

01674
19



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**DETERMINACIÓN DE ZINC, CADMIO, COBRE Y SELENIO
EN PRÓSTATAS DE PERROS Y SU RELACIÓN CON LOS
HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

ROSA ELENA MÉNDEZ AGUILAR

TUTOR

MVZ PhD ROSA MARÍA PÁRAMO RAMÍREZ

COMITÉ TUTORAL

**MVZ MSc RENÉ ROSILES MARTÍNEZ
MVZ MPA CARLOS ESQUIVEL LACROIX**

MÉXICO, DF

2003

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedico esta tesis

A mis hijos Esteban y Ernesto

A Graciela

A mi madre y a mi familia

Al Dr. Isidro Castro Mendoza

A la MVZ Verónica Garza Medina

Al Padre Alfonso Bonilla

A mis compañeros de la Sección de Radiología

A todos los residentes de la generación 2002-2003

A todos los egresados del Hospital Veterinario UNAM

DETERMINACIÓN DE ZINC, CADMIO, COBRE Y SELENIO EN PROSTATAS DE PERROS Y SU RELACIÓN CON LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

RESUMEN

La información que se tiene sobre las concentraciones de zinc, cadmio, cobre y selenio en el tejido prostático del perro es escasa. Con el fin de determinar el contenido de estos cuatro microelementos en la próstata y su relación con los hallazgos histopatológicos, se seleccionaron 26 perros provenientes de un centro antirrábico; se dividieron en 3 diferentes grupos de edad. Grupo 1: de 4 a 13 meses; grupo 2: de 13 meses a 5 años y grupo 3: mayores de 5 años. Se obtuvieron las próstatas por necropsia y se dividieron; la mitad de las muestras se sometieron a análisis histopatológico y la mitad correspondiente se procesaron para la determinación de zinc, cobre y selenio por medio de espectrofotometría de absorción atómica (EFAA) con flama y el cadmio, utilizando EFAA con el horno de grafito. El análisis estadístico se realizó dentro, y entre grupos utilizando el análisis de mínimos cuadrados de varianza empleando los procedimientos de modelos lineales generales (GLM) del programa SAS. En tejido sano se encontró el menor contenido de Zn 364 ± 83 ppm en el grupo 1 ($p < .01$), y el más alto 891 ± 32 ppm ($p < .01$) en el grupo 3. La mayor concentración de cadmio 312 ± 18 ppb se presentó en el grupo 2. La concentración de cobre aumentó progresivamente con la edad, pero sólo hubo diferencia ($p < .01$) entre los grupos 2 y 3. El contenido de selenio no varió con la edad. sin embargo la si mostró aumento (720 ± 68 ppb) ($p < .01$) en la prostatitis en comparación con el grupo de observaciones de próstatas normales (464 ± 30 ppb). Se concluyó que sólo en la prostatitis la concentración de selenio mostró aumento significativo. A diferencia del hombre, en los casos de hiperplasia prostática que se analizaron en este trabajo, no se encontraron alteraciones significativas en las concentraciones de zinc y cadmio.

CONCENTRATION OF ZINC, CADMIUM, COPPER AND SELENIUM IN DOG PROSTATES AND ITS RELATIONSHIP WITH HISTOPATHOLOGICAL CHANGES

ABSTRACT

There is a paucity of information about zinc, cadmium, copper and selenium content in the dog prostate. These elements have been related to human benign prostatic hyperplasia, prostatic carcinoma and prostatitis. The objective of this study was to evaluate the relationship between the concentration of these elements in prostatic tissue and the histopathological changes in the prostate. 26 dogs were selected and divided in 3 age groups: Group 1: young dogs from 4 to 13 months; group 2: adult ones from 13 months to 5 years and group 3: old ones more than 5 years old. The soundness of the genital organs was ascertained through a physical examination. Each dog was identified and weighed. Radiographs of the shoulder joint and pelvis were taken to allot each dog to the corresponding age group. Prostates were obtained at the necropsy room; later they were weighted and divided. Half of the samples were processed for the histopathological analysis and the corresponding samples were frozen for further zinc, copper and selenium analysis by flame atomic absorption spectrophotometry (AASP), whereas cadmium was determined by graphite furnace AASP. The changes in the microelements concentrations in the prostatic tissue within and between age groups were statistically evaluated by the least squares analysis of variance using the general linear models (GLM) procedures of the statistical analysis system (SAS). In the healthy prostatic tissue, the lowest zinc concentration 364 ± 83 ppm was found in young dogs ($p < .01$) and the highest 891 ± 32 ppm ($p < .01$) was detected in group 3. The difference between group 2 and group 3 was non significant. The highest cadmium concentration 312 ± 18 ppb was found in group 2; it showed a significant decrease ($p < .01$) in group 3. The copper level increased progressively with age. Significant difference ($p < .01$) was found only between groups 2 and 3. The selenium concentration did not change in relationship with the dog age. It increased (720 ± 68 ppb) ($p < .01$) in prostatitis in contrast to the selenium level (464 ± 30 ppb) in healthy prostatic tissue. An increase of selenium content in prostatitis was found in this work. In contrast with men, in prostatic hyperplasia in dogs, the analysed microelements showed no significant changes.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| Introducción | 1 |
| Anatomía comparativa de la próstata del hombre y del perro | 6 |
| Desarrollo embriológico de la próstata en el hombre | |
| Anatomía de la próstata del hombre | |
| Anatomía de la próstata del perro | |
| Patología comparativa de la próstata del hombre y del perro | 11 |
| Objetivo general | 16 |
| Hipótesis | |
| Justificación | |
| Materiales y Métodos | 18 |
| Resultados | 23 |
| Discusión | 26 |
| Conclusiones | 34 |
| Cuadros | 35 |
| Bibliografía | 40 |

INDICE DE CUADROS

| | |
|--|-----------|
| CUADRO 1 RESUMEN DE LAS SIMILITUDES Y DIFERENCIAS ENTRE LA HIPERPLASIA PROSTÁTICA Y EL ZINC. | 35 |
| CUADRO 2 CONFORMACIÓN DE LAS CATEGORÍAS DE EDAD | 35 |
| CUADRO 3 TABLA CRUZADA DE PORCENTAJE DE PRESENTACIÓN DE HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN PERROS DE 3 DIFERENTES EDADES | 36 |
| CUADRO 4 CONTENIDO DE ZINC, CADMIO, COBRE Y SELENIO EN TEJIDO PROSTÁTICO SANO EN PERROS DE 3 GRUPOS DE EDADES | 36 |
| CUADRO 5 CONTENIDO DE ZINC, CADMIO, COBRE y SELENIO EN PRÓSTATAS DE PERROS ADULTOS Y VIEJOS SIN CONSIDERAR RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICOS | 37 |
| CUADRO 6 CONTENIDO DE ZINC, CADMIO, COBRE Y SELENIO EN PRÓSTATAS DE PERROS ADULTOS Y VIEJOS DE ACUERDO A LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS | 37 |
| CUADRO 7 COEFICIENTES DE CORRELACIÓN SIGNIFICATIVOS Y SUS VALORES ASOCIADOS DE P, DE ZINC, CADMIO, COBRE Y SELENIO EN LAS DIFERENTES CATEGORÍAS DE EDAD | 38 |
| CUADRO 8 PESOS PROMEDIOS DE LAS PRÓSTATAS (g) DE PERROS JÓVENES, ADULTOS Y VIEJOS * | 39 |

INTRODUCCIÓN

El zinc es un elemento ampliamente implicado en el crecimiento y en la actividad reproductiva de los seres vivos, se considera un elemento esencial ya que forma parte de mas de 200 proteínas y enzimas ¹: las zinc metalo-enzimas como anhidrasa carbónica, alcohol deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, carboxipeptidasa, ARN y ADN polimerasas y otras². Su deficiencia o su exceso puede afectar adversamente a todo el organismo.

El cadmio es un metal pesado muy tóxico que no se encuentra naturalmente en los organismos vivos, sin embargo puede tener acceso a diferentes órganos por vía respiratoria o digestiva, concentrándose principalmente en los riñones y en el hígado. Su vida media biológica en humanos es de 20 a 30 años³ . Se le ha implicado en diversas patologías como hipertensión y necrosis de los túbulos proximales de los riñones; en años recientes se ha probado que tiene actividad carcinogénica en los pulmones. Se presenta en alta concentración en las patologías prostáticas más comunes, es decir hiperplasia prostática (HP) y cancer⁴.

Un aspecto clave del metabolismo del cadmio es que con frecuencia sigue las vías biológicas del metabolismo del zinc. Por ejemplo, es común que el cadmio sea captado por las células a través de los mecanismos normalmente dirigidos al consumo de zinc. Se piensa que en el ámbito molecular, muchos de los efectos tóxicos del cadmio se deben a que reemplaza al zinc en los sistemas biológicos⁵. La deficiencia

de zinc modifica la distribución del cadmio y favorece su actividad tóxica³.

El cobre y el selenio también se han relacionado con las patologías prostáticas. El cobre presente en el eyaculado, proviene en gran parte de la próstata⁶. En casos de cáncer, el cobre es importante para la angiogénesis, proceso por el cual el tumor forma la vasculatura que le permite crecer y diseminarse; basándose en esta información uno de los protocolos actuales contra el cancer, consiste en reducir la concentración de cobre con el fin de impedir la angiogénesis⁷. El selenio está presente en la selenocisteína en un sitio activo de la glutation-peroxidasa⁸; esta enzima metaboliza los peróxidos de hidrógeno que se forman a partir de los ácidos grasos poliinsaturados⁹. En estudios realizados *in vitro* se ha visto que a determinadas concentraciones, el selenio inhibe el crecimiento del epitelio prostático, inducido por el cadmio por lo cual se considera que podría ser útil para contrarrestar los efectos deletéreos del cadmio, en la próstata del hombre¹⁰.

En 1921, Bertrand y Vladesco mostraron que la próstata contiene más zinc que cualquier otro órgano humano, pero no fue sino hasta 30 años después que se confirmó esta alta concentración¹¹.

Recientemente se ha determinado que el zinc aumenta tanto en el núcleo como en el citoplasma del epitelio glandular de la HP mientras que disminuye en los mismos sitios en el carcinoma prostático¹² y en otro estudio en el que también se analizó el cadmio se observó que este elemento aumenta en ambas patologías⁴. Aunque el zinc también aumentó en las células epiteliales de la prostatitis aguda, su elevación

no fue significativa¹². En un estudio sobre la próstata de la rata se observó que después de un tratamiento con zinc, la concentración de este elemento se elevó en el lóbulo lateral y disminuyó en el lóbulo dorsal. Cuando se administró un tratamiento con cadmio, la concentración de zinc aumentó en el lóbulo lateral. La concentración de zinc no mostró cambios significativos en el lóbulo ventral, con ninguno de los 2 tratamientos. Los autores consideran que los 3 lóbulos de la próstata de la rata, responden de manera diferente a la exposición con estos 2 elementos¹³.

A diferencia de la anatomía lobar de la próstata de la rata, la próstata del hombre no presenta lóbulos anatómicos definidos sino zonas concéntricas con características morfológicas, funcionales y patológicas distintas¹⁴. El Zinc, por ejemplo no se distribuye uniformemente en la glándula sino que se concentra más en la zona periférica, que a su vez, es la zona donde se originan casi todos los carcinomas. En la zona central en donde se localiza la menor concentración de zinc, sólo se origina el 5% de las neoplasias prostáticas¹¹

La distribución subglandular de zinc en la próstata sana del humano, se ha dificultado porque técnicamente ha sido difícil delinear con precisión las zonas histológicas; a pesar de lo anterior, la mayoría de los estudios concuerdan en que la mayor concentración de zinc se localiza en la región dorsolateral que corresponde a la zona periférica. La zona de menor concentración corresponde a la zona central.¹¹ La rata también presenta la mayor concentración de zinc en la región dorsolateral donde aparentemente esta relacionado con una proteína no-histona de 20 000 daltons (20K-NHP) que sólo se encuentra en la próstata y que al igual

que el zinc aumenta su concentración con la edad. En esta región de la próstata de la rata también se ha localizado una concentración elevada de anhidrasa carbónica, que se considera una enzima dependiente del zinc, que tiende a aumentar en relación con la edad del animal¹¹.

Las patologías de la próstata del hombre, HP, cáncer y prostatitis afectan a una elevada proporción de la población y han sido objeto de múltiples estudios para determinar su etiología y fisiopatología, a pesar del esfuerzo realizado, aun no se ha logrado definir su causa^{14 15 16 17 18}

Otro campo de investigación importante, es sobre el efecto de la vasectomía en la próstata humana, ya que en algunos estudios se ha mencionado que podría causar cáncer de próstata y por lo tanto se esta investigando la repercusión de esta técnica, en las concentraciones sérica y prostática de zinc, cobre y cadmio¹⁹.

A pesar de que todos los mamíferos machos tienen próstata solo 2 especies padecen comúnmente de manera natural de prostatopatías, el hombre y el perro, por lo que se ha considerado a este ultimo, como un modelo experimental excelente, para estudiar la compleja fisiopatología de las enfermedades prostáticas^{14 20}.

En la prostatitis del hombre el zinc seminal se reduce¹¹, a diferencia de lo observado en la prostatitis del perro en la cual, de acuerdo a Branam et al.²¹ las concentraciones de zinc seminal no se alteran.

La pregunta a contestar es ¿Se alteran significativamente las concentraciones de zinc, cadmio, cobre y selenio en las prostatopatías del perro?

La respuesta a esta pregunta tiene implicaciones importantes, una respuesta afirmativa sugiere que estos 4 elementos deben incluirse en la fisiopatología de las enfermedades prostáticas y si la respuesta es negativa, entonces el perro no sería un modelo experimental adecuado para incluirlo en estudios sobre el comportamiento de estos elementos en las prostatopatías del humano.

Desde el punto de vista de la clínica de pequeñas especies, sería importante determinar si las alteraciones en las concentraciones de estos elementos, podrían tener valor como pruebas diagnósticas en las prostatopatías del perro.

ANATOMÍA COMPARATIVA DE LA PROSTÁTA DEL HOMBRE Y DEL PERRO

Desarrollo embriológico de la próstata en el hombre

Una vez que se ha realizado la determinación primaria del sexo, las células sustentaculares de Sertoli presentes en los testículos fetales, secretan la hormona antiducto mülleriano que causan la degeneración de estos ductos. Posteriormente las células intersticiales de Leydig producen testosterona que promueve la diferenciación de los conductos de Wolf a epidídimo, conducto deferente y vesículas seminales y en el seno urogenital promueve el desarrollo de escroto y pene. En el seno urogenital, por la acción de la 5 α reductasa la testosterona se convierte en 5 α -dihidrotestosterona que masculiniza a la uretra, próstata, pene y escroto²². El crecimiento de las glándulas sexuales accesorias que se derivan de los conductos de Wolf finaliza alrededor de las 13 semanas mientras que durante ese mismo lapso, la próstata inicia su desarrollo a partir de 5 prominencias epiteliales que se colocan en pares sobre el lado posterior del seno urogenital y de ahí invaden el mesénquima para formar la próstata. Los pares craneales forman la zona interna de la próstata y parecen ser de origen mesodérmico; los pares caudales forman la zona externa de la próstata y parecen ser de origen ectodérmico. En el centro, en contacto con la uretra, se localiza el utrículo prostático que es un pequeño remanente de tejido del ducto Mülleriano. Por arriba de la zona donde se unen los conductos eyaculadores a la uretra, se encuentra una porción de tejido prostático glandular al que se denomina zona central; por su arquitectura y características histológicas similares a las que presentan las vesículas seminales, se considera que esta zona se origina a partir de los ductos

de Wolf¹⁴ ²³. La próstata ya esta bien diferenciada al 4º mes de gestación.

Anatomía de la próstata del hombre

La próstata del adulto es un cono truncado, con su base en la unión uretrovesical y su ápice en el diafragma urogenital; está perforada por la uretra y por el par de conductos eyaculadores que se unen a la uretra en la zona denominada *verumontanum*; en este punto la uretra presenta una angulación de 35º para tomar un curso en dirección anterior²⁴.

Desde el punto de vista histológico; la próstata del hombre esta formada por componentes glandulares y no glandulares; la próstata glandular, aproximadamente 2/3 del volumen prostático total, presenta cuatro regiones denominadas periférica, central, de transición y región periuretral²⁴. La zona periférica contiene el 70 % del total del tejido glandular de la próstata y casi todos los carcinomas se originan en esta región; la zona de transición y la región periuretral representan menos del 5% de la próstata glandular; a pesar de su tamaño insignificante, son los sitios exclusivos de origen de la HP. La zona central constituye el 25 % restante del tejido glandular y por su probable origen embrionario diferente se relaciona únicamente con el 5% de neoplasias²³ ²⁴.

Los tejidos no glandulares de la próstata son el esfínter preprostático, el esfínter estriado, el estroma fibromuscular anterior y la cápsula que no cubre la totalidad de la glándula y que algunos autores no la consideran como una cápsula verdadera²³.

Las arterias prostáticas entran en la glándula en la unión prostatovesical; provienen de las arterias ilíacas internas, se dirigen a lo largo de la superficie anteroinferior de la vejiga y envían un número variable de ramas tanto a la próstata como a la vejiga. Una vez dentro de la cápsula, las arterias se subdividen en las ramas capsular y uretral longitudinales. Las venas periprostáticas se originan en la vena dorsal profunda del pene y penetran entre la vaina periprostática y la cápsula fibromuscular; estas venas reciben el drenaje venoso del páncreo periprostático²³.

Los nervios de la próstata se originan en el plexo pelviano perirrectal. Estos nervios van posterolateralmente por fuera de la cápsula en la vaina periprostática; a lo largo de su recorrido envían ramas a la próstata que luego se ramifican dentro de la glándula. Los espacios perineurales pueden servir como conductos de "menor resistencia" para la extensión tumoral transcapsular especialmente en el ápice prostático^{23 25}.

La red linfática de la próstata es drenada por cuatro troncos primarios que son el grupo ilíaco externo, el pedículo hipogástrico o ilíaco interno, el pedículo posterior que termina en los nódulos de la región del promontorio sacro y el pedículo inferior que termina en uno de los nódulos hipogástricos. Dos cadenas linfáticas principales drenan la próstata, el grupo ilíaco externo y el interno o hipogástrico²⁶.

Anatomía de la próstata del perro

La próstata es la única glándula sexual accesoria en el perro; es una estructura glandular muscular que rodea por completo la uretra en el cuello de la vejiga, su posición varía con la edad del perro y con el grado de distensión de la vejiga. Hasta los dos meses de edad la glándula permanece enteramente en el abdomen, debido a la tensión que ejerce el remanente del uraco; una vez que este se rompe, la próstata pasa al canal pélvico en donde permanece hasta la madurez sexual; en gran parte es retroperitoneal, está separada dorsalmente del recto por una reflexión del peritoneo que define la fosa rectovesical^{27 28}.

El peso de la próstata aumenta con la edad²⁸; se ha encontrado que en todos los perros en los que hay más de 0.7 g de próstata por kilogramo de peso corporal, la próstata era anormal en el examen histopatológico. Los autores sugirieron que 0.7 g de próstata por kilogramo de peso corporal era el límite máximo de normalidad para el perro. En perros beagle se ha determinado que el peso normal de la próstata en el adulto varía de 12 a 14 gramos²⁹.

En el perro adulto normal, la próstata tiene forma oval; presenta una fosa longitudinal dorsal prominente que divide a la glándula en lóbulos derecho e izquierdo. En la superficie ventral se presenta otra fosa menos prominente. Los vasos deferentes entran en la superficie craneodorsal y la cruzan en dirección caudoventral para ingresar en la uretra en el colículo seminal²⁸.

La arteria prostática se deriva de la pudenda interna en la región de la 1ª. -3ª vértebra sacra, y de ella se origina la arteria para el ducto deferente y la arteria rectal media. Existe una amplia variación en la ramificación de esta arteria³⁰.

La inervación proviene de vías eferentes simpáticas que se originan de los nervios espláncnicos lumbares de la 2ª a la 5ª vértebra lumbar, principalmente del hipogástrico que causa una contracción tónica prominente que resulta en la producción de líquido prostático; cada uno de estos nervios envía señales a ambos lóbulos por medio de múltiples rutas³¹. Las fibras parasimpáticas del nervio pélvico causan sólo una contracción débil que no se asocia a la producción de líquido prostático. El nervio pudendo no tiene efecto significativo en la próstata del perro³².

Desde el punto de vista histológico, la próstata del perro presenta tres zonas claramente definidas, una porción periférica o capsular, una parenquimatosa y una central que rodea a la uretra, por lo cual también se le denomina como uretral; la porción central es más suave que la periférica pero a nivel del *veromontanum* el lumen de la uretra presenta un pequeño borde rígido. La región no glandular de tejido conectivo fibroso que se localiza en la periferia, emite numerosos septos que convergen en la uretra^{33 34}.

PATOLOGÍA COMPARATIVA DE LA PRÓSTATA DEL HOMBRE Y DEL PERRO

En el hombre, la HP se describió por primera vez en 1760³⁵; desde entonces ha sido objeto de miles de estudios y publicaciones, las etiologías que se encuentran en la literatura incluyen desde lecturas lascivas y pensamientos libidinosos³⁶ hasta estímulos hormonales sobre la próstata causados por endotoxinas de *E. Coli*¹⁸. Uno de los temas que más ha intrigado a los investigadores es que dado que todos los mamíferos machos tienen próstata ¿por qué sólo la padecen comúnmente el hombre y el perro?^{14 35 37}. Una posible explicación es que ambas especies alcanzan la senectud y además son sujetos de atención médica lo que permite detectar la enfermedad. El gato también reúne estas características pero la información relacionada con la próstata es escasa; casi no se sabe nada sobre las características de su secreción prostática²⁹.

Con base en toda la información disponible, es evidente que tanto en humanos como en perros los dos factores principales para el inicio de la HP son: la presencia de los testículos y el envejecimiento; en consecuencia gran parte de la investigación se ha dirigido a identificar una causa hormonal pero los datos obtenidos han sido contradictorios³⁵.

Una de las teorías más aceptadas es la que relaciona a la dihidrotestosterona (DHT) con la HP ya que se sabe que esta hormona es el principal metabolito androgénico intracelular dentro de la próstata¹⁸³⁵³⁷. Wilson³⁷, la investigadora que desarrolló esta teoría, inició sus estudios sobre DHT en la próstata de humanos, debido a que

encontró que en la mayoría de los animales, la próstata pierde su capacidad para formar DHT con la edad³⁸. Sus detractores consideran que la forma de obtención de los tejidos pudo haber reducido artificialmente los niveles de andrógenos³⁵. Otro argumento en contra de esta teoría es que las concentraciones de DHT son similares en muestras quirúrgicas obtenidas simultáneamente de tejido normal periférico e hiperplásico benigno³⁹. Este hallazgo, podría no ser significativo ya que la región periférica no es sitio de origen de la HP y esto supone diferencias moleculares en el manejo celular de DHT; además, en apoyo de la teoría de la dihidrotestosterona se encuentra el enfoque actual de la terapia médica que en general se dirige hacia los agentes que bloquean la síntesis o la acción de la DHT⁴⁰.

Para explicar la elevación de DHT en la HP, Wilson descartó el aumento en la velocidad de síntesis puesto que no logró demostrar cambios en la actividad de la 5α -reductasa y propuso dos mecanismos posibles: Disminución en el catabolismo de la molécula, aumento en la captación intracelular o ambos³⁷.

El mecanismo de disminución en el catabolismo se basó en el hecho de que no se encontró aumento en la concentración total de los esteroides 5α -reducidos sino únicamente elevación en la relación 3-oxo:3-hidroxi; el aumento de derivados 3-oxo se favorece por el aumento de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) y dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina (NADP), los cofactores para la oxidación del grupo 3α -hidroxil del esteroide³⁷. La enzima responsable de esta reacción utiliza NADP como cofactor pero a diferencia de la 5α -

reductasa, la 3α -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3α -HSD) también puede utilizar NAD¹⁴.

Existen numerosos estudios sobre la relación del zinc con la forma reducida del NADP o sea el NADPH; pueden formar complejos estables entre sí, lo cual tendería a disminuir la acción de ambos; sin embargo el complejo no se forma con NADH. Cuando se incubó tejido hiperplásico prostático benigno en un medio generador de NADPH, al que se adicionó zinc en "concentración natural", no se encontró relación entre el zinc y la actividad de la 5α -reductasa; sin embargo, se presentó una correlación inversa con la actividad de la 3α - y 3β - hidroxiesteroide deshidrogenasas o sea que a menor concentración de zinc, mayor reducción de la dihidrotestosterona (DHT) a sus correspondientes 3α - y 3β - dioles; esta relación concuerda con la observación de que en el tejido canceroso, que es bajo en zinc, la reducción de DHT es relativamente rápida, sin embargo, no corresponde con el mecanismo propuesto por Wilson para explicar el incremento en el catabolismo de DHT ya que en el caso de HP, las concentraciones de zinc tienden a ser altas¹⁵ de hecho se ha sugerido que la relación 3-oxo:3-hidroxi esteroides en el tejido hiperplásico puede estar regulada por el contenido de zinc³⁷.

El mecanismo de aumento en la captación celular se relaciona con los receptores esteroideos, Wilson encontró en la próstata del perro gran cantidad de DHT y escaso número de receptores esteroideos citosólicos y consideró que la discrepancia podría deberse a la dificultad para medir el número de receptores estromales³⁷. Desde la publicación de su artículo ha habido un gran avance en el estudio de receptores hormonales: de

hecho actualmente se considera que lo más probable es que no haya receptores en el citoplasma sino sólo en el núcleo y que tienen por lo menos tres dominios estructurales principales. El dominio de unión al DNA, también denominado dominio C contiene dos "dedos" de zinc no-homólogos en forma de asa. El átomo de zinc en cada dedo esta coordinado de manera tetraédrica con residuos de cisteína¹⁴. Los dos mecanismos propuestos por Wilson están relacionados con zinc. En el cuadro 1 se resumen las similitudes y discrepancias entre la HP y el zinc.

No se encontraron publicaciones en las que se estableciera el contenido tisular de zinc en los sitios de origen de la HP. Por medio de radio autografías se ha observado que en la próstata del hombre, el zinc-65 parece localizarse dentro de las células epiteliales¹⁴. Con excepción de **McNeal**²⁴, quien piensa que los elementos del estroma y los glandulares aparecen simultáneamente, la mayoría considera que la HP comienza como nódulos del estroma^{35 39}. Esta tesis no sólo disocia el origen de la HP del zinc sino que también reduce la posibilidad de que sea causada por efectos hormonales sobre las células epiteliales³⁹. Esta aparente contradicción se ha explicado por la estrecha correlación que existe entre glándula y estroma; tanto las células epiteliales como las estromales contienen receptores esteroideos y capacidad metabolizadora de andrógenos; también pueden sintetizar y responder a los factores de crecimiento en forma recíproca e interactiva^{14 15}.

En comparación con el hombre, en el perro la HP es primariamente epitelial aunque también se ha observado aumento de volumen del estroma. La hiperplasia glandular se puede presentar desde el primer año de edad. Se caracteriza por una proliferación uniforme de

estructuras secretoria^{41 42}. Al inicio es glandular pero después de los 4 años de edad, se presenta una tendencia hacia la hiperplasia quística que se considera como una extensión de la hiperplasia glandular; en el análisis histopatológico es común observar inflamación crónica leve en el intersticio²⁷. Clínicamente en el hombre el signo más común es dificultad para orinar mientras que en el perro se presenta tenesmo.

Normalmente la próstata produce una sustancia denominada factor antibacteriano prostático (FAP) que es un polipéptido complejo unido al zinc, hidrosoluble, termoestable y de bajo peso molecular. Su espectro antibacteriano es amplio siendo especialmente activo contra organismos entéricos Gram. negativos. La actividad antibacteriana del FAP se debe a su contenido de zinc^{11 14 29 43}, aunque también se ha mencionado que en perros podría haber una fracción independiente del zinc⁴⁴. Los perros con prostatitis bacteriana crónica presentan concentraciones normales de zinc tanto en el líquido como en el tejido prostático^{21 44}. En cambio, los hombres que sufren este padecimiento, presentan una reducción significativa en el contenido de zinc del líquido prostático¹⁴, que no se corrige con la ingestión de este elemento.

La incidencia de neoplasia prostática en el hombre es alta; sólo es superada por el carcinoma bronquial⁴⁵; en cambio en el perro la incidencia es baja, sólo 5% de perros con prostatopatías, presentan neoplasia²⁷. El adenocarcinoma de próstata es el más común en ambas especies pero también puede presentarse carcinoma de células transicionales, carcinoma de células escamosas y leiomiomas^{27 45}. En el perro también se ha encontrado linfoma primario²⁷ y en el hombre rhabdomiosarcoma⁴⁵.

Tanto en seres humanos como en las ratas los procesos malignos se presentan con mayor frecuencia en las zonas prostáticas con alta concentración de zinc²⁰ y varios autores^{4 11 14} concuerdan en que el contenido tisular de zinc se reduce marcadamente en el cáncer de próstata manifestándose igualmente una disminución en la concentración de zinc en la secreción prostática; sin embargo la correlación con los niveles séricos de este elemento es pobre¹¹.

Una de las teorías que se manejan para explicar la reducción en el contenido tisular de zinc en el tejido neoplásico de la próstata es que los pacientes afectados han mostrado niveles elevados de cadmio el cual podría desplazar al zinc de sus sitios de unión alterándose el metabolismo celular de este último elemento^{4 11}.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la relación entre el contenido de zinc, cadmio, cobre y selenio en el tejido prostático, con los hallazgos histopatológicos en la próstata del perro.

HIPÓTESIS

El contenido de zinc, cadmio, cobre y selenio en el tejido prostático mostrará variación significativa en relación con los hallazgos histopatológicos.

JUSTIFICACIÓN

Después de realizar una exhaustiva revisión de la literatura, se encontró que es escasa la información sobre las concentraciones de zinc, cadmio, cobre y selenio en la próstata del perro. El zinc y el cobre sólo se han estudiado en casos de prostatitis; no se han determinado las concentraciones de ninguno de estos elementos en la HP del perro.

Los resultados que se obtengan permitirán determinar si el perro puede utilizarse como modelo experimental para dilucidar la relación que tienen el zinc, cadmio, cobre y selenio con las patologías de la próstata del hombre.

Aunque no es el propósito final del proyecto, este estudio también puede contribuir en la comprensión de la patogenia de las enfermedades prostáticas, así como determinar si la valoración de las concentraciones de estos elementos puede utilizarse como prueba diagnóstica para las prostatopatías del perro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron 26 perros de raza indeterminada, callejeros o perdidos que fueron enviados a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM), por el Centro Antirrábico Culhuacan, para las prácticas quirúrgicas de la asignatura de Fundamentos de Cirugía.

Procedimiento de selección.

Solo se incluyeron machos que:

- Pesaran más de 10 kilos con el fin de que el tejido prostático fuera suficiente para realizar las determinaciones requeridas.
- Presentaran ambos testículos en el escroto
- A la palpación mostraran testículos y porciones escrotales de los cordones espermáticos, con consistencia y tamaño, que a juicio del médico veterinario que realizara el examen, indicaran estar sanos.

Agrupación de acuerdo a la edad aproximada.

En el cuadro 2 se muestran los rangos de edad para cada grupo y el número de perros que quedaron asignados a cada categoría.

La base para esta asignación fue la apariencia radiográfica de las fisis presentes en la articulación escápulo-humeral y en el extremo caudal de la sínfisis del pubis, de acuerdo al siguiente esquema:

Se tomó una radiografía en proyección medio-lateral de la articulación escápulo-humeral derecha. Se consideraron perros jóvenes aquellos que

mostraron evidencia radiográfica de que se había cerrado la fisis de la tuberosidad escapular (edad aproximada de cierre: 4 - 7 meses)⁴⁶, pero permanecía abierta la fisis de la cabeza humeral (edad aproximada de cierre: 10 - 13 meses)⁴⁶.

En los perros que mostraron evidencia radiográfica de que ambas fisis estaban cerradas, se tomó una radiografía en proyección ventro-dorsal de la pelvis. Se consideraron perros adultos aquellos que mostraron cierre de las fisis de la tuberosidad escapular y de la cabeza humeral pero en los que aún permanecía abierta la fisis caudal de la sínfisis del pubis (edad aproximada de cierre: 5 años)⁴⁶. Se consideraron perros viejos aquellos que mostraron cierre de esta fisis.

Alojamiento y alimentación.

Los perros se alojaron en las jaulas de la sección de Enseñanza Quirúrgica del Departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia para Pequeñas Especies. Su alimentación y manejo se apegó al "Reglamento para el cuidado de los animales" aprobado por el H. Consejo Técnico de la FMVZ-UNAM el 23 de marzo de 1988.

Procedimiento de muestreo.

Estudios en la Unidad de Radiología. Los perros se identificaron, se pesaron y se llevaron a la Unidad de Radiología en donde se obtuvieron las radiografías para la asignación al grupo de edad correspondiente.

Obtención de muestras para histopatología y toxicología. Los animales se regresaron a la Sección de Enseñanza Quirúrgica; se sometieron al manejo de rutina para la práctica quirúrgica; al finalizar

la cirugía se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico. Inmediatamente después de la muerte se retiró la próstata por medio de celiotomía, se disecó y se retiró la grasa circundante, posteriormente se pesó en una báscula graduada en gramos. La glándula de los perros jóvenes por ser pequeña, de 1.5 g a 15.5 g, sólo se dividió en 2 partes, una para el análisis histológico y otra para el toxicológico. La próstata de los adultos, y viejos se dividió longitudinalmente en 2 partes y cada mitad se dividió transversalmente en 2 partes y cada cuarto se dividió en 2 partes, una para la determinación de los elementos (zinc, cobre, selenio y cadmio) y otra para el análisis histopatológico. En el primer caso, las muestras se congelaron a -70°C y para el estudio patológico, cada fragmento se colocó en un recipiente con formalina amortiguada (pH 9.4) al 10% y se identificó. Posteriormente se llevó al Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM en donde se sometió al proceso de rutina⁴⁷ para realizar el análisis histopatológico.

Para la determinación de la concentración de los 4 elementos, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, se colocaron en cajas de Petri y se introdujeron al horno de desecación a una temperatura de 105°C durante 24 horas. Una vez desecada la muestra, se redujo a cenizas manteniéndola en el horno 12 horas a 550°C , se pesó y se colocó en un recipiente de vidrio, se disolvió en ácido nítrico 0.5N se inició el proceso de digestión con ácido nítrico, se aforó a 25 ml y se guardó a temperatura ambiente para su lectura. Para la determinación del zinc, cobre y selenio, se empleó espectrofotometría de absorción atómica con flama* (EFAA) y para la valoración de cadmio

* Espectrofotómetro de absorción atómica modelo Serie 3800 Perkin-Elmer, Norwalk, Connecticut, USA

espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito**;
(EFAAHG) las especificaciones de detección de cada elemento fueron las
establecidas en los manuales del fabricante para el EFAA* y el
EFAAHG**

Análisis estadístico de los datos obtenidos. Debido a que el
diagnóstico histopatológico constituyó el estándar para comparar los
niveles de zinc, cadmio, cobre y selenio en las muestras de tejido
prostático, los resultados se agruparon de acuerdo al diagnóstico
histopatológico, integrándose 3 grupos:

Sano

Hiperplasia prostática (HP)

Prostatitis

Para asignar cada muestra al grupo correspondiente se utilizaron los
criterios siguientes:

1. Sano: Epitelio glandular y estroma sin cambios significativos.
2. Hiperplasia prostática: Zonas focales de fibrosis intersticial y áreas multifocales de dilatación quística.
3. Prostatitis: Zonas multifocales o difusas de inflamación linfocíticaplasmocítica. Presencia de macrófagos y neutrófilos. Inflamación granulomatosa. Necrosis.

** Espectrofotómetro de absorción atómica por horno de grafito Perkin-Elmer HGA Modelo 400 Norwalk, Connecticut, USA

El análisis estadístico de la concentración de los microelementos en el tejido prostático sano y patológico, se realizó dentro y entre grupos de edad utilizando el análisis de mínimos cuadrados de varianza empleando los procedimientos de modelos lineales generales (GLM) del sistema de análisis estadístico^{48 49}. Tanto los resultados de histopatología como los de toxicología se consideraron como muestras independientes y por lo tanto cada hallazgo se analizó en forma independiente.

Como el zinc tisular y seminal tiende a aumentar con la edad ¹¹⁵⁰, también se compararon las concentraciones de zinc, cadmio, selenio y cobre en próstatas sanas, de acuerdo a la categoría de edad con el fin de determinar si existían diferencias significativas.

Se comparó el peso de cada próstata con el peso del perro considerando el grupo de edad y la clasificación histopatológica

RESULTADOS

En el cuadro 3 se muestran las frecuencias relativas y porcentajes del gran total. Puede observarse que hubo igual número de próstatas sanas en jóvenes y en adultos. Los casos de prostatitis se distribuyeron uniformemente en las 3 categorías de edad. El mayor porcentaje de HP se presentó en el grupo de perros viejos. En perros jóvenes no se encontraron casos representativos de esta patología. No se detectaron casos de cáncer en la próstata

En el cuadro 4 se presentan las concentraciones medias de Zn, Cd, Cu y Se \pm el error estándar de la media en tejido prostático sano en perros asignados a 3 grupos de edad. La diferencia entre los promedios de las poblaciones se estableció con $p < .01$ El menor contenido de Zn (364 ± 83 ppm), se encontró en perros jóvenes y el más alto (891 ± 32 ppm), en los mayores de 5 años, sin embargo la diferencia entre éstos y los adultos no fue significativa. La concentración de cadmio fue menor en el grupo de perros viejos (312 ± 18 ppb en adultos y 171 ± 18 ppb en viejos). En este grupo se encontró el mayor contenido de cobre (86.3 ± 3.8 ppm). El selenio no varió con la edad.

En el cuadro 5 se presentan las medias de las concentraciones de Zn, Cd, Cu y Se \pm el error estándar de la media en perros adultos y viejos, sin considerar los resultados de los análisis histopatológicos. No se consideraron los jóvenes ya que el número de observaciones (6), subestimaría los resultados de los animales adultos. La diferencia entre los promedios de las poblaciones se estableció con $p < .01$ Al igual que en el tejido prostático sano (véase cuadro 4), las concentraciones

promedio de Zn y Se no variaron entre los 2 grupos. El contenido de cadmio varió de 311 ± 20 ppb en adultos a 138 ± 20 ppb en viejos y el de cobre se encontró en 56 ± 5 ppm en adultos y 88 ± 5 ppm en el grupo de perros viejos.

Cuando se comparó la concentración de los elementos estudiados en perros adultos y viejos, de acuerdo a los resultados histopatológicos (véase el cuadro 6), 3 de los elementos (zinc, cadmio y cobre) no mostraron variación $p < .01$. En el caso de la prostatitis la concentración de selenio fue de 720 ± 68 ppb, significativamente mayor ($p < .01$) en comparación con el grupo sano y con el que presentó HP.

Se analizaron los coeficientes de correlación lineal en cada una de las categorías de edad y en la población total. En el cuadro 7 se resumen los coeficientes de correlación que presentaron $p \leq .03$. Se encontró correlación positiva entre zinc y cobre ($p \leq 0.01$) (grupo 3 y en toda la población), así como entre zinc y selenio ($p \leq 0.01$) (grupo 2 y en toda la población) y negativa entre cadmio y cobre ($p \leq 0.01$) (grupo 2 y en toda la población) y cadmio y selenio ($p = 0.03$) (grupo 3). No se encontró correlación ($p > .05$) entre las concentraciones de los elementos en el grupo de jóvenes.

En el cuadro 8 se presentan las razones entre los pesos de las próstatas y los pesos corporales considerando el grupo de edad y los resultados del análisis histopatológico. Esta relación no varió entre las próstatas sanas del grupo de jóvenes y las del grupo de adultos ($p > .05$). Tanto en el grupo 2 de adultos como en el grupo 3 de viejos, no hubo variación entre las razones próstatas sanas y próstatas con hiperplasia ($p > .05$). Al comparar las razones entre el grupo de jóvenes con el de

viejos, ambos con tejido prostático sano, 0.39 ± 0.1 y 1.39 ± 0.3 se encontró aumento ($p < .05$); también se encontró aumento entre el grupo 1 sano y el 2 y 3 con hiperplasia.

DISCUSIÓN

En el hombre se ha observado que la incidencia de HP aumenta con la edad^{14 15 21 35}. Antes de los 40 años es raro encontrar esta patología durante la realización de autopsias, sin embargo a los 60 años se calcula que la padecen 70 de cada 100 individuos. A los 80 años el 90% ya esta afectado⁵¹. En el perro **Berry**⁵²; encontró evidencia histológica de HP en el 16% de perros Beagle de 2 años; 50% en perros entre 4 y 5 años de edad y a los 9 años la prevalencia alcanzó 95%. En el presente trabajo (ver cuadro 3) se encontró que 6 de 10 perros mayores de 5 años y 4 de 10 adultos, presentaron HP. En el grupo de 6 jóvenes no se observó evidencia histológica de esta patología probablemente debido a que el límite máximo de edad para esta categoría era de 13 meses.

En cada grupo de edad se detectó un caso de prostatitis. En la literatura veterinaria sólo se encontró información vaga sobre la incidencia de esta patología. Algunos autores refieren que la prostatitis es común^{41 53}, otros, refiriéndose a la forma crónica, indican que se desconoce la incidencia^{27 54}. Se sabe que generalmente afecta a machos sexualmente maduros²⁷ y la madurez sexual en el perro doméstico, se alcanza aproximadamente entre 6 y 9 meses de edad⁹. Black et al.⁵⁵ detectaron quistes prostáticos en 12 de 85 perros de razas grandes, sin evidencia clínica de prostatopatía. El cultivo del contenido de los quistes fue positivo en 42% de los 12 perros La edad promedio de la población bajo estudio fue de 8 años, con un rango de 3 a 12 años. En contraste con la escasa información sobre la incidencia de prostatitis en el perro, en la literatura médica se encontró la opinión generalizada de que la incidencia de prostatitis aumenta con la edad y que alcanza su máximo

cuando también esta presente la HP⁵⁶. Esta información se basa en observaciones realizadas en autopsias efectuadas en hombres muertos en accidentes relacionados con vehículos automotores. Se detectó prostatitis en 22% de hombres menores de 40 años y en 60% en los que sobrepasan esta edad⁵⁶. En otra fuente de información⁵⁷ se indica que 70% de las prostatas de hombres mayores de 50 años presentan cambios inflamatorios. Una diferencia notable entre los procesos inflamatorios de esta glándula en ambas especies consiste en que en el hombre, un alto porcentaje no se considera de origen bacteriano¹⁷ mientras que en el perro la mayoría de las prostatitis que presentan manifestaciones clínicas se asocian a infecciones bacterianas²⁷.

En el presente estudio, en el que se analizaron las próstatas de 26 perros enteros, no se detectaron casos de cáncer prostático, lo cual se considera debido a dos razones: Primero la incidencia de este padecimiento en los perros es poco frecuente²⁷ y segundo, se ha determinado que el cancer de próstata tiene mayor incidencia en perros castrados que en enteros^{58 59 60 61 62}. Las teorías que se han propuesto para explicar este hallazgo son, que el cáncer de próstata del perro no esta mediado por hormonas o bien que hormonas no testiculares influyen en la presentación de la enfermedad. La fuente más probable son las glándulas adrenales, que producen andrógenos débiles o precursores de andrógenos que podrían convertirse en dihidrotestosterona dentro de la próstata⁵⁸.

En el cuadro 4 se presentan las concentraciones medias de Zn, Cd, Cu y Se \pm el error estándar de la media en tejido prostático sano en perros jóvenes, adultos y viejos. Tres de estos elementos, zinc, cobre y selenio,

se consideran esenciales ya que tienen un papel biológico importante. En cambio el cadmio forma parte de los metales no esenciales, no es un constituyente esperado en una muestra de tejido y su presencia en el parénquima prostático puede considerarse como un marcador biológico⁶³.

El menor contenido de Zn (364 ± 83 ppm), se encontró en perros jóvenes y el más alto (891 ± 32 ppm), en los mayores de 5 años, sin embargo la diferencia entre éstos y los adultos no fue significativa. Estos resultados concuerdan con la información que se tiene en el hombre que indica que el contenido de zinc en la próstata se eleva al aumentar la edad¹¹. Al-Qarawi et al.⁶⁴, consideran que los cambios en la concentración de zinc en la próstata están gobernados primariamente por los cambios en las concentraciones de testosterona en el plasma. Al crecer el animal, aumenta la concentración de testosterona y aumenta el contenido de zinc en la próstata. Al envejecer la testosterona disminuye y también se reduce el zinc en la glándula. El zinc testicular presenta un comportamiento similar⁶⁵.

Al comparar las concentraciones de cadmio en las próstatas sanas de los tres grupos de edad, sólo se observó una menor concentración en el grupo de perros viejos. No se encontró información sobre el efecto de la edad en la concentración de cadmio en la próstata. Puesto que el cadmio tiene una vida media biológica de 20 a 30 años³, sería de esperarse que la concentración de este elemento fuera igual o mayor en la población de perros viejos en comparación con la de adultos. La causa de la menor concentración puede deberse al hecho de que los riñones son los principales órganos blanco de la exposición crónica al cadmio

tanto por vía inhalada como por vía oral⁶⁶. Los individuos expuestos tienden a desarrollar insuficiencia renal crónica y por el tipo de perros empleados en este estudio, es probable que sólo alcancen la senectud los perros que han tenido poco contacto con el cadmio.

No existe ninguna duda con respecto a la relación del cadmio con el zinc. Se considera que los efectos tóxicos del cadmio se deben a que interfiere con varios procesos metabólicos mediados por el zinc y es frecuente que los tratamientos con zinc disminuyan o impidan los efectos adversos del cadmio^{10 67}. En un estudio en ratas se encontró que la deficiencia de zinc puede favorecer la toxicidad renal del cadmio^{11 68}.

La próstata es el órgano que contiene mayor cantidad de zinc, hallazgo que se ha confirmado tanto en el hombre como en perros⁶⁹, bovinos⁷⁰, camellos y ratas⁶⁴. Sería de esperarse que estas afirmaciones se complementaran con datos objetivos sobre la concentración de zinc en partes por millón o en micromoles por litro en la próstata y en otros órganos como hígado y riñones con el fin de tener una idea más definida sobre el significado de que la próstata es el órgano con mayor contenido de zinc. Con propósitos comparativos, se incluye información sobre el contenido de zinc en el hígado de cachorros de 40 a 200 días de edad (143 ± 29.8 ppm de materia seca)⁷¹.

Con referencia al contenido de zinc en próstatas sanas, sólo se encontró una publicación en la cual se determinaron los efectos sobre la concentración tisular de zinc en próstatas infectadas experimentalmente con E. Coli en perros castrados y enteros⁴⁴. En ese trabajo no se consideró la edad, sólo se indica que se utilizaron perros maduros.

tanto por vía inhalada como por vía oral⁶⁶. Los individuos expuestos tienden a desarrollar insuficiencia renal crónica y por el tipo de perros empleados en este estudio, es probable que sólo alcancen la senectud los perros que han tenido poco contacto con el cadmio.

No existe ninguna duda con respecto a la relación del cadmio con el zinc. Se considera que los efectos tóxicos del cadmio se deben a que interfiere con varios procesos metabólicos mediados por el zinc y es frecuente que los tratamientos con zinc disminuyan o impidan los efectos adversos del cadmio^{10 67}. En un estudio en ratas se encontró que la deficiencia de zinc puede favorecer la toxicidad renal del cadmio^{11 68}.

La próstata es el órgano que contiene mayor cantidad de zinc, hallazgo que se ha confirmado tanto en el hombre como en perros⁶⁹, bovinos⁷⁰, camellos y ratas⁶⁴. Sería de esperarse que estas afirmaciones se complementaran con datos objetivos sobre la concentración de zinc en partes por millón o en micromoles por litro en la próstata y en otros órganos como hígado y riñones con el fin de tener una idea más definida sobre el significado de que la próstata es el órgano con mayor contenido de zinc. Con propósitos comparativos, se incluye información sobre el contenido de zinc en el hígado de cachorros de 40 a 200 días de edad (143 ± 29.8 ppm de materia seca)⁷¹.

Con referencia al contenido de zinc en próstatas sanas, sólo se encontró una publicación en la cual se determinaron los efectos sobre la concentración tisular de zinc en próstatas infectadas experimentalmente con E. Coli en perros castrados y enteros⁴⁴. En ese trabajo no se consideró la edad, sólo se indica que se utilizaron perros maduros.

Inicialmente se infectaron las próstatas de los 22 perros utilizados en el estudio. En 5 de los 22 perros, no se logró establecer la infección en la glándula y al medir la concentración de zinc en estas 5 próstatas, que los autores refieren como sanas, se encontró que el rango varió de 265.6 ppm a 790.5 ppm.

Con respecto al cadmio, sólo se localizó una publicación⁷² en la cual se estudió la penetración de 8 sustancias químicas carcinogénicas en la próstata y en la secreción prostática del perro y la rata. Una de esas sustancias fue el cadmio. Se informó que en ambas especies el cadmio penetró rápidamente al tejido prostático pero no fue posible recuperarlo del semen. Se concluyó que las próstatas del perro y de la rata carecen de barreras que impidan la penetración del cadmio. No se especificó la concentración de cadmio en la próstata sana del perro.

Es interesante hacer notar que a pesar de haber realizado una búsqueda exhaustiva en varios índices y centros de referencia bibliográfica, no se logró encontrar información sobre el contenido de cobre ni de selenio en la próstata del perro.

Aparentemente la concentración de cobre va aumentando progresivamente con la edad, pero sólo hay diferencia significativa entre el grupo 2 de adultos y el 3 de viejos.

El contenido de selenio no varió en los diferentes grupos de edad. Oldereid et al.⁷³ tampoco encontraron variación significativa dependiente de la edad en las concentraciones de selenio en diferentes órganos reproductivos del hombre.

En el cuadro 6 puede observarse que el selenio fue el único microelemento en el que se encontró variación significativa de acuerdo a los hallazgos histopatológicos detectados en la próstata. En el caso de la prostatitis la concentración de selenio fue de 720 ± 68 ppb, significativamente mayor ($p < .01$) en comparación con el grupo sano y con el que presentó HP.

A diferencia del hombre, en el cual se ha encontrado que las concentraciones de zinc y cadmio aumentan en la HP^{4 11 12}, en los casos de HP que se analizaron en los perros incluidos en este estudio, las concentraciones de zinc y cadmio no mostraron alteraciones significativas.

Al evaluar los coeficientes de correlación lineal entre los elementos en los diferentes grupos de edad, tanto en los adultos como en el grupo de perros viejos, el zinc y el cadmio no mostraron correlación. Esto es comparable a los hallazgos de Brys et al.⁴ quienes encontraron en la HP aumento de ambos elementos pero sin que se presentara correlación significativa.

El zinc y el selenio presentaron correlación positiva media en el grupo de perros adultos. Oldereid et al.⁷³ encontraron una correlación positiva entre las concentraciones de estos elementos en eyaculados obtenidos de 187 pacientes de una clínica de fertilidad.

En el grupo de perros adultos y en la población total, la correlación entre cadmio y cobre fue negativa. En contraste con estos resultados, Mo et al.¹⁹ encontraron una correlación positiva en las concentraciones de estos elementos en el líquido prostático obtenido tanto de hombres

vasectomizados como de los controles. Los autores mencionan que la correlación en las concentraciones séricas de estos elementos fue negativa en el grupo control. Es posible que la interacción negativa entre este par se deba a la semejanza química que presentan y a la posible competencia por las mismos sitios de unión.

En el grupo de perros viejos la correlación positiva se estableció entre el cobre y el zinc y la negativa entre el cadmio y el selenio; esta última se explica porque este grupo fue el que presentó mayor porcentaje de HP y en este proceso el efecto deletéreo del cadmio activa a las selenoenzimas que se sabe protegen a las membranas celulares y a los componentes subcelulares contra las reacciones indeseables de los peróxidos solubles⁷⁴.

Al comparar los gramos de próstata sana por kilogramo de peso corporal en los 3 grupos de edad, se encontró que hubo variación significativa ($p < .05$) entre el grupo 1 y el grupo 3. Esto concuerda con las observaciones de Berry et al.⁵² quienes encontraron que el peso promedio de la glándula prostática de perros de la raza Beagle, permanecía constante hasta los 8 años de edad. Entre los 2 y 3 años de edad, se calculó que la próstata pesaba 12 ± 3 g. El peso corporal de la raza Beagle varía de 8 kg a 14 kg. Si se considera el peso corporal máximo, la relación g próstata/kg de peso corporal es de 0.85 g/kg. Esta relación es similar a la calculada en el presente estudio para perros adultos: 0.78 ± 0.1 g/kg. Estos datos no concuerdan con lo establecido por Evans²⁸ quien indica que 0.7 g de próstata por kilogramo de peso corporal es el límite máximo de normalidad para el perro. En otro estudio⁷⁵ realizado en 15 perros de la misma raza se estableció una

relación de 1.08 ± 0.22 g/kg de peso corporal para próstatas sanas a los 3 años de edad. En tres perros de 14 años de edad que ya habían desarrollado HP se calculó una relación de 2.64 ± 0.37 g/kg de peso corporal. En el cuadro 8 puede observarse que la relación que se encontró en 3 perros con HP del grupo 3 fue de 1.45 ± 0.2 g/kg de peso. En el grupo 3, no se encontró variación significativa entre las relaciones g/kg de peso corporal, entre los perros con próstata sana y los que presentaban HP.

CONCLUSIONES

En el tejido prostático sano, la concentración de zinc fue mayor en los perros adultos y viejos. A diferencia del selenio que no varió en relación con la edad del animal, el contenido de cobre aumentó progresivamente. La mayor concentración de cadmio se detectó en el grupo de perros jóvenes.

A diferencia de lo observado en la próstata del hombre, en los perros incluidos en este estudio no se encontró aumento significativo de zinc y cadmio en HP y por lo tanto se concluye que la próstata del perro no es un modelo experimental adecuado para investigar la actividad de estos elementos en la HP del hombre.

La concentración de selenio presentó aumento significativo en la prostatitis y por su actividad protectora, se considera que merece la realización de mayores estudios con el fin de determinar si su deficiencia predispone a la presentación de este trastorno inflamatorio y si podría emplearse como terapia adicional en este proceso.

CUADRO 1
RESUMEN DE LAS SIMILITUDES Y DIFERENCIAS ENTRE LA
HIPERPLASIA PROSTÁTICA Y EL ZINC.

| HP | ZINC |
|---|---|
| No se desarrolla ni en hombres ni en perros castrados antes de la pubertad ²⁹³⁵ | En ambas especies, la castración disminuye el contenido de zinc en la próstata ¹¹⁴³ |
| No se presenta en adolescentes; característicamente es una enfermedad de hombres mayores de 40 años ³⁵ | La concentración de zinc es significativamente baja en la adolescencia; los niveles aumentan con la edad, por lo general después de los 30 años ¹¹ |
| — | El tejido hiperplásico presenta concentraciones elevadas de zinc ¹¹ |
| Se origina exclusivamente en la zona de transición y en la región periuretral ²⁴ | Su mayor concentración se encuentra en la zona periférica ¹¹ |
| Su desarrollo se inicia en el estroma ³⁹ . | El zinc-65 parece localizarse dentro de las células epiteliales ¹⁴ . |

CUADRO 2
CONFORMACIÓN DE LAS CATEGORÍAS DE EDAD

| Grupo No. | No. de perros | Etiqueta | Rango de edad |
|------------------|----------------------|-----------------|---------------------------------|
| 1 | 6 | Jóvenes | De 4 - 7 meses a 10-13 meses |
| 2 | 10 | Adultos | De 10-13 meses a 5 años |
| 3 | 10 | Viejos | > 5 años |

CUADRO 3
TABLA CRUZADA DE PORCENTAJE DE PRESENTACIÓN DE
HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN PERROS DE 3 DIFERENTES
EDADES

| Categoría | Sana Frecuencia (%) | Prostatitis Frecuencia (%) | Hiperplasia prostática Frecuencia (%) |
|-----------------------|----------------------------|-----------------------------------|--|
| Jovenes (n=6) | 5 (19.2) | 1 (3.8) | 0 (0.00) |
| Adultos (n=10) | 5 (19.2) | 1 (3.8) | 4 (15.3) |
| Viejos (n=10) | 3 (11.5) | 1 (3.8) | 6 (23.0) |

Debido al tamaño de la muestra (n = 26), no fue posible aplicar la prueba de hipótesis para establecer la diferencia entre las proporciones es por esto que sólo se presentan en el primer renglón de cada celda la frecuencia relativa y en el segundo el porcentaje del gran total.

CUADRO 4
CONTENIDO DE ZINC, CADMIO, COBRE Y SELENIO
EN TEJIDO PROSTÁTICO SANO EN PERROS DE 3 GRUPOS DE
EDADES

| Grupo | Zn ppm* | Cd ppb* | Cu ppm* | Se ppb* |
|--------------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| Jóvenes (n=6) | 364±83 ^b | 259±47 ^{a b} | 35.3±9.8 ^a | 434±84 ^a |
| Adultos (n = 40)† | 816±32 ^a | 312±18 ^a | 50.9±3.8 ^a | 576±32 ^a |
| Viejos (n = 40) | 891±32 ^a | 171±18 ^b | 86.3±3.8 ^b | 495±32 ^a |

ppm: partes por millón; ppb: partes por billón *Los resultados se presentan como media± error estándar de la media †Para Zn y Cd (n = 39) Los promedios enlistados en una columna, que no compartan una letra superíndice común, son significativamente diferentes a 1% a, b p<.01

CUADRO 5
CONTENIDO DE ZINC, CADMIO, COBRE y SELENIO EN
PRÓSTATAS DE PERROS ADULTOS Y VIEJOS SIN CONSIDERAR
RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICOS

| | Zn ppm* | Cd ppb* | Cu ppm±ee* | Se ppb* |
|------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|---------------------|
| Adulto(n = 40)† | 798±41 ^a | 311±20 ^a | 56±5 ^a | 627±39 ^a |
| Viejo (n = 40) | 905±41 ^a | 138±20 ^b | 88±5 ^b | 550±38 ^a |

ppm: partes por millón; ppb: partes por billon * Los resultados se presentan como media± error estándar de la media †Para zinc y Cd (n = 39) Los promedios enlistados en una columna, que no compartan una letra superíndice común, son significativamente diferentes a 1% a, b p<.01

CUADRO 6
CONTENIDO DE ZINC, CADMIO, COBRE Y SELENIO EN
PRÓSTATAS DE PERROS ADULTOS Y VIEJOS DE ACUERDO A LOS
HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

| | Zn ppm* (n = 79) | Cd ppb* (n = 79) | Cu ppm* (n = 80) | Se ppb* (n = 80) |
|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Sano | 861±32 ^a | 246±16 ^a | 69±4 ^a | 464±30 ^b |
| Prostatitis | 838±73 ^a | 168±36 ^a | 85±8 ^a | 720±68 ^a |
| HP | 855±37 ^a | 259±18 ^a | 63±4 ^a | 581±34 ^b |

ppm: partes por millón; ppb: partes por billon * Los resultados se presentan como media± error estándar de la media
 Los promedios enlistados en una columna, que no compartan una letra superíndice común, son significativamente diferentes a 1% a, b p <.01

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

CUADRO 7
COEFICIENTES DE CORRELACIÓN SIGNIFICATIVOS Y SUS VALORES
ASOCIADOS DE P, DE ZINC, CADMIO, COBRE Y SELENIO EN LAS
DIFERENTES CATEGORÍAS DE EDAD

| Elementos | Cobre | Selenio |
|------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Zinc | VIEJOS† +0.38 p = .01 | ADULTOS† +0.46 p = .00 |
| | POBLACIÓN* +0.46 p = .00 | POBLACIÓN* +0.27 p = .01 |
| Cadmio | ADULTOS† -0.38 p = .01 | VIEJOS† -0.33 p = .03 |
| | POBLACIÓN* -0.39 p = .00 | |

*Para el análisis de los coeficientes de correlación en la población total, n = 85 para Zn y Cd y n = 86 para Cu y Se. † En los grupos de adultos y viejos, n = 39 para Zn y Cd y n = 40 para Cu y Se.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

**CUADRO 8
PESOS PROMEDIOS DE LAS PRÓSTATAS (g) DE PERROS
JÓVENES, ADULTOS Y VIEJOS ***

| GRUPO | HISTO- - PATO- LOGÍA | PESO PRÓSTATAT† g | PESO CORPORAL† kg | RAZÓN g próstata/kg de peso corporal‡ |
|--------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|---|
| 1 (n = 5) | S | 7.36±2.1 | 18.68±1.5 | 0.39±0.1 ^a |
| 2 (n = 5) | S | 15.92±4.1 | 19.98±2.5 | 0.78±0.1 ^{ac} |
| 3 (n = 3) | S | 32.0±9.9 | 22.16±1.9 | 1.39±0.3 ^b |
| 2 (n = 3) | HP | 19.5±6.7 | 17.86±1.4 | 1.07±0.3 ^{bc} |
| 3 (n = 3) | HP | 38.9±6.1 | 27.33±1.1 | 1.45±0.2 ^b |

* Sólo se incluyeron aquellos perros en los cuales los 4 fragmentos de la próstata quedaron clasificados en una sola categoría histopatológica. † Los resultados se presentan como media ± error estándar de la media. ‡ Media gramos de peso de la próstata entre media kilogramos de peso corporal ± error estándar. Grupo. 1: Perros jóvenes: De 4 - 7 meses a 10 - 13 meses de edad; Gpo. 2: Perros adultos: De 10 - 13 meses a 5 años y Gpo. 3: Perros viejos: mayores de 5 años. S: Sana; HP: Hiperplasia prostática. Los promedios enlistados en una columna, que no compartan una letra superíndice común, son significativamente diferentes a 5% a, b, c. p < .05

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Threlfall WR** and Lepine AJ: The influence of diet on sperm quality and quantity. In: Recent advances in canine and feline nutritional research. Proceedings of the 1996 IAMS International Symposium Edited by Carey D.P., Norton, S.A. and Bolser, SM Orange Frazer Press Wilmington Ohio USA 1996.
- 2 Underwood EJ**: The Mineral Nutrition of Livestock CAB England 2a ed 1981.
- 3 Waalkes MP**, Wahba ZZ and Rodriguez RE: Cap.77 Cadmium. In Hazardous Materials Toxicology. Clinical Principles of Environmental Health. Edited by Sullivan JB and Krieger GR Williams and Wilkins USA 1992.
- 4 Brys M**, Nawrocka AD, Miekos E, Zydek C, Foksinski M Barecki A *et al.*: Zinc and cadmium analysis in Human Prostate Neoplasms Biological Trace Element Research 1997;59:155-152.
- 5 Begun FP**: Epidemiología e historia natural del cáncer de próstata. En: Lepor, H y Lawson, R.K., Editors. Enfermedades de la próstata. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994:313-328.
- 6 Valsa J**, Gusani PH, Skandhan KP and Modi HT: Copper in split and daily ejaculates J Reprod Med 1994 39(9) 725-728.
- 7 Brewer GJ**, Dick RD, Grover DK, LeClaire V, Tseng M, Wicha M *et al.*: Treatment of Metastatic Cancer with Tetrathiomolybdate, an Anticopper, Antiangiogenic Agent: Phase I Study .Clinical Cancer Research 2000. 6: 1-10.
- 8 Thomas DJ**: Cap 88: Selenium In: Hazardous Materials Toxicology. Clinical Principles of Environmental Health. Edited by Sullivan J.B. And Krieger G.R. Williams and Wilkins USA 1992 911-915.
- 9 Beers MH** and Berkow R: **The Merck Manual of Diagnosis and Therapy 17th ed.**, Sec 1, Chapter 4, Mineral Deficiency an Toxicity 2003. URL: <http://www.merck.com>.

10 Webber MM: Selenium prevents the growth stimulatory effects of cadmium on human prostatic epithelium *Biochem Biophys Res Commun* 1985 127 (3): 871-7.

11 Krongrad A and Droller MJ: Zinc and the prostate. In: Paulson, D.F., editor. *Prostatic Disorders*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989:107-124.

12 Bataineh ZM, Bani-Hani IH and Al-Alami JR: Zinc in normal and pathological human prostate gland. *Saudi Med J* 2002 23 (2): 218-20.

13 Bataineh ZM: Nuclear Zinc in the three lobes of the rat prostate gland *Cytobios* 2001; 105 (408): 7-12.

14 Luke MC and Coffey DS: The male sex accessory tissues. Structure, androgen action and physiology. In: Knobil, E. and Neill, J.D., Editors *The Physiology of Reproduction*, 2nd ed. New York: Raven Press, Ltd, 1994: 1435-1487.

15 Coffey DS: Biología molecular de la próstata. En: Lepor, H y Lawson, R.K., Editors. *Enfermedades de la próstata*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994:33-68.

16 Lagiou P, Wu J, Trichopoulou A, Hsieh CC, Adami HO and Trichopoulos D: Diet and benign prostatic hyperplasia: A study in Greece; *Urology* 1999;54:284-290.

17 Curtis-Nickel J, Nyberg LM and Hennenfent M: Research guidelines for chronic prostatitis: Consensus report from the first national institutes of health international prostatitis collaborative network. *Urology* 1999;54:229-233.

18 Roper WG: The etiology of benign prostatic hypertrophy. *Medical Hypothesis*. 1998; 50: 61-65.

19 Mo ZN, Huang WH, Chen J, Huang X, Zhang SC 2000 Early and late long term effects of vasectomy on Zn, Cd and Cu levels in prostatic fluid and serum *Asian J Androl* 2000 2:121-4.

20 Strandberg JD: Anatomía patológica comparada de la hiperplasia prostática benigna. En: Lepor H y Lawson RK, Editors. *Enfermedades de*

la próstata. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994:261-280.

21 Branam E, Keen CL, Ling,GV, and Franti CE: Selected physical and chemical characteristics of prostatic fluid collected by ejaculation from healthy dogs and from dogs with bacterial prostatitis. Am J Vet Res 1984; 45:825-829.

22 Gilbert, S.F.: Developmental Biology Fifth Ed. Sinauer Associates, INC Publishers Sunderland Massachusetts 1997.

23 Krongrad,A y Droller, MJ: Anatomía de la próstata En: Lepor, H y Lawson,R.K., Editores. Enfermedades de la próstata. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994: 19-31.

24 McNeal,JE: Normal histology of the prostate. Am.J.Surg.Pathol. 1988; 12: 619-633.

25 Alexander,AA: Endorectal ultrasound of prostate and seminal vesicles. In: Rifkin, MD Editor Ultrasound of the Prostate. New York: Raven Press,Ltd, 1988: 173-206.

26 Krongrad,A and Droller, MJ: Anatomy of the prostate and its investing fascial layers. In: Paulson,D.F., editor. Prostatic Disorders. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989: 3 -27.

27 Barsanti J.A.: Diseases of the prostate gland.In: Osborne CA and Finco DR editors. Canine and feline nephrology and urology. Philadelphia Lea and Febiger. Williams & Wilkins, 1995: 726-755.

28 Evans H.E.: Miller´s Anatomy of the dog Third edition W.B. Saunders Co. USA 1993.

29 Barsanti, JA and Finco, DR: Prostatic diseases. In: Ettinger, SJ and Feldman, EC, Editors Textbook of Veterinary Internal Medicine, 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1995: 1662-1685.

30 Wakui S, Matsuda M, Furusato M and Kano Y: Branching mode of the middle rectal artery from the prostatic artery in the dog. Anat Histol Embryol 1993; 22(4):376-380.

31 Yonese J, Kihara K, Sato K, Fukuda H, Kamata S and Oshima H.: Sympathetic efferent pathways projecting to the prostate in the dog. *Prostate* 2000; 44(3):225-232.

32 Watanabe H, Shima M, Kojima M and Ohe H.: Dynamic study of nervous control on prostatic contraction and fluid excretion in the dog. *J Urol* 1988 140(6) 1567-1570.

33 Kallel F, Price RE, Konofagou E and Ophir J.: Elastographic imaging of the normal canine prostate in vitro *Ultrason Imaging* 1999; 21(3):201-215.

34 Stefanov M, Martin-Alguacil N and Martin-Orti R: Distinct vascular zones in the canine prostate *Microsc Res Tech* 2000; 50(2):169-175.

35 Walsh,PC: Hiperplasia prostática benigna. In: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, editors. *Campbell Urología* 5ª ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana 1988.

36 Lawson,RK: Perspectiva histórica de las enfermedades prostáticas. En: Lepor, H y Lawson,R.K., Editors. *Enfermedades de la próstata*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994: 3-7.

37 Wilson, J.D.: The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Am. J. Med* 1980; 68: 745-756.

38 Wilson,JD; Gloyna,RE; Siiteri,PK: Androgen metabolism in the hypertrophic prostate. *J. Steroid Biochem.* 1975:6: 443-445

39 Lawson,RK: Etiología de la hiperplasia prostática benigna. En: Lepor, H y Lawson,R.K., Editors. *Enfermedades de la próstata*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994:107-115.

40 Riehman,M y Bruskevitz,R.C.: Hiperplasia prostática benigna: Manifestaciones clínicas e indicaciones para la intervención terapéutica. En: Lepor, H y Lawson,R.K., Editors. *Enfermedades de la próstata*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994:131-144.

41 Fossum TW, Hedlund CS, Hulse DA, Johnson AL, Seim HB, Willard MD and Carroll GL: Small Animal Surgery 2nd ed Philadelphia Mosby 2002 648-659.

42 Dorfman,M and Barsanti,J: Diseases of the canine prostate gland. Comp. on Cont. Ed. 1995;17:791-811.

43 Schaeffer,AJ: Manifestaciones clínicas y manejo de la prostatitis. En: Lepor, H y Lawson,R.K., Editors. Enfermedades de la próstata. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994:509-514.

44 Cowan,LA; Barsanti,JA; Brown,J; Jain,A: Effects of bacterial infection and castration on prostatic tissue zinc concentration in dogs. Am J Vet Res 1991;52:1262-1264.

45 Stanford JL, Stephenson RA, Coyle LM et al: Prostate Cancer Trends 1973-1995, SEER Program, National Cancer Institute. NIH Pub No. 99-4543. Bethesda, MD, 1999.

46 Kealy,JK: Diagnostic Radiology of the dog and cat.2nd. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1987.

47 Gridley MF: USA Armed Forces Institute of Pathology: Manual of histologic and special staining techniques 2nd ed. New York Mc Graw Hill 1960.

48 Programa SAS, version 4.90.3000 of the SAS System for Windows. Copyright 1999-2001 SAS Institute Inc., Cary, NC,USA.

49 Daniel WW: Biostatistics: A foundation for analysis in the health science 7th ed. Philadelphia John Wiley & Sons 1999

50 Keen,CL; Lonnerdal,B.; Fisher,GL: Seasonal variations and the effects of age on serum cooper and zinc values in the dog. Am J Vet Res 1981; 42: 347-350.

51 Cree IA: Pathology. Philadelphia Lippincott Williams and Wilkins Publishers 1987.

52 Berry SJ, Strandberg JD, Saunders WJ, Coffey DS: Development of canine benign prostatic hyperplasia with age. *Prostate* 1986; 9(4):363-373.

53 Kennedy PC, Jubb KV and Palmer N.: *Veterinary Pathology* 4th ed. Philadelphia Academic Press 1993

54 Dorfman, M and Barsanti, J: Diseases of the canine prostate gland. *Comp. on Cont. Ed.* 1995;17:791-811.

55 Black GM, Ling GV, Nyland TG, Baker T: Prevalence of prostatic cysts in adult, large-breed dogs *JAAHA*, 1998; 34: 177-180

56 Hennenfent B.: Prostatitis and benign prostatic hyperplasia: emerging infectious diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 1997; 3: 77-78

57 Anderson S: *Andersons Pathology* 9th ed Philadelphia Mosby 1989.

58 Obradovich J, Walshaw R, Goullaud E. The influence of Castration on the Development of Prostatic Carcinoma in the Dog: 43 cases. *J Vet Int Med* 1985; 1: 183-187.

59 Bell FW, Klausner S, Hayden DW, Feeney DA, Johnston SD. Clinical and pathologic features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs: 31 cases. *JAVMA* 1991; 199: 1623-1630.

60 Krawiec DR, Heflin D. Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986). *J Am Vet Med Assoc* 1992; 200: 1119-1122.

61 Cornell KK, Bostwick DG, Cooley DM, Hall G, Harvey HJ, Hendrick MJ, Pauli BU, Render JA, Stoica G, Sweet DC, Waters DJ. Clinical and pathologic aspects of spontaneous canine prostate carcinoma: a retrospective analysis of 76 cases. *Prostate* 2000; 45: 173-183.

62 Teske E, Naan EC, van Dijk EM, Van Garderen E, Schalken JA. Canine prostate carcinoma: epidemiological evidence of an increased risk in castrated dogs. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197: 251-255.

63 The National Academy of Sciences. Biologic Markers in Reproductive Toxicology. Available from: URL: <http://www.nap.edu/openbook/0309039797/html/77.html>, copyright 1989,2000.

64 Al-Qarawi A.A., Abdel-Rahman H.A., El-Belely M.S., El-Mougy S.A.: Age-related changes in plasma testosterone concentrations and genital organs content of bulk and trace elements in the male dromedary camel Animal Reproduction Science 2000 62: 297-307.

65 Bedwal RS and Bahuguna A: Zinc,copper and selenium in reproduction. Experientia 1994; 50(7): 626 - 640.

66 Williams PL, James RC and Roberts SM: Principles of toxicology.Environmental and industrial applications 2nd ed. New York John Wiley & Sons,Inc 2000

67 Waalkes MP. Cadmium carcinogenesis in review. J Inorganic Biochem 2000; 79: 241-244.

68 Tanaka M, Yanagi M, Shirota K, Une Y, Nomura Y, Masaoka T, Akahori F. Effect of cadmium in the zinc deficient rat. Vet Hum Toxicol, 1995; 37: 203-208.

69 Whitmore WF:Comments on zinc in the human and canine prostate. Biology of the Prostate and related tissues. National Cancer Institute, Bethesda MD,1963; 337-341 Citado por Al-Qarawi A.A.

70 Gawthorne J.M., Howel JM and White CL:Introduction on trace elements in animal tissues. Proc 4th International Symposium "Trace Elements Metabolism in Man and Animals" Perth Australia, 1982; 1-6 citado por Al-Qarawi A.A.

71 Keen CL, Lönnerdal B, Fisher GL: Age-related variations in hepatic iron, copper, zinc, and selenium concentrations in Beagles. Am J Vet Res 1981; 42: 1884-1887.

72 Smith ER and Hagopian M: Uptake and secretion of carcinogenic chemicals by the dog and rat prostate. Prog Clin Biol Res 1981; 75B:131-163.

73 Oldereid NB, Thomassen Y, Purvis K.: Selenium in human male reproductive organs. Hum Reprod 1998; 13(8):2172-2176.

74 Waters DJ, Shen SC, Cooley DM, Bostwick DG, Qian J., Combs GF, Glickman LT, Oteham C, Schlittler D., Morris JS: Effects of dietary selenium supplementation on DNA damage and apoptosis in canine prostate. J. Natl Cancer Inst. 2003; 95:237-241

75 Lowseth LA, Gerlach RF, Gillett NA, Muggenburg BA: Age-related changes in the prostate and testes of the beagle dog. Vet Path 1990; 27:347-353.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN