėliai graduoti nurodant mililitrų skalę. Mėgintuvėliai laikomi termostate, kuriame palaikoma 37 °C temperatūra, ir išimami prieš pat spermos surinkimo procedūrą, po to dedami į šildymo puodelį.
4. Mikroskopas su šildomu staliu. Stalio temperatūra nustatoma 37 °C laipsnių, tuomet ant stalo padedamas stiklinis mikroskopinis stikliukas, kuris laikomas 30 min., kad jo temperatūra pakiltų iki stalio temperatūros.
5. Sterilios pipetės ir antgaliai. Pipetių antgaliai pagaminti iš specialaus plastiko, kuris nėra spermatoksiškas. Pipetės ir antgaliai iki panaudojimo laikomi termostate 37 °C laipsnių temperatūroje.
6. pH matuoklis. Instrumentas, skirtas matuoti spermos pH. Šiai procedūrai buvo naudojamas „Thermo Scientific™ Orion Star™ A211 Benchtop pH Meter“ („OVH Groupe SA“, Rubė, Prancūzija) pH matuoklis.
7. Spermos koncentracijos matuoklis. Spermos koncentracijai matuoti naudotas fotometras „SDM 1“ („Minitube“, Tiefenbachas, Vokietija).
8. Eozino-negrozino dažai. Šie dažai skirti nudažyti spermos tiriamąjį mėginį, siekiant įvertinti spermos gyvybingumą ir morfologinius rodiklius. Pasirinkti dažai *Nigrosin stain* (4 proc.), *Eosin G stain* (2 proc.) („Minitube“, Tiefenbachas, Vokietija).

Pasiruošus laboratoriją ir instrumentus, į patalpą, kurioje atliekama spermos surinkimo procedūra, buvo atvesta rujojanti kalė – „stimuliatorė“. Po to į patalpą buvo atvestas patinas. Kalė buvo laikoma šeimininko taip, kad snukis būtų nusuktas nuo patino, o vulva – kuo arčiau patino galvos. Kai kalė yra fiksuojama stovėjimo pozoje, o patinas kontroliuojamas šeimininko, pradeda spermos surinkimo procedūrą. Spermos surinkimo procesas susideda iš šių etapų:

1. Susipažinimo etapas. Patinui leidžiama prieiti prie rujojančios kalės, uostyti arba laižyti vulvą. Šiuo etapu siekiama įvertinti, ar kalė patinui yra patraukli, ar nėra agresijos tarp abiejų šunų ir įvertinti patino *libido*.
2. Patino peniso išvedimas iš apyvarpės ir manualinis stimuliavimas. Patinui priartėjus prie kalės ir uodžiant vulvą, spermą surenkantis asmuo kaire ranka už patino nugaros išveda penisą iš apyvarpės ir pradeda manualinę stimuliaciją. Įvertinus *bulbus glandis* (peniso kūno stormens) išsididėjimą ir apyvarpę užsmakus už šios struktūros, pereinama prie kito etapo.
3. Spermos surinkimas. Patiną tinkamai stimuliuojant, jis pats pradeda atlikti kergimo judesius ir netrukus ejakuliuoja. Ejakuliatas surenkamas naudojant tris sterilius, spermos surinkimui pritaikytus plastikinius mėgintuvėlius. Svarbu, kad šis procesas būtų atliekamas atsargiai siekiant išvengti traumos ir ejakulianto užteršimo. Patinui pradėjus ejakuliuoti, ejakuliatas surenkamas į mėgintuvėlius atskiriant pagal atitinkamas frakcijas: pirmoji frakcija – prostatinis sekretas, antroji – tikroji spermos frakcija, trečioji – prostatinis sekretas. Surinkus ejakuliatą, mėgintuvėliai nešami į laboratoriją analizei atlikti. Spermos analizė buvo atlikta keliais etapais (2.2.3.1 lentelė).

2.2.3.1 lentelė. Spermos analizės etapai

Etapas	Vertinamos spermos frakcijos	Vertinami rodikliai
Makroskopinis vertinimas	Vizualiai vertinamos visos trys frakcijos	• Nustatomas surinktos spermos tūris visuose trijuose mėgintuvėliuose. • Ejakulianto spalvos vertinimas: vizualiai įvertinama visų trijų mėgintuvėlių turinio spalva: prostatinis sekretas turi būti bespalvis, be drumzlių ar kitų priemaišų. Tikrosios spermos frakcija turi būti balta. • Konsistencija vertinama, ar pirmoji ir trečioji frakcija nėra tiršta, o antroji – vandeninga.

2.2.3.1 lentelės tęsinys

Etapas	Vertinamos spermos frakcijos	Vertinami rodikliai
Mikroskopinis vertinimas	Mikroskopu (prieš ir po dažymo) bei fotometro aparatu vertinama antroji spermos frakcija	- Judrumas stebimas spermatozoidų judėjimo greitis ir kryptis. Pagal judrumą spermatozoidai klasifikuojami į progresyviai judančius, neprogresyviai judančius ir nejudančius. - Spermos koncentracija matuojama fotospektrometru vadovaujantis gamintojo instrukcija. - Spermatozoidų morfologija: nudažius ir išdžiovinus tepinėlį, vertinama spermatozoidų forma ir struktūra, siekiant nustatyti galvutės, kūno ar uodegos deformacijas. Skaičiuojama 200 spermatozoidų matymo lauke. - Gyvybingumas: nudažytame tepinėlyje vertinamas spermatozoidų gyvybingumas. Gyvų spermatozoidų galvos nepraleidžia specifinio dažo ir išlieka nenusipalvinusios raudona spalva, o negyvų spermatozoidų galvos nusidažo raudonai. Skaičiuojama 200 spermatozoidų matymo lauke.
pH vertinimas	Trečioji frakcija	Matuojama prostatinio sekreto pH. Sekreto pH paprastai yra šiek tiek rūgštinis arba neutralus (tarp 6,3 ir 7,0).

2.2.4. Spermos kokybės vertinimo kriterijai

Atlikus spermos analizę išskirtos trys spermos kategorijos pagal kokybę: gera, vidutinė ir bloga spermos kokybė. Vertinimo kriterijai pasirinkti pagal Johnston ir kolegų metodiką [173]. Kokybės rodikliai ir klasifikacija pateikta 2.2.4.1 lentelėje.

2.2.4.1 lentelė. Spermos kokybės rodikliai ir klasifikacija

Parametras	Gera kokybė	Vidutinė kokybė	Bloga kokybė
Tūris (antra frakcija, ml)	2,1–5,0	1,0–2,0	≤ 1,0
Koncentracija (spermatozoidų/ml)	≥ 300 milijonų	100–300 milijonų	≤ 100 milijonų
Progresyvus judrumas (proc.)	≥ 70 proc.	50–70 proc.	≤ 50 proc.
Bendra spermos morfologija (proc.)	≥ 80 proc. normalių spermatozoidų	40–80 proc. normalių spermatozoidų	≤ 40 proc. normalių spermatozoidų
Bendra spermatozoidų koncentracija	≥ 600 milijonų	300–600 milijonų	≤ 300 milijonų
Spermatozoidų gyvybingumas (proc.)	≥ 80 proc. gyvų spermatozoidų	50–80 proc. gyvų spermatozoidų	≤ 50 proc. gyvų spermatozoidų
pH (trečioji frakcija)	6,2–6,4	6,5–6,8	≥ 6,8

Sudarius spermogramas ir įvertinus spermos kokybę, visi šunys buvo suskirstyti į grupes pagal amžių ir svorį, siekiant atlikti atitinkamus statistinius skaičiavimus. Pagal amžių šunys buvo suskirstyti į keturias grupes: 3–4 metų, 5–6 metų, 7–8 metų ir 9–10 metų.

2.3. Sveikų šunų patinų ir šunų, įtariamų besimptomė GPH, atrinkimas sekančiam tyrimo etapui

Surinkus spermos mėginius iš 117 kliniškai sveikų šunų, buvo sudarytos dvi grupės: sveikų šunų ir šunų, kuriems įtariama besimptomė gerybinė prostatos hiperplazija. Šios dvi grupės buvo toliau tiriamos kituose mokslinio tyrimo etapuose. Kriterijai, pagal kuriuos patinai buvo skirstomi kitiems tyrimo etapams, pateikti 2.3.1 lentelėje.

2.3.1 lentelė. Šunų grupių sudarymas pagal atitinkamus tyrimų kriterijus

Tyrimas	Sveikas šuo	Įtariama besimptomė GPH
Rektinis tyrimas	Prostata nepadidėjusi (0–1 pagal skalę), paviršius lygus, nėra skausmingumo (0–1 pagal skalę), organo konsistencija minkšta	Prostata iš dalies arba ženkliai padidėjusi (2–3 pagal skalę), paviršius nelygus, išreikštas dalinis skausmingumas (2–3 pagal skalę), konsistencija vidutiniškai kieta arba kieta
Prostatos echoskopija	Nėra difuziškai išplitusių intraprostatinų cistų, skiltys simetriškos, prostatos audinys homogeniškas, prostata vizualiai vertinant nepadidėjusi	Prostatos audinyje yra difuziškai išplitusios intraprostatinės cistos, asimetriškos prostatos skiltys, audinys heteroechogeniškas, prostata vizualiai vertinant padidėjusi
Spermos kokybė	Gera	Vidutinė arba bloga

2.4. Antrasis tyrimo etapas. Sveikų ir besimptomė GPH forma sergančių šunų prostatos kompiuterinė tomografija ir dalinė pelvimetrija

Šiame etape dalyvavo 52 patinai, kurie buvo pasirinkti iš pirmo etapo: 24 kliniškai sveiki ir 28 su įtariama besimptomė gerybine prostatos hiperplazija. Visiems patinams buvo atliktas prostatos citologinis tyrimas, siekiant tiksliai nustatyti prostatos būklę. Remiantis citologinio tyrimo rezultatais, šunys buvo suskirstyti į dvi grupes: besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos forma paveikti šunys ($n = 28$) ir kliniškai sveiki šunys ($n = 24$).

Besimptomės GPH šunų grupėje amžius svyravo nuo 3 iki 10 metų (vidurkis – 6,8 m.), o sveikų šunų grupėje – nuo 3 iki 5 metų (vidurkis – 4,1 m.). Besimptomė GPH forma sergančių šunų svoris svyravo nuo 25 iki 50 kg (vi-

durkis – 42,5 kg), o sveikų šunų svoris grupėje varijavo nuo 25 iki 50 kg (vidurkis – 35,1 kg).

2.4.1. Prostatos citologinio tyrimo mėginio paėmimas

Prostatos citologiniai mėginiai buvo renkami prostatos masažo metodikos principu. Prostatos masažas buvo atliekamas šunims, kuriems buvo atlikta premedikacija prieš sukeliant bendrąją nejautrą KT tyrimui. Prieš atliekant prostatos masažą, pirmiausiai buvo ištuštinta šlapimo pūslė naudojant sterilių šlapimo kateterį. Ištuštinus šlapimo pūslę, šlapimo kateteris ištrauktas ir pakeistas nauju, steriliu kateteriu. Įvedus naują kateterį, šis kelis kartus praplautas steriliu fiziologiniu tirpalu ir aspiracijos principu pakartotinai ištuštinta šlapimo pūslė. Visa procedūra stebima echoskopu, vizualizavus proksimalinę šlaplės dalį ir šlapimo pūslę. Pakartotinai praplovus ir ištuštinus šlapimo pūslę, šlapimo kateteris buvo atitrauktas į proksimalinę prostatos šlaplės dalį, stebint procesą echoskopu. Tuomet, rektiškai įvedus pirštą į tiesiąją žarną ir užčiuopus prostatą, organas buvo masažuojamas, spaudžiant abi jo skiltis. Masažo metu į sterilių švirkštą pasiruosta 10 ml fiziologinio tirpalo ir lėtai suleista per kateterį. Kateteriui judant pro prostatos šlaplės dalį, buvo taikoma nepertraukiama aspiracija ir surenkamas prostatos sekretas kartu su fiziologinio tirpalo frakcija. Gautas skystis iš švirkšto supiltas į sterilių 10 ml sterilių mėgintuvėlį ir išsiųstas citologiniam tyrimui į laboratoriją. Prostatos masažo metodika pasirinkta pagal Johnston ir kt. publikacijoje pateiktą metodiką [10].

2.4.2. Prostatos kompiuterinė tomografija

Visiems 52 šunims buvo atlikta pilvo ertmės ir dubens srities kompiuterinė tomografija, kurios metu buvo į tyrimą įtraukta ir prostata. Procedūra atlikta taikant bendrąją nejautrą. Visiems šunims į priekinės dešinėsios kojos galvinę veną (v. *cephalica*) buvo įvestas intraveninis kateteris. Įvedus kateterį, buvo pajungta intraveninė infuzija su 0,9 proc. NaCl tirpalu („Fresenius Kabi. Sodium Chloride, 0,9 proc.“, Gracas, Austrija). Premedikacijai į veną per kateterį aplikuojamas medetomidino hidrochloridas („Cepetor 1,0 mg/ml“, „CP-Pharma“, Burgdorfas, Vokietija) 10 µg/kg doze. Bendra nejautra buvo sukurta naudojant propofolį („Fresenius Propoven, 10,0 mg/ml“, „Fresenius Kabi“, Gracas, Austrija) 2–4 mg/kg doze. Anestezijai palaikyti visi šunys buvo intubuoti trachėjos vamzdeliu ir taikyta inhaliacinė anestezija izoflurano dujomis. Bendrąją nejautrą procedūros metu stebėjo gydytojas anestezioologas. Visiems gyvūnams buvo taikytas toks pats anestezijos protokolai.

Abiejų grupių gyvūnai buvo skenuojami ventrodorsalinėje pozicijoje naudojant minkštąsias padėties palaikymo priemones (pozicionavimo pagalvėles), kurios užtikrino stabilią padėtį. KT tyrimai atlikti naudojant spiralinį

dviejų pjūvių KT skenerį („Somatom Spirit 2“, „Siemens“, Vokietija), naudojant 130 kV įtampą, 100 mAs srovę ir 3–5 mm pjūvių storį (rekonstrukcijos 1,5–2,5 mm). Pirminiai vaizdiniai rekonstruoti naudojant minkštųjų audinių ir kaulų algoritmus. Procedūros metu per intraveninį kateterį buvo suleista kontrastinė medžiaga joheksolis („Omnipaque 350 mg/ml“, „GE Healthcare AS“, Norvegija) 600 mg/kg doze, siekiant atlikti kontrastavimo fazių vertinimo tyrimus prieš ir po kontrastinės medžiagos suleidimo.

Prostatos audinių tankio vertės buvo nustatytos apibrėžiant visos prostatos kontūrą rankiniu būdu. Audinio tankio vertės buvo išreikštos Hounsfieldo vienetais (HU).

2.4.3. Prostatos tūrio skaičiavimas

Prostatos liaukos tūrio skaičiavimams buvo naudojama „OsiriX“ programinė įranga („Pixmeo SARL“, Bernas, Šveicarija), pasižyminti specialiomis organų tūrio skaičiavimo funkcijomis. Pirmiausia, įkėlus prostatos vaizdinį į KT tyrime naudojamą „OsiriX“ programą, kiekviename vaizdo pjūvyje organas buvo apibrėžiamas rankinio kontūravimo įrankiu, kuris leido tiksliai pažymėti prostatos ribas. Kontūravimo metu kiekviename pjūvyje buvo nustatomos prostatos ribos, sukuriant vieną pagrindinį kontūrinį prostatos vaizdą. Šie kontūrai buvo apdoroti programinės įrangos algoritmais, kurie atliko trimatę (3D) rekonstrukciją. Trimatė rekonstrukcija leido programinei įrangai automatiškai atkurti prostatos formą ir struktūrą, taip leisdamą tiksliai apskaičiuoti tūrį.

Prostatos tūrio apskaičiavimas vyko taikant integracinį metodą, kuris apėmė visus kontūruotus pjūvius ir įvertino tarpusavio atstumus tarp jų. Šis metodas leido nustatyti tikslų prostatos tūrį, išreikštą kubiniais centimetrais (cm³).

2.4.4. Prostatos ir L6 slankstelio ilgio santykinų reikšmių nustatymas

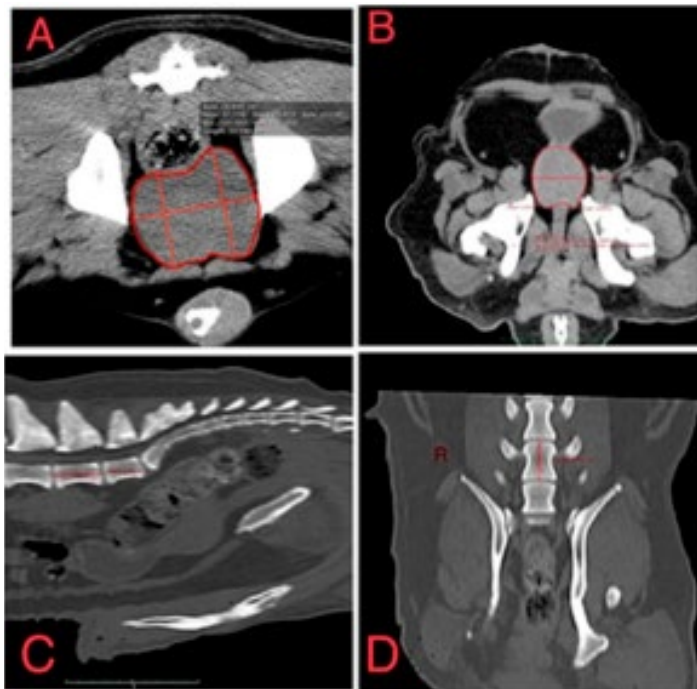
Šioje metodikoje prostatos dydžio matavimui buvo pasitelktos skirtingos plokštumos ir standartizuotas santykinis palyginimas su šeštojo juosmens slankstelio ilgiu. Pirmiausia buvo išmatuotas prostatos ilgis dorsalinėje plokštumoje, tokiu būdu galima buvo įvertinti liaukos išilginę dimensiją, einančią nuo priekinės iki užpakalinės prostatos dalies. Tuomet buvo matuojamas prostatos plotis ir aukštis skersinėje plokštumoje, kuri pateikia vaizdą per prostatos plotį (šoninis matmuo) ir aukštį (vertikalus matmuo). Taip buvo gauti visi trys pagrindiniai prostatos matmenys: ilgis, plotis ir aukštis.

Kitas žingsnis – šeštojo juosmens slankstelio ilgio nustatymas. Šis matmuo buvo vertinamas tiek sagitalinėje, tiek dorsalinėje plokštumose, siekiant kuo

tiksliau išmatuoti slankstelio ilgį. Atlikus matavimus abiejose plokštumose buvo apskaičiuotas L6 ilgio vidurkis.

Gauti prostatos matmenys – ilgis, plotis ir aukštis – buvo lyginami su L6 kūno ilgiu. Buvo apskaičiuotas rL (prostatos ilgis / L6 ilgis), rW (prostatos plotis / L6 plotis) ir rH (prostatos aukštis / L6 aukštis) santykis, remiantis Pasikowska ir bendraautorių tyrimo metodika [183].

L6 slankstelio ilgio ir prostatos dimensiųjų matavimų metodika pateikta 2.4.4.1 paveiksle.



2.4.4.1 pav. *Besimptomės formos GPH paveiktos prostatos liaukos ir L6 slankstelio matavimų vaizdiniai*

A – priešinė liauka, skersinė plokštuma, minkštųjų audinių algoritmas; raudonos linijos nurodo prostatos aukščio, pločio ir apskritimo ploto matavimus centimetrais; B – priešinė liauka, dorsalinė plokštuma, minkštųjų audinių algoritmas; raudonos linijos nurodo prostatos ilgio ir apskritimo ploto matavimus centimetrais; C – L6 slankstelis, skersinė plokštuma, kaulų algoritmas; raudona linija žymi slankstelio kūno ilgį; D – L6 slankstelis, dorsalinė plokštuma, kaulų algoritmas; raudona linija žymi slankstelio kūno ilgį.

2.4.5. Dalinės pelvimetrijos pritaikymas naudojant KT

Dalinės pelvimetrijos metodikoje buvo taikoma specifinė dubens kaulų matavimo technika, remiantis Aubry ir kt. mokslinės publikacijos metodika

[194]. Atsižvelgiant į šio darbo rezultatus, dalinės pelvimetrijos metu buvo matuojamas priekinės dubens atvaros skersmuo ir aukštis, pasitelkus sagitalinės ir skersinės plokštumos vaizdus, gautus kompiuterinės tomografijos metu. Siekiant išmatuoti prostatos ir dubens struktūrų proporcijas, buvo atlikti santykiniai prostatos ir priekinės dubens atvaros matmenų skaičiavimai, naudojantis programinės įrangos „OsiriX“ specializuotomis funkcijomis. Priekinės dubens atvaros pločio ir aukščio santykiai SU prostatos pločiu ir aukščiu buvo pažymėti atitinkamai ppW ir ppH reikšmėmis. Santykiai buvo apskaičiuoti automatiškai suvedus minėtų struktūrų matavimus į skaičiavimo funkciją. Ši programa padėjo sumažinti subjektyvumo lygį atliekant matavimus ir padidinti tyrimo patikimumą.

Siekiant pavaizduoti šią metodiką, buvo panaudota trimatė vaizdavimo rekonstrukcija, kuri vizualiai atvaizduota (2.4.5.1 paveiksle).



2.4.5.1 pav. *Priešinės liaukos (raudonas organas) ir priekinės dubens atvaros trimatės rekonstrukcijos vaizdas ir matavimų technika*

2.5. Trečias tyrimo etapas. Šunų prostatos specifinės esterazės ir ultrasonografijos tyrimo metodai vertinant sveikų ir besimptomę GPH sergančių šunų prostatos būklę

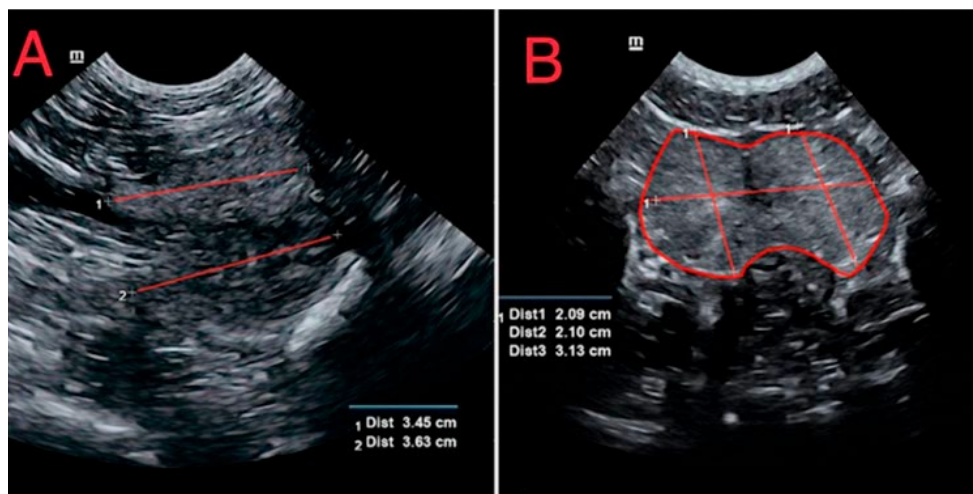
Šiame etape iš viso dalyvavo 65 šunys. Pirmiausia buvo surinkti visų patinų kraujo mėginiai, o šunys, kurių CPSE koncentracija siekė arba viršijo ≥ 61 ng/ml, kartu su pirmojo etapo metu atliktais tyrimais, leidžiančiais įtarti besimptomę GPH, buvo nukreipti atlikti ultragarso kontroliuojamą plonos adatos aspiracinę biopsiją, kad būtų tiksliai patvirtinta arba atmesta besimptomės GPH diagnozė. Sveikiems šunims prostatos citologija nebuvo atliekama, vengiant invazyvių metodų taikymo, kai nėra įtarimų dėl prostatos ligų. Tokia metodika buvo pasirinkta remiantis Pinheiro ir kt. bei Cunto ir kt. publikacijomis [24,77].

Atlikus CPSE analizę nustatyta, kad pirmajame etape 30-ies sveikų šunų CPSE koncentracija neviršijo 61 ng/ml. Tuo tarpu išanalizavus kitus 35 šunis, kuriems pirmajame etape buvo įtariama besimptomė GPH, gauti rezultatai parodė, kad šių patinų CPSE koncentracija viršijo 61 ng/ml, todėl jiems buvo atliktas prostatos citologinis tyrimas.

Sveikų šunų grupėje vidutinis amžius buvo 3,7 metų (nuo 3 iki 6 metų), vidutinis svoris – 39,8 kg (nuo 27 iki 58 kg), o besimptomės GPH paveiktų šunų grupėje vidutinis amžius siekė 6,9 metų (nuo 4 iki 10 metų), vidutinis svoris – 40,1 kg (nuo 21 iki 60 kg).

2.5.1. Prostatos ultrasonografija

Atliekant prostatos ultragarsą, liaukos ribos buvo nubrėžtos echoskopuotojo, naudojantis mechaniniu formos apibrėžimo įrankiu. Taip buvo siekiama pažymėti prostatos liaukos ribas skersinėje plokštumoje. Prostatos matmenys buvo matuojami taip: prostatos ilgis – išilginėje plokštumoje, o prostatos plotis ir aukštis – skersinėje plokštumoje. Aukščio ir ilgio matavimai apėmė abi prostatos skiltis apskaičiavus vidutinę vertę centimetais, o prostatos ilgis buvo apibrėžtas kaip maksimalus skersmuo išilgai šlaplės ašies, išmatuotas centimetais (2.5.1.1 pav.). Prostatos tūris (PT) apskaičiuotas pritaikius elipsoidinio kūno formulę, kurią pasiūlė Ruel ir kt.: $PT (cm^3) = (L \times W \times H) \times 0,523$ [154]. Citologinis prostatos mėginių tyrimas atliktas ultragarsu pagal Kustritz ir bendraautorių pasiūlytą metodiką [22].



2.5.1.1 pav. Prostatos ultrasonografijos vaizdai ir matavimų principai

A – išilginė plokštuma; B – skersinės prostatos plokštumos vaizdinys.

2.5.2. Prostatos kraujotakos vertinimas spalvinio Doplerio metodu

Ultragarso spalvinio Doplerio metodas buvo naudojamas marginalinės ir subkapsulinės prostatos arterijos (*a. prostatica*) lokacijų kraujotakos tyrimui atlikti, remiantis Zelli ir kt. [160]. Naudojant pulsinės bangos režimą (angl. *power wave*, PW), parengties skirtukas buvo mechaniškai nuvestas ir fiksuotas minėtose prostatos arterijos zonose taip, kad apimtų visą kraujagyslės spindį vertikaliąja kryptimi. Buvo registruotos ne mažiau kaip keturių širdies ciklų bangos. Vėliau mechaniniu būdu, naudojant ultragarso aparato kraujotakų greičius skaičiuojančias funkcijas, apskaičiuoti specifiniai kraujo tėkmės rodikliai, tokie kaip sistolės tėkmės greitis (PSV), diastolės pabaigos greitis (EDV) ir atsparumo indeksas (RI). Iš trijų nuskaitytų reikšmių buvo apskaičiuotos vidutinės kiekvieno rodiklio reikšmės. Siekiant išvengti „blyksnio“ artefaktų, spalvinio Doplerio signalo stiprinimo nustatymai buvo koreguojami procedūrą atliekančio operatoriaus taip, kad būtų išgauti kokybiškiausi rodmenys.

2.5.3. Šunų prostatos specifinės esterazės tyrimas

Tyrimas buvo atliktas „Kauno veterinarijos praktika“ klinikoje. CPSE analizė atlikta griežtai laikantis gamintojo nurodymų, naudojant „Speed™ Reader“ („Virbac“, Karosas, Prancūzija) analizatorių, kuris veikia lazeriu sukeltos fluorescencijos imunochromatografijos principu. Ruošiant mėginį ir atliekant tyrimą buvo vadovautasi gamintojo instrukcija, kuri buvo pateikta

kartu su analizatoriumi. „Speed™ Reader“ analizatorius pavaizduotas 2.5.3.1 paveiksle.



2.5.3.1 pav. „Speed™ Reader“ CPSE analizatorius

2.6. Statistinė analizė

Tyrimo duomenų statistinė analizė buvo atlikta naudojant statistikos programinę įrangą IBM SPSS Statistics 29.0.0.0. Kiekybinių duomenų skirstinio normalumas buvo tikrintas taikant Shapiro-Wilk testą. Duomenų apibendrinimui apskaičiuotos vidutinės reikšmės, o variacija įvertinta vidurkio paklaidomis. Lyginant sveikų šunų kiekybinius parametrus su besimptomine gerybine prostatos hiperplazija sergančių šunų parametrais, buvo taikytas Stjudento t-testas nepriklausomoms imtims.

Statistiniams ryšiams tarp šuns amžiaus, svorio, prostatos matmenų, CPSE koncentracijos ir L6 slankstelio matmenų nustatyti buvo skaičiuojami Pearsono tiesinės koreliacijos koeficientai, o duomenys pateikti grafiškai, vaizduojant tiesinės regresijos prognozę. Prostatos matmenų gebėjimas diferencijuoti sveikus šunis nuo sergančiųjų GPH buvo vertinamas sprendimus priimančiojo ypatybių (angl. *receiver operating characteristic*, ROC) kreivėmis. Be to, ROC metodu įvertintas amžiaus ir svorio prognostinis gebėjimas nustatyti prostatos patologijas.

Prostatos patologijų paplitimas ir jų ryšys su GPH pasireiškimu buvo išreikštas dažnių skirstiniais, o skirtumai įvertinti naudojant χ^2 testą. Statistiniai ryšiai ir skirtumai buvo laikomi statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$.

2.7. Etikos principai

Tyrimas buvo atliktas laikantis Lietuvos Respublikos gyvūnų gerovės ir apsaugos įstatymo Nr. VIII-500 „Dėl gyvūnų priežiūros, gerovės ir naudojimo moksliniams tyrimams“, priimto 1997 m. lapkričio 6 d. („Valstybės ži-

nios“, Nr. 108, 1997-11-28), ir Lietuvos Respublikos Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos įsakymų „Dėl laboratorinių gyvūnų naudojimo moksliniams bandymams“ (Nr. 4-16, 1999-01-18). Iš VMVT buvo gautas tyrimo patvirtinimo numeris – PK Nr. 012856.

Teisėti gyvūnų šeimininkai pasirašė Lietuvos smulkių gyvūnų veterinarijos gydytojų asociacijos paruoštą teisinį susitarimą dėl veterinarinių procedūrų gyvūnui (gyvūnams) atlikimo, kuris leido veterinarijos gydytojams atlikti diagnostines klinikines procedūras tyrime dalyvavusiems šunims.

3. MOKSLINIO DARBO REZULTATAI

3.1. I tyrimo etapas. Prostatos būklės vertinimas

3.1.1. Rektinio tyrimo rezultatai

Ištyrus 150 šunų rektiškai, nustatyta, kad 71 šuns (43,7 proc.) prostatos paviršius buvo įvertintas kaip grublėtas, o lygus prostatos paviršius nustatytas 79 šunims (52,7 proc.). Tyrime dalyvavusių šunų prostatos konsistencija įvertinta taip: minkšta – 64 šunų (42,7 proc.), vidutiniškai minkšta – 58 šunų (38,7 proc.), kieta – 28 šunų (18,7 proc.).

Rektinio tyrimo metu buvo tiriamas prostatos skausmingumas, įvertinant balais. 0 balu buvo įvertintas 38 šunų (25,3 proc.) prostatos, 1 balu – 43 patinų (28,7 proc.), 2 balais – 65 šunų (43,3 proc.) ir 3 balais – 4 patinų (2,7 proc.).

Simetriškos prostatos skiltys nustatytos 82 patinams (54,6 proc.), o asimetriškos – 68 patinams (44,4 proc.). Be to, buvo vertinamas ir bendras prostatos dydis, įvertinant balais – nuo 0 iki 3. 19 šunų (12,7 proc.) prostata buvo sunkiai juntama, vertinti kitus aspektus buvo sudėtinga, organas užėmė labai nedidelę tiesiosios žarnos spindžio dalį (0 balų). 1 balu buvo įvertintas 52 šunų (34,7 proc.) prostatos dydis; juos palpuojant buvo gerai jaučiama prostata, vertinti parametrus nebuvo sudėtinga, liauka užėmė nedidelę tiesiosios žarnos spindžio dalį.

Dažniausiai tyrime dalyvavusių patinų ($n = 70$, 46,6 proc.) prostatos dydis buvo įvertintas 2 balais, t. y. palpacijos metu prostata buvo jaučiama gerai, vertinti kriterijus buvo itin lengva, liaukos skiltys užėmė iki pusės tiesiosios žarnos spindžio. 3 balais buvo įvertintas 9 šunų prostatos dydis, jų prostata buvo itin gerai išreikšta ir juntama labai lengvai, vertinti organo kriterijus buvo ypač paprasta, o pati liauka užėmė daugiau nei pusę tiesiosios žarnos spindžio.

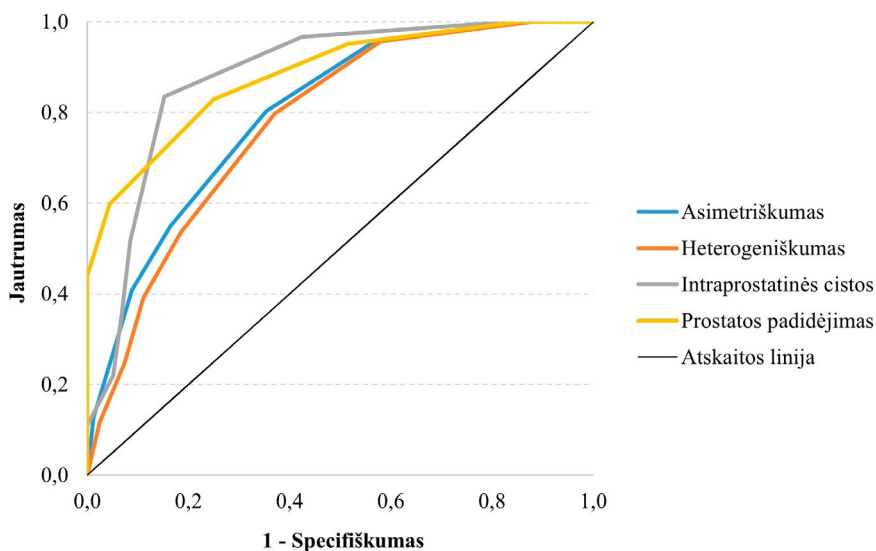
3.1.2. Prostatos echoskopijos rezultatai

Įvertinus visų tirtų šunų prostatos skilčių formą, nustatyta, kad 71 patino (47,3 proc.) prostatos skiltys buvo asimetriškos, o 79 patinų (52,7 proc.) – simetriškos. Vertinant liaukos audinio echogeniškumą, homogeniška prostata buvo nustatyta 81 patinui (54 proc.), o heterogeniškos audinio struktūros prostata nustatyta 69 šunims (46 proc.).

Apžvelgiant intraprostatinių cistų pasireiškimą, rezultatai parodė, kad vietinės ar difuziškai išplitusios intraprostatinės cistos buvo nustatytos 91 patinui (60,7 proc.), o 59 patinai (39,3 proc.) cistų prostatoje neturėjo. Galiausiai, vertinant prostatos dydį, nustatyta, kad 82 šunų (54,7 proc.) prostata buvo

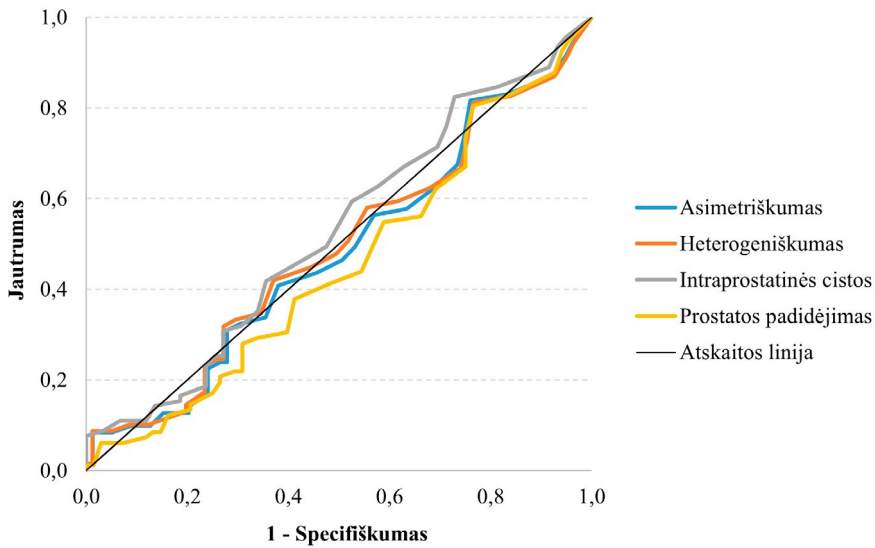
vizualiai padidėjusi, o 68 šunų (45,3 proc.) priešinė liauka vizualiai atrodė fiziologinių normų ribose ir buvo įvertinta kaip nepadidėjusi.

Vertinant prostatos echoskopijos rezultatus buvo atlikta ROC analizė, siekiant nustatyti patinų amžiaus ir svorio įtaką prostatos pokyčiams, kurie buvo įvertinti ultragarsu. ROC kreivių analizė atskleidė reikšmingą šunų amžiaus įtaką prostatos pokyčių rodikliams. Prostatos skilčių asimetriškumas ($AUC = 0,799$, $p < 0,001$), audinio heterogeniškumas ($AUC = 0,777$, $p < 0,001$), intraprostatinės cistos ($AUC = 0,880$, $p < 0,001$) ir vizualiai įvertintas prostatos padidėjimas ($AUC = 0,882$, $p < 0,001$) parodė stiprią diagnostinę vertę ir statistiškai reikšmingą ryšį su šunų amžiumi. Visų patologijų pasireiškimo slenkstinė amžiaus riba buvo 5,5 metų ($p < 0,001$). ROC kreivės grafikas pateiktas 3.1.2.1 paveiksle.



3.1.2.1 pav. Prostatos patologijų diagnostinės vertės priklausomybės nuo amžiaus ROC kreivių analizės grafikas

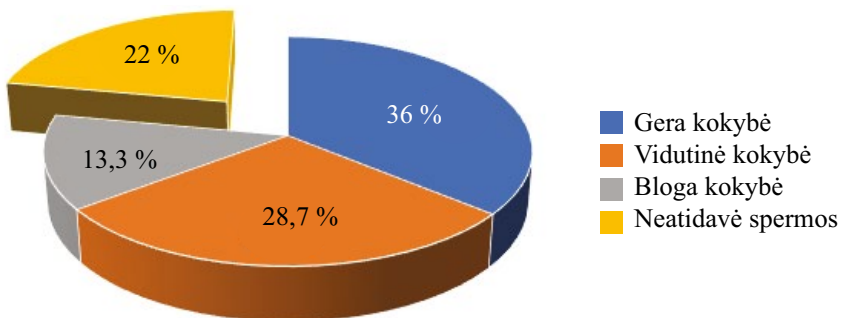
Atlikus analogišką analizę, kurioje vertinta patinų svorio įtaka, ROC kreivės parodė, kad asimetriškumo ($AUC = 0,483$, $p = 0,726$), heterogeniškumo ($AUC = 0,491$, $p = 0,848$), intraprostatinių cistų ($AUC = 0,526$, $p = 0,591$) ir prostatos padidėjimo ($AUC = 0,455$, $p = 0,346$) kreivių plotai yra artimi 0,5, o tai rodo, kad šių rodiklių ryšys su šunų svoriu neturi diagnostinės vertės. ROC kreivių grafikas, kuriame vizualiai matoma prostatos patologijų diagnostinės vertės priklausomybė nuo svorio, pateiktas 3.1.2.2 paveiksle.



3.1.2.2 pav. *Prostatos patologijų diagnostinės vertės priklausomybės nuo svorio ROC kreivių analizės grafikas*

3.1.3. Spermos vertinimas

Spermą buvo bandoma surinkti iš visų 150 tyrime dalyvavusių šunų. Vis dėlto, spermą nepavyko surinkti iš 33 patinų (22 proc.). Bendrai įvertinus spermą kokybę, rezultatai parodė, kad 54 šunų (36 proc.) spermą kokybė buvo gera, 43 šunų (28,7 proc.) – vidutinė, o 20 šunų (13,3 proc.) – bloga. Spermą kokybės pasiskirstymas pateiktas 3.1.3.1 paveiksle.



3.1.3.1 pav. *Spermą kokybės pasiskirstymas*

Vertinant visų 117 šunų spermą mėginius, buvo analizuojama spermą rodiklių koreliacija su šunų amžiumi ir svoriu. Statistinė duomenų analizė

parodė, kad spermos rodikliai reikšmingai koreliuoja su šunų amžiumi, tačiau nėra statistiškai reikšmingo ryšio su šunų svoriu. Atsižvelgus į tai, toliau buvo vykdoma statistinė analizė, kurioje nustatyti spermos rodiklių ryšiai su amžiumi.

Gauti rezultatai parodė, kad šunų amžiui vidutiniškai padidėjus vieneriais metais, spermos antrosios frakcijos tūris sumažėja vidutiniškai 0,36 ml ($p < 0,001$), spermos koncentracija sumažėja 60 mln./ml ($p < 0,001$), o bendros spermos koncentracijos sumažėjimas siekia net 210 mln. spermatozoidų ($p < 0,001$). Taip pat nustatyta, kad kiekvienais metais visų šunų spermoje vidutiniškai 9 proc. padaugėja morfologinių pakitimų ($p < 0,001$), o progresyvus spermatozoidų judrumas sumažėja 7,8 proc. ($p < 0,001$). Patinams senstant keičiasi ir prostatos trečiosios frakcijos pH, kuris kiekvienais metais padidėja 0,13 vienetų ($p < 0,001$).

Atskirai analizuojant skirtingų amžiaus grupių šunis buvo gauti šie rezultatai:

- 3–4 metų šunų grupė ($n = 29$) išsiskyrė didžiausiu spermos tūriu ($2,91 \pm 0,14$ ml) ir koncentracija ($437,86 \pm 17,98$ mln./ml), bendra koncentracija siekė $1\,296,44 \pm 87,71$ mln., o morfologiniai pakitimai buvo mažiausi ($16,83 \pm 1,07$ proc.). Progresyvus judrumas buvo aukščiausias ($82,24 \pm 1,44$ proc.), o pH reikšmė siekė $6,22 \pm 0,03$.
- 5–6 metų šunų grupėje ($n = 49$) spermos tūris sumažėjo iki $2,34 \pm 0,14$ ml, koncentracija siekė $317,02 \pm 17,94$ mln./ml, o bendra koncentracija – $817,98 \pm 72,15$ mln. Morfologinių pakitimų skaičius išaugo iki $31,57 \pm 2,72$ proc., progresyvus judrumas sumažėjo iki $66,73 \pm 2,10$ proc., o pH reikšmė buvo $6,49 \pm 0,06$.
- 7–8 metų šunų ($n = 22$) spermos kokybės sumažėjimas buvo dar ženklesnis: tūris – $1,70 \pm 0,17$ ml, koncentracija – $215,45 \pm 21,19$ mln./ml, bendra koncentracija – $428,43 \pm 82,54$ mln., morfologinių pakitimų padaugėjo iki $47,64 \pm 3,37$ proc., o progresyvus spermatozoidų judrumas sumažėjo iki $55,91 \pm 2,73$ proc., pH – $6,69 \pm 0,05$.
- 9–10 metų šunų grupėje ($n = 17$) rodikliai buvo prasčiausi: spermos tūris – $0,74 \pm 0,13$ ml, koncentracija – $85,71 \pm 11,47$ mln./ml, bendra koncentracija – $82,63 \pm 23,80$ mln., morfologinių pakitimų skaičius siekė $69,88 \pm 2,82$ proc., progresyvus spermatozoidų judrumas buvo mažiausias – $35,88 \pm 3,69$ proc., o pH – $6,95 \pm 0,05$.

Visi spermos kokybės rodikliai skirtingose amžiaus grupėse skyrėsi statistiškai reikšmingai ($p < 0,001$). Spermos parametrų pasiskirstymas skirtingose amžiaus grupėse pateiktas 3.1.3.1 lentelėje.

3.1.3.1 lentelė. Amžiaus įtaka spermos kokybės rodikliams. *a, b, c, d* – skirtingomis raidėmis pažymėti vidurkiai stulpelyje skyrėsi statistiškai reikšmingai ($p < 0,01$)

Amžius	n	Spermos tūris, antra frakcija, ml	Spermos koncentracija, mln./ml	Bendra spermos koncentracija, mln.	Morfologiniai pakitimai, proc.	Progresyvus judrumas, proc.	pH
3–4 metai	29	$2,91 \pm 0,14^a$	$437,9 \pm 17,98^a$	$1296,4 \pm 87,7^a$	$16,83 \pm 1,07^a$	$82,24 \pm 1,44^a$	$6,22 \pm 0,03^a$
5–6 metai	49	$2,34 \pm 0,14^b$	$317,0 \pm 17,94^b$	$818,0 \pm 72,2^b$	$31,57 \pm 2,72^b$	$66,73 \pm 2,10^b$	$6,49 \pm 0,06^b$
7–8 metai	22	$1,70 \pm 0,17^c$	$215,5 \pm 21,19^c$	$428,4 \pm 82,5^c$	$47,64 \pm 3,37^c$	$55,91 \pm 2,73^c$	$6,69 \pm 0,05^c$
9–10 metų	17	$0,74 \pm 0,13^d$	$85,7 \pm 11,47^d$	$82,6 \pm 23,8^d$	$69,88 \pm 2,82^d$	$35,88 \pm 3,69^d$	$6,95 \pm 0,05^d$

3.2. II tyrimo etapo rezultatai. Sveikų ir besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos paveiktos prostatos kompiuterinės tomografijos ir dalinės pelvimetrijos matavimai

3.2.1. Citologinio tyrimo rezultatai

Šiame tyrimo etape buvo ištirti 52 šunys. Prieš atliekant kompiuterinę tomografiją, taikant bendrąją nejautrą, buvo paimti kiekvieno šuns prostatos citologiniai mėginiai prostatos masažo metodiniu principu. Atlikus citologinių mėginių vertinimą buvo nustatyta, kad 28 mėginiai parodė GPH požymius, o likusių 24 šunų prostatos neturėjo jokių patologinių požymių ir buvo diagnozuotos kaip sveikos.

3.2.2. Prostatos matmenys ir tūris, įvertinus kompiuterinės tomografijos būdu

GPH paveiktų šunų grupėje prostatos ilgis buvo $5,21 \pm 0,27$ cm, prostatos plotis siekė $5,20 \pm 0,22$ cm, jos aukštis buvo $4,45 \pm 0,15$ cm, o jos tūris siekė $74,66 \text{ cm}^3 \pm 8,02 \text{ cm}^3$ ($p < 0,05$).

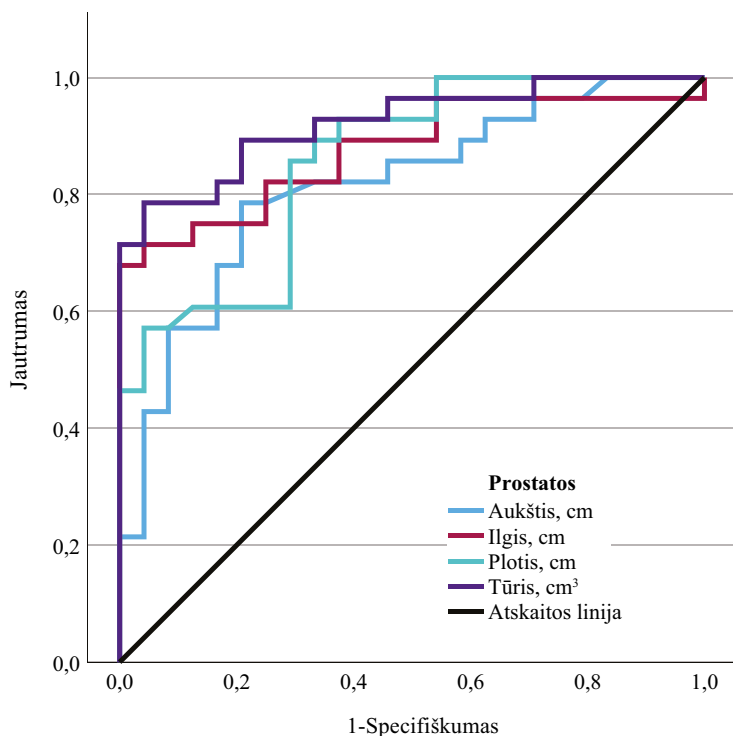
Sveikų šunų grupėje prostatos matmenys buvo reikšmingai mažesni: prostatos ilgis buvo $3,43 \pm 0,11$ cm, plotis siekė $3,65 \pm 0,19$ cm, aukštis – $3,49 \pm 0,14$ cm, o tūris buvo $24,23 \text{ cm}^3 \pm 2,5 \text{ cm}^3$. Atlikus statistinę analizę rezultatai parodė, kad prostatos ilgis, plotis, aukštis bei tūris skyrėsi statistiškai reikšmingai abiejose grupėse, o įvertinus prostatos dimensių bei tūrio skirtumus tarp sveikų ir sergančių šunų grupių, nustatyta, kad besimptomė GPH sergančioje šunų grupėje prostatos ilgis, plotis, aukštis ir tūris atitinkamai buvo 1,5, 1,4, 1,3 ir 3,1 karto didesni, palyginti su sveikų šunų grupe ($p < 0,001$). Prostatos matavimų ir tūrio reikšmės pateiktos 3.2.2.1 lentelėje.

3.2.2.1 lentelė. Prostatos ilgio, pločio, aukščio ir tūrio matavimų rezultatai. a, b – skirtingomis raidėmis pažymėti vidurkiai stulpelyje skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,001$)

Tiriamosios grupės	Prostatos ilgis, cm	Prostatos plotis, cm	Prostatos aukštis, cm	Prostatos tūris, cm^3
Besimptomė GPH	$5,21 \pm 0,27^a$	$5,20 \pm 0,22^a$	$4,45 \pm 0,15^a$	$74,66 \pm 8,02^a$
Sveiki šunys	$3,43 \pm 0,11^b$	$3,65 \pm 0,19^b$	$3,49 \pm 0,14^b$	$24,23 \pm 2,50^b$

Atlikus ROC analizę, nustatyta, kad priešinės lytinės liaukos matmenys (ilgis, plotis, aukštis) bei tūris yra efektyvūs rodikliai diferencijuojant sveikus ir besimptomė gerybine prostatos hiperplazija paveiktus šunis.

Paaiškėjo, kad prostatos tūris, viršijantis 46,186 cm³, leidžia su 92,3 proc. tikimybe ($p < 0,001$) klasifikuoti šunį kaip sergantį besimptomė GPH. Taip pat analizė parodė, kad prostatos ilgis, plotis ir aukštis turi ir reikšmingą diskriminacinį gebėjimą: jei prostatos ilgis buvo didesnis arba lygus 4,57 cm, plotis – 4,26 cm, o aukštis – 3,95 cm, tai tikimybė, kad prostata yra paveikta besimptomė GPH, buvo atitinkamai – 87,5 proc., 85,5 proc. ir 81,5 proc. ($p < 0,001$). ROC kreivės grafikas pateiktas 3.2.2.1 paveiksle.



3.2.2.1 pav. Prostatos matmenų (ilgio, pločio, aukščio) bei tūrio diagnostinio patikimumo ir ribinių reikšmių ROC kreivių grafikas

3.2.3. Prostatos matmenų santykis su L6

Šio tyrimo metu nustatyta, kad šunims patinams, kuriems buvo patvirtinta besimptomė gerybinė prostatos hiperplazija, prostatos ilgio, pločio ir aukščio santykinės reikšmės su šeštojo juosmens slankstelio kūno ilgiu buvo reikšmingai didesnės, palyginti su sveikų šunų grupe ($p < 0,001$).

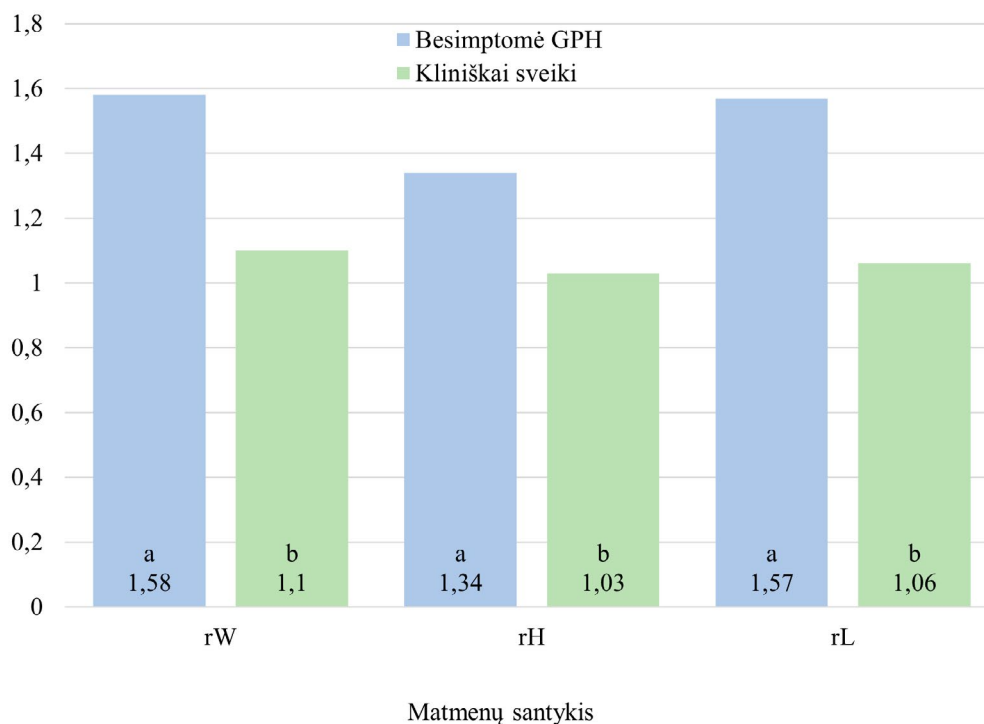
Besimptomė GPH forma sergančių šunų grupėje prostatos pločio ir šeštojo juosmens slankstelio santykinio ilgio reikšmė (rW) su standartiniu nuokrypiu

(SD $\pm$) buvo reikšmingai didesnė – $1,58 \pm 0,44$, palyginti su sveikų šunų grupe, kurioje šis rodiklis siekė $1,10 \pm 0,29$ ($p < 0,05$).

GPH paveiktų šunų vidutinės prostatos aukščio ir L6 santykinio ilgio reikšmė su standartiniu nuokrypiu buvo didesnė – $1,34 \pm 0,21$, palyginus su sveikų šunų grupe, kurioje rH reikšmė buvo $1,03 \pm 0,26$ ($p < 0,05$).

Atitinkamai didesnė buvo ir rL reikšmė: GPH sergančių šunų grupėje rL siekė $1,57 \pm 0,48$, tuo tarpu sveikų šunų grupėje šis rodiklis buvo $1,06 \pm 0,16$ ($p < 0,05$).

Palyginus sveikų ir besimptome GPH sergančių šunų rL, rW ir rH reikšmes, gautas statistiškai reikšmingas padidėjimas sergančių šunų grupėje: rW reikšmė padidėjo 43,6 proc. ($p < 0,001$), rH – 30,1 proc. ($p < 0,001$), o rL rodiklis – 48,1 proc. ($p < 0,001$). Visų išvardintų rodiklių reikšmių pasiskirstymas abiejose grupėse pateiktas 3.2.3.1 paveiksle.



3.2.3.1 pav. rW, rH ir rL reikšmės sveikų ir besimptome GPH sergančių šunų grupėse

a, b – skirtingomis raidėmis pažymėti vidurkiai stulpelyje skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,001$)

Buvo atliktos prostatos tūrio ir L6 slankstelio pločio (rW), ilgio (rL) ir aukščio (rH) statistinės regresinės analizės abiejose tiriamosiose šunų grupėse.

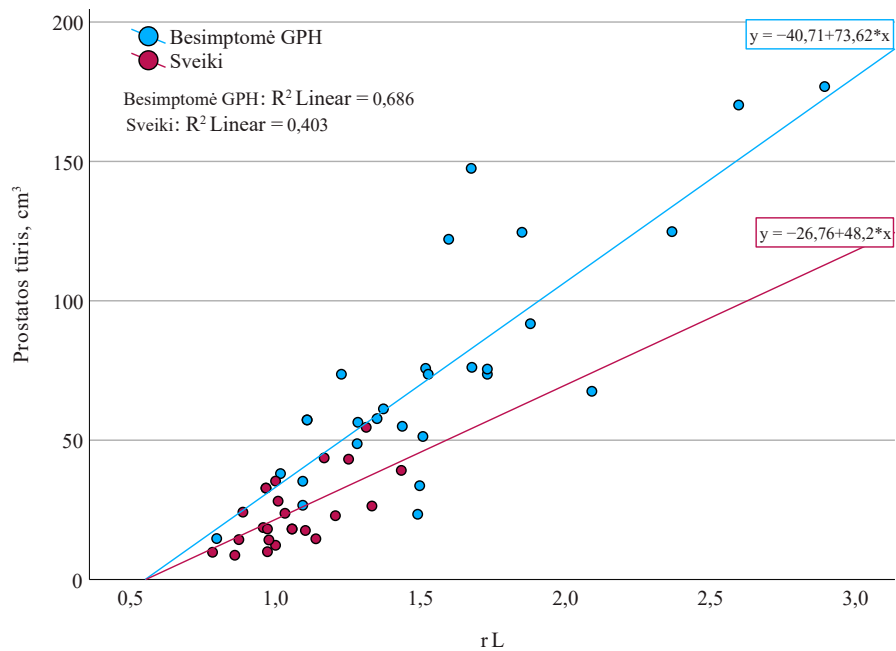
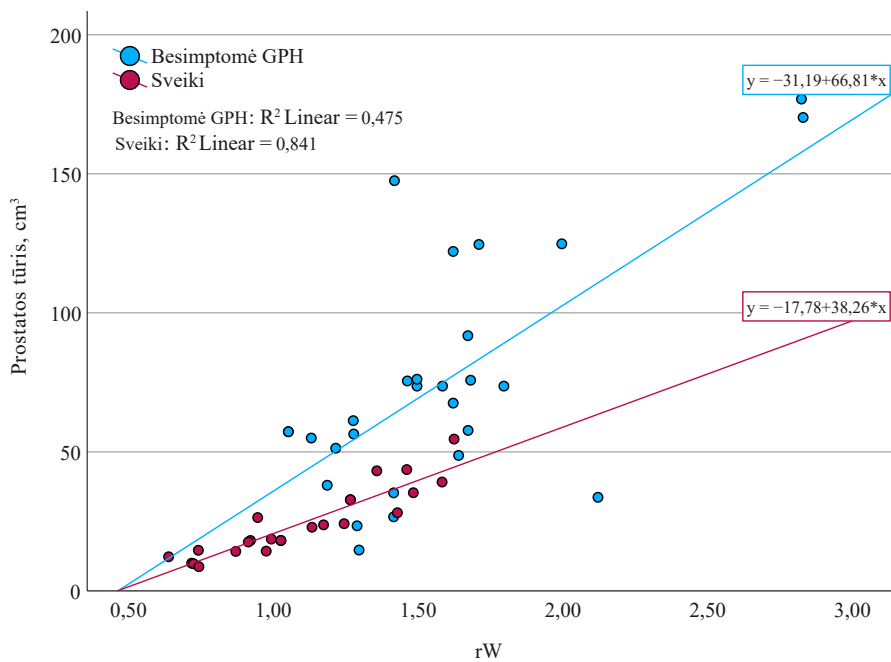
Analizuojant prostatos tūrio ir rW reikšmes sveikų ir sergančių šunų grupėse, nustatyta stipri koreliacija tarp šių kintamųjų. Regresijos lygtis $y = 38,25x - 17,80$, o determinacijos koeficientas (R^2) siekia 0,84. Tai reiškia, kad 84 proc. prostatos tūrio variacijos gali būti paaiškintos rW reikšme. Šie rezultatai yra statistiškai reikšmingi ($p < 0,05$).

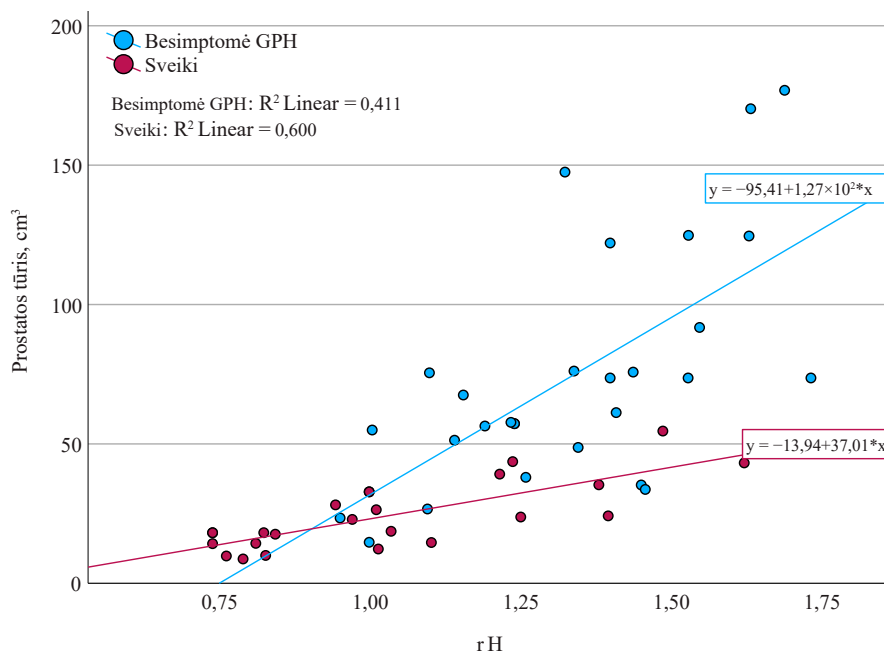
Sergančių šunų grupėje regresijos lygtis $y = 66,81x + 31,26$, o determinacijos koeficientas (R^2) yra 0,47 – tai rodo vidutinio stiprumo ryšį ir reikšmingai didesnį prostatos tūrio padidėjimą esant didesnėms rW reikšmėms, palyginus su sveikais šunimis ($p < 0,05$). Be to, pastebėta, kad sergančių šunų regresinės tiesės statesnis nuolydis (66,81) rodo spartesnį prostatos tūrio augimą su didėjančia rW reikšme, palyginti su sveikų šunų grupės regresinės tiesės nuolydžiu (38,25) ($p < 0,05$).

Išanalizavus, kaip prostatos tūris susijęs rL reikšme sveikų ir sergančių šunų grupėse, nustatyta, kad sveikų šunų regresijos lygtis yra $y = 47,87x - 26,45$, o determinacijos koeficientas (R^2) yra 0,40. Tai rodo vidutinį ryšį tarp rL reikšmės ir prostatos tūrio ($p < 0,05$). Sergančių šunų grupėje prostatos tūris auga greičiau esant didesnėms rL reikšmėms, nes jų regresijos tiesės nuolydis yra 73,68, palyginus su 47,87 sveikų šunų grupėje ($p < 0,05$). Taip pat pastebėta, kad sergančių šunų grupėje rL reikšmės ir prostatos tūris yra didesni, o duomenų variacija platesnė ($p < 0,05$).

Išanalizavus prostatos tūrio ir rW koreliaciją nustatyta, kad sveikų šunų grupėje gauta regresijos lygtis $y = 36,95x + 13,89$ ir determinacijos koeficientas (R^2) 0,60 rodo stiprų ryšį tarp rH reikšmės ir prostatos tūrio ($p < 0,05$). Tuo tarpu sergančių šunų grupėje regresijos lygtis $y = 127,68x - 96,35$ ir determinacijos koeficientas 0,41 rodo vidutinio stiprumo ryšį ($p < 0,05$). Sergančių šunų grupėje pastebimas gerokai statesnis regresijos tiesės nuolydis (127,68), liudijantis spartesnį prostatos tūrio augimą esant didesnėms rH reikšmėms, palyginti su sveikų šunų grupės regresijos tiesės nuolydžiu (36,95) ($p < 0,05$).

Visų skaičiavimų rezultatai pavaizduoti atskirais grafikais (3.2.3.2 pav.).





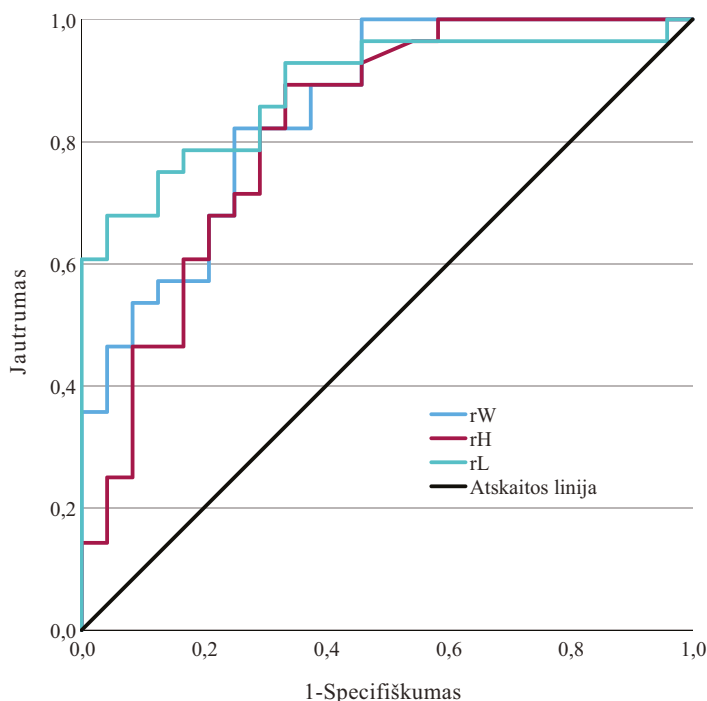
3.2.3.2 pav. Prostatos tūrio ir rW , rL ir rH sklaidos diagramos. Mėlyni taškai ir zonos priklauso besimptomė GPH sergančių šunų grupei, o raudoni taškai ir zonos – kliniškai sveikų šunų grupei

Atlikus ROC analizę nustatyta, kad rW , rH , ir rL rodikliai patikimai diferencijuoja sveikus šunis nuo sergančių besimptomė gerybine prostatos hiperplazija.

Rodiklis rW rodo aukštą diskriminacinį potencialą su AUC reikšme, siekiančia 0,85, tuo tarpu rH rodiklio AUC reikšmė buvo šiek tiek žemesnė – 0,82, o rL diskriminacinė reikšmė buvo aukščiausia, palyginus su kitais rodikliais, ir siekė net 0,88. Šios rodiklių vertės patvirtina, kad minėti rodikliai pasižymi aukštu diagnostiniu efektyvumu, kadangi AUC artumas prie 1 rodo aukštą diagnostinio tikslumo lygį, o statistinis patikimumas ($p < 0,001$) sustiprina šių rezultatų reikšmingumą.

Remiantis gautais duomenimis, buvo apibrėžtos ir ribinės rodiklių reikšmės: rW – 1,28, rH – 1,10, rL – 1,35. Viršijus šias ribines reikšmes, tikimybė teisingai identifikuoti sergančius šunis yra 82,1 proc. rW atveju, 89,3 proc. rH atveju ir 67,9 proc. rL atveju ($p < 0,01$).

ROC kreivių grafikas pateiktas 3.2.3.3 paveiksle.



3.2.3.3 pav. *rW, rH ir rL rodiklių diagnostinio patikimumo ir ribinių reikšmių ROC kreivių grafikas*

3.2.4. Dalinės pelvimetrijos rezultatai

Atlikus dalinės pelvimetrijos tyrimą, rezultatai parodė, kad vidutinės ppW ir ppH reikšmės buvo reikšmingai didesnės sveikų šunų grupėje palyginus su besimptomė GPH sergančių šunų grupe ($p < 0,001$). Dalinės pelvimetrijos matmenų santykinės reikšmės pateiktos 3.2.4.1 lentelėje.

3.2.4.1 lentelė. *ppW ir ppH reikšmės tiriamosiose grupėse. a, b – skirtingomis raidėmis pažymėti vidurkiai stulpelyje skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$)*

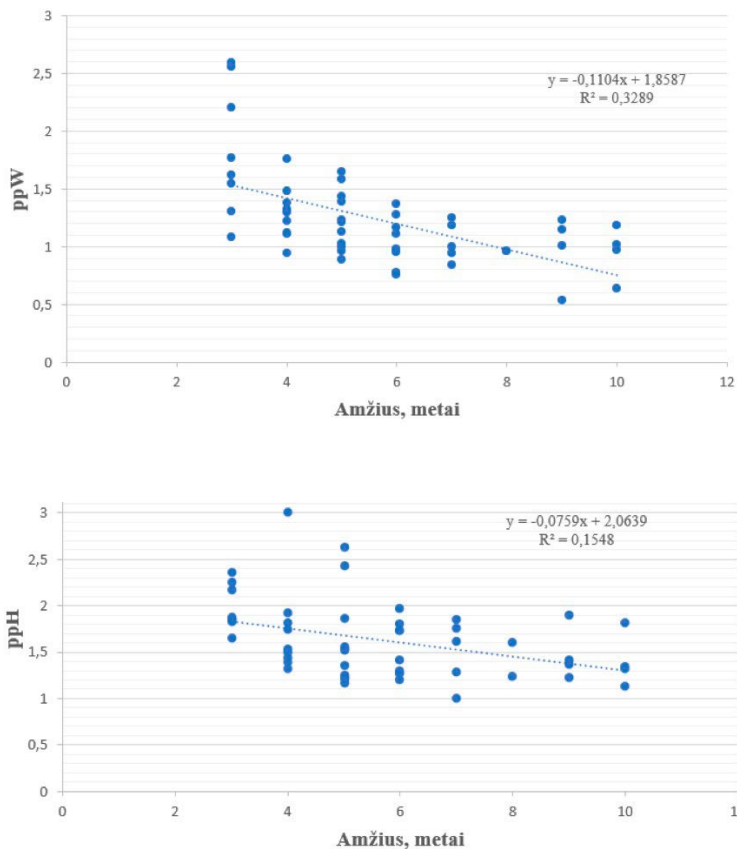
Tyrimo grupės	ppW	ppH
Besimptomė GPH	$0,74 \pm 0,19^b$	$0,57 \pm 0,12^b$
Sveiki šunys	$1,02 \pm 0,27^a$	$0,71 \pm 0,13^a$

Apskaičiavus priklausomybę tarp ppH ir visų tyrime dalyvavusių šunų amžiaus, buvo gautas neigiamas ryšys tarp šunų amžiaus ir ppH reikšmių. Tai rodo, kad didėjant amžiui ppH reikšmė mažėja. Regresijos lygtis

$y = 21,29 - 0,88x$, o determinacijos koeficientas (R^2) 0,239 rodo silpną ryšį, kuriame tik apie 29,3 proc. ppH variacijos galima paaiškinti šunų amžiumi.

Išanalizavus ppW ryšį su visų tyrime dalyvavusių šunų amžiumi, gauta neigiama koreliacija, atskleidžianti, kad didėjant šunų amžiui, ppW reikšmė mažėja. Regresijos lygtis $y = 19,26 - 1,22x$ ir determinacijos koeficientas (R^2) 0,343 rodo vidutinio stiprumo ryšį: apie 34,3 proc. ppW santykio variacijas galima paaiškinti šunų amžiaus įtaka.

Abiejų skaičiavimų sklaidos diagramos yra pateiktos 3.2.4.1 paveiksle. Taškai grafike atspindi individualių šunų duomenis, o regresijos tiesė vizualiai parodo bendrą mažėjimo tendenciją.

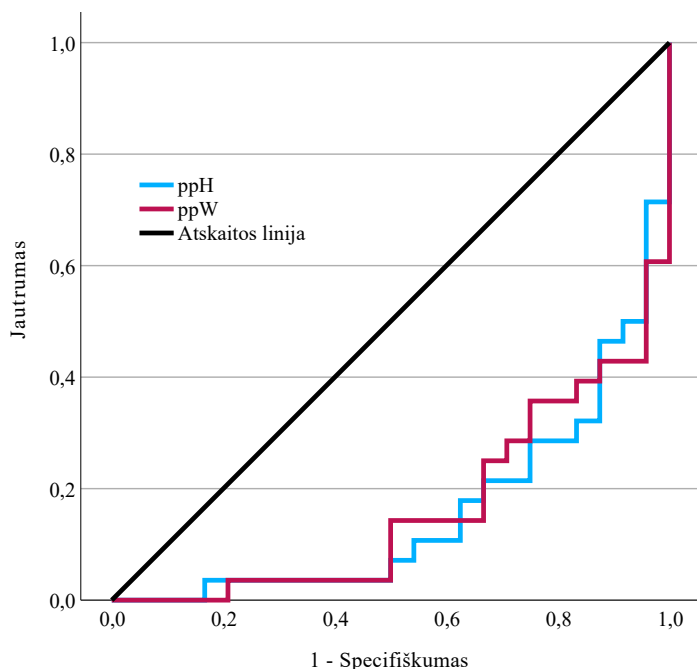


3.2.4.1 pav. ppH ir ppW santykio su šunų amžiumi sklaidos diagramos

Atlikus sergančių ir sveikų gyvūnų atskyrimo gebos analizę taikant ROC metodiką, nustatyta, kad kintamųjų ppW ir ppH ploto po ROC kreive (AUC) reikšmės sudarė atitinkamai 0,836 ir 0,844 ($p < 0,001$). Šios reikšmės rodo, kad tiek ppW, tiek ppH parametrų santykinės vertės pasižymi aukštu gebėjimu

mu patikimai diferencijuoti sveikus šunis nuo šunų, sergančių besimptome GPH.

Analizės metu nustatyta, kad atskyrimo taškas buvo ties 0,77 ppW reikšme ir 0,71 ppH reikšme. Šių ribinių reikšmių viršijimas buvo susijęs su 74,4 proc. tikimybe ppW atveju ir 77,1 proc. tikimybe ppH atveju, kad tiriamasis gyvūnas priklauso sveikų šunų grupei ($p < 0,001$). ROC analizių grafikas pavaizduotas 3.2.4.2 paveiksle.



3.2.4.2 pav. *ppW ir ppH diagnostinio patikimumo ir ribinių reikšmių ROC kreivių grafikas*

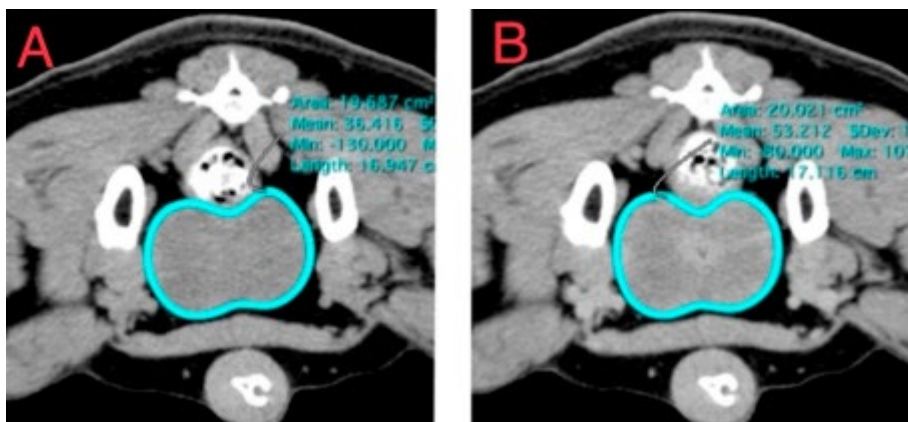
3.2.5. Prostatos kontrastavimas

Analizuojant prostatos liaukos audinio tankio reikšmes (HU) skirtingose kontrastinėse fazėse, nustatyta, kad prieškontrastinės fazės metu statistiškai reikšmingų skirtumų tarp sveikų ir besimptome GPH sergančių šunų grupių nebuvo ($p > 0,05$). Vidutinė HU reikšmė prieškontrastinėje fazėje sveikų šunų grupėje buvo $67,83 \pm 3,56$ HU, o besimptome GPH sergančių šunų grupėje – $64,18 \pm 9,98$ HU. Tačiau pokontrastinės fazės metu buvo nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp grupių ($p < 0,001$).

Sveikų šunų grupėje vidutinė HU reikšmė buvo $95,42 \pm 2,34$, o sergančiųjų grupėje reikšmė siekė $92,61 \pm 1,83$ HU. Tyrimo rezultatai pateikti 3.2.5.1 lentelėje, o prostatos kontrastavimo vaizdai – 3.2.5.1 paveiksle.

3.2.5.1 lentelė. Kontrastavimosi fazės ir jų vidutinės reikšmės su standartiniu nuokrypiu skirtingose šunų grupėse. a, b – skirtingomis raidėmis pažymėti vidurkiai stulpelyje skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$)

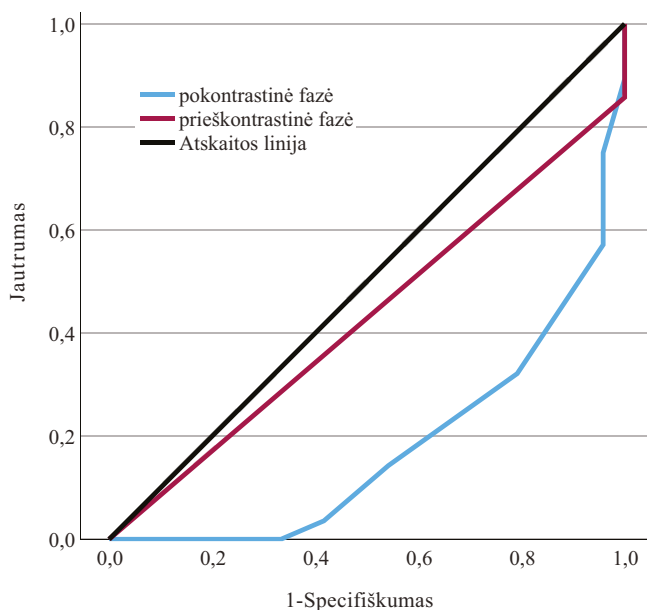
Tyrimo grupės	Prieškontrastinė fazė, HU	Pokontrastinė fazė, HU
Besimptomė GPH	$64,18 \pm 9,98$	$92,61 \pm 1,83^a$
Sveiki šunys	$67,83 \pm 3,56$	$95,42 \pm 2,34^b$



3.2.5.1 pav. Prostatos kontrastavimo fazės. A – prieškontrastinė fazė, B – pokontrastinė fazė

Vis dėlto, atlikus ROC analizę, nustatyta, kad prieškontrastinės fazės AUC reikšmė yra $0,489 \pm 0,011$ ($p = 0,369$). Diagnostinis patikimumo intervalas svyruoja nuo 0,273 iki 0,584. Šie duomenys rodo, kad prieškontrastinės fazės diagnostinis tikslumas nustatant besimptomę gerybinę prostatos hiperplaziją nėra aukštas, kadangi AUC reikšmė yra žemesnė už 0,5. Be to, prieškontrastinės fazės diagnostinis patikimumas nėra statistiškai reikšmingas ($p > 0,05$).

Pokontrastinės fazės ROC plotas AUC = $0,179 \pm 0,057$ ($p < 0,001$). Diagnostinio metodo pasitikėjimo intervalas svyruoja nuo 0,067 iki 0,292. Pokontrastinė fazė yra efektyvi kaip diagnostinis metodas besimptomei gerybinei prostatos hiperplazijai ir sveikų šunų prostatai atskirti. Kai pokontrastinės fazės reikšmė mažesnė už 93,5 HU, galima įtarti besimptomę gerybinę prostatos hiperplaziją su 87,8 proc. tikimybe. ROC analizės kreivė pateikta 3.2.5.2 paveiksle.



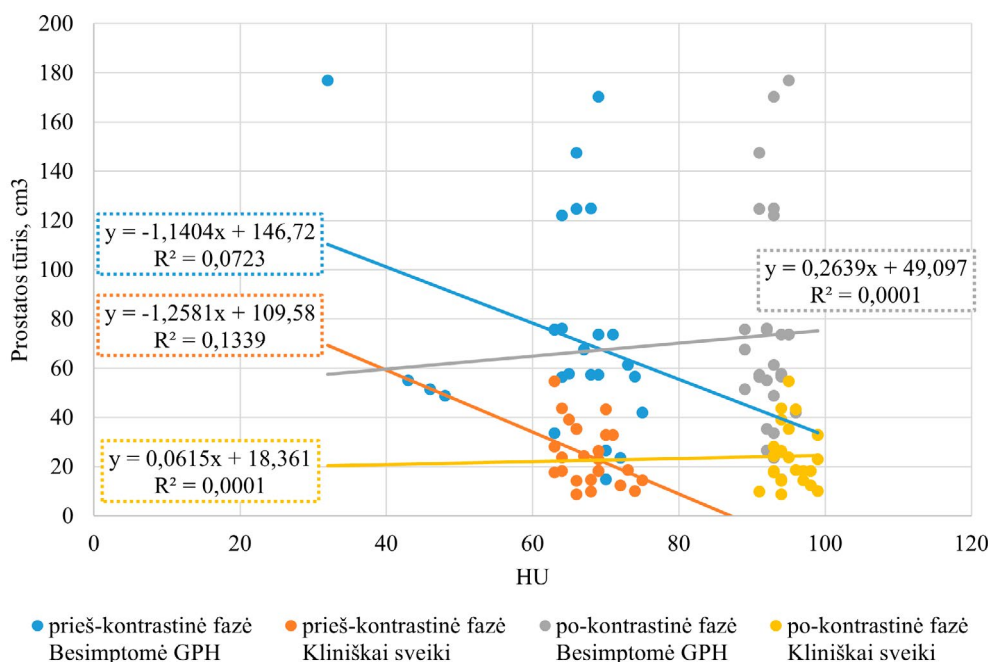
3.2.5.2 pav. Pokontrastinės ir prieškontrastinės fazių diagnostinio patikimumo ir ribinių reikšmių ROC kreivių grafikas

3.2.6. Prostatos tūrio ir kontrastavimo fazių ryšys

Prieškontrastinėje fazėje sergančių besimptomė GPH forma šunų prostatos tūris turėjo tendenciją mažėti HU vertei didėjant, gauta priklausomybės lygtis $y = -1,1404x + 146,72$, o determinacijos koeficientas $R^2 = 0,0723$. Tuo tarpu sveikų šunų grupėje pastebėtas prostatos tūrio mažėjimas, didėjant HU reikšmei ($y = -1,2581x + 109,58$ ir $R^2 = 0,1339$).

Pokontrastinėje fazėje tiek sergančių, tiek sveikų šunų grupėse nustatyti tik minimalūs tūrio pokyčiai HU reikšmėms didėjant. Sergančių šunų grupės priklausomybės lygtis buvo $y = 0,2639x + 49,097$, o R^2 koeficientas buvo lygus 0,001. Sveikų šunų grupėje priklausomybės lygtis buvo $y = 0,0615x + 18$, o koeficientas R^2 buvo toks pats, kaip ir sergančiųjų grupėje ($R^2 = 0,001$). Šie duomenys parodo, kad prieškontrastinė fazė yra labiau jautri HU vertėms, ypač sveikų šunų grupėje, palyginti su pokontrastinės fazės minimaliais pokyčiais.

Prostatos tūrio pokyčiai atsižvelgiant į HU vertes skirtingose kontrastinėse fazėse abiejose tiriamosiose grupėse pateikti žemiau esančiame sklaidos grafike (3.2.6.1 pav.).

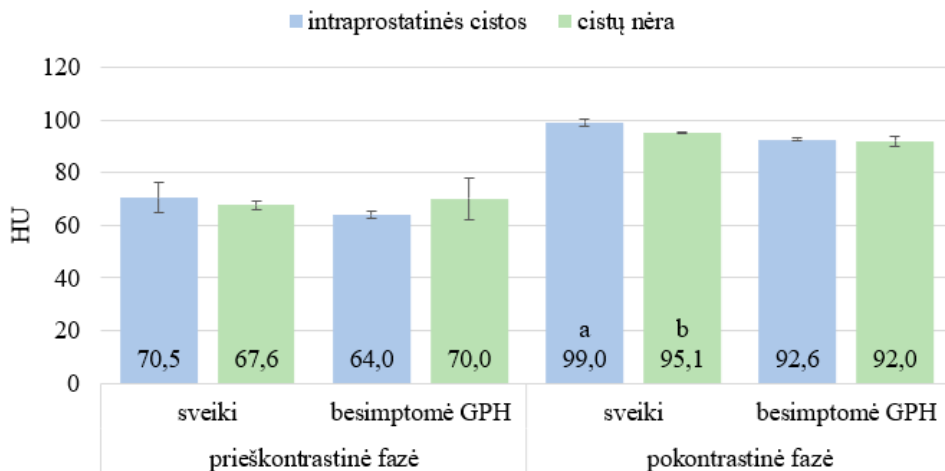


3.2.6.1 pav. Prostatos tūrio ir HU reikšmių sklaidos grafikas

3.2.7. Ryšys tarp intraprostatos cistų ir HU reikšmių

Atlikus statistinę analizę nustatyta, kad intraprostatinės cistos turi gana nedidelę įtaką prostatos kontrastavimuisi. Prieškontrastinėje fazėje intraprostatinės cistos padidina HU reikšmes sveikų šunų prostate iki 70,5 HU, palyginti su 67,6 HU be cistų.

Tuo tarpu sergančių šunų grupėje cistinis prostatos audinys sumažina HU reikšmes iki 64,0, palyginti su 70,0 HU prostate be cistų. Pokontrastinėje fazėje intraprostatinės cistos taip pat nežymiai didina HU reikšmes abiejose grupėse, ypač sveikų šunų, kur HU padidėja iki 99,0 su cistomis, palyginti su 95,1 be jų. Šie skirtumai yra pastebimi, tačiau gana riboti, nes statistiškai reikšmingas skirtumas nustatytas tarp HU reikšmių tik sveikų šunų grupėje pokontrastinėje fazėje ($p < 0,01$). Cistų įtaka HU reikšmėms pateikta 3.2.7.1 paveiksle.



3.2.7.1 pav. *Cistų pasireiškimo įtaka HU reikšmėms skirtingose fazėse sveikų ir besimptomė gerybine prostatos hiperplazija sergančių šunų grupėse*

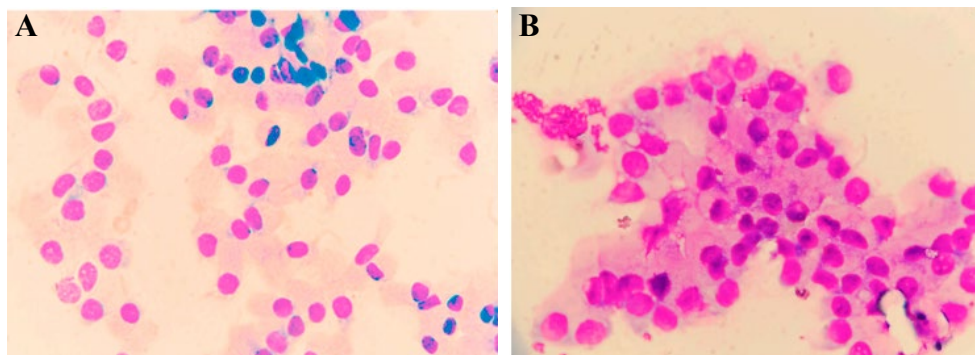
Skaičiais stulpelyje sužymėtos HU reikšmės. a, b – skirtingomis raidėmis pažymėti vidurkiai skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,01$).

3.3. III tyrimo etapo rezultatai. Sveikų ir besimptomės GPH paveiktų šunų prostatos specifinės esterazės koncentracijos ribų ir ultragarso specifinių parametrų ribinių verčių nustatymas

3.3.1. Citologinio tyrimo rezultatai

Atlikus prostatos citologinį tyrimą, besimptomės gerybinės prostatos hiperplazija buvo diagnozuota 35 šunims. Citologiniame preparate buvo aptikta įvairaus dydžio stulpinio arba kubinio epitelio ląstelių lakštų, kuriuose ląstelės dažnai išsidėsčiusios tankiai viena šalia kitos suformuodamos „tvorelės“ struktūrą. Ląstelių branduoliai buvo apvalūs arba ovalūs, su smulkiu, kartais šiurkštoku chromatinu. Ląstelėje gali būti matomi ir 1–2 smulkūs branduolėliai. Citoplazma dažniausiai stebima kaip stulpinė arba daugiakampė, pilka, kartais vakuolėta. Ląstelės rodo poliškumą, dažnai formuojasi papildinės struktūros.

Kitiems 30 šunų nebuvo nustatyta prostatos audinio patologijų. Sveikos prostatos citologinio tyrimo preparate ($n = 30$) buvo stebima nedidelė, tvarkingai išsidėsčiusių stulpelinio epitelio ląstelių grupė; ląstelės dėstosi nedideliais telkiniais po vieną ar dvi, formuodamos „tvorelės“ struktūrą. Ląstelių branduoliai apvalūs, nežymiai ovalūs, citoplazmos ir branduolio santykis 4–3:1. Branduolio chromatinas smulkiai grūdėtas. Prostatos citologinio mėginio nuotraukos pateiktos 3.3.1.2 paveiksle.



3.3.1.2 pav. *Prostatos citologinio mėginio nuotrauka iš mikroskopo „Olympus BX36“ (Tokijas, Japonija)*

40x didinimas. A – normalios prostatos audinys; B – gerybinė prostatos hiperplazija.

3.3.2. Prostatos ultrasonografija

Tyrimo rezultatai parodė, kad besimptomė GPH sergančių šunų grupėje 20,0 proc. patinų ($n = 7$) nustatyta prostatos liaukos asimetrija. Audinio echogeniškumo analizė parodė, kad 85,7 proc. ($n = 30$) šunų prostatos audinys buvo heterogeniškas, palyginus su aplinkiniais audiniais, o difuziškai išplitusios intraprostatinės cistos šioje grupėje buvo identifikuotos 85,7 proc. ($n = 30$) atvejų.

Tuo tarpu sveikų šunų grupėje asimetriška prostatos forma buvo nustatyta 16,6 proc. ($n = 5$) atvejų, heteroechogeniška audinio struktūra pastebėta 13,3 proc. ($n = 4$) tirtų šunų, o intraprostatinės cistos rastos 10,0 proc. ($n = 3$) šunų.

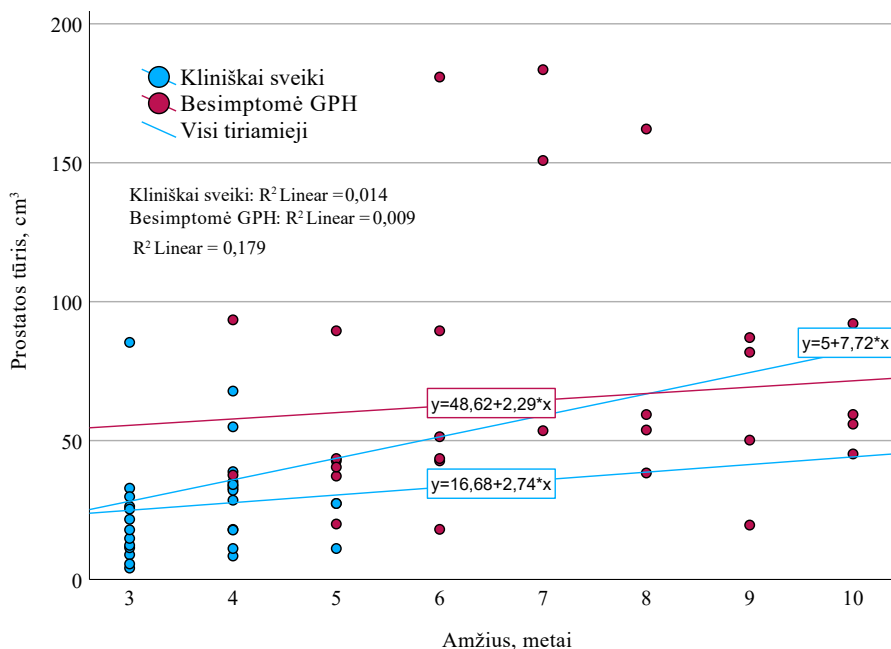
Tyrimo metu buvo vertinami prostatos dimensių matmenų skirtumai tarp besimptomė GPH sergančių šunų ir sveikų šunų grupių. Besimptomės GPH šunų grupėje nustatyti prostatos matmenys buvo tokie: ilgis – $5,34 \pm 1,29$ cm, plotis – $5,05 \pm 1,17$ cm, aukštis – $4,12 \pm 0,94$ cm. Palyginus grupes tarpusavyje, sveikų šunų grupėje prostatos matmenys buvo ženkliai mažesni: ilgis – $3,57 \pm 0,77$ cm, plotis – $3,70 \pm 0,94$ cm, aukštis – $3,45 \pm 0,88$ cm. Statistinė analizė parodė reikšmingus skirtumus tarp prostatos ilgio, pločio ir aukščio abiejose tiriamosiose grupėse ($p < 0,01$).

3.3.3. Prostatos tūrio analizė

Analizuojant prostatos tūrio rodiklius, buvo gauti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp grupių. Besimptomės GPH šunų grupėje nustatytas ženkliai didesnis prostatos tūris, kurio vidurkis su standartinio nuokrypio reikšme siekė

$64,51 \pm 43,62 \text{ cm}^3$, atitinkamai sveikų šunų grupėje vidutinis prostatos tūris buvo ženkliai mažesnis – $26,93 \pm 17,93 \text{ cm}^3$ ($p < 0,001$).

Įvertinus šunų amžiaus ir prostatos tūrio statistinę koreliaciją sveikų ir sergančių šunų grupėse, rezultatai nebuvo statistiškai reikšmingi ($p > 0,05$). Analizė parodė, kad besimptomė GPH sergančių šunų grupėje prostatos tūris kasmet vidutiniškai padidėja $2,29 \text{ cm}^3$ ($p = 0,597$), o sveikų šunų grupėje liaukos tūris kasmet padidėja $2,74 \text{ cm}^3$ ($p = 0,527$). Nepaisant to, jog šie pokyčiai kiekvienoje grupėje atskirai nėra statistiškai reikšmingi, vertinant sveikų ir besimptomė GPH sergančių šunų grupes kartu, buvo nustatyta vidutinio stiprumo koreliacija tarp amžiaus ir prostatos tūrio ($R^2 = 0,423$, $p < 0,001$). Ši koreliacija pateikta žemiau esančiame duomenų sklaidos grafike (3.3.3.1. pav.).

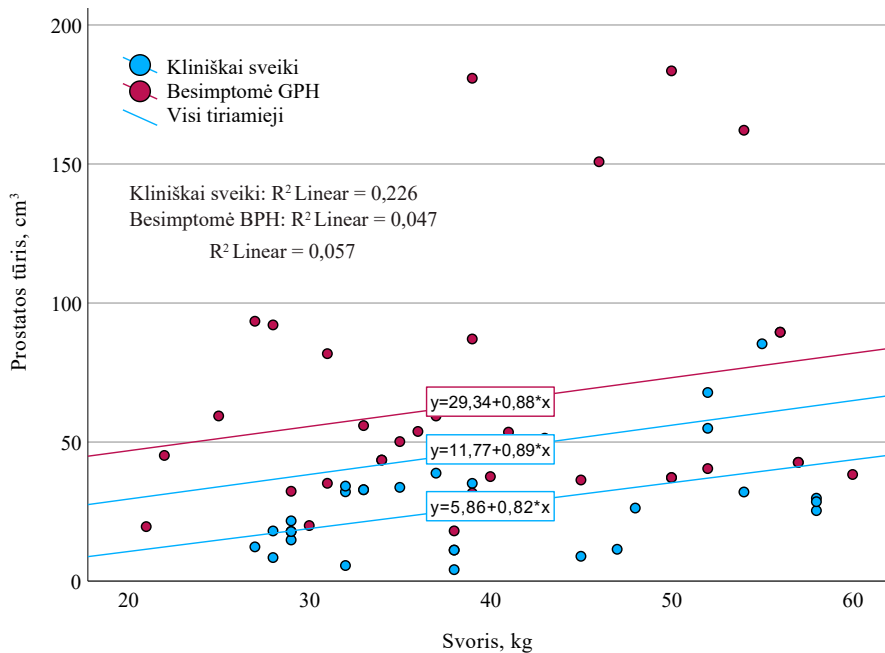


3.3.3.1 pav. Prostatos tūrio ir šunų amžiaus sklaidos diagrama

Analizuojant šunų kūno svorio ir prostatos tūrio koreliaciją sveikų šunų grupėje, buvo nustatyta vidutinio stiprumo statistiškai reikšminga koreliacija ($R^2 = 0,475$, $p < 0,01$). Tyrimo rezultatai parodė, kad svorio padidėjimas vienu kilogramu vidutiniškai susijęs su $0,82 \text{ cm}^3$ prostatos tūrio didėjimu ($p < 0,01$).

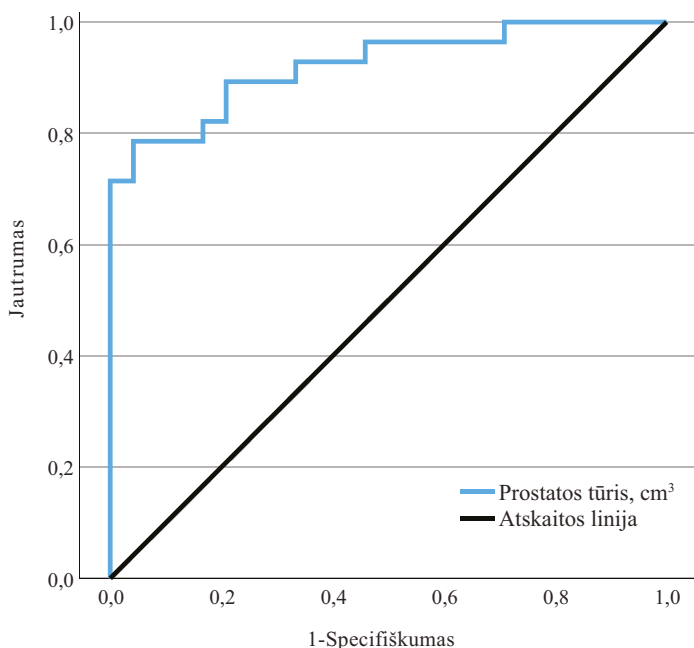
Tuo tarpu besimptomė GPH sergančių šunų grupėje ryšys tarp šunų svorio ir prostatos tūrio buvo silpnas ($r = 0,217$) ir statistiškai nereikšmingas ($p = 0,209$).

Vertinant bendrąjį tyrimo imties ryšį, buvo nustatytas silpnas koreliacinis ryšys ($R^2 = 0,240$), o statistinis ryšys buvo nereikšmingas ($p = 0,055$). Sklaidos grafikas, vaizduojantis visų tyrime dalyvavusių šunų svorio ir prostatos tūrio koreliaciją, pateiktas 3.3.3.2 paveiksle.



3.3.3.2 pav. Prostatos tūrio ir šunų svorio sklaidos diagrama

Remiantis ROC analize, nustatyta, kad prostatos tūris yra patikimas diagnostinis rodiklis, leidžiantis atskirti sveikus šunis nuo sergančiųjų besimptomė GPH. ROC kreivės ploto reikšmė ($AUC = 0,87$, $p < 0,001$) rodo, kad prostatos tūris turi gana aukštą atskyrimo gebą, nes AUC vertė artima 1 – tai rodo ypač aukštą diagnostinį tikslumą. Optimalioji prostatos tūrio ribinė reikšmė nustatyta 35,16 cm³, t. y. šią ribą viršijančios prostatos tūrio vertės rodo besimptomės GPH pasireiškimą su 87,4 proc. tikslumu. ROC analizės kreivių grafikas pateiktas 3.3.3.3 paveiksle.



3.3.3.3 pav. Prostatos tūrio (cm^3) diagnostinio patikimumo ir ribinių reikšmių ROC kreivių grafikas

3.3.4. Spalvinė Doplerio analizė

Šiame etape buvo atlikta prostatos arterijos (*a. prostatica*) echoskopija naudojant spalvinį Doplerio ultragarsą, kuris leido stebėti ir analizuoti kraujotakos rodiklius skirtingose prostatos arterijos šakojimosi lokacijose.

Rezultatai parodė, kad sveikų šunų grupėje prostatos arterijų marginalinės lokacijos PSV reikšmė su standartinio nuokrypio reikšme siekė $22,29 \pm 1,4$, o besimptomė GPH sergančių šunų grupėje šis rodiklis buvo reikšmingai didesnis – $34,1 \pm 2,91$ ($p < 0,05$). Analogiška tendencija pastebėta ir vertinant EDV reikšmes; čia sveikų šunų EDV nustatyta $4,44 \pm 0,33$, o sergančiųjų grupėje – $6,52 \pm 0,86$ ($p < 0,001$). Vertinant atsparumo indekso reikšmes marginalinėje ir subkapsulinėje lokacijose, abiejose grupėse rezultatai reikšmingai nesiskyrė: marginalinėje lokacijoje rodiklio reikšmės buvo $0,80 \pm 0,02$ sveikų šunų grupėje ir $0,81 \pm 0,01$ sergančių, o subkapsulinės lokacijos RI reikšmės sveikų šunų grupėje siekė $0,65 \pm 0,04$, o sergančių – $0,64 \pm 0,03$ ($p > 0,05$). Visi rezultatai pateikti 3.3.4.1 lentelėje.

3.3.4.1 lentelė. Prostatos arterijos skirtingose lokalizacijose kraujotakos rodikliai. *a, b* – skirtingomis raidėmis eilutėje pažymėti vidurkiai skyrėsi statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$)

Grupė	Sveiki šunys	Besimptome GPH sergantys šunys
<i>a.prostatica</i> / marginalinė lokacija, PSV	22,29 ± 1,4 ^a	34,1 ± 2,91 ^b
<i>a.prostatica</i> / marginalinė lokacija, EDV	4,44 ± 0,33 ^a	6,52 ± 0,86 ^b
<i>a.prostatica</i> / marginalinė lokacija, RI	0,80 ± 0,02	0,81 ± 0,01
<i>a. prostatica</i> / subkapsulinė lokacija, PSV	15,36 ± 0,57 ^a	17,96 ± 1,07 ^b
<i>a. prostatica</i> / subkapsulinė lokacija, EDV	5,42 ± 0,55 ^a	6,57 ± 0,72 ^b
<i>a. prostatica</i> / subkapsulinė lokacija, RI	0,65 ± 0,04	0,64 ± 0,03

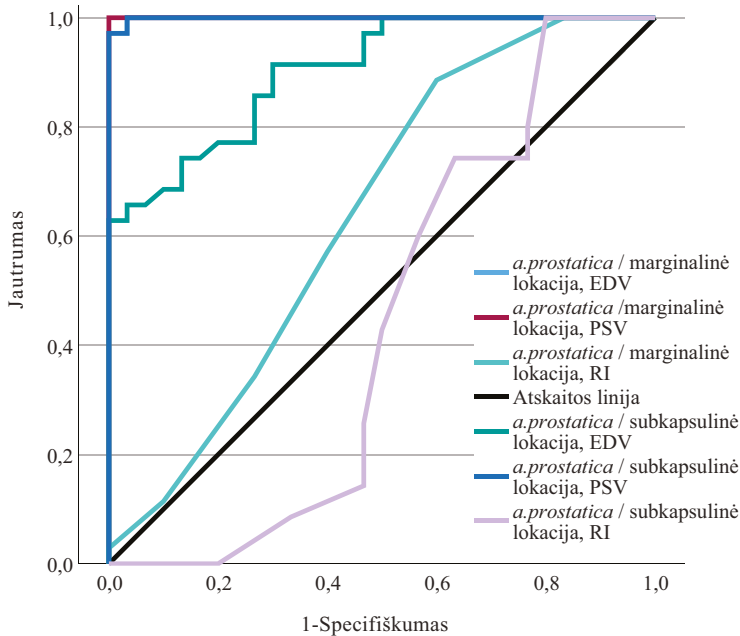
Rezultatai parodė, kad tiek marginalinėje, tiek subkapsulinėje *a. prostatica* lokacijose tam tikri hemodinaminiai parametrai pasižymėjo labai aukštu diagnostiniu tikslumu. Marginalinėje lokacijoje PSV rodiklis parodė idealią klasifikaciją (AUC = 1,000; $p < 0,001$), o nustatyta ribinė reikšmė buvo 26,78 cm/s. Šią ribinę reikšmę viršijus, šuo buvo teisingai identifikuojamas kaip sergantis subklinikinės GPH forma su 100 proc. tikimybe.

EDV parametras marginalinėje zonoje taip pat pasižymėjo labai aukštu diagnostiniu tikslumu (AUC = 0,999; $p < 0,001$), o ribinė reikšmė – 5,23 cm/s. Šią ribą viršijus, besimptomę GPH buvo galima diagnozuoti su 97,1 proc. tikimybe.

RI parametras marginalinėje lokacijoje buvo neinformatyvus (AUC = 0,639; $p = 0,051$). Šis rezultatas nebuvo statistiškai reikšmingas, todėl RI naudojimas diagnostiniais tikslais marginalinėje srityje laikytinas riboto patikimumo.

Subkapsulinėje lokacijoje PSV taip pat pasižymėjo itin aukštu tikslumu (AUC = 0,999; $p < 0,001$), o nustatyta ribinė reikšmė – 16,19 cm/s. Šią ribą viršijus, tikimybė teisingai atpažinti sergančius šunis siekė 97,1 proc. EDV parametras parodė gerą diagnostinį patikimumą (AUC = 0,903; $p < 0,001$), o ribinė reikšmė – 6,36 cm/s. Šią reikšmę viršijus, tikimybė teisingai klasifikuoti besimptome GPH sergantį šunį sudarė 62,9 proc. Tuo tarpu RI subkapsulinėje srityje diagnostinės vertės neturėjo (AUC = 0,440; $p = 0,446$).

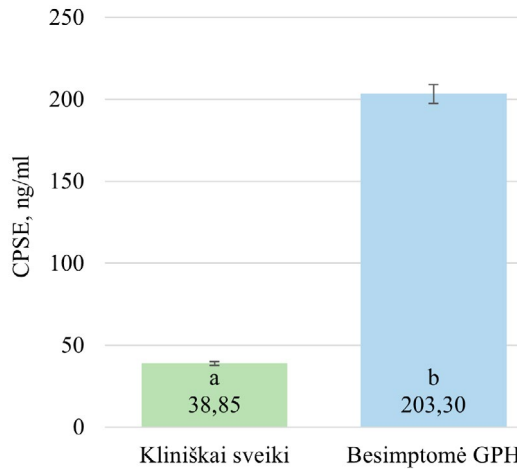
ROC kreivių analizės grafikas pavaizduotas 3.3.4.1 paveiksle.



3.3.4.1 pav. *Prostatos arterijos rodiklių skirtingose lokacijose diagnostinio patikimumo ir ribinių reikšmių ROC kreivių grafikas*

3.3.5. Šunų prostatos specifinės esterazės analizė

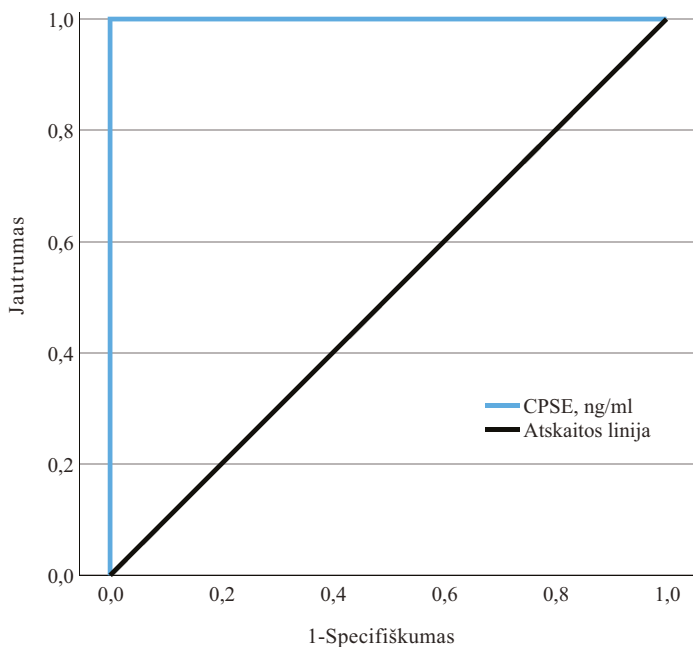
Sveikų šunų grupėje vidutinė CPSE koncentracija buvo $38,85 \text{ ng/ml} \pm 14,55 \text{ ng/ml}$ (intervalas varijavo nuo 17,53 iki 67,8 ng/ml), o GPH paveiktų šunų grupėje biomarkerio koncentracija padidėjo iki $203,3 \pm 90,39 \text{ ng/ml}$ (intervalas varijavo nuo 97,31 iki 487,54 ng/ml). Statistinė analizė parodė, kad šie rezultatai tarp grupių skyrėsi statistiškai reikšmingai ($p < 0,001$). CPSE koncentracijos skirtumai pateikti 3.3.5.1 paveiksle.



3.3.5.1 pav. CPSE koncentracijos skirtumai tarp skirtingų tiriamųjų grupių

a, b – skirtingomis raidėmis pažymėti vidurkiai skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,01$)

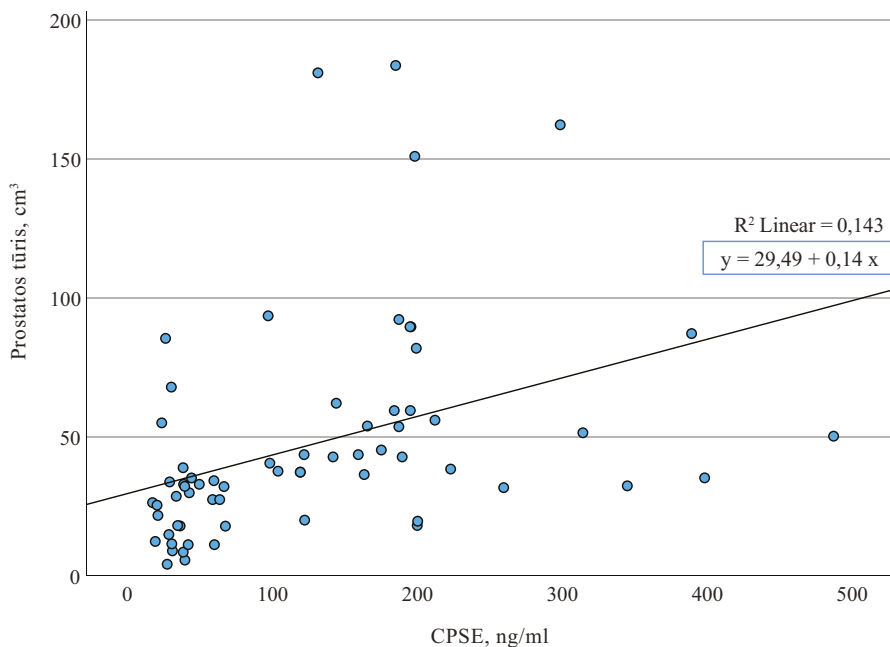
Papildomai atlikta ROC analizė, siekiant nustatyti, ar CPSE yra tinkamas metodas diferencijuoti sveikus ir sergančius šunis. ROC kreivės plotas (AUC) buvo 1,00 ($p < 0,001$), o nustatyta ribinė vertė siekė 82,56 ng/ml. Analizė parodė, kad kuomet CPSE koncentracija yra lygi arba didesnė nei 82,56 ng/ml, galima 100 proc. tikslumu identifikuoti besimptomė GPH sergančius šunis ($p < 0,001$). ROC analitinė kreivė pateikta 3.3.5.2 paveiksle.



3.3.5.2 pav. CPSE diagnostinio patikimumo ir ribinių reikšmių ROC kreivės grafikas

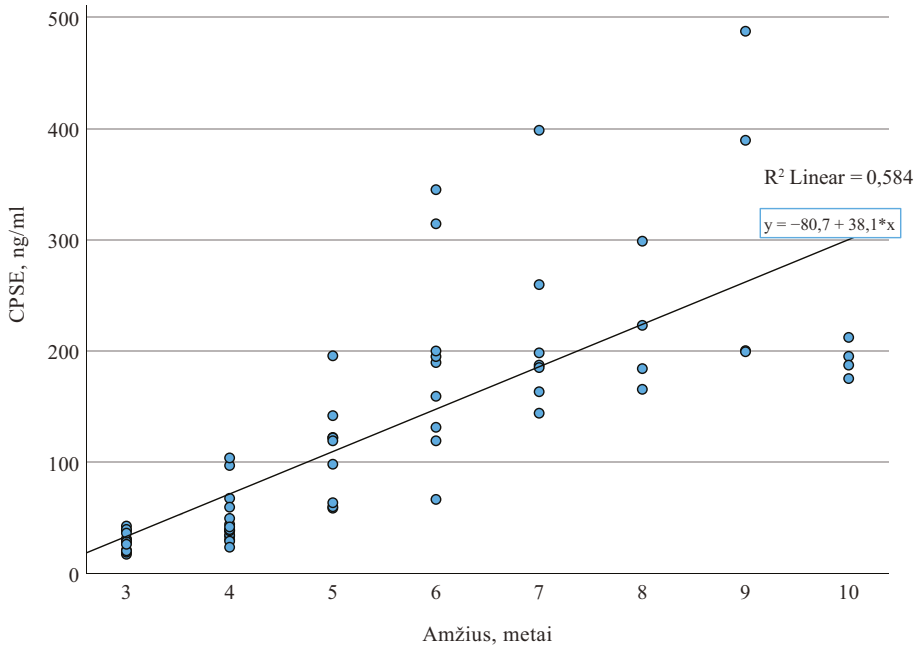
Apskaičiavus CPSE priklausomybę nuo šunų prostatos tūrio vertinant bendrai visus tyrime dalyvavusius šunis ($n = 65$), rezultatai parodė, kad prostatos tūris didėja $0,14 \text{ cm}^3$, kai CPSE koncentracija padidėja 1 ng/ml , kai pradinė prostatos tūrio reikšmė yra $29,49 \text{ cm}^3$ ($y = 29,49 + 0,14 * x$).

Nepaisant to, jog sklaidos diagramoje regresijos linija rodo teigiamą sąsają tarp CPSE koncentracijos ir prostatos tūrio, grafike yra taškų, kurie yra išsidėstę aplink regresijos kreivę, o tai indikuoja silpną koreliaciją tarp šių kintamųjų. Atlikus Pearsono koreliacijos koeficiento skaičiavimus, gautas vidutinis statistiškai patikimas ryšys tarp CPSE ir prostatos tūrio ($r = 0,378$, $p < 0,01$). Duomenų sklaidos grafikas pateiktas 3.3.5.3 paveiksle.



3.3.5.3 pav. Tyrimo duomenų sklaidos grafikas, nurodantis visų šunų CPSE koncentracijos priklausomybę nuo prostatos tūrio

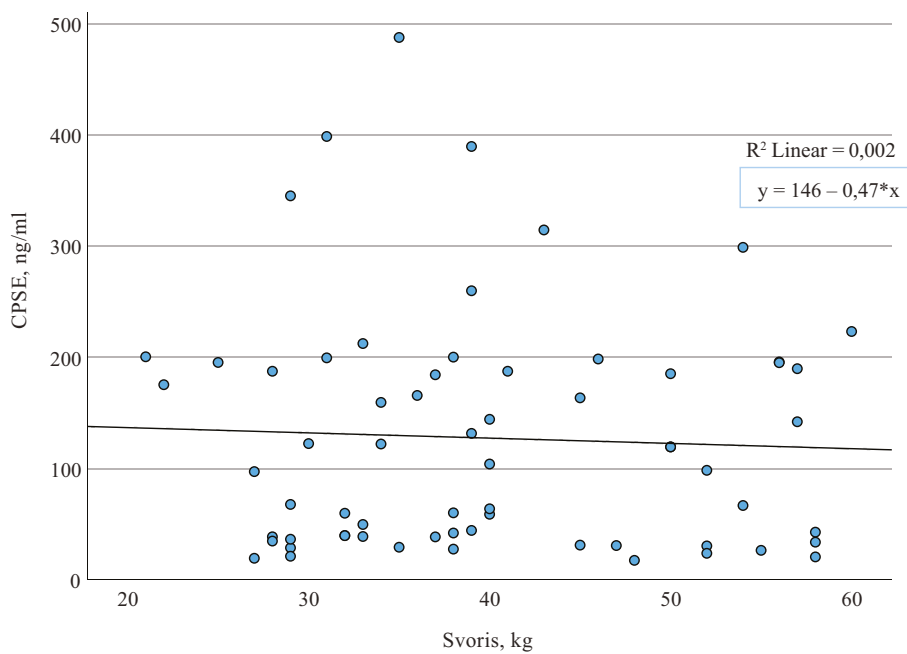
Atlikus analogišką analizę, kurioje vertinta visų tyrime dalyvavusių šunų amžiaus ir CPSE koncentracijos priklausomybė, gauti identiški rezultatai, kurie parodė stiprų statistiškai patikimą ryšį tarp amžiaus ir CPSE koncentracijos ($y = 80,7 + 38,1 * x$, $R^2 = 0,584$, $p < 0,01$). Statistinė analizė parodė, kad su amžiumi CPSE koncentracija progresiškai didėja. Pagal pateiktą tiesinę regresijos lygtį ($y = 80,7 + 38,1 * x$), CPSE koncentracija kasmet vidutiniškai padidėja 38,1 ng/ml, vertinant šunis nuo 3 metų amžiaus, kaip atskaitos tašką. Taigi, šunų nuo 3 metų amžiaus kiekvienais gyvenimo metais CPSE koncentracija kraujyje padidėja apytiksliai 38,1 ng/ml ($p < 0,01$). Sklaidos grafikas pateiktas 3.3.5.4 paveiksle.



3.3.5.4 pav. Tyrimo duomenų sklaidos grafikas, nurodantis visų šunų amžiaus priklausomybę nuo CPSE koncentracijos

Išanalizavus kūno svorio ir CPSE koreliaciją, buvo nustatyta, kad šunų svoris nepriklauso nuo CPSE koncentracijos kraujyje. Išanalizavus 65 nekastruotų šunų duomenis, pastebėta, kad Pearsono koreliacijos koeficiento reikšmė tarp kūno svorio ir CPSE koncentracijos buvo 0,047, o p reikšmė siekė 0,711.

Sudarius duomenų sklaidos grafiką rezultatai parodė, kad taškų pasiskirstymas nerodo aiškios tendencijos: taškai grafike yra išsidėstę padrikai, o regresinės linijos poslinkis yra minimalus. Tai parodo tiesės lygtis ($y = 146 - 0,47 * x$) ir koeficientas ($R^2 = 0,002$). Sklaidos grafikas pateiktas 3.3.5.5 paveiksle.



3.3.5.5 pav. Tyrimo duomenų sklaidos grafikas, rodantis visų tyrime dalyvavusių šunų svorio priklausomybę nuo CPSE koncentracijos

4. MOKSLINIO TYRIMO REZULTATŲ APITARIMAS

Mokslinio tiriamojo darbo rezultatų aptarimas yra išsamiai aprašytas 1 ir 2 mokslinių tyrimų rezultatų aptarimo skiltyje. Tolimesniuose skyriuose bus aptarti patys svarbiausi ir esminiai šio darbo rezultatai. Svarbu atkreipti dėmesį, jog atliekant šį tyrimą autoriai nustatė kelis metodinius bei praktinius apribojimus, kurie galėjo turėti įtakos rezultatų interpretavimui ir klinikiniam pritaikomumui. Vienas svarbiausių veiksnių – tirtų šunų veislių įvairovė, dėl kurios negalima atmesti veislės įtakos prostatos dydžiui, morfologiniams pokyčiams bei kraujotakos parametrų ar CPSE koncentracijos ir KT tirtų parametrų variacijoms. Taip pat susidurta su techniniais iššūkiais spalvinio Doplerio echoskopijos tyrimuose: tikslus smulkių anatominių struktūrų identifikavimas vertinant prostatos arterijas skirtingose lokacijose bei ultragarso zondavimo kampo standartizacija skirtingų gyvūnų atžvilgiu galėjo turėti įtakos kai kurių parametrų tikslumui. Svarbu pabrėžti, jog KT bei ultragarso tyrime didelę reikšmę turi ir procedūrą atliekantis bei rezultatus vertinantis asmuo, todėl prostatos atitinkamų parametrų interpretavimas gali priklausyti ir nuo procedūrą atlikusio operatoriaus, kas gali turėti įtakos rezultatams. Be to, pirmame etape daliai patinų nepavyko surinkti spermos mėginių, todėl šios analizės duomenų skaičius buvo mažesnis nei planuota. Šie apribojimai turėtų būti įvertinti planuojant būsimus tyrimus ir taikant gautus rezultatus praktikoje.

4.1. I tyrimo etapas. Prostatos būklės vertinimas

4.1.1. Rektinis tyrimas

Šis metodas vis dar yra plačiai naudojamas vertinant prostatos būklę, tačiau tyrimo jautrumas ir specifiškumas yra subjektyvus [79]. Mūsų tyrimo rezultatai atskleidė, kad rektinis tyrimas negali tiksliai nustatyti prostatos patologijų, todėl prostatos vertinimas rektiškai turi būti atliekamas kaip pirminis prostatos apžiūros metodas, tačiau ligų diagnostikai atlikti tyrimas yra netikslus. Šiame etape buvo rektiškai ištirta 150 šunų. Rektinio tyrimo duomenys parodė, kad dauguma šunų ($n = 79$, 52,7 proc.) turėjo lygų prostatos paviršių bei simetriškas skiltis ($n = 82$, 54,6 proc.), o 43,7 proc. ($n = 71$) šunų prostatos paviršius buvo grublėtas ir skiltys buvo asimetriškos ($n = 68$, 44,4 proc.), tačiau tik 18,7 proc. ($n = 28$) patinų prostatų buvo kietos konsistencijos, o 3 balais skausmingumas buvo įvertintas tik 4 patinų prostatos (2,7 proc.). Dažnu atveju kietos konsistencijos, asimetriškos ar skausmingos prostatos yra ūmaus prostatito arba pažengusių prostatos onkologinių ligų požymis [8,61]. Vis dėlto šiame tyrime dalyvavę patinai buvo kliniškai sveiki ir

neturėjo jokių simptomų, susijusių su prostatos patologijomis, todėl prostatos onkologijos ar prostatitas nebuvo įtariamos diagnozės atlikus rektinį tyrimą. Tačiau vertinant prostatos dydį rezultatai parodė, kad didžiajai daliai šunų (81,3 proc.) nustatyta prostata, užimanti iki pusės tiesiosios žarnos spindžio, – tai rodo nedidelio laipsnio (0–2 balai) prostatos padidėjimą. Tokio laipsnio prostatomegalija paprastai nesukelia klinikinių simptomų, bet gali kelti įtarimų dėl besimptomės GPH diagnozės [11]. Nors rektinis tyrimas gali būti subjektyvus ir priklauso nuo tyrimą atlikusio specialisto kompetencijų, tai yra pagrindinis pirminės prostatos apžiūros metodas [139]. Klinikinėje praktikoje rekomenduojama atlikti išsamesnius tyrimus prostatos ligoms įvertinti ir diagnozuoti, neapsiribojant vien rektinio tyrimo rezultatais [27,28].

4.1.2. Prostatos echoskopija

Atlikus prostatos echoskopiją buvo vertinamas organo skilčių simetriškumas, audinio echogeniškumas bei prostatos cistų pasireiškimas. Rezultatai parodė, kad tarp šunų, kurių asimetriškos prostatos skilčių formos, dažnai pasitaikė ir kitų echoskopinių radinių, įskaitant heterogenišką audinio struktūrą bei intraprostatines cistas. Russo ir bendraautorių atlikto tyrimo duomenimis, visiems šunims, kuriems buvo diagnozuota GPH, prostatoje buvo nustatyti identiški pakitimai: intraprostatinės cistos, pakitęs prostatos audinio echogeniškumas ir nežymi skilčių asimetrija. [195]. Šio tyrimo rezultatai taip pat parodė, kad intraprostatinės cistos, prostatos audinio heteroechogeniškumas, skilčių asimetriškumas bei prostatos padidėjimas yra susiję su patinų amžiumi – šuniui senstant prasideda GPH procesai, o kartu pasireiškia ir minėti echoskopiniai radiniai. Amžiaus priklausomybę nuo prostatos pokyčių patvirtino ir Mantziaras ir kolegų atliktos studijos rezultatai, kurioje buvo vertinami prostatos pokyčiai jauniems ir vyresnio amžiaus šunims [12]. Skirtingai nei amžius, šunų svoris įtakos prostatos echoskopiniams pokyčiams neturėjo. Kad prostatos svoris priklauso nuo patino kūno svorio, įrodyta jau seniai – 1983 metais atliktoje studijoje, kurią publikavo Brendler ir bendraautoriai. [196]. Tačiau tyrimais paremtos informacijos, ar prostatos svoris turi ryšį su minėtais specifiniais echoskopiniais pokyčiais, autorių žiniomis, mokslinėje literatūroje aptarta nėra.

4.1.3. Spermos vertinimas

Išanalizavus 117 šviežios spermos mėginių buvo nustatyta, kad šunų spermos kokybė mažėja su amžiumi, o didėjantis morfologinių defektų skaičius ir spermos pH reikšmės padidėjimas rodo, kad senstant šunims reprodukcinė funkcija silpnėja. Reikšmingas spermos kokybės sumažėjimas pastebimas vyresnių amžiaus grupių šunims, kas leidžia manyti, kad senėjimo procesas

daro neigiamą įtaką spermatogenezei. Lechner ir kolegų atliktas tyrimas parodė, jog vykstant senėjimo procesams keičiasi ne tik patino spermos kokybė, bet ir spermatozoidai tampa neatsparūs šaldymo procesams, todėl vyresnio amžiaus patinų sperma daugeliu atveju yra netinkama šaldyti skystame azote [197]. Taipogi tyrimo duomenys parodė, kad gera spermos kokybė dažniausiai susijusi su homogenišku prostatos audiniu, o vidutinė ir bloga spermos kokybė – su heterogenišku audiniu. Intraprostatinės cistos buvo reikšmingai susijusios su prastesne spermos kokybe, būdinga dideliamei procentui šunų su vidutine ar bloga spermos kokybe. Nors kai kurie šunys su intraprostatinėmis cistomis parodė gerą spermos kokybę, šis atvejis nebuvo dažnas ($n = 14, 25,9$ proc.).

Šie rezultatai rodo, kad spermos kokybės pokyčiai būdingi vyresnio amžiaus šunims, kuriems analogiškai būdingi ir prostatos audinio pokyčiai (intraprostatinės cistos ir padidėjęs audinio echogeniškumas) yra tiesiogiai susiję su spermos kokybės pablogėjimu. Moxon ir bendraautorių atlikto tyrimo rezultatai rodo, kad patinų, kurių prostatos audinys pasižymi mišriu echogeniškumu, spermos kokybė yra blogesnė, lyginant su patinų, kurių prostatos audinys yra homogeniškas [198]. Minėti pokyčiai prostatos audinyje gali būti susiję su GPH procesu, kas lemia oksidaciniu reakcijų prostatoje iniciaciją. Oksidacinis stresas turi neigiamą įtaką patino spermos kokybei [101]. Krakowski ir kolegų atliktas tyrimas taip pat pateikė panašius rezultatus. Šioje studijoje buvo ištirta 11 didelių ir milžiniškų šunų patinų, kurių amžius viršijo 3 metus ir kurie sirgo gerybine prostatos hiperplazija, šviežia sperma. Ištyrus ejakuliatą, nustatyti pokyčiai prostatos sekreto sudėtyje, pH lygyje ir spermatozoidų DNR defragmentacijoje, kas lėmė prastesnę spermos kokybę [88].

4.2. II etapas. Sveikų ir besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos paveiktos prostatos kompiuterinės tomografijos ir dalinės pelvimetrijos matavimai

4.2.1. Prostatos matmenys ir tūris, apskaičiuoti remiantis KT vaizdais

Atlikus KT ir įvertinus sveikų ir besimptome GPH sergančių šunų prostatos ilgį, plotį, aukštį bei paskaičiavus tūrį, remiantis specialiais KT operacinės sistemos algoritmais, rezultatai parodė, kad sveikų ir sergančių šunų prostatos matavimai ir tūris skyrėsi akivaizdžiai. Salonen ir kolegos atliko tyrimą, kuriame buvo išmatuotas vyresnių nei penkerių metų įvairių veislių šunų prostatos tūris naudojant kompiuterinę tomografiją. Tyrimas parodė, kad naudojant tokius pačius programinės įrangos algoritmus, kaip ir mūsų studijoje, prostatos tūrio nustatymas yra itin tikslus ir patikimas. Be to, tyrimas atskleidė, kad

matavimų patikimumas nėra priklausomas nuo specialisto kompetencijos; net ir su radiologine praktika nesusijęs klinicistas, gerai susipažinęs su matavimo technika, taip pat yra kompetentingas atlikti prostatos tūrio matavimus [184].

Haverkamp ir bendraautorių atliktame tyrime buvo išmatuotas patinų prostatos tūris naudojant kompiuterinę tomografiją ir ultragarsą. Studija pateikė aiškią išvadą, kad ultragarsu išmatuotas prostatos tūris buvo nepatikimas ir visiškai nekoreliavo su KT metodu nustatytu tūriu. Dėl šios priežasties klinikinėje praktikoje, remiantis ultragarsu apskaičiuotu prostatos tūriu, gali kilti neatitikimų su realiu prostatos tūriu, todėl šio metodo patikimumas yra ribotas [17].

Kitoje Haverkamp ir kolegų atliktoje studijoje buvo skanuotos prostatos 95 šunims, kurių grupę sudarė 58 nekastruoti patinai (vidutinis amžius 7,3 metų, vidutinis svoris 30,8 kg) ir 37 kastruoti patinai (vidutinis amžius 8,2 metų, vidutinis svoris 25,5 kg). Tyrimo rezultatai parodė, kad vidutinis prostatos tūris siekė 58,6 cm³. Mūsų tyrimas taip pat pateikė panašius rezultatus, tačiau atlikus ROC analizę, buvo nustatyta, kad patinų, kurių prostatos tūris viršija 46,186 cm³, rizika sirgti besimptomė gerybine prostatos hiperplazija yra 92,3 proc. Skirtingai nei minėtoje studijoje, mes žinome tikslią tiriamųjų šunų patinų prostatos būklę, todėl išlieka pagrindas manyti, kad Haverkamp ir kolegų atliktame tyrime dalyvavę šunys galėjo sirgti besimptomė gerybine prostatos hiperplazija, todėl prostatos tūris buvo skaičiuojamas siekiant parodyti bendrą prostatos tūrio tendenciją didelės imties populiacijoje.

Schulze ir kt., Ruel ir kt. bei Atalan ir bendraautoriai tyrė atitinkamai 50, 100 ir 154 skirtingų veislių ir amžiaus kliniškai sveikų patinų ir nustatė, kad vidutinis prostatos tūris svyruoja nuo 12 iki 30 cm³ [148,154,199]. Deja, šių autorių tyrimuose taip pat nebuvo nustatyta tiksli prostatos būklė, o prostatos matavimai buvo atlikti naudojant ultragarsą. Be to, PT buvo skaičiuojamas naudojant skirtingas tūrio formules, kurios, pasak Haverkamp ir bendraautorių atliktos studijos statistiškai nekoreliuoja su KT apskaičiuotu prostatos tūriu [18].

Mūsų tyrimo naujumas pasižymi tuo, kad visi iširti patinai buvo kliniškai sveiki arba sirgo besimptomė GPH, kuri buvo nustatyta atlikus prostatos citologiją. Atlikus statistines analizes, buvo nustatyta rekomendacinė PT riba, kurią viršijus galima įtarti besimptomę GPH su gana aukštu patikimumo procentu. Be to, svarbu pabrėžti, kad KT metu nustatyta riba buvo 46,186 cm³, o apskaičiavus PT pagal USG matavimus riba tarp sveikų ir sergančių buvo mažesnė ir siekė 35,16 cm³. Vis dėlto rekomenduojama remtis kompiuterinės tomografijos tūrio matavimo riba, nes metodologiškai KT yra tikslesnis [21].

Tyrimo metu buvo matuojamas ir prostatos ilgis, plotis bei aukštis. Mūsų studijoje nustatyti sveikų šunų prostatos matmenys buvo tokie: vidutinis ilgis – 3,43 ± 0,11 cm, vidutinis plotis – 3,65 ± 0,19 cm, vidutinis aukštis –

3,49 ± 0,14 cm, o sergančiųjų grupėje: ilgis – 5,21 ± 0,27 cm, plotis – 5,20 ± 0,22 cm, aukštis – 4,45 ± 0,15 cm. Pasikowska ir bendraautoriai atliko analogišką tyrimą, kuriame dalyvavo 20 sveikų ir 20 gerybine prostatos hiperplazija sergančių įvairių veislių šunų, kurių svoris buvo nuo 10 iki 42 kg, o amžius svyravo nuo 5 iki 11 metų. Šiems šunims buvo atlikta prostatos kompiuterinė tomografija. Tyrimo metu buvo nustatyti sveikų šunų prostatos vidutiniai matmenys: ilgis – 2,68 ± 0,63 cm, plotis – 3,19 ± 0,68 cm, aukštis – 2,82 ± 0,75 cm, o sergančių GPH šunų grupėje šie rodikliai pasiskirstė taip: ilgis – 4,38 ± 1,1 cm, plotis – 4,89 ± 0,88 cm, aukštis – 4,49 ± 0,95 cm [183]. Palyginus mūsų ir Pasikowskos ir bendraautorių atliktų tyrimų rezultatus, akivaizdu, kad abiejose studijose GPH sergančių šunų prostatos matmenys buvo didesni nei sveikų šunų. Mūsų tyrimo duomenys rodo didesnius prostatos matmenis sveikų šunų grupėje, palyginti su Pasikowska ir kolegų nustatytais matmenimis, – tai gali būti susiję su skirtingu tyrime dalyvavusių šunų amžiumi. Sergančių šunų grupėje abiejų tyrimų matmenys taip pat skyrėsi, tačiau abiejų tyrimų rezultatai patvirtina, kad GPH būklė turi įtakos prostatomegalijai vystytis.

4.2.2. Prostatos matmenų santykis su L6 slanksteliu

Prostatos karcinomos atvejais dažnu atveju metastazės pasireiškia kauluose, o ypač regioniniuose kaulinės sistemos dalyse: dubens kauluose bei juosmens slanksteliuose [200]. Atsižvelgiant į tai, Pasikowska ir bendraautorių atliktame tyrime buvo matuojamas santykis tarp prostatos aukščio, pločio bei ilgio ir L6 juosmens slankstelio ilgio, keliant hipotezę, kad prostatomegalija GPH sergantiems šunims gali būti sąlyginai identiška, palyginus prostatos karcinomos paveiktos prostatos dydį, todėl, vertinant santykinės vertės tarp prostatos rodiklių matavimų ir L6 ilgio, galima šią metodiką pritaikyti skiriant sveikus ir GPH sergančius šunis [183]. Panaši studija buvo atlikta Vali ir kt. bei Lee ir kt., kur prostatos matavimai buvo vertinami atitinkamai su L7 ir su L6 slanksteliais. Abiejų autorių studijos pateikė išvadas, kad ryšio tarp prostatos matavimų ir L7 bei L6 nebuvo [142,201]. Vis dėlto abi studijos tyrė kliniškai sveikus, įvairaus amžiaus, svorio ir veislės šunis, tačiau nė viename tyrime nebuvo atliktas prostatos citologinis ar histopatologinis tyrimas. Pasikowska ir bendraautorių publikuotoje studijoje buvo atlikti citologiniai prostatos tyrimai, kaip ir mūsų tyrime. Minėtame tyrime nustatyta, kad prostatos hiperplazija buvo susijusi su didesniu santykiu tarp prostatos ilgio (rL), pločio (rW) ir aukščio (rH) su L6 kūno ilgiu GPH sergančių šunų grupėje, palyginus su sveikais šunimis [183]. Mūsų tyrimas taip pat parodė reikšmingai didesnius vidutinius rL, rW ir rH santykius besimptome GPH paveiktų šunų

grupėje, palyginus su sveikais šunimis bei teigiamas prostatos tūrio koreliacijas su rW, rH bei rL reikšmėmis.

Mūsų atliktame tyrime, priešingai nei kituose tyrimuose, papildomai buvo nustatytos specifinės rL, rH ir rW ribinės vertės. Pasitelkus ROC analizę, buvo apibrėžtos minėtų parametrų ribinės reikšmės, kurios padeda atskirti sveikus šunis nuo besimptomė GPH sergančių šunų. Gauti duomenys leido nustatyti šias ribines rodiklių vertes: rW – 1,28 cm, rH – 1,10 cm, ir rL – 1,35 cm. Šių ribinių verčių viršijimas leidžia su tam tikra tikimybe nustatyti sergančius šunis: 82,1 proc. tikimybė rW atveju, 89,3 proc. tikimybė rH atveju ir 67,9 proc. tikimybė rL atveju. Tai yra nauji rezultatai, kurie gali padėti klinikinėje praktikoje vertinant prostatą.

4.2.3. Dalinės pelvimetrijos pritaikymas prostatos dydžio vertinime

Šiame tyrime atlikti dalinės pelvimetrijos matavimai siekiant įvertinti prostatomegalijos pasireišimą. Pelvimetrija dažnai naudojama žmonių medicinoje vertinant moterų dubens kaulų matmenis, ypač atsižvelgiant į vaisiaus galvos ir dubens priekinės atvaros santykį bei distocijos riziką gimdymo metu [202]. Veterinarinėje medicinoje ši metodika taikoma panašioms tikslams – atliekama nėščių kelių pelvimetrija, siekiant įvertinti analogiškas rizikas kaip ir žmonių medicinoje [203]. Pastaruoju metu šiam tikslui buvo panaudota ir KT [204]. Įvairios studijos parodė, kad kompiuterinė tomografija yra žymiai patikimesnis metodas pelvimetrijai atlikti nei rentgeno tyrimas [205–207]. Vertinant šunų prostatą, dubens kaulų ir priekinės liaukos ryšys buvo aprašytas 1999 metais Atalan ir kt. atliktoje studijoje. Tyrimo metu buvo atliktos rentgenogramos, kuriose dėmesys atkreiptas į prostatos ir dubens kaulų matavimus. Tyrimo išvados parodė, kad šie matavimai yra patikimi vertinant prostatos dydį [144]. Tai buvo vienas pirmųjų bandymų panaudoti dubens kaulus ir tirti šių matavimų tarpusavio ryšį, siekiant įvertinti galimas koreliacijas ir suteikiant vertingų įžvalgų apie anatominę sąsają tarp dubens kaulų ir prostatos matmenų. Vis dėlto vėliau atlikta Choi ir bendraautorių studija parodė, kad šis metodas yra subjektyvus ir netikslus dėl galimų neatitikimų atliekant matavimus rentgeno nuotraukoje [149]. Atsižvelgdami į šį apribojimą, tęsėme dubens priekinės atvaros bei prostatos pločio ir aukščio santykio vertinimą, pasitelkdami KT sistemoje atkurtus trimačius vaizdus ir siekdami suprasti matavimų tarp šių struktūrų ryšį bei kaitą. Mūsų rezultatai parodė, kad besimptomės GPH paveiktų šunų ppW ir ppH reikšmės skiriasi, palyginus jas su sveikų šunų. Tai rodo galimą prostatomegalijos ir dubens priekinės atvaros matmenų sąsają. Be to, šio tyrimo rezultatai atskleidė neigiamą koreliaciją tarp visų tyrime dalyvavusių šunų amžiaus, nepriklausomai nuo prostatos liaukos sveikatos būklės ir ppH bei ppW reikšmių; tai rodo, kad senstant šunims spontaniškai progresuoja prostatomegalija, o šios reikšmės parodo

prostatos didėjimo progresiją. Panašūs rezultatai buvo gauti ir su prostatos tūriu. Tyrimas rodo, kad didėjant prostatos tūriui ppW ir ppH reikšmės mažėja, nes didelio tūrio prostata vis mažiau „telpa“ į priekinės dubens atvaros „rėmus“. Taip pat svarbu atkreipti dėmesį į tai, kad lytinės brandos sulaukusių šunų yra visiškai susiformavusi muskuloskeletinė sistema ir dubens kaulų dydis senstant nesikeičia [208]. Tai reiškia, kad ppW ir ppH reikšmės visiškai priklauso nuo prostatos hiperplazijos procesų. Tai patvirtina ir mūsų tyrime atlikta ROC analizė, kurios rezultatai rodo, kad skiriamosios ribinės ppW ir ppH reikšmės leidžia atskirti sveikus nuo besimptomė GPH paveiktų šunų.

Šis tyrimas yra pradinis modelis dalinei pelvimetriai ir prostatomegalijos ryšiui tarp šunų patinų tyrinėti. Svarbu pabrėžti, kad šis vertinimo metodas tinka prostatos dydžiui nustatyti ir besimptomės GPH diagnostikai atlikti ir tuo atveju, kai kompiuterinė tomografija atliekama kitoms struktūroms vertinti, tačiau į tyrimą patenka priekinė dubens atvara ir prostatos liauka, pavyzdžiui, vertinant urogenitalinio trakto, stuburo ar klubo sąnarių patologijas [209].

4.2.4. Prostatos audinio tankio matavimai

Mūsų atliktame tyrime buvo vertinamos ir prostatos audinio tankio skaitinės vertės. Gauti rezultatai atskleidė, kad pokontrastinėje tyrimo fazėje Hounsfieldo vienetų (HU) reikšmės besimptomės GPH paveiktų šunų prostatoje žymiai sumažėjo, palyginus su sveikų šunų. Tokius rezultatus pateikė ir Pasikowska ir bendraautorių atliktas tyrimas, kuriame GPH sergančių šunų HU reikšmės taip pat buvo didesnės [183]. Nepaisant to, mūsų tyrime buvo atlikta statistinė analizė, kuri parodė, kad prieškontrastinėje fazėje tiek sergančių besimptomė GPH forma, tiek sveikų šunų HU reikšmės didėja mažėjant prostatos tūriui, tačiau šis ryšys yra statistiškai nereikšmingas. Pokontrastinėje fazėje prostatos tūris HU reikšmėms įtakos beveik neturi. Šie duomenys patvirtina, kad prostatos tūris turi ribotą įtaką HU reikšmėms. Vis dėlto reikia atkreipti dėmesį, kad besimptomė GPH sergančių šunų prostatomegalija yra silpnai išreikšta. Tikėtina, kad šunys, sergantys GPH su aiškiais klinikiniais simptomais, paprastai pasižymi ryškia prostatomegalija, kuri potencialiai gali daryti įtaką HU reikšmėms.

Lee ir bendraautoriai atliko studiją, kurioje vertino šunų prostatas analizuodami įvairius KT rodiklius. Buvo pastebėta, kad skyrėsi HU reikšmės šunų prostatų, kuriose buvo intraprostatinių cistų [142]. Mūsų tyrimo metu statistinė analizė parodė, kad intraprostatinės cistos daro nedidelę įtaką prostatos kontrastavimuisi. Tokie rezultatų skirtumai gali būti paaiškinti tuo, kad abiejuose tyrimuose nebuvo apibrėžtas intraprostatinių cistų skersmuo. Reiktų pabrėžti, kad kliniškai sveiki šunys su diagnozuota besimptomė GPH

dažniausiai neturi didelio skersmens intraprostatinių cistų, nes didelės apimties cistos prostatoje paprastai siejasi ir su klinikinių simptomų pasireiškimu [130]. Nors mūsų ir Lee ir kt. atliktų tyrimų rezultatai vertinant HU reikšmes skyrėsi, svarbu pabrėžti, kad Lee ir bendraautorių studijoje nebuvo atlikta prostatos audinio histopatologinė analizė ir tyrimas tik parodė, kad liaukos kontrastavimas gali būti naudojamas kaip papildomas kriterijus vertinant prostatos būklę.

Vis tik mūsų tyrime atlikta prostatos audinio citologija išskyrė sveikus ir besimptome GPH paveiktus šunis, todėl rezultatai gali būti patikimesni. Be to, mūsų tyrime atlikta ROC analizė pateikė ir ribines reikšmes, kurios gali leisti įtarti besimptomės GPH paveiktus šunis. Tyrimas parodė, kad pokontrastinėje fazėje esant HU reikšmei žemesnei nei 93,5 HU galima įtarti, kad šunys yra paveikti hiperplazijos procesų. Šie rezultatai taip pat yra naudojami kaip papildoma informacija atkreipiant dėmesį į galimą prostatos besimptomės GPH pasireiškimą.

4.3. III etapas. Sveikų ir besimptomės GPH paveiktų šunų prostatos specifinės esterazės koncentracijos ribų ir ultragarso specifinių parametrų ribinių verčių nustatymas

4.3.1. Prostatos tūrio vertinimas ultragarsu

Mūsų rezultatai pabrėžė ženkliai padidėjusį prostatos tūrį šunų, sergančių besimptome GPH forma, palyginus su sveikais šunimis. Dearakhshandeh ir kolegų atlikto tyrimo metu buvo ištirti 25 įvairaus amžiaus bei veislių patinai, kurių amžius svyravo nuo 1 iki 3 metų, o svoris – nuo 15 iki 20 kg, siekiant nustatyti prostatomegalijos progresiją, kai GPH buvo sukelta dirbtinai aplikuoiant testosterono enantato ir estradiolio benzoato injekcijas. Ultragarso tyrimai atskleidė, kad dirbtinai sukeltos GPH grupės prostatos tūris padidėjo nuo $9,66 \pm 4,81 \text{ cm}^3$ 0 dieną iki $20,59 \pm 6,83 \text{ cm}^3$ 63 dieną [85]. Nors šunų, dalyvavusių mūsų tyrime, amžius ir svoris skyrėsi, rezultatai buvo panašūs: sergančių besimptome GPH šunų prostatos tūris buvo $64,51 \pm 43,62 \text{ cm}^3$, sveikų šunų – $26,93 \pm 17,93 \text{ cm}^3$. Abu tyrimai rodo tendenciją, kad GPH paveiktos šunų prostatos tūris yra didesnis nei sveikų šunų.

Be to, mūsų tyrimuose ROC analizė pasiūlė prostatos tūrio ribą besimptome GPH sergantiems šunims, kuri turėtų būti didesnė nei $35,16 \text{ cm}^3$. Tačiau svarbu pažymėti, kad mūsų tyrime prostatos tūris, matuotas ultragarsu (naudojant elipsoidinių kūnų formulę), skyrėsi nuo KT operacinės sistemos apskaičiuoto tūrio. Visgi remiantis tuo, kad KT yra tikslesnis tyrimas vertinant ne tik organo tūrį, bet ir kitus rodiklius, galima pritarti Haverkamp

ir bendraautorių atliktos studijos tyrimui, kad KT yra patikimesnis metodas, skaičiuojant prostatos tūrį [17].

4.3.2. Prostatos kraujotakos vertinimas spalviniu Dopleriu

Mūsų tyrimas pabrėžia spalvinio Doplerio metodikos svarbą ir potencialą vertinant sveikus ir besimptomę GPH sergančius šunis. Rezultatai buvo palyginti su Zelli ir kolegų atlikto tyrimo duomenimis, kuriame buvo išmatuoti įvairūs kraujagyslių rodikliai prostatos arterijoje. Mūsų gauti rezultatai skyrėsi nuo Zelli ir bendraautorių pateiktų rezultatų. Minėto autoriaus tyrime tiek marginalinės lokacijos prostatos arterijoje, tiek subkapsulinėje lokacijoje PSV, EDV bei RI rodikliai buvo didesni nei mūsų tyrime ištirtų šunų prostatoje.

Skirtingi rezultatai tarp šių tyrimų gali būti susiję su įvairiais metodologiniais aspektais, pavyzdžiui, tiriamųjų šunų amžiumi, svoriu, veisle bei imties dydžiu. Mūsų tyrimas apėmė įvairių veislių šunis, o Zelli ir bendraautoriai analizavo tik vokiečių aviganius. Be to, mūsų tyrimo sergantiems šunims buvo diagnozuota besimptomė GPH, o minėtame tyrime klinikinė šunų būklė nebuvo aiškiai apibrėžta.

Nepaisant minėtų skirtumų, mūsų tyrimų rezultatai rodo, kad šunys, sergantis besimptomę GPH, dažniausiai pasižymi padidėjusiais kraujagyslių greičio rodikliais, palyginti su sveikais šunimis. Tai yra svarbu, nes panašūs didesni kraujagyslių greičiai buvo stebimi ir kitų autorių, tokių kaip Gunzel-Apel ir kt. bei Nizański ir kt. atliktuose tyrimuose, kurie taip pat fiksavo didesnius prostatos arterijos kraujotakos greičius GPH paveiktose prostatos liaukose, palyginus su sveikomis. Mūsų pateikti rezultatai leidžia geriau suprasti kraujotakos pokyčius priešinėje liaukoje, susijusius su besimptomę GPH forma, kadangi tyrime buvo atlikta ROC analizė, kuri parodė, kad atskirose lokacijose tirtos prostatos arterijos kraujotakos greičių rodikliai yra veiksmingas diagnostinis metodas, skiriantis sveikus ir sergančius šunis. ROC kreivės analizė parodė, kad prostatos arterijų PSV ir EDV rodikliai tiek marginalinėje, tiek subkapsulinėje lokacijoje, pasižymi aukštu diagnostiniu tikslumu abiejose grupėse. Vis dėlto RI rodiklio abiejose prostatos arterijos lokacijose, o ypač subkapsulinėje lokacijoje diagnostinis tikslumas buvo žymiai mažesnis, palyginus su PSV ir EDV rodikliais. Šis rodiklis nesiskyrė statistiškai reikšmingai abiejose lokacijose tiek sveikų, tiek sergančių šunų grupėje, todėl RI šiuo atveju yra mažiau informatyvus, tad į tai reikėtų atkreipti dėmesį klinikinėje praktikoje. Tokį fenomeną galima paaiškinti tuo, kad PSV ir EDV rodikliai, matuojantys kraujo tėkmės greitį per tam tikrą laiką, yra jautresni aptinkant net nedidelius kraujagyslių sienelių ar kraujotakos pokyčius [210]. RI, apskaičiuojamas kaip santykis tarp PSV ir EDV

($RI = (PSV - EDV) / PSV$), yra atsparus pokyčiams, kurie nekeičia kraujagyslių atsparumo arba kraujagyslių tonuso, net jei PSV ar EDV rodikliai patiria pokyčių. RI yra jautrus kraujagyslių sienelių būklei ir elastingumui, kuri gali likti palyginti stabili esant besimptomėi GPH formai [211,212].

4.3.3. CPSE ribinių reikšmių nustatymas

Mūsų tyrime atlikus CPSE analizę 52 kliniškai sveikiems šunims reproduktoriams, buvo nustatyta, kad sveikų šunų grupėje vidutinė CPSE koncentracija kraujyje buvo $38,85 \pm 14,55$ ng/ml. Ir priešingai – šunų su besimptomė GPH buvo žymiai padidėjusi vidutinė koncentracijos reikšmė – $203,3 \pm 90,39$ ng/ml. Bell ir bendraautorių atliktas tyrimas parodė, kad GPH sergantys šunys turėjo ženkliai didesnes CPSE koncentracijos vertes ($189,7$ ng/ml), palyginus su sveikais šunimis ($41,8$ ng/ml) [213]. Alonge ir bendraautorių studijoje buvo nustatyta, kad sveikų šunų vidutinės CPSE vertės buvo $38,9$ ng/ml, o šunų, sergančių GPH, – $184,9$ ng/ml [214]. Šiame tyrime buvo nustatyta klinikinė CPSE ribinė vertė, kuri, remiantis ROC analize, yra $52,3$ ng/ml, gali būti taikoma GPH diagnozuoti. Mūsų tyrimas, atliktas su didesne imtimi ($n = 65$) šunų, palyginus su Alonge ir kolegų atliktu tyrimu ($n = 19$), nustatė aukštesnę diagnostinę ribą, kuri, viršijus $82,56$ ng/ml, leidžia įtarti besimptomę GPH. Rezultatų skirtumai gali būti susiję ne vien su imties dydžio, šunų amžiaus ir veislių skirtumais, bet ir su pagrindiniu metodologiniu aspektu: Alonge ir bendraautorių atliktame tyrime CPSE koncentracija buvo nustatyta atliekant ELISA metodą, o mūsų tyrimas pasitelkė lazerinės fluorescencijos metodą, kuris yra patikimesnis už ELISA metodą [215]. Palyginus su Holst ir bendraautorių atliktu tyrimu, kuriame diagnostinė riba buvo nustatyta 90 ng/ml, mūsų gauti rezultatai yra vienodi. Minėtoje studijoje tyrimo imtį sudarė 79 nekastruoti šunys patinai, kurių vidutinis amžius siekė 7,5 metų, o vidutinis svoris – $24,5$ kg. Nepaisant to, kad CPSE koncentracija Holst ir bendraautorių atliktame tyrime buvo nustatyta naudojant ELISA metodą, diagnostinės ribos buvo panašios [25]. Atsižvelgus į tai, kad Holst ir bendraautorių tyrime šunys buvo klinikinio požiūriu sveiki ir jų amžius bei svoris buvo panašus į mūsų tirtų šunų charakteristikas, galima teigti, kad abi pateiktos ribinės vertės yra gana patikimi rodikliai, įtariant besimptomę GPH. Taip pat mūsų tyrimo rezultatai parodė, kad CPSE turi priklausomybę nuo prostatos tūrio, bet nepriklauso nuo patino svorio. Analogiškus rezultatus pateikė ir Pinheiro ir bendraautorių studija [24]. Atsižvelgiant į tai, kad CPSE yra greitas, ekonomiškai ir prieinamas tyrimas, veterinarinėje praktikoje šis metodas tampa itin vertingas šunų prostatos sveikatos būklei įvertinti. CPSE leidžia atlikti ankstyvą prostatos ligų diagnostiką visiems šunims patinams, nepriklausomai nuo jų reprodukcinio statuso – tai suteikia galimybę ne tik laiku

pastebėti hiperplazijos procesus, bet ir pradėti reikiamus tyrimus ar gydymą, net ir tuo atveju, jei susirgimas yra besimptomis. Svarbu pabrėžti, kad šis metodas yra neinvazyvus, todėl yra ypač tikslingas atliekant vyresnio amžiaus šunų tyrimus. Be to, CPSE tyrimas naudingas ne tik GPH ankstyvos formos diagnozei atlikti, bet ir bendrai šunų patinų reprodukcinei bei sveikatos būklei įvertinti, stebėsenai ir gydymo strategijoms rengti [138,213,216].

IŠVADOS

1. Nustatyta, kad rektinio tyrimo metu įvertinti prostatos morfologiniai parametrai pasižymėjo didele individualia variacija.
 - 1.1. Tyrimo duomenimis nustatyta, kad prostatos ultragarsu įvertinti pakitimai – prostatos dydis, audinio heterogeniškumas, intraprostatinų cistų pasireiškimas bei prostatos skilčių asimetrija – priklauso nuo šunų amžiaus ir pasireiškia patinams, vyresniems nei 5,5 metų, o šunų svoris įtakos neturėjo.
 - 1.2. Nustatyta, kad su amžiumi reikšmingai blogėja patinų spermos kokybė – mažėja antrosios frakcijos tūris, spermatozoidų koncentracija ir progresyvus judrumas, didėja morfologinių defektų procentas bei ejakulianto trečiosios frakcijos pH.
2. Nustatyta, kad prostatos ilgis, plotis, aukštis ir tūris reikšmingai skyrėsi tarp sveikų ir besimptomė GPH sergančių šunų ($p < 0,001$), o nustatyta prostatos tūrio ribinė reikšmė ($46,186 \text{ cm}^3$) leidžia diagnozuoti besimptomę GPH su 92,3 proc. tikimybe.
 - 2.1. Nustatyta, kad rodikliai rL , rW ir rH pasižymi aukštu diagnostiniu patikimumu atskiriant besimptomė GPH sergančius šunis nuo sveikų, o jų ribinės reikšmės – $rL \geq 1,35$, $rW \geq 1,28$ ir $rH \geq 1,10$ – leidžia identifikuoti susirgimą atitinkamai 67,9 proc., 82,1 proc. ir 89,3 proc. tikslumu ($p < 0,01$).
 - 2.2. Nustatyta, kad ppW rodiklis pasižymėjo aukštu diferenciniu tikslumu vertinant sveikų ir besimptomė GPH sergančių šunų atskyrimą – reikšmė, viršijanti 0,77, buvo susijusi su 74,4 proc. tikimybe, kad tiriamasis gyvūnas priklauso sveikų šunų grupei ($AUC = 0,836$; $p < 0,001$). Tuo tarpu ppH parametrui buvo nustatyta ribinė reikšmė, lygi 0,71, kurią viršijus šunys su 77,7 proc. tikimybe buvo klasifikuojami kaip kliniškai sveiki.
 - 2.3. Nustatyta, kad tik pokontrastinėje kompiuterinės tomografijos fazėje prostatos audinio tankio reikšmės statistiškai reikšmingai skyrėsi tarp sveikų ir besimptomė GPH sergančių šunų ($p < 0,001$), o esant HU reikšmei mažesnei nei 93,5, diagnozuoti besimptomę GPH galima su 87,8 proc. tikimybe ($AUC = 0,879$; $p < 0,001$).
3. Nustatyta, ribinė prostatos tūrio vertė ($35,16 \text{ cm}^3$), kurią viršijus, besimptomę GPH galima nustatyti su 87,4 proc. tikimybe ($AUC = 0,87$; $p < 0,001$).
 - 3.1. Tyrimo duomenimis nustatyta, kad prostatos arterijų kraujotakos rodikliai – sistolinis kraujo tėkmės greitis (PSV) ir diastolės pabailgos greitis (EDV) – pasižymi itin aukštu diagnostiniu tikslumu di-

ferencijuojant sveikus šunis nuo besimptomės gerybinės prostatos hiperplazijos atvejų ($AUC = 0,999-1,000$; $p < 0,001$). Apskaičiuotos ribinės reikšmės marginalinėje prostatos arterijų lokalizacijoje buvo $PSV \geq 26,78$ cm/s ir $EDV \geq 5,23$ cm/s. Viršijus šias ribas, šunys buvo teisingai klasifikuojami kaip sergantys subklinikinės GPH forma atitinkamai 100,0 proc. ir 97,1 proc. tikslumu. Subkapsulinėje lokalizacijoje nustatytos ribinės reikšmės buvo $PSV \geq 16,19$ cm/s ir $EDV \geq 6,36$ cm/s, o šių reikšmių viršijimas lėmė teisingą sergančių šunų atpažinimą atitinkamai 97,1 proc. ir 62,9 proc. tikimybe. Priešingai, atsparumo indeksas (RI) abiejose lokalizacijose diagnostinės vertės neturėjo ($AUC = 0,639$ marginalinėje ir $AUC = 0,440$ subkapsulinėje lokalizacijoje; $p > 0,05$), todėl jo taikymas diferencijuojant sveikus ir sergančius šunis laikytinas neinformatyviu.

- 3.2. Nustatyta, kad besimptomė gerybinė prostatos hiperplazija gali būti diagnozuojama su 100 proc. tikslumu, kai prostatos specifinės esterazės (CPSE) koncentracija yra lygi arba viršija 82,56 ng/ml ($AUC = 1,00$; $p < 0,001$).

REKOMENDACIJOS

1. Vyresniems nei 5,5 metų nekastruotiems šunims reguliariai atlikti profilaktines andrologines apžiūras atliekant rektinį tyrimą, prostatos ultragarso vertinimą, o patinams reproduktoriams papildomai atlikti ir spermos analizę.
2. Atliekant prostatos ultragarsinį tyrimą, apskaičiuoti prostatos tūrį ir taikyti spalvinės Doplerio sonografijos metodiką, vertinant prostatos arterijų kraujotakos greičius ir remiantis nustatytais prostatos tūrio ir arterinės kraujotakos rodiklių ribinėmis vertėmis, įvertinti prostatos hiperplazijos procesų pasireiškimą.
3. Androloginės apžiūros metu taikyti CPSE kraujo tyrimą kaip pirmo pasirinkimo neinvazinį metodą ankstyvai gerybinės prostatos hiperplazijos diagnostikai, remiantis mūsų tyrime nustatyta ribine biomarkerio reikšme.
4. Kompiuterinę tomografiją taikyti kaip patikimą ir kompleksinį prostatos būklės vertinimo metodą, integruojant kiekybinę prostatos tūrio analizę, santykinį matmenų su šeštuoju juosmens slanksteliu įvertinimą, dalinės pelvimetrijos ir audinio tankio analizę.

SUMMARY

ABBREVIATIONS

BPH	– Benign Prostatic Hyperplasia
US	– Ultrasonography
CT	– Computed Tomography
CPSE	– Canine Prostatic Specific Esterase
DHT	– Dihydrotestosterone
GnRH	– Gonadotropin-Releasing Hormone
FSH	– Follicle-Stimulating Hormone
LH	– Luteinizing Hormone
PSA	– Prostate-Specific Antigen
ROS	– Reactive Oxygen Species
MRI	– Magnetic Resonance Imaging
TRUS	– Transrectal Ultrasound
CEUS	– Contrast Enhanced Ultrasonography
HU	– Hounsfield Units
L6	– Sixth Lumbar Vertebra
rL	– Ratio of Prostate Length to Sixth Lumbar Vertebra Length
rH	– Ratio of Prostate Height to Sixth Lumbar Vertebra Height
rW	– Ratio of Prostate Width to Sixth Lumbar Vertebra Width
ppW	– Ratio of Prostate Width to Anterior Pelvic Aperture Width
ppH	– Ratio of Prostate Height to Anterior Pelvic Aperture Height
PSV	– Peak Systolic Velocity
EDV	– End Diastolic Velocity
RI	– Resistive Index
PT	– Prostate Volume
SD	– Standard Deviation
ROC	– Receiver Operating Characteristic
AUC	– Area Under the ROC Curve
ELISA	– Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

1. INTRODUCTION

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is the most commonly encountered prostate pathology affecting all unneutered male dogs, regardless of breed. According to Socha et al., this prostatic condition with clinical symptoms is more frequently observed in large and giant breed dogs older than 4 years [1]. However, BPH can also manifest earlier, including younger dogs. Lowseth et al. suggest that prostatic hyperplasia may begin developing in males as young as 2 years of age [2].

It is important to note that the canine prostate gland exhibits anatomical and histological structures that are analogous to those of the human prostate, along with comparable physiological functions. The prostate gland is not only involved in hormone synthesis but also demonstrates significant sensitivity to circulating sex hormones within the body, particularly androgens [3]. The degree of benign prostatic hyperplasia manifestation directly depends on the concentration of androgens. The impact of androgens in the prostate gland initiates changes in the number and size of epithelial cells: an increase in cell number (hyperplasia) and an enlargement in cell size (hypertrophy). These physiological processes contribute to the enlargement of the prostate, leading to various health issues [4]. BPH may present clinical symptoms such as hematuria, disuria, constipation, balanoposthitis, pain in the back or hind limbs, limping, penile discharge, or even urinary incontinence [5]. Additionally, it is crucial to remember that BPH significantly affects canine reproductive health. In cases of BPH, there may be a decrease in male *libido*, deterioration in semen quality, or even development of infertility [6]. Research has established that the prostate gland is responsible for producing the first and third fractions of the complete canine ejaculate and that significant alterations in these components can elevate the risk of compromised breeding functionality and generally affect the reproductive status of male dog [7]. Moreover, the uncontrolled progression of BPH increases the risk of developing secondary prostatic conditions, such as prostatitis, intraprostatic and/or paraprostatic cysts, and prostatic neoplasms, all of which may negatively affect the male's fertility and overall health. Furthermore, associated conditions like perineal hernia may also arise due to progression of BPH, which potentially can compromise the animal's systemic well-being [8,9].

Currently, in veterinary practice, there are numerous diagnostic tools for assessing prostate conditions, yet early detection of subclinical BPH remains a challenge. Prostate assessment begins with a rectal examination, which is one of the primary methods for evaluating prostate gland condition in both humans and animals. However, this examination is subjective, since only the dorsoventral aspect of the prostate can be palpated. Also, this method is further

influenced by individual variability in physician assessment. Additionally, rectal palpation can pose challenges for small breed dogs due to their size, potentially causing pain and discomfort leading to false examination [10,11].

For a more comprehensive evaluation of the prostate, various diagnostic imaging modalities are utilized, including radiography, ultrasonography, computed tomography (CT), and magnetic resonance imaging. These diagnostic imaging modalities are widely regarded as the most efficacious in veterinary medicine for the comprehensive assessment of prostate gland [13,14]. In terms of different diagnostic imaging methods, X-ray examination of the prostate gland may be used for determining only the anatomical localization, size, or presence of large cysts. Moreover, the value of X-ray examination is limited due to other abdominal organ imaging interferences and poor quality contrast enhancement. Therefore, ultrasound is more commonly used in clinical practice in terms of evaluation of the prostate gland [11,12]. Nonetheless, the effectiveness of ultrasound diagnosis greatly depends on the operators' experience, not only in terms of image interpretation but also regarding the technical aspects of the procedure. Accurately delineating the prostate gland margins, particularly the posterior contour, and selecting optimal imaging planes for ultrasound measurements continue to pose significant challenges for some practitioners. However, despite these limitations, ultrasound is considered the 'gold-standard' in clinical practice for evaluating prostate gland due to its accessibility and diagnostic efficacy [12,15,16]. Still, recent scientific studies indicate that ultrasound examination does not always accurately assess prostate pathologies, particularly in calculating prostate volume, which is a crucial criterion for determining the degree of BPH [17,18]. In instances where ultrasound diagnosis is unreliable or when there are significant concerns regarding prostate neoplasms, CT is recommended as an alternative diagnostic tool. While CT is typically used for severe cases, this examination is an integral part of diagnosing internal organ disorders, including prostate gland diseases [19,20].

Computed tomography offers novel and advanced diagnostic imaging capabilities; however, there is still a limited number of scientific publications specifically addressing prostatic imaging using this modality [21].

In veterinary practice, there is a consistent effort to avoid invasive diagnostic procedures. Although the aforementioned imaging techniques are classified as non-invasive, it is important to emphasize that the most reliable method for BPH diagnosis remains cytological or histopathological evaluation of prostatic tissue [22].

In an effort to minimize the use of invasive diagnostic methods, the use of canine prostatic specific esterase (CPSE), a biomarker for benign prostatic hyperplasia, has been increasingly adopted in veterinary practice in recent

years. This biomarker is analogous to the prostate-specific antigen (PSA) employed in human medicine for the diagnosis of prostatic diseases in men [23]. Both CPSE and PSA are serine proteases specific to prostatic tissue and serve as biomarkers for assessing prostatic health. CPSE is particularly valuable in canine prostatic disease diagnostics, as its concentration in blood increases in cases of prostatic hyperplasia, thus providing veterinarians with a valuable tool for early detection of BPH [24,25].

The CPSE-based method is non-invasive, rapid, and cost-effective, which contributes to its growing application in both diagnostic settings and monitoring programs. It serves as a biomarker for tracking the progression of BPH in aging dogs [26].

Although a definitive diagnosis of BPH still requires invasive cytological or histopathological confirmation, the integration of non-invasive diagnostic tools previously mentioned is increasingly recommended. Such an approach may improve protocols for the diagnosis of subclinical BPH while reducing the need for invasive procedures and enabling timely detection of prostatic disorders [27,28].

It is also noteworthy that when computed tomography is performed on dogs for unrelated indications – such as evaluation of the abdomen, pelvis, urogenital system, or general abdominal screening – the prostate is often included in the scan as non-target organ. In such cases, assessment of the prostate using specific CT parameters can allow for the identification or suspicion of various prostatic disorders, including BPH [29].

Aim of the study

Evaluate and compare new and existing diagnostic methods applied in clinical practice for detecting subclinical benign prostatic hyperplasia in intact male dogs.

Objectives of the study:

1. To evaluate the prostatic condition and semen quality of intact male dogs of various ages, body weights, and breeds using conventional diagnostic methods.
2. To assess computed tomography and partial pelvimetry measurements of the prostate in clinically healthy dogs and dogs affected by subclinical benign prostatic hyperplasia, and to determine diagnostic threshold values.
3. To establish reference values for canine prostatic specific esterase concentration and prostate-specific ultrasonographic parameters in clinically healthy dogs and those affected by subclinical benign prostatic hyperplasia.

Novelty and practical importance of the study

This scientific study highlights recent advancements in the field of canine andrology by analyzing the diagnosis of subclinical benign prostatic hyperplasia (BPH) and its impact on the reproductive system of breeding males. The research emphasizes both established and novel diagnostic methods that are important for evaluating prostatic health. Computed tomography (CT), although still considered a relatively new diagnostic tool in the field of small animal reproduction, is gaining increasing attention in both veterinary clinical practice and scientific literature for its utility in assessing reproductive tract organs. In this study, CT was applied in cases of subclinical BPH, and the obtained results, along with the described methodology, provide new opportunities not only for further scientific investigations in the context of subclinical BPH but also for aiding veterinarians in the evaluation of prostatic changes.

In addition, the authors incorporated partial pelvimetry using specific three-dimensional (3D) CT reconstructions. This innovative approach allows for detailed assessment of the prostate gland size, shape, and the area it occupies within the pelvic inlet, which may indicate the presence of BPH.

The study also employed classical methods of prostatic evaluation, including digital rectal examination and ultrasonography. A novel aspect of the study is the introduction of author-defined grading scales for rectal palpation and a detailed methodology for evaluating specific ultrasonographic parameters, including the establishment of threshold values distinguishing healthy dogs from those affected by subclinical BPH. The application of ultrasonography and the analysis of these parameters not only confirm the effectiveness of this technique but also expand its potential for clinical use in prostate assessment.

Furthermore, the study presented an analysis of canine prostatic specific esterase (CPSE), which remains scarcely documented in the scientific literature in the context of subclinical BPH as an auxiliary diagnostic tool. Determining CPSE concentrations and establishing reference values may support the diagnosis of subclinical BPH without the need for invasive procedures. The method has only recently been implemented in clinical veterinary practice, and its use in subclinical BPH has not been widely described in the literature, making the results of this study potentially valuable for both clinical and academic applications.

All diagnostic methods analyzed in this study, along with the broad range of reference values and statistical associations distinguishing healthy dogs from those affected by subclinical BPH, contribute to the development of new diagnostic strategies and monitoring programs that may reduce the need for invasive diagnostic procedures. These strategies are essential for ensuring the reproductive health of male dogs and their suitability for breeding.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Study location and implementation plan

The scientific study was conducted at veterinary clinics in Kaunas (“Kaunas Veterinary Practice”), in Vilnius (“Jakovo Veterinary Centre”), at the Lithuanian University of Health Sciences, Large Animal Clinics Animal Reproduction Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, and at the Department of Veterinary Pathobiology’s Pathology Center. The research was carried out from 2018 to 2023. In accordance with the objectives of the study, the scientific work was divided into three stages (see Figure 2.1.1).

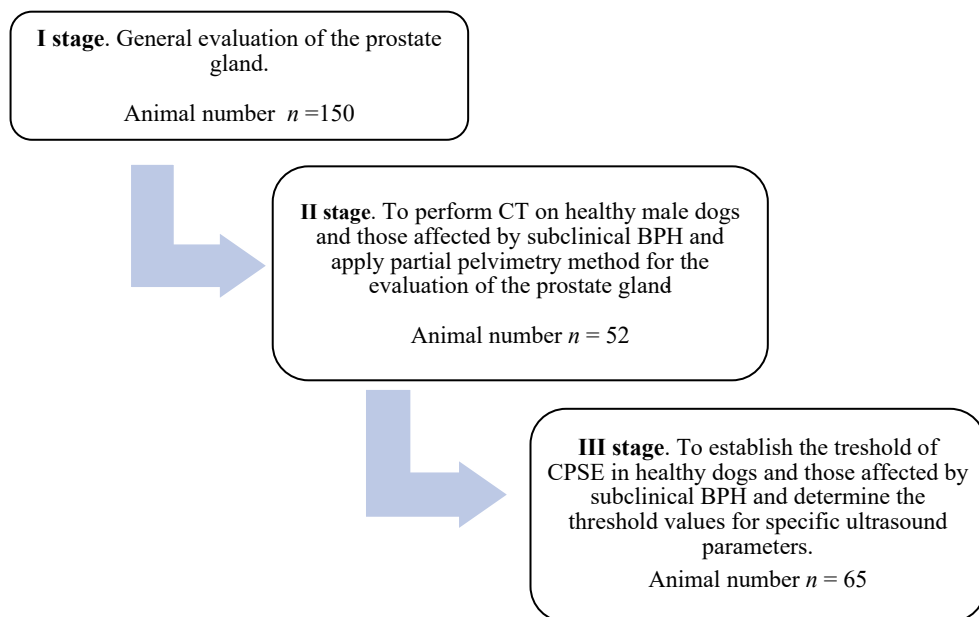


Fig. 2.1.1. Principal scheme of the study

2.2. I stage. Prostate gland evaluation

2.2.1. Clinical examination and rectal palpation

In the first stage of the study, 150 intact breeding male dogs of large and giant breeds, weighing over 25 kg (ranging from 25 kg to 70 kg, average – 39.1 kg) and older than 3 years (ranging from 3 to 10 years, average – 6 years), were examined. The dogs were brought to veterinary clinics in Kaunas and Vilnius for annual general health examinations. The clinical examination protocol included:

1. Analysis of the patient's clinical history;
2. Physical examination (assessment of body condition score, posture and gait, body temperature, weight, palpation of the back, limbs, abdomen and cervical body parts to assess pain);
3. Examination of the skin and coat (evaluating for any hair loss, skin or coat damage);
4. Examination of the eyes, ears, and oral cavity (assessment of eye condition by external visual inspection, ear examination, and observation of the middle ear canal using an otoscope, assessment of oral cavity and dental condition visually, upon opening the dogs mouth);
5. Respiratory system examination (auscultation of the lungs, assessment of respiratory rate, palpation of the trachea);
6. Cardiovascular system examination (heart auscultation, blood pressure measurement, assessment of capillary refill time);
7. Abdominal palpation (external palpation of abdominal organs through the abdominal wall);
8. Neurological examination (assessment of coordination, reflexes, and pain response by pressing the back foot).

Following the clinical examination of healthy male dogs, an assessment of the reproductive tract organs was conducted. Initially, the external genital organs, including the prepuce, penis, and testicles, were evaluated. The prepuce was visually inspected to assess the external skin, hair, and anatomical structure. Upon retraction of the prepuce, the internal mucosa was examined. Subsequent to retracting the prepuce, the penis was inspected for any signs of mucopurulent or bloody discharges, petechiae, wounds, potential oncological formations, and anatomical anomalies. Each testicle was palpated individually to evaluate its shape, consistency, size, sensitivity to pain, and the condition of the scrotal skin. Following the assessment of the external reproductive organs, a rectal examination was performed to evaluate the prostate. The rectal examination was performed in a standing position. Using disposable latex gloves, the index finger was lubricated with a special andrological gel ("ReproJelly", "Minitube GmbH", Tiefenbach, Germany) and inserted into the rectum. The prostate was assessed during the rectal examination based on the following criteria:

1. Size (according to a scale proposed by the authors, Table 2.2.1.1);
2. Pain (according to a scale proposed by the authors, Table 2.2.1.2);
3. Shape – symmetrical, asymmetrical;
4. Consistency – hard, medium-hard, soft;
5. Surface – smooth, rough;

6. Anatomical location – within the pelvis, shifted caudally within the pelvis, shifted cranially within the pelvis.
7. Interlobar urethral groove – palpable, not palpable.

The size and pain of the prostate were assessed using a point rating scale, which allows for a more subjective assessment. The size of the prostate gland was rated on a 4-point system: from 0 to 3, where 0 is considered the first point and 3 – the fourth, based on the evaluation criteria provided below (Table 2.2.1.1).

Table 2.2.1.1. Prostate size assesment scale and criteria

Score	Assesment criteria
0 (zero)	Prostate gland is barely palpable within the rectum
1 (one)	Prostate gland is palpable, occupying a small portion of the rectal lumen.
2 (two)	Prostate gland is palpable, occupying a moderate portion of the rectal lumen
3 (three)	Prostate gland is palpable, occupying a significant portion of the rectal lumen

When assessing prostate pain, a four-point pain assessment scale was chosen (Table 2.2.1.2).

Table 2.2.1.2. Prostate pain assesment scale and criteria

Score	Assesment criteria
0 (zero)	No reaction to palpation. The dog remains calm without muscle tensing, vocalization, or attempts to move.
1 (one)	Mild discomfort. Slight tensing of abdominal muscles or flinching during palpation, but no vocalization or significant movement
2 (two)	Moderate discomfort. Clear flinching, pulling away, or trying to sit down during the examination. May show signs of discomfort like turning the head to the examiner
3 (three)	Severe discomfort or pain. Vocalizing during palpation, strong attempts to pull away or aggressive behaviour due to pain.

After the clinical examination, external genital organs assessment, and rectal palpation of the prostate gland, an advanced andrological examination was conducted, which included ultrasonography of the prostate and testicles and analysis of fresh semen quality. For this andrological examination, were selected that exhibited no diseases of the reproductive organs, had not been administered any medications that could influence the reproductive system, and had not ejaculated for a period exceeding six months.

2.2.2. Prostate gland ultrasonography

The prostate gland was scanned using a micro-convex abdominal probe. The organ was assessed by obtaining and freezing high-quality images in both transverse and longitudinal planes. The frequency range was set between 5.0 and 7.5 MHz, depending on the image quality. To achieve the highest quality images, additional device features were used: resolution setting, regional zoom in or out, and focus sector control. The prostate tissue image was classified based on the echogenicity of the organ's parenchyma: homogeneous or heteroechoic compared to surrounding tissues.

Intraprostatic cysts were identified as clearly delineated, anechoic content-filled formations, localized or diffusely spread, and posterior acoustic amplification. Dogs with hypodense foci or calcinates in the prostate parenchyma were excluded from the study.

The size of the prostate was visually assessed based on the overall relative size of the organ compared to surrounding organs (e.g., the urinary bladder or kidneys), contour appearance (smooth or irregular), prostate contact with the rectal lumen, and the diameter of the proximal urethra. Visually, the prostate was categorized as enlarged or not enlarged.

Afterwards, the regional prostate gland lymph nodes (internal iliac lymph nodes) were scanned. The assessment of the lymph nodes considered size (node diameter did not exceed 1 cm in the sagittal plane), shape (not rounded, clear contour), and structure (homogeneous, without heteroechoic zones). Dogs with enlarged or structurally altered lymph nodes were excluded from the study.

Finally, the testicles were scanned using the same ultrasound device and probe as employed for the prostate and surrounding lymph nodes. Each testicle was scanned individually, with the right and left testicles being securely held by an assistant to facilitate comfortable operation by the scanning technician. The assessment of the testicles was based on size, shape, and echogenicity. Additionally, the epididymis was evaluated during the scanning process. Dogs diagnosed with testicular changes or specific diseases were excluded from the study.

2.2.3. Semen collection and evaluation

Semen collection and analysis were conducted at the private veterinary clinic 'Kauno veterinarijos praktika'. Attempts were made to collect semen from all 150 dogs; however, complete ejaculates were successfully obtained from 117 dogs. Consequently, 33 dogs were excluded from the study second and third stages. Before starting the semen collection procedure, special instruments and devices specifically for this purpose were prepared:

1. Electric Thermostatic Incubator “Lab incubator DNP-915” (CNWTC, Nanjing, China): This device was set to maintain a temperature of 37 °C to ensure optimal conditions.
2. Heating Cup “Semen collection cup” (Minitube, Tiefenbach, Germany): A plastic container designed with a hole for test tubes, filled with water at 37 °C and kept at this temperature within a thermostat. The cup is only removed from the thermostat immediately before semen collection begins, and the semen collection test tubes are kept at the optimal temperature of 37 °C within it.
3. Semen Collection Test Tubes “Canine collection system for all breeds, three-step” (Minitube, Tiefenbach, Germany): These are made from special plastic that is not toxic to sperm. They feature a graduated milliliter scale and are kept at a temperature of 37 °C in a thermostat until just before semen collection.
4. Microscope with a heated stage: the microscope stage temperature is preset at 37 °C, and a glass microscope slide is placed on the stage and kept for 30 minutes to match the temperature.
5. Sterile pipettes and tips: the tips are made from special plastic that is not toxic to sperm. Pipettes and tips are stored at a temperature of 37 °C in the thermostat until they are used.
6. pH meter: The “Thermo Scientific™ Orion Star™ A211 Benchtop pH Meter” (OVH Groupe SA, Roubaix, France) is used to measure the pH of the semen.
7. Semen concentration analyzer: The photometer “SDM 1” (Minitube, Tiefenbach, Germany) is used to measure semen concentration.
8. Eosin-Nigrosin stain: used for staining the semen sample to assess viability and morphological features. The chosen stains are Nigrosin stain (4 %) and Eosin G stain (2 %) (Minitube, Tiefenbach, Germany).

With the laboratory and instruments prepared, a bitch in heat was brought into the room where the semen collection procedure would take place. Following this, the male dog was brought in. The bitch was positioned by the owner so that her muzzle was turned away from the male, and her vulva was positioned as close to the male’s head as possible. As the female is held in a standing position and the male is controlled by the owner, the semen collection process begins. This process involves several stages:

1. Acclimation stage: the male is allowed to approach the female in heat, sniff or lick the vulva to assess whether he finds the female attractive.
2. Manual stimulation: upon the male dog approaching and beginning to sniff the vulva, the semen collector exposes the penis from the prepuce using left hand and initiates manual stimulation.

3. Semen collection: upon proper stimulation, the male begins mounting the bitch and soon ejaculates. The ejaculate is collected into three sterile, specially adapted plastic test tubes, with careful attention to prevent injury and contamination. As the male begins to ejaculate, the ejaculate is collected, separating it into fractions: the first fraction is prostatic fluid, the second is the sperm rich fraction, and the third is prostatic fluid. After collection, the test tubes are taken to the laboratory for analysis. Semen analysis was performed in several stages (Table 2.2.3.1).

Table 2.2.3.1. Stages of semen analysis

Stage	Assesment of semen fractions	Criteria
Macroscopic evaluation	All three fractions are visually assessed.	• Semen volume determination: The volume of semen collected in all three test tubes is measured. • Ejaculate color assessment: The color of the contents in all three test tubes is visually evaluated: the prostatic fluid should be opalescent, without sediment or other impurities. The sperm rich fraction should be white or milky in color. • Consistency: first and third fractions are not thick, while the second should not be watery.
Microroscopic evaluation	The second semen fraction is analyzed using a microscope (before and after staining) and a photometer.	• Motility: the movement speed and direction of spermatozoa are observed. Based on motility, spermatozoa are classified into progressively motile, non-progressively motile, and immotile. • Sperm concentration is measured using the photometer according to the manufacturer's instructions. • Sperm morphology: after staining and drying the smear, the shape and structure of spermatozoa are evaluated to determine the number of head, body or tail deformities. A total of 200 spermatozoa are counted within the field of view. • Viability: sperm viability is assessed in the stained smear. Live spermatozoa do not absorb the specific stain and remain unstained, while dead spermatozoa stain red. A total of 200 spermatozoa are counted within the field of view.
pH assessment	Third fraction	Measuring of the prostatic fluid pH. Normally, the pH is slightly acidic or neutral (ranging from 6.3 to 7.0).

2.2.4. Semen evaluation criteria

After semen analysis, semen quality was classified into three categories: good, moderate, and poor. The evaluation criteria were adopted from the methodology described by Johnston et al. [173]. The quality indicators and classification categories are detailed in Table 2.2.4.1.

Table 2.2.4.1. Semen quality indicators and classification

Parameter	Good quality	Moderate quality	Poor quality
Volume (second fraction, mL)	2.1–5.0	1.0–2.0	≤ 1.0
Concentration (spermatozoa/mL)	≥ 300 million	100–300 million	≤ 100 million
Progressive Motility (%)	≥ 70 %	50–70 %	≤ 50 %
Morphology (%)	≥ 80 % normal spermatozoa	40–80 % normal spermatozoa	≤ 40 % normal spermatozoa
Total sperm count	≥ 600 million	300–600 million	≤ 300 million
Sperm viability (%)	≥ 80 % live spermatozoa	50–80 % live spermatozoa	≤ 50 % live spermatozoa
pH (third fraction)	6.2–6.4	6.5–6.8	≥ 6.8

2.3. Selection of healthy and suspected of subclinical BPH male dogs for the next stage of the scientific study

After collecting full semen samples from 117 clinically healthy dogs, two groups were established: one consisting of clinically healthy dogs and another comprising dogs suspected of subclinical BPH. These groups were then subjected to further investigation in subsequent phases of the scientific study. The criteria used to categorize the males for second and third study stages are presented in Table 2.3.1.

Table 2.3.1. Formation of dog groups according to corresponding study criteria

Examination	Healthy group	Subclinical BPH
Rectal palpation	Prostate not enlarged (0–1 on scale), surface smooth, no pain (0–1 on scale), organ consistency soft.	Prostate partially or significantly enlarged (2–3 on scale), surface irregular, partial pain expressed (2–3 on scale), consistency moderately hard or hard.
Prostate gland ultrasound	No diffusely spread intraprostatic cysts, lobes symmetrical, prostate tissue homogeneous, prostate not visually enlarged.	Diffusely spread intraprostatic cysts present, prostate lobes asymmetrical, tissue heteroechoic, prostate visually enlarged.
Semen quality	Good	Moderate or poor

2.4. II stage. Computed tomography and partial pelvimetry of prostate glands in healthy and subclinical BPH-affected male dogs

This stage included 52 male dogs selected from the first phase of the study: 24 clinically healthy and 28 suspected of having subclinical benign prostatic hyperplasia (BPH). All dogs underwent cytological examination of the prostate to accurately determine the prostatic status. Based on the cytological findings, the dogs were divided into two groups: dogs affected by subclinical BPH ($n = 28$) and clinically healthy dogs ($n = 24$). In the subclinical BPH group, the age of male dogs ranged from 3 to 10 years (mean – 6.8 years), while in the healthy group, it ranged from 3 to 5 years (mean – 4.1 years). The body weight of dogs diagnosed with subclinical BPH ranged from 25 to 50 kg (mean – 42.5 kg), and in the healthy group, it ranged from 25 to 50 kg (mean – 35.1 kg).

2.4.1. Prostate gland cytological examination and sample collection

Prostate cytological samples were collected using prostate massage technique. For the prostate massage technique, dogs were pre-medicated prior to undergoing general anesthesia for the CT scan. The urinary bladder was initially emptied using a sterile urinary catheter. After bladder evacuation, the catheter was replaced with a new, sterile catheter which was flushed multiple times with sterile saline and used to aspirate the bladder again. This process was monitored via ultrasound, focusing on the proximal part of the urethra and the bladder. After multiple flushes and evacuations, the catheter was retracted to the proximal prostatic urethra under ultrasound guidance. The prostate was then massaged rectally by pressing on its lobes while 10 mL of sterile saline was injected through the catheter. Continuous aspiration was applied as the catheter moved through the prostatic urethra, collecting prostate secretion mixed with the saline. The fluid was then transferred to a sterile 10 mL tube which was sent to laboratory for cytological analysis. This method is based on the technique described by Johnston et al. [10].

2.4.2. Computed tomography

All 52 dogs underwent abdominal and pelvic computed tomography (CT). The procedure was performed under general anesthesia. An intravenous catheter was placed in the cephalic vein of the right front leg (*v. cephalica*) of each dog. Once the catheter was in place, an intravenous infusion with 0.9 % NaCl solution (“Fresenius Kabi. Sodium Chloride, 0.9 %”, Graz, Austria) was connected. For premedication, medetomidine hydrochloride (“Cepetor 1.0 mg/mL”, “CP-Pharma”, Burgdorf, Germany) was administered through

the catheter at a dose of 10 µg/kg. General anesthesia was induced using propofol (“Fresenius Propoven, 10.0 mg/mL”, “Fresenius Kabi”, Graz, Austria) at a dose of 2–4 mg/kg. To maintain anesthesia, all dogs were intubated with a tracheal tube and inhalation anesthesia with isoflurane gas was applied. An anesthesiologist monitored general anesthesia during the procedure. The same anesthesia protocol was applied for all study dogs.

Animals from both groups were scanned in a dorsal recumbency position using soft positioning aids, which ensured a stable position. CT scans were performed using a dual-slice spiral CT scanner (“Somatom Spirit 2”, “Siemens”, Germany) with a voltage of 130 kV, a current of 100 mAs, and slice thicknesses of 3–5 mm (reconstruction 1.5–2.5 mm). Initial images were reconstructed using soft tissue and bone algorithms. During the procedure, a contrast agent, iohexol (“Omnipaque 350 mg/mL”, “GE Healthcare AS”, Norway), was injected through the intravenous catheter at a dose of 600 mg/kg to perform phase contrast studies before and after the injection of the contrast material.

Prostate tissue density values were determined in specific prostate tissue zones defined by the operator. Tissue density values were expressed in Hounsfield units (HU).

2.4.3. Prostate gland volume calculation

Prostate gland volume calculation was performed using the ‘OsiriX’ software (‘Pixmeo SARL’, Bern, Switzerland), which is equipped with specialized functionalities for organ volume estimation. The process began by uploading prostate CT images into the ‘OsiriX’ software system. The operator manually selected the region of interest of the whole prostate gland using a marker tool that allows precise delineation of the prostate gland boundaries. These organ images were then processed through software algorithms to perform a three-dimensional (3D) reconstruction. This 3D reconstruction enabled the software to accurately replicate the prostate glands’ shape, size and structure, facilitating the precise calculation of its volume.

The volume of the prostate was calculated using an integration method that incorporated all contoured slices and measured the distances between them. This method provided an accurate determination of the prostate volume, expressed in cubic centimeters (cm³).

2.4.4. Prostate gland and L6 ratios

In this method for measuring prostate size, different planes were used along with a standardized relative comparison to the length of the sixth lumbar vertebra. Initially, the length of the prostate gland was measured in

the dorsal plane, allowing the gland's longitudinal dimension, running from the anterior to the posterior part of the prostate, to be assessed. Then, the width and height of the prostate were measured in the transverse plane, which provides a view across the prostate's width (lateral dimension) and height (vertical dimension). This process yielded all three primary dimensions of the prostate: length, width, and height.

The next step was determining the length of the sixth lumbar vertebra (L6). This measurement was evaluated both in the sagittal and dorsal planes to accurately measure the vertebra's length. After measurements in both planes, the average length of L6 was calculated.

The obtained prostate dimensions (length, width, and height) were compared to the length of the L6 body. The values of rL (prostate length / L6 length), rW (prostate width / L6 width), and rH (prostate height / L6 height) were calculated, following the methodology of Pasikowska et al. [183]. The technique of L6 and prostate gland measurements is presented in Figure 2.4.4.1.

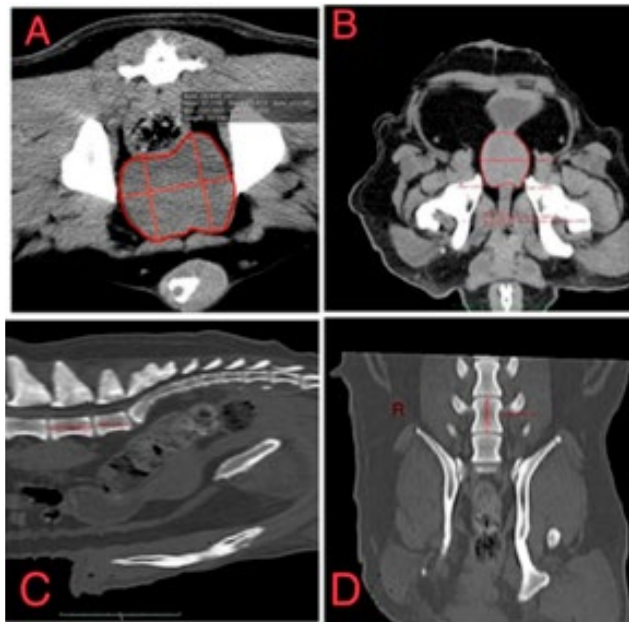


Fig. 2.4.4.1. *Imaging of prostate glands affected by subclinical BPH and measurements of the L6 vertebral body*

A – prostate gland in transverse plane using a soft tissue algorithm; red lines indicate measurements of prostatic height, width, and cross-sectional area in centimeters. B – prostate gland in dorsal plane using a soft tissue algorithm; red lines indicate measurements of prostatic length and cross-sectional area in centimeters. C – L6 in transverse plane using a bone algorithm; red line indicates the length of the vertebral body. D – L6 in dorsal plane using a bone algorithm; red line indicates the length of the vertebral body.

2.4.5. Partial pelvimetry assesment

The partial pelvimetry approach employed specific techniques for measuring pelvic bone dimensions, as detailed in the scientific publication by Aubry et al. [195]. This process involved measuring the diameter and height of the pelvic inlet using sagittal and transverse plane images acquired through computed tomography.

To determine the proportions between the prostate and pelvic structures, relative measurements of the prostate and pelvic inlet dimensions were calculated using the specialized functionalities of the OsiriX software. The width and height ratios of the pelvic inlet to the prostate dimensions were denoted as ppW and ppH, respectively. These ratios were automatically derived by entering the measured values into the software's computational functions, thereby reducing measurement subjectivity and enhancing the reliability of the study.

To illustrate this methodology, a three-dimensional (3D) reconstruction was performed and is visually presented in Figure 2.4.5.1.



Fig. 2.4.5.1. *Three-dimensional reconstruction of the prostate gland (red-colored organ) and the pelvic inlet, along with the measurement technique*

2.5. III stage. Methods for evaluating CPSE and ultrasonography in assessing the prostate gland status of healthy and subclinical BPH affected male dogs

This stage of the study included 65 dogs. Initially, blood samples were collected from all males, and dogs with CPSE concentrations reaching or exceeding ≥ 61 ng/mL, along with findings from the first-stage examinations suggestive of subclinical BPH, were referred for fine-needle aspiration biopsy under ultrasound guidance to confirm or rule out the diagnosis of subclinical BPH. Healthy dogs did not undergo prostate cytology to avoid the use of invasive methods when no prostate disease was suspected. This methodology was selected based on the studies by Pinheiro et al. and Cunto et al. [24,77].

Following CPSE analysis, it was determined that in the first stage, the CPSE concentration in 30 healthy dogs did not exceed 61 ng/mL. Meanwhile, among the other 35 dogs suspected of subclinical BPH, CPSE concentrations exceeded 61 ng/mL, leading to prostate cytology examinations in these cases.

In the healthy group, the average age was 3.7 years (range: 3 to 6 years), and the average weight was 39.8 kg (range: 27 to 58 kg). In the subclinical BPH group, the average age was 6.9 years (range: 4 to 10 years), and the average weight was 40.1 kg (range: 21 to 60 kg).

2.5.1. Prostate ultrasonography

During ultrasonographic examination of the prostate, the gland's borders were delineated by the operator using a manual shape-defining tool to outline the margins of the prostate in the transverse plane. Prostatic dimensions were measured as follows: the length was assessed in the longitudinal plane, while width and height were measured in the transverse plane. The height and width measurements included both prostatic lobes, and mean values were calculated in centimeters. The prostatic length was defined as the maximum diameter along the urethral axis, measured in centimeters (Figure 2.5.1.1). Prostatic volume (PV) was calculated using the ellipsoid formula proposed by Ruel et al.: $PV (cm^3) = (L \times W \times H) \times 0.523$ [154]. Cytological examination of prostate samples was performed under ultrasonographic guidance according to the technique described by Kustritz et al. [22].

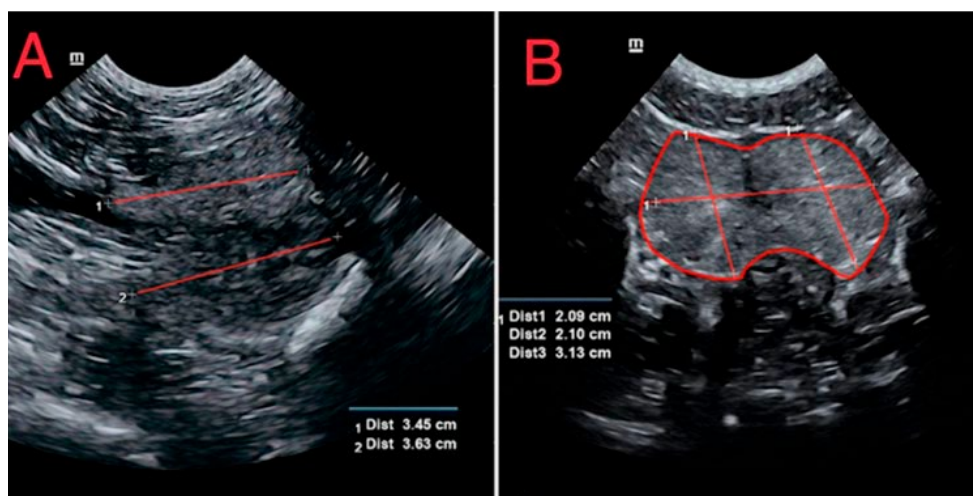


Fig. 2.5.1.1. *Ultrasonographic images of the prostate and measurement principles*

A – longitudinal plane; B – transverse image of the prostate.

2.5.2. Assessment of prostate blood flow using color Doppler method

The color Doppler ultrasound method was used to evaluate the blood flow in the marginal and subcapsular prostatic arteries (*a. prostatica*), following the methodology described by Zelli et al. [160]. Using the pulsed-wave (PW) mode, the pre-set scanning marker was manually positioned and fixed in the specified prostatic artery zones, ensuring that the entire vessel lumen was captured in the vertical direction. A minimum of four heart cycle waves were recorded.

Subsequently, specific blood flow parameters were calculated using the ultrasound blood velocity measurement functions, including peak systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV), and resistance index (RI). The average value for each parameter was determined based on three recorded measurements.

To prevent “flash” artifacts, the color Doppler signal gain settings were adjusted by the operator during the procedure to ensure the highest quality readings.

2.5.3. Canine Prostate-Specific Esterase (CPSE) Analysis

The study was conducted at the private veterinary clinic “Kauno Veterinarijos Praktika”. The CPSE analysis was performed strictly following the manufacturer’s instructions using the “Speed™ Reader” analyzer (Virbac,

Carros, France), which operates based on the laser-induced fluorescence immunochromatography principle.

Sample preparation and analysis were carried out according to the manufacturer's protocol provided with the analyzer. The "Speed™ Reader" analyzer is illustrated in Figure 2.5.3.1.



Fig. 2.5.3.1. "Speed™ Reader" CPSE analyzer

2.6. Statistical analysis

The statistical analysis of the study data was performed using IBM SPSS Statistics 29.0.0.0. The normality of the distribution of quantitative data was tested using the Shapiro-Wilk test. For data summarization, mean values were calculated, and variation was assessed using standard errors of the mean. To compare the quantitative parameters of healthy dogs with those of dogs affected by subclinical benign prostatic hyperplasia (BPH), an independent samples Student's t-test was applied.

Pearson's linear correlation coefficients were calculated to determine statistical relationships between age, weight, prostate dimensions, CPSE concentration, and L6 vertebral dimensions, with the data presented graphically using linear regression predictions. The ability of prostate dimensions to differentiate between healthy dogs and those affected by BPH was evaluated using receiver operating characteristic (ROC) curves. Additionally, the ROC method was used to assess the prognostic ability of age and weight in identifying prostate pathologies.

The prevalence of prostate pathologies and their association with BPH occurrence were expressed using frequency distributions, and differences were assessed using the χ^2 test. Statistical relationships and differences were considered significant at $p < 0.05$.

2.7. Ethical principles

The study was conducted in accordance with the Law on Animal Welfare and Protection of the Republic of Lithuania No. VIII-500, “On Animal Care, Welfare, and Use for Scientific Research,” adopted on November 6, 1997 (“State Gazette,” No. 108, 1997-11-28), and the orders of the State Food and Veterinary Service of the Republic of Lithuania regarding the use of laboratory animals for scientific experiments (No. 4-16, 1999-01-18). The study received approval from the State Food and Veterinary Service with approval number PK No. 012856.

The legal owners of the animals signed a legal agreement, prepared by the Lithuanian Small Animal Veterinary Association, which authorized veterinarians to perform diagnostic clinical procedures on the dogs participating in the study.

3. RESULTS

3.1. I stage results. General evaluation of the prostate gland

3.1.1. Rectal examination

A total of 150 dogs underwent digital rectal examination. In 71 dogs (43.7 %), the surface of the prostate was assessed as irregular, while a smooth prostatic surface was identified in 79 dogs (52.7 %). The consistency of the prostate among the examined dogs was classified as follows: soft in 64 dogs (42.7 %), moderately soft in 58 dogs (38.7 %), and hard in 28 dogs (18.7 %).

During the rectal examination, prostatic pain was evaluated using a scoring system. A score of 0 (no pain) was assigned to 38 dogs (25.3 %), a score of 1 to 43 dogs (28.7 %), a score of 2 to 65 dogs (43.3 %), and a score of 3 to 4 dogs (2.7 %).

Symmetrical prostatic lobes were observed in 82 dogs (54.6 %), while asymmetry was noted in 68 dogs (44.4 %). In addition, the overall size of the prostate was assessed using a score ranging from 0 to 3. In 19 dogs (12.7 %), the prostate was barely palpable, and further evaluation was difficult, as the gland occupied only a minimal portion of the rectal lumen (score 0). A score of 1 was assigned to 52 dogs (34.7 %), in whom the prostate was clearly palpable, assessment was not difficult, and the gland occupied a small portion of the rectal lumen.

The most common prostatic size score among the dogs ($n = 70$, 46.6 %) was 2, indicating that the prostate was well palpable, evaluation of clinical parameters was straightforward, and the lobes occupied up to half of the rectal lumen. A score of 3 was assigned to 9 dogs, whose prostates were markedly

enlarged and easily palpable, allowing for effortless evaluation; the gland occupied more than half of the rectal lumen.

3.1.2. Prostate gland ultrasonography

Upon evaluating the shape of the prostate lobes in all examined dogs, it was determined that 71 males (47.3 %) exhibited asymmetrical lobes, while 79 males (52.7 %) had symmetrical lobes. Assessment of the echogenicity of the glandular tissue revealed a homogeneous prostatic structure in 81 males (54 %) and a heterogeneous structure in 69 dogs (46 %).

Analysis of intraprostatic cyst occurrence showed that localized or diffusely distributed intraprostatic cysts were identified in 91 males (60.7 %), while 59 males (39.3 %) had no detectable cysts in the prostate. Furthermore, evaluation of prostate size revealed that 82 dogs (54.7 %) had a visually enlarged prostate, whereas in 68 dogs (45.3 %) the gland appeared within physiological limits and was assessed as non-enlarged.

To further evaluate the ultrasonographic findings, a ROC curve analysis was performed to determine the influence of age and body weight on ultrasound-detectable prostatic changes. The analysis demonstrated a statistically significant association between age and several prostate alteration indicators. Prostatic lobe asymmetry ($AUC = 0.799$, $p < 0.001$), tissue heterogeneity ($AUC = 0.777$, $p < 0.001$), presence of intraprostatic cysts ($AUC = 0.880$, $p < 0.001$), and visual prostate enlargement ($AUC = 0.882$, $p < 0.001$) all showed strong diagnostic value and significant correlation with age. The threshold age for the manifestation of these pathological changes was determined to be 5.5 years ($p < 0.001$). The corresponding ROC curve is presented in Figure 3.1.2.1.

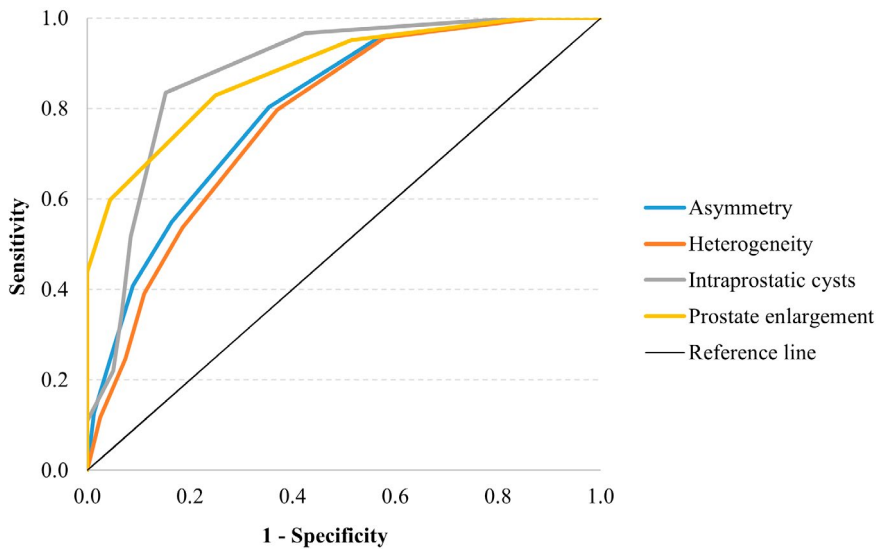


Fig. 3.1.2.1. Graph of ROC curve analysis for the dependency of diagnostic values on age in prostate pathologies

A similar analysis was performed to evaluate the influence of body weight on the occurrence of prostatic alterations. The ROC curve results demonstrated that the areas under the curves for asymmetry (AUC = 0.483, $p = 0.726$), heterogeneity (AUC = 0.491, $p = 0.848$), intraprostatic cysts (AUC = 0.526, $p = 0.591$), and prostatic enlargement (AUC = 0.455, $p = 0.346$) were all close to 0.5. These findings indicate that the relationship between these ultrasonographic indicators and body weight lacks diagnostic value. The corresponding ROC curve graph illustrating the dependence of the diagnostic value of prostatic alterations on body weight is presented in Figure 3.1.2.2.

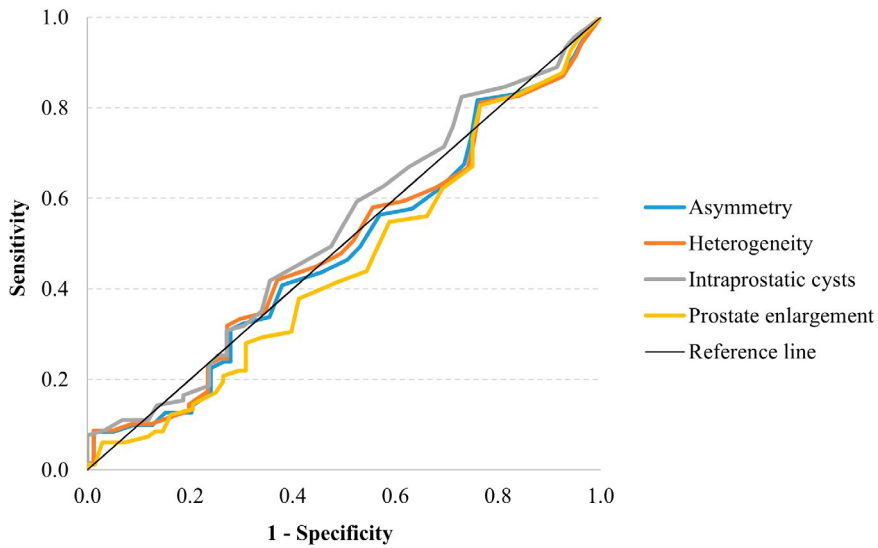


Fig. 3.1.2.2. Graph of ROC curve analysis showing the dependence of diagnostic values of prostate pathologies on weight

3.1.3. Semen evaluation

Semen samples were attempted to be collected from all 150 male dogs. However, collection was unsuccessful in 33 males (22 %). Upon evaluating the semen quality across the cohort, it was determined that 54 dogs (36 %) exhibited good sperm quality, 43 dogs (28.7 %) demonstrated average sperm quality, and 20 dogs (13.3 %) were found to have poor sperm quality. The distribution of sperm quality among the studied population is depicted in Figure 3.1.3.1.

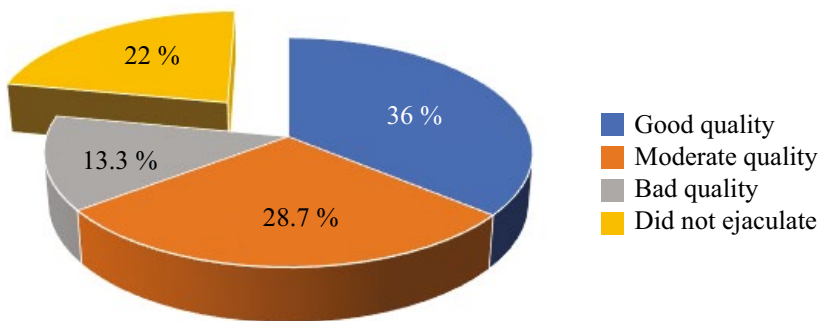


Fig. 3.1.3.1. Semen quality distribution among 150 male dogs

An evaluation of semen samples from all 117 dogs was performed to assess the correlation between semen quality parameters and the dogs' age and body weight. Statistical analysis revealed that semen parameters were significantly correlated with age but showed no statistically significant relationship with body weight. Based on these findings, further statistical analysis focused on the association between semen parameters and age.

The results indicated that with each additional year of age, the volume of the second semen fraction decreased by an average of 0.36 mL ($p < 0.001$), sperm concentration decreased by 60 million/mL ($p < 0.001$), and total sperm count was reduced by as much as 210 million spermatozoa ($p < 0.001$). Furthermore, morphological abnormalities increased by an average of 9 % annually ($p < 0.001$), while progressive motility decreased by 7.8 % per year ($p < 0.001$). Aging was also associated with a progressive increase in the pH of the third prostatic fraction, rising by 0.13 units per year ($p < 0.001$).

When analyzing the dogs by age group, the following results were obtained:

- In the 3–4-year-old group ($n = 29$), the highest semen volume (2.91 ± 0.14 mL) and concentration (437.86 ± 17.98 million/mL) were observed. The total sperm count reached $1,296.44 \pm 87.71$ million, with the lowest proportion of morphological abnormalities (16.83 ± 1.07 %). Progressive motility was highest at 82.24 ± 1.44 %, and the pH of the third prostatic fraction was 6.22 ± 0.03 .
- In the 5–6-year-old group ($n = 49$), semen volume decreased to 2.34 ± 0.14 mL, concentration was 317.02 ± 17.94 million/mL, and total sperm count was 817.98 ± 72.15 million. Morphological abnormalities increased to 31.57 ± 2.72 %, progressive motility declined to 66.73 ± 2.10 %, and the pH value rose to 6.49 ± 0.06 .
- Among 7–8-year-old dogs ($n = 22$), a further decline in semen quality was observed: volume was 1.70 ± 0.17 mL, concentration was 215.45 ± 21.19 million/mL, and total count was 428.43 ± 82.54 million. Morphological abnormalities increased to 47.64 ± 3.37 %, progressive motility dropped to 55.91 ± 2.73 %, and pH increased to 6.69 ± 0.05 .
- In the 9–10-year-old group ($n = 17$), the poorest semen quality was recorded: semen volume was 0.74 ± 0.13 mL, concentration was 85.71 ± 11.47 million/mL, and total sperm count was only 82.63 ± 23.80 million. Morphological abnormalities reached 69.88 ± 2.82 %, progressive motility was the lowest at 35.88 ± 3.69 %, and the pH of the third prostatic fraction was 6.95 ± 0.05 .

All semen quality parameters differed significantly between the age groups ($p < 0.001$). The distribution of semen parameters across the different age groups is presented in Table 3.1.3.1.

Table 3.1.3.1. Influence of age on semen quality. *a, b, c, d* – averages marked by different letters in the column differed significantly statistically ($p < 0.01$)

Age	n	Volume (Second Fraction, mL)	Concentration (million/mL)	Total sperm count (million)	Morphology, %	Progressive Motility, %	pH
3–4 years	29	2,91 ± 0,14 ^a	437,9 ± 17,98 ^a	1296,4 ± 87,7 ^a	16,83 ± 1,07 ^a	82,24 ± 1,44 ^a	6,22 ± 0,03 ^a
5–6 years	49	2,34 ± 0,14 ^b	317,0 ± 17,94 ^b	818,0 ± 72,2 ^b	31,57 ± 2,72 ^b	66,73 ± 2,10 ^b	6,49 ± 0,06 ^b
7–8 years	22	1,70 ± 0,17 ^c	215,5 ± 21,19 ^c	428,4 ± 82,5 ^c	47,64 ± 3,37 ^c	55,91 ± 2,73 ^c	6,69 ± 0,05 ^c
9–10 years	17	0,74 ± 0,13 ^d	85,7 ± 11,47 ^d	82,6 ± 23,8 ^d	69,88 ± 2,82 ^d	35,88 ± 3,69 ^d	6,95 ± 0,05 ^d

3.2. II stage results. CT on healthy male dogs and those affected by subclinical BPH and utilization of partial pelvimetry method for the evaluation of the prostate gland

3.2.1. Cytological examination results

At this stage of the study, 52 dogs were examined. Prior to performing computed tomography, cytological samples of the prostate were collected from each dog under general anesthesia using the prostatic massage technique. Cytological evaluation of the collected samples revealed signs of benign prostatic hyperplasia (BPH) in 28 dogs, while the remaining 24 dogs showed no pathological changes in the prostate and were classified as clinically healthy.

3.2.2. Prostate dimensions and volume, assessed by CT

In the group of dogs affected by BPH, the mean prostatic length was 5.21 ± 0.27 cm, width was 5.20 ± 0.22 cm, height was 4.45 ± 0.15 cm, and volume was 74.66 ± 8.02 cm³ ($p < 0.05$).

In the clinically healthy group, the prostate dimensions were significantly smaller: the length measured 3.43 ± 0.11 cm, the width 3.65 ± 0.19 cm, the height 3.49 ± 0.14 cm, and the volume was 24.23 ± 2.5 cm³.

Statistical analysis confirmed that prostatic length, width, height, and volume differed significantly between the two groups. When comparing the dimensional and volumetric differences, it was determined that in dogs with subclinical BPH, the prostate was 1.5 times longer, 1.4 times wider, 1.3 times taller, and had a 3.1-fold greater volume compared to the healthy group ($p < 0.001$).

The specific values of prostatic measurements and volumes are presented in Table 3.2.2.1.

Table 3.2.2.1. Results of prostate length, width, height, and volume measurements. a, b – values marked with different letters differ significantly ($p < 0.001$)

Study groups	Prostate length, cm	Prostate width, cm	Prostate height, cm	Prostate volume, cm ³
Subclinical BPH	$5,21 \pm 0,27^a$	$5,20 \pm 0,22^a$	$4,45 \pm 0,15^a$	$74,66 \pm 8,02^a$
Healthy Dogs	$3,43 \pm 0,11^b$	$3,65 \pm 0,19^b$	$3,49 \pm 0,14^b$	$24,23 \pm 2,50^b$

ROC analysis revealed that the dimensions of the prostate gland (length, width, height), as well as its volume, are effective indicators for differentiating

between clinically healthy dogs and those affected by subclinical benign prostatic hyperplasia.

It was determined that a prostate volume exceeding 46.186 cm³ allows for the classification of a dog as affected by subclinical BPH with 92.3 % probability ($p < 0.001$). The analysis also demonstrated that prostatic length, width, and height possess significant discriminative power: when the length was equal to or greater than 4.57 cm, the width 4.26 cm, and the height 3.95 cm, the probability of subclinical BPH was 87.5 %, 85.5 %, and 81.5 %, respectively ($p < 0.001$).

The corresponding ROC curve is presented in Figure 3.2.2.1.

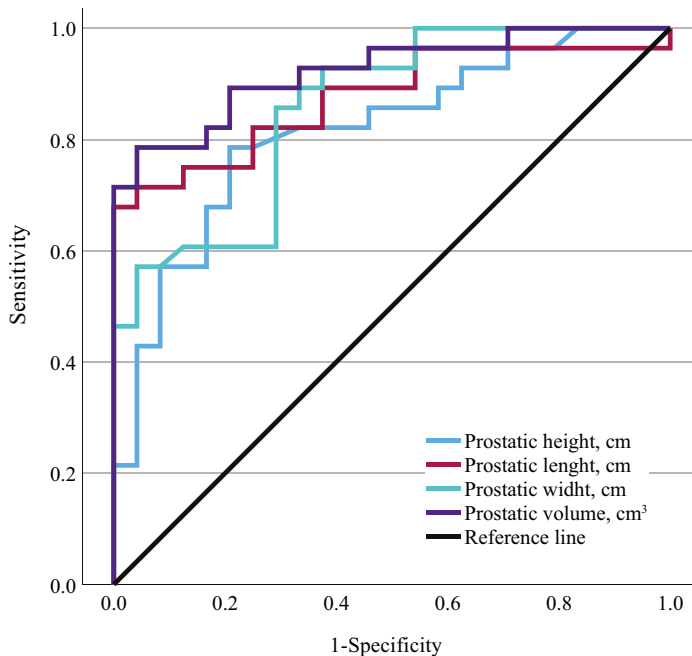


Fig. 3.2.2.1. ROC curve graph illustrating the discriminative ability of prostate dimensions (length, width, height) and gland volume in distinguishing healthy dogs from those affected by subclinical BPH

3.2.3. Prostate dimensions in relation to L6

This study revealed that male dogs diagnosed with subclinical BPH had significantly higher relative values of prostatic length, width, and height in relation to the length of the sixth lumbar vertebral body compared to the clinically healthy group ($p < 0.001$).

In the group of dogs affected by subclinical BPH, the relative width of the prostate (rW) in relation to the length of the sixth lumbar vertebra

was significantly higher, with a mean $\pm$ standard deviation of 1.58 ± 0.44 , compared to the healthy group, where this ratio was 1.10 ± 0.29 ($p < 0.05$).

The mean relative height of the prostate (rH) was also greater in subclinical BPH-affected dogs, at 1.34 ± 0.21 , compared to 1.03 ± 0.26 in the healthy group ($p < 0.05$).

Similarly, the relative length of the prostate (rL) was significantly higher in the subclinical BPH group (1.57 ± 0.48), while in the healthy dogs it was 1.06 ± 0.16 ($p < 0.05$).

A comparative analysis of the rL, rW, and rH values between healthy and subclinical BPH-affected dogs showed a statistically significant increase in the affected group: the rW value increased by 43.6 % ($p < 0.001$), rH by 30.1 % ($p < 0.001$), and rL by 48.1 % ($p < 0.001$). The distribution of these relative measurements in both groups is presented in Figure 3.2.3.1.

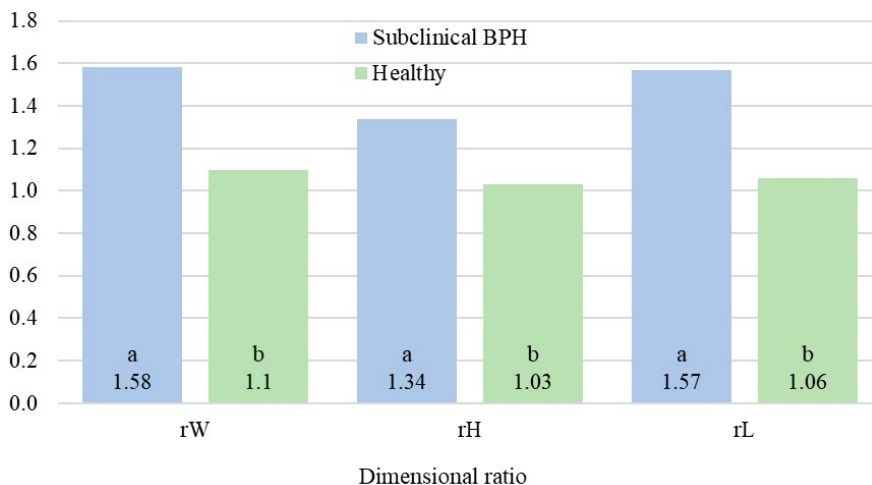


Fig. 3.2.3.1. *rW, rH, and rL values in healthy and subclinical BPH-affected dog groups*

Statistical regression analyses were conducted to evaluate the relationship between prostate volume and the relative dimensions of the sixth lumbar vertebra in both study groups.

When analyzing the correlation between prostate volume and rW values in healthy and subclinical BPH-affected dogs, a strong relationship was observed. In the healthy group, the regression equation was $y = 38.25x - 17.80$, with a coefficient of determination (R^2) of 0.84, indicating that 84 % of the variability in prostate volume could be explained by the rW value. These results were statistically significant ($p < 0.05$).

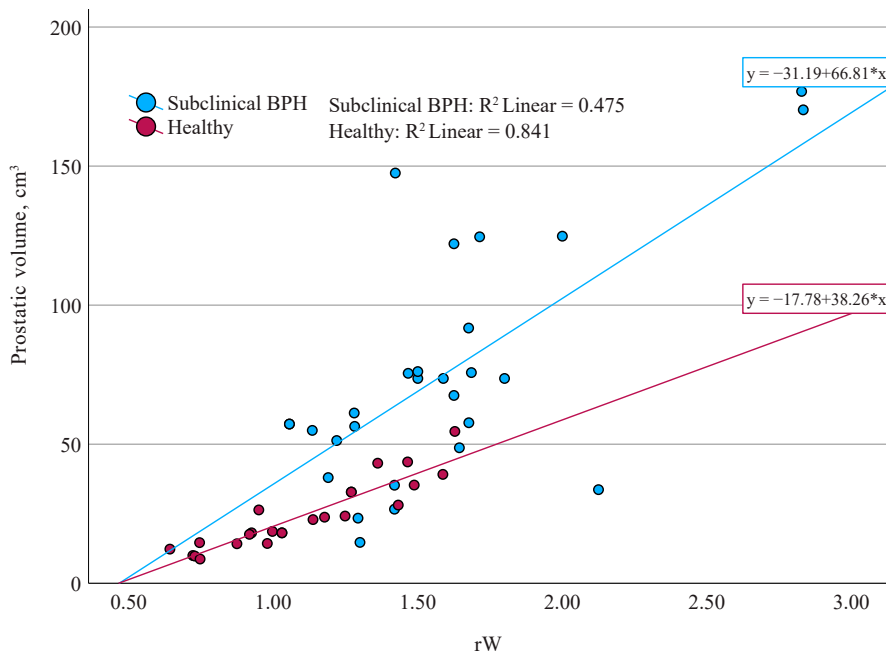
In the subclinical BPH-affected group, the regression equation was $y = 66.81x + 31.26$, with an R^2 of 0.47, demonstrating a moderate correlation and

a substantially greater increase in prostate volume associated with higher rW values compared to the healthy group ($p < 0.05$). Moreover, the steeper slope of the regression line in the affected group (66.81) compared to the healthy group (38.25) suggests a faster growth in prostate volume with increasing rW values ($p < 0.05$).

When assessing the relationship between prostate volume and rL values, the regression equation for the healthy group was $y = 47.87x - 26.45$, with an R^2 of 0.40, indicating a moderate correlation between prostate volume and rL ($p < 0.05$). In the subclinical BPH group, prostate volume increased more rapidly with higher rL values, as reflected by a steeper regression slope of 73.68, compared to 47.87 in the healthy group ($p < 0.05$). Additionally, both rL values and prostate volume were higher in the affected group, accompanied by greater data dispersion ($p < 0.05$).

Analysis of the correlation between prostate volume and rH showed that in the healthy group, the regression equation was $y = 36.95x + 13.89$, with an R^2 of 0.60, indicating a strong correlation ($p < 0.05$). In the BPH group, the regression equation was $y = 127.68x - 96.35$, with an R^2 of 0.41, showing a moderate correlation ($p < 0.05$). The substantially steeper slope in the affected group (127.68) compared to the healthy group (36.95) indicates a significantly faster increase in prostate volume associated with increasing rH values ($p < 0.05$).

All calculation results are illustrated in separate graphs presented in Figure 3.2.3.2.



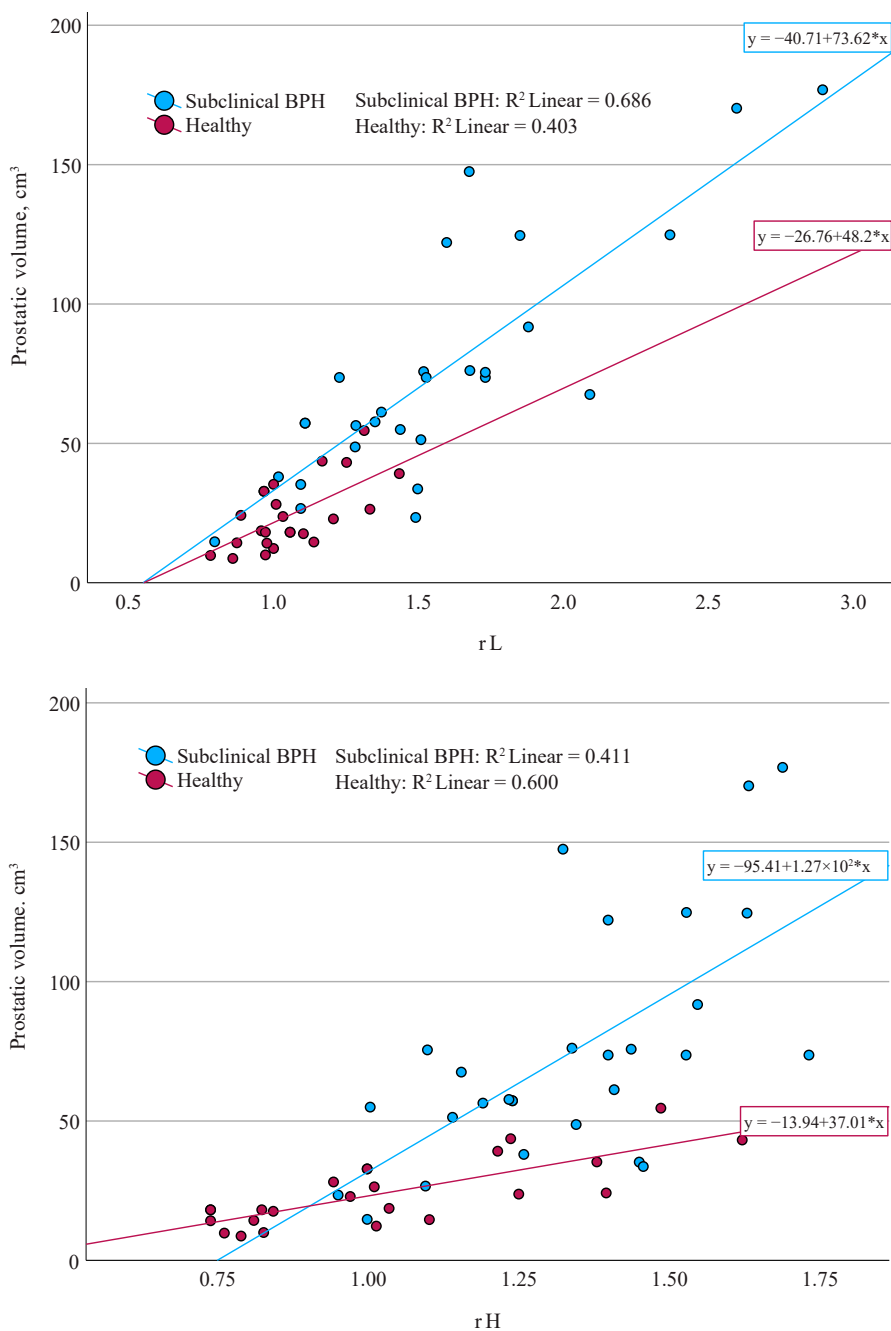


Fig. 3.2.3.2. Scatter plots of prostate volume and rW , rL and rH

Blue points and areas correspond to the subclinical BPH affected dog group, while green points and areas represent the healthy dog group.

ROC analysis revealed that the relative prostatic dimensions rW, rH, and rL are reliable indicators for differentiating clinically healthy dogs from those affected by subclinical BPH.

The rW parameter demonstrated a high discriminative potential, with an AUC value of 0.85. The rH parameter showed a slightly lower AUC value of 0.82, while rL exhibited the highest discriminative power among the three, with an AUC of 0.88. These values confirm that the examined indicators possess high diagnostic efficiency, as AUC values approaching 1 indicate strong diagnostic accuracy. Furthermore, the statistical significance of the results ($p < 0.001$) reinforces the reliability of these findings.

Based on the obtained data, cut-off values were established for each parameter: rW – 1.28, rH – 1.10, and rL – 1.35. Exceeding these thresholds corresponds to a probability of correctly identifying affected dogs of 82.1 % for rW, 89.3 % for rH, and 67.9 % for rL ($p < 0.01$).

The ROC curve illustrating these results is presented in Figure 3.2.3.3.

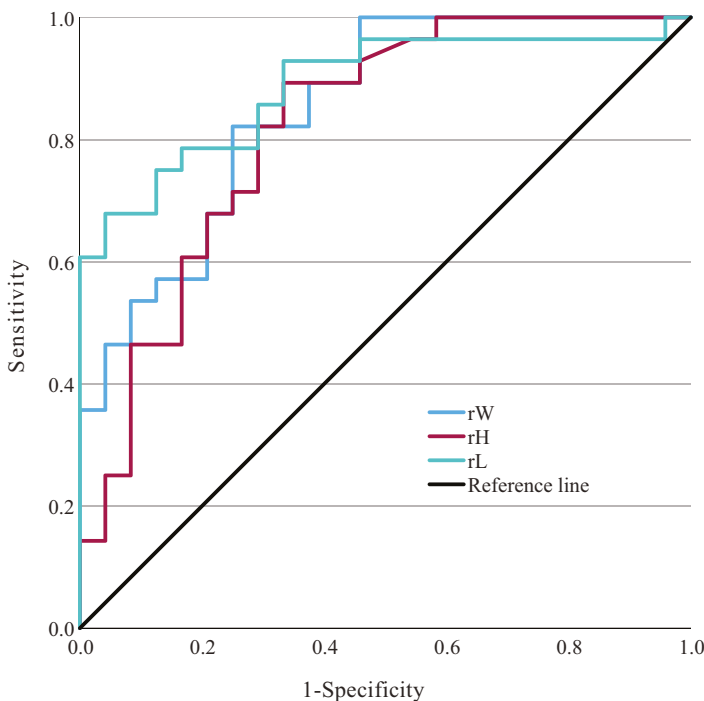


Fig. 3.2.3.3. ROC curve graph reflecting the discriminative ability of rW, rH, and rL indicators to differentiate between healthy and diseased dogs

3.2.4. Partial pelvimetry results

Partial pelvimetry analysis revealed that the mean ppW and ppH values were significantly higher in the group of healthy dogs compared to the group of affected by subclinical BPH ($p < 0.001$). The relative values of partial pelvimetry measurements are presented in Table 3.2.4.1.

Table 3.2.4.1. *Relative values of ppW and ppH in both study groups. a, b – means marked with different letters in a column differ significantly ($p < 0.05$)*

Study groups	ppW	ppH
Subclinical BPH	$1,02 \pm 0,27^b$	$1,71 \pm 0,13^b$
Healthy	$0,74 \pm 0,19^a$	$1,37 \pm 0,12^a$

Analysis of the relationship between ppH and the age of the all study dogs revealed a negative correlation, indicating that ppH values decrease with increasing age. The regression equation $y = 21.29 - 0.88x$ and the determination coefficient ($R^2 = 0.239$) indicate a weak relationship, with only about 29.3 % of ppH variation explained by the age.

Similarly, the analysis of ppW in relation to age also showed a negative correlation, demonstrating that ppW values decrease as dogs age. The regression equation $y = 19.26 - 1.22x$ and the determination coefficient ($R^2 = 0.343$) indicate a moderate relationship, with about 34.3 % of ppW variation attributable to the influence of age.

The scatter plots for both calculations are presented in Figure 3.2.4.1. The points on the graph represent individual dog data, while the regression line visually illustrates the overall decreasing trend.

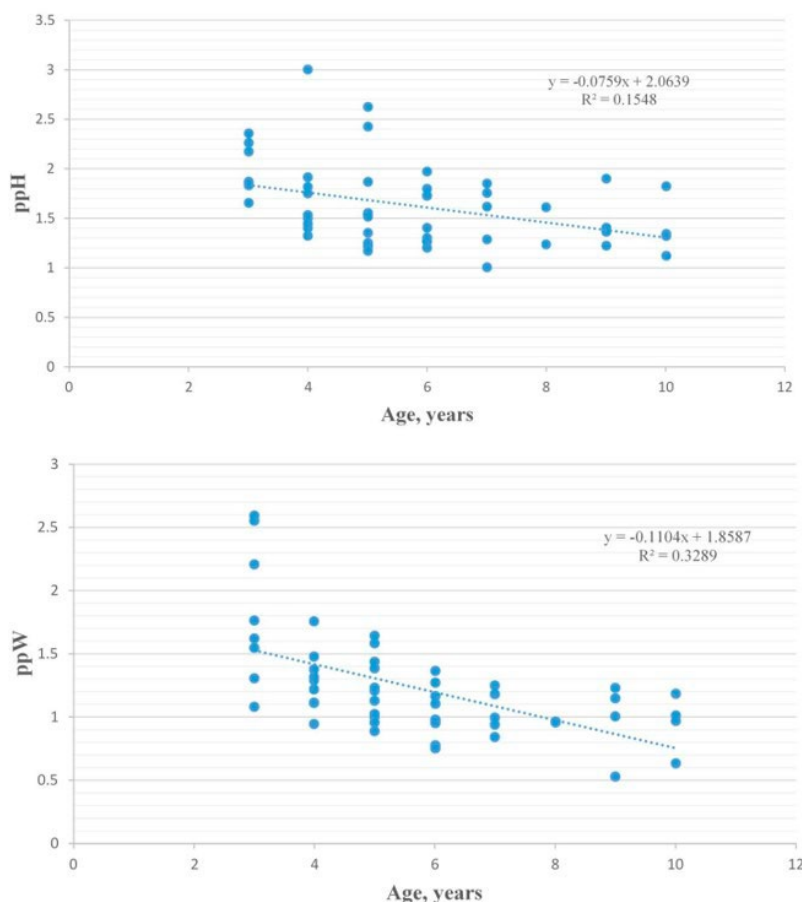


Fig. 3.2.4.1. Scatter plots of the ppH and ppW ratio in relation to dog age

Following the analysis of the ability to distinguish between healthy and affected animals using the ROC analysis, it was determined that the area under the ROC curve (AUC) values for the variables ppW and ppH were 0.836 and 0.844, respectively ($p < 0.001$). These results indicate that the relative values of both ppW and ppH parameters exhibit a high capacity to reliably differentiate healthy dogs from those affected by subclinical BPH.

During the analysis, the cut-off values were determined to be 0.77 for ppW and 0.71 for ppH. Exceeding these threshold values was associated with a 74.4% probability (for ppW) and a 77.1% probability (for ppH) that the examined animal belonged to the healthy dog group. The ROC curves are presented in Figure 3.2.4.2.

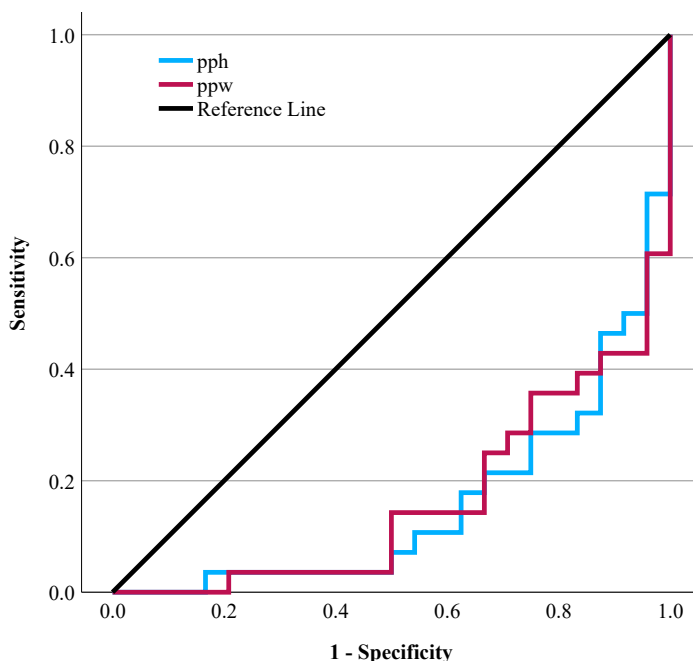


Fig. 3.2.4.2. ROC curve graph showing the discriminative ability of ppW and ppH to differentiate between healthy and diseased dogs

3.2.5. Prostate gland tissue density measurements.

Analysis of prostatic gland tissue density values (HU) across different contrast phases revealed that no statistically significant differences were observed between the healthy and subclinical BPH-affected dog groups during the pre-contrast phase ($p > 0.05$). The mean HU value during the pre-contrast phase was 67.83 ± 3.56 HU in the healthy group and 64.18 ± 9.98 HU in the BPH group.

However, statistically significant differences between the groups were detected during the post-contrast phase ($p < 0.001$). In the healthy group, the mean post-contrast HU value was 95.42 ± 2.34 , while in the BPH-affected group it was 92.61 ± 1.83 HU.

The results of the analysis are presented in Table 3.2.5.1, and representative contrast-enhanced prostate images are shown in Figure 3.2.5.1.

Table 3.2.5.1. Contrast phases and their mean values with standard deviation in different dog groups. a, b – means marked with different letters in the column differ statistically significantly ($p < 0.05$)

Study groups	Pre-contrast phase, HU	Post-contrast phase, HU
Subclinical BPH	64,18 ± 9,98	92,61 ± 1,83 ^a
Healthy	67,83 ± 3,56	95,42 ± 2,34 ^b

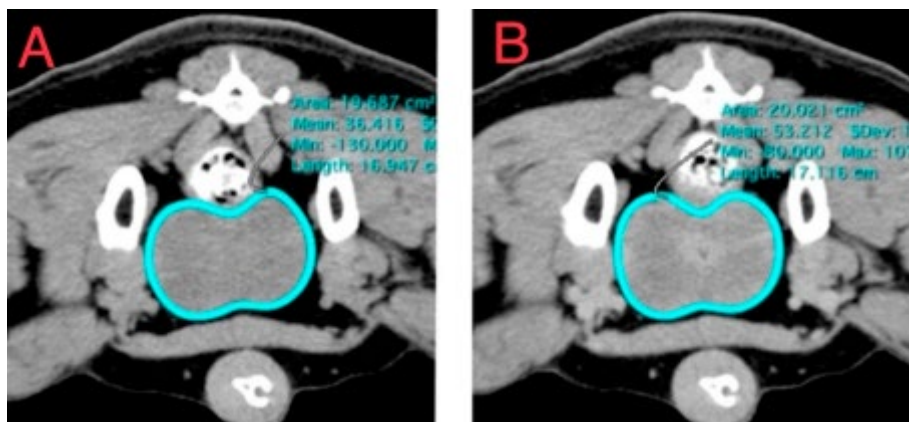


Fig.3.2.5.1. Prostate contrast phases

A – pre-contrast phase, B – post-contrast phase.

Nevertheless, ROC analysis revealed that the AUC value for the pre-contrast phase was 0.489 ± 0.011 ($p = 0.369$). The diagnostic confidence interval ranged from 0.273 to 0.584. These findings indicate that the diagnostic accuracy of the pre-contrast phase for identifying subclinical BPH is low, as the AUC value is below 0.5. Additionally, the diagnostic reliability of the pre-contrast phase was not statistically significant ($p > 0.05$).

In contrast, the post-contrast phase yielded an AUC value of 0.179 ± 0.057 ($p < 0.001$). The confidence interval for this diagnostic method ranged from 0.067 to 0.292. These results suggest that the post-contrast phase is effective as a diagnostic tool for distinguishing between subclinical BPH and clinically healthy prostates. Specifically, when the post-contrast attenuation value is below 93.5 HU, subclinical BPH may be suspected with a probability of 87.8 %.

The ROC curve analysis is presented in Figure 3.2.5.2.

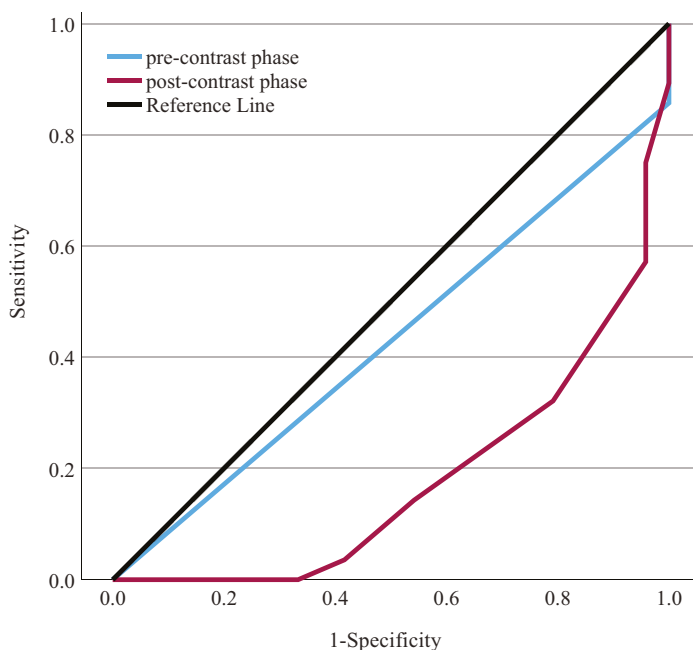


Fig.3.2.5.2. ROC curve graph showing the discriminative ability of post-contrast and pre-contrast phases to differentiate between healthy and diseased dogs

3.2.6. Relationship between prostate volume and contrast phases

In the pre-contrast phase, the prostate volume of dogs affected by subclinical BPH tended to decrease as HU values increased. The regression equation describing this relationship was $y = -1.1404x + 146.72$, with a coefficient of determination $R^2 = 0.0723$. In the healthy dog group, a similar trend of decreasing prostate volume with increasing HU values was observed, with the regression equation $y = -1.2581x + 109.58$ and $R^2 = 0.1339$.

In the post-contrast phase, only minimal changes in prostate volume were observed with increasing HU values in both groups. In the BPH group, the regression equation was $y = 0.2639x + 49.097$, with $R^2 = 0.001$. In the healthy group, the equation was $y = 0.0615x + 18$, with the same coefficient of determination ($R^2 = 0.001$). These results indicate that the pre-contrast phase is more sensitive to variations in HU values, particularly in the healthy group, compared to the minimal changes observed during the post-contrast phase.

Prostate volume variations in relation to HU values across different contrast phases for both groups are illustrated in the scatter plot shown in Figure 3.2.6.1.

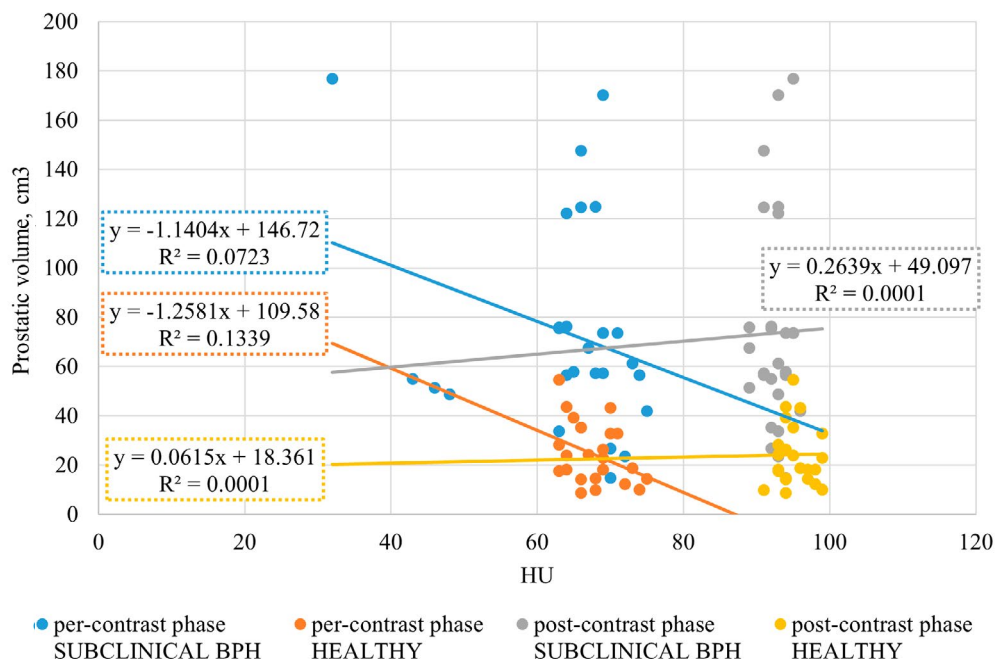


Fig. 3.2.6.1. Scatter plot of prostate volume and HU value

3.2.7. Relationship between intraprostatic cysts and HU values

Statistical analysis revealed that intraprostatic cysts have a relatively limited effect on prostatic contrast enhancement. In the pre-contrast phase, intraprostatic cysts increased HU values in the prostates of healthy dogs to 70.5 HU, compared to 67.6 HU in prostates without cysts.

In contrast, among dogs affected by BPH, the presence of cystic prostatic tissue reduced HU values to 64.0 HU, compared to 70.0 HU in prostates without cysts. In the post-contrast phase, intraprostatic cysts also slightly increased HU values in both groups, particularly in healthy dogs, where the HU value increased to 99.0 in the presence of cysts, compared to 95.1 in prostates without cysts.

Although these differences are observable, they are relatively minor. A statistically significant difference in HU values was found only in the healthy dog group during the post-contrast phase ($p < 0.01$). The effect of cysts on HU values is illustrated in Figure 3.2.7.1.

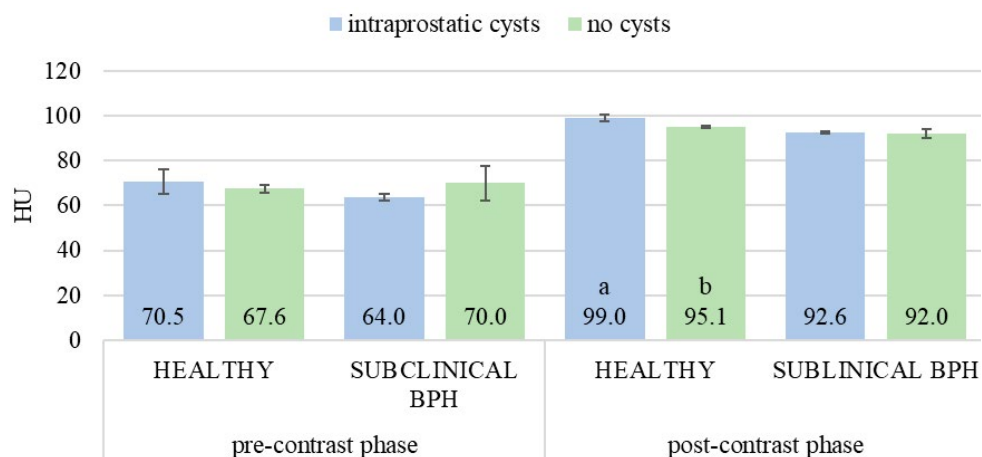


Fig.3.2.7.1. Influence of cyst occurrence on HU values in different phases in healthy dogs and those with subclinical benign prostatic hyperplasia

a, b – Means marked with different letters differ statistically significantly ($p < 0.01$).

3.3. III stage results. Establishment of the threshold of CPSE in healthy dogs and those affected by subclinical BPH and determination of the threshold values for specific ultrasound parameters

3.3.1. Cytological examination results

Following the cytological examination of the prostate, subclinical benign prostatic hyperplasia was diagnosed in 35 dogs. The cytological preparations revealed sheets of columnar or cuboidal epithelial cells of varying sizes, where cells were often densely arranged side by side, forming a “picket fence” structure. The cell nuclei were round or oval, with fine, sometimes coarse chromatin. One to two small nucleoli could be observed within the cell. The cytoplasm was typically columnar or polygonal, gray, and occasionally vacuolated. Cells demonstrated polarity, often forming papillary structures. For the other 30 dogs, no prostate tissue pathologies were detected. In the cytological preparations of the healthy prostate ($n = 30$), a small, orderly arranged group of columnar epithelial cells was observed; the cells were arranged in small clusters of one or two, forming a “picket fence” structure. The cell nuclei were round, slightly oval, with a cytoplasm-to-nucleus ratio of 4–3:1. The nuclear chromatin was finely granular. Photographs of the prostate cytological samples are presented in Figure 3.3.1.

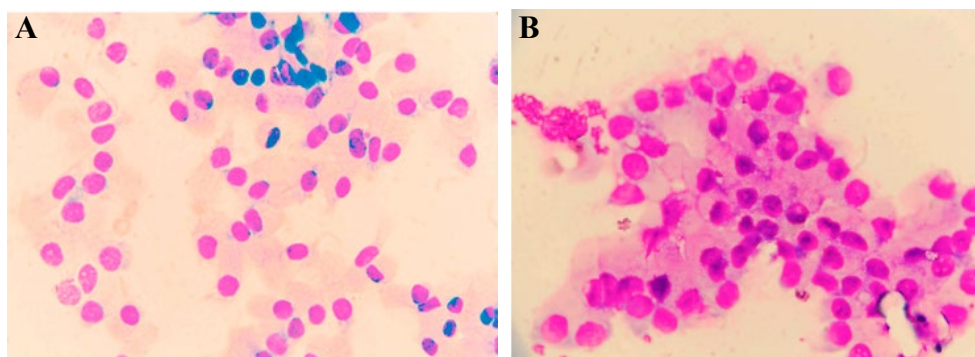


Fig. 3.3.1.1. *Photomicrographs of prostate cytology samples from the “Olympus BX36” microscope (Tokyo, Japan)*

40x magnification. A – normal prostate tissue. B– benign prostatic hyperplasia.

3.3.2. Prostate ultrasonography

The results of the study showed that in the group of dogs affected by subclinical benign prostatic hyperplasia (BPH), prostatic gland asymmetry was observed in 20.0 % of males ($n = 7$). Echogenicity analysis revealed that in 85.7 % of dogs ($n = 30$), the prostate tissue appeared heterogeneous compared to surrounding structures, and diffusely distributed intraprostatic cysts were identified in 85.7 % of cases ($n = 30$).

In comparison, in the healthy dog group, asymmetrical prostate shape was detected in 16.6 % of cases ($n = 5$), heterogeneous echotexture was observed in 13.3 % ($n = 4$), and intraprostatic cysts were found in 10.0 % ($n = 3$) of the animals examined.

The study also assessed differences in prostate dimensions between the groups. In dogs with subclinical BPH, the following average prostate measurements were recorded: length – 5.34 ± 1.29 cm, width – 5.05 ± 1.17 cm, and height – 4.12 ± 0.94 cm. In comparison, the healthy dog group exhibited significantly smaller prostate dimensions: length – 3.57 ± 0.77 cm, width – 3.70 ± 0.94 cm, and height – 3.45 ± 0.88 cm. Statistical analysis confirmed that the differences in length, width, and height between the two groups were significant ($p < 0.01$).

3.3.3. Prostate volume analysis

When analyzing prostate volume metrics, statistically significant differences were found between the groups. The group with subclinical BPH had a significantly larger average prostate volume, measuring 64.51 ± 43.62 cm³, whereas the average prostate volume in the healthy dogs group was significantly smaller – 26.93 ± 17.93 cm³ ($p < 0.001$). Assessing the statistical

correlation between the dogs' age and prostate volume in both healthy and diseased groups, the results were not statistically significant ($p > 0.05$). The analysis indicated that in the group with subclinical BPH, the prostate volume increased by an average of 2.29 cm^3 annually ($p = 0.597$), while in the healthy dogs group, the gland volume increased by 2.74 cm^3 annually ($p = 0.527$). Although these changes are not statistically significant individually for each group, when evaluating the groups of healthy and subclinical BPH-affected dogs together, a moderate correlation was found between age and prostate volume ($r = 0.423$, $p < 0.001$). This correlation is presented in the scatter plot below (Figure 3.3.3.1).

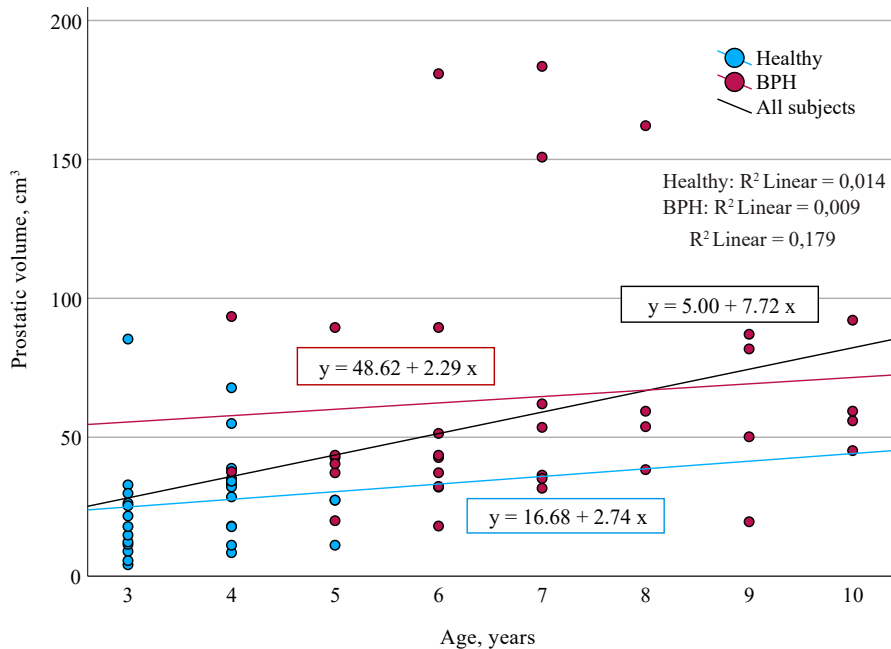


Fig. 3.3.3.1. Scatter plot of prostate volume and age of male dogs

In the group of healthy dogs, a statistically significant moderate correlation was found between body weight and prostate volume ($r = 0.475$, $p < 0.01$). The study results indicated that an increase in weight by one kilogram was on average associated with an increase in prostate volume by 0.82 cm^3 ($p < 0.01$). Conversely, in the group of dogs suffering from subclinical BPH, the relationship between the dogs' weight and prostate volume was weak ($r = 0.217$) and statistically insignificant ($p = 0.209$). Evaluating the overall sample of the study, a weak correlation was found ($r = 0.240$), and the statistical significance was marginal ($p = 0.055$). The scatter plot depicting

the correlation between weight and prostate volume for all dogs participating in the study is presented in Figure 3.3.3.2.

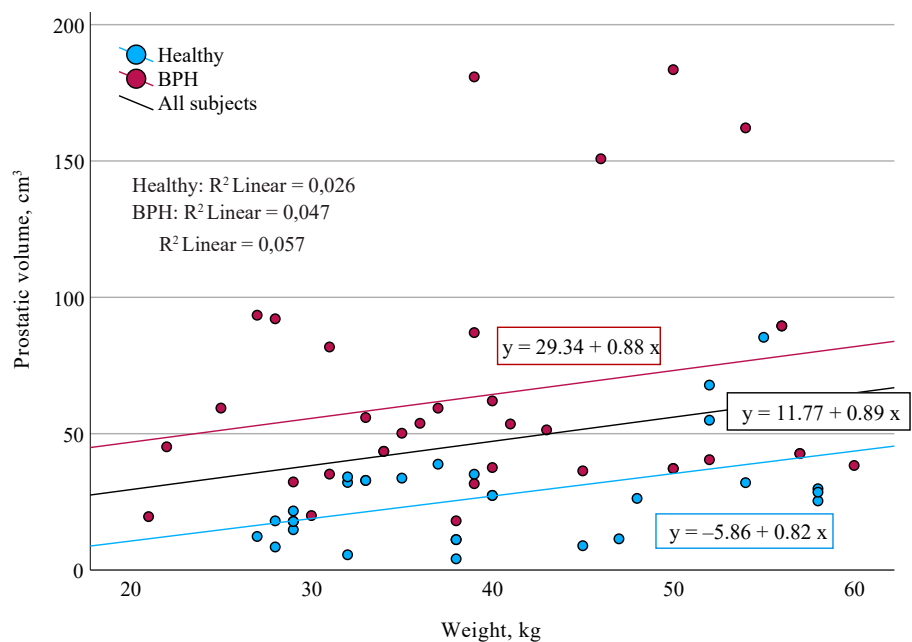


Fig. 3.3.3.2. *Scatter plot of prostate volume and weight of male dogs*

According to ROC analysis, prostate volume has been identified as a reliable diagnostic marker for distinguishing healthy dogs from those suffering from subclinical benign prostatic hyperplasia. The area under the ROC curve ($AUC = 0.87$, $p < 0.001$) indicates that prostate volume possesses a relatively high discriminative ability, as an AUC value close to 1 signifies exceptionally high diagnostic accuracy. The optimal threshold for prostate volume was determined to be 35.16 cm^3 , with values exceeding this threshold indicating the presence of subclinical BPH. The graph of the ROC curves is presented in Figure 3.3.3.3.

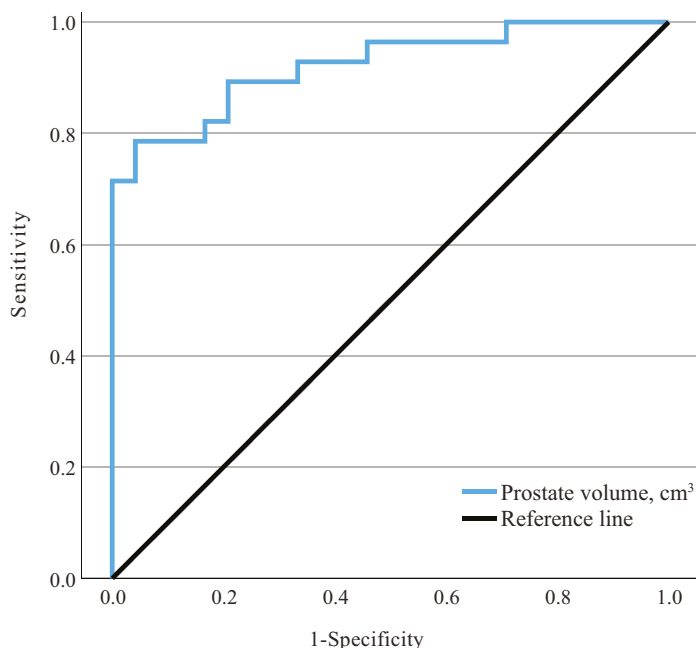


Fig. 3.3.3.3. ROC curve graph of diagnostic reliability and threshold value of prostate volume

3.3.4. Color Doppler analysis

At this stage, echoscopy of the prostate artery (*a. prostatica*) was performed using color Doppler ultrasound, which allowed for the observation and analysis of blood flow metrics at various branching locations of the prostate artery. Results indicated that in the healthy dogs group, the peak systolic velocity (PSV) at marginal locations of the prostate arteries averaged 22.29 ± 1.4 , while in the group of dogs with subclinical BPH, this metric was significantly higher – 34.1 ± 2.91 ($p < 0.05$). A similar trend was observed in evaluating end-diastolic velocity (EDV) values; here, the EDV in healthy dogs was 4.44 ± 0.33 , compared to 6.52 ± 0.86 in the affected group ($p < 0.001$). When assessing resistance index (RI) values at marginal and subcapsular locations, results did not significantly differ between the groups: marginal location RI values were 0.80 ± 0.02 in healthy dogs and 0.81 ± 0.01 in those with BPH, and subcapsular location RI values were 0.65 ± 0.04 in healthy dogs and 0.64 ± 0.03 in the affected group ($p > 0.05$). All results are presented in Table 3.3.4.1.

Table 3.3.4.1. Blood flow parameters in different locations of the prostatic artery

Location of prostate artery and parameter of blood flow analysis	Healthy dogs	Subclinical BPH group
<i>a. prostatica</i> / marginal location, PSV	22.29 ± 1.4 ^a	34.1 ± 2.91 ^b
<i>a. prostatica</i> / marginal location, EDV	4.44 ± 0.33 ^a	6.52 ± 0.86 ^b
<i>a. prostatica</i> / marginal location, RI	0.80 ± 0.02	0.81 ± 0.01
<i>a. prostatica</i> / subcapsular location, PSV	15.36 ± 0.57 ^a	17.96 ± 1.07 ^b
<i>a. prostatica</i> / subcapsular location, EDV	5.42 ± 0.55 ^a	6.57 ± 0.72 ^b
<i>a. prostatica</i> / subcapsular location, RI	0.65 ± 0.04	0.64 ± 0.03

The results demonstrated that specific hemodynamic parameters exhibited very high diagnostic accuracy in both marginal and subcapsular locations of the prostatic artery. In the marginal location, the peak systolic velocity (PSV) showed perfect classification performance (AUC = 1.000; $p < 0.001$), with an identified cutoff value of 26.78 cm/s. When this threshold was exceeded, dogs were correctly identified as having subclinical benign prostatic hyperplasia with a probability of 100 %. The end-diastolic velocity (EDV) in the marginal region also demonstrated excellent diagnostic accuracy (AUC = 0.999; $p < 0.001$), with a cutoff value of 5.23 cm/s. Exceeding this threshold allowed for the diagnosis of subclinical BPH with a probability of 97.1 %. In contrast, the resistive index (RI) in the marginal location was not informative (AUC = 0.639; $p = 0.051$). As this result did not reach statistical significance, the diagnostic reliability of RI in the marginal region is considered limited.

In the subcapsular location, PSV also exhibited exceptionally high diagnostic accuracy (AUC = 0.999; $p < 0.001$), with an established cutoff value of 16.19 cm/s. When this threshold was exceeded, the probability of correctly identifying dogs with subclinical BPH reached 97.1 %. The EDV parameter demonstrated good diagnostic reliability (AUC = 0.903; $p < 0.001$), with a cutoff value of 6.36 cm/s, and exceeding this threshold yielded a 62.9 % probability of correct classification. Conversely, the RI parameter in the subcapsular region had no diagnostic value (AUC = 0.440; $p = 0.446$).

The graphical representation of the ROC curves analysis is presented in Figure 3.3.4.1.

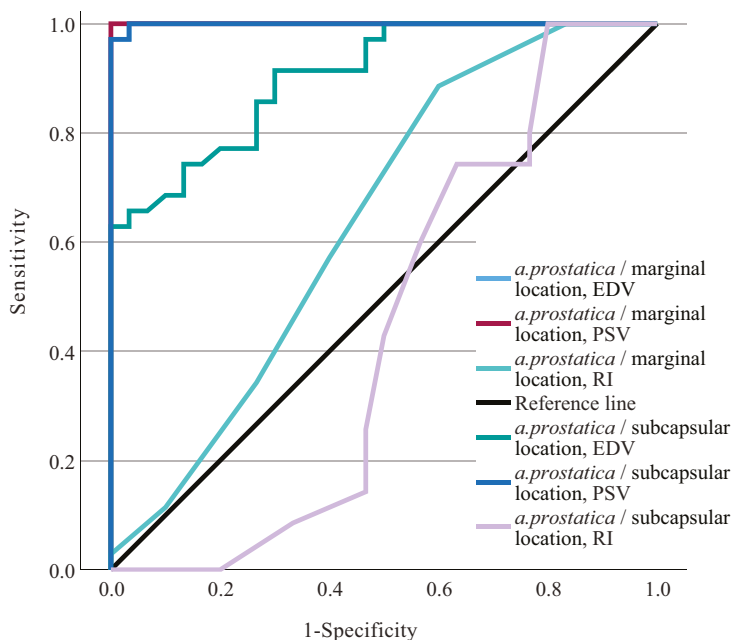


Fig. 3.3.4.1. ROC curve graph for diagnostic reliability and threshold values of prostatic artery parameters in different locations

3.3.5. Analysis of Canine Prostate-Specific Esterase (CPSE)

In the group of healthy dogs, the average CPSE concentration was $38.85 \text{ ng/mL} \pm 14.55 \text{ ng/mL}$ (ranging from 17.53 to 67.8 ng/mL), while in the group of dogs affected by BPH, the biomarker concentration increased to $203.3 \pm 90.39 \text{ ng/mL}$ (ranging from 97.31 to 487.54 ng/mL). Statistical analysis showed that these results differed significantly between groups ($p < 0.001$). The differences in CPSE concentrations are presented in Figure 3.3.5.1.

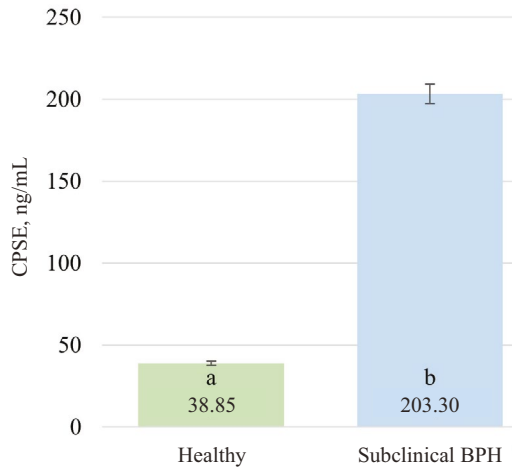


Fig. 3.3.5.1. Differences in CPSE concentrations among different study groups

a, b – means marked with different letters differ significantly ($p < 0.01$).

Additionally, a ROC analysis was performed to determine whether CPSE is a suitable method for differentiating healthy dogs from those affected by disease. The area under the ROC curve (AUC) was 1.00 ($p < 0.001$), with an established threshold value of 82.56 ng/mL. Accordingly, a CPSE concentration equal to or greater than 82.56 ng/mL indicates the presence of subclinical BPH in dogs with 100 % classification accuracy, supported by a statistically significant result ($p < 0.001$). The ROC curve is presented in Figure 3.3.5.2.

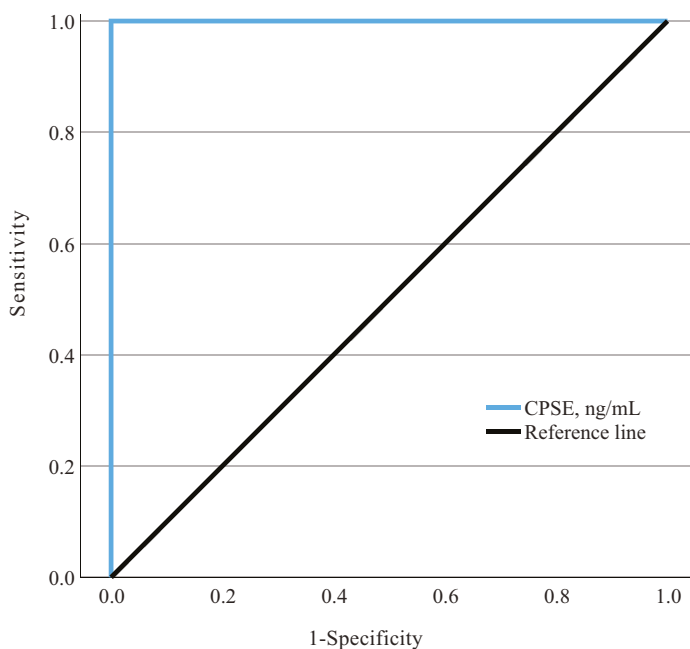


Fig. 3.3.5.2. ROC curve graph depicting the diagnostic reliability and threshold value of CPSE

Upon calculating the dependency of CPSE on the prostate volume assessing collectively in both groups ($n = 65$), the results indicated that prostatic volume increases by 0.14 cm^3 for every 1 ng/mL increase in CPSE concentration, starting from a baseline prostatic volume of 29.49 cm^3 ($y = 29.49 + 0.14 * x$). Although the scatter plot's regression line displays a positive relationship between CPSE concentration and prostatic volume, there are points scattered around the regression curve, indicating a weak correlation between these variables. Pearson correlation coefficient calculations revealed a statistically significant, moderate correlation between CPSE and prostatic volume ($r = 0.378$, $p < 0.01$). The data scatter plot is presented in Figure 3.3.5.3.

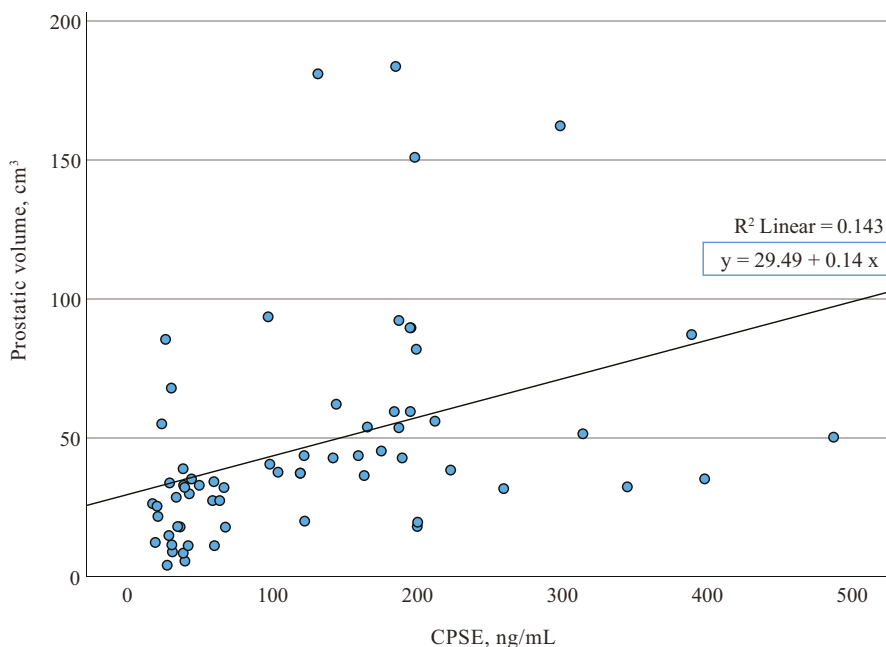


Fig. 3.3.5.3. Scatter plot of the study data showing the relationship between CPSE concentration and prostate volume in all dogs

Upon conducting a similar analysis assessing the relationship between age of all study dogs and concentration of CPSE, identical results were obtained. The findings demonstrated a strong, statistically significant relationship between age and CPSE concentration ($y = 80.7 + 38.1 * x$, $R^2 = 0.584$, $p < 0.01$). The statistical analysis indicated that CPSE concentration progressively increases with age. According to the provided linear regression equation ($y = 80.7 + 38.1 * x$), the CPSE concentration increases by an average of 38.1 ng/mL annually, considering dogs from the age of 3 years as the reference point. Thus, in dogs from the age of 3 years, CPSE concentration in the blood increases by approximately 38.1 ng/mL each year ($p < 0.01$). The scatter plot is presented in Figure 3.3.5.4.

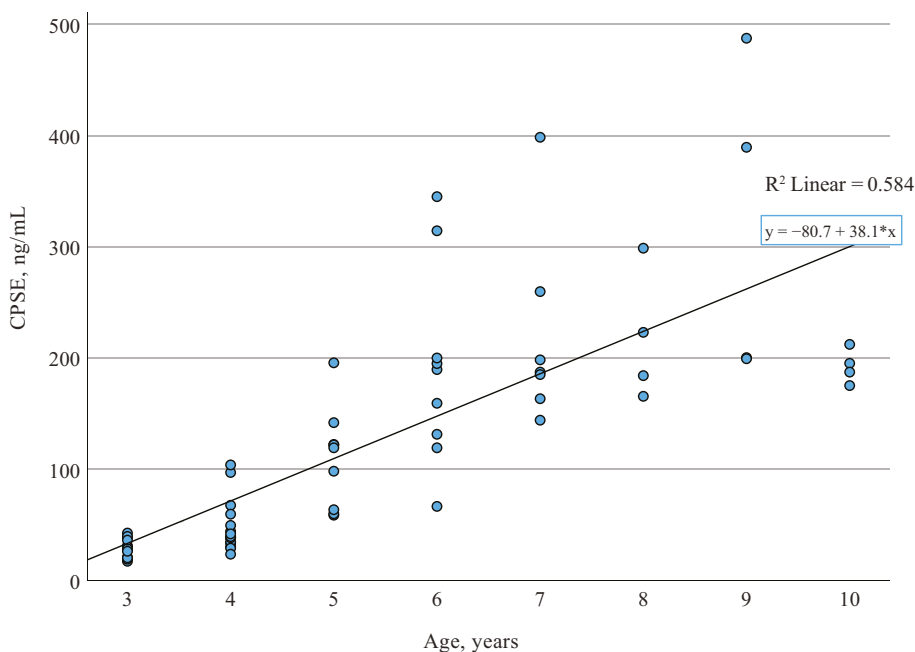


Fig. 3.3.5.4. Scatter plot of the study data showing the relationship between age and CPSE concentration in all dogs

Upon analyzing the correlation between body weight and CPSE concentration, it was determined that the weight of the dogs does not depend on the CPSE concentration in the blood. Analysis of data from 65 unneutered dogs revealed that the Pearson correlation coefficient between body weight and CPSE concentration was 0.047, with a p-value of 0.711. The scatter plot created showed that the distribution of points does not exhibit a clear trend: the points on the graph are scattered randomly, and the shift in the regression line is minimal. This is demonstrated by the linear equation ($y = 146 - 0.47 \cdot x$) and a coefficient ($R^2 = 0.002$). Scatter plot is shown in figure 3.3.5.5.

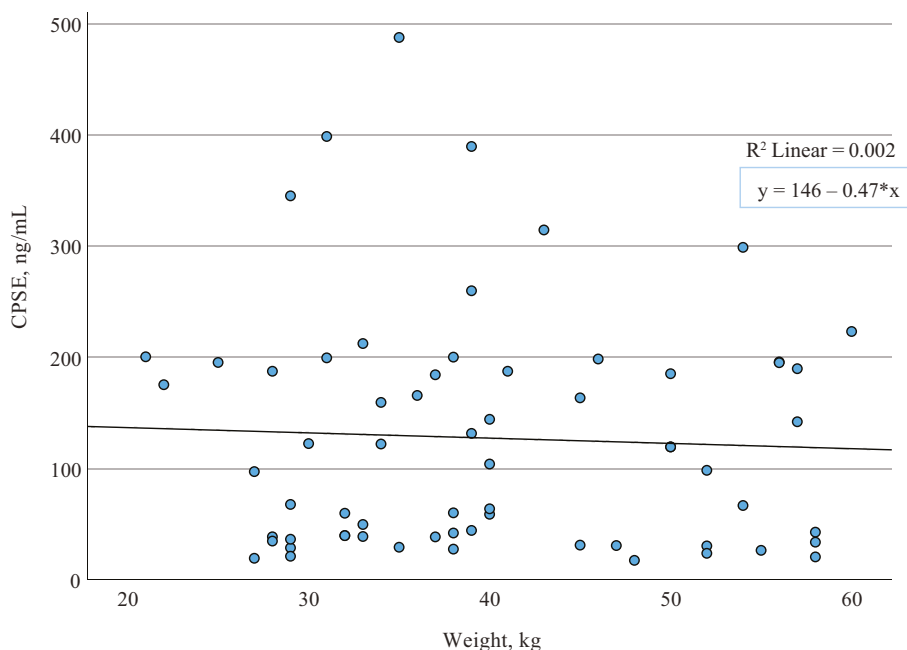


Fig. 3.3.5.5. *Scatter plot of the study data showing the relationship between body weight and CPSE concentration in all participating dogs*

4. DISCUSSION

The major discussion of the results of the scientific investigative work is described in disuccion sections of the published scientific articles. Subsequent sections will address the most crucial and fundamental results of this work. It is important to note that during this study, the authors identified several methodological and practical limitations that could have influenced the interpretation of the results and their clinical applicability. One of the most significant factors is the diversity of the breeds of the dogs studied, which does not allow the exclusion of the influence of breed on prostate size, morphological changes, blood flow parameters, or variations in CPSE concentration and CT-examined parameters. Additionally, technical challenges were encountered in the color Doppler echoscopy studies: the accurate identification of small anatomical structures when assessing prostate arteries in different locations and the standardization of the ultrasound probing angle for different animals could have affected the accuracy of some parameters. It is important to emphasize that the person performing and evaluating the CT and ultrasound studies also significantly impacts the procedures, and thus, the interpretation of the relevant prostate parameters may depend on the operator who conducted

the procedure, which could influence the results. Furthermore, in the first stage, it was not possible to collect sperm samples from some males, resulting in a smaller dataset for this analysis than planned. These limitations should be considered when planning future studies and applying the findings in practice.

4.1. Stage I: Evaluation of prostate gland

4.1.1. Rectal palpation

This method remains widely used for evaluating the prostate, although its diagnostic sensitivity and specificity are considered subjective [79]. The results of our study revealed that digital rectal examination (DRE) cannot reliably identify prostatic pathologies; therefore, DRE should be considered a preliminary assessment tool, while not sufficient as a definitive diagnostic method. In this phase, a total of 150 male dogs underwent rectal examination. The DRE findings showed that the majority of dogs ($n = 79$, 52.7 %) had a smooth prostatic surface, and in 82 dogs (54.6 %), the lobes appeared symmetrical. In contrast, 71 dogs (43.7 %) exhibited an irregular surface, and 68 dogs (44.4 %) had asymmetrical lobes. However, only 28 dogs (18.7 %) had prostates of firm consistency, and pain sensitivity scored 3 points in only 4 dogs (2.7 %). In most cases, asymmetrical, or painful prostates may indicate acute prostatitis or advanced prostatic neoplasia [8,61]. Nevertheless, the dogs involved in this study were clinically healthy and exhibited no clinical signs related to prostatic disease; thus, prostatitis or neoplasia was not considered a likely diagnosis based on DRE alone.

Regarding prostatic size, the results showed that in the majority of dogs (81.3 %), the prostate occupied up to half of the rectal lumen, corresponding to mild prostatic enlargement (grade 0–2). This level of prostatomegaly generally does not result in clinical symptoms but may raise suspicion for subclinical BPH [11]. Although rectal examination is a subjective method and its accuracy depends on the examiner's experience, it remains the primary tool for initial evaluation of the prostate [139]. In clinical practice, further diagnostic investigations are recommended for the assessment and confirmation of prostatic disorders, and diagnosis should not rely solely on rectal examination findings [27,28].

4.1.2. Prostate gland ultrasonography

Following ultrasonographic evaluation of the prostate, the symmetry of the glandular lobes, tissue echogenicity, and the presence of prostatic cysts were assessed. The results showed that among dogs with asymmetrical prostatic lobes, additional sonographic findings were frequently observed, including

heterogeneous tissue structure and intraprostatic cysts. These findings are commonly associated with benign prostatic hyperplasia. According to the study conducted by Russo et al., all dogs diagnosed with BPH exhibited identical changes in the prostate: intraprostatic cysts, altered echogenicity of the glandular tissue, and mild lobe asymmetry [195]. The results of the present study also demonstrated that the presence of intraprostatic cysts, heteroechogenicity, lobe asymmetry, and prostatic enlargement were age-related – as dogs aged, the progression of BPH was accompanied by these specific sonographic features. The correlation between age and prostatic changes was further supported by findings from the study by Mantziaras et al., which compared prostatic alterations in young and older male dogs [12].

In contrast to age, body weight was not found to influence the ultrasonographic characteristics of the prostate. Although the relationship between prostatic weight and body weight has been well established by Brendler et al., the authors are not aware of any published data evaluating whether prostatic weight is associated with specific ultrasonographic changes [196].

4.1.3. Semen evaluation

Analysis of 117 fresh semen samples revealed that semen quality in dogs declines with age. An increase in the number of morphological defects and elevated semen pH values indicates that reproductive function deteriorates with aging. A significant decrease in semen quality was observed in older age groups, suggesting that the aging process has a negative impact on spermatogenesis. Lechner et al. also reported that aging affects not only semen quality but also the resistance of spermatozoa to cryopreservation, making semen from older males generally unsuitable for freezing in liquid nitrogen [197].

The findings of this study further showed that good semen quality was most frequently associated with homogeneous prostatic tissue, while moderate and poor semen quality were more commonly observed in dogs with heterogeneous prostatic echotexture. Intraprostatic cysts were significantly associated with reduced semen quality and were prevalent among dogs with moderate or poor semen characteristics. Although a few dogs with intraprostatic cysts exhibited good semen quality, such cases were relatively uncommon ($n = 14$, 25.9 %).

These results indicate that changes in semen quality are typical in older dogs and are directly associated with structural changes in the prostate, including intraprostatic cysts and increased tissue echogenicity. Moxon et al. found that dogs with mixed prostatic echogenicity had poorer semen quality compared to those with homogeneous prostatic tissue [198]. These structural changes in

the prostate may be linked to the progression of benign prostatic hyperplasia, a condition associated with the initiation of oxidative processes in the gland. Oxidative stress is known to negatively affect male semen quality [101].

Similar findings were reported by Krakowski et al., who investigated fresh semen in 11 large and giant breed male dogs over the age of three diagnosed with benign prostatic hyperplasia. Their analysis of the ejaculate revealed changes in the composition of prostatic fluid, pH levels, and sperm DNA fragmentation, all of which contributed to a decline in semen quality [88].

4.2. Stage II: Computed tomography and partial pelvimetry measurements of healthy and subclinical BPH affected dogs

4.2.1. Prostate dimensions and volume calculated using CT scan software

Computed tomography measurements of prostatic length, width, height, and volume in clinically healthy dogs and those affected by subclinical BPH, based on dedicated imaging software algorithms, revealed a clear difference in prostatic dimensions and volume between the two groups. Salonen et al. conducted a study in which the prostatic volume of dogs over five years of age and of various breeds was measured using CT. Their findings demonstrated that the determination of prostatic volume using the same software algorithms applied in our study is highly accurate and reliable. Moreover, the study showed that measurement accuracy does not depend on the radiological experience of the operator; a clinician without radiological training, but familiar with the technique, was also capable of accurately performing prostatic volume measurements [184].

In another study, Haverkamp et al. measured prostatic volume using both CT and ultrasonography. The study clearly concluded that ultrasonographically determined volumes were unreliable and did not correlate with those obtained via CT. As a result, reliance on ultrasound-based volume estimates in clinical practice may lead to discrepancies from actual prostate size, highlighting the limited reliability of this method [17].

In a separate study, Haverkamp and colleagues performed CT scans on the prostates of 95 dogs, including 58 intact males (mean age 7.3 years; mean weight 30.8 kg) and 37 neutered males (mean age 8.2 years; mean weight 25.5 kg). The average prostatic volume reported was 58.6 cm³. Our study yielded similar values; however, receiver operating characteristic (ROC) analysis indicated that dogs with a prostatic volume exceeding 46.186 cm³ had a 92.3 % likelihood of being affected by subclinical BPH. Unlike the aforementioned study, in our research, the prostatic health status of all dogs

was confirmed, supporting the assumption that dogs in the Haverkamp study may also have had undiagnosed subclinical BPH. Therefore, volume estimations in that study likely represented a general tendency within a large sample population.

Schulze et al., Ruel et al., and Atalan et al. investigated 50, 100, and 154 clinically healthy dogs of various breeds and ages, respectively, and reported mean prostatic volumes ranging from 12 to 30 cm³ [148,154,199]. However, none of these studies confirmed the precise prostatic health status of the animals, and ultrasound was used for volume assessment. Additionally, prostatic volume was calculated using various formulas which, according to the findings of Haverkamp et al., do not statistically correlate with volumes determined by CT [18].

The novelty of our study lies in the fact that all evaluated males were either clinically healthy or affected by subclinical BPH confirmed by cytological analysis. Statistical evaluation enabled the identification of a recommended prostatic volume threshold above which subclinical BPH can be suspected with high confidence. The CT-derived cut-off was 46.186 cm³, while the ultrasound-based threshold distinguishing healthy from affected dogs was lower at 35.16 cm³. Nevertheless, it is recommended to rely on CT-derived volume thresholds, given the superior accuracy of CT methodology [21].

Prostatic length, width, and height were also measured. In the healthy group, the mean dimensions were as follows: length – 3.43 ± 0.11 cm, width – 3.65 ± 0.19 cm, height – 3.49 ± 0.14 cm. In the affected group, the corresponding values were: length – 5.21 ± 0.27 cm, width – 5.20 ± 0.22 cm, height – 4.45 ± 0.15 cm. A comparable study by Pasikowska et al. included 20 healthy and 20 BPH-affected dogs of various breeds, weighing 10 to 42 kg and aged 5 to 11 years. CT measurements in the healthy group revealed mean values of: length – 2.68 ± 0.63 cm, width – 3.19 ± 0.68 cm, height – 2.82 ± 0.75 cm. In the affected group, these values were: length – 4.38 ± 1.1 cm, width – 4.89 ± 0.88 cm, height – 4.49 ± 0.95 cm [183].

Comparison of our findings with those of Pasikowska et al. confirms that dogs with BPH have significantly larger prostates than healthy dogs. Our study reported larger dimensions in healthy dogs compared to the values reported by Pasikowska and colleagues, which may be attributed to differences in the age distribution of the study populations. Despite inter-study variation, both datasets support the association between BPH and the development of prostatomegaly.

4.2.2. Prostate gland dimensions and L6 ratio levels

In cases of prostatic carcinoma, metastases frequently occur in the skeletal system, particularly in regional bone structures such as the pelvic bones and lumbar vertebrae [200]. Considering this, Pasikowska et al. conducted a study in which they measured the ratio between prostatic height, width, and length and the length of the sixth lumbar vertebra (L6), based on the hypothesis that prostatomegaly in dogs with BPH may be relatively comparable to prostate enlargement in cases of prostatic carcinoma. Therefore, by evaluating the relative values of prostatic dimensions in relation to L6 length, this method could potentially be applied to differentiate healthy dogs from those affected by BPH [183].

Similar studies were carried out by Vali et al. and Lee et al., where prostatic measurements were evaluated in relation to L7 and L6 vertebrae, respectively. Both studies concluded that there was no significant association between prostatic measurements and the vertebral body length of L7 or L6 [142,201]. However, both studies included only clinically healthy dogs of various ages, weights, and breeds, and neither study performed cytological or histopathological examination of the prostate. In contrast, the study published by Pasikowska et al., as well as our own study, included cytological evaluation of the prostate. The findings of that study indicated that prostatic hyperplasia was associated with higher ratios between prostate length (rL), width (rW), and height (rH) and the length of the L6 vertebral body in dogs with BPH compared to healthy dogs [183].

Our study also demonstrated significantly higher mean values of rL, rW, and rH in the group of dogs affected by subclinical BPH when compared to the healthy group, along with positive correlations between prostatic volume and each of these ratios. Unlike previous studies, our research additionally established specific threshold values for rL, rW, and rH. Using receiver operating characteristic analysis, we defined cut-off values for these parameters that allow for distinguishing between healthy and BPH-affected dogs. The following threshold values were identified: rW – 1.28 cm, rH – 1.10 cm, and rL – 1.35 cm. Exceeding these thresholds corresponded to the following probabilities of identifying affected dogs: 82.1 % for rW, 89.3 % for rH, and 67.9 % for rL. These novel findings may be clinically useful in the evaluation of the canine prostate.

4.2.3. Partial pelvimetry and prostate gland measurements

In this study, partial pelvimetry was performed to evaluate the manifestation of prostatomegaly. In human medicine, pelvimetry is commonly used to assess pelvic bone dimensions in women, particularly in relation to fetal head

size and the cranial pelvic inlet, as well as the risk of dystocia during delivery [202]. In veterinary medicine, this method is applied for similar purposes, including the assessment of pregnant bitches to evaluate the same obstetric risks as in human medicine [203]. In recent years, computed tomography has also been employed for this purpose [204]. Various studies have shown that CT is a significantly more reliable method for pelvimetry than conventional radiography [205–207].

In the context of prostate assessment, the anatomical relationship between the pelvic bones and the prostate gland was described in a 1999 study by Atalan et al., where radiographic images were used to evaluate the dimensions of the prostate and pelvic bones. The findings indicated that these measurements could be considered reliable for assessing prostate size [144]. This was among the first attempts to explore the potential correlation between pelvic structures and the prostate through morphometric analysis. However, a later study by Choi et al. demonstrated that this method could be subjective and inaccurate due to inconsistencies in radiographic measurement techniques [149].

To address these limitations, our study continued the evaluation of the relationship between prostatic width and height and the cranial pelvic aperture using three-dimensional CT images. The aim was to investigate possible correlations and changes between these structures. The results showed that ppW and ppH values in dogs affected by subclinical BPH differed from those in healthy dogs. This suggests a potential association between the degree of prostatomegaly and the dimensions of the cranial pelvic aperture.

In addition, the findings revealed a negative correlation between age and both ppW and ppH values in the entire study population, regardless of prostatic health status. This indicates that as dogs age, the prostate enlarges progressively, and this enlargement is reflected in decreasing ppW and ppH values. A similar pattern was observed with prostatic volume. As the volume increased, the ppW and ppH values decreased, which may be explained by the limited space available within the cranial pelvic inlet for the enlarged prostate. It is important to highlight that, in sexually mature dogs, the musculoskeletal system is fully developed and the size of the pelvic bones remains constant throughout aging [208]. Therefore, the variation in ppW and ppH values can be attributed solely to prostatic hyperplastic changes.

This conclusion is supported by the ROC analysis conducted in our study, which demonstrated that specific cut-off values for ppW and ppH can effectively differentiate between healthy dogs and those affected by subclinical BPH. The present study represents an initial model for investigating the association between partial pelvimetry and prostatomegaly in male dogs. It is important to emphasize that this assessment method may be useful for estimating prostate size and diagnosing subclinical BPH in cases where CT is

performed for unrelated reasons, such as evaluations of the urogenital tract, spine, or hip joints, provided that both the cranial pelvic aperture and prostate are included in the imaging field [209].

4.2.4. Prostate gland density values

In our study, numerical values of prostatic tissue density were also assessed. The results revealed that in the post-contrast phase, Hounsfield unit (HU) values in the prostates of dogs affected by subclinical BPH were significantly lower compared to those of healthy dogs. Similar findings were reported in a study by Pasikowska et al., in which dogs with BPH also demonstrated lower HU values [183]. Nevertheless, our statistical analysis showed that in the pre-contrast phase, HU values tended to increase as prostatic volume decreased in both healthy dogs and those affected by subclinical BPH. However, this correlation was not statistically significant. In the post-contrast phase, prostatic volume had almost no influence on HU values. These findings suggest that prostatic volume has a limited effect on tissue density expressed in HU.

It is important to note that in dogs with subclinical BPH, prostatomegaly is typically mild. It is likely that dogs with clinically evident BPH usually exhibit more pronounced prostate enlargement, which may potentially affect HU values. A study by Lee et al. evaluated canine prostates using various CT parameters and observed differences in HU values between prostates with and without intraprostatic cysts [142]. In our study, statistical analysis showed that intraprostatic cysts had only a minor effect on contrast enhancement of the prostate. This discrepancy between findings may be attributed to the fact that neither study defined the diameter of the cysts. It should be emphasized that clinically healthy dogs diagnosed with subclinical BPH usually do not present with large intraprostatic cysts, since larger cysts are more commonly associated with the manifestation of clinical symptoms [130].

Although our results differ from those of Lee et al. in terms of HU values, it is important to highlight that their study did not include histopathological analysis of the prostate. Their investigation merely indicated that contrast enhancement may serve as an auxiliary parameter for evaluating prostate condition. In contrast, our study included cytological evaluation of prostatic tissue, which allowed us to distinguish between healthy dogs and those affected by subclinical BPH, making our results potentially more reliable.

Furthermore, ROC analysis performed in our study identified a diagnostic threshold for HU values that may assist in the identification of dogs affected by subclinical BPH. The analysis showed that a post-contrast HU value lower than 93.5 may indicate the presence of hyperplastic changes in the prostate. These results may serve as additional information when assessing the potential occurrence of subclinical BPH.

4.3. III stage. Determination of the CPSE threshold and the boundary values of specific ultrasound parameters in healthy dogs and subclinical BPH affected male dogs

4.3.1. Ultrasound evaluation of prostate gland

Our results demonstrated a significantly increased prostatic volume in dogs affected by subclinical BPH compared to healthy dogs. In a study conducted by Dearakhshandeh et al., 25 male dogs of various breeds and ages (ranging from 1 to 3 years and weighing between 15 and 20 kg) were examined to assess the progression of prostatomegaly. In this study, BPH was experimentally induced using testosterone enanthate and estradiol benzoate injections. Ultrasonographic examinations revealed that the prostatic volume in the BPH-induced group increased from $9.66 \pm 4.81 \text{ cm}^3$ on day 0 to $20.59 \pm 6.83 \text{ cm}^3$ on day 63 [85].

Although the dogs included in our study differed in age and body weight, similar tendencies were observed. In our study, the prostatic volume of dogs affected by subclinical BPH was $64.51 \pm 43.62 \text{ cm}^3$, whereas in healthy dogs it was $26.93 \pm 17.93 \text{ cm}^3$. Both studies support the observation that prostatic volume is greater in dogs affected by BPH compared to healthy individuals.

Moreover, our study used receiver operating characteristic analysis to propose a volume threshold for identifying subclinical BPH, indicating that the prostate volume should exceed 35.16 cm^3 . It is important to note, however, that in our study, the volume measurements obtained via ultrasonography using the ellipsoid formula differed from those calculated using the CT operating system. Based on the greater accuracy of CT in assessing organ volume and other structural parameters, our findings align with those reported by Haverkamp et al., who concluded that CT is a more reliable method for calculating prostatic volume [17].

4.3.2. Assessment of prostate blood flow using color Doppler

Our study highlights the importance and potential of color Doppler ultrasonography in evaluating healthy dogs and those affected by subclinical benign prostatic hyperplasia. The results were compared with data from a study by Zelli et al., which measured various vascular parameters in the prostatic artery. Our findings differed from those reported by Zelli and colleagues. In their study, peak systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV), and resistance index (RI) values in both marginal and subcapsular locations of the prostatic artery were higher than the values observed in our study population.

These discrepancies may be attributed to various methodological differences, such as the age, weight, breed, and sample size of the dogs

examined. Our study included dogs of different breeds, whereas the study by Zelli et al. focused solely on German Shepherds. Additionally, the dogs in our study were diagnosed with subclinical BPH, while the clinical status of the dogs in the aforementioned study was not clearly defined.

Despite these differences, our results indicate that dogs with subclinical BPH generally exhibit increased vascular flow velocity parameters compared to healthy dogs. This is consistent with findings from other authors, such as Gunzel-Apel et al. and Nizański et al., who also reported elevated blood flow velocities in the prostatic arteries of dogs affected by BPH compared to healthy controls.

Our findings contribute to a better understanding of hemodynamic changes within the prostate gland associated with subclinical BPH. Receiver operating characteristic (ROC) analysis demonstrated that velocity measurements of the prostatic artery at specific anatomical locations are effective diagnostic indicators for distinguishing between healthy and affected dogs. The ROC curve analysis revealed that PSV and EDV values in both marginal and subcapsular regions showed high diagnostic accuracy. However, the diagnostic accuracy of the RI parameter in both anatomical locations, particularly in the subcapsular region, was significantly lower compared to that of PSV and EDV.

The RI values did not differ significantly between healthy and affected dogs in either location, suggesting that this parameter is less informative for clinical use in this context. This phenomenon may be explained by the nature of the parameters. PSV and EDV measure blood flow velocity over time and are more sensitive to subtle changes in vascular wall integrity or hemodynamics [210]. In contrast, RI, calculated as the ratio between PSV and EDV ($RI = (PSV - EDV) / PSV$), is less influenced by changes that do not affect vascular resistance or tone. Although PSV and EDV may change, RI remains relatively stable if vascular resistance is unaltered. RI is particularly sensitive to structural characteristics such as vascular wall elasticity, which may remain relatively unaffected in cases of subclinical BPH [211,212].

4.3.3. Determination of CPSE reference values

In our study, CPSE analysis performed on 52 clinically healthy breeding male dogs showed that the mean CPSE concentration in the healthy group was 38.85 ± 14.55 ng/mL. In contrast, the mean concentration in dogs affected by subclinical BPH was significantly higher, reaching 203.3 ± 90.39 ng/mL. Similar results were reported by Bell et al., who found that dogs with BPH had markedly elevated CPSE levels (189.7 ng/mL) compared to healthy dogs (41.8 ng/mL) [213]. In the study conducted by Alonge et al., the average

CPSE concentration was 38.9 ng/mL in healthy dogs and 184.9 ng/mL in dogs with BPH [214].

In that study, a diagnostic CPSE threshold of 52.3 ng/mL was established based on receiver operating characteristic (ROC) analysis, which could be used for diagnosing BPH. Our study, which included a larger sample (n = 65) compared to the study by Alonge et al. (n = 19), identified a higher diagnostic threshold. A CPSE concentration exceeding 82.56 ng/mL was associated with an increased likelihood of subclinical BPH. The difference in results may be related not only to sample size, age, and breed variability but also to a key methodological factor. In the study by Alonge et al., CPSE levels were measured using the ELISA method, whereas our study utilized laser fluorescence technology, which is considered more reliable than ELISA [215].

When compared with the findings of Holst et al., who reported a diagnostic threshold of 90 ng/mL, our results are consistent. Their study included 79 intact male dogs with a mean age of 7.5 years and an average weight of 24.5 kg. Despite using ELISA for CPSE detection, the threshold value reported in their study was similar to ours [25]. Given that the dogs in the study by Holst et al. were clinically healthy and exhibited similar demographic characteristics to the dogs in our research, it may be concluded that both threshold values provide reliable markers for identifying subclinical BPH.

Our study also demonstrated that CPSE levels were positively correlated with prostatic volume but showed no association with body weight. Similar findings were reported by Pinheiro et al. [24]. Considering that CPSE testing is rapid, cost-effective, and widely accessible, this method has become highly valuable for evaluating prostatic health in veterinary practice. CPSE testing enables early detection of prostatic disorders in all male dogs, regardless of reproductive status, thus facilitating timely identification of hyperplastic changes and the initiation of further diagnostic or therapeutic interventions, even in asymptomatic cases.

Importantly, CPSE testing is non-invasive and therefore particularly appropriate for the examination of older dogs. In addition to its utility in diagnosing early-stage BPH, this test is also beneficial for evaluating the overall reproductive and health status of male dogs, supporting monitoring protocols and treatment planning [138,213,216].

CONCLUSIONS

1. It was determined that morphological prostate parameters assessed during rectal examination exhibited high individual variability.
 - 1.1. According to the study data, morphological changes in the prostate – including tissue heterogeneity, formation of intraprostatic cysts, and asymmetry of prostate lobes – were age-dependent and most commonly observed in males older than 5.5 years, whereas the body weight had no influence on these changes.
 - 1.2. It was established that semen quality significantly deteriorates with age – the volume of the second ejaculate fraction, sperm concentration, and progressive motility decrease, while the percentage of morphological defects and the pH of the third ejaculate fraction increase.
2. It was found that prostate length, width, height, and volume significantly differed between healthy dogs and those affected by subclinical BPH ($p < 0.001$), with volumes exceeding 46.186 cm^3 allowing diagnosis of subclinical BPH with 92.3 % accuracy.
 - 2.1. Relative dimensional indices (rL, rW, rH) demonstrated high diagnostic accuracy. Threshold values of $rL \geq 1.35$, $rW \geq 1.28$, and $rH \geq 1.10$ allowed identification of subclinical BPH with 67.9 %, 82.1 %, and 89.3 % accuracy, respectively ($p < 0.01$).
 - 2.2. It was found that the ppW index demonstrated high diagnostic accuracy ($\text{AUC} = 0.836$; $p < 0.001$). When its value exceeded 0.77, the ppW parameter identified healthy dogs with 74.4 % probability. In comparison, the diagnostic accuracy of the ppH parameter was 77.1 %, with a threshold value of 0.71 ($\text{AUC} = 0.844$; $p < 0.001$).
 - 2.3. Statistically significant differences in prostate tissue density were observed only in the post-contrast phase of computed tomography ($p < 0.001$). A Hounsfield unit (HU) value below 93.5 enabled identification of subclinical BPH with 87.8 % accuracy ($\text{AUC} = 0.879$; $p < 0.001$).
3. A threshold prostate volume value of 35.16 cm^3 was identified, above which subclinical BPH can be diagnosed with a probability of 87.4 % ($\text{AUC} = 0.87$; $p < 0.001$).
 - 3.1. The study findings revealed that prostatic artery blood flow parameters – peak systolic velocity (PSV) and end-diastolic velocity (EDV) – demonstrated exceptionally high diagnostic accuracy in differentiating healthy dogs from those with subclinical benign prostatic hyperplasia ($\text{AUC} = 0.999\text{--}1.000$;

$p < 0.001$). The calculated cutoff values in the marginal region of the prostatic artery were $PSV \geq 26.78$ cm/s and $EDV \geq 5.23$ cm/s. Exceeding these thresholds resulted in correct classification of dogs with subclinical BPH with a probability of 100.0 % and 97.1 %, respectively. In the subcapsular region, the cutoff values were $PSV \geq 16.19$ cm/s and $EDV \geq 6.36$ cm/s, with correct identification of affected dogs at probabilities of 97.1 % and 62.9 %, respectively. In contrast, the resistive index (RI) had no diagnostic value in either location ($AUC = 0.639$ in the marginal and $AUC = 0.440$ in the subcapsular region; $p > 0.05$), indicating that its use for differentiating healthy and affected dogs is not informative.

- 3.2. It was determined that subclinical benign prostatic hyperplasia can be diagnosed with 100 % accuracy when the concentration of CPSE is equal to or exceeds 82.56 ng/mL ($AUC = 1.00$; $p < 0.001$).

RECOMMENDATIONS

1. It is recommended to periodically perform comprehensive prostate evaluations for all intact males older than five years, including rectal examination, ultrasonographic assessment of the prostate, CPSE concentration analysis, and semen quality evaluation.
2. Computed tomography (CT) should be introduced as an additional diagnostic tool for prostate disorders, particularly for the evaluation of subclinical BPH cases, where CT is performed not as the primary prostate assessment method, but rather includes the prostate as a secondary organ of interest.
3. To improve the diagnostic accuracy and sensitivity of subclinical BPH, a multi-criteria evaluation approach is recommended, integrating several complementary diagnostic methods and parameters.
4. Based on the specific threshold values established during the study and the combined application of diagnostic methods (CT, ultrasound, CPSE concentration, semen analysis), it is recommended to develop a standardized protocol for the clinical diagnosis of subclinical BPH.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Socha P, Zduńczyk S, Tobolski D, Janowski T. The effects of osaterone acetate on clinical signs and prostate volume in dogs with benign prostatic hyperplasia. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2018;21(4):797-802.
2. Lowseth LA, Gerlach RF, Gillett NA, Muggenburg BA. Age-related Changes in the Prostate and Testes of the Beagle Dog. *Vet Pathol*. 1990;27(5):347-53.
3. Ryman-Tubb T, Lothion-Roy JH, Metzler VM, Harris AE, Robinson BD, Rizvanov AA, ir kt. Comparative pathology of dog and human prostate cancer. *Vet Med Sci*. 2022;8:110-20.
4. Angrimani DSR, Francischini MCP, Brito MM, Vannucchi CI. Prostatic hyperplasia: Vascularization, hemodynamic and hormonal analysis of dogs treated with finasteride or orchiectomy. *PLoS ONE*. 2020;15(6).
5. Cazzuli G, Suárez G, Busconi S, Damián JP, Pessina P. Clinical signs associated with prostatic disorders in canines: Retrospective study in Uruguay (2011-2019). *Open Vet J*. 2023;13(10):1308-17.
6. Verze P, Cai T, Lorenzetti S. The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nat Rev Urol*. 2016;13(7):379-86.
7. Ferré-Dolcet L, Frigotto L, Contiero B, Bedin S, Romagnoli S. Prostatic fluid composition and semen quality in dogs with benign prostatic hyperplasia undergoing treatment with osaterone acetate. *Reprod Domestic Animals*. 2022;57(1):72-9.
8. Schäfer-Somi S. Diseases of the Canine Prostate Gland 2022. www.intechopen.com
9. Åhlberg TM, Salonen HM, Laitinen-Vapaavuori OM, Mölsä SH. CT imaging of dogs with perineal hernia reveals large prostates with morphological and spatial abnormalities. *Vet Radiology Ultrasound*. 2022;63(5):530-8.
10. Johnston SD, Kamolpatana K, Root-Kustritz MV, Johnston GR. Prostatic disorders in the dog. *Animal Reproduction Science*. 2000;60-61:405-15.
11. Mukaratirwa S, Chitura T. Canine subclinical prostatic disease: histological prevalence and validity of digital rectal examination as a screening test. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2007;78(2):66-8.
12. Mantziaras G, Alonge S, Faustini M, Luvoni GC. Assessment of the age for a preventive ultrasonographic examination of the prostate in the dog. *Theriogenology*. 2017;100:114-9.
13. Moresco BN, Gonçalves GF. Digital radiography and ultrasonography in evaluation of the canine prostate. *SCA*. 2019;40(2):677.
14. Sangwan V, Singh R, Devi NU, Mohindroo J, Pathak D. Ultrasonographic and Radiographic Assessment of Prostate Gland in Perineal Hernia Dogs. *LR 2020;(OF)*. Available from: URL: <http://arccjournals.com/journal/indian-journal-of-animal-research/B-3999>
15. Leroy C, Conchou F, Layssol-Lamour C, Deviers A, Sautet J, Concordet D, ir kt. Normal canine prostate gland: Repeatability, reproducibility, observer-dependent variability of ultrasonographic measurements of the prostate in healthy intact beagles. *Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia*. 2013;42(5):355-61.
16. Cooney JC, Cartee RE, Gray BW, Rumph PF. Ultrasonography of the canine prostate with histologic correlation. *Theriogenology*. 1992;38(5):877-95.
17. Haverkamp K, Harder LK, Kuhnt NSM, Lüpke M, Nolte I, Wefstaedt P. Validation of canine prostate volumetric measurements in computed tomography determined

- by the slice addition technique using the Amira program. *BMC Veterinary Research*. 2019;15(1).
18. Haverkamp K, Harder LK, Kuhnt NSM, Lüpke M, Nolte I, Wefstaedt P. Evaluation of canine prostate volume in calculated tomographic images-comparison of two assessment methods. *BMC Veterinary Research*. 2019;15(1).
 19. Genov M, Ivanova M. Computer-assisted sperm analysis and comparative diagnostic imaging of benign prostatic hyperplasia in dogs by ultrasound, x-ray and computed tomography. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 2021;24(2):219-28.
 20. Jin W, Lee SK, Bae S, Oh T, Lee K. Computed tomography and magnetic resonance imaging features of suspected transitional cell carcinoma lesions involving the bladder, prostate, and urethra in a dog: a case report. *Korean J Vet Res*. 2023;63(4):e39.
 21. Greco A, Meomartino L, Gnudi G, Brunetti A, Di Giancamillo M. Imaging techniques in veterinary medicine. Part II: Computed tomography, magnetic resonance imaging, nuclear medicine. *European Journal of Radiology Open*. 2023;10.
 22. Kustritz MVR. Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract. *Theriogenology*. 2006;66(3 SPEC. ISS.):567-74.
 23. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-Specific Antigen as a Serum Marker for Adenocarcinoma of the Prostate. *N Engl J Med*. 1987;317(15):909-16.
 24. Pinheiro D, Machado J, Viegas C, Baptista C, Bastos E, Magalhães J, ir kt. Evaluation of biomarker canine-prostate specific arginine esterase (CPSE) for the diagnosis of benign prostatic hyperplasia. *BMC Vet Res*. 2017;13(1):76.
 25. Holst BS, Holmroos E, Friling L, Hanås S, Langborg LM, Franko MA, ir kt. The association between the serum concentration of canine prostate specific esterase (CPSE) and the size of the canine prostate. *Theriogenology*. 2017;93:33-9.
 26. Alonge S, Melandri M, Leoci R, Lacalandra G, Aiudi G. Canine prostate specific esterase (CPSE) as an useful biomarker in preventive screening programme of canine prostate: CPSE threshold value assessment and its correlation with ultrasonographic prostatic abnormalities in asymptomatic dogs. *Reprod Dom Anim*. 2018;53(2):359-64.
 27. Christensen BW. Canine Prostate Disease. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*. 2018;48(4):701-19.
 28. Mantziaras G. Imaging of the male reproductive tract: Not so easy as it looks like. *Theriogenology*. 2020;150:490-7.
 29. Caspanello T, Masucci M, Iannelli D, Iannelli NM, De Majo M. Prevalence and Features of Incidental Findings in Veterinary Computed Tomography: A Single-Center Six-Years' Experience. *Animals*. 2023;13(4):591.
 30. Meyers-Wallen VN, Manganaro TF, Kuroda T, Concannon PW, MacLaughlin DT, Donahoe PK. The Critical Period for Mullerian Duct Regression in the Dog Embryo1. *Biology of Reproduction*. 1991;45(4):626-33.
 31. Pretzer SD. Canine embryonic and fetal development: A review. *Theriogenology*. 2008;70(3):300-3.
 32. Croshaw JE, Brodey RS. Failure of preputial closure in a dog. *J Am Vet Med Assoc*. 1960;136:450-2.
 33. Lyle SK. Disorders of sexual development in the dog and cat. *Theriogenology*. 2007;68(3):338-43.
 34. Brechka H, McAuley EM, Lamperis SM, Paner GP, Vander Griend DJ. Contribution of Caudal Müllerian Duct Mesenchyme to Prostate Development. *Stem Cells Dev*. 2016;25(22):1733-41.

35. Marker PC, Donjacour AA, Dahiya R, Cunha GR. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Developmental Biology*. 2003;253(2):165-74.
36. Manuel Mv SP, Francisca SB. Anatomy of the Prostate Gland and Seminal Colículos of the Canine (*Canis lupus familiaris*). *APBIJ* 2019;5(4). Available from: URL: <https://juniperpublishers.com/apbij/APBIJ.MS.ID.555670.php>
37. Tanj N, Aoki K, Yokoyama M. Growth factors: Roles in andrology. *Archives of Andrology*. 2001;47(1):1-7.
38. Aaron L, Franco OE, Hayward SW. Review of Prostate Anatomy and Embryology and the Etiology of Benign Prostatic Hyperplasia. *Urol Clin North Am*. 2016;43(3):279-88.
39. Toivanen R, Shen MM. Prostate organogenesis: tissue induction, hormonal regulation and cell type specification. *Development*. 2017;144(8):1382-98.
40. Nizanski W. Fertility disorders in male dogs. *RBRA*. 2022;46(4):369-72.
41. Spruijt A, Kooistra H, Oei C, Vinke C, Schaefers-Okkens A, De Gier J. The function of the pituitary-testicular axis in dogs prior to and following surgical or chemical castration with the GnRH-agonist deslorelin. *Reprod Domestic Animals*. 2023;58(1):97-108.
42. Takahashi A, Kanda S, Abe T, Oka Y. Evolution of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis Regulation in Vertebrates Revealed by Knockout Medaka. *Endocrinology*. 2016;157(10):3994-4002.
43. De Gier J, Buijtsels JJCWM, Albers-Wolthers CHJ, Oei CHY, Kooistra HS, Okkens AC. Effects of gonadotropin-releasing hormone administration on the pituitary-gonadal axis in male and female dogs before and after gonadectomy. *Theriogenology*. 2012;77(5):967-78.
44. Kaprara A, Huhtaniemi IT. The hypothalamus-pituitary-gonad axis: Tales of mice and men. *Metabolism*. 2018;86:3-17.
45. Knol BW. Stress and the endocrine hypothalamus-pituitary-testis system: A review. *Veterinary Quarterly*. 1991;13(2):104-14.
46. Fernando Leis-Filho A, Fonseca-Alves CE. Anatomy, Histology, and Physiology of the Canine Prostate Gland 200po Kr. www.intechopen.com
47. Sun F, Báez-Díaz C, Sánchez-Margallo FM. Canine prostate models in preclinical studies of minimally invasive interventions: Part I, canine prostate anatomy and prostate cancer models. *Translational Andrology and Urology*. 2017;6(3):538-46.
48. O'Shea JD. Studies on the canine prostate gland. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*. 1962;72:321-31.
49. Yuan DY, Holmes KR, Valvano JW. Morphometry of the Canine Prostate Vasculature. *Microvascular Research*. 2000;59(1):115-21.
50. Leventis AK, Shariat SF, Utsunomiya T, Slawin KM. Characteristics of Normal ProstateVascular Anatomy as Displayed by Power Doppler T. 46, *The Prostate*. 2001 p. 281-8. www.urol.bcm.tmc.edu
51. Stefanov M. Extraglandular and intraglandular vascularization of canine prostate. *Microscopy Res & Technique*. 2004;63(4):188-97.
52. Suzuki T, Kurokawa K, Yamanaka H, Jimbo H. Lymphatic Drainage of the Prostate Gland in Canines. T. 21, *The Prostate*. 1992 p. 279-86.
53. Ventura S, Pennefather JN, Mitchelson F. Cholinergic innervation and function in the prostate gland. *Pharmacology & Therapeutics*. 2002;94(1-2):93-112.
54. Pennefather JN, Lau WAK, Mitchelson F, Ventura S. The autonomic and sensory innervation of the smooth muscle of the prostate gland: a review of pharmacological and histological studies. *Journal of Autonomic Pharmacology*. 2000;20(4):193-206.
55. Kawakami E, Tsutsui T, Ogasa A. Histological observations of the reproductive organs of the male dog from birth to sexual maturity. *J Vet Med Sci*. 1991;53(2):241-8.

56. Aumüller G, Stofft E, Tunn U. Fine structure of the canine prostatic complex. *Anat Embryol.* 1980;160(3):327-40.
57. Lee CH, Akin-Olugbade O, Kirschenbaum A. Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America.* 2011;40(3):565-75.
58. Chevalier S, Bleau G, Roberts KD, Chapdelaine A. Characterization of canine prostatic cells from normal and hyperplastic glands. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 1980;20(1):59-70.
59. Palmieri C, Fonseca-Alves CE, Laufer-Amorim R. A Review on Canine and Feline Prostate Pathology. *Front Vet Sci.* 2022;9:881232.
60. Maser MD, Jagodzinski RV, Soaves WA, Gonder MJ. Cytological changes in the secretory epithelium of the canine prostate after freezing and thawing. *Cryobiology.* 1969;6(2):105-15.
61. Smith J. Canine prostatic disease: A review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. *Theriogenology.* 2008;70(3):375-83.
62. Umbach A, Failing K, Goericke-Pesch S, Wehrend A. Concentrations of minerals in the canine prostatic fluid. *Reprod Domestic Animals.* 2019;54(8):1064-8.
63. Holst BS, Carlin S, Fouriez-Lablée V, Hanås S, Ödling S, Langborg LM, ir kt. Concentrations of canine prostate specific esterase, CPSE, at baseline are associated with the relative size of the prostate at three-year follow-up. *BMC Veterinary Research.* 2021;17(1).
64. Trachtenberg J, Hicks LL, Walsh PC. Androgen- and Estrogen-Receptor Content in Spontaneous and Experimentally Induced Canine Prostatic Hyperplasia. *J Clin Invest.* 1980;65(5):1051-9.
65. Wilson JD. The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *The American Journal of Medicine.* 1980;68(5):745-56.
66. Suriyasathaporn-Mahapokai W. Hormonally-induced benign prostatic hyperplasia in the dog: = Hormonaal geïnduceerde goedaardige prostaathyperplasie bij de hond. 2000. 104 p.
67. Althouse GC, Purswell BJ, Root-Kustritz MV, Pretzer S, Lopate C. Guidelines for using the canine breeding soundness evaluation form Unpublished; 2015. Available from: URL: <http://rgdoi.net/10.13140/RG.2.1.2180.1122>
68. Kolster KA. Evaluation of Canine Sperm and Management of Semen Disorders. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 2018;48(4):533-45.
69. Zapata I, Lilly ML, Herron ME, Serpell JA, Alvarez CE. Genetic testing of dogs predicts problem behaviors in clinical and nonclinical samples. *BMC Genomics.* 2022;23(1):102.
70. Arlt SP, Reichler IM, Herbel J, Schäfer-Somi S, Riege L, Leber J, ir kt. Diagnostic tests in canine andrology - What do they really tell us about fertility? *Theriogenology.* 2023;196:150-6.
71. McMillan FD. Behavioral and psychological outcomes for dogs sold as puppies through pet stores and/or born in commercial breeding establishments: Current knowledge and putative causes. *Journal of Veterinary Behavior.* 2017;19:14-26.
72. Bannasch D, Famula T, Donner J, Anderson H, Honkanen L, Batcher K, ir kt. The effect of inbreeding, body size and morphology on health in dog breeds. *Canine Med Genet.* 2021;8(1):12.
73. Mabunda RS, Makgahlela ML, Nephawe KA, Mtileni B. Evaluation of Genetic Diversity in Dog Breeds Using Pedigree and Molecular Analysis: A Review. *Diversity.* 2022;14(12):1054.

74. Hallberg I, Olsson H, Lau A, Wallander S, Snell A, Bergman D, ir kt. Endocrine and dog factors associated with semen quality. *Sci Rep*. 2024;14(1):718.
75. Ruetten H, Wehber M, Murphy M, Cole C, Sandhu S, Oakes S, ir kt. A retrospective review of canine benign prostatic hyperplasia with and without prostatitis. *Clin Theriogenology*. 2021;13(4):360-6.
76. Angrimani DSR, Brito MM, Rui BR, Nichi M, Vannucchi CI. Reproductive and endocrinological effects of Benign Prostatic Hyperplasia and finasteride therapy in dogs. *Scientific Reports*. 2020;10(1).
77. Cunto M, Ballotta G, Zambelli D. Benign prostatic hyperplasia in the dog. *Animal Reproduction Science*. 2022;247:107096.
78. Flores RB, Angrimani DSR, Rui BR, Brito MM, Abreu RA, Vannucchi CI. The influence of benign prostatic hyperplasia on sperm morphological features and sperm DNA integrity in dogs. *Reproduction in Domestic Animals*. 2017;52:310-5.
79. Lévy X, Nizański W, von Heimendahl A, Mimouni P. Diagnosis of common prostatic conditions in dogs: An update. *Reproduction in Domestic Animals*. 2014;49(SUPPL.2):50-7.
80. Das MR, Patra RC, Das RK, Rath PK, Mishra BP. Hemato-biochemical alterations and urinalysis in dogs suffering from benign prostatic hyperplasia. *Vet World*. 2017;10(3):331-5.
81. Kim H. Finasteride therapy in a dog with benign prostatic hyperplasia. *J Anim Reprod Biotechnol*. 2022;37(3):209-12.
82. Werhahn Beining F, Urhausen C, Wolf K, Schmicke M, Rohn K, Schuler G, ir kt. Rhodesian Ridgebacks have an increased risk to develop benign prostatic hyperplasia. *Reprod Domestic Animals*. 2020;55(3):283-92.
83. Zhao X feng, Yang Y, Wang W, Qiu Z, Zhang P, Wang B. Effects of competitive and noncompetitive 5 α -reductase inhibitors on serum and intra-prostatic androgens in beagle dogs. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(4):711-5.
84. Ewing LL, Berry SJ, Higginbottom EG. Dihydrotestosterone Concentration of Beagle Prostatic Tissue: Effect of Age and Hyperplasia. *Endocrinology*. 1983;113(6):2004-9.
85. Dearakhshandeh N, Mogheiseh A, Nazifi S, Ahrari Khafi MS, Abbaszadeh Hasiri M, Golchin-Rad K. Treatment of experimentally induced benign prostatic hyperplasia with Tadalafil and castration in dogs. *Theriogenology*. 2020;142:236-45.
86. de Godoy Fernandes G, Pedrina B, de Faria Lainetti P, Kobayashi PE, Govoni VM, Palmieri C, ir kt. Morphological and Molecular Characterization of Proliferative Inflammatory Atrophy in Canine Prostatic Samples. *Cancers (Basel)*. 2021;13(8):1887.
87. Tesi M, Sabatini C, Vannozi I, Di Petta G, Panzani D, Camillo F, ir kt. Variables affecting semen quality and its relation to fertility in the dog: A retrospective study. *Theriogenology*. 2018;118:34-9.
88. Krakowski L, Wachocka A, Brodzki P, Wrona Z, Piech T, Wawron W, ir kt. Sperm quality and selected biochemical parameters of seminal fluid in dogs with benign prostatic hyperplasia. *Animal Reproduction Science*. 2015;160:120-5.
89. Aitken R, Krausz C. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction*. 2001;122(4):497-506.
90. Aitken RJ, Baker MA, Sawyer D. Oxidative stress in the male germ line and its role in the aetiology of male infertility and genetic disease. *Reproductive BioMedicine Online*. 2003;7(1):65-70.
91. Fafula RV, Iefremova UP, Onufrovych OK, Maksymyuk HV, Besedina AS, Nakonechnyi IA, ir kt. Alterations in Arginase-No-Synthase System of Spermatozoa

- in Human Subjects with Different Fertility Potential. *Journal of Medical Biochemistry*. 2018;37(2):134-40.
92. Domoslawska-Wyderska A, Orzolek A, Zduńczyk S, Rafalska A. Nitric oxide production by spermatozoa and sperm characteristics in dogs with benign prostatic hyperplasia. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2023;621-8.
 93. Aitken RJ, Jones KT, Robertson SA. Reactive Oxygen Species and Sperm Function—In Sickness and In Health. *Journal of Andrology*. 2012;33(6):1096-106.
 94. Flores RB, Angrimani DDSR, Brito MM, Almeida LLD, Lopes JVM, Losano JDDA, ir kt. Frozen-Thawed Sperm Analysis of Benign Prostatic Hyperplasia Dogs Treated With Finasteride. *Front Vet Sci*. 2022;9:901943.
 95. Daragó A, Sapota A, Nasiadek M, Klimczak M, Kilanowicz A. The Effect of Zinc and Selenium Supplementation Mode on Their Bioavailability in the Rat Prostate. Should Administration Be Joint or Separate? *Nutrients*. 2016;8(10):601.
 96. Liu DY, Sie BS, Liu ML, Agresta F, Baker HG. Relationship between seminal plasma zinc concentration and spermatozoa-zona pellucida binding and the ZP-induced acrosome reaction in subfertile men. *Asian J Androl*. 2009;11(4):499-507.
 97. Lotti F, Corona G, Castellini G, Maseroli E, Fino MG, Cozzolino M, ir kt. Semen quality impairment is associated with sexual dysfunction according to its severity. *Hum Reprod*. 2016;31(12):2668-80.
 98. Wdowiak A, Raczkiewicz D, Stasiak M, Bojar I. Levels of FSH, LH and testosterone, and sperm DNA fragmentation. *Neuro Endocrinol Lett*. 2014;35(1):73-9.
 99. Jackson RE, Bormann CL, Hassun PA, Rocha AM, Motta ELA, Serafini PC, ir kt. Effects of semen storage and separation techniques on sperm DNA fragmentation. *Fertility and Sterility*. 2010;94(7):2626-30.
 100. Tvrdá E, Peer R, Sikka SC, Agarwal A. Iron and copper in male reproduction: a double-edged sword. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(1):3-16.
 101. Agarwal A, Virk G, Ong C, Du Plessis SS. Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. *World J Mens Health*. 2014;32(1):1.
 102. Ren J, Jin H, Zhang C, Liu S, Han Y, Xi J, ir kt. Mixed exposure effect of seminal metals on semen quality, mediation of total antioxidant capacity, and moderation of GSTM1/GSTT1 gene deletion in Chinese reproductive-aged men. *Environmental Research*. 2023;229:115888.
 103. Paoli D, Gallo M, Rizzo F, Baldi E, Francavilla S, Lenzi A, ir kt. Mitochondrial membrane potential profile and its correlation with increasing sperm motility. *Fertility and Sterility*. 2011;95(7):2315-9.
 104. Nizański W, Levy X, Ochota M, Pasikowska J. Pharmacological treatment for common prostatic conditions in dogs - benign prostatic hyperplasia and prostatitis: An update. *Reproduction in Domestic Animals*. 2014;49(SUPPL.2):8-15.
 105. Ferré-Dolcet L, Sussan B. Acute colonic impaction and faecaloma due to canine benign prostatic hyperplasia - Case report. *AVet*. 2021;69(1):9-13.
 106. Kutzler M. Reproductive microbiome alterations: canine prostatitis. *CT*. 2019;11(4):649-58.
 107. Barsanti JA, Finco DR. Canine Bacterial Prostatitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1979;9(4):679-700.
 108. Khadidja Madani AB. Chronic Prostatitis (CP) in Atlas Shepherd Dog: A Case-Control Study. *Clin Microbiol* 2015;04(02). Available from: URL: <http://www.esciencecentral.org/journals/chronic-prostatitis-cp-in-atlas-shepherd-dog-a-casecontrol-study-2327-5073-1000197.php?aid=50939>

109. Krawiec DR, Heflin D. Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986). *J Am Vet Med Assoc.* 1992;200(8):1119-22.
110. Olin SJ, Bartges JW. Urinary Tract Infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 2015;45(4):721-46.
111. Shafiee R, Shariat A, Khalili S, Malayeri HZ, Mokarizadeh A, Anissian A, ir kt. Retraction Note to: Diagnostic investigations of canine prostatitis incidence together with benign prostate hyperplasia, prostate malignancies, and biochemical recurrence in high-risk prostate cancer as a model for human study. *Tumor Biol.* 2016;37(12):16419-16419.
112. Polisca A, Troisi A, Fontaine E, Menchetti L, Fontbonne A. A retrospective study of canine prostatic diseases from 2002 to 2009 at the Alfort Veterinary College in France. *Theriogenology.* 2016;85(5):835-40.
113. Branam JE, Keen CL, Ling GV, Franti CE. Selected physical and chemical characteristics of prostatic fluid collected by ejaculation from healthy dogs and from dogs with bacterial prostatitis. *Am J Vet Res.* 1984;45(4):825-9.
114. Paclikova K, Kohout P, Vlasin M. Diagnostic possibilities in the management of canine prostatic disorders. *Vet Med.* 2006;51(1):1-13.
115. Barsanti JA, Finco DR. Canine Prostatic Diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 1986;16(3):587-99.
116. Del Magno S, Pisani G, Dondi F, Cinti F, Morello E, Martano M, ir kt. Surgical treatment and outcome of sterile prostatic cysts in dogs. *Vet Surg.* 2021;50(5):1009-16.
117. Gibson EA, Culp WTN. Canine Prostate Cancer: Current Treatments and the Role of Interventional Oncology. *Veterinary Sciences.* 2024;11(4):169.
118. Ravicini S, Baines SJ, Taylor A, Amores-Fuster I, Mason SL, Treggiari E. Outcome and prognostic factors in medically treated canine prostatic carcinomas: A multi-institutional study. *Vet Comparative Oncology.* 2018;16(4):450-8.
119. Walz JZ, Desai N, Van Asselt N, Poirier VJ, Hansen K, Selmic L. Definitive-intent intensity-modulated radiation therapy for treatment of canine prostatic carcinoma: A multi-institutional retrospective study. *Vet Comparative Oncology.* 2020;18(3):381-8.
120. Higuchi T, Burcham GN, Childress MO, Rohleder JJ, Bonney PL, Ramos-Vara JA, ir kt. Characterization and treatment of transitional cell carcinoma of the abdominal wall in dogs: 24 cases (1985-2010). *javma.* 2013;242(4):499-506.
121. Leroy BE, Nadella MVP, Toribio RE, Leav I, Rosol TJ. Canine Prostate Carcinomas Express Markers of Urothelial and Prostatic Differentiation. *Vet Pathol.* 2004;41(2):131-40.
122. Cornell KK, Bostwick DG, Cooley DM, Hall G, Harvey HJ, Hendrick MJ, ir kt. Clinical and pathologic aspects of spontaneous canine prostate carcinoma: A retrospective analysis of 76 cases. *Prostate.* 2000;45(2):173-83.
123. Yang NS, Johnson EG, Palm CA, Burton JH, Rebhun RB, Kent MS, ir kt. MRI characteristics of canine prostatic neoplasia. *Vet Radiology Ultrasound.* 2023;64(1):105-12.
124. Sorenmo KU, Goldschmidt MH, Shofer FS, Goldkamp C, Ferracone J. Evaluation of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 expression and the effect of cyclooxygenase inhibitors in canine prostatic carcinoma. *Vet Comparative Oncology.* 2004;2(1):13-23.
125. LeRoy BE, Northrup N. Prostate cancer in dogs: Comparative and clinical aspects. *Veterinary Journal.* 2009;180(2):149-62.
126. Memon MA. Common causes of male dog infertility. *Theriogenology.* 2007;68(3):322-8.

127. Spada S, England GCW, Vignoli M, Carluccio A, Russo M. Contrast-enhanced ultrasound imaging of prostate gland in neutered dogs. *Animals*. 2021;11(2):1-13.
128. Pačlíková K, Kohout P, Vlašín M. Catheter Biopsy as a Useful Tool to Establish an Early Diagnosis for Canine Prostatic Disorders. *Acta Vet Brno*. 2007;76(3):475-85.
129. Lea C, Walker D, Blazquez C, Zaghloul O, Tappin S, Kelly D. Prostatitis and prostatic abscessation in dogs: retrospective study of 82 cases. *Aust Veterinary J*. 2022;100(6):223-9.
130. Boland LE, Hardie RJ, Gregory SP, Lamb CR. Ultrasound-Guided Percutaneous Drainage as the Primary Treatment for Prostatic Abscesses and Cysts in Dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2003;39(2):151-9.
131. Kuhnt N, Harder LK, Nolte I, Wefstaedt P. Computed tomographic features of the prostatic gland in neutered and intact dogs. *BMC Veterinary Research*. 2020;16(1).
132. Kim CF, Jou D, Ganor O, Boskey ER, Kozakewich H, Vargas SO. Prostatic metaplasia and pilar differentiation in gender-affirming mastectomy specimens. *Modern Pathology*. 2022;35(3):386-95.
133. O'shea JD. Squamous Metaplasia of the Canine Prostate Gland. *Research in Veterinary Science*. 1963;4(3):431-5.
134. Shiraishi T, Kusano I, Watanabe M, Yatani R, Liu PI. Mucous Gland Metaplasia of the Prostate: The American Journal of Surgical Pathology. 1993;17(6):618-22.
135. McMullen-Tabry ER, Sciallis AP, Skala SL. Surface prostatic metaplasia, transitional cell metaplasia and superficial clusters of small basophilic cells in the uterine cervix: prevalence in gender-affirming hysterectomies and comparison with benign hysterectomies from cisgender women. *Histopathology*. 2022;80(6):946-53.
136. Powe JR, Canfield PJ, Martin PA. Evaluation of the cytologic diagnosis of canine prostatic disorders. *Veterinary Clinical Pathology*. 2004;33(3):150-4.
137. Bradbury CA, Westropp JL, Pollard RE. Relationship between prostatomegaly, prostatic mineralization, and cytologic diagnosis. *Veterinary Radiology and Ultrasound*. 2009;50(2):167-71.
138. Melandri M, Alonge S. Highlights on the Canine Prostatic Specific Esterase (CPSE): A diagnostic and screening tool in veterinary andrology. *Veterinary Medicine & Sci*. 2021;7(1):35-40.
139. Capilé KV, Campos GMB, Stedile R, Oliveira ST. Canine Prostate Palpation Simulator as a Teaching Tool in Veterinary Education. *Journal of Veterinary Medical Education*. 2015;42(2):146-50.
140. Andrews C, Hess RS, Drobatz K, Buriko Y. Abnormalities detected on digital rectal examinations in dogs are common and influence diagnostic and treatment plans. *javma*. 2024;262(6):773-7.
141. Matsukawa A, Yanagisawa T, Bekku K, Kardoust Parizi M, Laukhtina E, Klemm J, ir kt. Comparing the Performance of Digital Rectal Examination and Prostate-specific Antigen as a Screening Test for Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *European Urology Oncology*. 2024;7(4):697-704.
142. Lee KJ, Shimizu J, Kishimoto M, Kadohira M, Iwasaki T, Miyake YI, ir kt. Computed tomography of the prostate gland in apparently healthy entire dogs. *Journal of Small Animal Practice*. 2011;52(3):146-51.
143. Feeney DA, Johnston GR, Klausner JS, Perman V, Leininger JR, Tomlinson MJ. Canine prostatic disease--comparison of radiographic appearance with morphologic and microbiologic findings: 30 cases (1981-1985). *J Am Vet Med Assoc*. 1987;190(8):1018-26.

144. Atalan G, Vet Med D, Barr FJ, Holt PE. Comparison of ultrasonographic and radiographic measurements of canine prostate dimensions. *T. 40, Veterinary Radiology & Ultrasound*. 1999 p. 408-412.
145. Essman SC. Contrast cystography. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. 2005;20(1):46-51.
146. Dattani SMT, Yamada ML, Dhoot NM, Ghazala G, Levene A, Somsundaram R. Metastatic prostate cancer presenting as incidental pelvic lymphadenopathy - a report of three cases with literature review. *Radiol Case Rep*. 2022;17(6):2247-52.
147. Edson Pontes J, Ohe H, Watanabe H, Murphy GP. Transrectal ultrasonography of the prostate. *Cancer*. 1984;53(6):1369-72.
148. Atalan G, Holt PE, Barr FJ, Brown PJ. Ultrasonographic estimation of prostatic size in canine cadavers. *Research in Veterinary Science*. 1999;67(1):7-15.
149. Choi JY, Choi SY, Lee KJ, Jeong WC, Han WS, Choi HJ, et al. Volumetric Estimation of the Prostate Gland using Computed Tomography in Normal Beagle Dogs. *T. 31, J Vet Clin*. 2014 p. 175-9.
150. Kamolpatana K, Johnston GR, Johnston SD. Determination of canine prostatic volume using trans abdominal ultrasonography. *T. 41, Veterinary Radiology & Ultrasound*. 2000 p. 73-7.
151. Culp WTN, Johnson EG, Giuffrida MA, Palm CA, Mayhew PD, Kent MS, et al. Use of transrectal ultrasonography for assessment of the size and location of prostatic carcinoma in dogs. *ajvr*. 2019;80(11):1012-9.
152. Harvey CJ, Pilcher J, Richenberg J, Patel U, Frauscher F. Applications of transrectal ultrasound in prostate cancer. *Br J Radiol*. 2012;85 Spec No 1(Spec Iss 1):S3-17.
153. De Souza MB, Da Silva LDM, Moxon R, Russo M, England GCW. Ultrasonography of the prostate gland and testes in dogs. *In Practice*. 2017;39(1):21-32.
154. Ruel Y, Barthez PY, Mailles A, Begon D. Ultrasonographic evaluation of the prostate in healthy intact dogs. *T. 39, Veterinary Radiology & Ultrasound*. 1998 p. 212-6.
155. Bosma F, Wijsman S, Huygens S, Passon-Vastenburg M. Ultrasonographic measurements of the prostate gland in castrated adult dogs. *Acta Vet Scand*. 2022;64(1):15.
156. Cartee RE, Rowles T. Transabdominal sonographic evaluation of the canine prostate. *Veterinary Radiology*. 1983;24(4):156-64.
157. Niżański W, Ochota M, Fontaine C, Pasikowska J. B-Mode and Doppler Ultrasonographic Findings of Prostate Gland and Testes in Dogs Receiving Deslorelin Acetate or Osaterone Acetate. *Animals*. 2020;10(12):2379.
158. Gunzel-Apel AR, Mohrke C, Nautrup CP. Colour-coded and Pulsed Doppler Sonography of the Canine Testis, Epididymis and Prostate Gland: Physiological and Pathological Findings. *Reprod Domest Anim*. 2001;36(5):236-40.
159. Newell SM, Neuwirth L, Ginn PE, Roberts GD, Prime LS, Harrison JM. Doppler ultrasound of the prostate in normal dogs and in dogs with chronic lymphocytic-lymphoplasmocytic prostatitis. *Veterinary radiology & ultrasound: the official journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*. 1998;39(4):332-6.
160. Zelli R, Orlandi R, Troisi A, Cardinali L, Polisca A. Power and pulsed doppler evaluation of prostatic artery blood flow in normal and benign prostatic hyperplasia-affected dogs. *Reproduction in Domestic Animals*. 2013;48(5):768-73.
161. Bigliardi E, Ferrari L. Contrast-Enhanced Ultrasound Of The Normal Canine Prostate Gland. *Veterinary Radiology and Ultrasound*. 2011;52(1):107-10.

162. Yoon S, Alfajaro MM, Cho KO, Choi US, Je H, Jung J, ir kt. Perfusion change in benign prostatic hyperplasia before and after castration in a canine model: Contrast enhanced ultrasonography and CT perfusion study. *Theriogenology*. 2020;156:97-106.
163. Pettina G, Bucci R, Mazzetti A, Quartuccio M, Robbe D, Pisu MC. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) Evaluation of Canine Prostatic Hyperplasia before and after Osaterone Acetate Therapy: Preliminary Results. *Animals*. 2024;14(11):1683.
164. Rodak O, Dzimira S, Podolak A, Płóciennik M, Niżański W. Accuracy of ultrasonography and fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of prostate diseases in dogs. *Reproduction in Domestic Animals*. 2018;53:79-84.
165. Olson MC, Atwell TD, Mynderse LA, King BF, Welch T, Goenka AH. CT-guided transgluteal biopsy for systematic sampling of the prostate in patients without rectal access: a 13-year single-center experience. *Eur Radiol*. 2017;27(8):3326-32.
166. Golchin-Rad K, Mogheiseh A, Nazifi S, Ahrari Khafi MS, Derakhshandeh N, Abbaszadeh-Hasiri M. Changes in specific serum biomarkers during the induction of prostatic hyperplasia in dogs. *BMC Vet Res*. 2019;15(1):440.
167. Holak P, Adamiak Z, Jałyński M, Chyczewski M. Laparoscopy-guided prostate biopsy in dogs - a study of 13 cases. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2010;13(4). Available from: URL: <http://journals.pan.pl/dlibra/publication/121086/edition/105487/content>
168. Vignoli M, Rossi F, Chierici C, Terragni R, De Lorenzi D, Stanga M, ir kt. Needle tract implantation after fine needle aspiration biopsy (FNAB) of transitional cell carcinoma of the urinary bladder and adenocarcinoma of the lung. *Band*. 2007;149:314-8.
169. Noureldin ME, Connor MJ, Boxall N, Miah S, Shah T, Walz J. Current techniques of prostate biopsy: an update from past to present. *Transl Androl Urol*. 2020;9(3):1510-7.
170. Tidwell AS, Johnson KL. Computed tomography-guided percutaneous biopsy in the dog and cat: description of technique and preliminary evaluation in 14 patients. *Vet Radiol Ultrasound*. 1994;35:170.
171. Pontes JE. Biological Markers in Prostate Cancer. *Journal of Urology*. 1983;130(6):1037-47.
172. Lokant MT, Naz RK. Presence of PSA auto-antibodies in men with prostate abnormalities (prostate cancer/benign prostatic hyperplasia/prostatitis). *Andrologia*. 2015;47(3):328-32.
173. Johnston SD. Performing a Complete Canine Semen Evaluation in a Small Animal Hospital. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1991;21(3):545-51.
174. Aquino-Cortez A, Pinheiro BQ, Silva HVR, Lima DBC, Silva TFP, Souza MB, ir kt. Serum testosterone, sperm quality, cytological, physicochemical and biochemical characteristics of the prostatic fraction of dogs with prostatomegaly. *Reproduction in Domestic Animals*. 2017;52(6):998-1003.
175. Frenette G, Dubé JY, Marcotte JR, Tremblay RR. Arginine esterase from isolated dog prostate secretory granules is fully active enzymatically. *Can J Physiol Pharmacol*. 1985;63(12):1603-7.
176. Mogielnicka-Brzozowska M, Kowalska N, Fraser L, Kordan W. Proteomic Characterization of Zinc-Binding Proteins of Canine Seminal Plasma. *Reprod Domestic Animals*. 2015;50(6):1017-21.
177. Chapdelaine P, Dubé JV, Frenette G, Tremblay RR. Identification of Arginine Esterase as the Major Androgen-dependent Protein Secreted by Dog Prostate and Preliminary Molecular Characterization in Seminal Plasma. *Journal of Andrology*. 1984;5(3):206-10.

178. Mogielnicka-Brzozowska M, Słowińska M, Fraser L, Wysocki P, Strzeżek R, Wasilewska K, ir kt. Identification and characterization of non-phosphorylcholine-binding and phosphorylcholine-binding proteins of canine seminal plasma. *Annals of Animal Science*. 2017;17(3):771-86.
179. Ohlerth S, Scharf G. Computed tomography in small animals - Basic principles and state of the art applications. *The Veterinary Journal*. 2007;173(2):254-71.
180. Keane M, Paul E, Sturrock CJ, Rauch C, Rutland CS. Computed Tomography in Veterinary Medicine: Currently Published and Tomorrow's Vision. Halefoglu AM, sudarytojas. *Computed Tomography - Advanced Applications InTech*; 2017. Available from: URL: <http://www.intechopen.com/books/computed-tomography-advanced-applications/computed-tomography-in-veterinary-medicine-currently-published-and-tomorrow-s-vision>
181. Vegter A, Kooistra H, Van Sluijs F, Van Bruggen L, Ijzer J, Zijlstra C, ir kt. Persistent Mullerian Duct Syndrome in a Miniature Schnauzer Dog with Signs of Feminization and a Sertoli Cell Tumour. *Reprod Domestic Animals*. 2010;45(3):447-52.
182. Kuhnt NSM, Harder LK, Nolte I, Wefstaedt P. Computed tomography: A beneficial diagnostic tool for the evaluation of the canine prostate? *BMC Veterinary Research*. 2017;13(1).
183. Pasikowska J, Hebel M, Nizański W, Nowak M. Computed Tomography of the Prostate Gland in Healthy Intact Dogs and Dogs with Benign Prostatic Hyperplasia. *Reproduction in Domestic Animals*. 2015;50(5):776-83.
184. Salonen HM, Åhlberg TM, Laitinen-Vapaavuori OM, Mölsä SH. CT measurement of prostate volume using OsiriX® viewer is reliable, repeatable, and not dependent on observer, CT protocol, or contrast enhancement in dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound*. 2022;63(6):729-38.
185. Badiozamani K, Wallner K, Cavanagh W, Blasko J. Comparability of CT-based and TRUS-based prostate volumes. *International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics*. 1999;43(2):375-8.
186. Urlings P, Gramer I, Jones C, Dirrig H. Computed tomographic features of canine prostatic carcinoma. *Vet Radiology Ultrasound*. 2024;65(4):447-55.
187. Reimegård E, Lee HTN, Westgren F. Prevalence of lung atelectasis in sedated dogs examined with computed tomography. *Acta Vet Scand*. 2022;64(1):25.
188. Dennis R. Use of magnetic resonance imaging for the investigation of orbital disease in small animals. *J of Small Animal Practice*. 2000;41(4):145-55.
189. Hayashi N, Watanabe Y, Masumoto T, Mori H, Aoki S, Ohtomo K, ir kt. Utilization of Low-Field MR Scanners. *MRMS*. 2004;3(1):27-38.
190. Konar M, Lang J. Pros and cons of low-field magnetic resonance imaging in veterinary practice. *Vet Radiology Ultrasound* 2011;52(s1). Available from: URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1740-8261.2010.01780.x>
191. Padhani AR, Gapinski CJ, Macvicar DA, Parker GJ, Suckling J, Revell PB, ir kt. Dynamic Contrast Enhanced MRI of Prostate Cancer: Correlation with Morphology and Tumour Stage, Histological Grade and PSA. *Clinical Radiology*. 2000;55(2):99-109.
192. Tanaka T, Ashida K, Iimori Y, Yamazaki H, Mie K, Nishida H, ir kt. Less enhancement and low apparent diffusion coefficient value on magnetic resonance imaging may be helpful to detect canine prostate adenocarcinoma in case series. *Vet Comparative Oncology*. 2020;18(4):861-5.

193. Cho CH, Kim J, Eom K. The Clinical Application of Dynamic Contrast-Enhanced MRI in Canine Masses of Mesenchymal and Epithelial Origin: A Preliminary Case Series. *Vet Sci.* 2024;11(11):539.
194. Aubry S, Padoin P, Petegnief Y, Vidal C, Riethmuller D, Delabrousse E. Can three-dimensional pelvimetry using low-dose stereoradiography replace low-dose CT pelvimetry? *Diagnostic and Interventional Imaging.* 2018;99(9):569-76.
195. Russo M, Vignoli M, England GCW. B-mode and contrast-enhanced ultrasonographic findings in canine prostatic disorders. *Reproduction in Domestic Animals.* 2012;47(suppl. 6):238-42.
196. Brendler CB, Berry SJ, Ewing LL, McCullough AR, Cochran RC, Strandberg JD, ir kt. Spontaneous benign prostatic hyperplasia in the beagle. Age-associated changes in serum hormone levels, and the morphology and secretory function of the canine prostate. *J Clin Invest.* 1983;71(5):1114-23.
197. Lechner D, Aurich J, Schäfer-Somi S, Aurich C. Effects of age, size and season on cryotolerance of dog semen - A retrospective analysis. *Animal Reproduction Science.* 2022; 236:106912.
198. Moxon R, Bright L, Pritchard B, Bowen IM, Souza MBD, Silva LDMD, ir kt. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogenicity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality. *Animal Reproduction Science.* 2015;160:112-9.
199. Schulze S, Justus Liebig University Giessen. Computertomographische Darstellung der Prostata bei Rüden unterschiedlichen Alters Universitätsbibliothek Gießen; 2013. Available from: URL: <https://jilupub.ub.uni-giessen.de/handle/jilupub/12480>
200. Michalak SR, Woerde DJ, Wilson SS, Alonso FH, Hardy BT. Mandibular metastasis of a prostatic carcinoma in a dog. *Vet Med Sci.* 2021;7(5):1488-92.
201. Vali Y, Soroori S, Molazem M, Masoudifard M, Vajhi A, Keshavarz S, ir kt. Comparison of computed tomographic and cytological results in evaluation of normal prostate, prostatitis and benign prostatic hyperplasia in dogs. *Veterinary Research Forum.* 2019;10(1):17-22.
202. Nishikawa S, Miki M, Chigusa Y, Furuta M, Kido A, Kawamura Y, ir kt. Obstetric pelvimetry by three-dimensional computed tomography in non-pregnant Japanese women: a retrospective single-center study. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine.* 2023;36(1).
203. Eneroth A, Linde-Forsberg C, Uhlhorn M, Hall M. Radiographic pelvime try for assessment of dystocia in bitches: a clinical studv in &o terrier breeds. *Journal of Small Anmal Practice.* 1999.
204. Dobak TP, Voorhout G, Vernooij JCM, Boroffka SAEB. Computed tomographic pelvimetry in English bulldogs. *Theriogenology.* 2018;118:144-9.
205. Raman S, Samuel D, Suresh K. A Comparative Study of X-Ray Pelvimetry and CT Pelvimetry. *Aust NZ J Obst Gynaeco.* 1991;31(3):217-20.
206. Badr I, Thomas SM, Cotterill AD, Pettett A, Oduko JM, Fitzgerald M ir kt. X-ray pelvimetry — Which is the best technique? *Clinical Radiology.* 1997;52(2):136-41.
207. Lee CM, Liu RW. Comparison of pelvic incidence measurement using lateral x-ray, standard ct versus ct with 3d reconstruction. *Eur Spine J.* 2022;31(2):241-7.
208. Ocal MK, Dabanoglu I, Kara ME, Turan E. Computed tomographic pelvimetry in German shepherd dogs. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2003;110(1):17-20.
209. Crawford JT, Manley PA, Adams WM. Comparison of computed tomography, tangential view radiography, and conventional radiography in evaluation of canine pelvic trauma. *Vet Radiology Ultrasound.* 2003;44(6):619-28.

210. Ito T, Hanazono K, Miyoshi K, Endoh D. Evaluation of renal function in dogs using pulsed Doppler ultrasonography. *Open Vet J.* 2024;14(12):3449-59.
211. Alonge S, Melandri M, Fanciullo L, Lacalandra GM, Aiudi G. Prostate vascular flow: The effect of the ejaculation on the power doppler ultrasonographic examination. *Reproduction in Domestic Animals.* 2018;53(1):110-5.
212. Novellas R, Espada Y, De Gopegui RR. Doppler ultrasonographic estimation of renal and ocular resistive and pulsatility indices in normal dogs and cats. *Vet Radiology Ultrasound.* 2007;48(1):69-73.
213. Bell FW, Klausner JS, Hayden DW, Lund EM, Liebenstein BB, Feeney DA, ir kt. Evaluation of Serum and Seminal Plasma Markers in the Diagnosis of Canine Prostatic Disorders. *Journal of Veterinary Internal Medicine.* 1995;9(3):149-53.
214. Alonge S, Melandri M, Aiudi G, Lacalandra GM. Advances in Prostatic Diagnostics in Dogs: The Role of Canine Prostatic Specific Esterase in the Early Diagnosis of Prostatic Disorders. *Topics in Companion Animal Medicine.* 2018;33(4):105-8.
215. Navvabi N, Khadem Ansari MH, Navvabi A, Chalipa HR, Zitricky F. Comparative assessment of immunochromatography and ELISA diagnostic tests for HBsAg detection in PCR-confirmed HBV infection. *Revista de Gastroenterología de México (English Edition).* 2022;87(2):176-80.
216. Wolf K, Kayacelebi H, Urhausen C, Piechotta M, Mischke R, Kramer S, ir kt. Testicular Steroids, Prolactin, Relaxin and Prostate Gland Markers in Peripheral Blood and Seminal Plasma of Normal Dogs and Dogs with Prostatic Hyperplasia. *Reprod Domestic Animals.* 2012;47(s6):243-6.

PASKELBTOS PUBLIKACIJOS

Publikacijų, kuriose skelbti disertacinio tyrimo rezultatai, sąrašas:

1. **Laurusevičius, T., Šiugždaitė, J., Juodžiukynienė, N., Kerzienė, S., Anskienė, L., Jackutė, V., Trumbeckas, D., Van Soom, A., Posastuc, F. P., & Žilinskas, H. (2024).** Comparative Evaluation of Diagnostic Methods for Subclinical Benign Prostatic Hyperplasia in Intact Breeding Male Dogs. *Animals*, 14(8), 1-18. <https://doi.org/10.3390/ani14081204> [S1] [M.kr.: A002] [Citav. rodiklis: 2.7, bendr. cit. rod.: 2.145, kvartilis: Q1 (2023. InCites JCR SCIE)]
2. **Laurusevičius, T., Kerzienė, S., Juodžiukynienė, N., Šiugždaitė, J., Jackutė, V., Latvis, V., Šengaut, J., Trumbeckas, D., & Žilinskas, H. (2023).** Evaluation of Healthy and Subclinical Benign Prostatic Hyperplasia Affected Intact Male Dogs Using Ultrasonography and Specific Features of Computed Tomography. *Pakistan Veterinary Journal*, 43(4), 764-770. <https://doi.org/10.29261/pakvetj/2023.079> [S1] [M.kr.: A002] [Citav. rodiklis: 3.8, bendr. cit. rod.: 1.987, kvartilis: Q1 (2023. InCites JCR SCIE)]

Konferencijų, kuriose buvo skelbti disertacijų rezultatai, sąrašas:

1. **Laurusevičius, T., Jackutė, V., Kerzienė, S., & Žilinskas, H. (2023).** Attenuation values of prostate gland in healthy and benign prostatic hyperplasia affected intact male dogs. *Reproduction in Domestic Animals : 1st European Symposium on Animal Reproduction. 21st-23rd September 2023, Nantes, France. Abstracts*, 58(S2), 231-231. <https://doi.org/10.1111/rda.14442> [T1] [M.kr.: A002] [Citav. rodiklis: 1.6, bendr. cit. rod.: 2.504, kvartilis: Q2 (2023. InCites JCR SCIE)]
2. **Laurusevičius, T., Laurusevičius, S. A., Jackutė, V., & Kerzienė, S. (2023).** Comparative analysis of prostate volume estimation in subclinical benign prostatic hyperplasia affected male dogs using the ellipsoid body and ovoidal method visualization formulas. *XVII Międzynarodowy Kongres "Problemy W Rozrodzie Psów, Prac Zwierząt Domowych, Zwierząt Noworodek."* Wrocław, 21-22 Października 2023 R. Komitet Redakcyjny - Wojciech Niżański, Agnieszka Partyka ; Katedra Rozrodu Klinika Zwierząt Gospodarskich Uniwersytetu Przyrodniczego We Wrocławiu. *Polskie Stowarzyszenie Lekarzy Weterynaryjnych Małych Zwierząt. Komitet Nauk Weterynaryjnych I Biologii Rozrodu PAN. Polskie Towarzystwo Weterynaryjnych. Dolnośląska Izba Lekarsko-Weterynaryjna.*, 148-148. <https://hdl.handle.net/20.500.12512/239152> [T2] [M.kr.: A002]

3. **Laurusevičius, T.,** Laurusevičius, S. A., Jackutė, V., Kerzienė, S., & Žilinskas, H. (2023). Canine prostatic specific esterase (CPSE) values in healthy and subclinical benign prostatic hyperplasia affected male dogs. XVII Międzynarodowy Kongres “Problemy W Rozrodzie Małych Zwierząt - Ptaki, Zwierzęta Domowe.” Wrocław, 21-22 Października 2023 R. Komitet Redakcyjny - Wojciech Nizański, Agnieszka Partyka ; Katedra Rozrodu Klinika Zwierząt Gospodarskich Uniwersytetu Przyrodniczego We Wrocławiu. Polskie Stowarzystwo Weterynaryjnych Zwierząt. Komitet Nauk Weterynaryjnych I Biologii Rozrodu PAN. Polskie Towarzystwo Naucz Weterynaryjnych. Dolnośląska Izba Lekarsko-Weterynaryjna., 149-149. <https://hdl.handle.net/20.500.12512/239153> [T2] [M.kr.: A002]
4. **Laurusevičius, T.,** Burbaite, E., & Žilinskas, H. (2022). Investigation of Attenuation Values in Healthy and Benign Prostatic Hyperplasia Diagnosed Intact Male Dogs. International Conference “Microbiota and Animal: Interaction, Health, Welfare and Production”, the Conference Dedicated to the 30th Anniversary of the Research Center of Digestive Physiology and Pathology of the Department of Anatomy and Physiology of LSMU Veterinary Academy. Programme and Abstracts : Kaunas, 29 September, 2022 Lithuanian Academy of Sciences; Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy. Vilnius : Lithuanian Academy of Sciences, 2022. ISBN 9789986098093. 47-48. <https://hdl.handle.net/20.500.12512/15738> [T1d] [M.kr.: A002, A003]
5. **Laurusevičius, T.,** Laurusevičius, S. A., & Burbaite, E. (2022). Comparison of canine CPSE analysis and prostate gland biopsies. 9th Quadrennial International Symposium on Canine and Feline Reproduction in a Joint Meeting With the 24th European Veterinary Society for Small Animal Reproduction Congress - ISCFR-EVSSAR 2020+2 : 30 June-2 July, 2022, Milan, Italy. Parma CONGRESSI S.P.A., 2022., 118-118. <https://hdl.handle.net/20.500.12512/116012> [T1e] [M.kr.: A002]
6. **Laurusevičius, T.,** Laurusevičius, S. A., & Jackutė, V. (2022). Investigation of CPSE values in healthy and benign prostate hyperplasia affected intact male dogs. XVI Kongres “Problemy W Rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek” : Wrocław 24-25 września 2022 R. : Materiały Konferencyjne Katedra Rozrodu Klinika Zwierząt Gospodarskich. Uniwersytet Przyrodniczy We Wrocławiu. [et al.]. Lublin : Polskie Towarzystwo Lekarzy Weterynaryjnych Małych Zwierząt, [2022]. ISBN 9788395267002., 154-154. <https://hdl.handle.net/20.500.12512/116014> [T1e] [M.kr.: A003]
7. **Laurusevičius, T.,** Latvis, V., Laurusevičius, S. A., Šengaut, J., & Žilinskas, H. (2019, birželio 28). Comparison between computed tomo-

graphy and ultrasonography of prostate gland volume in intact healthy male dogs. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene: Special Issue: Proceedings of the 22nd EVSSAR Congress: 28-29 June 2019, Berlin, Germany. Abstracts Quest Editors: Carina Blaschka, Detlef Rath, Jens Tetens. Berlin; Hamburg: Wiley-Blackwell Verlag GmbH, 2019, Vol. 54, Suppl. 2. <https://doi.org/10.1111/rda.13449> [T1a1] [M.kr.: A002] [Citav. rodiklis: 1.641, bendr. cit. rod.: 2.094, kvartilis: Q2 (2019. InCites JCR SCIE)]*

8. Burbaitė, E., **Laurusevičius, T.**, & Laurusevičius, S. A. (2022). Analysis of prostatic parameter ratios with L6 in large breed dogs with confirmed BPH diagnosis. 9th Quadrennial International Symposium on Canine and Feline Reproduction in a Joint Meeting With the 24th European Veterinary Society for Small Animal Reproduction Congress - ISCVR-EVSSAR 2020+2 : 30 June-2 July, 2022, Milan, Italy. Parma: MV CONGRESSI S.P.A., 2022, 33-33. <https://hdl.handle.net/20.500.12512/116006> [T1e] [M.kr.: A003]

STRAIPSNIAI, KURIUOSE BUVO PASKELBTI DISERTACIJOS TYRIMŲ REZULTATAI



animals



Article

Comparative Evaluation of Diagnostic Methods for Subclinical Benign Prostatic Hyperplasia in Intact Breeding Male Dogs

Tomas Laurusevičius ^{1,2,*}, Jūratė Siugzdaitė ², Nomeda Juodžiukynienė ², Sigita Kerzienė ², Lina Anskienė ²,
Vaiva Jackutė ², Darius Trumbeckas ³, Ann Van Soom ⁴, Florin Petrisor Posastiuc ^{4,5} and Henrikas Žilinskas ²

¹ Kaunas Veterinary Practice, Veiverių Str. 176a-2, 46415 Kaunas, Lithuania

² Faculty of Veterinary Medicine, Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences, Tilžės Str. 18, 47181 Kaunas, Lithuania; jurate.siugzdaitė@lsmu.lt (J.Š.); nomeda.juodziukyniene@lsmu.lt (N.J.); sigita.kerziene@lsmu.lt (S.K.); lina.anskiene@lsmu.lt (L.A.); vjackute@gmail.com (V.J.); henrikas.zilinskas@lsmu.lt (H.Ž.)

³ Department of Urology, Urology Clinic, Lithuanian University of Health Sciences, Eivenių Str. 2, 50161 Kaunas, Lithuania; darius.trumbeckas@lsmu.lt

⁴ Department of Internal Medicine, Reproduction and Population Health, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium; ann.vansoom@ugent.be (A.V.S.); florin.posastiuc@ugent.be (F.P.P.)

⁵ Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, 105 Blvd. Splaiul Independentei, 050097 Bucharest, Romania

* Correspondence: tomas.laurusevicius@lsmu.lt



Citation: Laurusevičius, T.; Siugzdaitė, J.; Juodžiukynienė, N.; Kerzienė, S.; Anskienė, L.; Jackutė, V.; Trumbeckas, D.; Van Soom, A.; Posastiuc, F.P.; Žilinskas, H. Comparative Evaluation of Diagnostic Methods for Subclinical Benign Prostatic Hyperplasia in Intact Breeding Male Dogs. *Animals* **2024**, *14*, 1204. <https://doi.org/10.3390/ani14081204>

Academic Editor: Lysimachos G. Papazoglou

Received: 1 March 2024

Revised: 7 April 2024

Accepted: 11 April 2024

Published: 17 April 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Benign prostatic hyperplasia is a common condition in older intact male dogs, and it is often initially lacking in noticeable clinical signs. Due to this asymptomatic nature, it is frequently overlooked in clinical practice. Our study aimed to develop a simplified non-invasive examination plan for the early detection of subclinical benign prostatic hyperplasia in older intact dogs. We established a clinical rectal-scoring system and new diagnostic thresholds using non-invasive methods such as ultrasonography and analysis of canine prostatic-specific esterase from blood serum samples. Our study revealed elevated values of canine prostatic-specific esterase, increased prostatic volume, and higher values of prostatic artery vascular velocities in dogs with subclinical BPH. Additionally, we found a positive relationship between prostatic volume and the age and weight of the dogs. In summary, our findings indicate that multiple non-invasive examinations can aid in identifying or suspecting early stages of BPH based not only on proposed new thresholds for prostatic volume and canine prostatic-specific esterase, but also elevated prostatic artery vascular velocities, changes in size, shape, and echostructure of the prostate gland, and differences in rectal examination. This information enables practitioners' timely intervention, preventing the progression of prostatic manifestations.

Abstract: Benign prostatic hyperplasia (BPH) is an androgen-related non-neoplastic enlargement of the prostate gland that commonly affects both reproductive capabilities and the general health of intact dogs. The subclinical form of BPH can be challenging to diagnose due to a lack of clinical signs, even if rectal palpation is performed. Left untreated, this condition poses risks to the dogs' health and breeding status. This study, involving 65 male dogs, aimed to investigate subclinical BPH through rectal palpation, ultrasonography, and analysis of canine prostatic-specific esterase (CPSE). Of the participants, 35 had subclinical BPH, and 30 served as a healthy control group. Dogs suspected of subclinical BPH, as determined by examination results from ultrasonography and CPSE analysis, underwent fine needle aspiration (FNA) guided by ultrasound to enhance diagnostic precision. Findings revealed distinct differences in rectal palpation and ultrasonography between subclinical BPH and healthy dogs. This study established diagnostic thresholds based on prostatic volume and CPSE values and proposed new thresholds for subclinical BPH. Additionally, results showed that prostate gland volume depended on the weight and the age of the dog. In conclusion, early detection of this condition is possible through various examinations, such as changes in ultrasound features, CPSE levels, and rectal palpation. All together, these methods can aid practitioners in early detection

of BPH and assist with scheduling screening programs for dogs, ultimately promoting their overall health and reproductive well-being. In conclusion, we advocate for routine, non-invasive prostate screenings in breeding males, underlining the effectiveness of a combination of various multiple techniques for early subclinical BPH detection.

Keywords: canine andrology; BPH; ultrasonography; rectal palpation; CPSE

1. Introduction

The prostate gland is the only sex gland in the male dog's reproductive tract [1]. Prostatic disorders significantly affect both the reproductive system and the overall health of canine patients. Among these, benign prostatic hyperplasia (BPH) is the leading condition diagnosed in intact dogs [2,3]. According to Socha et al. (2018), dogs of large and giant breeds often exhibit a propensity for developing BPH [4]. Linked to the aging process, this spontaneous lesion involves both an increase in cell numbers (hyperplasia) and an enlargement of individual cells (hypertrophy), typically manifesting in older dogs [5]. Despite that, it is important to note that BPH can be evident in dogs as young as 2 years old [6]. Moreover, it should be emphasized that in its early stages, this condition can remain asymptomatic until an increased glandular volume leads to the emergence of BPH-related symptoms such as constipation, hematuria, dysuria, changes in fertility status, and issues like excessive licking of the penis or lameness of the hind legs; in BPH-affected dogs, the prostate gland is more susceptible to bacterial infections, and if left untreated, such conditions such as prostatitis and prostatic cysts with the possibility abscess formation can develop [7].

Furthermore, the presence of BPH, prostatitis, or prostatic neoplasia have been linked to the onset of perineal hernias in intact dogs [8]. Regarding the reproductive health of dogs with BPH, there can be a decreased libido, issues with the ejaculatory process, and a noted decline in semen quality attributed to changes in prostatic fluid composition, which can lead to an elevated level of sperm cell DNA fragmentation [9]. Due to the fact that BPH presents no clinical signs in many cases, its diagnosis can be challenging. In regard to this, multiple examinations are recommended to ensure a reliable diagnosis [10,11]. A comprehensive diagnostic approach includes a full patient history, rectal palpation, evaluation of the organ using diagnostic imaging tools, semen collection, and culture and cytology of prostate tissue or fluid samples. Moreover, the levels of a distinct biomarker for prostatic disease, canine prostate-specific esterase (CPSE), is now highly recommended [12].

In clinical practice, rectal palpation is one of the methods to estimate the size, shape, flexibility, anatomical location, glandular surface, and sensitivity of the prostate gland [13]. While rectal palpation primarily provides access to the dorsocaudal regions of the prostate gland, it can pose challenges in small dogs due to their size or in giant breeds where the prostate may be positioned too cranially. Despite these limitations, it is still recommended to include this examination in routine procedures for dogs whenever possible, as it can serve as a valuable guide for further investigations if necessary [1,5,14–16].

In terms of using different diagnostic imaging methods, X-ray imaging of the prostate gland can be used to determine the location and size of the organ. However, it has a limited value due to interference of other abdominal organs, resulting in poor contrast images affecting the visualisation of the organ [17].

In regards to the diagnostic limitations of the X-ray, ultrasonography is proposed as a valuable method for examining the prostate gland [18].

Transrectal ultrasound, while the preferred approach for achieving precise images of the target organ, presents challenges in practicality due to the necessity of specialized equipment and sedation for the patient [19].

Abdominal ultrasonography is the preferred method over transrectal examination in most veterinary practices. Recognized as the most effective technique for prostate gland

assessment, it enables the evaluation of the gland's size, shape, tissue structure, and vascular velocities of the organ [10,20,21]. Furthermore, with the assistance of ultrasonography, biopsies and cytology samples can be acquired, as tissue analysis is the most accurate method for diagnosing prostatic disorders [22].

Interestingly, recent studies have highlighted the potential of CPSE as an innovative, non-invasive diagnostic marker for the assessment of prostatic status in dogs [20]. CPSE, classified as an arginine esterase, is synthesized by the columnar epithelial cells within the canine prostate gland, with its secretion increasing as benign prostatic hyperplasia progresses, accompanied by hypertrophic and hyperplastic changes in the prostatic epithelium. Due to this fact it has been shown that dogs diagnosed with BPH have elevated CPSE levels [23,24]. However, a concrete diagnosis of prostatic conditions can be achieved with ultrasound-assisted fine needle aspiration (FNA) or a biopsy of the prostatic tissue [25].

The aim of this study is to develop a simplified approach for the early detection of subclinical BPH in older intact dogs, avoiding invasive diagnostic procedures. This involves establishing new diagnostic thresholds and clinical scoring systems based on non-invasive techniques such as digital rectal examination, ultrasonography, and analysis of CPSE.

2. Materials and Methods

In this investigation, a cohort of 65 client-owned intact breeding male canines, representing large and giant breeds, was assembled. The subjects encompassed a spectrum of ages and weights, with details provided in Appendix A (Tables A1 and A2) regarding breed classification and age distribution. Dogs were randomly selected from those undergoing routine health check-ups at the veterinary practice. During these examinations, non-invasive procedures such as general clinical examination, rectal palpation, and ultrasonography of the abdominal and chest cavities were performed. However, dogs displaying ultrasonographic alterations of the prostate gland, such as intraprostatic cysts, asymmetrical shape, heterogeneous echotexture, and increased prostate gland vascular velocities, were recommended for further investigation to diagnose subclinical BPH. Blood samples were collected from dogs exhibiting BPH-related alterations of the prostate gland for CPSE concentration analysis. Dogs with a CPSE concentration reaching or exceeding ≥ 61 ng/mL, alongside the aforementioned sonographic alterations, underwent ultrasound-assisted FNA to accurately confirm the diagnosis of subclinical BPH. The CPSE concentration threshold of ≥ 61 ng/mL and the ultrasonographic alterations related to BPH were determined based on the studies conducted by Pinheiro et al. (2017) and Cunto et al. (2022), respectively [14,26]. Ultrasound-guided FNA was performed based on techniques published by Kustritz et al. (2006) [27]. After cytological analysis, two study groups were conducted: the healthy dogs group ($n = 30$) and the subclinical BPH-affected dogs group ($n = 35$). The healthy dogs group had an average age of 3.7 years (range: 3 to 6 years) and an average weight of 39.8 kg (range: 27 to 58 kg), while the subclinical BPH-affected group had an average age of 6.9 years (range: 4 to 10 years) and an average weight of 40.1 kg (range: 21 to 60 kg).

2.1. Clinical History and Examination

None of the dogs had any documented history of compromised semen quality or any other reproductive tract disease, nor did they have any general health disorders within the 6 months prior to the study. Additionally, no unsuccessful matings or pregnancies were recorded. None of the dogs included in this study were mated in the period of 6 months since the beginning of the study. Initially, a comprehensive breeding soundness evaluation was performed by a practitioner specializing in the field of small animal reproduction. This evaluation included visual and morphological inspections of the prepuce, penis, and testes, along with an additional sonographic examination of both testicles. Based on the results of all aforementioned examinations, all dogs were determined to be clinically healthy without any signs of prostatic or testicular diseases.

2.2. Rectal Palpation

Rectal palpation was conducted consistently by the same individual across all dogs in a blinded manner. Dogs were posed in a standing position and gently restrained. Using a lubricated gloved finger, the examiner palpated the anterior rectal wall to assess the prostate gland. In instances where the prostate gland was not palpable, the operator applied gentle pressure with his left hand to the abdominal wall, maneuvering the gland into a dorsocaudal position until it became palpable. Assessment criteria included the prostate gland's size, shape, consistency, surface, and position. Additionally, a pain and size score system was suggested and employed for a comprehensive evaluation. The pain score system comprised 4 scoring points:

- Score 0: no reaction to palpation. The dog remains calm without muscle tensing, vocalization, or attempts to move.
- Score 1: mild discomfort. Slight tensing of abdominal muscles or flinching during palpation, but no vocalization or significant movement.
- Score 2: moderate discomfort. Clear flinching, pulling away, or trying to sit down during the examination. May show signs of discomfort like turning the head to the examiner.
- Score 3: severe discomfort or pain. Vocalizing during palpation, strong attempts to pull away or aggressive behaviour due to pain.

Based on size evaluation, a 4-point scoring system was employed to assess the degree of prostate gland occupation within the rectal lumen.

- Score 0: prostate gland is barely palpable within the rectum.
- Score 1: prostate gland is palpable, occupying a small portion of the rectal lumen.
- Score 2 prostate gland is palpable, occupying a moderate portion of the rectal lumen.
- Score 3: prostate gland is palpable, occupying a significant portion of the rectal lumen.

2.3. B-Mode Ultrasonography

The ultrasound examination was performed by a specialist in small animal diagnostic imaging. A Mindray Vetu-7 (Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Shenzhen, China) ultrasound machine was used. The dogs were placed in dorsal recumbency using soft positioning aid beds. The prostate gland was scanned with a microconvex probe in transverse and longitudinal planes. The frequency range was set between 5.0 and 7.5 MHz. Sonographic images of glandular parenchyma were categorized as homogenic or heterogenic based on its appearance. Intraprostatic cysts were determined as anechoic, roundish areas of different sizes. No variations in cyst size or volume were distinguished. The region of interest (ROI) of the prostate gland was drawn using a freehand tool navigator to highlight the borders of the prostate gland in the transversal plane. Prostatic dimensions were measured as follows: prostatic length (L) on the longitudinal plane and prostatic width (W) and height (H) on the transversal plane. The measurements of height and length included both lobes of the prostate, and the average value in centimeters was calculated, whereas prostatic length was defined as the maximum diameter along the urethral axis and measured in centimeters (Figure 1). The prostatic volume (PV) was calculated using the ellipsoid body formula proposed by Ruel et al. (1998): $PV (cm) = (L \times W \times H) \times 0.523$ [18].

The color Doppler technique was employed to examine the blood flow in the prostatic artery (*a.prostatica*) marginal and subcapsular locations, following the method suggested by Zelli et al. (2013) [21]. In the pulse wave (PW) mode, the sample volume was set to cover the entire lumen of a vessel, ensuring that waveforms representing at least four consecutive cardiac cycles were recorded. Specific blood flow parameters, including peak systolic velocity (PSV), end diastolic velocity (EDV), and resistance index (RI) were calculated. The ultrasound inbuilt algorithm package automatically derived these values for each waveform. The values from three sweeps were then averaged to determine a mean value for each parameter at each location. Additionally, color gain adjustments were made to mitigate flash artifacts.

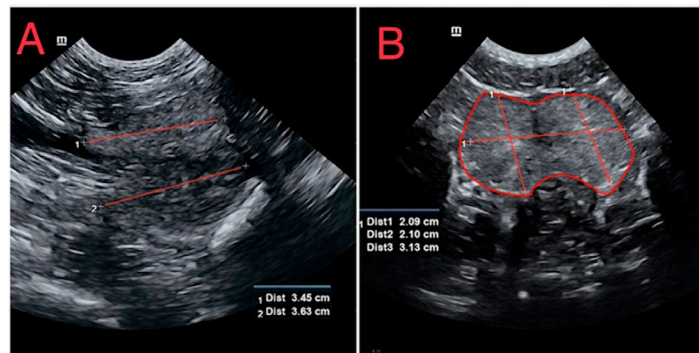


Figure 1. Ultrasonographic representation of measurements of the normal prostate gland in a 3-year-old Husky. (A): Longitudinal plane axis with red lines indicating measurements of prostatic length. (B): Transverse plane showcasing the prostate; the height and width are demarcated by red lines. The prostate gland is encircled in red, highlighting the region of interest and anatomical landmarks.

Subsequently, ultrasound-guided FNA was conducted. The cytology samples were assessed by a clinical pathologist (Figure 2). BPH was identified through the characteristics of the cytological samples: the presence of extensive groups of epithelial cells with either columnar or polygonal morphology, a minimal nucleus-to-cytoplasm ratio, and uniform round nuclei showcasing small nucleoli alongside finely granulated chromatin patterns [25,28].

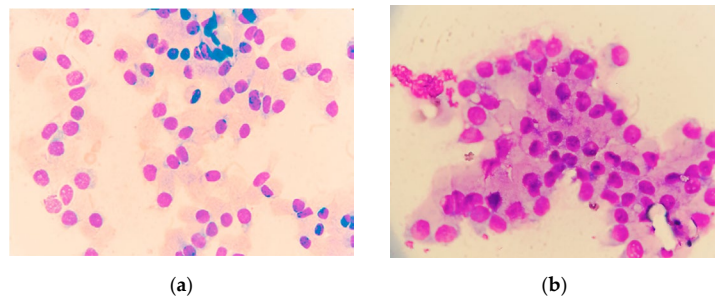


Figure 2. Cytological slides of prostate gland (magnification—100×). (a): normal prostate gland. Displayed are the acinar epithelial cells, organized in rows or small clusters. Note the distinct polarity of the epithelial cells, which are consistent in size. Their nuclei are round or slightly oval, featuring indistinct nucleoli and clear cytoplasm. (b): benign prostatic hyperplasia. High cellularity with epithelial cells forming large sheets. Cells may be columnar or polygonal, often lacking polarity. The nuclear/cytoplasm ratio remains similar to normal epithelial cells. Nuclei are predominantly consistent in size, slightly varying in morphology, and frequently exhibit a prominent nucleolus.

2.4. Canine Prostatic-Specific Esterase

Blood samples were collected from all study dogs by inserting a 21-gauge needle into the cephalic vein. VACUETTE™ Z serum blood collection tubes (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) were chosen. After collection, samples were promptly sent to the laboratory for analysis. The concentration levels of CPSE were analyzed within 30 min

according to the guidelines of the Speed™ Reader (Virbac, Carros, France), a laser-induced fluorescence immunochromatographic serum analyzer.

2.5. Ethical Statement

The research was performed in accordance with the Law of the Republic of Lithuania No. VIII-500 on the Care, Welfare and Use of Animals, dated 6 November 1997 (“Valstybės žinios” (Official Gazette) No. 108, 28 November 1997) and orders of the State Veterinary Service of the Republic of Lithuania on the Breeding, Care and Transportation of Laboratory Animals (No. 4-361, 31 December 1998) and on the Use of Laboratory Animals for Scientific Tests (No. 4-16, 18 January 1999). The approval number for this study was PK No. 012856. Informed consent was signed by every owner and obtained as additional approval for clinical examinations and procedures.

2.6. Statistical Analysis

Statistical analyses were conducted using IBM SPSS Statistics 29.0.0.0 (241). The normality of the datasets for prostate size and CPSE values was assessed employing the Shapiro–Wilk test. Calculations of means and standard deviations were performed for the prostate size and CPSE values within the subclinical BPH-affected and healthy groups. The statistical significance of the observed differences was determined using a Student’s *t*-test for independent samples.

Receiver operating analysis (ROC) was executed to ascertain the cut-off values for prostate gland volume and CPSE values, establishing precise thresholds indicative of subclinical BPH occurrence. Disparities in prostatic rectal palpation results between the subclinical BPH-affected and healthy groups were statistically evaluated utilizing the χ^2 test, with a Bonferroni correction applied. A significance level of $p < 0.05$ was considered to denote statistical significance in all analyses.

3. Results

3.1. Rectal Palpation

In the healthy group, rectal palpation primarily revealed typical prostate gland characteristics. The gland was prominently located in the cranial section of the pelvic inlet, displaying a symmetrical appearance with a uniform, smooth, and elastic texture. The size of the organ did not occupy a significant portion of the rectal lumen, and the evaluation scores were mostly 0–1.

Upon examining dogs affected by subclinical BPH, notable changes were observed through rectal palpation, particularly in the shape, size, and consistency of the prostate. There was a discernible shift in the positioning of the prostate gland, which leaned more cranially towards the pelvic brim. Furthermore, in this group, approximately half of the prostate surfaces exhibited a rough texture. Based on size, more than half of the prostate glands in this group exhibited enlargement, resulting in moderate occupation of the rectal lumen. Detailed results of prostate gland rectal palpation are presented in Table 1.

Table 1. Results of the rectal palpation of the prostate gland in healthy and subclinical BPH-affected dogs.

Feature	Finding	Healthy (n = 30)	BPH (n = 35)	Statistical Significance
Shape	Symmetric	83.3% *	14.3% **	$p < 0.001$
	Asymmetric	16.7% *	85.7% **	
Consistency	Soft	83.3% *	31.4% **	$p < 0.001$
	Medium hard	16.7% *	54.3% **	
	Hard	0% *	14.3% **	
Urethral groove	Present	100% *	68.6% **	$p < 0.001$
	Absent	0% *	31.4% **	

Table 1. Cont.

Feature	Finding	Healthy (n = 30)	BPH (n = 35)	Statistical Significance
Pain, score	0	63.3% *	0% **	$p < 0.001$
	1	26.7% *	31.4% *	
	2	10% *	54.3% **	
	3	0% *	14.3% **	
	4	0%	0%	
Size, score	0	30%	0%	$p < 0.001$
	1	60% *	34.3% **	
	2	10% *	65.7% **	
	3	0.0% *	0% **	
Position	Intra-pelvic	90.0% *	71.4% *	$p = 0.115$
	Extended caudally	10.0% *	20.6% *	
	Intra-abdominal	0% *	8.6% *	
Surface	Rough	86.7% *	45.7% **	$p < 0.001$
	Smooth	13.3% *	54.3% **	

*, **—proportions marked with different symbols in rows differed significantly ($p < 0.05$).

3.2. Ultrasonographic Evaluations of Prostate Glands

Within the subclinical BPH-affected dogs, 20% ($n = 7$) displayed glandular asymmetry, while in the healthy group, 16.6% ($n = 5$) displayed a similar shape. In terms of tissue structure, our observations revealed a prevalent heterogeneous pattern in the BPH study group, with 85.7% (30 out of 35) of dogs exhibiting this feature. In contrast, only 13.3% (4 out of 30) of dogs in the healthy group demonstrated heterogeneous prostatic tissue. However, the statistical analysis revealed that the relationship between echogenicity and the shape of the prostate was not found to be statistically significant in either the affected group, the healthy group, or when considering both groups collectively ($p > 0.05$).

In terms of intraprostatic cyst occurrence, our analysis showed a higher prevalence within the subclinical BPH group, where 85.7% ($n = 30$) of cases exhibited a diffuse cystic pattern. In contrast, among the healthy dogs, only 10% of cases ($n = 3$) exhibited intraprostatic cysts within the prostatic parenchyma. We further conducted a statistical analysis to assess the correlation between the presence of intraprostatic cysts and the shape of the prostate gland. Our findings indicated that the observed correlation was not statistically significant in either the subclinical BPH group or the healthy group, nor when assessing both groups combined.

This study identified differences in prostatic dimensions between subclinical BPH-affected dogs and the healthy group. Specific measurements for the subclinical BPH group included a prostatic length with mean $\pm$ SD values of 5.34 ± 1.29 cm, width of 5.05 ± 1.17 cm, and height of 4.12 ± 0.94 cm. In contrast, the healthy group measurements stood at 3.57 ± 0.77 cm for length, 3.70 ± 0.94 cm for width, and 3.45 ± 0.88 cm for height. Statistical analysis showcased significant differences in prostatic length, width, and height of the prostate gland between both study groups ($p < 0.01$).

Furthermore, the subclinical BPH group demonstrated larger prostatic volume, with mean $\pm$ SD values of 64.51 ± 43.62 cm³, in contrast to the healthy group, which had a prostatic volume of 26.93 ± 17.93 cm³ ($p < 0.001$).

Additionally, we examined the relationship between prostatic volume and age across both study groups. Analyzing the healthy control and subclinical BPH-affected dogs collectively, a moderate correlation between age and prostate volume was evident ($p < 0.001$). Yet, within the subclinical BPH-affected dogs group, the correlation between age and prostate volume was statistically insignificant ($p > 0.05$). In this group, the prostate volume will rise by an average of 2.29 cm³ for each year increase in age ($p = 0.597$). The regression analysis for the healthy control group indicates that with each year of age, the prostate volume will increase on average by 2.74 cm³ ($p = 0.527$). While these changes within each

group are statistically insignificant, when considering both the healthy and subclinical BPH-affected groups together, a notable moderate correlation between age and prostate volume is observed ($r = 0.423$, $p < 0.001$). The results are shown in Figure 3.

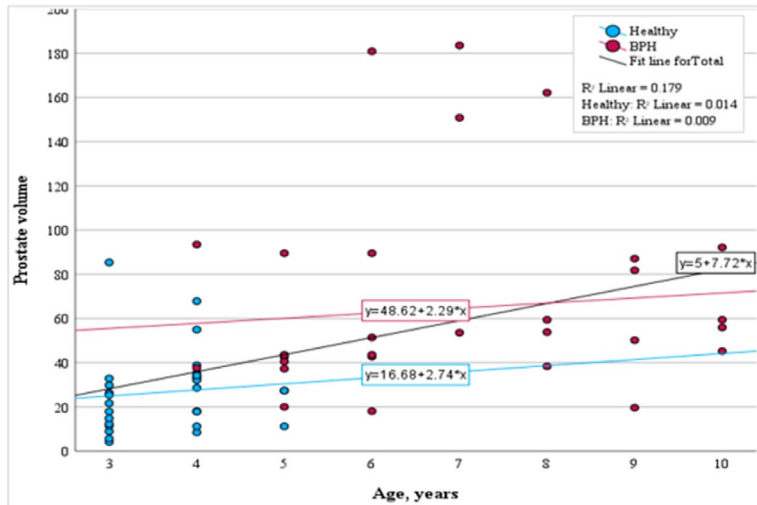


Figure 3. Scatter plot illustrating the correlation between age and prostate volume in distinct dog groups.

Regarding the correlation between weight and prostate volume in the healthy group, a moderate correlation was observed ($r = 0.475$, $p < 0.01$). For each kilogram increase in weight, there was an average prostate volume increment of 0.82 cm^3 ($p < 0.01$). Conversely, in the subclinical BPH-affected group, this relationship was faint ($r = 0.217$, $p = 0.209$), a trend similarly noticed when evaluating the whole study cohort ($r = 0.240$, $p = 0.055$). The results are detailed in Figure 4.

A receiver operating characteristic (ROC) analysis was employed, emphasizing the value of prostate volume in distinguishing healthy dogs from those afflicted with subclinical BPH. The area under the curve (AUC) was computed to be 0.87 with a notable cut-off value set at 35.16 cm^3 ($p < 0.001$). This analysis underscores the diagnostic potential of assessing prostate volume. An ROC analysis graphical image is shown in Figure 5.

3.3. Color Doppler Evaluation

A comparative analysis between the two study groups unveiled notable distinctions in color Doppler assessments at different locations along the prostatic artery.

Both the PSV and EDV were notably higher in the BPH group across both locations. Furthermore, the RI was elevated in the BPH group in both the marginal and subcapsular locations. However, statistical differences in RI were observed only in the marginal location ($p < 0.01$). Detailed data and statistical representations of the Doppler parameters for each group can be found in Table 2.

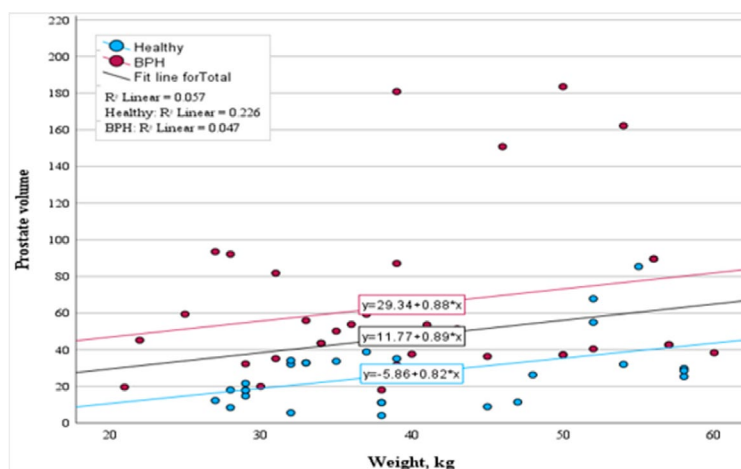


Figure 4. Scatter plot showcasing the correlation between dog weight and prostate volume.

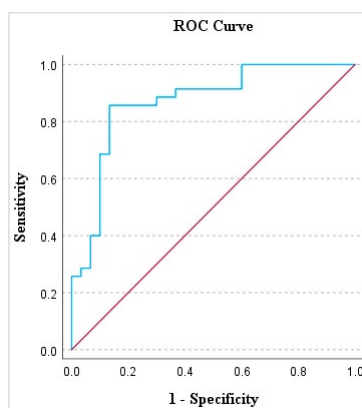


Figure 5. Receiver operating analysis (ROC) analysis of prostatic volume. The red line signifies the reference line, while the blue line depicts canine prostate-specific esterase (CPSE) values in ng/mL.

Table 2. Means $\pm$ SD of prostatic artery Doppler parameters detected in marginal and subcapsular location in the normal group and subclinical BPH group.

Group	n	Marginal Location, PSV	Marginal Location, EDV	Marginal Location, RI	Subcapsular Location, PSV	Subcapsular Location, EDV	Subcapsular Location, RI
Healthy	30	22.29 $\pm$ 1.4 *	4.44 $\pm$ 0.33 *	0.80 $\pm$ 0.02 *****	15.36 $\pm$ 0.57 *	5.42 $\pm$ 0.55 *	0.65 $\pm$ 0.04 ***
BPH	35	34.1 $\pm$ 2.91 **	6.52 $\pm$ 0.86 **	0.81 $\pm$ 0.01 *****	17.96 $\pm$ 1.07 **	6.57 $\pm$ 0.72 **	0.64 $\pm$ 0.03 ****

PSV, peak systolic velocity; EDV, end diastolic velocity; RI, resistive index; symbols *, **—means marked with different letters in rows differed significantly ($p < 0.001$); ***, ****—means marked with different letters in rows differed insignificantly ($p > 0.05$); ***, *****, *****—means marked with different letters in rows differed significantly ($p < 0.01$).

3.4. CPSE Analysis

Our investigation highlighted substantial differences in CPSE values between the subclinical BPH-affected and the healthy dog groups. Specifically, the mean $\pm$ SD values were recorded as 38.85 ± 14.55 ng/mL (range from 17.53 to 67.8 ng/mL) for the healthy group and escalated to 203.3 ± 90.39 ng/mL (range from 97.31 to 487.54 ng/mL) for the BPH group ($p < 0.001$). These data are graphically elucidated in Figure 6.

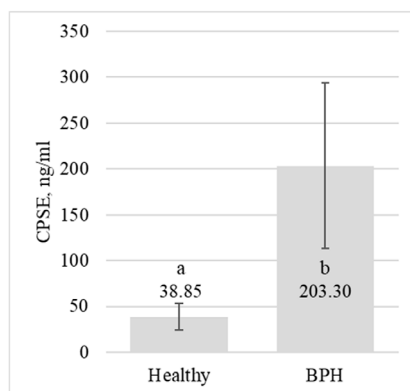


Figure 6. Comparison of mean CPSE values between the healthy and BPH-affected groups. The statistical significance, marked as 'a' and 'b', indicates a statistically significant difference between the study groups ($p < 0.001$).

Our data underscored the feasibility of using CPSE values as a determinant to differentiate healthy dogs from those with BPH. The AUC was a perfect 1.00 ($p < 0.001$), with a cut-off threshold set at 82.56 ng/mL. Thus, when the CPSE metric exceeds or equals 82.56 ng/mL, it becomes feasible to pinpoint dogs showing an asymptomatic form of BPH with a confidence level of 100% ($p < 0.001$). The results are shown in Figure 7.

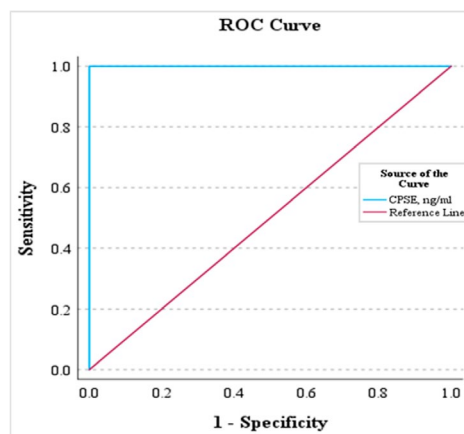


Figure 7. CPSE concentration explored through ROC analysis.

4. Discussion

4.1. Rectal Palpation

Clinically, the health of the prostate gland is often gauged using digital rectal palpation, which evaluates various factors, including size, shape, position, consistency, and pain, among others [11,13]. The results obtained from our study corroborate and extend the findings reported by other authors, providing valuable insights into the rectal palpation of canine prostates in both healthy and subclinical BPH-affected groups.

The normal prostate is smooth and symmetrical in shape, and it is free of pain on digital examination. The dorsal sulcus of the prostate is easily palpable and can be a useful landmark for those with limited experience [5]. In our study, the healthy group predominantly exhibited standard prostate characteristics, characterized by a cranially situated gland with symmetrical lobes, a smooth and elastic texture, and an evident urethral groove, with size scores predominantly falling within the range of 0–1. The majority of subjects demonstrated minimal discomfort during rectal palpation.

In dogs with BPH, the prostate can be shifted cranially into the abdomen. Each of the two lobes of the prostate should be symmetric in size and shape. The consistency should be firm, but not hard. Gentle palpation of the prostate should not be painful [22]. Our results align with these observations, indicating a noticeable cranial shift in the positioning of the prostate gland upon examination of dogs with subclinical BPH. In some cases, mild discomfort was noted, but no severe pain reactions were observed. Additionally, approximately half of the cases exhibited a rough texture on the prostate surface, possibly indicative of an expressed cystic pattern in the gland, which can lead to surface texture irregularities.

According to the size scoring system, more than half of the dogs in the group were classified with a score of 3, indicating mild prostatomegaly. Such enlargement is frequently observed in the subclinical stage of BPH, often presenting without overt clinical signs such as tenesmus, diarrhea, or stranguria [11].

However, an asymmetrical shape was observed in over 80% of dogs in the group, potentially indicating the progression of the current condition or the presence of an intraprostatic cystic pattern. It is well-established that asymmetry of the prostate gland can signify neoplastic or inflammatory processes [16]. Nevertheless, cytological examinations did not reveal evidence of either condition. This result may be attributed to operator variability, as rectal palpation is highly dependent on the skill and technique of the examiner.

Nonetheless, in general, rectal palpation remains a valuable tool, especially in cases like acute prostatitis, where immediate management is crucial, and prostatic neoplasia, where notable changes in shape, size, and pain are present, making it highly recommended for use in intact dog patients [13].

4.2. Ultrasonographic Evaluation

Building upon the findings of Mantziaras et al. (2017), which underscored the significance of early detection of prostatic abnormalities in dogs, our investigation delved deeper into this recommendation. In line with their study, which involved a substantial cohort of 1003 dogs from various breeds categorized by life expectancy, we aimed to elucidate the optimal age for preventive ultrasonographic examination of the prostate [29]. Confirming their assertion that around 40% of expected longevity is a critical period for detection of prostate gland alterations, our study included a healthy group with an average age of 3.7 years and a subclinical BPH-affected group with an average age of 6.9 years. This age discrepancy between groups serves to highlight the importance of age-related factors in prostatic health assessments. While the control group's younger age suggests minimal susceptibility to prostatic changes, the inclusion of the BPH-affected group, despite their lack of symptoms, aligns with the recommended lifespan limit identified by Mantziaras et al. (2017).

Based on our results, the prostate glands in the subclinical benign prostatic hyperplasia (BPH) group primarily exhibited symmetrical shapes and heterogeneous tissue structures, characterized by a diffuse cystic pattern. In contrast, healthy dogs displayed different

findings, with predominantly homogeneous tissue patterns and an absence of intraprostatic cysts. However, the shape of the prostate gland was symmetrical in most cases.

A recent study by Nizanski et al. (2020) on 10 dogs diagnosed with BPH, with a mean age of 9.5 ($SD \pm 3.5$) years and a mean weight of 14.12 ($SD \pm 12.17$) kg, reported similar ultrasonographic findings. In this group, the prostate gland appeared as heterogeneous with focal lesions less than 1 cm in diameter (intraprostatic cysts). Our results correspond to the findings mentioned above, reinforcing the consistency of ultrasound characteristics in dogs with BPH across different studies. Similar findings were described in the study by Russo et al. (2012), where eight dogs (age 5.9 ± 3.2 SD years and weight $19\text{--}37$ kg) diagnosed with BPH exhibited increased tissue echogenicity and the presence of intraprostatic cysts in all cases [30].

Regarding prostatic dimensions, our study indicated that in subclinical BPH-affected dogs, the length, width, and height of the prostate gland were higher compared to their healthy counterparts. In the study by Ruel et al. (1998), which investigated 100 intact healthy dogs with a mean age of 5.1 ($SD \pm 3.4$) years and a mean weight of 18 ($SD \pm 11.8$) kilograms, the mean $SD \pm$ values for prostatic length, width, and height were 3.4 ± 1.1 cm, 3.3 ± 0.9 cm, and 2.6 ± 0.7 cm, respectively [18]. These results align with our findings for healthy male dogs. However, it is important to note that in the subclinical BPH group, these values were significantly higher, indicating prostate gland enlargement in this condition.

In a study by Pasikowska et al. (2015), where computed tomography was used to assess the dimensions of the prostate gland, the results from 20 intact dogs diagnosed with BPH, ranging between 15 and 45 kg and $5\text{--}11$ years old, showed a prostatic length, width, and height of 4.38 ± 1.1 cm, 4.89 ± 0.87 cm, and 4.49 ± 0.94 cm, respectively [1]. Similar values were found in our study using ultrasonography. These findings also align with the fact that prostate gland volume is higher in BPH-affected dogs compared to healthy ones, as published in the recent study by Genov et al. (2021) [31].

In the realm of veterinary research, several studies have consistently described a direct correlation between prostatic volume, age, and weight [18,19,32]. Such a trend, broadly accepted in the field, suggests that as dogs age, there is an expected increase in prostatic volume, which might be further influenced by their weight. However, our current investigation paints a slightly different picture, prompting a reevaluation of these established notions.

Upon investigating a sample of 65 male dogs, our findings revealed a nuanced relationship. While there was an undeniable significant correlation between prostatic volume, age, and weight on a holistic scale, subgroup analyses unveiled certain inconsistencies. The relationship between volume, age, and weight seemed to fluctuate depending on the specific groups considered.

A potential explanation for these divergent results might stem from the clinical progression of prostatic conditions in our sample. No dog in our study showcased overt clinical signs related to prostatic enlargement. If we operate under the premise that only substantial enlargement of the prostate gland triggers clinical manifestations, then the observed positive correlation in specific subgroups starts making intuitive sense.

Such unexpected findings offer a fresh perspective and emphasize the significance of comprehending the nuances of prostatic health not only in the subclinical stage but also in the broader context of trends in intact dogs.

In a study focusing on beagles, Wheaton et al. (1979) reported a range of prostatic volume deriving from 20 to 31 cm³ in BPH-affected males [33]. In a 2000 study by Kamolpatana et al., 12 intact male dogs, all under 5 years old and with an average weight of 21.8 kg, were examined using ultrasound. The mean $\pm$ SD prostatic volume values found in this study were 16.77 ± 11.77 cm³ [34]. In comparison to our study, we found a slightly higher average prostatic volume of 26.93 ± 17.93 cm³ in the healthy dogs group. Compared to the study by Kamolpatana et al. (2000), our healthy dogs exhibited some distinctions, being, on average, 3.7 years old with an average weight of 39.8 kg.

In the investigation conducted by Ruel et al. (1998), 100 intact healthy male dogs of various breeds, ages, and weights were examined, and prostatic volume was calculated utilizing ultrasonographic measurements and the ellipsoid body formula. The mean standard deviation of prostatic volume across all dogs was found to be $18.9 \pm 15.5 \text{ cm}^3$ [18]. These divergences might shed light on the disparities observed in prostatic volume ranges between our study and the previously discussed research by both Kamolpatana et al. (2000) and Ruel et al. (1998). Nonetheless, neither of the two aforementioned studies examined the precise health status related to prostatic volume.

In the research conducted by Hosseinpour et al. (2022), 24 intact male dogs with an average age of 7.6 years and an average weight of 13.6 kg, all exhibiting clinical signs associated with BPH, were examined using an ultrasound, and their prostatic volume was calculated. The mean and standard deviation values were $14.32 \pm 12.62 \text{ cm}^3$ [2]. In contrast, our study demonstrated that, in dogs (average age 6.9 years and average weight 40.1 kg) affected by subclinical BPH, the mean $\pm$ SD values of prostatic volume were notably higher, registering at $64.51 \pm 43.62 \text{ cm}^3$. The variance in results might be attributed to differences in sample size, weight, and age between the studies; specifically, our research focused on large breed dogs, while Hosseinpour et al. (2022) exclusively included small breed dogs. Our results underscored a markedly elevated prostatic volume in dogs affected by subclinical BPH, with the diagnosis being validated through cytological examination. This increased prostatic volume is attributed to the prostate enlargement that is intrinsically associated with the condition.

In the study conducted by Dearakhshandeh et al. (2020), twenty-five male intact mixed-breed dogs, aged between 1 and 3 years and weighing 15–20 kg, were employed to investigate the induction of BPH, which involved injections of testosterone enanthate and estradiol benzoate. Ultrasound examinations revealed that the prostate volume of the induction group exhibited a notable increase in prostate volume from $9.66 \pm 4.81 \text{ cm}^3$ on day 0 to $20.59 \pm 6.83 \text{ cm}^3$ on day 63 [35]. While there are discrepancies in the age and weight of the dogs used in our study, the results broadly mirror our own, highlighting that in instances of subclinical stage of BPH, prostate gland volume is significantly elevated compared to healthy dogs.

Additionally, in our research, the ROC analysis suggested a prostatic volume threshold for subclinical BPH in dogs to be above 38 cm^3 . However, it is crucial to note that our study predominantly involved large to giant breed dogs, with an average age of 6.9 years and an average weight of 40.1 kg. This can potentially explain the variations observed in previous studies, where some studies excluded variations based on breed or assessed only the prostate gland volumes in healthy intact dogs and not in neutered dogs [18,26,32,34,36].

4.3. Color Doppler Evaluation

Our research emphasizes the considerable potential of color Doppler in this domain. We compared our study results with the one that was conducted by Zelli et al. (2013) [21]. In their work, the average values for PSV, EDV, and RI in the marginal prostatic artery were $33.23 \pm 2.29 \text{ cm/s}$, $6.14 \pm 0.71 \text{ cm/s}$, and 0.85 ± 0.03 , respectively. In contrast, our study showed values of $22.29 \pm 1.4 \text{ cm/s}$, $4.44 \pm 0.33 \text{ cm/s}$, and 0.80 ± 0.02 for the same metrics.

Exploring the subcapsular margins, Zelli et al. (2013) reported PSV, EDV, and RI values as $18.29 \pm 1.29 \text{ cm/s}$, $6.70 \pm 0.91 \text{ cm/s}$, and 0.70 ± 0.02 , respectively. Our findings were slightly divergent, with $17.96 \pm 1.07 \text{ cm/s}$, $6.57 \pm 0.72 \text{ cm/s}$, and 0.64 ± 0.03 . When we assessed the healthy group in both studies, a consistent trend of lower values was evident. Zelli et al. (2013) documented PSV at $22.71 \pm 1.88 \text{ cm/s}$, EDV at $4.47 \pm 0.47 \text{ cm/s}$, and RI at 0.81 ± 0.07 , while our results were closely aligned at $22.29 \pm 1.4 \text{ cm/s}$, $4.44 \pm 0.33 \text{ cm/s}$, and 0.80 ± 0.02 .

When comparing our findings to those of Zelli et al. (2013), various factors could account for the differences. The age, weight, and sample size of the dogs examined might affect the results. Moreover, our research incorporated a range of breeds, while Zelli et al. (2013) exclusively studied German Shepherds. Importantly, our study featured

dogs with subclinical BPH, whereas the referenced study did not specify the clinical conditions of their subjects. The use of different ultrasound machines and software could also introduce discrepancies. However, in general, our findings consistently showed that dogs affected by subclinical BPH typically exhibit elevated vascular velocity parameters, particularly in the PSV, EDV, and RI measurements, when compared to healthy dogs. While most parameters presented statistical differences, the RI values in the subcapsular region were the exception ($p > 0.05$). Despite that, our observations also align with the studies published by Gunzel-Apel et al. in 2001 and Nizański et al. in 2020, where higher vascular velocities were documented in BPH-affected prostate glands in comparison to their healthy counterparts [37,38].

4.4. CPSE Values

In the current study, we discerned notable differences in serum CPSE levels between healthy dogs and those affected by subclinical BPH. The healthy group exhibited a mean CPSE serum level of 38.85 ± 14.55 ng/mL, spanning a range from 17.53 to 67.8 ng/mL. In stark contrast, dogs with BPH showed a considerably elevated mean value of 203.3 ± 90.39 ng/mL, with levels ranging between 97.31 and 487.54 ng/mL ($p < 0.001$). Our findings align with prior research, such as that of Bell et al. (1995), which documented BPH dogs having appreciably higher CPSE concentrations (189.7 ng/mL) relative to their unaffected counterparts (41.8 ng/mL) [39]. Similar trends of elevated CPSE levels in BPH dogs have been substantiated in other studies as well [40–42]. Our results are in agreement with Alonge et al. (2018), who found that healthy dogs had average CPSE values of 38.9 ng/mL, while dogs with BPH had values averaging 184.9 ng/mL [22]. However, while the mentioned study proposed a clinical CPSE threshold of 52.3 ng/mL for BPH diagnosis via ROC analysis, our study, benefitting from a more robust sample size ($n = 35$ vs. $n = 19$), set forth a diagnostic threshold of 82.56 ng/mL for subclinical BPH using the same analytic method. The variations in these outcomes may be attributed to differences in CPSE analysis methods, sample sizes, and the inclusion of diverse canine male subjects in both studies.

It is imperative to acknowledge that previous investigations have predominantly relied on Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) tests for the analysis of CPSE values [12,24,26]. In contrast, our study adopted a laser-induced fluorescence immunochromatographic analyzer, a method we deemed more reliable than ELISA. This assertion is supported by the findings of Navvabi et al. (2022), wherein the immunochromatographic test demonstrated high accuracy in diagnosing Hepatitis B surface antigen (HBsAg) in human blood, while the ELISA test exhibited acceptable sensitivity and specificity [43]. Consequently, we posit that our chosen method for CPSE analysis offers enhanced precision. However, further studies are needed to confirm or refute this statement, which constitutes the primary objective of our forthcoming study.

5. Conclusions

In conclusion, our study underscores the pivotal role of various diagnostic modalities, including rectal palpation, ultrasonography, and CPSE analysis, in the early detection of subclinical BPH in older intact dogs. By introducing novel thresholds for ultrasonographic features and CPSE values, our research enhances diagnostic accuracy, facilitating timely intervention. Furthermore, our innovative rectal palpation scoring system, in conjunction with CPSE and ultrasonography, significantly improves the precision of subclinical BPH identification. These diagnostic advancements advocate for the integration of comprehensive male screening programs into routine veterinary practice, enabling proactive identification and management of prostatic conditions. However, despite our results indicating that prostate gland volume is influenced by individual age and weight, it is crucial to acknowledge a limitation of our study: the absence of comprehensive lifetime breeding history for each participant. Nonetheless, early diagnosis and intervention remain essential for maintaining the overall health and reproductive well-being of intact dogs. Recognizing the significance of early detection underscores the need for alternative diagnostic modalities

and supports the development of proactive and preventative treatment options. Our study strongly recommends the adoption of comprehensive prostate gland screening protocols, thereby safeguarding canine health and optimizing breeding status.

Author Contributions: Conceptualization, T.L., F.P.P. and H.Ž.; methodology, T.L., J.Š. and V.J.; software, S.K. and L.A.; validation, J.Š., N.J. and H.Ž.; formal analysis, S.K.; investigation, T.L. and F.P.P.; writing—original draft preparation, T.L. and V.J.; writing—review and editing, D.T. and H.Ž.; visualisation, L.A.; general revision, A.V.S.; supervision, H.Ž. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of the Lithuanian University of Health Sciences (the approval number is PK No.012856) and orders of the State Veterinary Service of the Republic of Lithuania on Breeding, Care and Transportation of Laboratory Animals (No. 4-361, 31 December 1998).

Informed Consent Statement: Informed consent for diagnostic procedures was obtained from all animal owners whose dogs were involved in this study.

Data Availability Statement: All data presented in this study are available upon request from the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Appendix A

Table A1. Distribution of breeds and ages among BPH-affected dogs group.

Breed	Age
Akita Inu	5
Akita Inu	8
American Akita	7
Belgian Shepherd	5
Belgian Shepherd	6
Bernese Mountain Dog	5
Bernese Mountain Dog	6
Bernese Mountain Dog	6
Bernese Mountain Dog	7
Bernese Mountain Dog	8
Borzoi	6
Borzoi	7
Bouvier Des Flandres	5
Bull terrier	6
Bullmastiff	5
Bullmastiff	6
Cane Corsa	9
Flat-coated Retriever	7
German Shepherd	7
German Shepherd	10
German Shorthaired Pointer	6
German Wirehaired Pointer	9

Table A1. *Cont.*

Breed	Age
Giant Schnauzer	7
Golden Retriever	10
Greyhound	10
Husky	9
Hungarian Vizsla	5
Newfoundland	7
Old English Sheepdog	4
Rhodesian Ridgeback	8
Saluki	5
Tibetan Mastiff	8
English Pointer	10

Table A2. Distribution of breeds and ages among healthy dogs group.

Breed	Age
Akita Inu	2
Akita Inu	2
Akita Inu	3
Alaskan Malamute	2
Belgian Shepherd	3
Belgian Shepherd	3
Borzoi	5
Borzoi	6
Boxer	4
Bullmastiff	3
Cane Corso	2
Czechoslovakian Wolf dog	4
Czechoslovakian Wolf dog	5
Dobermann	3
Dogue de Bordeaux	3
English Pointer	3
Flat-coated Retriever	3
Flat-coated Retriever	3
German Shepherd	3
German Shepherd	3
Hungarian Vizsla	3
Labrador Retriever	4
Leonberger	3
Newfoundland	3
Rottweiler	3
Rottweiler	4
Samoyed	3

Table A2. Cont.

Breed	Age
Samoyed	4
Weimaraner	3
Weimaraner	3

References

- Pasikowska, J.; Hebel, M.; Nizański, W.; Nowak, M. Computed Tomography of the Prostate Gland in Healthy Intact Dogs and Dogs with Benign Prostatic Hyperplasia. *Reprod. Domest. Anim.* **2015**, *50*, 776–783. [\[CrossRef\]](#)
- Hosseinpour, H.; Ahmadi-hamedani, M.; Masoudifard, M.; Shirani, D.; Narenj Sani, R. Assessment of the Utility of Platelet Indices to Diagnose Clinical Benign Prostatic Hyperplasia in Dogs. *Front. Vet. Sci.* **2022**, *9*, 1031292. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Memon, M.A. Common Causes of Male Dog Infertility. *Theriogenology* **2007**, *68*, 322–328. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Socha, P.; Zduńczyk, S.; Tobolski, D.; Janowski, T. The Effects of Osaterone Acetate on Clinical Signs and Prostate Volume in Dogs with Benign Prostatic Hyperplasia. *Pol. J. Vet. Sci.* **2018**, *21*, 797–802. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Smith, J. Canine Prostatic Disease: A Review of Anatomy, Pathology, Diagnosis, and Treatment. *Theriogenology* **2008**, *70*, 375–383. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Berry, S.J.; Strandberg, J.D.; Saunders, W.J.; Coffey, D.S. Development of Canine Benign Prostatic Hyperplasia with Age. *Prostate* **1986**, *9*, 363–373. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Nizański, W.; Levy, X.; Ochota, M.; Pasikowska, J. Pharmacological Treatment for Common Prostatic Conditions in Dogs—Benign Prostatic Hyperplasia and Prostatitis: An Update. *Reprod. Domest. Anim.* **2014**, *49*, 8–15. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Åhlberg, T.M.; Salonen, H.M.; Laitinen-Vapaavuori, O.M.; Mölsä, S.H. CT Imaging of Dogs with Perineal Hernia Reveals Large Prostates with Morphological and Spatial Abnormalities. *Vet. Radiol. Ultrasound* **2022**, *63*, 530–538. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Aquino-Cortez, A.; Pinheiro, B.Q.; Silva, H.V.R.; Lima, D.B.C.; Silva, T.F.P.; Souza, M.B.; Viana, D.A.; Xavier Júnior, F.A.F.; Evangelista, J.S.A.M.; Brandão, F.Z.; et al. Serum Testosterone, Sperm Quality, Cytological, Physicochemical and Biochemical Characteristics of the Prostatic Fraction of Dogs with Prostatomegaly. *Reprod. Domest. Anim.* **2017**, *52*, 998–1003. [\[CrossRef\]](#)
- Mantziaras, G. Imaging of the Male Reproductive Tract: Not so Easy as It Looks Like. *Theriogenology* **2020**, *150*, 490–497. [\[CrossRef\]](#)
- Lévy, X.; Nizański, W.; von Heimendahl, A.; Mimouni, P. Diagnosis of Common Prostatic Conditions in Dogs: An Update. *Reprod. Domest. Anim.* **2014**, *49*, 50–57. [\[CrossRef\]](#)
- Martins-Bessa, A. CPSE Determination and Detection of Canine Prostatic Diseases: The Importance of a Specific Diagnosis. *Reprod. Domest. Anim.* **2018**, *53*, 1259–1260. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Capilé, K.V.; Campos, G.M.B.; Stedile, R.; Oliveira, S.T. Canine Prostate Palpation Simulator as a Teaching Tool in Veterinary Education. *J. Vet. Med. Educ.* **2015**, *42*, 146–150. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Cunto, M.; Ballotta, G.; Zambelli, D. Benign Prostatic Hyperplasia in the Dog. *Anim. Reprod. Sci.* **2022**, *247*, 107096. [\[CrossRef\]](#)
- Mukaratirwa, S.; Chitura, T. Canine Subclinical Prostatic Disease: Histological Prevalence and Validity of Digital Rectal Examination as a Screening Test. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* **2007**, *78*, 66–68. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Johnston, S.D.; Kamolpatana, K.; Root-Kustritz, M.V.; Johnston, G.R. Prostatic Disorders in the Dog. *Anim. Reprod. Sci.* **2000**, *60–61*, 405–415. [\[CrossRef\]](#)
- Moresco, B.N.; Gonçalves, G.F. Digital Radiography and Ultrasonography in Evaluation of the Canine Prostate. *Semin. Cienc. Agrar.* **2019**, *40*, 677–686. [\[CrossRef\]](#)
- Ruel, Y.; Barthez, P.Y.; Mailles, A.; Begon, D. Ultrasonographic Evaluation of the Prostate in Healthy Intact Dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound* **1998**, *39*, 12–216. [\[CrossRef\]](#)
- De Souza, M.B.; Da Silva, L.D.M.; Moxon, R.; Russo, M.; England, G.C.W. Ultrasonography of the Prostate Gland and Testes in Dogs. *In Practice* **2017**, *39*, 21–32. [\[CrossRef\]](#)
- Khanbazi, M.H.; Mogheiseh, A.; Ahrari Khafi, M.S.; Nazifi, S.; Derakhshandeh, N.; Golchin-rad, K. Echotexture Analysis of Prostate Parenchyma for Detection of Benign Prostatic Hyperplasia in Dogs. *Top. Companion Anim. Med.* **2021**, *42*, 100501. [\[CrossRef\]](#)
- Zelli, R.; Orlandi, R.; Troisi, A.; Cardinali, L.; Polisca, A. Power and Pulsed Doppler Evaluation of Prostatic Artery Blood Flow in Normal and Benign Prostatic Hyperplasia-Affected Dogs. *Reprod. Domest. Anim.* **2013**, *48*, 768–773. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Christensen, B.W. Canine Prostate Disease. *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.* **2018**, *48*, 701–719. [\[CrossRef\]](#)
- Holst, B.S.; Nilsson, S. Age, Weight and Circulating Concentrations of Total Testosterone Are Associated with the Relative Prostatic Size in Adult Intact Male Dogs. *Theriogenology* **2023**, *198*, 356–360. [\[CrossRef\]](#)
- Alonge, S.; Melandri, M.; Aiudi, G.; Lacalandra, G.M. Advances in Prostatic Diagnostics in Dogs: The Role of Canine Prostatic Specific Esterase in the Early Diagnosis of Prostatic Disorders. *Top. Companion Anim. Med.* **2018**, *33*, 105–108. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Powe, J.R.; Canfield, P.J.; Martin, P.A. Evaluation of the Cytologic Diagnosis of Canine Prostatic Disorders. *Vet. Clin. Pathol.* **2004**, *33*, 150–154. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

26. Pinheiro, D.; Machado, J.; Viegas, C.; Baptista, C.; Bastos, E.; Magalhães, J.; Pires, M.A.; Cardoso, L.; Martins-Bessa, A. Evaluation of Biomarker Canine-Prostate Specific Arginine Esterase (CPSE) for the Diagnosis of Benign Prostatic Hyperplasia. *BMC Vet. Res.* **2017**, *13*, 76. [\[CrossRef\]](#)
27. Kustritz, M.V.R. Collection of Tissue and Culture Samples from the Canine Reproductive Tract. *Theriogenology* **2006**, *66*, 567–574. [\[CrossRef\]](#)
28. Palmieri, C.; Fonseca-Alves, C.E.; Laufer-Amorim, R. A Review on Canine and Feline Prostate Pathology. *Front. Vet. Sci.* **2022**, *9*, 881232. [\[CrossRef\]](#)
29. Mantziaras, G.; Alonge, S.; Faustini, M.; Luvoni, G.C. Assessment of the Age for a Preventive Ultrasonographic Examination of the Prostate in the Dog. *Theriogenology* **2017**, *100*, 114–119. [\[CrossRef\]](#)
30. Russo, M.; Vignoli, M.; England, G.C.W. B-Mode and Contrast-Enhanced Ultrasonographic Findings in Canine Prostatic Disorders. *Reprod. Domest. Anim.* **2012**, *47*, 238–242. [\[CrossRef\]](#)
31. Genov, M.; Ivanova, M. Computer-Assisted Sperm Analysis and Comparative Diagnostic Imaging of Benign Prostatic Hyperplasia in Dogs by Ultrasound, x-Ray and Computed Tomography. *Bulg. J. Vet. Med.* **2021**, *24*, 219–228. [\[CrossRef\]](#)
32. Atalan, G.; Holt, P.E.; Barr, F.J.; Brown, P.J. Ultrasonographic Estimation of Prostatic Size in Canine Cadavers. *Res. Vet. Sci.* **1999**, *67*, 7–15. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Wheaton, L.G.; de Klerk, D.P.; Strandberg, J.D.; Coffey, D.S. Relationship of Seminal Volume to Size and Disease of the Prostate in the Beagle. *Am. J. Vet. Res.* **1979**, *40*, 1325–1328. [\[PubMed\]](#)
34. Kamolpatana, K.; Johnston, G.R.; Johnston, S.D. Determination of Canine Prostatic Volume Using Trans Abdominal Ultrasonography. *Vet. Radiol. Ultrasound* **2000**, *41*, 73–77. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Dearakhshandeh, N.; Mogheiseh, A.; Nazifi, S.; Ahrari Khafi, M.S.; Abbaszadeh Hasiri, M.; Golchin-Rad, K. Treatment of Experimentally Induced Benign Prostatic Hyperplasia with Tadalafil and Castration in Dogs. *Theriogenology* **2020**, *142*, 236–245. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Choi, J.-Y.; Choi, S.-Y.; Lee, K.-J.; Jeong, W.-C.; Han, W.-S.; Choi, H.-J.; Lee, Y.-W. Volumetric Estimation of the Prostate Gland Using Computed Tomography in Normal Beagle Dogs. *J. Vet. Clin.* **2014**, *31*, 175–179. [\[CrossRef\]](#)
37. Gunzel-Apel, A.-R.; Mohrke, C.; Nautrup, C.P. Colour-Coded and Pulsed Doppler Sonography of the Canine Testis, Epididymis and Prostate Gland: Physiological and Pathological Findings. *Reprod. Domest. Anim.* **2001**, *36*, 236–240. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Nizański, W.; Ochota, M.; Fontaine, C.; Pasikowska, J. B-Mode and Doppler Ultrasonographic Findings of Prostate Gland and Testes in Dogs Receiving Deslorelin Acetate or Osaterone Acetate. *Animals* **2020**, *10*, 2379. [\[CrossRef\]](#)
39. Bell, F.W.; Klausner, J.S.; Hayden, D.W.; Lund, E.M.; Liebenstein, B.B.; Feeney, D.A.; Johnston, S.D.; Shivers, J.L.; Ewing, C.M.; Isaacs, W.B. Evaluation of Serum and Seminal Plasma Markers in the Diagnosis of Canine Prostatic Disorders. *J. Vet. Intern. Med.* **1995**, *9*, 149–153. [\[CrossRef\]](#)
40. Sun, F.; Báez-Díaz, C.; Sánchez-Margallo, F.M. Canine Prostate Models in Preclinical Studies of Minimally Invasive Interventions: Part I, Canine Prostate Anatomy and Prostate Cancer Models. *Transl. Androl. Urol.* **2017**, *6*, 538–546. [\[CrossRef\]](#)
41. Gobello, C.; Castex, G.; Corrada, Y. Serum and Seminal Markers in the Diagnosis of Disorders of the Genital Tract of the Dog: A Mini-Review. *Theriogenology* **2002**, *57*, 1285–1291. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Wolf, K.; Kayacelebi, H.; Urhausen, C.; Piechotta, M.; Mischke, R.; Kramer, S.; Einspanier, A.; Oei, C.; Günzel-Apel, A. Testicular Steroids, Prolactin, Relaxin and Prostate Gland Markers in Peripheral Blood and Seminal Plasma of Normal Dogs and Dogs with Prostatic Hyperplasia. *Reprod. Domest. Anim.* **2012**, *47*, 243–246. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Navvabi, N.; Khadem Ansari, M.H.; Navvabi, A.; Chalipa, H.R.; Zitricky, F. Comparative Assessment of Immunochromatography and ELISA Diagnostic Tests for HBsAg Detection in PCR-Confirmed HBV Infection. *Rev. Gastroenterol. México Engl. Ed.* **2022**, *87*, 176–180. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



RESEARCH ARTICLE

Evaluation of Healthy and Subclinical Benign Prostatic Hyperplasia Affected Intact Male Dogs Using Ultrasonography and Specific Features of Computed Tomography

Tomas Laurusevičius^{1,2,3*}, Sigita Kerzienė¹, Nomedas Juodžiukynienė², Jūratė Šiugždaitė², Vaiva Jackutė^{1,3}, Viktorija Latvis⁴, Jakov Sengaut⁴, Darius Trumbeckas⁵ and Henrikas Žilinskas¹

¹Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy, Tilžės str.18, Kaunas, Lithuania; ²Department of Veterinary Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences, Tilžės str.18, Kaunas, Lithuania; ³Kaunas Veterinary Practice, Veiverių str. 176a-2, Kaunas, Lithuania; ⁴Jakovo Veterinary Centre, Gerosios Vilties str. 1, Vilnius, Lithuania; ⁵Lithuanian University of Health Sciences, Urology Clinic, Eivenių str.2, Kaunas, Lithuania

*Corresponding author: reprovetas@gmail.com

ARTICLE HISTORY (23-220)

Received: June 3, 2023
Revised: August 22, 2023
Accepted: August 26, 2023
Published online: September 05, 2023

Key words:

Benign prostatic hyperplasia
Intact male dogs
Computed tomography
Ultrasonography
Prostate gland evaluation

ABSTRACT

Spontaneous benign prostatic hyperplasia (BPH) is common in aged intact male dogs; the condition is often without clinical signs. While ultrasonography is commonly used for the evaluation of health status of prostate gland, computed tomography (CT) offers advanced imaging capabilities. The latter technique allows for comprehensive investigation of the target organs, with possible incidental findings in other organs. This study aimed to evaluate the prostate gland in BPH-affected and healthy intact male dogs using ultrasonography and various CT assessment techniques. This study involved 52 intact male dogs of various breeds, ages, and weights. These dogs were divided into two study groups based on the cytological findings of the prostate gland tissue; healthy group (n=24) and a group with confirmed subclinical BPH (n=28). Animals of both groups were examined using ultrasonography and CT features to assess the health status of prostate gland. Results revealed that the length, width, height and volume of prostate gland were significantly higher in BPH-affected group than the healthy group ($p<0.001$). Similarly, asymmetry and heterogeneity of the gland was observed in higher %age of BPH-affected dogs than the healthy ones ($p<0.001$). BPH-affected dogs also exhibited lower contrast attenuation values and higher ratios of prostate gland dimensions to the 6th lumbar vertebra compared to healthy dogs. Additionally, ratios of prostate gland width and height to pelvic inlet dimensions were higher in BPH group ($p<0.001$). In conclusion, the study shows that utilizing multiple CT imaging method, including the partial pelvimetry technique, offers both reliability for advanced imaging of the prostate gland and serves as a diagnostic tool for BPH diagnosis in dogs.

To Cite This Article: Laurusevičius T, Juodžiukynienė N, Šiugždaitė J, Kerzienė S, Latvis V, Šengaut J, Jackutė V, Trumbeckas D and Žilinskas H, 2023. Evaluation of healthy and subclinical benign prostatic hyperplasia affected intact male dogs using ultrasonography and specific features of computed tomography. Pak Vet J, 43(4): 764-770. <http://dx.doi.org/10.29261/pakvetj/2023.079>

INTRODUCTION

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is a spontaneous and age-related para-physiological condition that affects intact male dogs (Socha *et al.*, 2018). This condition is characterized by the enlargement of the prostate gland and has been associated with oxidative stress and a decrease in antioxidant defense, potentially leading to negative effects on male reproductive ability and semen quality (Flores *et al.*, 2017). In its later stages, BPH can have broader implications for the overall health of the male dog, with the manifestation of clinical symptoms including tenesmus,

diarrhea, dysuria, hematuria, pain and lameness in the hind limbs (Pasikowska *et al.*, 2015). However, in many cases the disease remains asymptomatic in its early stages, presenting a challenge for owners and veterinarians in making timely diagnosis.

The use of diagnostic imaging tools is considered the most effective approach in veterinary medicine for evaluating the health status of the prostate gland (Alonge *et al.*, 2018; Mantziaras, 2020). Assessment of the prostate by transrectal digital palpation is performed by the veterinarian in intact adult male dogs for routine screening (Mukaratirwa and Chitura, 2007). However, since rectal

palpation has limited value, diagnostic imaging tools are frequently employed for the evaluation of the prostate gland, with ultrasonography being a commonly used technique (Lévy *et al.*, 2014). Nevertheless, the effectiveness of ultrasonography heavily relies on the experience of the operator, not only in terms of image interpretation but also in the technical aspects of the procedure. The precise identification of prostate margins, particularly the caudal contour, and selecting optimal imaging planes for ultrasonographic measurements have proven challenging (Leroy *et al.*, 2013). The presence of penis and location of prostate gland in the pelvic cavity can make it difficult to position the probe in a transverse plane (Atalan *et al.*, 1999a; Leroy *et al.*, 2013). Additionally, in some cases, ultrasonography can lead to a false diagnosis of early stages of clinical BPH (Lévy *et al.*, 2014). This issue can be overcome by using more standardized imaging techniques, such as computed tomography (CT). This has been recognized as a reliable and effective technique for the detailed examination of the reproductive organs, including the prostate gland (Mantziaras, 2020). Undeniably, CT offers many advantages over ultrasonography for evaluating the prostate gland, including detailed visualization, better tissue differentiation, three-dimensional imaging and assessment of distant metastases. In addition, CT provides better visibility of the boundaries of the prostate gland, any lesions present, its location, and the surrounding tissues compared to ultrasonographic imaging (Salonen *et al.*, 2022). Moreover, contrast-enhanced CT permits the assessment of parenchymal and vascular alterations in the target organ, providing valuable insights into the nature of the disease (Klansnoh *et al.*, 2018). Also, with the wide availability of CT and the increasing familiarity of veterinary practitioners, pet owners prefer CT scans over ultrasonography for their pets (Kuhnt *et al.*, 2020; Greco *et al.*, 2023).

Incidental findings in the reproductive tract are of particular interest during CT examinations. These unexpected discoveries, known as "incidentalomas," have the potential to reveal various unrelated diseases, including alterations in the prostate gland, when they are unexpectedly encountered during CT imaging of the abdominal or pelvic regions (Caspanello *et al.*, 2023).

The present study focuses on utilizing CT imaging to explore different aspects of the canine prostate gland in healthy intact male dogs and those affected by subclinical BPH. The primary objective was to investigate various CT assessment techniques for evaluating the prostate gland in animals of these two groups, proposing a novel diagnostic approach to improve the detection of early stages of BPH.

MATERIALS AND METHODS

Ethics: The research was performed in accordance with Law of the Republic of Lithuania No. VIII-500 on the Care, Welfare and Use of Animals, dated November 06, 1997 (Valstybės žinios (Official Gazette) No. 108, 28/11/1997) and orders of the State Veterinary Service of the Republic of Lithuania on Breeding, Care and Transportation of Laboratory Animals (No. 4-361, 31/12/1998) and on Use of Laboratory Animals for Scientific Tests (No. 4-16,

18/01/1999). The approval number of the study was PK No.012856.

Experimental animals: This study was conducted from August 2019 to January 2023 at a private veterinary clinic in Vilnius, Lithuania. A total of 52 male dogs of different breeds, aged 3 to 10 years (average 5.7 years), with body weight ranging from 25 to 50kg (average 36.5kg) were included in the study. Dogs were presented to the clinic for CT examination of abdominal and pelvic regions. All animals in the study showed no clinical signs and had no past medical history related to reproductive tract diseases. Clinical tests were performed that included prostate gland palpation and standard laboratory tests such as urinalysis, blood morphology and biochemistry analyses. All parameters were in normal ranges. Dogs were divided into two groups (BPH-affected and healthy) based on results of prostate gland wash cytological examination, as described below. BPH-affected group consisted of 28 dogs, whereas healthy dogs group had 24 intact male dogs.

Ultrasonography and prostate gland wash: Ultrasound evaluations were conducted on all study dogs prior to administering anaesthesia for computed tomography (CT). During the ultrasound examination, the shape and echogenicity of the prostate gland were assessed according to the guidelines for prostate gland evaluation established by Russo *et al.* (2012). Following the ultrasound examination, prostatic wash was performed after inducing anaesthesia, and then the animals underwent CT scans. For prostate gland wash, the urinary bladder was emptied using urinary catheter, and was then rinsed multiple times with saline before being emptied again. A urinary catheter was then inserted into the prostatic urethra, the prostate was vigorously massaged through the rectum, and normal saline (10mL) was slowly injected through the catheter. Continuous aspiration was applied as the catheter was advanced through the prostatic urethra into the urinary bladder. The fluid obtained was collected in a syringe and subjected to cytological examination (Smith, 2008). Diagnosis of BPH was based on the presence of large groups of epithelial cells with typical columnar or polygonal appearance, low nuclear/cytoplasm ratio, and uniform round nuclei with small nucleoli and fine granular chromatin patterns, as described by Teske (2009).

Computed tomography: The computed tomography was performed under general anaesthesia. Animals of both groups were scanned in dorsal recumbency using radiolucent positioning aids to maintain stable positioning. For premedication, medetomidine hydrochloride (Cepetor 1.0mg/ml) at 10µg/kg body weight was given intravenously. Anaesthesia was induced with propofol (Propoven 10.0mg/ml) at 2-4mg/kg. For maintenance, all dogs were intubated with tracheal tube and inhalation anaesthesia with isoflurane gas was used.

The CT scans were performed using a helical 2 slice CT scanner (Somatom Spirit 2, Siemens, Germany), using 130kV Voltage, 100mAs current and 3-5mm slice thickness (reconstructions of 1.5-2.5mm). Raw data was reconstructed in soft tissue and bone algorithms. Pre- and post-contrast studies were performed, using iohexol (Omnipaque 350mg/ml, GE Healthcare AS, Norway) as

contrast media at 600mg/kg (I/V). Prostatic attenuation values were quantified within specific regions of interest (ROI) and expressed in Hounsfield Units (HU). All CT scan images were obtained in DICOM format and analysed using OsiriX software (Pixmeo SARL, Bernex, Switzerland).

Prostatic length was measured on a dorsal plane, while width and height were measured on the transverse plane. The length of the sixth lumbar vertebral body (L6) was determined by measuring it in both sagittal and dorsal plane images. A median value of these measurements was then calculated and document (Fig. 1). The ratios of prostatic length (rL6), width (rW6) and height (rH6) to the length of the L6 body were measured according to the study published by Pasikowska *et al.* (2015).

The pelvic inlet diameter was measured using sagittal and transverse images. Then the ratios of the width and height of the prostate gland with width and height of pelvic inlet were measured, using the formulas ppW and ppH, respectively. To visualize the pelvic inlet and the prostate gland affected by BPH, specialized software for 3D imaging tools was used for reconstruction. All measurements and the complete image are presented in Fig. 2.

The special features of the OsiriX (Pixmeo SARL, Bernex, Switzerland) workstation were used to calculate the prostate gland volume. Initially, the region of interest (ROI) was manually drawn using freehand tools. Subsequently, the software tools automatically calculated the prostatic volume based on this drawn ROI. Additionally, we employed 3D reconstructions, allowing the software to automatically reconstruct the prostate gland volume for more comprehensive analysis.

Statistical analysis: Data analysis was conducted using IBM SPSS Statistics 29.0.0.0 (241). The normality of the data was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test. The Chi-square test was used to evaluate changes in the shape and echogenicity of the prostate gland, while other data were compared through Independent-Samples T test. Confidence intervals (CI 95%) for proportions were determined using the Wilson method (Wilson, 1927). Pearson's linear correlation coefficients and regression analysis were employed to examine the relationships between the investigated traits. Receiver operating analysis (ROC) was conducted to establish a cutoff value for prostate gland volume, yielding a threshold for BPH occurrence with an Area Under the Curve (AUC) of 0.923, sensitivity of 78.6%, and specificity of 95.8% ($p < 0.001$). The ROC analysis graph showcases had the ability to differentiate healthy dogs from those with asymptomatic BPH using external characteristics. The probability level of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Evaluation of the prostate gland with ultrasound: In the healthy dogs group, a total of 7 out of 24 investigated prostate glands (29.2%, 95% CI=14.9-49.2%) exhibited asymmetric shape, suggesting that the majority of prostate glands in this group tended to display a symmetrical configuration. Conversely, in the BPH-affected group, 24 out of 28 prostate glands (85.7%, 95% CI = 68.5-94.3%)

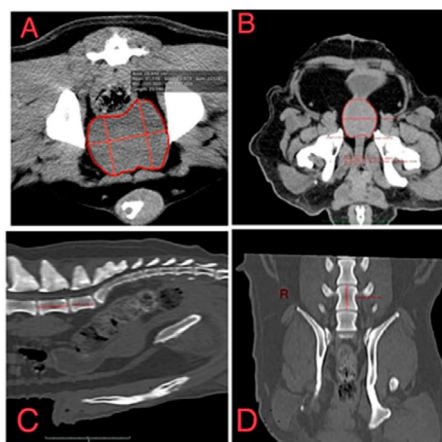


Fig. 1: Computed tomography images of the prostate gland and L6 vertebra. A) prostate gland, transverse plane, soft tissue algorithm. Red lines indicate measurements of prostate gland height, width and circle area; B) prostate gland, dorsal plane, soft tissue algorithm. Red lines indicate measurements of prostatic length and circle area; C) L6 vertebra, sagittal plane, bone algorithm; red line represents the length of the vertebral body. D) L6 vertebra, dorsal plane, bone algorithm; red line represents the length of the vertebral body.



Fig. 2: 3D image of the BPH-affected prostate gland and the pelvic bones. The prostate gland (red organ) can be appreciated in transverse projection. The A line represents the distance between closest bony point of the 2nd sacral segment and the pubic symphysis. The B line represents the closest distance between the central points of left and right acetabulum. C line shows the width of the prostate gland. D1 and D2 lines represent the height of the left and right prostatic lobes, respectively.

demonstrated asymmetric lobes, indicating a significantly higher occurrence of asymmetry in this group compared to the healthy dogs' group (Fig. 3). The proportion of asymmetric prostates was found to be substantially elevated (2.9 times) in the BPH group, with statistical significance ($p < 0.001$), indicating a strong association between BPH and asymmetrical prostate gland morphology.

Table 1: Mean ($\pm$ SD) values of prostate gland length, width, height and volume in dogs of two study groups.

Study groups	Prostatic length (cm)	Prostatic width (cm)	Prostatic height (cm)	Prostatic volume (cm ³)
BPH-affected	5.21 $\pm$ 0.27 ^a	5.20 $\pm$ 0.22 ^a	4.45 $\pm$ 0.15 ^a	74.66 $\pm$ 8.02 ^a
Healthy	3.43 $\pm$ 0.11 ^b	3.65 $\pm$ 0.19 ^b	3.49 $\pm$ 0.14 ^b	24.23 $\pm$ 2.5 ^b

Values with different letters within a column differ significantly from each other ($p < 0.001$).

Table 2: The parameters of Receiver Operating Characteristics (ROC) analysis.

Parameter	Prostatic length (cm)	Prostatic width (cm)	Prostatic height (cm)	Prostatic volume (cm ³)
Cutoff value	4.570	4.265	3.950	46.186
Sensitivity	0.679	0.857	0.786	0.786
Specificity	1.000	0.708	0.792	0.958
AUC area	0.875	0.855	0.815	0.923
Significance of the model	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$

Furthermore, in the BPH group, 18 out of 28 dogs (64.3%, 95% CI=45.8-79.3%) exhibited heterogeneous prostates, displaying variations in tissue composition and structural features. In contrast, only 4 out of 24 dogs in the healthy dogs' group (16.7%, 95% CI=6.7- 35.9%) showed heterogeneous prostates, indicating a significantly lower prevalence of heterogeneity in the healthy group (Fig. 3). The proportion of heterogeneous prostates was found to be significantly higher in the BPH group compared to the healthy group ($p < 0.001$).

Prostatic dimensions and volume as assessed by computed tomography: This study demonstrated a significant increase in prostate gland volume and dimensions (length, width, and height) in the BPH-affected male dogs group compared to the healthy dogs group ($p < 0.001$; Table 1). In the BPH group, the prostatic length, width, height and volume were 1.5, 1.4, 1.3 and 3.1 times higher, respectively, compared to the healthy group ($p < 0.001$).

The results of the Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis, presented in Fig. 4 and Table 2, demonstrate that all dimensions of the prostate gland allowed for a differentiation between healthy dogs and those affected by BPH. When volume of the prostate was equal to or exceeded 46.186cm³, the probability of classifying it as BPH-affected was 92.3% ($p < 0.001$). Furthermore, the length, width and height of the prostate also showed significant discriminatory capability in distinguishing healthy dogs from those with BPH. The probability of correct classification was slightly lower compared to using volume, with values of 87.5% for length, 85.5% for width and 81.5% for height ($p < 0.001$).

Prostatic measurements ratio to L6: In the present study, male dogs with confirmed BPH exhibited significantly higher mean ($\pm$ SD) values of rL6, rW6 and rH6, representing the prostatic length, width and height ratio to the length of the 6th lumbar vertebra body, respectively, compared to the healthy dogs group ($p < 0.001$; Table 3). Specifically, the ratio of rW6 was increased by 43.6% ($p < 0.001$), that of rH6 by 30.1% ($p < 0.001$) and for rL6 by 48.1% ($p < 0.001$).

Prostatic measurements ratio to pelvic inlet: In the present study, mean ppW (ratio between pelvic inlet width and prostate gland width) and ppH (ratio between pelvic inlet height and prostate gland height) were significantly higher in BPH-affected group compared to the healthy dogs group (Table 4). Furthermore, the study recorded a significant negative correlation between the age of all dogs

Table 3: Mean ($\pm$ SD) values of ratios between prostate gland dimensions and sixth lumbar vertebra body length in both study groups.

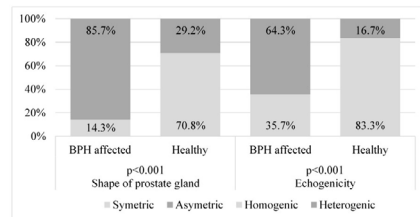
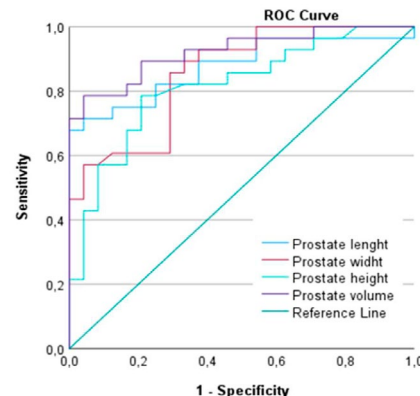
Study groups	rW6	rH6	rL6
BPH-affected	1.58 $\pm$ 0.44 ^a	1.34 $\pm$ 0.21 ^a	1.57 $\pm$ 0.48 ^a
Healthy	1.10 $\pm$ 0.29 ^b	1.03 $\pm$ 0.26 ^b	1.06 $\pm$ 0.16 ^b

Values with different letters within a column differ significantly from each other ($p < 0.001$).

Table 4: The mean ($\pm$ SD) values of ratios of prostate gland width and height with pelvic inlet width and height measurements in BPH-affected and healthy dogs groups.

Study groups	ppW	ppH
BPH-affected	1.02 $\pm$ 0.27 ^a	0.71 $\pm$ 0.13 ^a
Healthy	0.74 $\pm$ 0.19 ^b	0.57 $\pm$ 0.12 ^b

Values with different letters within a column differ significantly from each other ($p < 0.001$).

**Fig. 3:** Shape and echogenicity of the prostate gland in both study groups. Differences in %age of asymmetric and heterogenic glands between BPH-affected and healthy dogs are significant ($p < 0.001$).**Fig. 4:** Receiver Operating Characteristics (ROC) curves of prostate gland dimensions (length, width and height) and prostatic volume.

included in the study and the ratios of pelvic inlet width and width of the prostate gland ($r = -0.586$, $p < 0.001$). Similarly,

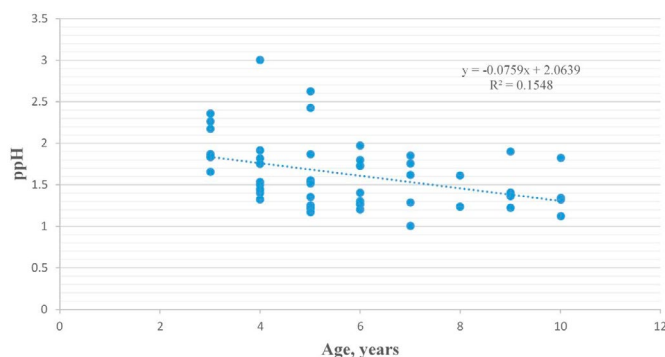


Fig. 5: Graphical diagram of scatter plot that represents the relationship of pelvic inlet height and prostate gland height (ppH) and the age of 52 intact male dogs ($p < 0.05$).

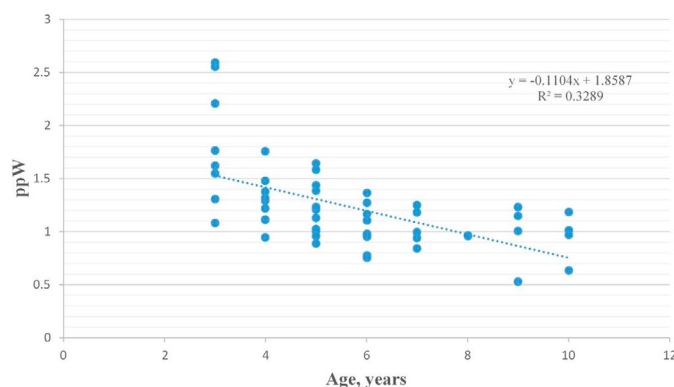


Fig. 6: Graphical diagram of scatter plot that represents the relationship of pelvic inlet width and prostate gland width (ppW) and the age of 52 intact male dogs ($p < 0.05$).

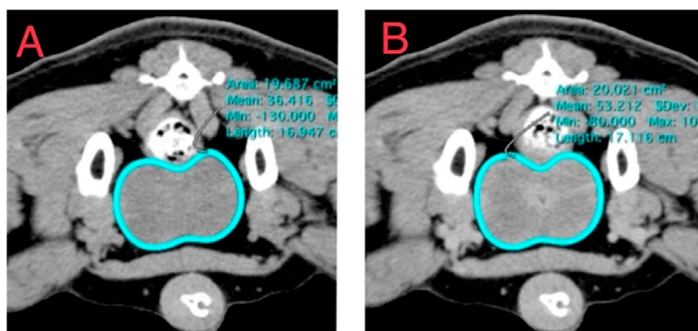


Fig. 7: Contrast phases of prostate gland. Region of interest (mint color line) was drawn using freehand software feature. A: Pre-contrast phase. B: Post-contrast phase.

Table 5: Mean ($\pm$ SD) Hounsfield Unit (HU) values of different contrast phases in prostate gland in BPH-affected and healthy dogs groups.

Study groups	Pre-contrast	Post-contrast
BPH group	64.18 $\pm$ 9.98	92.61 $\pm$ 1.83 ^a
Healthy group	67.83 $\pm$ 3.56	95.42 $\pm$ 2.34 ^b

Values with different letters within a column differ significantly from each other ($p < 0.001$).

negative correlation was found between pelvic inlet height and prostate gland height ($r = -0.489$, $p < 0.001$), as has been shown in Fig. 5 and 6.

Attenuation values in pre- and post-contrast phases:

The attenuation values obtained from the pre- and post-

contrast studies underwent comprehensive analysis in both study groups. In the pre-contrast studies, the statistical analysis yielded intriguing results, revealing non-significant difference between dogs of the two groups. However, in stark contrast, the post-contrast phase unveiled significant differences between the two study groups, mean HU value was higher in healthy dogs compared to BPH group ($p < 0.001$), signifying that the post-contrast attenuation values exhibited significant variations (Table 5). Moreover, to provide visual of the prostate gland in different contrast phases, illustrative images depicting pre- and post-contrast studies have been shown in Fig. 7.

DISCUSSION

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is a prevalent sex gland disease in aged male dogs, affecting more than 80% of males over 5 years old (Socha *et al.*, 2018). This disease may not cause noticeable symptoms at early stages, but when the prostate gland enlarges (prostatomegaly), certain signs like tenesmus, diarrhea, or difficulty in urinating (dysuria) may appear (Zelli *et al.*, 2013). Early diagnosis and management of BPH are essential, even in the absence of overt clinical signs, as approximately 95% of dogs with BPH do not show clinical signs of prostatic disease at 9 years of age (Memon, 2007). In our study, we focused on investigating the prostate gland in two groups of dogs: one group was affected with BPH but without clinical symptoms, and another group consisting of clinically healthy dogs.

Ultrasonographic examination of experimental dogs revealed that BPH was associated with a higher occurrence of asymmetric and heterogeneous prostates compared to healthy dogs, indicating distinct morphological differences between the two groups. This highlights the potential utility of prostate gland asymmetry and heterogeneity as indicators of BPH in male dogs. Similarly, Lévy *et al.* (2014) also focused on the appearance of the prostate gland in BPH-affected dogs. According to these workers, prostate gland changes in BPH-affected intact male dogs are often characterized by asymmetrical shapes of the lobes and hyperechogenic patterns in the parenchyma. It is interesting to note that in the present study 29.2% of healthy dogs also showed asymmetric glands. Moreover, 16.7% of healthy glands also had heterogenic prostate glands.

The enlargement of the prostate gland in BPH-affected dogs was evident through CT scanning in the present study, with a significant increase in length, width, height and volume of the gland compared to healthy dogs. Salonen *et al.* (2022) also emphasized the usefulness of CT imaging in assessing prostate gland volume in dogs with BPH and in healthy individuals. The observed significant differences in prostatic volume between BPH-affected and healthy dogs provide valuable insights into the impact of BPH on prostate gland enlargement. Ruel *et al.* (1998) and Atalan *et al.* (1999b) investigated prostate glands of healthy intact male dogs of various breeds, ages and weights, and reported average prostate gland volume ranging from 12 to 30 cm³. However, only healthy dogs were included in both these studies. In this regard, we used ROC analysis to distinguish a healthy prostate gland from one affected by BPH. Additionally, based on our results, we proposed threshold of prostatic volume for suspicions of BPH. This threshold of 46 cm³ could serve as a useful indicator for suspecting BPH in intact male dogs over 3 years of age and medium to large in size. However, the established threshold should be carefully considered since prostate gland size can vary significantly among individual dogs and is influenced by multiple factors (Nizański *et al.*, 2020). Therefore, while the threshold can provide valuable guidance, it is essential for veterinarians to take into account these individual variations when assessing the health status of the prostate gland in male dogs without any clinical signs.

Pasikowska *et al.* (2015) examined the prostate glands of 40 intact male dogs with varying age, breed, and weight using computed tomography. These authors categorized

the dogs into two groups: Group A comprised 20 healthy dogs without clinical signs, while Group B included 20 dogs diagnosed with BPH and exhibiting clinical symptoms associated with the disease. These workers found that prostatic hyperplasia was associated with higher ratios between L6 body length and prostatic length (rL6), width (rW6) and height (rH6) in the BPH-affected dogs compared to the healthy dogs ($p < 0.001$). Our study also indicated significantly higher mean ratios between rL6, rW6 and rH6 in the BPH-affected dogs compared to the healthy dogs. These findings emphasize the need to consider various factors when interpreting prostate gland measurements and their potential significance in diagnosing BPH in male dogs, especially in cases where the prostate gland and L6 can be observed during unrelated scanning.

In our research we also introduced a novel approach of applying partial pelvimetry to evaluate BPH-affected and healthy prostate glands. Pelvimetry is commonly used in human medicine to evaluate pelvic bone dimensions in women, particularly for assessing cephalopelvic disproportion and the risk of dystocia during childbirth (Nishikawa *et al.*, 2023). It has also been used in veterinary medicine for similar purposes (Eneroth *et al.*, 1999). Atalan *et al.* (1999b) conducted measurements of the pubic brim-sacral promontory distance and compared it with the measurements of prostate gland depth and length. This was one of the first attempts to use pelvic bones and explore the relationship between these measurements in order to assess potential correlations, providing valuable insights into the anatomical associations between the pubic brim-sacral promontory distance and the dimensions of the prostate gland. However, according to Choi *et al.* (2014), this method is subjective and inaccurate due to observer variability. Considering this limitation, we proceeded to evaluate the pelvic inlet and the prostate gland to understand the variability of the ratios between the measurements of both structures in BPH-affected and healthy dogs. By utilizing pelvic inlet measurements and comparing them with prostate gland dimensions, we tried to assess the potential association between these structures in male dogs. Our results showed that the higher ratios between pelvic inlet width and prostate gland width, as well as pelvic inlet height and prostate gland height, in BPH-affected dogs compared to healthy dogs, suggest a potential association between prostatomegaly and pelvic inlet dimensions.

Furthermore, results of this study revealed a significant negative correlation between the age of all dogs included in the study, irrespective of the health status of the prostate gland, and the ratios of ppH and ppW. This suggests that as dogs become aged, the ratios of pelvic inlet dimensions to prostate gland dimensions tend to decrease, indicating possible age-related changes in the relationship between pelvic inlet and prostate gland. One possible explanation for this observation is that as dogs become aged, the prostate gland may develop spontaneous hypertrophy, leading to changes in the measured ratios. Nonetheless, our investigation serves as an initial model for exploring the relationship between partial pelvimetry and prostatomegaly in male dogs. The study shows that this novel evaluation approach, using non-related CT imaging of the prostate gland and pelvic inlet, allows practitioners

to effectively assess potential suspicions for early stages of BPH.

Regarding contrast-enhanced CT imaging, our results revealed that the post-contrast phase significantly decreased the Hounsfield Unit (HU) values in BPH-affected dogs compared to healthy dogs. However, there was no statistically significant difference in HU values between dogs of two groups during the pre-contrast phase. According to Pasikowska *et al.* (2015), dogs diagnosed with BPH showed mean ($\pm$ SD) attenuation values of 56 ± 4.39 HU in the pre-contrast phase and 84 ± 8.03 HU in the post-contrast phase. Similarly, our study also showed increased attenuation from 64.18 ± 9.98 HU in pre-contrast phase to 92.61 ± 1.83 HU during post-contrast phase. These results support the notion that post-contrast attenuation values could serve as a distinguishing factor between BPH-affected and healthy dogs. The observed contrast enhancement patterns in the prostate gland may indicate vascular and tissue changes associated with BPH, further emphasizing the potential diagnostic relevance of this evaluation approach.

Conclusions: This study demonstrated the effectiveness of CT in assessing the prostate gland using multiple techniques. There were significant differences in the volume, contrast phases, and size measurements between healthy and diseased glands, with particular relevance to diagnosing benign prostatic hyperplasia (BPH). Notably, attenuation values proved valuable in determining presence of BPH. Additionally, measurements of the sixth lumbar vertebra and prostate gland dimensions exhibited significant differences between healthy and BPH-affected glands. Moreover, partial pelvimetry also yielded promising results in differentiating between BPH-affected and healthy male dogs. Overall, this study highlights the utility of diverse CT techniques in accurately evaluating the prostate gland and determining the need for invasive diagnostics in suspected cases of BPH. These findings enhance diagnostic capabilities and aid in decision-making for the management of BPH.

Acknowledgement: This study was partially funded by Lithuanian University of Health Sciences (A. Mickevičius g. 9, 44307 Kaunas, Lithuania) scientific funds (grant number: V-786).

Authors' contribution: The experiment was conducted by LT, JV and SJ. The materials were managed by SJ. Prostate gland sample collections and CT examinations were performed by LV, while JN carried out the cytological examinations. Statistical analysis was performed by KS. The manuscript was written by TL and reviewed by TD and ZH.

REFERENCES

- Alonge S, Melandri M, Leoci R, *et al.*, 2018. Canine prostate specific esterase (CPSE) as a useful biomarker in preventive screening programme of canine prostate: CPSE threshold value assessment and its correlation with ultrasonographic prostatic abnormalities in asymptomatic dogs. *Reprod Domest Anim* 53(2):359–64.
- Atalan G, Barr FJ and Holt PE, 1999a. Comparison of ultrasonographic and radiographic measurements of canine prostate dimensions. *Vet Radiol Ultrasound* 40(4):408–12.
- Atalan G, Holt PE and Barr FJ, 1999b. Ultrasonographic estimation of prostate size in normal dogs and relationship to body weight and age. *J Small Anim Pract* 40(3): 119–22.
- Caspanello T, Masucci M, Iannelli D, *et al.*, 2023. Prevalence and features of incidental findings in veterinary computed tomography: A single-center six-years experience. *Animals* 13:591; doi: 10.3390/ani13040591.
- Choi JY, Choi SY, Lee KJ *et al.*, 2014. Volumetric estimation of the prostate gland using computed tomography in normal Beagle dogs. *J Vet Clin* 31(3): 175–79.
- Eneroth A, Linde-Forsberg C, Uhlhorn M, *et al.*, 1999. Radiographic pelvimetry for assessment of dystocia in bitches: A clinical study in two terrier breeds. *J Small Anim Pract* 40(6):257–64.
- Flores RB, Angriman DSR, Rui BR, *et al.*, 2017. The influence of benign prostatic hyperplasia on sperm morphological features and sperm DNA integrity in dogs. *Reprod Domest Anim* 52(Suppl 2):310–15.
- Greco A, Meomartino L, Gnudi G, *et al.*, 2023. Imaging techniques in veterinary medicine. Part II: Computed tomography, magnetic resonance imaging, nuclear medicine. *Eur J Radiol Open* 10:100467; doi: 10.1016/j.ejro.2022.100467.
- Klansnoh U, Banlunara W and Choisunirachon N, 2018. Computed tomographic contrast enhancement and tumor angiogenesis in canine oral tumors. *Thai J Vet Med* 48(4): 573–81.
- Kuhnt N, Harder LK, Nolte I, *et al.*, 2020. Computed tomographic features of the prostatic gland in neutered and intact dogs. *BMC Vet Res* 16(1):156; doi: 10.1186/s12917-020-02374-8.
- Lévy X, Nizański W, Von Heimendahl A, *et al.*, 2014. Diagnosis of common prostatic conditions in dogs: An update. *Reprod Domest Anim* 49:50–57.
- Leroy C, Conchou F, Layssol-Lamour C, *et al.*, 2013. Normal canine prostate gland: Repeatability, reproducibility, observer-dependent variability of ultrasonographic measurements of the prostate in healthy intact Beagles. *Anat Histol Embryol* 42(5):355–61.
- Mantzias G, 2020. Imaging of the male reproductive tract: Not so easy as it looks like. *Theriogenology* 150:490–97.
- Memon MA, 2007. Common causes of male dog infertility. *Theriogenology* 68(3): 322–28.
- Mukaratirwa S and Chitura T, 2007. Canine subclinical prostatic disease: Histological prevalence and validity of digital rectal examination as a screening test. *J S Afr Vet Assoc* 78:66–68.
- Nishikawa S, Miki M, Chigusa Y, *et al.*, 2023. Obstetric pelvimetry by three-dimensional computed tomography in non-pregnant Japanese women: A retrospective single-center study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 36(1):2190444; doi: 10.1080/14767058.2023.2190444.
- Nizański W, Ochota M, Fontaine C, *et al.*, 2020. B-mode and doppler ultrasonographic findings of prostate gland and testes in dogs receiving Deslorelin acetate or Osaterone acetate. *Animals* 10:1–31.
- Pasikowska J, Hebel M, Nizański W, *et al.*, 2015. Computed tomography of the prostate gland in healthy intact dogs and dogs with benign prostatic hyperplasia. *Reprod Domest Anim* 50(5):776–83.
- Ruel Y, Barthez PY, Mailles A, *et al.*, 1998. Ultrasonographic evaluation of the prostate in healthy intact dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 39(3):212–16.
- Russo M, Vignoli M and England GCW, 2012. B-mode and contrast-enhanced ultrasonographic findings in canine prostatic disorders. *Reprod Domest Anim* 47:238–42.
- Salonen HM, Ahlberg TM, Laitinen-Vapaavuori OM, *et al.*, 2022. CT measurement of prostate volume using OsiriX® viewer is reliable, repeatable, and not dependent on observer, CT protocol, or contrast enhancement in dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 63(6):729–38.
- Smith J, 2008. Canine prostatic disease: A review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. *Theriogenology* 70(3):375–83.
- Socha P, Zdunicki S, Tobolski D, *et al.*, 2018. The effects of Osaterone acetate on clinical signs and prostate volume in dogs with benign prostatic hyperplasia. *Pol J Vet Sci* 21(4):797–802.
- Teske E, 2009. Urogenital cytology: Part I-prostatic diseases. In: *Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress*, San Pablo, Brazil, P 5.
- Wilson EB, 1927. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *J Am Stat Assoc* 22(158):209–12.
- Zelli R, Orlandi R, Troisi A, *et al.*, 2013. Power and pulsed doppler evaluation of prostatic artery blood flow in normal and benign prostatic hyperplasia-affected dogs. *Reprod Domest Anim* 48(5):768–73.

CURRICULUM VITAE

Name, surname:

Tomas Laurusevičius

Date of birth:

09/04/1991

Office:

Lithuanian University of Health Sciences,
Veterinary Academy, Large Animal Clinics,
Reproduction Laboratory
(Tilžės st. 18, LT-47181, Kaunas, Lithuania)

Education:

2018 – present

Resident at European College of Animal Reproduction.

September 2018–
September 2024

PhD student, Lithuanian University of Health Sciences,
Veterinary Academy, Large Animal Clinics.

September 2016 –
September 2017

Rotational internship program under EVBS supervision on
animal reproduction and biotechnologies under the guidance
of ECAR diplomates, “Tierarztpraxis Schönöw”, Bernau bei
Berlin, Germany.

September 2010 –
March 2016

Master of veterinary medicine degree, Lithuanian University of
Health Sciences, Veterinary Academy.

Work experience:

September 2020 –
present

CEO of small animal reproduction services platform
“Reprovetas”

June 2023 –
October 2023

University lecturer and scientific worker, Faculty of Veterinary
Medicine, University of Ghent, Ghent, Belgium.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju darbo vadovui prof. habil. dr. Henrikui Žilinskui už suteiktas galimybes, pasitikėjimą, palaikymą ir vertingus patarimus rengiant disertaciją.

Dėkoju doc. dr. Jakovui Šengaut ir kolegei dr. Viktorijai Latvis už pagalbą, vertingas pastabas bei finansinę paramą atliekant dalį mokslinių tyrimų.

Esu dėkingas LSMU Mokslo fondo valdybai už suteiktą finansinę paramą daliai suplanuotų tyrimų įgyvendinti.

Nuoširdžiai dėkoju Gento universiteto Veterinarijos fakulteto Smulkiųjų gyvūnų reprodukcijos skyriaus vadovei prof. dr. Ann Van Soom bei visam skyriaus kolektyvui už reikšmingą indėlį vykdant mokslinius tyrimus, rengiant publikacijas ir konsultuojant disertacijos rašymo metu.

Taip pat reiškiu padėką visiems mokslinių publikacijų bendraautoriams, tyrimuose dalyvavusių gyvūnų šeimininkams bei visiems, prisidėjusiems prie disertacijos rengimo.

Ypatingą padėką skiriu savo šeimai, o ypač tėčiui dr. Sauliui Aidiui Laurusevičiui – už nepaliaujamą palaikymą ir įkvepiančias diskusijas, kurios tapo neatsiejama šio darbo dalimi.

Esu be galo dėkingas savo draugei Ramintai už kantrybę, supratingumą ir begalinį palaikymą išlikti atkakliam ir siekti užsibrėžto tikslo.

Galiausiai, nuoširdžiai dėkoju visiems draugams ir kolegoms, kurių moralinis palaikymas buvo itin svarbus šiame ilgame ir sudėtingame kelyje. Jūsų parama man neįkainojama. Ačiū!