



Finns det en association mellan hundens prostatastorlek och serumkoncentrationen av totalt testosteron, sexualhormonbindande globulin (SHBG) eller fritt androgenindex (FAI)?

Is there an association between the size of the canine prostate and total testosterone, Sex Hormone Binding Globulin (SHBG) or Free Androgen Index (FAI)?

Sanna Nilsson

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2022



Finns det en association mellan hundens prostatastorlek och serumkoncentrationen av totalt testosteron, sexualhormonbindande globulin (SHBG) eller fritt androgenindex (FAI)?

Is there an association between the size of the canine prostate and total testosterone, Sex Hormone Binding Globulin (SHBG) or Free Androgen Index (FAI)?

Sanna Nilsson

Handledare: Bodil Ström Holst, Sveriges lantbruksuniversitet, Institution för kliniska vetenskaper

Examinator: Ann-Sofi Bergqvist, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: A2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0869

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2022

Omslagsbild: Sanna Nilsson

Nyckelord: prostatahyperplasi, testosteron, SHBG, FAI, hund

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap (VH)

Institutionen för kliniska vetenskaper (KV)

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

<https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

Prostatahyperplasi (PH) är den vanligaste prostatopatologin som drabbar den åldrande intakta hanhunden. Sjukdomen kan orsaka obehag och smärta för hunden, främst i samband med defekering, men har även visat sig öka risken för att utveckla andra prostatalidanden. Patogenesen bakom sjukdomen är inte fullständigt klarlagd, men tidigare forskning pekar på att hormoner såsom androgener och östrogener samt relationen mellan dessa har en betydande roll i utvecklingen av PH. I den här studien har därför korrelationen mellan hundens prostatastorlek och totalt testosteron, sexualhormonbindande globulin (SHBG) och fritt androgenindex (FAI) undersökts.

Studien baseras på 79 intakta hanhundar som medverkade i en annan studie från 2014. I den här studien användes tidigare information om hundarna samt serumprover tagna 2014. Kompletterande serumanalys av totalt testosteron och SHBG genomfördes. Därefter räknades FAI ut genom S-totalt testosteron/S-SHBG.

Någon signifikant association mellan prostatastorleken och totalt testosteron, SHBG eller FAI kunde ej påvisas. Däremot sågs en svag korrelation mellan ökad prostatavolym och högre värde av SHBG nära signifikansnivån ($p=0,066$). En signifikant korrelation mellan hundens vikt och SHBG samt mellan hundens vikt och FAI observerades. Större hundar hade högre serumkoncentration av SHBG och lägre FAI-värde jämfört med små hundar. Dessutom påvisades en signifikant korrelation mellan stigande ålder och sjunkande nivåer av totalt testosteron.

Slutsatsen av studien är att SHBG varken har bekräftats eller uteslutits som en inverkan faktor i patogenesen bakom PH. SHBG har visat sig stimulera prostatacellernas aktivitet hos hundar och är därför ett intressant protein att studera vidare. Mer forskning avseende SHBG och FAI hos hund behövs.

Nyckelord: prostatahyperplasi, testosteron, SHBG, FAI, hund

Abstract

Prostatic hyperplasia (PH) is the most common prostatic disease among aging intact male dogs. The disease can cause discomfort and pain, mainly when the dog is defecating, but has also shown to increase the risk of developing other prostatic diseases. The pathogenesis of the disease is not completely clarified. Previous research indicates that hormones such as androgens, estrogens, and the relationship between those play a major role in the development of PH. The relationships between the size of the canine prostate and total testosterone, Sex Hormone Binding Globulin (SHBG), and Free Androgen Index (FAI) have therefore been investigated in this study.

The study included 79 intact male dogs which participated in another study from 2014. In this study, previous information about the dogs and serum samples from 2014 were used. Complementary serum assays of total testosterone and SHBG were performed. FAI was then calculated by S-total testosterone/S-SHBG.

No significant association between the size of the prostate and total testosterone, SHBG, or FAI was shown. However, a weak correlation between increased prostatic volume and a higher concentration of SHBG was trending towards significance ($p=0,066$). A significant correlation between the dogs' weight and SHBG as well as the dogs' weight and FAI was observed. Furthermore, a significant correlation between increased age and decreased levels of total testosterone was found.

This study concludes that SHBG could not be confirmed to be involved in the pathogenesis behind PH. SHBG has been shown to stimulate the cells of the prostate in dogs, due to that it is still an interesting protein to study further. More research regarding SHBG and FAI in dogs is needed.

Keywords: prostatic hyperplasia, testosterone, SHBG, FAI, dog

Innehållsförteckning

| | |
|---|-----------|
| Förkortningar | 8 |
| 1. Inledning | 9 |
| 2. Litteraturöversikt | 11 |
| 2.1. Könshormoner | 11 |
| 2.1.1. Testosteron | 11 |
| 2.1.2. SHBG | 14 |
| 2.2. Prostatas anatomi och fysiologi | 15 |
| 2.2.1. Prostatas hormonella reglering | 16 |
| 2.3. Prostatahyperplasi | 16 |
| 2.3.1. Patogenes | 17 |
| 2.3.2. Kliniska tecken | 18 |
| 2.3.3. Diagnostik | 19 |
| 2.3.4. Behandling | 21 |
| 3. Material och metod | 23 |
| 3.1. Medverkande hundar (prover insamlade 2014) | 23 |
| 3.2. Ultraljud (undersökningar gjorda 2014) | 23 |
| 3.3. Analys av totalt testosteron | 24 |
| 3.4. Analys av SHBG | 24 |
| 3.5. Beräkning av FAI | 24 |
| 3.6. Statistisk bearbetning | 24 |
| 4. Resultat | 26 |
| 4.1. Testosteron, SHBG och FAI | 26 |
| 4.2. Samband med beräknad prostatavolym (V) och relativ prostatastorlek (S_{rel}) | 26 |
| 4.3. Samband med övriga parametrar | 27 |
| 4.3.1. Hundens vikt | 27 |
| 4.3.2. Hundens ålder | 28 |
| 4.4. Övrigt | 29 |
| 5. Diskussion | 31 |
| Referenser | 33 |
| Tack | 39 |
| Populärvetenskaplig sammanfattning | 40 |
| Bilaga 1 | 42 |

Förkortningar

| | |
|------|------------------------------------|
| AR | Androgenreceptorn |
| BPH | Benign prostatahyperplasi |
| CPSE | Canine Prostatic Specific Esterase |
| DHT | Dihydrotestosteron |
| ER | Östrogenreceptorn |
| FAI | Fritt androgenindex |
| FNA | Finnålsaspirat |
| FSH | Follikelstimulerande hormon |
| GnRH | Gonadotropinfrisättande hormon |
| LH | Luteiniserande hormon |
| PH | Prostatahyperplasi |
| SHBG | Sexualhormonbindande globulin |

Illustrationer

Alla illustrationer i arbetet är konstruerade av författaren i samarbete med Jakob Skogby Steinholtz.

1. Inledning

Prostatahyperplasi (PH) eller benign prostatahyperplasi som det också kallas är en vanlig prostatopatologi som drabbar den åldrande intakta hanhunden. Utvecklingen sker spontant och involverar både cellulär hyperplasi och hypertrofi (Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Vid 6 års ålder har nästan 100 % av intakta hanhundar utvecklat PH (Berry *et al.* 1986b). Alla drabbade hundar uppvisar ej kliniska tecken på sjukdom, utan det sker vanligtvis inte förrän prostata är så stor att den trycks dorsalt mot rektum och orsakar kompression (Barsanti & Finco 1986; Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Drabbade hundar kan få problem i samband med defekering, såsom tillplattad och smal avföring, förstoppning eller smärtsamma tenesmer. En ökad risk för att utveckla kronisk bakteriell prostatit finns dokumenterad för hundar med PH (Kutzler 2017).

Prostatas normala funktion och tillväxt är beroende av androgenen dihydrotestosteron (DHT), en metabolit av testosteron (Noakes *et al.* 2009; Kutzler 2017). Kastrerade hanhundar saknar testosteron och därmed även DHT vilket leder till atrofi av prostatan (Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Stigande ålder leder normalt till sänkta nivåer av testosteron (Brendler *et al.* 1983). Detta borde innebära att prostatas tillväxt upphör eftersom nivåerna av DHT som en konsekvens också sjunker. Trots sänkta androgennivåer är stigande ålder ofta associerat med PH. Nivåerna av östrogen i blodet förblir stabila eller till och med förhöjda med åldern, vilket medför en förändring i östrogen/androgen-kvoten (O'Shea 1962; Cochran *et al.* 1981 se Paclikova *et al.* 2006). En högre östrogen/androgen-kvot har påvisats hos hundar med PH jämfört med friska hundar (Wolf *et al.* 2012; Brendler *et al.* 1983). Patogenesen bakom PH är ej fullständigt klarlagd, men både androgener, östrogen och relationen mellan dessa tycks spela en betydande roll i sjukdomsutvecklingen.

Endast 2 % av testosteronet i blodet förekommer i fri och aktiv form. Resterande andel testosteron transporteras bundet till transportproteiner, vilka är sexualhormonbindande globulin (SHBG) och albumin. En kvot mellan totalt testosteron och SHBG som kallas fritt androgenindex (FAI) kan räknas ut för att estimeras mängden obundet testosteron.

Tidigare studier har ej kunnat påvisa någon skillnad i serumkoncentrationen av testosteron mellan normala hundar och hundar med PH (Wolf *et al.* 2012; Lloyd *et al.* 1975; Cochran *et al.* 1981). Både SHBG och FAI är i dagsläget förhållandevis ostuderat på hund. I en studie har en signifikant korrelation mellan sjunkande FAI och stigande ålder hos hanhundar påvisats (Wallander 2021). I en annan studie har SHBG visats öka prostatacellernas aktivitet indirekt hos både hundar och människor (Nakhla *et al.* 1995).

Syftet med den här studien är att undersöka om det finns något samband mellan prostatastorleken och FAI. Sambandet mellan serumnivåerna av SHBG och prostatastorleken undersöks också. Hypotesen är att det finns ett samband, eftersom hormoner verkar vara en betydande faktor i patogenesen bakom PH. Då detta ej har undersökts tidigare kommer studien, oavsett resultat kunna bidra till att kunskapen om PH ökar. Att kartlägga bakomliggande sjukdomsmekanismer är viktigt för att kunna identifiera möjliga biomarkörer i framtiden. Med hjälp av biomarkörer kan PH detekteras i god tid och förebyggande åtgärder kan vidtas i ett tidigare sjukdomsskede. Om det görs innan kliniska tecken hinner utvecklas kommer en ökad livskvalité kunna uppnås för den åldrande hanhunden.

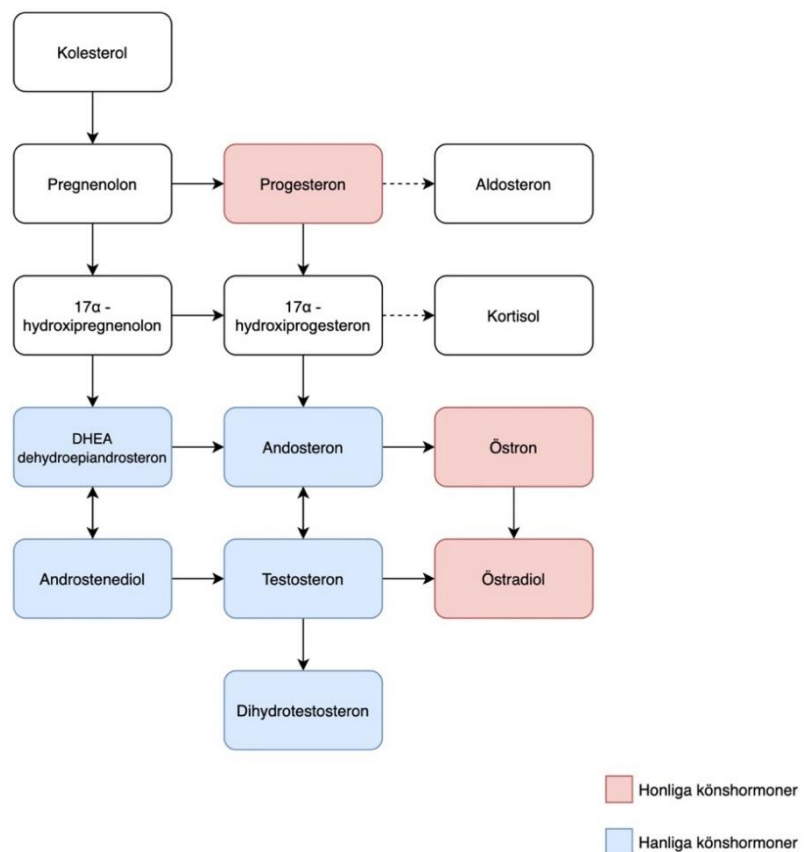
2. Litteraturöversikt

2.1. Könshormoner

Könshormoner är steroidhormoner och kan delas in i hanliga könshormoner och honliga könshormoner (Sjaastad *et al.* 2010). De hanliga könshormonerna kallas androgener och dessa bildas huvudsakligen i testiklarna medan de honliga könshormonerna; östrogener och progesteron huvudsakligen bildas i äggstockarna. I själva verket förekommer båda sorterna hos respektive kön, men funktionen liksom hormonnivåerna skiljer sig åt mellan könen. På samma sätt som övriga steroidhormoner syntetiseras könshormonerna från kolesterol genom ett antal enzymatiska reaktioner (se figur 1).

2.1.1. Testosteron

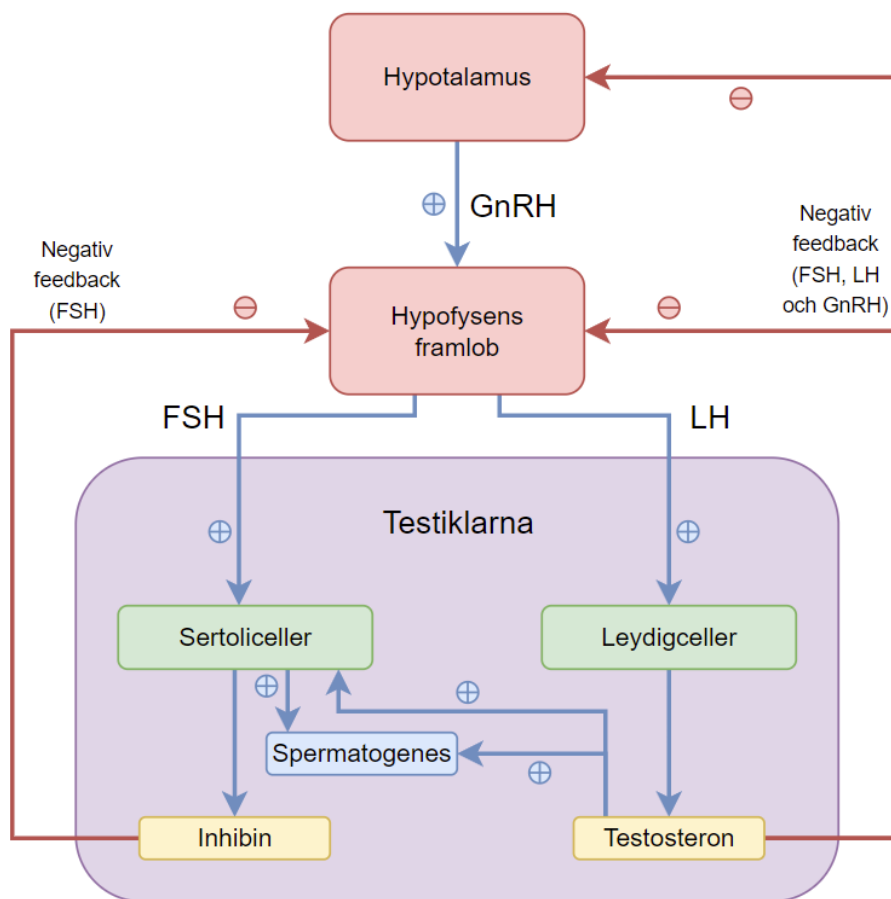
Testosteron är den androgen som produceras i störst kvantitet hos handjur och är viktig för bland annat spermieproduktionen, könsdriften, utvecklingen av de hanliga könsorganen och könskaraktären samt tillväxt av skelett och muskulatur (Sjaastad *et al.* 2010). Syntesen och sekretionen av testosteron sker i testiklarnas leydigceller.



Figur 1. Förenklad bild över steroidogenesen hos däggdjur, med fokus på könshormonerna.

Hormonell reglering

Gonadotropinfrisättande hormon (GnRH) bildas av neuroendokrina celler i hypotalamus (Sjaastad *et al.* 2010). Utsöndringen av GnRH reglerar sekretionen av gonadotropinerna luteiniserande hormon (LH) och follikelstimulerande hormon (FSH) från hypofysens framlob. När plasmanivåerna av LH ökar och hormonet binder in till receptorer i leydig-cellernas cellmembran utlöses en kaskadreaktion som stimulerar bildningen av testosteron. Prolaktin är ett annat hormon som visat sig stimulera testosteronproduktion i leydig-cellerna genom synergieffekt med LH (Feldman & Nelson 2004). Tillsammans med FSH verkar testosteron på testiklarnas sertoliceller, vilket stimulerar spermatogenesisen. Sertolicellerna producerar inhibin vilket hämmar frisättningen av FSH från hypofysen. Testosteron kontrollerar utsöndringen av GnRH, FSH och LH genom negativ återkopplingseffekt på hypotalamus och hypofysen (se figur 2).



Figur 2. Schematisk bild över den hormonella regleringen av testosteron.

Hos handjur utsöndras GnRH pulsatilt med ungefär 4-12 pulser per dag (Sjaastad *et al.* 2010). Plasmakoncentrationen av LH följer samma pulsatila mönster och når en koncentrationstopp ungefär 30 minuter efter GnRH pulsen. Inom 60 minuter

följs LH-pulsen av en testosteron-puls (Rijnberk & Kooistra 2010). En dygnsvariation av hormonerna finns också beskriven på hund med nivå toppar av LH på eftermiddagen och testosteron på kvällen. Plasmakoncentrationen av testosteron kommer alltså fluktuera brett under ett dygn på grund av den pulsatila utsöndringen och dygnsvariationen.

Verkningsmekanism

Testosteron kan ombildas till den mer biologiskt aktiva formen dihydrotestosteron (DHT) i andra vävnader såsom prostata, lever och hud (Swerdloff *et al.* 2017). Både testosteron och DHT binder in till androgenreceptorn (AR) och utövar samma effekt (Feldman & Nelson 2004). DHT är däremot dubbelt så potent som testosteron på grund av dess höga affinitet för AR och långsamma hastighet för dissociation. Androgener som binder in till AR har beskrivits utöva sin effekt antingen genom transkription av vissa gener eller genom initiering av intracellulär signaltransduktion (Davey & Grossman 2016). Aktivitet utan ligand finns också beskriven för receptorn. AR förekommer i olika vävnader hos handjur och har visat sig ha betydande funktion i benvävnad, fettvävnad, muskler, hjärnan, kardiovaskulära systemet, immunsystemet och prostata.

En del av det bildade testosteronet diffunderar till testikelns sertoliceller där det omvandlas till östradiol genom enzymet aromatas (Devey & Grossman 2016). Aromatas har påvisats i andra vävnader såsom fettvävnad, benvävnad och prostata (Rijnberk & Kooistra 2010). Östrogener binder in till östrogenreceptorn (ER) som uttrycks i celler från flera olika vävnader, däribland hjärnan, levern och reproduktionsorganen (Hess & Cooke 2018). Östrogener och deras receptor är viktiga för den hanliga fertiliteten och reproduktiva funktionen.

Cirkulerande testosteron

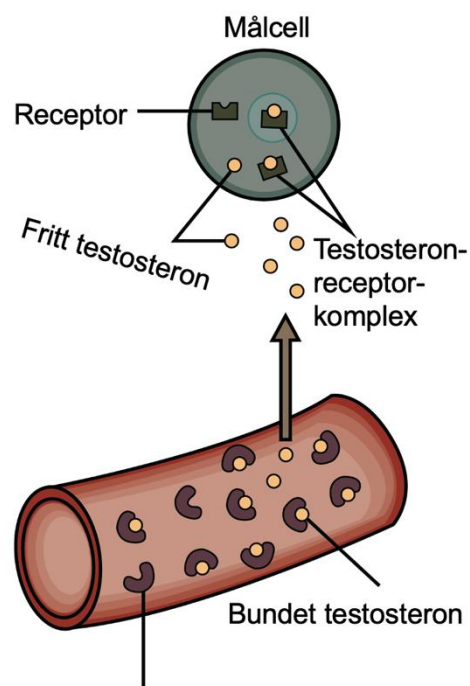
I blodet transporteras testosteron bundet till transportproteiner, vilka är sexualhormonbindande globulin (SHBG) och albumin (Sjaastad *et al.* 2010). Endast cirka 2 % av den totala koncentrationen testosteron i blod förekommer i obunden och aktiv form. Den fria fraktionen testosteron kan diffundera från blodet till interstitialvätskan och interagera med måcellerna, till skillnad från bundet testosteron som ej kan tränga igenom kapillärväggen på grund av dess stora volym (se figur 3). Det är endast fritt testosteron som medverkar i regleringen av testosteronsekretionen. Transportproteinerna fungerar som hormonreservoar i blodet. När fritt hormon förbrukas och dess koncentration i blodet minskar, sker spjälkning av testosteron-transportproteinkomplexen. Nivån av fritt testosteron kommer således förbli nära oförändrad. Ungefär hälften av transportproteinernas bindningskapacitet används under normala förhållanden, vilket möjliggör att resten kan verka som hormonbuffert. Vid plötslig och stor mängd hormonutsöndring skyddas på så sätt

kroppen mot eventuell sekundär påverkan. Transportproteiner ökar också hormoners halveringstid i blodet genom att motverka enzymatisk nedbrytning och utsöndring via njurarna.

De flesta hormonanalyser mäter totala plasmakoncentrationen av testosteron (Sjaastad *et al.* 2010). Normalvariationen av testosteronkoncentrationen i plasma hos hund är 0,4-10 ng/ml (Feldman & Nelson 2004). Nivåerna testosteron i blodet är 50-100 gånger lägre än i testiklarna, vilket innebär att nivåerna som uppmäts i blodet varken är användbara för att återspegla förändringar i testiklarnas testosteronproduktion eller för att utvärdera spermieproduktionen. Ett enstaka blodprov är dessutom av begränsat värde på grund av att koncentrationen av testosteron fluktuerar oförutsägbart över dygnet. Om mängden transportprotein är onormal kan värdet av den totala koncentrationen testosteron vara missvisande (Sjaastad *et al.* 2010). Detta kan undvikas genom att mäta den fria koncentrationen av testosteron direkt eller genom att beräkna kvoten utifrån koncentrationen totalt testosteron och koncentrationen transportprotein (Matsumoto & Bremner 2004).

2.1.2. SHBG

Precis som övriga transportproteiner, produceras SHBG i levern (Sjaastad *et al.* 2010). SHBG har hög affinitet för könshormoner och är det primära transportproteinet för könshormoner i blodet (Li *et al.* 2016; Ding *et al.* 1998). SHBG har 5 gånger så hög affinitet för testosteron som för östrogener (Kindi *et al.* 2012). Att transportera hormon till dess målceller har sedan länge beskrivits som SHBGs funktion, men på senare år har kunskapen om transportproteinet breddats (Rosner *et al.* 2010). En specifik receptor för SHBG (R-SHBG) har påvisats på cellmembranet för celler tillhörande prostata, testikeln, epididymis och endometriet, det vill säga vävnader där könshormonerna normalt utövar sin effekt (Willnow & Nykjaer 2010; Rosner *et al.* 2010). Vidare sammanfattar Rosner *et al.* (2010) att R-SHBG endast binder SHBG som ej är bundet till något hormon. SHBG-R-SHBG-



Sexualhormonbindande globulin (SHBG)

Figur 3. Schematisk bild över hur testosteron transporteras i blodet bundet till sexualhormonbindande globulin (SHBG). Endast fritt testosteron kan diffundera genom kapillärväggen och interagera med målceller.

komplexet kan aktiveras av en agonist, vilket genererar intracellulär aktivitet. I prostatavävnad hos hund och människa har två agonister påvisats, vilka är 5 alpha-androstane-3 alpha, 17 beta-diol (en metabolit av DHT) samt 17 beta-östradiol (Nakhla *et al.* 1995). Den intracellulära produktionen av cAMP ökar när någon av steroiderna binder in till SHBG-R-SHBG-komplexet på prostataceller. Uppföljande studier har gjorts där det finns stöd för att inbindningen indirekt kan aktivera AR i prostata hos hund (Ding *et al.* 1998). Andra studier har visat att SHBG har en viktig intracellulär funktion i regleringen av testosteronets verkan inuti cellen (Li *et al.* 2016; Hong *et al.* 2011). SHBG har föreslagits som en potentiell biomarkör för human prostatacancer då höga nivåer av SHBG ökar risken för prostatacancer trefaldigt (Garcia-Cruz *et al.* 2013). En studie visade att koncentrationen av SHBG hos råttor ökar med åldern i både serum och prostatavävnad (Li *et al.* 2015).

FAI

Genom att mäta SHBG kan man räkna ut fritt androgenindex (FAI), vilket används för att uppskatta den fria fraktionen testosteron. FAI är en kvot som räknas ut enligt totaltestosteron/SHBG (Matsumoto & Bremner 2004). På humansidan anses FAI användbart och rekommenderas vid utredning av tillståndet hyperandrogenism hos kvinnor (Kindi *et al.* 2012). Hos män är referensintervallet för FAI oberoende av åldern 0,17-1,19, enligt Deutschbein *et al.* (2015). Författarna tog även fram åldersberoende intervall för FAI. Normalvärdet av FAI var högre hos yngre män jämfört med äldre. I en studie har en signifikant korrelation mellan sjunkande FAI och stigande ålder hos hanhundar påvisats (Wallander 2021).

2.2. Prostatas anatomi och fysiologi

Prostata, även kallad blåshalskörtel är hundens enda accessoriska könskörtel. Prostata är en semioval bilobulär exokrin körtel som omsluter urinrörets proximala del och är belägen i bäckenhålan eller kaudala delen av bukålan beroende på hanhundens ålder (Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Prostata består av två lobber, vilka åtskiljs av ett bindvävsseptum som löper medialt (Evans & de Lahunta 2013). Dorsalt och ventralt ses denna uppdelning som en fåra i prostatas mittlinje. Prostata omges även av en tjock fibromuskulär kapsel som delvis utgår från urinblåsans vägg. Prostatas två lobber delas upp i flertalet mindre lobuli som skiljs åt av stromal vävnad. Varje lobuli består av organiserade tubuloalveolära körtlar som mestadels utlinjeras av cylinderepitel och mynnar ut i uretra. Hundens prostata är till skillnad från människans ej histologiskt uppdelad i zoner, utan är en enda homogen massa huvudsakligen bestående av sekretorisk körtelvävnad (Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019).

Prostatas primära funktion är att producera prostatavätska, vilken utgör den största delen av ejakulatets totala volym och utsöndras framför allt i ejakulatets tredje fraktion (Barsanti & Finco 1986). Prostatavätskans funktion är att underlätta för spermier och deras transport vid ejakulation. Sekretet består av en del proteiner och andra ämnen såsom citrat, laktat och kolesterol. (Evans & de Lahunta 2013). Kunskapen om hundens prostatavätska och dess olika komponenter är begränsad. Umbach *et al.* (2018) hävdar att de studier som finns att tillgå är gamla och baserade på ett fåtal djur (Quinn *et al.* 1965; Wales & White 1965). Vidare menar Umbach *et al.* att andra studier varierar gällande insamlingsmetod, analysmetod och förvaring av prostatavätskan. Till skillnad från människa och andra djurslag saknar hundens prostatavätska fruktos, vilket fungerar som ett substrat för spermiers energiomställning i vanliga fall. Vilket energisubstrat hundens spermier använder sig av är ej klarlagt (Hansel & McEntee 1977 se Evans & de Lahunta 2013).

2.2.1. Prostatas hormonella reglering

Hundens prostata är, precis som människans, beroende av kontinuerlig tillförsel av androgener för att bibehålla normal cellmängd och funktionell aktivitet (Isaacs 1982). Testosteron är ett prohormon för den mer aktiva androgenen DHT som stimulerar prostatas funktion och tillväxt (Noakes *et al.* 2009; Kutzler 2017). Kastrerade hundar saknar testosteron och därmed även DHT vilket leder till atrofi av prostatan (Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Hos hund sjunker serumkoncentrationen av testosteron med stigande ålder. Trots att testosteronnivåerna sjunker är stigande ålder ofta associerat med ökad cellproliferation i prostata (Brendler *et al.* 1983).

Testosteron omvandlas till DHT i prostata genom enzymet 5alpha-reduktas. Det verkar förekomma två isoenzymer av 5alphareduktas, typ I och typ II. Johnston *et al.* (2000) sammanfattar dagens kunskapsläge om dessa enzymer och påstår att typ II alpha reduktas förekommer i prostata, bitestikeln, sädesblåsa och huden i genitala områden hos människor, medan typ I endast förekommer i huden som ej är lokaliserad runt genitala områden. Både typ I och typ II har påvisats i hundens prostata, men det finns inga uppgifter om mängd eller lokalisering i prostatan av respektive isoenzym.

2.3. Prostatahyperplasi

Prostatahyperplasi (PH) eller benign prostatahyperplasi (BPH) som det också kallas är den vanligaste prostatapatologin hos hundar och drabbar den åldrande intakta hanhunden (Bibin Becha *et al.* 2017). Hyperplasi används för att beskriva en godartad, alltså benign tillväxt av ett organ, därför anses "benign" vara en överflödig

term för att beskriva tillståndet (Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Trots att ”benign prostatahyperplasi” är en internationellt accepterad term inom litteraturen kommer termen ”prostatahyperplasi” fortsättningsvis användas i detta arbete med syfte att benämna tillståndet med korrekt terminologi.

PH utvecklas spontant och är en del av hanhundens normala åldrande (Johnston *et al.* 2000; Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). En studie visar att 16 % har utvecklat PH vid 2 års ålder och 50 % har utvecklat sjukdomen vid 4-5 års ålder (Berry *et al.* 1986a). En annan studie har visat att prevalensen ökar till nästan 100 % efter 6 års ålder (Berry *et al.* 1986b). Slutsatsen blir att majoriteten av alla intakta hanhundar mest troligt utvecklar PH förr eller senare.

PH innefattar både cellulär hyperplasi och hypertrofi dvs både att cellerna ökar i antal och storlek (Kutzler 2017). Histologiskt ses två former av PH, nämligen glandulär hyperplasi och komplex hyperplasi (Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Den glandulära formen övergår i den komplexa formen med tiden (Berry *et al.* 1986a). I den glandulära formen ses en ökning av sekretoriskt epitel, varje lobuli är större och mer grenad än vad som ses i normal prostatavävnad (Brendler *et al.* 1983). Den komplexa formen karaktäriseras av cystbildning som histologiskt yttrar sig som dilaterade alveoli med eosinofilt innehåll. I den komplexa formen ses även områden med ökad mängd stroma bestående av glatt muskulatur och kollagen samt atrofiskt körtelepitel.

Prostata sjukdomar inklusive PH drabbar hundar av alla raser (Paclikova *et al.* 2006). En högre incidens finns rapporterad hos Rhodesian Ridgeback (Beining *et al.* 2019). Skotsk terrier verkar vara en predisponerad ras (Kutzler 2017). Detta kan bero på att skotsk terrier rapporterats normalt ha större prostata än andra raser av samma storlek (McLauchlan & Ramsey 2008). I en retrospektiv studie kunde en högre prevalens av prostata sjukdomar observeras hos stora raser såsom tysk schäferhund, labrador retriever, belgisk vallhund, sankt bernhardshund och grand danois (Bibin Becha *et al.* 2017). Den vanligaste prostatopatologin (74,21 %) som observerades bland hundarna var PH.

2.3.1. Patogenes

Den exakta patogenesen bakom PH är inte fullständigt fastställd, men hundens ålder och hormonell påverkan av framförallt testosteron, DHT samt cirkulerande östrogener tros spela en betydande roll för sjukdomsutvecklingen (McLauchlan & Ramsey 2008). PH kan induceras experimentellt genom behandling med antingen DHT eller 5 alpha-androstane-3 alpha, 17 beta-diol, ensamt eller i kombination med 17 beta-östradiol. Den experimentellt inducerade formen är identisk med den naturliga formen av PH (Deklerk *et al.* 1979). Rhodes *et al.* (2000) påvisade en tids-

och dosberoende ökning av prostatatorleken hos kastrerade hanhundar behandlade med subkutana östradiol-frisättande implantat.

Åldersrelaterade förändringar i östrogen/androgen-kvoten har föreslagits som en viktig faktor i utvecklingen av PH (Kutzler 2017; Brendler *et al.* 1983). Förändringar i östrogen/androgen-kvoten beror dels på sjunkande androgennivåer hos den åldrande hunden, dels på stabila eller till och med förhöjda nivåer av östrogener (O'Shea 1962; Cochran *et al.* 1981 se Paclikova *et al.* 2006; Brendler *et al.* 1983). I en studie av Wolf *et al.* (2012) påvisades en högre östrogen/testosteron kvot hos hundar med PH.

Lloyd *et al.* (1975) visade i sin studie att hundar med PH hade signifikant högre koncentration av östrogener (östradiol och östron) i plasma och prostatavävnad än friska hundar. Hos hundar med PH uppmättes fyra gånger så höga koncentrationer av DHT i prostata jämfört med kontrollgruppen. Koncentrationen av testosteron i plasma och prostata var däremot densamma hos hundar med och utan PH. Wolf *et al.* (2012) kunde inte heller påvisa någon skillnad i plasmakoncentrationen av testosteron mellan friska hundar och hundar med PH. En annan studie visade att prostatavävnad från hundar med PH har en ökad förmåga att bilda DHT på grund av förändringar i DHT-metabolismen jämfört med hundar utan PH (Isaacs 1982).

Andelen androgen-receptorer skiljer sig inte mellan normal prostatavävnad och hyperplastisk prostatavävnad (Shain & Boesel 1978; Trachtenberg *et al.* 1980). Däremot har en östradiol-medierad ökning av androgenreceptorer i prostatavävnad påvisats (Trachtenberg *et al.* 1980).

2.3.2. Kliniska tecken

Alla hundar med PH utvecklar ej kliniska tecken, utan det sker vanligtvis inte förrän prostata är så stor att den trycks dorsalt vilket medför kompression av rektum (Barsanti & Finco 1986; Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). När detta sker är det vanligt att hundarna uppvisar kliniska tecken relaterade till defekering såsom tillplattad och smal avföring, förstoppning och smärtsamma tenesmer. Andra kliniska tecken som kan ses i samband med PH är hematuri, hemospermi, dysuri, blodblandad eller sangvinös flytning från penisspetsen och infertilitet (McLauchlan & Ramsey 2008; Kutzler 2017; Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Eftersom PH drabbar de flesta äldre intakta hanhundar ses tillståndet ofta tillsammans med andra prostata-sjukdomar (Barsanti & Finco 1986). Hundar med PH har en ökad risk att utveckla kronisk bakteriell prostatit och därför kan tecken på kaudal abdominell smärta, spänd buk, ovilja att röra sig samt tecken på systemisk sjukdom som sepsis dominera den kliniska bilden (Kutzler 2017).

2.3.3. Diagnostik

För att kunna ställa den definitiva diagnosen PH krävs biopsi för histopatologisk bedömning (Barsanti & Finco 1986; Paclikova *et al.* 2006; Smith 2008; McLauchlan & Ramsey 2008; Kutzler 2017). Eftersom metoden är invasiv görs det sällan i praktiken, utan istället ställs en sannolikhetsdiagnos baserad på signalement, anamnes, klinisk undersökning, rektal palpation samt bedömning av prostatavätskan. Svar på behandling eller uteslutning av andra prostatasjukdomar kan också användas för att ställa sannolikhetsdiagnosen PH. För objektiv bedömning och uppföljning av prostatas storlek anses ultraljud nödvändigt (Smith 2008; Christensen 2018).

Rektal palpation

Rektal palpation är ett bra första steg på grund av att det är en billig och enkel metod för att undersöka hundens prostata, men metoden kan vara svår att genomföra på mycket små eller mycket stora hundar på grund av anatomisk variation (Paclikova *et al.* 2006; Smith 2008; Lévy *et al.* 2014). Metoden har hög specificitet (75 %), men låg sensitivitet (53 %) (Mukaratirwa & Chitura 2007). Undersökningen utförs enklast på stående patient (Paclikova *et al.* 2006). Ett finger känner på prostatas kaudala del per rektum samtidigt som den andra handen kan användas för att försiktigt trycka upp den kaudala buken och manipulera prostatas position närmare bäckenhålan (Smith 2008; Christensen 2018). Storlek, form, symmetri, rörlighet, konsistens samt eventuell smärtreaktion av prostata bedöms vid rektalundersökningen (Barsanti & Finco 1986). Vid PH bör prostatan vara symmetriskt förstorad, oöm och ha normal konsistens.

Ultraljud

Ultraljud är ett användbart verktyg för att uppskatta prostatans verkliga storlek (Atalan *et al.* 1999a). Beräknad volym med hjälp av mått som fås genom ultraljud överensstämmer väl med den verkliga volymen (Kamolpatana *et al.* 2000). Förutom storleken kan prostatas interna struktur, externa textur och eventuell cystbildning ses (Smith 2008). Ultraljud kan dessutom användas för vägledning vid provtagning av prostata (Barsanti & Finco 1986). Nackdelen med ultraljud är att det krävs avancerad utrustning och erfaren personal (Leroy *et al.* 2012). Vid PH ses en förstorad prostata med lindrigt diffust hypo- eller hyperekogent utseende. Ibland ses anekoiska områden i parenkymet, vilket talar för intraprostatiska cystor (Kutzler 2017).

Röntgen

Röntgen anses inte vara en tillförlitlig metod för att ställa diagnosen PH eftersom prostatastorleken lätt överskattas på grund av summation med andra periprostala organ (Feeney *et al.* 1987 se Atalan *et al.* 1999a). Enligt Barsanti & Finco (1986)

kan röntgen användas för att stärka misstanken om prostataförstoring vid dorsalt förskjuten kolon och kranialt förskjuten urinblåsa. Prostata anses förstörad när dess diameter upptar mer än 70 % av avståndet mellan promontorium sacrum och os pubis i lateralprojektion (Feeney *et al.* 1987). Prostatas längd är ett mer tillförlitligt mått än prostatas djup för att uppskatta prostatas storlek på röntgenbilder i lateralprojektion (Atalan *et al.* 1999b).

Prostatavätska

Prostatavätska kan erhållas genom massage av prostata eller insamling av ejakulatets tredje fraktion (Barsanti & Finco 1986). Cytologi och odling av prostatavätska kan ge information om eventuell prostatasjukdom. Vätskans utseende kan vara normal eller hemorragisk vid PH och vid cytologi kan ökat antal erythrocyter ses.

FNA

Finnålsaspirat (FNA) används för att samla vävnad eller vätska från prostata och utförs mestadels ultraljudsguidat (Smith 2008). Vävnadsprov taget från prostata med hjälp av FNA ställer diagnos vid prostatapatologi i 47 % av fallen jämfört med biopsi där diagnos ställs i 67 % av fallen (Barsanti *et al.* 1980 se Root Kustritz 2006). Om hypertrofiska prostataceller ses kan det stärka misstanke om PH (Kutzler 2017). Varken FNA eller biopsi rekommenderas för att diagnostisera PH eftersom det anses vara invasiva metoder och bör istället användas vid allvarligare prostatapatologi (Lévy *et al.* 2014).

CPSE

Prostata-specifikt argininesteras eller Canine Prostatic Specific Esterase (CPSE) är ett protein som produceras av prostatas epitelceller och utgör mer än 90 % av proteinerna i prostatavätskan (Frenette *et al.* 1985 se Dubé 1994). Proteinet verkar ha multifunktionella främjande egenskaper på spermatozoerna och deras funktion (Melandri & Alonge 2021). Produktionen och sekretionen av CPSE regleras av testosteron och under normala fysiologiska förhållanden förblir proteinet inom prostata utan större läckage till blodbanan. Förändringar som förstör prostatakörtelns uppbyggnad kan leda till läckage av CPSE, vilket yttrar sig som förhöjda värden i blodet (Leis-Filho & Fonseca-Alves 2019). Studier har visat att hundar med PH har högre serumkoncentrationer av CPSE än friska hundar och att det finns en korrelation mellan serumkoncentrationen av CPSE och prostatastorleken (Bell *et al.* 1995; Wolf *et al.* 2012; Pinheiro *et al.* 2017; Holst *et al.* 2017). Holst *et al.* (2021) påvisade i sin studie att CPSE är en användbar markör för att estimerar framtida prostatastorlek och symptomutveckling hos äldre hanhundar. Många författare är eniga om att CPSE-analys är ett värdefullt diagnostiskt verktyg för att upptäcka PH i tidigt skede eller för att följa upp effekten av insatt behandling (Holst *et al.*

2017; Lévy *et al.* 2014; Melandri & Alonge 2021; Christensen 2018; Alonge *et al.* 2018). Förhöjda serumnivåer av CPSE ses dock även vid bakteriell prostatit och prostatacarcinom och är därför ingen specifik markör för PH (Bell *et al.* 1995).

2.3.4. Behandling

Målet med behandling av PH är att minska prostatas storlek (Basinger 1987 se Johnston *et al.* 2000). För hundar som ej ska användas i avel är kastration det mest effektiva behandlingsalternativet (Barsanti & Finco 1986; Christensen 2018). Prostatas storlek minskar med ungefär med 50 % inom 3 veckor och med 75 % inom 3 månader efter kastrering (Kutzler 2017). Om kirurgiskt ingrepp bedöms för riskfyllt eller om hanhunden är avsedd för avel finns det andra behandlingsalternativ att tillgå.

Osateronacetat är en antiandrogen som blockerar upptag av testosteron till prostata (McLauchlan & Ramsey 2008). I en studie gavs 0,25 mg/kg osateronacetat en gång per dag i 7 dagar till 73 hundar med misstänkt PH (Albouy *et al.* 2008). Studien visade att prostatavolymen minskade med 38 % och att kliniska tecknen hade upphört för nästan 50 % av hundarna en vecka efter avslutad behandling. Total klinisk remission observerades hos 84 % av hundarna vid uppföljning efter 6 månader vilket talar för en långvarig behandlingseffekt.

Kemisk kastration med GnRH agonisten deslorelin är ytterligare ett behandlingsalternativ (Christensen 2018). Deslorelin administreras som ett subkutant implantat var 6e eller var 12e månad (Nizański *et al.* 2020). Deslorelin leder till minskad testosteron-koncentrationen i blodet, vilket förhindrar fortplantning. Deslorelin (4,7 mg) är effektivt för att behandla PH och dess effekt varar minst 36 veckor. Nizański *et al.* (2020) observerade tidigare men kortvarigare klinisk förbättring hos hundar behandlade med osateronacetat jämfört med hundar behandlade med deslorelin. En ökning av kliniska tecken kopplade till PH sågs i början av behandling med deslorelin hos 33 % av hundarna. Författarna konkluderar att studieresultatet motiverar en kombination av preparaten, genom att inleda behandling med osateronacetat följt av deslorelin 1–2 veckor senare för att prostata snabbare ska minska i storlek. Ytterligare studier hade behövts för att utvärdera effekten av en sådan kombination.

Finasterid är en typ-II alphareduktashämmare som blockerar omvandlingen av testosteron till DHT (Johnston *et al.* 2000). Detta kommer att leda till apoptos av prostatacellerna vilket leder till tillbakabildning av prostata. Prostatas volym minskar med 43 % efter 16 veckors behandling med daglig oral giva av 0,1-0,5 mg/kg finasterid (Sirinarumitr *et al.* 2001). En studie föreslår dosen 5mg/hund per

dag för hundar som väger 10–50 kg eftersom det är en lika effektiv dos för att sänka serum-koncentrationen av DHT utan att påverka serumkoncentrationen av testosteron (Kamolpatana *et al.* 1998). Behandling med finasterid minskar ejakulatets volym, men påverkar varken hundens könsdrift eller spermieproduktionen (Sirinarumitr *et al.* 2001). Vid avbruten behandling återgår prostata till sin ursprungliga storlek inom 6–8 veckor (Iguer-Ouada & Verstegen 1997). För att undvika recidiv av kliniska tecken rekommenderas livslång daglig behandling (Kutzler 2017). Regelbunden pausering i 6 veckor mellan varje 6 veckors-behandlingsperiod kan göras för att kostnadseffektivisera behandlingen.

Delmadinonacetat och medroxiprogesteron är gestagener med antiandrogen effekt (Christensen 2018). En subkutan eller intramuskulär injektion med 3 mg/kg delmadinonacetat resulterar i en minskning av prostatas storlek med 28 % 14 dagar efter behandling (Albouy *et al.* 2008). I en annan studie sågs minskad prostatastorlek hos 53 % av hundar med PH behandlade med en subkutan injektion medroxiprogesteron enligt dosen 3 mg/kg efter 6 veckor (Bamberg-Thalén & Linde-Forsberg 1993). Kliniska tecken på sjukdom upphörde hos 84 % av hundarna efter samma tid. En ökad risk för biverkningar finns rapporterad för båda substanserna, vilket man bör ha i åtanke innan behandling sätts in (Smith 2008; Christensen 2018).

Antiöstrogenerna tamoxifen och anastrozol har använts för behandling av bröstcancer hos kvinnor (Christensen 2018). Eftersom östrogener tros spela en roll i patogenesen bakom PH har försök till behandling gjorts med antiöstrogener hos hundar med PH (Gonzalez *et al.* 2009). En signifikant minskning med 29 % av prostatastorleken sågs hos hundar behandlade med tamoxifen enligt dosen 2,5–10 mg/hund 1 gång per dag i 60 dagar. Samma behandlingstid med anastrozol enligt dosen 0,25–1 mg/hund minskade prostatas storlek med 22 %. Inga negativa biverkningar påvisades varför antiöstrogener skulle kunna vara ett framtida behandlingsalternativ för hundar med PH.

Fytoterapi har blivit mer populärt vid behandling av PH hos män och därför undersöktes behandlingseffekten av nässelväxten *Urtica fissa* hos hundar med PH (Xiaocheng *et al.* 2015). Polysackarider isolerades från växtens rötter och stam. En giva på 120 mg/kg/dag i 3 månader reducerade prostatavolymen med 21 %.

3. Material och metod

Studien är utförd på serumprover som samlades in under hösten 2014 på 2 djurkliniker och 2 djursjukhus i Sverige. Anamnes kopplat till eventuell prostatasjukdom samt ras, ålder och vikt noterades för deltagande hundar. Prostata undersöktes genom ultraljud, där ett standardiserat protokoll användes. Ett venöst blodprov togs på samtliga hundar. Blodproverna centrifugerades för att få ut serum. Serumproverna har förvarats i -80°C sedan dess men tinats upp i samband med andra studier (Holst *et al.* 2017, Holst *et al.* 2021). Inför analys av totalt testosteron och SHBG tinades proverna vid ytterligare 4 skilda tillfällen.

3.1. Medverkande hundar (prover insamlade 2014)

Totalt medverkade 79 hundar. Inklusionkriteriet var intakta hanhundar som vägde mer än 5 kg och var äldre än 4 år. Hundar som behandlats med antiandrogener 6 månader innan insamlingsperioden exkluderades. 73 av hundarna hade inga kliniska tecken kopplade till prostatasjukdom medan övriga 6 hundar uppvisade kliniska tecken kopplat till prostata. Urvalet utgjordes av 40 olika registrerade raser samt 9 hundar av blandras. En förväntad prostatavolym för friska hundar mellan 1,5-4 år baserat på kroppsvikt (BW) räknades ut för de medverkande hundarna enligt formeln $V_{\text{norm}} = 0,33 \times \text{BW (kg)} + 3,28$ (Sannamwong *et al.* 2012).

3.2. Ultraljud (undersökningar gjorda 2014)

Ultraljudsundersökningarna var utförda med adekvat utrustning av erfarna veterinärer med ultraljudskompetens. Prostatas utseende (parenkym, kontur, form och cystaförekomst) noterades för varje hund. Prostatas längd (L), bredd (W) och djup (D) uppmättes från stillbilder. För respektive dimension var 3 mätningar gjorda och baserat på dem räknades medelvärdet ut. Medelvärdena användes sedan för att beräkna prostatavolymen enligt $V = [1/2.6 (L \times W \times D)] + 1.8$ (cm³) (Kamolpatana *et al.* 2000). Uträknad prostatavolym jämfördes med förväntad prostatavolym för varje hund enligt $S_{\text{rel}} = V/V_{\text{norm}}$. Hundar med $S_{\text{rel}} > 1$ hade större prostata än förväntat för en hund max 4 år gammal.

3.3. Analys av totalt testosteron

Analys av totalt S-testosteron utfördes av biomedicinsk analytiker på Klinisk kemiska laboratoriet på Universitetsdjursjukhuset Uppsala 1 oktober 2021. Analysinstrumentet som användes var Immulite® 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics) vilket är en kemiluminiscens immunanalys. Hemolys av det till synes mest rödfärgade serumprovet var inom gränsvärden och påverkade således ej analysen. Internkontrollprover analyserades före analys, efter att hälften av proverna hade körts och efter att alla prover var körda. Proverna kördes i duplikat. Ett medelvärde för varje prov räknades ut och användes i den statistiska bearbetningen. Enheten var nmol/L.

3.4. Analys av SHBG

Analys av S-SHBG utfördes av biomedicinsk analytiker på laboratoriet tillhörande institutionen för kliniska vetenskaper vid Sveriges lantbruksuniversitet. Analys gjordes med ELISA (Amsbio, katalognummer: E08S0026) enligt beskrivning från tillverkaren (se bilaga 1). Totalt användes 3 ELISA-plattor. Plattorna kördes en i taget; 14 oktober, 18 oktober och 22 oktober. Prov kördes i duplikat när det fanns tillräckligt med provmaterial, annars kördes enkelprov. Duplikaten användes för att beräkna inomkörningsvariationen. Ett slumpmässigt utvalt prov med medelkoncentrationen 6,6 nmol/L vid första körningen användes som kontroll för samtliga ELISA-plattor. Spädningsserier (100 %, 90 %, 80 %, 60 %, 40 % och 20 %) gjordes för 2 slumpmässigt utvalda prov som hade medelkoncentrationerna 46,7 nmol/L och 46,4 nmol/L. Prover som hamnade över detektionsgränsen späddes 1:10 och analyserades om (N=6). För de statistiska bearbetningarna fick prover med en koncentration under detektionsgränsen (N=5) ett värde motsvarande hälften av det lägsta detekterade värdet. Enheten var nmol/L.

3.5. Beräkning av FAI

S-testosteron och S-SHBG användes för att räkna ut FAI enligt S-testosteron/S-SHBG.

3.6. Statistisk bearbetning

Statistikprogram som har använts för att sammanställa data är Excel och Minitab. Både icke-parametriska tester och parametriska tester användes för korrelation: Spearman's och Pearson's. För jämförelse mellan grupper användes tvåsidigt t-test.

Logaritmering användes för att normalfördela data för användning av parametriska tester. P-värden $<0,05$ betraktades som signifikanta.

4. Resultat

4.1. Testosteron, SHBG och FAI

Deskriptiv statistik för totalt testosteron, SHBG och FAI presenteras i tabell 1. Serumkoncentrationen av SHBG erhöles för 78 av 79 hundar. Bortfallet av 1 hund berodde på att provmaterialet inte räckte till.

Tabell 1. Deskriptiv statistik för totalt testosteron, SHBG och FAI. Antal hundar (N), standardavvikelse (SD), lägsta värdet (Min), hösta värdet (Max).

| Variabel | N | Medel | Medelfel | SD | Min | Median | Max |
|----------------------|----|-------|----------|------|------|--------|------|
| Testosteron (nmol/L) | 79 | 9,5 | 0,9 | 7,9 | 0,3 | 7,2 | 31,8 |
| SHBG (nmol/L) | 78 | 11,1 | 1,9 | 16,9 | 0,2 | 4,9 | 86,9 |
| FAI | 78 | 4,5 | 1,1 | 9,4 | 0,05 | 1,7 | 55,8 |

4.2. Samband med beräknad prostatavolym (V) och relativ prostatastorlek (S_{rel})

Det var ingen signifikant korrelation mellan beräknad prostatavolym (V) eller relativ prostatastorlek (S_{rel}) och logaritmerade värden för totalt testosteron, SHBG eller FAI. Pearson's korrelationskoefficient (r) och p-värde (p) för samtliga parametrar ses i tabell 2.

Tabell 2. Pearson's korrelationskoefficient (r) och p-värde (p) för totalt testosteron, SHBG och FAI.

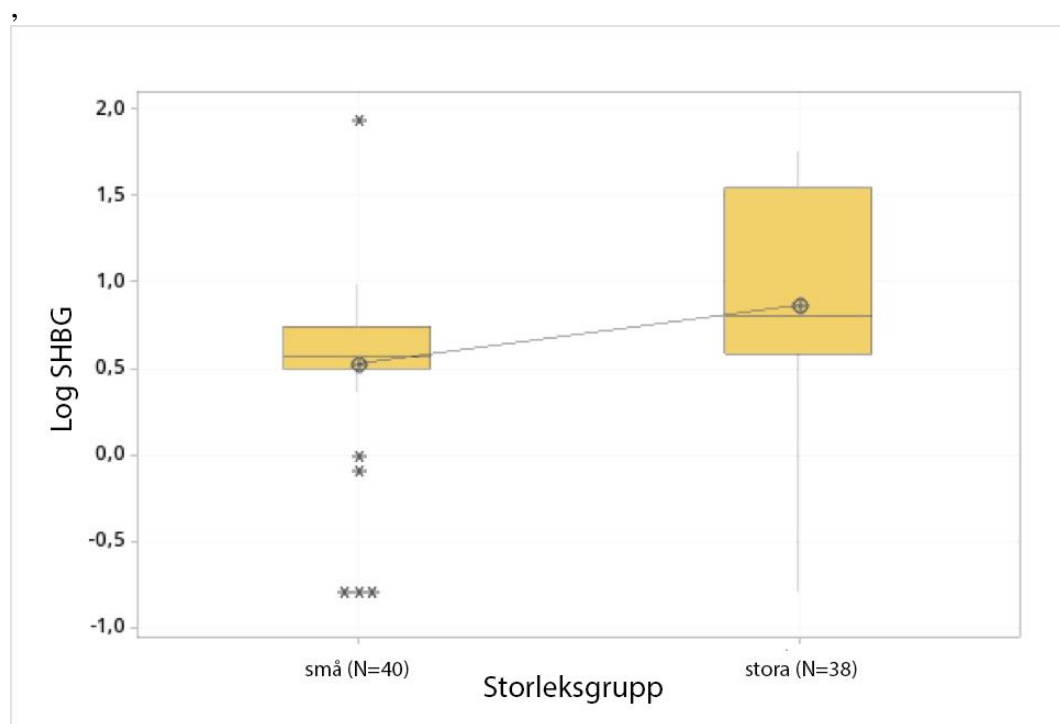
| Variabel | | Testosteron | SHBG | FAI |
|---------------------------------------|---|-------------|-------|-------|
| Prostatavolym (V) | r | 0,06 | 0,21 | -0,14 |
| | p | 0,59 | 0,066 | 0,22 |
| Relativ prostatastorlek (S_{rel}) | r | 0,14 | 0,025 | 0,058 |
| | p | 0,22 | 0,83 | 0,61 |

4.3. Samband med övriga parametrar

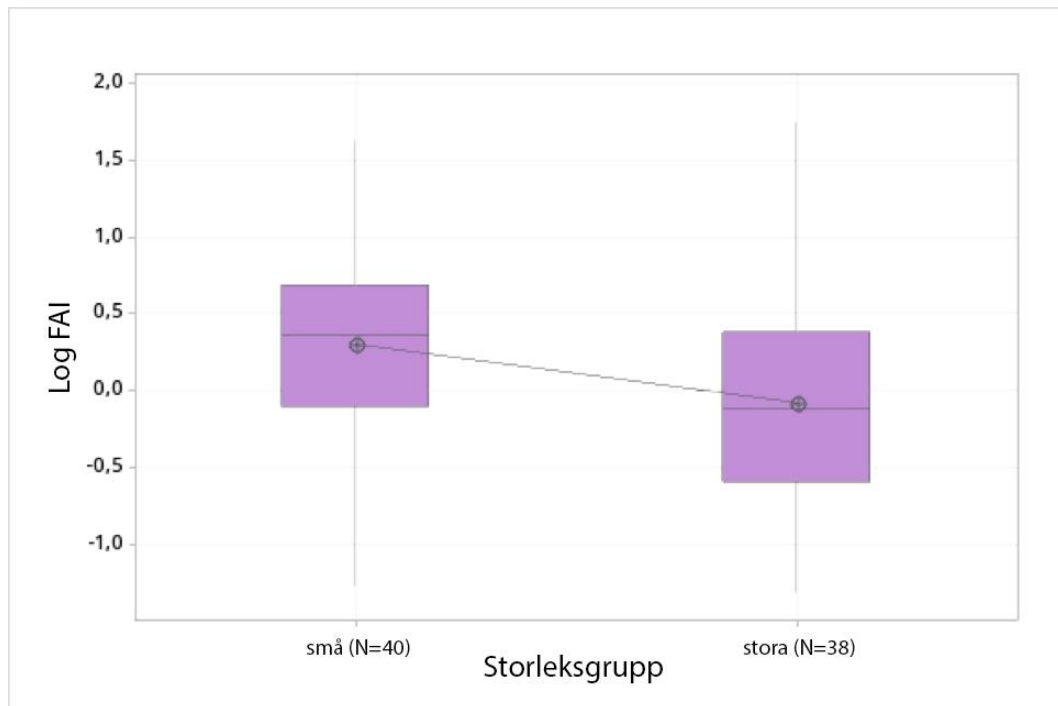
Korrelationen mellan övriga parametrar och totalt testosteron, SHBG samt FAI undersöktes. Nedan redovisas de statistiskt signifikanta korrelationer som sågs.

4.3.1. Hundens vikt

En signifikant korrelation ($r=0,33$ $p=0,003$) sågs mellan vikt och SHBG. Även vikt och FAI var signifikant korrelerat ($r=-0,31$ $p=0,006$). Hundarna delades in i två grupper baserat på vikt och benämndes som små (<25 kg) eller stora (>25 kg). Statistiskt signifikanta skillnader sågs mellan grupperna avseende SHBG ($p=0,01$) och FAI ($p=0,018$). Skillnaden mellan grupperna åskådliggörs med hjälp av lådagram i figur 4 och figur 5 för SHBG respektive FAI.



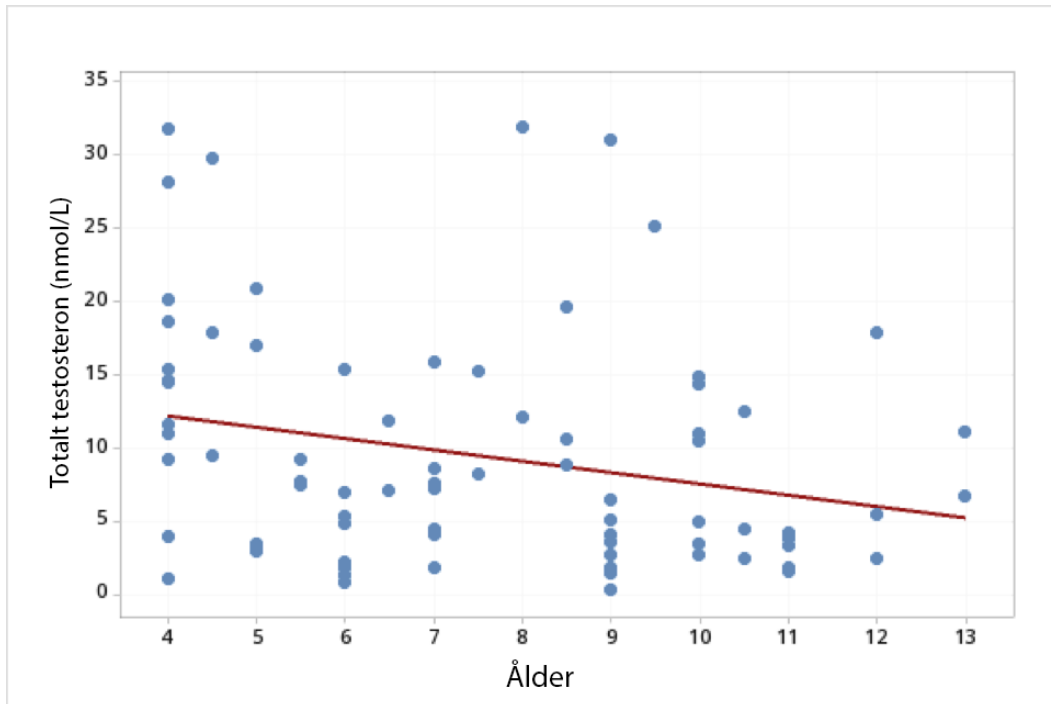
Figur 4. Lådagram över logarimerat SHBG-värde stora och små hundar.



Figur 5. Lådagram över logaritmerat FAI-värde stora och små hundar.

4.3.2. Hundens ålder

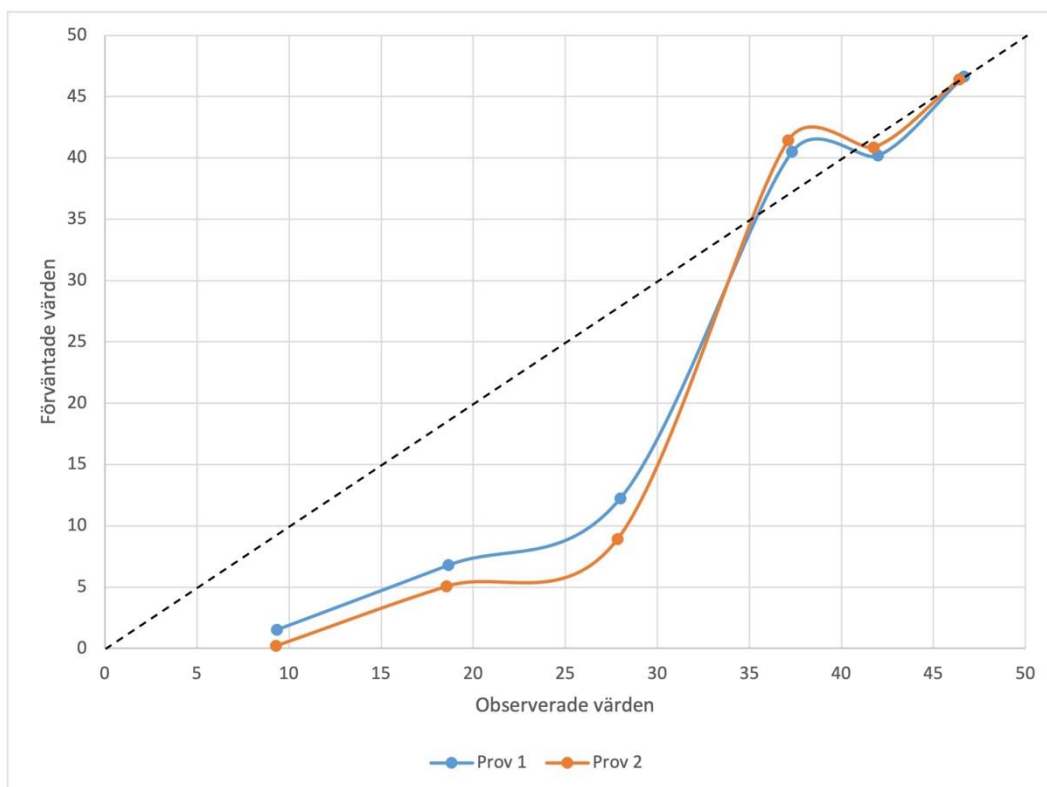
Spearman's korrelationstest användes för att se om ålder var korrelerat med totalt testosteron. En signifikant korrelation ($r_s = -0,27$ $p = 0,018$) mellan sjunkande testosteron och stigande ålder påvisades. I figur 6 redovisas associationen mellan ålder och testosteron i ett spridningsdiagram med regressionslinje.



Figur 6. Spridningsdiagram med regressionslinje över hundarnas ålder och totala testosteronkoncentration i serum.

4.4. Övrigt

SHBG-analysens mellankörningsvariation räknades ut för kontrollen (CV=33,6). Inomkörningsvariationen baserat på dubblettproverna var 0-50,5 % för låga värden (0-5,0 nmol/L), 0,6-22,3 % för medelhöga värden (5-20 nmol/L) och 0,8-16,9 % för höga värden (>20 nmol/L). Spädningsserierna användes för att se om värdena representerade ett linjärt samband vid analys av SHBG. Ett linjärt samband kunde inte ses för någon av spädningsserierna. I figur 7 redovisas resultatet för spädningarna i ett spridningsdiagram. Den svarta streckade linjen representerar förväntat resultat av spädningen.



Figur 7. Spridningsdiagram över spädningarna för prov 1 (blå) och prov 2 (orange). Den streckade linjen representerar linjärt samband som förväntades av spädningarna.

5. Diskussion

I den här studien var inte totalt testosteron, SHBG eller FAI signifikant associerat med protastorleken hos hund. Resultat med $p < 0,1$ brukar ibland kallas för trend och kan vara intressanta vid mindre studiepopulationer. I den här studien sågs en trend mot statistiskt signifikanta resultat ($p = 0,066$) gällande korrelationen mellan ökad prostatavolym (V) och högre värde av SHBG. Korrelationen var dock låg ($r = 0,21$). Den här studien bekräftade även vad tidigare studier kommit fram till: att det inte finns någon skillnad mellan normala hundar och hundar med PH avseende serumkoncentrationen av testosteron (Wolf *et al.* 2012; Lloyd *et al.* 1975; Cochran *et al.* 1981). Studien har varken bekräftat eller uteslutit att SHBG har en roll i patogenesen bakom PH. Om PH är en följd av intracellulär aktivitet är serumkoncentrationen av SHBG kanske av begränsat värde. Dessutom finns det anledning att ifrågasätta huruvida serumkoncentrationen återspeglar koncentrationen av SHBG på organnivå. Koncentrationen av testosteron är till exempel 50-100 gånger lägre i blodet jämfört med i testiklarna (Feldman & Nelson 2004). Det hade varit intressant att undersöka om halterna av SHBG skiljer sig i prostatavävnad hos hundar med PH jämfört med friska hundar.

I den här studien sågs högre nivåer av SHBG hos stora hundar jämfört med små hundar. Stora hundar har generellt sett större organ och därmed större prostata än små hundar, vilket kan förklara den trend mot statistiskt signifikanta resultat som observerades mellan ökad prostatavolym och högre värde av SHBG. Tidigare studier har visat en ökad prevalens av prostatopatologier inklusive PH hos stora hundraser såsom tysk schäferhund, labrador retriever, belgisk vallhund, sankt bernhardshund och grand danois (Bibin Becha *et al.* 2017). Detta föranleder vidare hypoteser om att SHBG kanske kan spela en roll i patogenesen bakom PH. Eftersom SHBG har visat sig stimulera prostatacellernas aktivitet hos hundar finns det fortfarande anledning att studera proteinet vidare (Nakhla *et al.* 1995). Mer forskning behövs om SHBG och dess alternativa funktion hos hund och människor.

Lägre FAI kunde ses hos stora hundar i den här studien. Det innebär att stora hundar kan ha mindre mängd obundet och aktivt testosteron än små hundar. Förändringar i östrogen/androgen-kvoten verkar spela en betydande roll i patogenesen bakom utvecklingen av PH (Kutzler 2017; Brendler *et al.* 1983). En lägre nivå av fritt testo-

steron skulle då kunna förklara varför stora hundar löper högre risk att drabbas av PH än små hundar.

En studie har visat att SHBG ökar med åldern i både serum och prostatavävnad hos råttor (Li *et al.* 2015). I den här studien sågs inte en ökning av SHBG med åldern. Detta kanske beror på att hundar av olika storlek åldras olika fort. Om större hundar åldras tidigare än små hundar kan det ge en förklaring till skillnaden i SHBG-koncentrationen som observerades mellan grupperna.

Den här studien bekräftar och stärker slutsatsen från en tidigare studie: att testosteronnivån sjunker med åldern hos hundar (Brendler *et al.* 1983). En annan studie såg en signifikant korrelation mellan stigande ålder och sjunkande FAI (Wallander 2021). Resultatet upprepades inte i den här studien. Det kan dels bero på olikheter i studieupplägg, men också analysmetod. Wallander (2021) studerade endast en ras och inkluderade hundar som var yngre än 4 år i sin studie. Proverna som användes i studien var insamlade i nära anslutning till provanalys jämfört med den här studien där 7 år gamla serumprover användes. Ytterligare skillnad som ses när man jämför studierna är att SHBG-analysmetoden inte var densamma. Dessa skillnader kan indirekt påverka värdena av FAI eftersom det är en kvot som baseras på SHBG. När man jämför fördelningen av SHBG och FAI i respektive studie ses stora skillnader: SHBG var lägre medan FAI var högre i den här studien ($SHBG_{medel}=11,1$ $FAI_{medel}=4,5$) jämfört med Wallanders studie ($SHBG_{medel}=100,1$ $FAI_{medel}=0,1344$). Koncentrationen av totalt testosteron var däremot snarlik vid jämförelse. Referensintervallet för FAI är 0,17-1,19 hos män oberoende av åldern enligt Deutschbein *et al.* (2015). Om hundar antas ha liknande referensintervall som människor finns det mer anledning att tro på Wallanders FAI-värden. Det finns dock inga andra studier som undersökt SHBG och FAI på hund att jämföra med i dagsläget. Därför behövs fler studier innan slutsatser kan dras om vilka värden för SHBG och FAI som är mest riktiga.

Serumproverna som användes i studien var vid analys 7 år gamla och ej alikvoterade. Proverna hade frysts och tinats vid flera tillfällen inför respektive analys. Enligt tillverkarna skulle testosteronanalys köras på färska prover som förvarats 2-8 °C maximalt 7 dagar eller tinade prover som förvarats -20 °C i maximalt 2 månader. För SHBG-analysen rekommenderades inte prover som förvarats längre än 6 månader i -80 °C, detta för att undvika proteinnedbrytning. Upprepad tining och frysning samt spädningar över 1:10 rekommenderades inte heller. I den här studien fanns det alltså ett antal felkällor som kunde påverka framför allt SHBG-värdena och därmed även FAI värdena. Värdenas tillförlitlighet ifrågasätts ytterligare på grund av den höga mellankörningsvariationen ($CV=33,6\%$) som observerades för kontrollen samt att spädning av prover inte gav linjärt resultat.

Referenser

- Al Kindi, M.K., Al Essry, F.S., Al Essry, F.S. & Mula-Abed, W.-A.S. (2012). Validity of serum testosterone, free androgen index, and calculated free testosterone in women with suspected hyperandrogenism. *Oman Medical Journal*, 27 (6), 471–474. <https://doi.org/10.5001/omj.2012.112>
- Albouy, M., Sanquer, A., Maynard, L. & Eun, H.M. (2008). Efficacies of osaterone and delmadinone in the treatment of benign prostatic hyperplasia in dogs. *The Veterinary Record*, 163 (6), 179–183. <https://doi.org/10.1136/vr.163.6.179>
- Alonge, S., Melandri, M., Leoci, R., Lacalandra, G.M. & Aiudi, G. (2018). 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. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 53 (2), 359–364. <https://doi.org/10.1111/rda.13113>
- Atalan, G., Barr, F.J. & Holt, P.E. (1999b). Comparison of ultrasonographic and radiographic measurements of canine prostate dimensions. *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 40 (4), 408–412. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.1999.tb02133.x>
- Atalan, G., Holt, P.E., Barr, F.J. & Brown, P.J. (1999a). Ultrasonographic estimation of prostatic size in canine cadavers. *Research in Veterinary Science*, 67 (1), 7–15. <https://doi.org/10.1053/rvsc.1998.0267>
- Bamberg-Thalén, B. & Linde-Forsberg, C. (1993). Treatment of canine benign prostatic hyperplasia with medroxyprogesterone acetate. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 29 (3), 221–226
- Barsanti, J.A. & Finco, D.R. (1986). Canine prostatic diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 16 (3), 587–599. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(86\)50063-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(86)50063-2)
- Becha, B.B., Krishnaswamy, A., Murthy, V.C. & Sudha, G. (2017). Occurrence of prostatic diseases in intact adult dogs. *Theriogenology Insight - An International Journal of Reproduction in all Animals*, 7 (2), 99. <https://doi.org/10.5958/2277-3371.2017.00025.0>
- 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. (1995). Evaluation of serum and seminal plasma markers in the diagnosis of canine prostatic disorders. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 9 (3), 149–153. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1995.tb03288.x>

- Berry, S.J., Coffey, D.S. & Ewing, L.L. (1986b). Effects of aging on prostate growth in beagles. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 250 (6), R1039–R1046. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1986.250.6.R1039>
- Berry, S.J., Strandberg, J.D., Coffey, D.S. & Saunders, W.J. (1986a). Development of canine benign prostatic hyperplasia with age. *The Prostate*, 9 (4), 363–373. <https://doi.org/10.1002/pros.2990090406>
- Brendler, C.B., Berry, S.J., Ewing, L.L., McCullough, A.R., Cochran, R.C., Strandberg, J.D., Zirkin, B.R., Coffey, D.S., Wheaton, L.G., Hiler, M.L., Bordy, M.J., Niswender, G.D., Scott, W.W. & Walsh, P.C. (1983). Spontaneous benign prostatic hyperplasia in the beagle. Age-associated changes in serum hormone levels, and the morphology and secretory function of the canine prostate. *The Journal of Clinical Investigation*, 71 (5), 1114–1123. <https://doi.org/10.1172/jci110861>
- Christensen, B.W. (2018). Canine prostate disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 48 (4), 701–719. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.02.012>
- Cochran, R.C., Ewing, L.L. & Niswender, G.D. (1981). Serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin, testosterone, 5 alpha-dihydrotestosterone, 5 alpha-androstane-3 alpha, 17 beta-diol, 5 alpha-androstane-3 beta, 17 beta-diol, and 17 beta-estradiol from male beagles with spontaneous or induced benign prostatic hyperplasia. *Investigative Urology*, 19 (3), 142–147
- Davey, R.A. & Grossmann, M. (2016). Androgen receptor structure, function and biology: from bench to bedside. *The Clinical Biochemist. Reviews*, 37 (1), 3–15
- DeKlerk, D.P., Coffey, D.S., Ewing, L.L., McDermott, I.R., Reiner, W.G., Robinson, C.H., Scott, W.W., Strandberg, J.D., Talalay, P., Walsh, P.C., Wheaton, L.G. & Zirkin, B.R. (1979). Comparison of spontaneous and experimentally induced canine prostatic hyperplasia. *The Journal of Clinical Investigation*, 64 (3), 842–849. <https://doi.org/10.1172/JCI109532>
- Deutschbein, T., Mann, K. & Petersenn, S. (2015). Total testosterone and calculated estimates for free and bioavailable testosterone: influence of age and body mass index and establishment of sex-specific reference ranges. *Hormone and Metabolic Research*, 47 (11), 846–854. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1395569>
- Ding, V.D.H., Moller, D.E., Feeney, W.P., Didolkar, V., Nakhla, A.M., Rhodes, L., Rosner, W. & Smith, R.G. (1998). Sex hormone-binding globulin mediates prostate androgen receptor action via a novel signaling pathway. *Endocrinology*, 139 (1), 213–218. <https://doi.org/10.1210/endo.139.1.5681>
- Dubé, J.Y. (1994). Prostatic kallikreins: biochemistry and physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 107 (1), 13–20. [https://doi.org/10.1016/1367-8280\(94\)90004-3](https://doi.org/10.1016/1367-8280(94)90004-3)
- Evans, H.E. & DeLahunta, A. (2013). *Miller's Anatomy of the Dog*. 4th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Feeney, D.A., Johnston, G.R., Klausner, J.S., Perman, V., Leininger, J.R. & Tomlinson, M.J. (1987). Canine prostatic disease--comparison of radiographic appearance with

morphologic and microbiologic findings: 30 cases (1981-1985). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 190 (8), 1018–1026

- Feldman, E.C. & Nelson, R.W. (2004). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Saunders.
- García-Cruz, E., Carrión Puig, A., García-Larrosa, A., Sallent, A., Castañeda-Argáiz, R., Piqueras, M., Ribal, M.J., Leibar-Tamayo, A., Romero-Otero, J. & Alcaraz, A. (2013). Higher sex hormone-binding globulin and lower bioavailable testosterone are related to prostate cancer detection on prostate biopsy. *Scandinavian Journal of Urology*, 47 (4), 282–289. <https://doi.org/10.3109/00365599.2012.747562>
- Gonzalez, G., Guendulain, C., Maffrand, C. & Gobello, C. (2009). Comparison of the effect of the aromatase inhibitor, anastrozole, to the antioestrogen, tamoxifen citrate, on canine prostate and semen. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 44 Suppl 2, 316–319. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01379.x>
- Hess, R.A. & Cooke, P.S. (2018). Estrogen in the male: a historical perspective. *Biology of Reproduction*, 99 (1), 27–44. <https://doi.org/10.1093/biolre/i0y043>
- Holst, B.S., Carlin, S., Fouriez-Lablée, V., Hanås, S., Ödler, S., Langborg, L.-M., Ubhayasekera, S.J.K.A., Bergquist, J., Rydén, J., Holmroos, E. & Hansson, K. (2021). 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*, 17 (1), 173. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02874-1>
- Holst, B.S., Holmroos, E., Friling, L., Hanås, S., Langborg, L.-M., Franko, M.A. & Hansson, K. (2017). The association between the serum concentration of canine prostate specific esterase (CPSE) and the size of the canine prostate. *Theriogenology*, 93, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.01.032>
- Hong, E.-J., Sahu, B., Jänne, O.A. & Hammond, G.L. (2011). Cytoplasmic accumulation of incompletely glycosylated SHBG enhances androgen action in proximal tubule epithelial cells. *Molecular Endocrinology*, 25 (2), 269–281. <https://doi.org/10.1210/me.2010-0483>
- Iguer-Ouada, M. & Verstegen, J.P. (1997). Effect of finasteride (Proscar MSD) on seminal composition, prostate function and fertility in male dogs. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 51, 139–149
- Isaacs, J.T. (1983). Changes in dihydrotestosterone metabolism and the development of benign prostatic hyperplasia in the aging beagle. *Journal of Steroid Biochemistry*, 18 (6), 749–757. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(83\)90255-8](https://doi.org/10.1016/0022-4731(83)90255-8)
- Johnston, S.D., Kamolpatana, K., Root-Kustritz, M.V. & Johnston, G.R. (2000). Prostatic disorders in the dog. *Animal Reproduction Science*, 60–61, 405–415. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00101-9](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00101-9)
- Kamolpatana, K., Johnston, G.R. & Johnston, S.D. (2000). Determination of canine prostatic volume using transabdominal ultrasonography. *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 41 (1), 73–77. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2000.tb00430.x>

- Kamolpatana, K., Johnston, S.D., Hardy, S.K. & Castner, S. (1998). Effect of finasteride on serum concentrations of dihydrotestosterone and testosterone in three clinically normal sexually intact adult male dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 59 (6), 762–764
- Kutzler, M.A. (2017). Prostatic diseases. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 8th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier
- Leis-Filho, A.F. & E. Fonseca-Alves, C. (2019). Anatomy, histology, and physiology of the canine prostate gland. I: Sian Rutland, C. & Kubale, V. (red.) *Veterinary Anatomy and Physiology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81410>
- Leroy, C., Conchou, F., Layssol-Lamour, C., Deviers, A., Sautet, J., Concordet, D. & Mogenicato, G. (2013). Normal canine prostate gland: repeatability, reproducibility, observer-dependent variability of ultrasonographic measurements of the prostate in healthy intact beagles. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 42 (5), 355–361. <https://doi.org/10.1111/ah.12022>
- Lévy, X., Nizański, W., von Heimendahl, A. & Mimouni, P. (2014). Diagnosis of common prostatic conditions in dogs: an update. *Reproduction in Domestic Animals*, 49 (s2), 50–57. <https://doi.org/10.1111/rda.12296>
- Li, H., Pham, T., McWhinney, B.C., Ungerer, J.P., Pretorius, C.J., Richard, D.J., Mortimer, R.H., d’Emden, M.C. & Richard, K. (2016). Sex hormone binding globulin modifies testosterone action and metabolism in prostate cancer cells. *International Journal of Endocrinology*, 2016, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2016/6437585>
- Li, Y., Li, X., Fan, H., Li, X., Zhong, Y., Cao, J., Yu, D., Zhang, M., Wen, J.-G., Geng, L. & Suo, Z. (2015). Age-dependent sex hormone-binding globulin expression in male rat. *Ultrastructural Pathology*, 39 (2), 121–130. <https://doi.org/10.3109/01913123.2015.1009222>
- Lloyd, J.W., Thomas, J.A. & Mawhinney, M.G. (1975). Androgens and estrogens in the plasma and prostatic tissue of normal dogs and dogs with benign prostatic hypertrophy. *Investigative Urology*, 13 (3), 220–222
- Matsumoto, A.M. & Bremner, W.J. (2004). Serum testosterone assays - accuracy matters. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89 (2), 520–524. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-032175>
- McLauchlan, G. & Ramsey, I. (2008). Update on medical management of benign prostatic hyperplasia. *Companion Animal*, 13 (7), 39–41. <https://doi.org/10.1111/j.2044-3862.2008.tb00313.x>
- Melandri, M. & Alonge, S. (2021). Highlights on the Canine Prostatic Specific Esterase (CPSE): A diagnostic and screening tool in veterinary andrology. *Veterinary Medicine and Science*, 7 (1), 35–40. <https://doi.org/10.1002/vms3.349>
- Mukaratirwa, S. & Chitura, T. (2007). Canine subclinical prostatic disease : histological prevalence and validity of digital rectal examination as a screening test. *Journal of the South African Veterinary Association*, 78 (2), 66–68. <https://doi.org/10.4102/jsava.v78i2.292>

- Nakhla, A.M., Ding, V.D., Khan, M.S., Romas, N.A., Rhodes, L., Smith, R.G. & Rosner, W. (1995). 5 alpha-Androstan-3 alpha,17 beta-diol is a hormone: stimulation of cAMP accumulation in human and dog prostate. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 80 (7), 2259–2262. <https://doi.org/10.1210/jcem.80.7.7541803>
- Niżański, W., Ochota, M., Fontaine, C. & Pasikowska, J. (2020). Comparison of clinical effectiveness of deslorelin acetate and osaterone acetate in dogs with benign prostatic hyperplasia. *Animals: an open access journal from MDPI*, 10 (10), E1936. <https://doi.org/10.3390/ani10101936>
- Noakes, D.E., Parkinson, T.J. & England, G.C.W. (2009). *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 9th ed. Edinburgh; New York: Saunders. <https://public.ebookcentral.proquest.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=2072303> [2021-12-07]
- Pačliková, K., Kohout, P. & Vlasin, M. (2012). Diagnostic possibilities in the management of canine prostatic disorders. *Veterinární Medicína*, 51 (No. 1), 1–13. <https://doi.org/10.17221/5511-VETMED>
- Pinheiro, D., Machado, J., Viegas, C., Baptista, C., Bastos, E., Magalhães, J., Pires, M.A., Cardoso, L. & Martins-Bessa, A. (2017). Evaluation of biomarker canine-prostate specific arginine esterase (CPSE) for the diagnosis of benign prostatic hyperplasia. *BMC veterinary research*, 13 (1), 76. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0996-5>
- Quinn, P.J., White, I.G. & Wirrick, B.R. (1965). Studies of the distribution of the major cations in semen and male accessory secretions. *Reproduction*, 10 (3), 379–388. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0100379>
- Rhodes, L., Ding, V.D., Kemp, R.K., Khan, M.S., Nakhla, A.M., Pikounis, B., Rosner, W., Saunders, H.M. & Feeney, W.P. (2000). Estradiol causes a dose-dependent stimulation of prostate growth in castrated beagle dogs. *The Prostate*, 44 (1), 8–18. [https://doi.org/10.1002/1097-0045\(20000615\)44:1<8::aid-pros2>3.0.co;2-v](https://doi.org/10.1002/1097-0045(20000615)44:1<8::aid-pros2>3.0.co;2-v)
- Rijnberk, A. & Kooistra, H.S. (red.) (2010). *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats: an Illustrated Text*. 2nd rev. and extended ed. Hannover: Schlütersche. (Vet)
- Root Kustritz, M.V. (2006). Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract. *Theriogenology*, 66 (3), 567–574. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.05.003>
- Rosner, W., Hryb, D.J., Kahn, S.M., Nakhla, A.M. & Romas, N.A. (2010). Interactions of sex hormone-binding globulin with target cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 316 (1), 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.009>
- Sannamwong, N., Saengklub, N., Sriphuttathachot, P. & Ponglowhapan, S. (2012). Formula-derived prostate volume determination of normal healthy intact dogs in comparison to dogs with clinical BPH. *7th International Symposium on Canine and Feline Reproduction.*, 226
- Shain, S.A. & Boesel, R.W. (1978). Androgen receptor content of the normal and hyperplastic canine prostate. *The Journal of Clinical Investigation*, 61 (3), 654–660. <https://doi.org/10.1172/JCI108977>

- Sirinarumitr, K., Johnston, S.D., Kustritz, M.V., Johnston, G.R., Sarkar, D.K. & Memon, M.A. (2001). Effects of finasteride on size of the prostate gland and semen quality in dogs with benign prostatic hypertrophy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218 (8), 1275–1280. <https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.1275>
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2nd ed. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Smith, J. (2008). Canine prostatic disease: a review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. *Theriogenology*, 70 (3), 375–383. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.039>
- Swerdloff, R.S., Dudley, R.E., Page, S.T., Wang, C. & Salameh, W.A. (2017). Dihydrotestosterone: biochemistry, physiology, and clinical implications of elevated blood levels. *Endocrine Reviews*, 38 (3), 220–254. <https://doi.org/10.1210/er.2016-1067>
- Trachtenberg, J., Hicks, L.L. & Walsh, P.C. (1980). Androgen- and estrogen-receptor content in spontaneous and experimentally induced canine prostatic hyperplasia. *The Journal of Clinical Investigation*, 65 (5), 1051–1059. <https://doi.org/10.1172/JCI109757>
- Umbach, A., Failing, K., Goericke-Pesch, S. & Wehrend, A. (2019). Freezing and storage effects on enzyme, electrolyte, and mineral compositions in canine prostatic fluid. *Veterinary Clinical Pathology*, 48 (4), 691–694. <https://doi.org/10.1111/vcp.12803>
- Wales, R.G. & White, I.G. (1965). Some observations on the chemistry of dog semen. *Reproduction*, 9 (1), 69–77. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0090069>
- Wallander, S. (2021). *Testosterons betydelse för hanhundens fertilitet*. (Avancerad nivå, A2E) Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-16506> [2021-12-06]
- Werhahn Beining, F., Urhausen, C., Wolf, K., Schmicke, M., Rohn, K., Schuler, G. & Günzel-Apel, A. (2020). Rhodesian Ridgebacks have an increased risk to develop benign prostatic hyperplasia. *Reproduction in Domestic Animals*, 55 (3), 283–292. <https://doi.org/10.1111/rda.13616>
- Willnow, T.E. & Nykjaer, A. (2010). Cellular uptake of steroid carrier proteins - Mechanisms and implications. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 316 (1), 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.07.021>
- Wolf, K., Kayacelebi, H., Urhausen, C., Piechotta, M., Mischke, R., Kramer, S., Einspanier, A., Oei, C. & Günzel-Apel, A. (2012). Testicular steroids, prolactin, relaxin and prostate gland markers in peripheral blood and seminal plasma of normal dogs and dogs with prostatic hyperplasia. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 243–246. <https://doi.org/10.1111/rda.12083>
- Xiaocheng, C., Shan, H., Yuxing, L., Lizhen, Y., Linmao, D., Shoujun, Y. & Qinglin, Z. (2015). Inhibition of spontaneous canine benign prostatic hyperplasia by an *Urtica fissa* polysaccharide fraction. *Planta Medica*, 81 (1), 10–14. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1383364>

Tack

Jag skulle vilja rikta ett stort tack till Bodil Ström Holst för allt stöd och vägledning under arbetets gång.

Jag vill även tacka Gabriella Hallbrink Ågren för hjälp med ELISA och trevligt sällskap på KV-lab.

Ett slutgiltigt tack till Jakob Skogby Steinholtz som har hjälpt mig med samtliga figurer i detta arbete.

Populärvetenskaplig sammanfattning

Prostata eller blåshalskörteln som den också kallas, är en körtel hos hanliga däggdjur som omsluter främre delen av urinröret. Prostatas främsta uppgift är att producera prostatavätska, som hjälper spermier vid transport. Det är inte ovanligt att äldre okastrerade hanhundar drabbas av en godartad tillväxt av prostata som kallas prostatahyperplasi (PH). Sjukdomen finns även beskriven hos människa. Alla drabbade hanhundar visar inte tecken på sjukdom, utan detta sker vanligen när prostata är så stor att den trycker på ändtarmen underifrån. Avföringen kan då få tillplattat utseende och hunden kan få problem med förstoppning och smärtsamma trängningar.

Könshormoner delas vanligen in i hanliga könshormoner och honliga könshormoner. Testosteron är det viktigaste hanliga könshormonet, medan östrogen och progesteron är de viktigaste honliga könshormonerna. Testosteron produceras primärt i testiklarna och är viktigt för spermieproduktionen, könsdriften, utvecklingen av de hanliga könsorganen samt tillväxten av skelett och muskulatur. I själva verket förekommer både hanliga och honliga könshormoner hos båda könen, men nivåerna skiljer sig åt.

Det är känt att stigande ålder leder till sänkta nivåer av testosteron i blodet hos hundar. Nivåerna av östrogen förblir däremot stabila eller till och med förhöjda med åldern. Förändringen i relationen mellan testosteron och östrogen har visat sig vara högre hos hundar med PH. Det är inte helt klarlagt varför hundar utvecklar sjukdomen, men hanliga och honliga könshormoner samt stigande ålder tycks spela en betydande roll i processen.

Ungefär 2 % av testosteronet i blodet är fritt och obundet. Resterande andel testosteron transporteras huvudsakligen bundet till transportproteinet sexualhormonbindande globulin (SHBG). Det är endast den fria formen av testosteron som kan binda in till kroppens celler och därmed utöva sin effekt. Om man vill ta reda på nivåerna av fritt testosteron i blodet måste först halterna av totalt testosteron och SHBG i blodet analyseras. Därefter räknas fritt androgenindex (FAI) ut genom att dividera koncentrationen totalt testosteron med koncentrationen SHBG. På så sätt

kan mängden fritt testosteron uppskattas. I dagsläget är SHBG och FAI relativt ostuderat på hundar.

I den här studien har värdet av totalt testosteron, SHBG och FAI jämförts med prostatastorleken hos 79 okastrerade hanhundar, för att se om det finns något samband mellan ökade värden och större prostata. Blodprover, ultraljudsmätningar av hundarnas prostata och annan information från 2014 kompletterades med testosteron- och SHBG-analys. Därefter räknades FAI ut för hundarna enligt ovan.

I den här studien kunde inte något samband mellan prostatastorleken och totalt testosteron, SHBG eller FAI säkerställas. Det fanns en trend till ett svagt samband mellan prostatavolymen och SHBG. Studien visade däremot att större hundar hade högre nivåer av SHBG i blodet och lägre FAI-värde jämfört med små hundar. I den här studien sjönk nivåerna av totalt testosteron med åldern, vilket även visats i en annan studie.

Slutsatsen av den här studien är att SHBG inte kunde bekräftas vara inblandat i sjukdomsutvecklingen bakom PH. SHBG är dock ett intressant protein som bör studeras vidare eftersom en annan studie har visat att SHBG har en förmåga att aktivera prostatacellerna hos hund. I övrigt är informationen om SHBG hos hund begränsad.

Bilaga 1

Canine Sex Hormone Binding Globulin (SHBG) ELISA kit

(Baseras på instruktioner från Amsbio BlueGene katalognummer: E08S0026)

Innehåll:

| Material | Specifikation |
|--------------------|---------------|
| Mikrotiterplatta | 96 brunnar |
| Enzymkonjugat | 6.0 mL |
| Standard A (0,5mL) | 0 nmol/L |
| Standard B (0,5mL) | 2.5 nmol/L |
| Standard C (0,5mL) | 5.0 nmol/L |
| Standard D (0,5mL) | 10 nmol/L |
| Standard E (0,5mL) | 25 nmol/L |
| Standard F (0,5mL) | 50 nmol/L |
| Substrat A | 6 mL |
| Substrat B | 6 mL |
| Stopplösning | 6 mL |
| Sköjlösning (100x) | 10 mL |

Observera:

Prover bör alikvoterats och måste förvaras i -20°C (ej längre än 3 månader) eller -80°C (ej längre än 6 månader) för att undvika kontamination och förlust av bioaktivitet. Upprepad frysning och tining samt långtidsförvaring bör undvikas för att motverka proteinnedbrytning. För denna analys är färska prover rekommenderade.

Utförande:

1. Förbered spädd sköjlösning genom att blanda 10 mL koncentrerad **sköjlösning** med 990 mL avjoniserat eller destillerat vatten.
2. Ställ fram provtagningskitet och proverna i rumstemperatur innan användning.
3. Eventuella spädningar av provmaterial förberedes. Ospädda prover eller spädningar enligt 1:2 eller 1:4 rekommenderas. Undvik att späda mer än 1:10, då det överstiger kitets spädningegräns.
4. Tillsätt 100 μL av **standard A-F** per brunn i de första brunnarna på mikrotiterplattan. Pipettera upp och ner 3 gånger innan. Varje flaska skall blandas försiktigt för hand innan användning.
5. Tillsätt 100 μL serum per brunn i resterande tilltänkta brunnar på mikrotiterplattan.
6. Tillsätt 50 μL **enzymkonjugat** i samtliga brunnar.
7. Blanda väl (viktigt steg). Täck över och inkubera i 37°C i 60 minuter.
8. Tvätta mikrotiterplattan. Om automatisk tvätt används ska plattan tvättas 5 gånger med spädd sköjlösning (350-400 μL /brunn/tvätt). Rekommenderade inställningar är 10 sekunder blötläggningstid och 5 sekunder skaktid. Vänd plattan och slå den mot absorberande papper tills resterande fukt avlägsnats.
9. Tillsätt 50 μL **substrat A** i samtliga brunnar.
10. Tillsätt 50 μL **substrat B** i samtliga brunnar.
11. Täck över och inkubera i 37°C i 15-20 minuter. Inkubationstiden kan förlängas till maximalt 30 minuter om färgomslaget är svagt efter 15-20 minuter.
12. Tillsätt 50 μL **stopplösning** i samtliga brunnar. Blanda väl.
13. Absorbansen läses av med en spektrofotometer vid 450 nm.