

# PUESTA A PUNTO E INTERPRETACIÓN DE LA ASPIRACION CON AGUJA FINA EN EL DIAGNOSTICO DE HIPERPLASIA PROSTÁTICA Y PROSTATITIS CRONICA CANINA

González G<sup>1\*</sup>, Maffrand C<sup>1</sup>, Guendulain C<sup>1</sup>,  
Otegui F<sup>1</sup>, Gobello C<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Río Cuarto

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata

**RESUMEN:** La hiperplasia prostática benigna (HPB) y sus complicaciones infecciosas son las enfermedades prostáticas más prevalentes en perros de edad avanzada. Aunque la biopsia ofrece el diagnóstico definitivo, la aspiración con aguja fina (AAF) con guía ecográfica es una herramienta rápida y segura para el diagnóstico citológico presuntivo de las alteraciones prostáticas. El objetivo del presente trabajo fue poner a punto la técnica de AAF prostática ecodirigida y la interpretación del material obtenido en casos de HPB y prostatitis crónica (PC). Se evaluó ecográficamente y se aspiró por vía transabdominal ecodirigida la próstata de 45 caninos. Se tomaron muestras para estudio histopatológico en 16 de los animales. El estudio ecográfico reveló 21 casos de glándulas normales y 24 de HPB (12 con quistes) mientras que el citológico 27 y 15 de los mismos grupos e incluso detectó 3 casos de PC que fueron corroborados por histopatología. Esta última reveló también 4 próstatas normales y 9 HPB. Debido al procedimiento de AAF del tejido prostático, tres animales (6.7%) presentaron hematuria, que en todos los casos fue autolimitante. Este estudio sugiere un acuerdo entre la citología y el diagnóstico histopatológico en la HPB y la prostatitis crónica, lo que califica a la AAF ecodirigida como una maniobra diagnóstica útil para la evaluación de enfermedades no supurativas, no neoplásicas de la glándula prostática del perro.

**PALABRAS CLAVES** Perro- próstata – aspiración por aguja fina- citología

## FINE TUNING AND INTERPRETATION OF NEEDLE ASPIRATION BIOPSY IN THE DIAGNOSIS OF BENIGNE PROSTATIC HYPERPLASIA AND CHRONIC PROSTATITIS IN THE DOG

**ABSTRACT:** Benign prostatic hyperplasia (BPH) and its infectious complications are very prevalent diseases in the aging dog. Although biopsy offers the definitive diagnosis, ultrasound guided-fine needle aspiration (US-FNA) cytology is a safe and quick tool for the presumptive diagnosis of prostatic conditions. The aim of this study was to fine tune the technique and interpretation of US-FNA in cases of BPH and chronic prostatitis (CP). The prostate of 45 dogs were transabdominal ultrasounded and aspirated. Tissue for histopathological diagnosis was also carried in 16 dogs. Ultrasound examination presented 21 cases of normal gland and 24 cases of BPH (12 with cysts) while cytology showed 27 and 15 cases of the same groups and even detected 3 cases of CP that were corroborated by histopathology. This last technique also revealed 4 normal and 9 hyperplastic glands. Three animals (6.7%) presented transient hematuria. This study suggests an agreement between cytology and histopathologic diagnosis of BPH and chronic prostatitis which guarantees the use of US-FNA in the evaluation of non suppurative, non- neoplastic diseases in the canine prostate.

**KEY WORDS** Canine - prostate- fine needle aspiration - cytology

Fecha de recepción: 20/02/07

Fecha de aprobación: 20/6/08

**Dirección para correspondencia** G. González. Enlace ruta 8 y 36, km 602, (5800) Río Cuarto Fax (358) 468280

**Email:** ggonzalez@ayv.unrc.edu.ar

## INTRODUCCION

La próstata es la única glándula sexual accesoria del macho canino, se localiza con predominio en el espacio retroperitoneal, caudal a la vejiga y se relaciona con el recto dorsalmente y con la sínfisis púbica y la pared abdominal ventralmente (1). En términos generales, las enfermedades prostáticas pueden clasificarse como neoplásicas, infecciosas u hormonales; la hiperplasia prostática benigna (HPB) es la entidad que se presenta con mayor frecuencia (2,3).

La HPB se caracteriza por un desarrollo anormal del tejido glandular y una irregularidad en el tamaño y forma de los acinos prostáticos. <sup>(4)</sup> Más del 80% de los caninos enteros mayores de 5 años exhiben hiperplasia y el volumen de la glándula de esos animales es 2.6 veces más grande que en perros normales de igual peso (5,6). La hiperplasia glandular suele acompañarse de alteraciones quísticas más o menos importantes (7,8).

La prostatitis crónica (PC) es una infección prolongada en el tiempo, que puede ser asintomática y solo ser descubierta luego del diagnóstico de infecciones urinarias recurrentes. La *Escherichia coli* es el organismo aislado con mayor frecuencia (9). La inflamación crónica puede causar fibrosis y variaciones en la consistencia pero sin aumento de tamaño, aunque, en casos de presentar coelctas (quistes y/o abscesos) su tamaño puede aumentar. A la ecografía se observa un aumento marcado de la ecogenicidad, focal o difusa y puede estar acompañada de áreas anecoicas de distintos tamaños que representan abscesos, lo que impide diferenciarla de la HPB o la neoplasia (10).

La ecografía es útil para detectar cambios en el parénquima de la glándula y diferenciar lesiones sólidas de cavitarias, sirve como guía para realizar las aspiraciones y biopsias, minimiza la morbilidad y asegura la colección de muestra en la enfermedad localizada.<sup>(11)</sup> No obstante, el examen ecográfico en la HPB no permite emitir un diagnóstico certero, tampoco distinguirla de la prostatitis crónica o de ciertas lesiones tumorales, por lo que es indispensable la citología y/o biopsia para confirmar el diagnóstico (12,13).

La aspiración con aguja fina (AAF) tiene varias ventajas para el diagnóstico de las enfermedades prostáticas por ser una técnica rápida, segura, poco invasiva; el principal objetivo de esta técnica de diagnóstico es obtener un número significativo de células intactas que reflejen la composición de una lesión focal o generalizada. <sup>(14)</sup> A pesar de ello tiene limitaciones específicas, por ejemplo, está contraindicada en prostatitis supurativa o en abscesos prostáticos ya que un amplio número de bacterias pueden ser sembradas a lo largo del trayecto de la aguja; también esta técnica puede proveer insuficiente material

para el diagnóstico y las lesiones pequeñas pueden no ser detectadas. Las complicaciones de la aspiración son raras, ocasionalmente ha sido observada una hematuria transitoria (15).

La histopatología de las enfermedades prostáticas continúa siendo la mejor prueba diagnóstica, ya que, tanto la arquitectura del tejido como cada detalle, puede ser valorado (16,17). Con frecuencia la biopsia es usada para verificar un diagnóstico tentativo de la AAF. Estudios previos demostraron una correlación de la citología con la histopatología del 80% en el adenocarcinoma y de un 75 % en las prostatitis (18). No obstante, por distintas razones que incluyen las económicas, anestésicas entre otras, la biopsia no es frecuentemente realizada en muchas situaciones clínicas.

El objetivo del presente trabajo fue poner a punto la técnica de AAF prostática ecodirigida y la interpretación del material obtenido en casos de HPB y PC en el Servicio de Ecografía y de Análisis Clínicos de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UNRC.

## MATERIALES Y METODOS

Se evaluaron 45 caninos adultos, provenientes de la perrera municipal, cuyas edades oscilaban entre 1 y 14 años y sus pesos entre 9 y 40 kg. Inicialmente se clasificaron los animales por ecografía (Eckhoson SONO ACE, Seoul, Corea, transductor convex de 5 y 6,5 Mhz) de acuerdo a la ecogenicidad, volumen y morfología de la glándula prostática como normales, con HPB o con hiperplasia prostática quística (HPQ).

Se consideró una glándula ecográficamente normal aquella con textura granular media, uniforme, con una delgada cápsula hiperecoica, de forma circular o elíptica al corte longitudinal y bilobulada (forma de mariposa) y simétrica, al corte transversal (19,20). Contrariamente, una glándula con HPB se definió como aquella asimétrica con parénquima hiperecoico o hipoecoico, aunque, mantuviera la arquitectura normal (10,11,13). Cuando la HPB se acompañaba de quistes dentro del parénquima se la denominó HPQ (19,20).

Inmediatamente después los caninos fueron sedados con maleato de acepromacina (Acedán®, Holliday) 0,5-1 mg/kg vía im y colocados en decúbito dorsal sobre la camilla. La piel a nivel del área inguinal se preparó como un campo quirúrgico aséptico. El transductor del ecógrafo se ubicó a un lado del prepucio y la aspiración ecodirigida de la glándula prostática la realizó la misma persona. Con una mano guiaba el transductor y con la otra la aguja de punción. Se utilizaron agujas espinales con estilete de 6-15 cm de longitud. La aguja se introdujo en forma perpendicular al haz de ultrasonido dirigida hacia la próstata y se controló su avance en la pantalla

del monitor. Una vez lograda la posición deseada dentro de la glándula, se retiró el estilete, se acopló una jeringa de 20 ml y se movilizó la aguja en distintos sentidos aplicando presión negativa reiteradas veces (21,22).

Con el material obtenido se realizaron por deslizamiento en forma inmediata los extendidos en portaobjetos, en número variable dependiendo de la cantidad de material y se colorearon con la tinción de May Grunwald Giemsa. Cada preparado fue observado en 10x y 100x con inmersión y de acuerdo a la celularidad observada se lo clasificó como normal, con HPB o con PC según Zinkl (23).

En aquellos casos que se visualizaron quistes intraprostáticos se los aspiró para su estudio citológico y cultivo de bacterias aeróbicas. El líquido aspirado fue centrifugado a 1000 rpm en una citocentrífuga durante 10 min, se tomó una gota del sedimento se realizó un frotis que se fijó al aire y se tiñó con May Grunwald-Giemsa (21,22). Cuando el material fue muy viscoso se colocó una gota de solución fisiológica entre dos portaobjetos y cuando la misma se extendió a su diámetro máximo, se separaron de modo que quedaron dos extendidos (23). Cada muestra fue observada como se explicó anteriormente.

En 16 de los animales se tomaron, además, muestras para su estudio histopatológico, las que se fijaron en formalina y colorearon con hematoxilina-eosina de acuerdo a técnicas previamente descriptas (21,23).

## RESULTADOS

El estudio ecográfico de los 45 animales reveló 21 casos normales, 12 con HPB y 12 con HPQ (Tabla 1). Ningún caso de prostatitis crónica pudo ser detectado por este método.

En 2 casos (4,4 %) la celularidad aportada por la aspiración fue insuficiente para la clasificación del preparado ya que solo se observaban eritrocitos y escasos neutrófilos. En estos casos se repitió la aspiración obteniéndose material suficiente en esta segunda oportunidad.

En las próstatas citológicamente normales las células epiteliales observadas fueron cúbicas, columnares y escasas transicionales. Las células epiteliales cúbicas se encontraban aisladas en grupos, eran de tamaño pequeño o medio, con núcleo redondo o ligeramente oval, y de ubicación central o periférica. El citoplasma de estas células era ligeramente basófilo con aspecto finamente granular y ocasionalmente vacuolizado. Cuando las células aparecían agrupadas no siempre se distinguieron los bordes citoplasmáticos (Figura 1). Las células columnares resultaron más cilíndricas, con núcleo redondeado o ligeramente oval ubicado en la porción basal. El citoplasma era levemente basófilo y en algunas células se observaron pequeñas vacuolizaciones en el borde

Tabla 1: Resultados de los estudios ecográficos, citológicos, bacteriológicos e histopatológicos prostáticos, realizados en 45 caninos machos.  
Table 1: Ultrasonographic, cytological, histopathological and bacteriological prostatic findings in 45 male dogs.

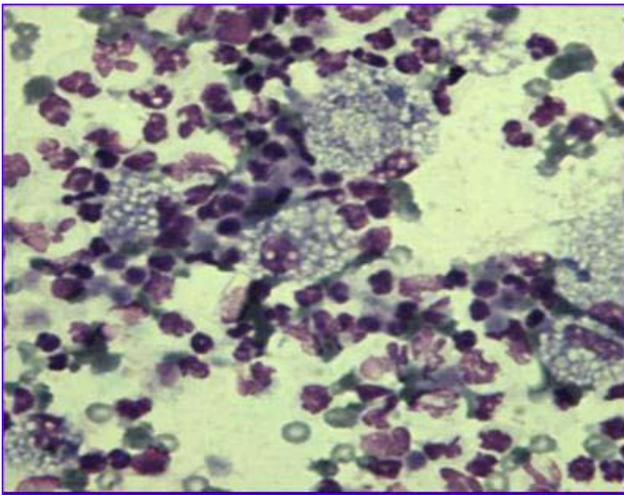
Canino	Ecografía	Citología	Histopatología	Cultivo
1	normal	normal	no se realizó	no se realizó
2	HPQ	HPB	no se realizó	negativo
3	HPQ	HPB	no se realizó	negativo
4	HPQ	normal	Normal	negativo
5	HPQ	normal	no se realizó	positivo
6	HPB	HPB	HPB	no se realizó
7	normal	normal	no se realizó	no se realizó
8	HPB	HPB	no se realizó	no se realizó
9	HPQ	HPB	HPB	negativo
10	HPQ	PC	PC/HPQ	positivo
11	HPQ	HPB	HPB	negativo
12	HPQ	HPB	no se realizó	negativo
13	normal	normal	no se realizó	no se realizó
14	normal	normal	no se realizó	no se realizó
15	HPQ	PC	PC/HPQ	positivo
16	HPB	normal	no se realizó	no se realizó
17	HPB	normal	no se realizó	no se realizó
18	normal	normal	no se realizó	no se realizó
19	HPB	HPB	no se realizó	no se realizó
20	normal	normal	no se realizó	no se realizó
21	normal	normal	no se realizó	no se realizó
22	normal	normal	no se realizó	no se realizó
23	normal	normal	no se realizó	no se realizó
24	HPB	HPB	no se realizó	no se realizó
25	HPQ	PC	PC/HPQ	positivo
26	normal	normal	no se realizó	no se realizó
27	normal	normal	no se realizó	no se realizó
28	normal	normal	no se realizó	no se realizó
29	normal	normal	no se realizó	no se realizó
30	HPQ	HPB	HPB	negativo
31	normal	normal	no se realizó	no se realizó
32	normal	normal	normal	no se realizó
33	normal	normal	no se realizó	no se realizó
34	normal	normal	no se realizó	no se realizó
35	normal	normal	normal	no se realizó
36	normal	normal	no se realizó	no se realizó
37	HPB	normal	HPB	no se realizó
38	HPB	HPB	HPB	no se realizó
39	normal	normal	HPB	no se realizó
40	HPB	HPB	HPB	no se realizó
41	HPB	HPB	BPB	no se realizó
42	HPQ	HPB	no se realizó	positivo
43	normal	normal	normal	no se realizó
44	HPB	normal	no se realizó	no se realizó
45	HPB	HPB	no se realizó	no se realizó

**HPB:** Hiperplasia prostática benigna **HPQ:** Hiperplasia prostática quística **PC:** Prostatitis crónica

basal y granulaciones acidófilas en el apical, relacionadas posiblemente con la actividad secretoria de las mismas (Figura 2).

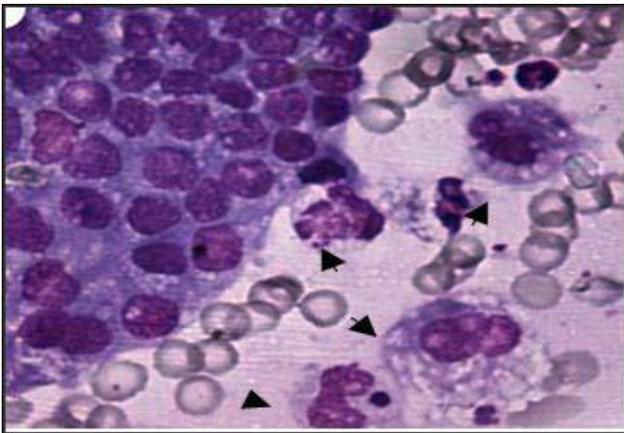
En las próstatas con diagnóstico citológico de HPB se observaron cambios poco evidentes, como celularidad escasa a moderada, citoplasma basófilo y ligeramente granular. Los núcleos eran redondeados, de localización excéntrica en la mayoría de los casos y rara vez fueron observados nucleolos. La relación núcleo/citoplasma se encontró aumentada con respecto a la próstata normal. En algunos extendidos se observó un incremento en el número de células epiteliales, aumento en la basofilia y marcada vacuolización citoplasmática (Figuras 3 y 4). En un solo caso se observó la presencia de un cuerpo amiláceo, de aspecto homogéneo, fuertemente eosinofílico.

En las PC se observó junto a la presencia de neutrófilos, un incremento de mononucleares, linfocitos y macrófagos. En algunos casos, los macrófagos presentaban eritrofagocitosis o hemosiderina como un indicador de la actividad



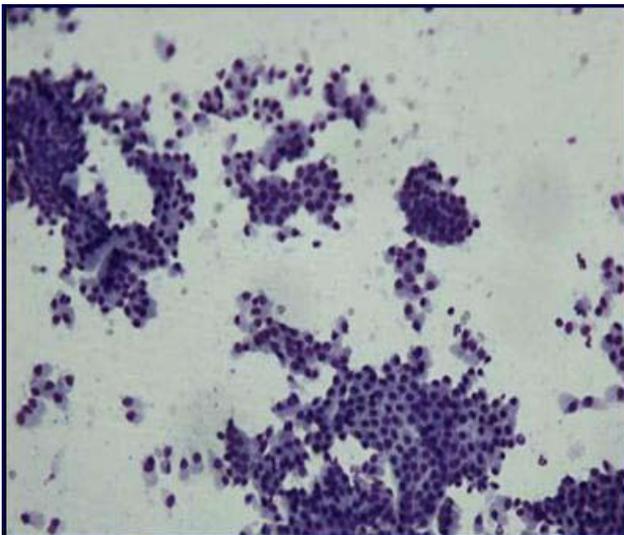
**Fig. 1:** Células epiteliales, con núcleos ligeramente ovales, excéntricos y citoplasma acidófilo.

**Fig. 1.** Epithelial cells, with slightly oval, eccentric nuclei and acidophilic cytoplasm. H&E 600x



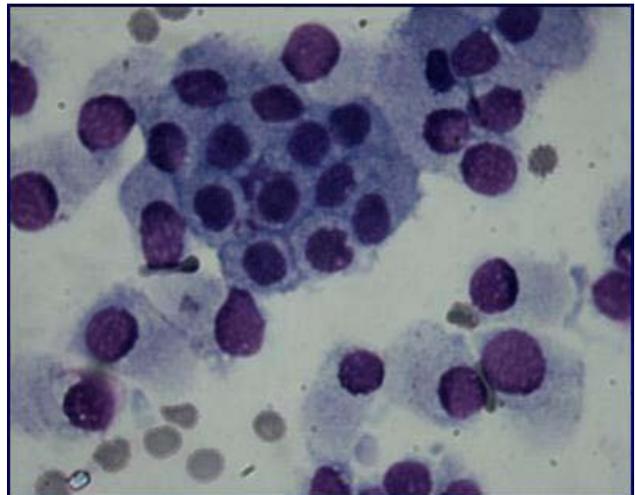
**Fig. 2:** Glándula prostática normal con células columnares con núcleos periféricos y abundante citoplasma. May Grünwald 1000x

**Fig.2:** Normal prostate with columnar cells with peripheral nuclei and abundant cytoplasm. May Grünwald. 1000x



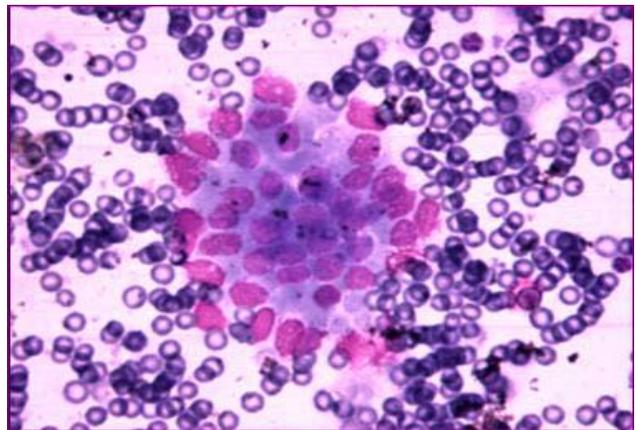
**Fig.3:** Células epiteliales dispersas y en colgajos. May Grünwald 200x.

**Fig. 3:** Dispersed and grouped epithelial cells.



**Fig. 4:** Colgajo de células epiteliales con marcada basofilia citoplasmática. H&E 1000x

**Fig. 4:** Groups epithelial basophilic cells. H&E 1000x



**Fig. 5:** Racimo de células epiteliales con citoplasma basófilo y macrófagos (flechas). May Grünwald. 1000x

**Fig.5:** Cluster of epithelial cells with cytoplasmic basophilic and macrophages (arrows). May Grünwald. 1000x

reparativa de estas células frente al proceso inflamatorio y diapédesis de eritrocitos (Figura 5).

El líquido obtenido de los quistes fue acelular y negativo al cultivo en 7 casos (58,3 %). Al concentrarlo, la citología no difirió prácticamente de la glándula normal, se visualizaron unas pocas células epiteliales, escasos neutrófilos y algunos desechos celulares. En los casos que el cultivo del líquido aspirado resultó positivo, 5 de los 12 casos, (41,6%) 2 fueron a *Staphylococcus aureus*, 2 a *Escherichia coli* y 1 a *Proteus* sp y la población bacteriana en todos los casos fue >100.000/ml.

Del total de 45 caninos a los que se les realizó AAF, sólo 3 (6,7 %) presentaron hematuria autolimitante durante 3 días posteriores a la misma. La presencia de células transicionales en el extendido de uno de los casos hace suponer que se atravesó accidentalmente la uretra prostática.

## DISCUSIÓN

Como era de esperar, la visualización ecográfica de la próstata previa al estudio citológico fue de gran utilidad en la evaluación del parénquima y la detección de anormalidades locales o difusas para su posterior aspiración. Incluso, es importante hacer notar, que el diagnóstico de las formas quísticas dependió casi exclusivamente de esta técnica.

La escasa celularidad es una limitante conocida de la AAF (1, 15, 23), en este estudio no resultó ser un gran inconveniente ya que se presentó en un escaso porcentaje de pacientes y fue fácilmente solucionado con una segunda aspiración.

El porcentaje relativamente alto de falsos negativos de la AAF para el diagnóstico de HPB puede deberse a que las alteraciones citológicas fueron sutiles comparadas con los de próstata normal. Este hallazgo concuerda con la bibliografía que señala que la citología es menos efectiva en enfermedades hiperplásicas no neoplásicas (18,24). En cambio la PC resultó mucho más fácil de diagnosticar debido al hallazgo constante de células típicas de la inflamación.

La evidencia citológica de inflamación se correlacionó en todos los casos con la infección prostática diagnosticada por el cultivo (1, 24). Solo en 2 casos en que la citología informó normalidad, el cultivo fue positivo, esto refuerza la idea que el líquido aspirado de un quiste siempre debe ser cultivado. La población bacteriana hallada coincide con la informada por la bibliografía (1, 2) para la prostatitis crónica séptica, hallándose cultivos puros para un determinado microorganismo.

La única complicación de la AAF fue la aparición de hematuria leve en un bajo porcentaje de animales en los que no hubo que realizar ningún tratamiento.

El acuerdo encontrado entre AAF y biopsia para el diagnóstico de esas condiciones anormales de la próstata esta en línea con lo publicado previamente (75%) para los desórdenes prostáticos caninos (15).

Este estudio con 45 animales ha permitido familiarizarnos con la técnica e interpretación de AAF ecodirigida, la que demostró ser segura e incluso tener una buena correlación con la histopatología para el diagnóstico de la HPB y PC.

Estos estudios garantizarán en el futuro el uso de la AAF ecodirigida como una maniobra diagnóstica inicial para la evaluación de enfermedades no supurativas, no neoplásicas de la glándula prostática del perro.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica (UNRC). 185/05. Los autores agradecen a la empresa

Royal Canin, por la provisión de alimento balanceado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ling G. Enfermedades del aparato urinario de perros y gatos. Diagnóstico-Tratamiento Médico-Prevención. Ed. Intermédica. Buenos Aires (Argentina), 1996; p. 23-56.
2. Barsanti J, Finco D. Canine prostatic diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1986; 16 (3):587-99.
3. Gobello C, Corrada Y. Non infectious disorders of canine prostate: A medical approach. *Compendium of Continuing Education* 2001; 24 (2):99-107.
4. Ichihara I, Kawai N, Heibronner R, Rohr H. Stereologic and fine-structural studies of prostatic acinar basal cells in the dogs. *Cell Tissue Res* 1985; 242:519-25.
5. Bauzaitte N, Albina A. Association of age and breed of dog with distribution of benign prostate hyperplasia (BPH) and mixed lesions. *M. Weterynaryjna* 2003; 59 (8): 686-690.
6. Kamolpatana K, Jhonston GR, Jhonston SD. Determination of canine prostatic volume using transabdominal ultrasonography. *Vet Radiol Ultrasound* 2000; 41 (1): 73-77.
7. Klausner J, Johnston S, Bell F. Transtornos prostáticos caninos. En: Kirk. R, Bonagura, J. (eds) *Terapéutica Veterinaria*. Ed Mc Graw Interamericana, Buenos Aires (Argentina), 1997; p.1187-93.
8. Johnston S, Kamolpatana M, Root--Kustritz MV, Johnston GR. Prostatic disorders in the dog. *Anim Reprod Science* 2000; 60 (61):405-15.
9. Ling GV, Nyland TG, Kennedy PR, Hager DA, Johnson DL. Comparison of two sample collection methods for quantitative bacteriologic culture of canine prostatic fluid. *J Am Vet Assoc* 1990; 196 (9):1479-82.
10. González GM, Guendulain C, Suárez A, Wheeler T, Otegui F. Ecografía de la próstata canina: normal y patológica. *Pet's Ciencia Veterinaria* 2000; 16 (86):48-56.
11. Ruel Y, Barthez P, Mailles A, Begon D. Ultrasonographic evaluation of prostate in healthy intact dogs. *Vet Radiol* 1998; 39 (3):212-16.
12. Melograma F, Oertel Y, Kwart AM. Prospective controlled assessment of fine-needle prostatic aspiration. *Urology* 1982; 19 (1):47-51.
13. Perez G, Acosta Ortega J, García Solano J. The continuing role offone-needle aspiration of the prostate gland into the 21 st century: A tribute to Torsten Lowhegen. *Diagnosis Cytopathology* 2004; 32 (5)315-19.
14. Maksem JA, Jochenning PW, Galang CF. Prostatitis and aspiration biopsy cytology of prostate. *Urology* 1988; 32 (3):263-68.
15. Powe JR, Canfield PJ, Martin P. Evaluation of the cytologic diagnosis of canine prostatic disorders. *Veterinary Clinical Pathology* 2004; 33 (3):150-54.
16. Cooney RE, Cartee BW, Rumph GP. Ultrasonography of the canine prostate with histologic correlation.

**G. González y col.**

Theriogenology 1992; 38:877-95.

17. Reyes A, Humphrey P. Diagnostic effect of complete histologic sampling of prostate needle biopsy specimens. *American Journal of Clinical Pathology* 1998; 109 (4):416-22.

18. Ghisleni G, Roccabianca P, Ceruti R, Stefanello D, Bertazzolo W, Bonfanti U, Caniatti M. Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 2006; 35 (1):24-30.

19. Feeney D, Johnston G, Klausner J, Ford B. Canine prostatic Ultrasonography. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)* 1989; 4:44-57.

20. Mattoon J, Nyland T. Ultrasonography of the Genital System. En: Nyland T, Mattoon J. (eds.) *Veterinary Diagnostic Ultrasound*, Ed. W. B. Saunders. Philadelphia (USA), 1995; p. 141-64.

21. Root Kustritz MV. Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract. *Theriogenology* 2006; 66:567-74.

22. Maksem JA, Johenning PW, Galang CF, Tannenbaun M. Aspiration biopsy of the prostate gland. *Urol Clin North Am* 1998; 15 (4):555-75.

23. Zinkl JG. Citología del aparato reproductor masculino. En: Cowell R, Tyler R, Meinkoth J. (eds). *Citología y hematología diagnóstica en el perro*. Multimédica (Argentina) 1999; p.231-37.

24. Cohen M, Bohling NW, Wright JC, Welles EA, Spano JS. Evaluation of sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases (1999-2000). *J Am Vet Med Assoc* 2003; 222 (7):964-7.

25. Sheskin D. *Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures*, Ed. Delmar Publishers CRC Philadelphia (USA) 3rd ed. 2004.