

300627
16
2ej



UNIVERSIDAD LA SALLE
ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS SEXUALES
ACCESORIAS DE RATAS VASECTOMIZADAS

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

LUZ GABRIELA HERNANDEZ FLORES

DIRECTOR DE TESIS

M. EN C. JOSE DOMINGO MENDEZ FRANCISCO

MEXICO D.F.

TESIS CON
PALLA DE ORIGEN

1992



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

I N D I C E

	Página.
RESUMEN.....	7
INTRODUCCION.....	9
GENERALIDADES.....	11
Sistema Reprodutor Masculino.....	11
Organos Sexuales Primarios.....	11
Testiculos.....	11
Hormonas Gonadotróficas.....	13
Producción de Testosterona.....	15
Túbulos Seminíferos y Espermatogénesis.....	17
Glándulas Sexuales Accesorias.....	17
Glándulas Vesiculares.....	18
Glándulas Prostáticas o Próstata.....	22
Glándulas Bulbouretrales.....	24
Glándulas Ampulares.....	25
Glándulas Prepuciales.....	26
Túbulos Accesorios.....	26
Epididimo.....	26
Conducto Deferente.....	29
Uretra.....	30
Genitales Externos.....	31
Pene.....	31
Escroto.....	32
Vasectomía.....	33
Complicaciones de la Vasectomía.....	38
Efectos Fisiológicos de la Vasectomía.....	38
Efectos de la Vasectomía en el Sistema Reprodutor Masculino.....	40
Testículo.....	40
Epididimo.....	42
Glándulas Sexuales Accesorias.....	43
Poliaminas.....	45
Arginasa.....	48
Propiedades de la Arginasa.....	51
Poliaminas y Reproducción.....	52
OBJETIVO.....	56
MATERIAL Y METODOS.....	57
RESULTADOS.....	60
DISCUSION DE RESULTADOS.....	88

	Página.
CONCLUSIONES.....	95
APENDICE.....	98
BIBLIOGRAFIA.....	107

RESUMEN

La arginasa es la enzima terminal del ciclo de la urea y se encuentra presente principalmente en el hígado. Esta enzima también está relacionada con la síntesis de aminoácidos y poliaminas y probablemente bajo este papel esté presente en otros tejidos en los mamíferos.

En este trabajo, los efectos de la vasectomía sobre la actividad de arginasa en las glándulas sexuales accesorias de rata fueron estudiados a diferentes intervalos de tiempo que iban desde las 96 h. hasta los 60 días post-vasectomía. Junto con la actividad de arginasa también se analizaron las concentraciones de materia orgánica y proteínas en estas mismas glándulas, así como diferentes parámetros bioquímicos en el suero sanguíneo.

Se utilizaron ratas macho de la cepa Long Evans las cuales se clasificaron en cuatro grupos: 1. Grupo Control (sin vasectomía), 2. Grupo Vasectomizado 96h. 3. Grupo Vasectomizado 30 días y Grupo Vasectomizado 60 días.

Comparando los valores obtenidos con los del grupo control, se observó, en el suero sanguíneo, un aumento significativo en la concentración de glucosa, y una disminución marcada en las concentraciones de proteínas y triacilglicéridos.

No existen cambios significativos en la actividad de arginasa y fosfatasa alcalina séricas, lo que sugiere la inexistencia de un daño hepático.

En cuanto a las glándulas sexuales accesorias se observaron diferentes efectos, pues en algunas de ellas la actividad de

arginasa, la concentración de proteínas y materia orgánica no se afectaron, mientras que en otras se observó un aumento o disminución importante en estos parámetros, lo que hace pensar que estas glándulas reaccionan de forma diferente a la vasectomía.

INTRODUCCION:

El empleo de métodos quirúrgicos para la regulación de la fertilidad en el humano se ha incrementado notablemente en los países en vías de desarrollo. En los países latinoamericanos la oclusión tubaria es solicitada con mayor frecuencia que la vasectomía; sin embargo, durante los últimos años la aceptabilidad para este último método ha aumentado considerablemente a medida que la información al público se ha mejorado.

En países como Estados Unidos la vasectomía ha ganado respeto durante las décadas pasadas, considerándose ahora como el mejor método de esterilización, pues se considera una técnica segura, eficiente, que puede ser realizada con equipo mínimo, y además económica, incluso más que la esterilización en mujeres.

El número de publicaciones con respecto a esta materia ha ido aumentando. La mayor parte de estudios que se han realizado han sido relacionados particularmente con el metabolismo de los lípidos, electrolitos y química sanguínea, actividad de algunas enzimas del suero sanguíneo, así como la relación de esta técnica con enfermedades del corazón, y los efectos morfológicos, fisiológicos e inmunológicos que pudiera originar. Algunos artículos han resaltado las ventajas de la vasectomía y han enfatizado que la operación raramente causa complicaciones tempranas o bien a largos tiempos.

En contraste, otros autores han advertido que además de complicaciones post-operatorias inmediatas, la vasectomía puede producir efectos negativos; es decir, aun cuando se piensa que este método es relativamente seguro, viable y económico, muchas preguntas relacionadas con los efectos fisiológicos y las secuelas biológicas a largo tiempo, aún permanecen sin contestar. De esta manera, la naturaleza e incidencia de cambios locales y sistémicos inducidos por la vasectomía continúa siendo de interés.

Es de aquí, donde se origina el fundamento del presente estudio, pues aunque han sido estudiadas diversas enzimas, varios aspectos bioquímicos se desconocen, tales como el metabolismo de poliaminas, por lo que se considera importante medir la actividad de la arginasa, enzima que regula la formación de ornitina, precursor en la síntesis de estas moléculas.

GENERALIDADES

SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO

El sistema reproductor masculino está asociado con el sistema urinario del cual se deriva parcialmente (1). Los órganos que lo constituyen excretan orina, se encargan de la reproducción al producir y transportar espermatozoides, y son zonas erógenas, sitios de placer sexual. También llegan a ser reservorios de enfermedades transmitidas por contacto sexual (2).

El sistema reproductor masculino se divide en: 1) Los órganos sexuales primarios, los testículos, los cuales se encargan de la producción de espermatozoides; 2) Las glándulas sexuales accesorias que producen los fluidos que se combinan con los espermatozoides y sirven como medio de transporte para estas células durante la emisión, entre estas glándulas se encuentran la próstata, las glándulas vesiculares, las glándulas bulbouretrales etc.; 3) La serie de conductos que transportan el semen hacia el exterior, entre estos están el epidídimo, el conducto deferente y la uretra y 4) Los genitales externos: el pene y el escroto (1).

ORGANOS SEXUALES PRIMARIOS

TESTICULOS:

Los testículos consisten principalmente de una masa, en forma de pera u ovalada, de una serie de túbulos replegados (1) que

descansan en una bolsa especializada de piel llamada escroto, y que a diferencia de los ovarios en las hembras, se encuentran afuera de la cavidad abdominal (3). Estos órganos aumentan de tamaño en la madurez sexual y en algunas especies este permanece constante de forma que el macho puede aparearse en cualquier momento, mientras que en otras especies los testículos sufren de una regresión y extensión alternada que provoca el apareamiento solo en determinados periodos (1).

En el hombre estos testículos lisos y ovalados miden alrededor de 4 cm. de longitud y alrededor de 2.5 cm. de ancho y la temperatura es de 2°C menos que la temperatura general del cuerpo (3).

Los testículos constan de dos tipos de tejidos y tienen dos funciones principales. La función primaria es la producción de las células sexuales masculinas (espermatozoides), a través de un proceso denominado espermatogénesis, y que se lleva a cabo dentro de la estructuras llamadas túbulos seminíferos (3). Cada túbulo está rodeado de una membrana de fibra de colágena alineada con un epitelio estratificado. El epitelio consiste de células espermatogénicas y células de Sertoli. Las células de Sertoli proveen de apoyo mecánico y sirven en la nutrición de células espermatogénicas (1).

Por otra parte, entre los túbulos seminíferos se encuentra un tejido intersticial que contiene a las células de Leydig, las cuales producen las hormonas sexuales masculinas u hormonas

androgénicas (3). Estas células son la fuente principal de testosterona la cual controla el tamaño y la actividad de secreción de las glándulas sexuales accesorias y el desarrollo de las características sexuales secundarias (1).

Ambas funciones son controladas por dos hormonas gonadotróficas (gonadotrofinas) del lóbulo anterior de la pituitaria (3).

HORMONAS GONADOTROFICAS

La relación entre la glándula pituitaria y los testículos ha sido descrita como un mecanismo de FEED BACK. Niveles bajos de hormona androgénica estimulan a la pituitaria para que secreta más hormonas gonadotróficas; cantidades grandes deprimen a la pituitaria y la liberación de las hormonas gonadotróficas, por lo que también hay una disminución en la actividad testicular. Esto puede afectar la espermatogénesis, así como la secreción de hormonas androgénicas (3).

Las dos hormonas gonadotróficas son: la hormona foliculo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). En el macho la FSH estimula la espermatogénesis, mientras que la LH estimula el crecimiento del tejido intersticial y la secreción de las hormonas androgénicas, por lo que en algunas ocasiones se le conoce como la hormona estimulante de las células intersticiales (ICSH) (3).

Se ha establecido que la secreción de estas hormonas es

controlada por el hipotálamo. El hipotálamo secreta una hormona liberadora de gonadotropina, la cual ha sido aislada, se le ha determinado su estructura química y actualmente es sintetizada a nivel de laboratorio. Anteriormente se pensaba que existían dos hormonas de este tipo una para la FSH y otra para la LH, pero solamente se ha aislado una y se ha sugerido que libera a las dos gonadotropinas (fig. 1) (3).

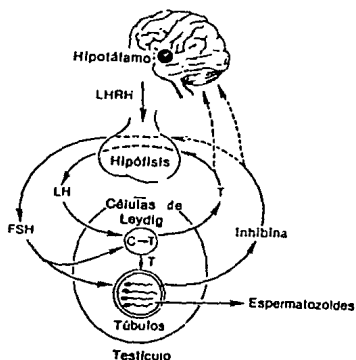


Figura 1. Eje entre el hipotálamo, la hipófisis y el testículo. LHRH = hormona liberadora de hormona luteinizante; C = colesterol; y T = testosterona.

PRODUCCION DE TESTOSTERONA

La producción normal de testosterona depende de la estimulación de las células de Leydig por la LH liberada de la hipófisis. La hormona foliculo estimulante (FSH) también puede ser importante en la regulación de la producción de testosterona al incrementar el número de receptores en las células de Leydig al momento de la maduración sexual (4).

La vía de síntesis de la testosterona a partir del colesterol y la transformación de testosterona en metabolitos y estrogénos activos se describe en la figura 2.

Los andrógenos actúan a nivel celular en forma similar a otras hormonas esteroides, pues la testosterona (T) penetra en la célula blanco por difusión pasiva, y se combina con una proteína receptora citoplasmática; sin embargo, en algunos tejidos efectoros la testosterona primero se transforma en un metabolito activo, la dihidrotestosterona (D), que luego se une a la proteína receptora citoplasmática. Los complejos formados por hormona y receptor (TR, DR o ambos) luego se difunden hacia el núcleo y estimulan la síntesis de RNA mensajero. El complejo entre testosterona y receptor regula la secreción de LH, la espermatogénesis y la fase de estimulación wolffiana de la diferenciación sexual del varón, mientras que el complejo entre dihidrotestosterona y el receptor se encarga de la virilización externa del feto masculino, y de la mayor parte de la actividad androgénica necesaria para la maduración sexual normal y la función sexual adulta (4).

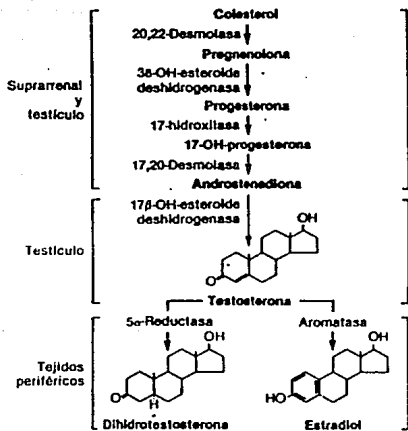


Figura 2. Vías de formación de la testosterona en el testículo y de su transformación en metabolitos activos en los tejidos periféricos. Las primeras cuatro enzimas de la vía también existen en los suprarrenales.

TUBULOS SEMINIFEROS Y ESPERMATOGÉNESIS

La función normal de los túbulos seminíferos depende de su cercanía con las células de Leydig, pues es necesaria una alta concentración de testosterona, además de FSH, para que ocurra la espermatogénesis. La concentración de testosterona en el testículo es aproximadamente 100 veces mayor que en el plasma. La testosterona al parecer, favorece las fases iniciales de la espermatogénesis, mientras que la FSH es necesaria para las fases terminales de la formación de espermátides. Las células de Sertoli son también esenciales para la espermatogénesis. La interacción de la FSH con los túbulos seminíferos ocurre al unirse con las células de Sertoli. Las células de Sertoli también contienen receptores específicos intracelulares para andrógenos; si bien, las células de Sertoli no pueden sintetizar hormonas esteroideas de novo, pueden producir 5α reducción y aromatización de la testosterona que se elabora en las células de Leydig vecinas (4).

Los túbulos espermatógenicos, en forma específica, las células de Sertoli junto con las espermátides en maduración, producen también la hormona peptídica inhibina, que por retroalimentación sobre el sistema hipotálamo-hipofisiario bloquea la secreción de FSH (4).

GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS

Un alto grado de desarrollo de las glándulas sexuales accesorias es característico de los mamíferos. Los productos de

estas glándulas se combinan con el espermatozoide en la uretra para formar el semen y de esta forma sirven como medio de transporte para estas células espermáticas durante la emisión (1).

Las características anatómicas y la actividad secretoria de las glándulas sexuales accesorias (Tabla 1) varían de acuerdo a la especie. En este trabajo solo se mencionarán las características propias del hombre (Fig.3) y la rata (fig.4).

GLANDULAS VESICULARES

Las glándulas vesiculares o vesículas seminales se encuentran en la superficie posterior (base) de la vejiga, entre esta y el recto (3). En el hombre son pequeñas y compactas comparadas con la rata donde son relativamente grandes en tamaño y además no son almacén de espermatozoides como se creía en un principio (3).

El fluido secretado por estas glándulas comprende una gran proporción del plasma seminal (3). Esta secreción es un fluido que varía de viscoso a gelatinoso, generalmente claro o ligeramente amarillento. En ocasiones se encuentran presentes células libres del epitelio (1).

En combinación con la secreción de la próstata y en algunas especies con la de las glándulas bulbouretrales la secreción de las glándulas vesiculares coagula. En el caso de los roedores este coágulo forma el tapón copulatorio o vaginal, que evita la pérdida del semen. Posteriormente este tapón se rompe y los espermatozoides son liberados dentro de la vagina en un flujo

Tabla 1. Características Anatómicas y Propiedades de
Secreción de las Glándulas Sexuales Accesorias.

ORGANO	CARACTERISTICAS ANATOMICAS	PROPIEDADES DE SECRECION
Glándulas Ampulares	Diversos lóbulos que se proyectan del conducto deferente.	Líquido amarillento que contiene ergotina, fósforo, fructosa, ácido siálico.
Glándulas Vesiculares	Sáculos íntegros y curvados; estructuras bilaterales sencillas.	Fluido blanco, amarillo o azulado, o una sustancia gelatinosa que contiene ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido siálico, fructosa, proteínas.
Glándula Prostática	Masa subdividida por septas.	Líquido incoloro que contiene fibrinolisisina, fibrinogenasa, diastasa, anhidrasa carbónica, amilasa, vesiculasa, fructosa, ácido cítrico, aminoácidos libres, Zn, fosfatasa ácida, maltasa, prolactina, Mg, Ca, LDH, transaminasas, espermina, espermidina, putrescina.
Glándulas Bulbouretrales	Masa redonda próxima a la uretra esponjosa.	Fluido viscoso que contiene sialoproteína.
Glándulas Prepropias		Contiene 7 dehidrocolesterol.

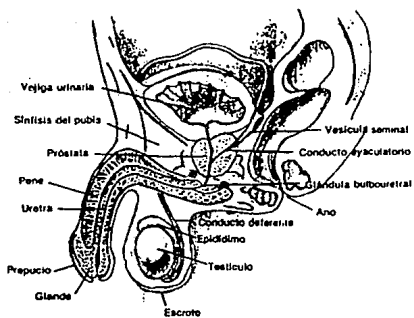


Fig. 3. Genitales masculinos externos e internos: sección a través de la pelvis, vista lateral.

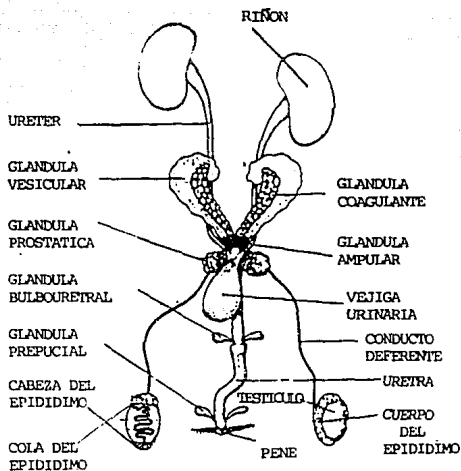


Fig. 4.- Sistema Reprodutor de la Rata

seguro. Este tapón es necesario para la fertilización (1).

Uno de los constituyentes más importantes en la secreción del hombre es la fructosa. La cantidad de este azúcar reducido en el semen es regulada por la producción total de las hormonas androgénicas, y por lo tanto es un indicador sensible de la actividad endócrina de los testículos de aquellos mamíferos donde toda la secreción es vertida en el eyaculado, como en el caso del hombre (3).

La fructosa es importante pues sirve como fuente de energía para el espermatozoide en el semen, y por lo tanto es necesaria para la longevidad de estas células, es decir el tiempo que son capaces de sobrevivir (3).

El conducto de cada vesícula seminal es muy pequeño y casi inmediatamente se une con el conducto deferente correspondiente, para formar el conducto eyaculatorio (3).

GLANDULAS PROSTATICAS O PROSTATA

Las glándulas prostáticas son estructuras pequeñas y firmes. En el hombre son del tamaño de una castaña a través de las cuales debe pasar la uretra (2). Estas pueden formar una sola masa que está subdividida por una septa, o pueden formar dos o tres pares de lóbulos distintos (1). La designación de los lóbulos en los cuadrúpedos ha seguido dos nomenclaturas: La primera la designa como anterior (ventral), media y posterior (dorsal); la segunda la anterior (cranial), la media, y posterior (caudal). Se ha usado ahora una combinación de ambas (1).

La próstata consta de una parte glandular y otra fibromuscular. La parte glandular es aquella parte sensible a la acción de las hormonas androgénicas (3).

En algunas especies de la familia Cricetidae y Muridae, el lóbulo anterior de la próstata está extendido y estrechamente unido a la curvatura interior de las glándulas vesiculares, y se le conoce como la glándula coagulante (1).

La secreción de la próstata sirve como medio de transporte para los espermatozoides; además estimula la movilidad de estas células y las provee de nutrientes. La producción de esta secreción es primero controlada por el nivel de testosterona, y segundo por la estimulación nerviosa. La producción puede ser relativamente constante o puede haber fases periódicas de alta producción (1).

Como cualquier estructura del aparato reproductor accesorio, cuya integridad depende de los andrógenos, la próstata puede atrofiarse después de la castración o bien por una disminución en la secreción de andrógenos a consecuencia de la edad (3).

La secreción prostática, contiene grandes cantidades de ácido cítrico. El contenido de esta sustancia es dependiente de la hormona androgénica, por lo que su nivel en el plasma seminal puede ser usado como un indicador sensible de la actividad hormonal testicular (3).

La secreción prostática contiene además espermina y espermidina, los cuales son compuestos orgánicos a los que se les atribuye el olor característico del semen. Junto con estas

moléculas también se han encontrado grandes cantidades de prostaglandinas. Se ha dicho que estas prostaglandinas son capaces de causar contracciones en el útero de modo que pueden tener alguna influencia en la velocidad con la que pasa el espermatozoide a través del tracto genital femenino hacia el óvulo, y por lo tanto influye en la habilidad del espermatozoide para realizar la fertilización; sin embargo su papel no está completamente entendido (3).

Por otra parte la fracción coagulante de la secreción de la próstata anterior es conocida como vesiculosa. La coagulación del fluido de las glándulas vesiculares es una doble reacción en donde la procoagulasa de las vesículas seminales se combina con la vesiculosa para formar la coagulasa, esta última se combina después con una fracción proteínica de la secreción vesicular, coagulinógeno, para formar una proteína coagulada lo que da origen al tapón vaginal (1).

Finalmente se puede decir también que la próstata participa en el aumento general del suministro de sangre al aparato reproductor durante la excitación sexual (3).

GLANDULAS BULBOURETRALES

Las glándulas bulbouretrales o glándulas de Cowper descansan en la parte dorsal del bulbo del pene y están parcialmente o completamente incrustadas en el músculo bulbocavernoso (1). Cada glándula es de color café-amarillenta y del tamaño de un chicharo (2).

La secreción de estas glándulas es producida en estados iniciales de la excitación sexual. Esta secreción es anticipada al coito y frecuentemente aparece como una gota de fluido en el orificio de la uretra penil (2). Es de un material-mucoso blanco lechoso, aunque no es un moco verdadero pues no precipita con el ácido acético. Se pensaba que actuaba como un simple lubricante, sin embargo se ha demostrado que contiene una glicoproteína que lleva a cabo una reacción iónica no enzimática con una fracción protéica de las glándulas vesiculares para producir un coágulo. El sustrato vesicular sobre el que actúa la secreción de las glándulas bulbouretrales es diferente al que actúa con la enzima vesiculosa de las glándulas coagulantes, mas aún la secreción bulbouretral reacciona a un pH óptimo de 5.9 en contraste al pH de 7.4 para la enzima de la glándula coagulante (1).

GLANDULAS AMPULARES

Las glándulas ampulares son estructuras altamente variables formadas a partir del conducto deferente cerca de la unión con la uretra. Estas glándulas consisten de una serie de túbulos que están rodeadas por una cápsula de tejido conectivo y músculo liso (1).

A pesar de que algunos espermatozoides pueden ser encontrados en los túbulos cuando estos se abren hacia el conducto deferente, no hay indicación de que las glándulas ampulares sean un almacén para los espermatozoides (1).

GLANDULAS PREPUCIALES

Las glándulas prepuciales o glándulas de Tyson, son pequeñas, ramificadas y tubo-alveolares. En roedores un par de estas glándulas se encuentran en cada lado de la parte distal del pene y abierto hacia el interior de la cavidad prepucial cerca de su orificio (1).

En la rata estas glándulas están compuestas de dos tipos de células: a) las células escamosas que forman una pared de una capa sencilla y que luego se estratifican para formar el conducto del epitelio y 2) las células acinares que acumulan sustancias grasosas dentro de su citoplasma, se fusionan y se desintegran. Junto con las sustancias grasosas, se producen también gránulos proteínicos y se liberan al conducto excretor cuando las células degeneran. La secreción holocrina se le llama esmegma (1).

Las células acinares no se regeneran y el parenquima glandular gradualmente disminuye con la edad. El tejido conectivo reemplaza el parenquima glandular, por lo que la glándula no disminuye en tamaño (1).

TUBULOS ACCESORIOS

EPIDIDIMO

El epididimo es una estructura pesada en forma de cordón, formado por ductos altamente plegados, y que está estrechamente adherido a la superficie del testículo. Consiste de tres partes: (1) la cabeza del epididimo, que se encuentra al final del

testículo al cual el cordón espermático está unido; (2) el cuerpo del epidídimo o cuerpo central; y (3) la cola del epidídimo, la cual se encuentra en el polo opuesto del testículo de aquel ocupado por la cabeza y que se encuentra unido al conducto deferente (Fig.5). Su longitud en el humano es de 5-6cm. solo que de forma desenrollada llega a medir 6 metros de longitud (2,3). El epidídimo mantiene un diámetro relativamente constante conforme se atraviesa la cabeza y cuerpo del epidídimo, pero su diámetro se duplica aproximadamente en la región de la cola. En el epidídimo de la rata se tienen dos tipos de células, las células holocrinas y las células principales (1).

Los túbulos seminíferos pasan sus espermatozoides hacia unos conductos pequeños llamados ductulos eferentes, que se comunican con la cabeza del epidídimo (Fig.5) (3); es decir, un gran volumen de fluido es transferido a través de la pared a los túbulos seminíferos este fluido sirve para mover a los espermatozoides a lo largo del túbulo hacia el conducto deferente. El exceso del fluido que no es requerido para la propulsión del espermatozoide es reabsorbido por los ductulos eferentes. De hecho el movimiento de las células espermáticas es más rápido en los ductulos eferentes que en el epidídimo. El tiempo requerido para el movimiento del esperma a través del epidídimo es de 22 días en la rata bajo condiciones normales, y de 7 a 10 días en ratas con apareamiento frecuente (1).

El conducto del epidídimo sirve como sitio para la maduración y almacenamiento de los espermatozoides así como vehículo de

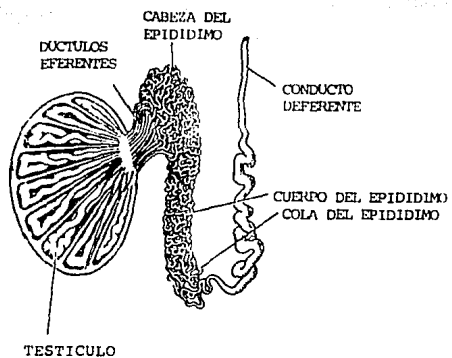


Figura 5. Diagrama del conducto replegado que constituye el epidídimo

transporte para estas células. Se pensaba que los cambios en la maduración del espermatozoide, conforme pasaban a través del epididimo, eran temporales y regulados por factores intrínsecos, pero se ha demostrado que se requieren factores extrínsecos para el desarrollo funcional del espermatozoide. Se ha demostrado que los espermatozoides aislados de la cabeza del epididimo llevan a cabo cambios morfológicos típicos de una maduración normal, pero muestran un nivel bajo de fertilidad. Tales espermatozoides nunca alcanzan la motilidad de aquellos de la cola del epididimo, y son completamente inmóviles después de cuatro semanas. Los espermatozoides de la cola del epididimo, el mayor reservorio, permanecen móviles por ocho semanas y son fértiles como los espermatozoides eyaculados. Por lo tanto las sustancias del cuerpo y cola son necesarias para la producción y nutrición de espermatozoides fértiles (1).

Por otra parte, la localización de diferentes enzimas en distintas partes del epididimo, y en ciertas células del epitelio, así como la resistencia a determinadas sustancias en el estroma y epitelio de una parte dada, ha sido demostrada. Además la actividad de las células epiteliales es controlada por hormonas del testículo (1).

CONDUCTO DEFERENTE

El conducto deferente continua el canal del epididimo como un tubo altamente plegado paralelo al cuerpo del epididimo. Gradualmente este conducto deferente se va haciendo recto

conforme va dejando al epididimo, pasa hacia arriba a la cavidad abdominal a través del canal inguinal , rodea el uretero y finalmente se abre hacia la uretra. A partir del testículo hasta donde rodea el uretero , el conducto deferente, los vasos linfáticos y los que llevan sangre testicular y del epididimo y algunos nervios, constituyen el cordón espermático (1).

Cerca de su unión con la uretra , las glándulas ampulares pueden formar distintos lóbulos como es el caso de la rata (1); además este conducto se une al conducto de las vesículas seminales, para formar el conducto eyaculador que pasa a través de la próstata y finalmente se abre a la uretra (2).

URETRA

La uretra es una estructura tubular larga que va desde la vejiga urinaria a través de la próstata y termina en la punta del glande. Sirve como medio de transporte del semen y orina. Debido a un sistema vascular intrincado, formado por ciertos músculos, el semen y la orina no pueden expulsarse juntos al exterior (2).

La porción de la uretra que va de la vejiga a la unión con el conducto deferente es formada por la uretra primitiva. De la unión de la uretra con el conducto deferente a la base del pene se encuentra el sinus urogenital. La uretra primitiva mas la parte anterior del sinus urogenital, constituyen la uretra muscular o membranosa. La última parte, la uretra esponjosa o penil, descansa dentro del pene . La abertura al final del pene se llama orificio uretral externo o meatus. De la unión del

conducto deferente al meatus se encuentra constituido el canal urogenital (1).

GENITALES EXTERNOS

PENE

Todos los mamíferos tienen un órgano copulatorio para transferir el semen del macho a la hembra (1). Este órgano es el pene. Este pene consta de tres columnas de tejido eréctil. Los dos cuerpos cavernosos corren paralelos hasta la punta del pene, en tanto que el cuerpo esponjoso corre a todo lo largo de la parte inferior. La uretra se aloja en el cuerpo esponjoso (2). Estos tres cuerpos están envueltos por una cubierta capsular fibrosa que es más gruesa sobre los cuerpos cavernosos. Dentro del cuerpo cavernoso hay muchos filamentos de tejido fibroso que dividen el tejido del cuerpo en varios espacios cavernosos que se llenan de sangre durante la excitación sexual lo que hace que el pene se ponga erecto (3). El pene flácido promedio mide de 7.5 a 10 cm. (2,3), mientras que el promedio del pene erecto es de 15.5cm. (3). Su diámetro normal es de 2.8cm. mientras que durante la erección es de 4.1cm. (3). La piel que cubre al pene es holgada lo que permite la mayor longitud durante la erección. La piel que normalmente cubre al glande o cabeza del pene cuando está flácido se denomina prepucio. Este glande es la parte más sensible del pene y durante la erección el prepucio es tirado hacia atrás para exponerlo. El glande es una extensión del cuerpo esponjoso y contiene el orificio externo de la uretra (2).

ESCROTO

El escroto es una bolsa delgada de piel, músculo, y tejido elástico colagenoso conectivo en donde se encuentran los testículos. Su función es la de mantener a los testículos a la temperatura óptima para la producción de los espermatozoides (1).

Por dentro, el escroto se divide en dos compartimentos, cada uno contiene un testículo y su cordón espermático (2).

La piel de la cual está constituido está pigmentada, carece de vello generalmente, y no contiene grasa subcutánea la cual pudiera impedir la pérdida de calor de los testículos y sus vasos sanguíneos. También se encuentra una capa de fibras musculares involuntarias que son parte integral de la piel del escroto (3). En tiempos de calor el músculo se relaja y la piel del escroto se vuelve flácida, por lo que el escroto es una bolsa que pende flojamente (3). Pero si se expone al frío, y en ocasiones durante la estimulación sexual, los pequeños músculos de las paredes del escroto hacen que la piel se arrugue; ello empuja los testículos hacia arriba, en dirección de la cavidad abdominal, para calentarlos o para quitarlos del camino durante el coito (2). Los testículos también pueden ser elevados por los músculos cremasterianos. Todo esto es una adaptación para la regulación de la temperatura de los testículos (3).

VASECTOMIA

La vasectomía o deferentoclasia es un método de esterilización para el hombre, sencillo, seguro, relativamente barato y extremadamente eficaz. Es un procedimiento quirúrgico que interrumpe la continuidad de los conductos deferentes para prevenir el paso de los espermatozoides así como para retroceder el paso de bacterias. Esta técnica se utiliza como método de planificación familiar, así como para prevenir el ascenso de infecciones que pueden resultar de la epididimitis (5).

Desde el siglo pasado, esta técnica ha sido aplicada para diferentes propósitos. Se sugirió su uso para la esterilización de alcohólicos, retrasados mentales y delincuentes. Se practicó en jóvenes masturbadores habituales o con malformaciones orgánicas, con el propósito de modificar su comportamiento en los primeros y evitar la procreación en los segundos. En un tiempo también se convirtió en la fuente de la juventud, solo que posteriormente esta teoría se deshechó. Sin embargo esta técnica se ha utilizado con fines de esterilización desde hace aproximadamente treinta y seis años (6).

Existen varios métodos para llevar a cabo la vasectomía. El método más sencillo, es también el más peligroso y el menos efectivo. Este consiste en pasar una ligadura a través de la piel, rodeando el conducto deferente y sacándola de nuevo a través de la piel (Fig. 6) de forma que el conducto queda obstruido cuando la ligadura se amarra. Debido a que los vasos sanguíneos y el nervio se encuentran próximos al conducto deferente, la

ligadura puede envolverlos y dar origen a una atrofia testicular.

La técnica más común, es la de cortar el conducto ligando las terminaciones o cerrándolas con clips metálicos. Este método falla del 1 al 3% debido a una recanalización subsecuente del conducto. Con este método se puede suscitar una necrosis en las terminaciones de forma que el tejido puede desprenderse dejando las terminaciones abiertas dando lugar a una regeneración tisular y al paso de los espermatozoides (fig. 7).

De todas las técnicas, la más sensible y existosa es aquella en la que el conducto se divide y las terminaciones son selladas a través de una cauterización (fig. 8). Una variación de esta técnica es aquella en donde la terminación testicular del conducto se deja abierta deliberadamente permitiendo la formación de un granuloma. Esto es con el objeto de reducir la presión intravasal e intraepididimario después de la vasectomía disminuyendo la posibilidad de que se desarrolle un granuloma epididimario.

Algunos investigadores han tratado de formar tapones que obstruyan el conducto deferente por medio de sustancias químicas, solo que en ocasiones se dilata el lumen y los espermatozoides pasan alrededor de estos tapones.

En general, la vasectomía se lleva a cabo bajo anestesia local y haciendo incisiones bilaterales. Algunos médicos utilizan una sola incisión aunque se corre el riesgo de cortar un mismo conducto deferente.

En cualquier método que se use, las pruebas post-operatorias

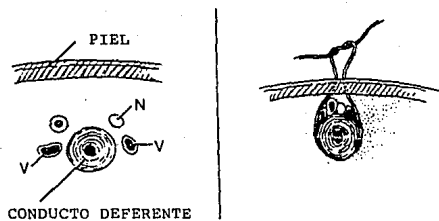
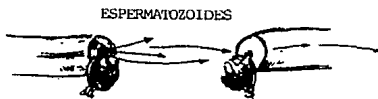


Figura 6. Ligación percutánea del conducto deferente con posible daño al nervio espermático y vasos sanguíneos.



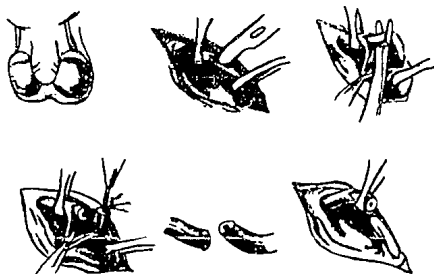
GANGRENA



ESPERMATOZOIDES

Figura 7. Corte del conducto deferente y ligación de sus terminaciones.

Figura 8. Técnica de cauterización.



son obligatorias para asegurar que no haya ocurrido una recanalización espontánea. Para esto se requieren dos muestras de semen después de un mes de llevada a cabo la cirugía. La primera muestra debe obtenerse después de quince eyaculaciones de modo que no haya espermatozoides en el semen (5).

COMPLICACIONES DE LA VASECTOMIA

Las complicaciones más comunes que pueden presentarse son la formación de gangrena o hematoma escrotal (0-12%), epididimitis (0.4-6.1%), abscesos escrotales (5.5%), granulomas espermáticos (4.9-10%), celulitis (1.5%), fallas en la operación (0-6%), regeneración del conducto deferente (1%), infecciones superficiales y dolor persistente (7,8,9,).

EFFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA VASECTOMIA

Una infinidad de estudios se han llevado a cabo en hombres y animales vasectomizados. Desafortunadamente la mayoría de estos estudios han sido realizados a tiempos cortos después de la operación.

Se llevó a cabo un estudio de comparación entre hombres vasectomizados (37% de los cuales habían sido vasectomizados 10 años antes) con hombres controles. El estudio incluía la cuenta sanguínea, diferentes determinaciones en suero: sodio, potasio, calcio, glucosa, ácido úrico, colesterol, nitrógeno de urea, creatinina, bilirrubina total, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa láctica. Las presiones sanguíneas también fueron estudiadas. Las únicas diferencias significativas entre los dos

grupos fueron el aumento en el potasio sérico y la disminución en la presión sistólica en el grupo de los hombres vasectomizados. Todas las demás diferencias fueron pequeñas y se piensa que poco probables de ser biológicamente importantes (10); sin embargo, algunos datos encontrados en animales han sugerido que pueden existir riesgos a largo plazo después de la vasectomía.

Estudios realizados en monos vasectomizados y alimentados con dietas ricas y sin colesterol mostraron un incremento en la aterosclerosis de la mayoría de las arterias mayores, sin embargo el mecanismo que originó esto aún no está bien precisado (11,12).

También se ha estudiado la acumulación de colesterol en ratas vasectomizadas (13,14), apoyando la hipótesis de que la vasectomía puede iniciar cambios perjudiciales en el tejido arterial, pues en este caso la cantidad de colesterol total y esterificado aumenta significativamente.

También en ratas se ha observado que con la vasectomía se disminuye la concentración de proteína sérica. Esto se debe a la disminución de la albúmina y alpha-globulina (15).

En base a esto, en el humano se han estudiado los niveles de colesterol a diferentes tiempos después de la vasectomía, no encontrándose influencia alguna a los 2,3,6 y 12 meses, así como a los 10 años de vasectomizados (16,17,10). En otro estudio realizado la concentración sérica de colesterol disminuyó cerca de un 10% después de un año de la vasectomía, mientras que no hubo cambios significativos en los niveles séricos del colesterol

HDL y hubo una reducción de un 16% en la concentración del colesterol LDL (18), lo que hace suponer que la vasectomía no aumenta el índice de aterosclerosis.

Por otra parte no se han observado variaciones significativas en los valores promedio en suero de los ácidos grasos no esterificados y lípidos totales (17).

Los triacilglicéridos en suero también han sido medidos encontrándose que en algunos casos el nivel de estos aumenta levemente (18) y en otros no existe variación significativa (17).

Las lipoproteínas también han sido estudiadas y se ha visto que las lipoproteínas de alta densidad disminuyen poco (19) y las fracciones alpha, beta y pre-beta de estas no tienen cambio alguno después de un año (17).

Por otra parte no se ha encontrado relación entre enfermedades cardiovasculares y la vasectomía (20).

EFFECTOS DE LA VASECTOMIA EN EL SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO

TESTICULO

Algunos estudios han evaluado la función de las células de Leydig y células de Sertoli en hombres vasectomizados, concluyendo que no se altera la función de este tipo de células, pues aun cuando existe un aumento en las concentraciones de las hormonas luteinizante, foliculo estimulante y testosterona, estas elevaciones bioquímicas estuvieron dentro de los valores normales (21). Por otro lado tanto el volumen testicular como la espermatogénesis tampoco se afectaron (22). Sin embargo, se han

reportado anormalidades en biopsias testiculares en hombres vasectomizados. Los cambios son variables pero incluyen la degeneración del epitelio seminífero, pérdida de células germinales, dilatación de túbulos testiculares, engrosamiento de paredes tubulares y una fibrosis intersticial (23,24); además se ha visto que la vasectomía puede acelerar el crecimiento de tumores testiculares; sin embargo, no está claro el mecanismo por el cual se lleva esto a cabo, o bien si es una mera coincidencia (23).

Los estudios con animales, también han descrito cambios, por ejemplo, en los perros se presenta una depresión temporal de la espermatogénesis, la cual puede estar relacionada con un aumento en la presión intraluminal (25,26,27,28). En ratas Sprague Dawley se ha mostrado que existe una atrofia testicular a los 300 días después de la operación, pero no a los 100 días, además de existir un aumento en el peso testicular el cual se deduce como resultado de una acumulación de productos testiculares que están retenidos debido a la oclusión del conducto deferente (15). En ratas Lewis se observó que en los tractos genitales que poseían granulomas a los 3 y 4 meses de la vasectomía, tenían testículos normales, y todos aquellos que carecían de granulomas tenían testículos pequeños. Esta situación cambió a los 7 meses cuando se observaron testículos pequeños aún cuando los granulomas estaban presentes, los testículos pequeños tenían gran número de túbulos seminíferos alterados, con una depleción de células germinales, mientras que los testículos normales

tenían una estructura microscópica normal. Esta situación se interpretó de diferentes formas, por un lado la formación de granulomas podría tener un efecto protector del testículo, por lo menos durante los meses iniciales, proporcionando una salida para los espermatozoides; por el otro lado la ausencia de un granuloma podría seguir alteraciones dentro del testículo pues un testículo pequeño con la espermatogénesis disminuida podría no producir los suficientes espermatozoides que resultarían en la formación de un granuloma; sin embargo el efecto protector se deshechó después de los 4 meses desde que el peso testicular disminuyó entre los 4 y 7 meses después de la operación (29).

EPIDIDIMO

En un estudio realizado con hombres vasectomizados después de un año, se observó un alargamiento del epidídimo, el cual solo en un 39% de los pacientes regresó a su tamaño normal después de dos años de la vasectomía. Los demás pacientes permanecieron con sus epidídimos alargados y en algunos casos el tamaño era más del doble del tamaño inicial; además se observó la aparición de quistes dentro del cuerpo y cabeza del epidídimo (30).

Por otra parte se demostró en ratas la relación de alteraciones testiculares, principalmente la depleción de células germinales, con cambios intersticiales característicos de una respuesta inflamatoria en el epidídimo, además de que los animales con testículos alterados tuvieron un número disminuido de espermatozoides epididimarios mientras que las ratas sin

alteración testicular no mostraron cambios en el epididimo. Los detalles de esta relación no están bien definidos. Es posible que los cambios testiculares puedan surgir como consecuencia de una reacción inflamatoria y/o obstrucción en el sistema de conductos (31).

También en ratas se ha visto la ocurrencia de una hipertrofia epididimaria a los 300 días de vasectomizadas, localizada en el cuerpo del epididimo, y una tendencia similar, mas no significativa, se observó en la cola de este mismo. El peso del epididimo no varió después de la vasectomía a tiempos cortos(15).

En algunos casos tanto en humanos como en animales se presenta la epididimitis congestiva y los granulomas epididimarios (15,32).

GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS

En la mayoría de investigaciones la función glandular ha sido evaluada a través de la estimación de las concentraciones de sus productos de secreción en el eyaculado.

Se ha observado una disminución en el volumen del fluido seminal después de la vasectomía tanto en humanos como en monos (33,34,35) lo que indica una alteración en las funciones de la vesícula seminal y próstata ya que estas dos glándulas son las que contribuyen en mayor proporción a la formación del líquido seminal.

Los constituyentes del plasma seminal: maltasa, ácido cítrico, prolactina, Zn y Mg, disminuyen significativamente

después de la vasectomía y como se cree que estos constituyentes son de origen prostático se sugiere que la vasectomía en hombres disminuye la función secretoria de la próstata (34,36,37). En monos también se ha observado una disminución en el contenido de ácido cítrico y Mg llegándose a la misma conclusión (35); Por otra parte, una reducción marcada ha sido demostrada en el contenido de espermidina y espermina en el eyaculado, no así de su precursor putrescina la cual también es de origen prostático (34).

Todo esto sugiere que la vasectomía causa alteraciones en la función secretoria de la glándula prostática.

La fructosa es proporcionada principalmente por la vesícula seminal y se ha observado en monos, que la concentración no cambia (35). En humanos se ha visto que en ocasiones aumenta y en otras permanece igual (34,36,38,39). Este aumento se ha tratado de explicar sugiriendo que existe una utilización reducida de este azúcar en la ausencia de los espermatozoides (39).

Por otro lado, el peso de las vesículas seminales en ratas no se altera (15).

Sin embargo se dió el caso de un hombre que a las tres semanas de vasectomizado desarrolló un absceso en la vesícula seminal (40).

POLIAMINAS

El descubrimiento de la función de las poliaminas putrescina, espermidina y espermina en la regulación de diversos procesos tales como crecimiento celular, multiplicación y diferenciación, ha despertado gran interés por su estudio en diversas Áreas de la investigación. Estas moléculas, a semejanza de los Ácidos nucleicos, los aminoácidos y las proteínas, se encuentran distribuidas ampliamente en los sistemas vivientes, lo que quizá constituye un indicativo de que su presencia es esencial para la realización de los procesos básicos de la función celular.

La putrescina, espermidina y espermina constituyen el grupo de poliaminas que ha sido más estudiado, aunque existen otras aminas que han sido detectadas en varios sistemas biológicos.

Estas aminas, además de encontrarse en forma de bases alifáticas libres, pueden existir conjugadas con carbohidratos, esteroides, fosfolípidos y péptidos, también como unidades subestructurales dentro de numerosas familias de alcaloides.

Las poliaminas están ampliamente distribuidas en los sistemas biológicos, aunque las concentraciones relativas de putrescina, espermidina y espermina varían notablemente en células diferentes.

En general, los procariontes tienen más altas concentraciones de putrescina que de espermidina y carecen de espermina. Los eucariontes tienen generalmente bajas concentraciones de putrescina y tienen espermidina y espermina.

La putrescina es el precursor de la síntesis de la espermidina y la espermina; en las células animales esta diamina se obtienen de la ornitina, sin embargo, en las células vegetales superiores en bacterias y hongos, la putrescina puede obtenerse a partir de agmatina, que a su vez es producida por la descarboxilación de arginina (41).

Las células de los mamíferos contienen cantidades significativas de putrescina, espermidina y espermina y aunque su función fisiológica no está bien entendida, estudios recientes han mostrado que sus concentraciones están fuertemente reguladas y que el crecimiento celular normal, multiplicación y diferenciación requieren de estas moléculas. Existen datos que apoyan su papel en la biosíntesis y/o regulación del DNA, RNA y proteínas. También se ha demostrado que aumentan la eficiencia de varias reacciones biosintéticas durante el ciclo de la célula (42). En adición, varias hormonas aumentan la velocidad de la biosíntesis de las poliaminas en tejidos blanco específicos sugiriendo que las poliaminas pueden funcionar en parte como mediadores de la acción hormonal (43).

La mayoría de las enzimas que participan en la biosíntesis de estas aminas se localizan en el citosol. En los mamíferos la ornitina descarboxilasa (ODC) cataliza el paso inicial en la biosíntesis de poliaminas. Esta enzima transforma la ornitina a putrescina. Otra descarboxilasa, la S-adenosil-L-metionina descarboxilasa (SAM_D) y la espermina y espermidina sintetasa son también necesarias para la biosíntesis de poliaminas. (Fig.9).

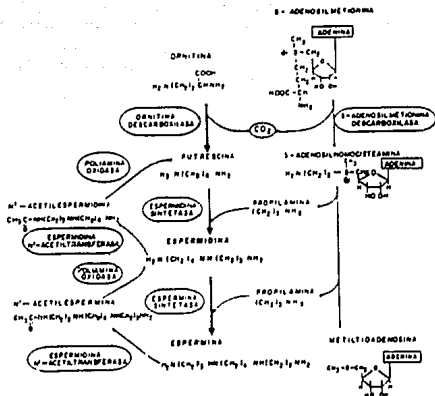


Figura 9. Biosíntesis de poliaminas y su interconversión en células de *má* mífero.

La ornitina está disponible para estas reacciones y puede ser formada dentro de la célula por la acción de la arginasa. Es posible que la arginasa, que juega un papel importante en el ciclo de la urea, esté presente en tejidos extrahepáticos para proporcionar la ornitina requerida para la síntesis de poliaminas. Por esta razón se cree que la arginasa puede ser una de las enzimas que regulan la fase inicial de la biosíntesis de poliaminas, además de su bien conocida función en el ciclo de la urea (Fig. 10) (41).

ARGINASA

La arginasa (L-arginina amidinohidrolasa, E.C. 3.5.3.1.) cuya existencia fue sospechada por Richet en 1894, fue descubierta por Kossel y Dakin en 1904. Esta enzima fue por primera vez detectada en el hígado de los mamíferos como la enzima terminal del ciclo de la urea.

La arginasa cataliza la hidrólisis de la L-arginina en L-ornitina y urea (Fig.11). La fuente más abundante de arginasa está representada por el hígado de los animales ureotéticos (animales en los que la urea constituye el último y principal producto del catabolismo proteínico), es decir, los mamíferos y los batracios.

De una manera general, está ausente en el hígado de los animales uricotéticos: reptiles (lagartos y serpientes), cuya excreción de nitrógeno proteínico, esencialmente, se hace bajo la formación de ácido úrico.

Entre las aves, casi ausentes de hígado, se la encuentra abundantemente en el riñón.

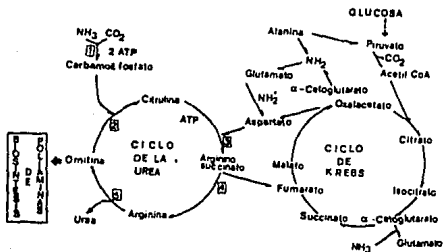


Figura 10. Interacciones entre el ciclo de la urea, el ciclo de Krebs y la biosíntesis de poliaminas. Las enzimas involucradas en el ciclo de la urea son:

1. Carbamoil fosfato sintetasa
2. Ornitina transcarbamilasa
3. Arginino succinato sintetasa
4. Arginino succinasa
5. Arginasa

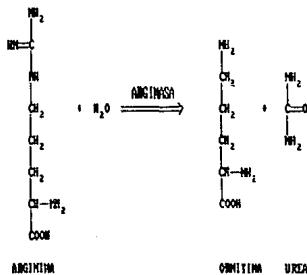


Figura 11. Reacción catalizada por la arginasa.

Los granos en germinación, las levaduras, ciertos mohos (*Neurospora crassa*) y bacterias contienen gran cantidad de arginasa.

En los animales, la arginasa existe en la fracción soluble del citoplasma y además, en las diversas estructuras celulares: mitocondrias, lisosomas, aparato de Golgi, y con grandes posibilidades de que también se encuentre en el núcleo de la célula (44).

PROPIEDADES DE LA ARGINASA

Su peso molecular es de 138,000, es estabilizada por los iones metálicos: manganeso, cobalto y níquel y es inhibida por el zinc al igual que por ciertos aminoácidos básicos como la lisina, ornitina, serina, etc..

El pH óptimo de acción está situado entre 9.8 y 10 en presencia de manganeso o cobalto, mientras que es de 8.5 a 9 en presencia de una mezcla de los dos iones.

La arginasa del hígado de carnero, caballo y cerdo, son idénticas, presentan tres grupos ionizados de pK respectivos: 8.2, 9.3, 10.3, que corresponden al sitio activo de la enzima.

La arginasa se coloca entre las enzimas cuya actividad está ligada a la presencia de un constituyente metálico unido en una combinación reversible. Todas las preparaciones de arginasa conservan el manganeso, incluso después de haber sufrido un proceso de purificación.

Aunque el cobalto, y a una escala menor, el níquel y el hierro sean activos, en el hígado es el manganeso el que

representa el activador natural de la arginasa. La activación puede simbolizarse:



Fuera de la arginina la arginasa actúa sobre la canavanina, de forma moderada sobre la cupleina (protamina de Barenj) y la monobenzoil-arginina. No ataca a la dibenzoil-arginina, al ester metílico de la arginina, al ácido guanidín acético (glicociamina), a la creatina y a la creatinina (44).

POLIAMINAS Y REPRODUCCION

En las mujeres se ha estudiado el metabolismo de poliaminas durante el ciclo menstrual normal, sangre materna, orina, placenta, y líquido amniótico en procesos de gestación normales, así como en aborto espontáneo y preeclampsia (42).

En el sistema reproductor masculino la presencia de poliaminas ha llamado la atención de muchos investigadores, que han estudiado particularmente el metabolismo de estas moléculas en la próstata, semen y testículo.

En el testículo se ha observado que existe una elevada actividad de la poliamina oxidasa ($339 \pm 80 \text{ nmol/g. peso húmedo por } 30 \text{ minutos}$), la cual puede relacionarse con la espermatogénesis (42).

En el hombre y en otros mamíferos, la espermina seminal se deriva de la glándula prostática. Los lóbulos ventral y dorsolateral de esta glándula en la rata, sintetizan, secretan y

además son depósitos de grandes cantidades de espermidina y espermina más no de putrescina (42).

Las enzimas involucradas en la biosíntesis de poliaminas como la ODC, SAMD, la espermidina sintasa y la espermina sintasa han sido purificadas de la próstata de rata y en algunos casos de la próstata humana, particularmente la SAMD (42).

Por otra parte, los fluidos producidos por la vesícula seminal, las glándulas coagulantes, testículo y epidídimo contienen solo trazas de poliaminas en comparación con la secreción prostática (43).

Los niveles de las descarboxilasas biosintéticas de poliaminas en la vesícula seminal de la rata son una décima parte de la actividad de estas enzimas en la próstata ventral; además, como se mencionó anteriormente, la secreción de estas glándulas vesiculares está virtualmente libre de poliaminas (43).

Por otra parte la actividad de la ODC es muy baja en las glándulas coagulantes, las cuales tampoco secretan espermidina y espermina (43).

En cuanto al semen humano normal, este contiene espermina en concentraciones de 5 a 10 mM y cantidades más pequeñas de espermidina están presentes en el fluido seminal humano, el cual también contiene pequeñas pero detectables cantidades de putrescina y 1-3 diaminopropano (42).

Por otro lado, la actividad de arginasa ha sido estudiada en diferentes glándulas y procesos reproductivos.

Se ha determinado la presencia de esta enzima en la glándula

mamaria y el aumento en su actividad durante la lactancia. Incluso esta actividad es mas alta que aquella presente en cualquiera de los tejidos de rata, excepto del hígado.

La ocurrencia del ciclo de la urea en esta glándula puede ser excluida debido a la ausencia de otras enzimas que participan en este ciclo. Estudios recientes han sugerido que esta enzima esta relacionada con la formación de prolina, en conjunto con la ornitina aminotransferasa para la síntesis aumentada de la proteína de la leche (45). La actividad de esta última enzima aumenta en forma paralela con la arginasa alcanzando valores cercanos a la mitad de la actividad presente en el hígado. El producto de la reacción de la ornitina aminotransferasa, el glutamato gamma-semialdehído, es el precursor inmediato de la prolina. Las actividades asociadas y relativamente elevadas de estas dos enzimas proporcionan bases apropiadas para la conversión de arginina en prolina que aumenta paralelamente con la síntesis de las proteínas de la leche. La gamma transaminación de la ornitina podría conservar el nitrógeno en la forma de glutamato para usarlo en la síntesis de otros aminoácidos que pueden ser requeridos por la glándula.

Otra función posible de la arginasa en la glándula mamaria es su participación en la biosíntesis de espermidina. Esta posibilidad aparece particularmente interesante pues la concentración de espermidina aumenta marcadamente en esta glándula, así como las actividades de la ODC y SAMD; más aún la espermidina, junto con la insulina y la prolactina produce un

aumento marcado en la síntesis de la leche, de ahí que en base a esto se hayan realizado estudios recientes que sugieren que la arginasa participa en la síntesis de la proteína de la leche aportando la ornitina para la formación de espermidina (46).

Por otra parte, la actividad de arginasa en la próstata ventral de ratas normales ha sido comparada con la de ratas castradas, además de observar la influencia de la testosterona sobre esta enzima (47), encontrándose que la actividad de la arginasa disminuye con la castración en la próstata ventral. En cuanto a la influencia de la testosterona se ha observado que la arginasa se incrementa con la administración de esta hormona en las ratas castradas. Este aumento parece contribuir a la biosíntesis de espermidina, pues existe un aumento rápido de esta síntesis después de la administración de testosterona en ratas castradas.

El efecto de la testosterona y otros esteroides sobre la arginasa y fosfatasa también ha sido medido en diferentes órganos, principalmente el riñón, de diferentes especies animales (48,49,51,52,53) demostrando que existe una influencia de estos esteroides sobre estas enzimas.

La actividad de arginasa en el hígado, riñón, intestino delgado y estómago en ratas preñadas y lactantes ha sido medida (54), observándose que al final de la preñez así como en el destete existe un incremento en su actividad que no es reflejado en los niveles de urea circulantes.

OBJETIVO:

Determinar la actividad de arginasa en glándulas sexuales accesorias en ratas vasectomizadas a diferentes tiempos después de la cirugía.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL BIOLOGICO

Se emplearon ratas de la cepa Long-Evans con peso entre 300 y 350g..

MATERIAL QUIMICO

Se utilizaron los reactivos y equipo necesarios para las siguientes determinaciones: Actividad de arginasa, proteínas, peso seco, glucosa, triacilglicéridos y fosfatasa alcalina.

METODO:

Las ratas se dividieron en 4 grupos:

- 1) Control
- 2) Vasectomizadas 96 Hrs.
- 3) Vasectomizadas 30 Días
- 4) Vasectomizadas 60 Días

La técnica de vasectomía utilizada, fue aquella en la que se divide el conducto deferente ligando las terminaciones (5). La cirugía se llevó a cabo bajo anestesia general (Droperidol 0.35ml. y Ketalar 0.4ml.), realizando incisiones bilaterales.

A los cuatro grupos se les hicieron determinaciones de glucosa, triacilglicéridos, proteínas, actividad de arginasa y fosfatasa alcalina en suero sanguíneo. También se hicieron determinaciones de actividad de arginasa, proteínas y peso seco

en cada una de las glándulas sexuales accesorias. El proceso se realizó de la siguiente manera: Cada glándula se colocó en solución salina al 0.9% con el fin de eliminar coágulos y tejido conectivo. Posteriormente se procedió a eliminar el tejido graso presente y dejar de esta forma la glándula limpia. Una vez realizado lo anterior se colocó la glándula sobre papel filtro para eliminar el exceso de agua y se pesó.

El tejido se homogeneizó en solución salina al 0.9% y el homogeneizado resultante se dividió en las fracciones necesarias para llevar a cabo las diferentes determinaciones bioquímicas (Fig.12).

En el caso de la sangre, esta se centrifugó a 3000 rpm para obtener el suero y con este realizar las determinaciones descritas (Fig.12).

DETERMINACIONES BIOQUIMICAS:

- a) Determinación de glucosa en suero: Método de GOD-PAP Prueba enzimática colorimétrica, Cat. No. 1072 796, Farmacéuticos Lakeside S.A. de C.V..
- b) Determinación de Triacilglicéridos: Reactivo EXPRESS GPO de Triacilglicéridos, Cat. No. E32441, Ciba Corning Diagnostics Corporation.
- c) Determinación Colorimétrica de Fosfatasa Alcalina por el método de Bessey-Lowry-Brock, Lote No. 144, Instituto Mexicano del Seguro Social.
- d) Determinación de Arginasa (55).
- e) Determinación de Proteínas (56).
- f) Determinación de Peso Seco (57).

* Todas las técnicas se describen en el apéndice.

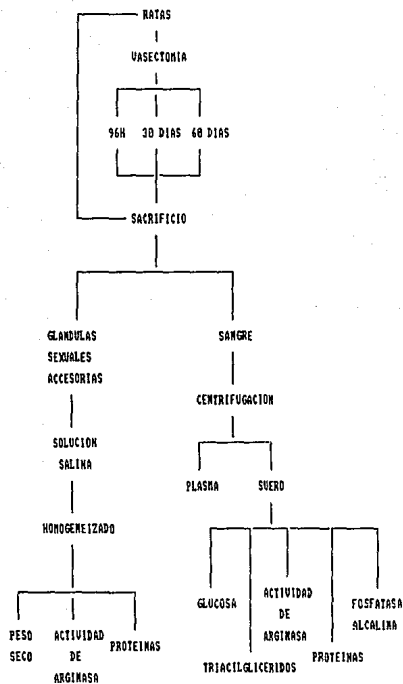


Figura 12. Determinaciones en tejido glandular y sangre

RESULTADOS

En la tabla 2 se presentan los resultados de las determinaciones bioquímicas realizadas en suero sanguíneo. La actividad de arginasa, el contenido de proteínas y el contenido de peso seco en glándulas sexuales accesorias se muestran en las tablas 3, 4 y 5 respectivamente.

La representación gráfica de los resultados obtenidos se presentan de la figura 13 a la figura 35.

TABLE 2. DETERMINACIONES BIOQUIMICAS REALIZADAS EN SUERO SANGUINEO DE RATAS NORMALES Y VASECTOMIZADAS

	Control (n = 5)	96 Horas (n = 5)	30 Dias (n = 5)	60 Dias (n = 5)
Glucosa (mg. glucosa/dl)	131.8688 ± 7.104	164.7124 ± 7.187 [#]	219.3558 ± 16.194 [#]	231.7771 ± 14.267 [#]
Triacilglicéridos (mg. Triacilg./dl)	44.4894 ± 3.554	36.7349 ± 0.485	19.4736 ± 1.724 [#]	28.8293 ± 7.454 [#]
Proteínas (g. Prot. / 100 ml)	0.3838 ± 0.268	5.2864 ± 0.295 [#]	5.5538 ± 0.384 [#]	6.5875 ± 0.598 [#]
Arginasa (µmoles Urea/mg. Prot/min)	0.8112 ± 0.0081	0.8158 ± 0.0029	0.8106 ± 0.0011	0.8137 ± 0.0041
Fosfatasa Alcalina (Unidades de Fosfatasa Alcalina)	4.8618 ± 0.626	4.4685 ± 0.643	4.921 ± 0.881	6.239 ± 9.493 [#]

[#]Diferencia significativa con el control. P<0.005. Segun Prueba de Diferencia Significativa Honesta (DSH) de Tukey.

**TABLA 3. ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS SEXUALES
 ACCESORIAS DE RATAS NORMALES Y VASECTOMIZADAS**
 (pmoles urea/mg. prot./min.)

	Control (n = 5)	96 Horas (n = 5)	30 Dias (n = 5)	60 Dias (n = 5)
Vesícula Seminal	0.1218 ± 0.013	0.1332 ± 0.021	0.1421 ± 0.023	0.1440 ± 0.016
Glándulas Coagulantes	0.5660 ± 0.016	1.3047 ± 0.320 ^N	0.7791 ± 0.155	1.4314 ± 0.240 ^N
Próstata	0.4301 ± 0.020	0.6090 ± 0.204	0.3545 ± 0.070	0.5409 ± 0.112
Glándulas Ampulares	0.7236 ± 0.031	0.3102 ± 0.078 ^N	0.372 ± 0.066 ^N	0.3701 ± 0.044 ^N
Glándulas Prepucales	0.473 ± 0.043	0.0913 ± 0.175 ^N	0.4607 ± 0.107	0.5401 ± 0.126
Glándulas Bulbouretrales	0.6312 ± 0.014	1.61 ± 0.310 ^N	1.4597 ± 0.221 ^N	1.4320 ± 0.257 ^N

^NDiferencia significativa con el control. P < 0.005. Según Prueba de Diferencia Significativa Honesta (DSH) de Tukey.

TABLA 4. PROTEINAS EN GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS
DE RATAS NORMALES Y VASECTOMIZADAS
(mg. proteinas/mg. peso seco)

	Control (n = 5)	96 Horas (n = 5)	30 Dias (n = 5)	60 Dias (n = 5)
Vesícula Seminal	0.834 ± 0.0378	1.1068 ± 0.1587 [*]	0.8827 ± 0.0938	0.8754 ± 0.0534
Glándulas Coagulantes	0.3186 ± 0.0368	0.3944 ± 0.0555	0.3943 ± 0.1093	0.5899 ± 0.1081 [*]
Próstata	0.3738 ± 0.0218	0.4419 ± 0.0283	0.3436 ± 0.2798	0.4331 ± 0.0748
Glándulas Ampulares	0.6134 ± 0.0438	0.5062 ± 0.0225 [*]	0.3991 ± 0.0389 [*]	0.5893 ± 0.0515
Glándulas Prepucales	0.3778 ± 0.0147	0.2236 ± 0.0355 [*]	0.2814 ± 0.0484 [*]	0.3326 ± 0.0338
Glándulas Bulbouretrales	0.5488 ± 0.0237	0.3257 ± 0.0242 [*]	0.2784 ± 0.0428 [*]	0.2747 ± 0.0566 [*]

* Diferencia Significativa con el control, $P < 0.005$. Segun Prueba de Diferencia Significativa Honesta (DSH) de Tukey.

TABLA 5. PESO SECO EN GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS
 DE RATAS NORMALES Y VASECTOMIZADAS
 (mg. peso seco/mg. peso humedo)

	Control (n = 5)	96 Horas (n = 5)	30 Días (n = 5)	60 Días (n = 5)
Vesícula Seminal	0.1576 ± 0.0072	0.1345 ± 0.0111 ^a	0.1337 ± 0.0068 ^a	0.1363 ± 0.0142 ^a
Glándulas Coagulantes	0.1772 ± 0.0225	0.1511 ± 0.0339	0.2023 ± 0.0505	0.1665 ± 0.0104
Próstata	0.1578 ± 0.0273	0.1402 ± 0.0397	0.1317 ± 0.0137	0.1425 ± 0.0291
Glándulas Ampulares	0.1677 ± 0.0201	0.1296 ± 0.0111	0.1647 ± 0.0301	0.1474 ± 0.0060
Glándulas Prepucales	0.244 ± 0.011	0.2452 ± 0.0519 ^a	0.2352 ± 0.0214 ^a	0.2252 ± 0.0472 ^a
Glándulas Bulbouretrales	0.1668 ± 0.0126	0.1892 ± 0.0108	0.1918 ± 0.0410	0.1649 ± 0.0441

^aDiferencia Significativa con el control, P < 0.005. Segun Prueba de Diferencia Significativa Honesta (DSH) de Tukey.

GLUCOSA EN SUERO

mg glucosa/dl

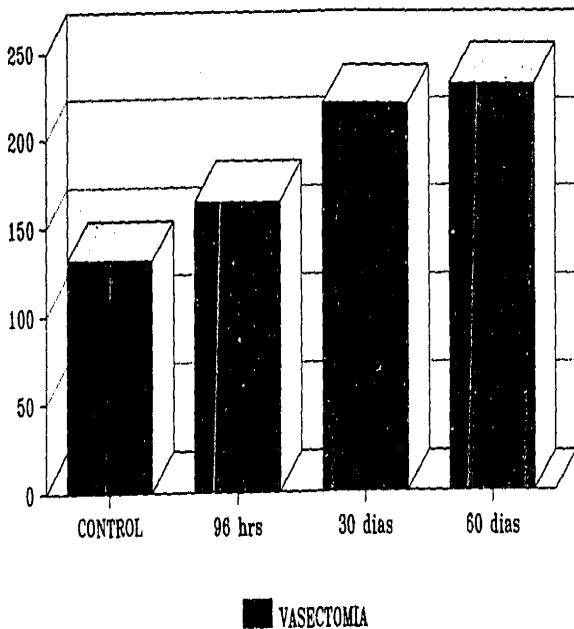


Figura 13

TRIACILGLICERIDOS EN SUERO

mg triacilgliceridos/dl

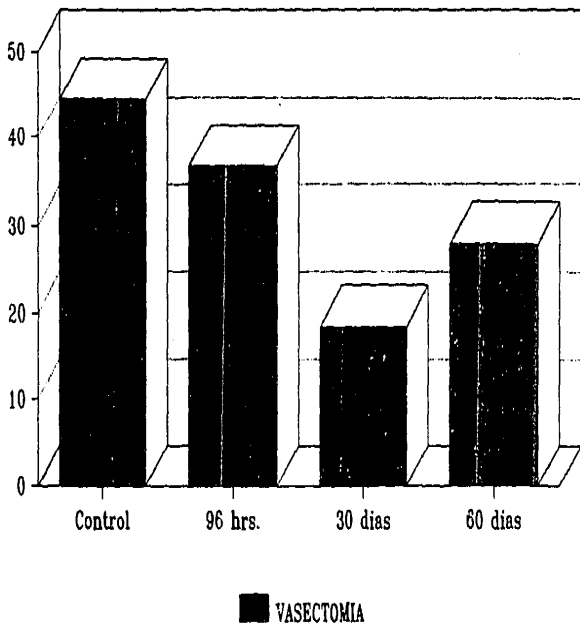
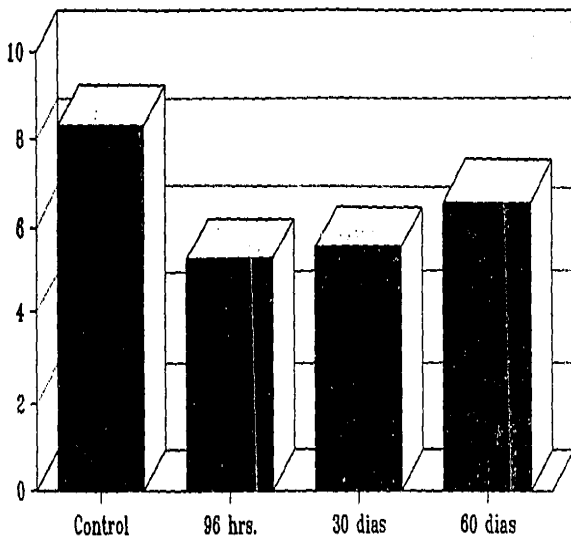


Figura 14

PROTEINAS EN SUERO

g prot./100 ml



■ VASECTOMIA

Figura 15

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN SUERO

umoles urea/mg prot./min

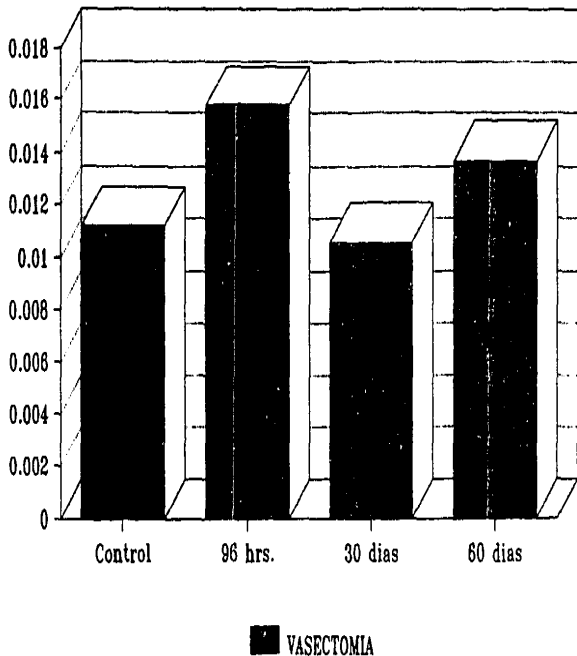


Figura 16

FOSFATASA ALCALINA EN SUERO

Unidades de fosfatasa alcalina

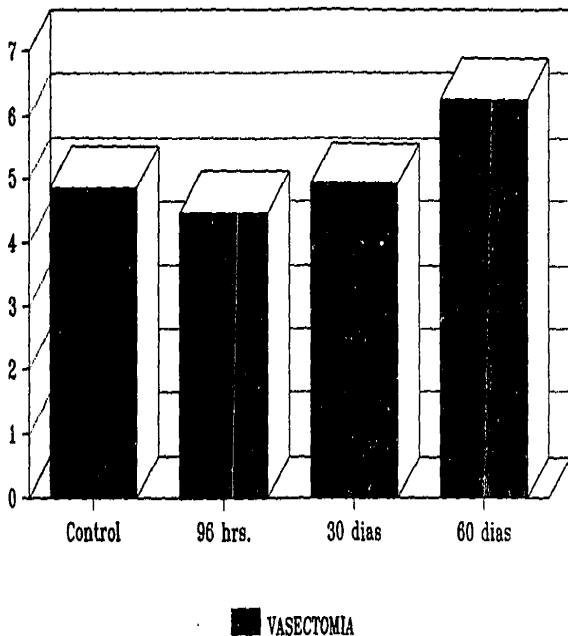
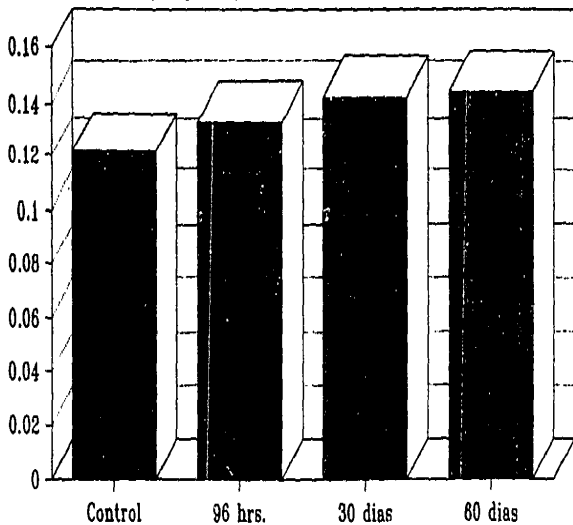


Figura 17

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN VESICULA SEMINAL

umol urea/ mg prot./min

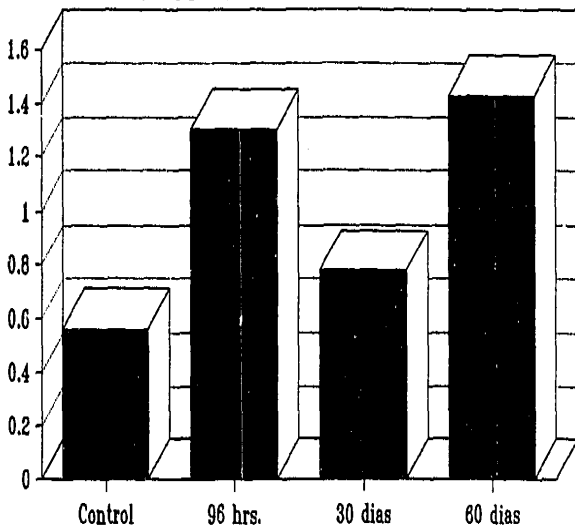


■ VASECTOMIA

Figura 18

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULA COAGULANTE

umol urea/ mg prot./min

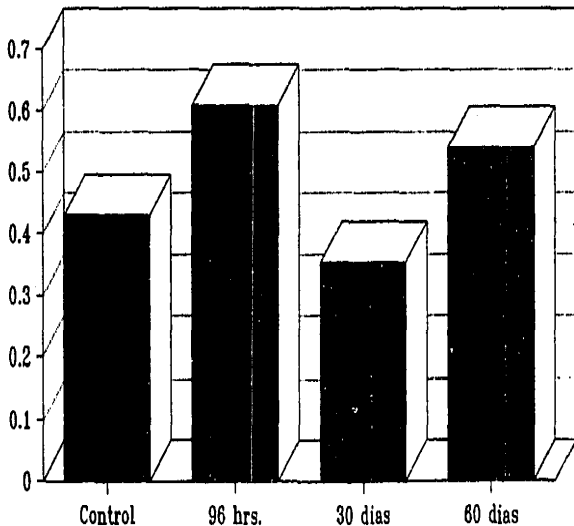


■ VASECTOMIA

Figura 19

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN PROSTATA

umol urea/ mg prot./min



■ VASECTOMIA

Figura 20

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULA AMPULAR

umol urea/ mg prot./min

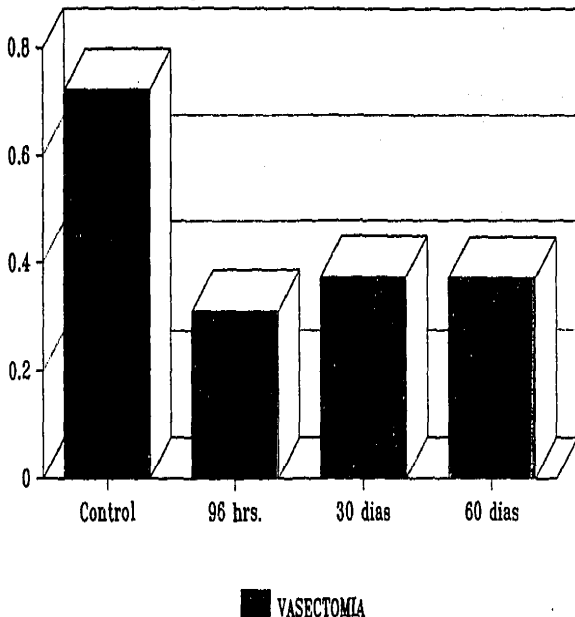


Figura 21

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULA PREPUCIAL

umol urea/ mg prot./min

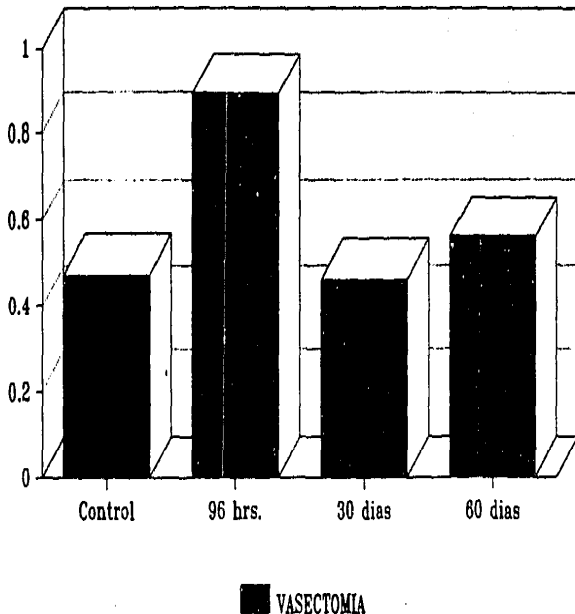


Figura 22

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULA BULBOURETRAL

umol urea/ mg prot./min

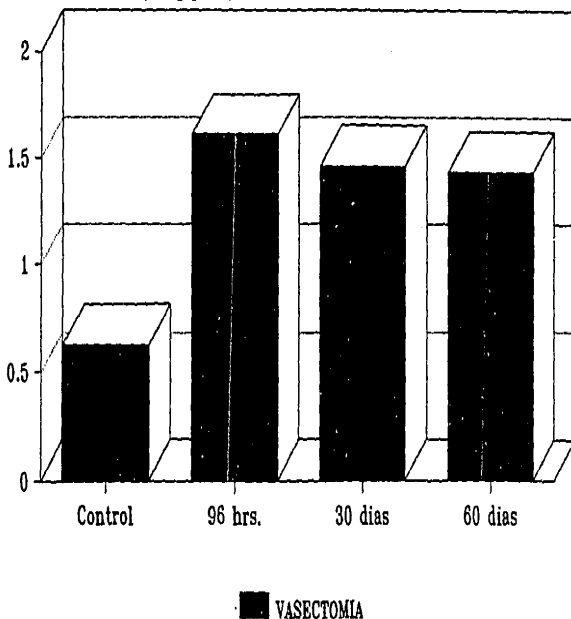


Figura 23

PROTEINAS EN VESICULA SEMINAL

mg.proteinas/mg. peso seco

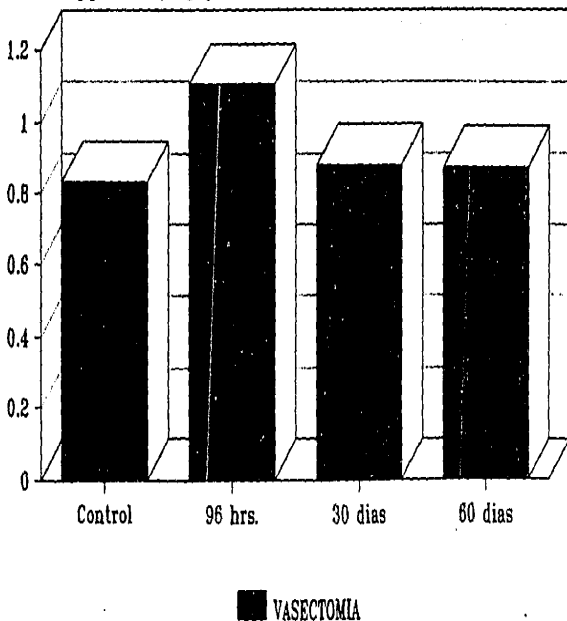


Figura 24

PROTEINAS EN GLANDULA COAGULANTE

mg.proteinas/mg. peso seco

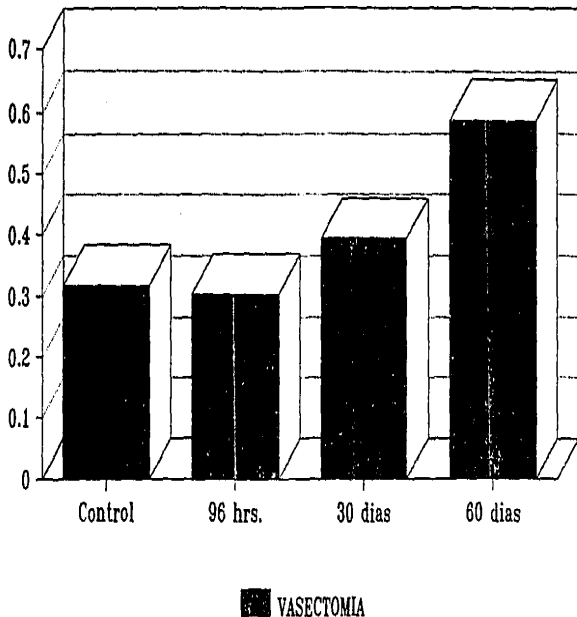


Figura 25

PROTEINAS EN GLANDULA AMPULAR

mg.proteinas/mg. peso seco

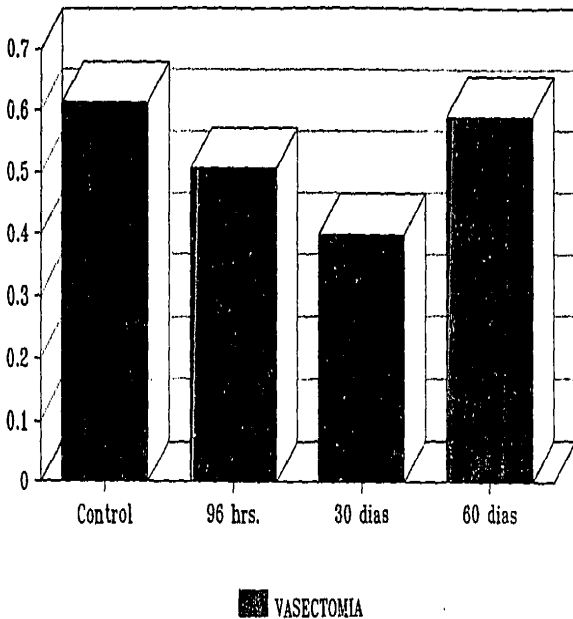


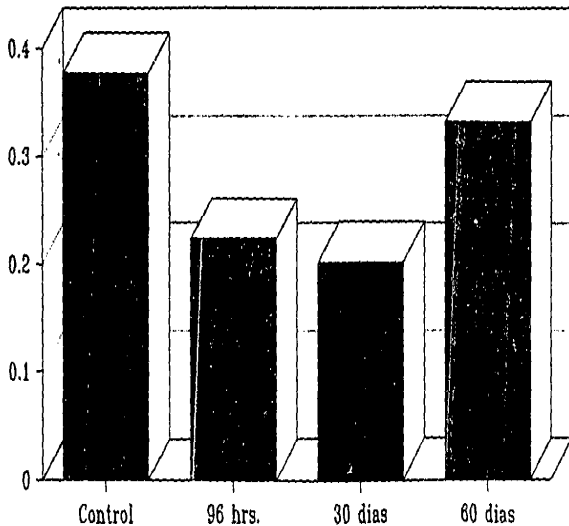
Figura 27

ESTAS TESIS
NO DEBEN
SALIR DE LA
BIBLIOTECA

12

PROTEINAS EN GLANDULA PREPUCLAL

mg.proteinas/mg. peso seco

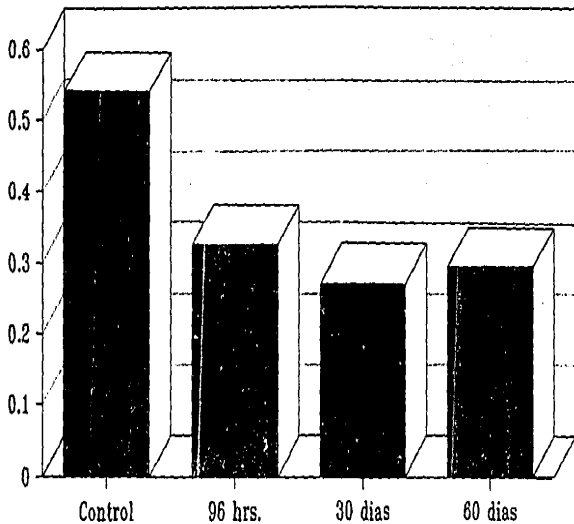


■ VASECTOMIA

Figura 28

PROTEINAS EN GLANDULA BULBOURETRAL

mg.proteinas/mg. peso seco



■ VASECTOMIA

Figura 29

PESO SECO EN VESICULA SEMINAL

mg. peso seco/mg. peso humedo

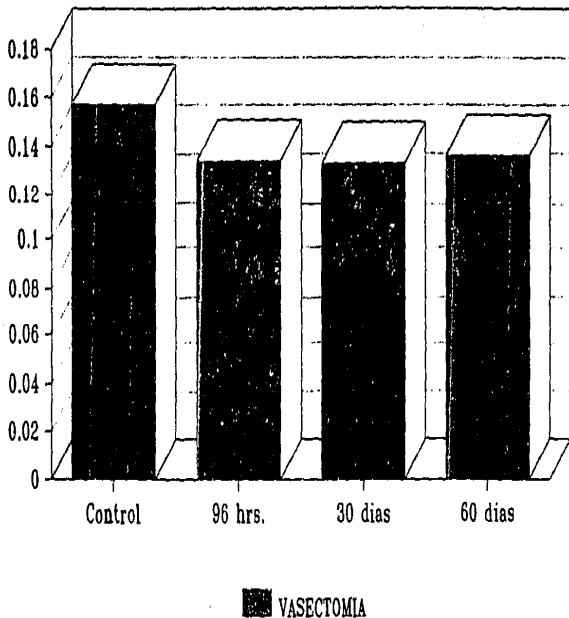


Figura 30

PESO SECO EN GLANDULA COAGULANTE

mg. peso seco/mg. peso humedo

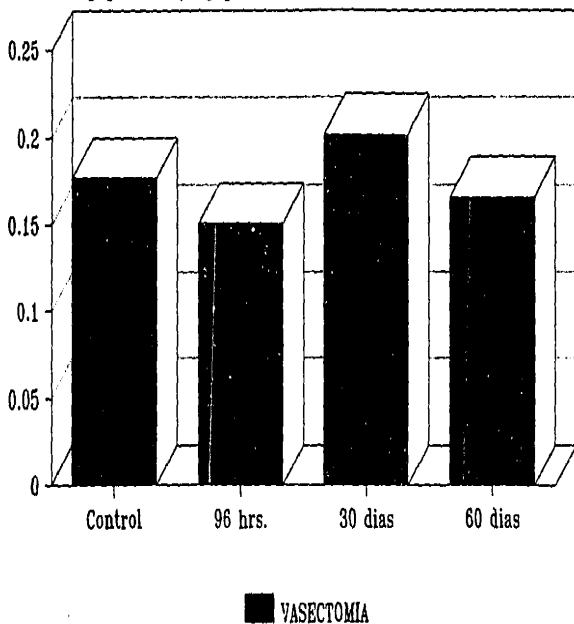


Figura 31

PROTEINAS EN PROSTATA

mg.proteinas/mg. peso seco

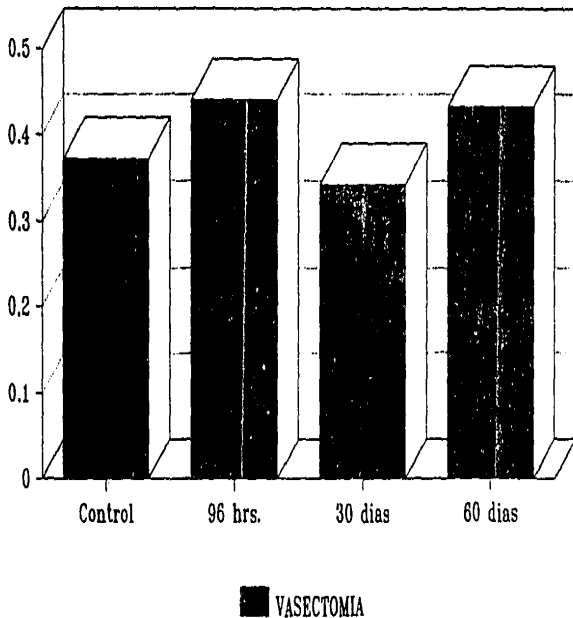


Figura 26

PESO SECO EN PROSTATA

mg. peso seco/mg. peso humedo

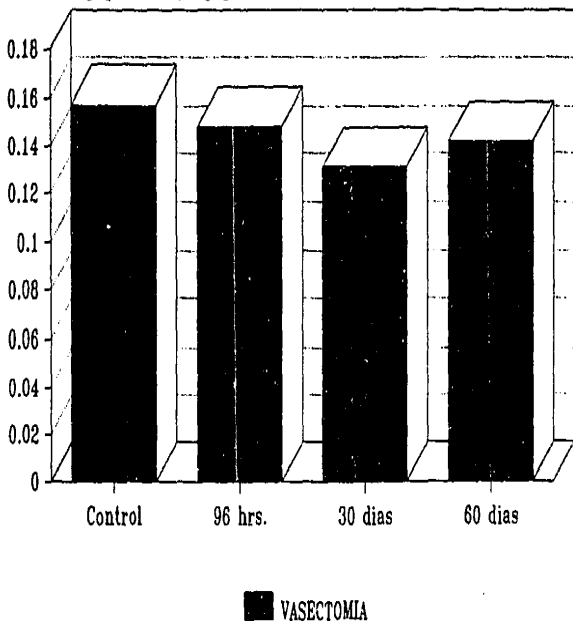


Figura 32

PESO SECO EN GLANDULA AMPULAR

mg. peso seco/mg. peso humedo

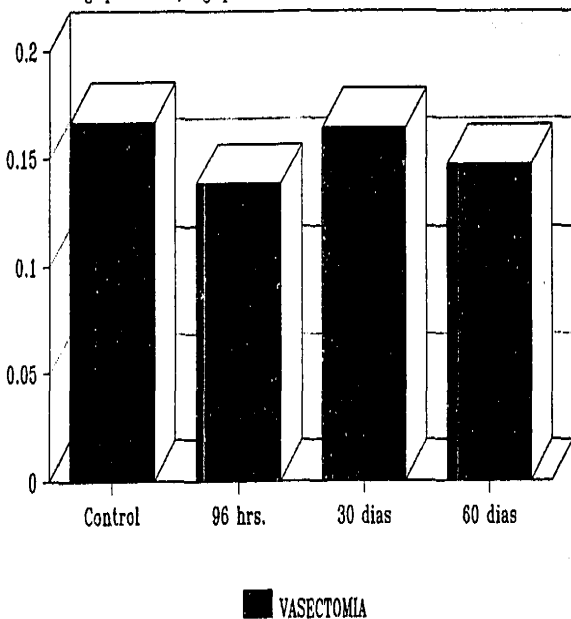


Figura 33

PESO SECO EN GLANDULA PREPUCIAL

mg. peso seco/mg. peso humedo

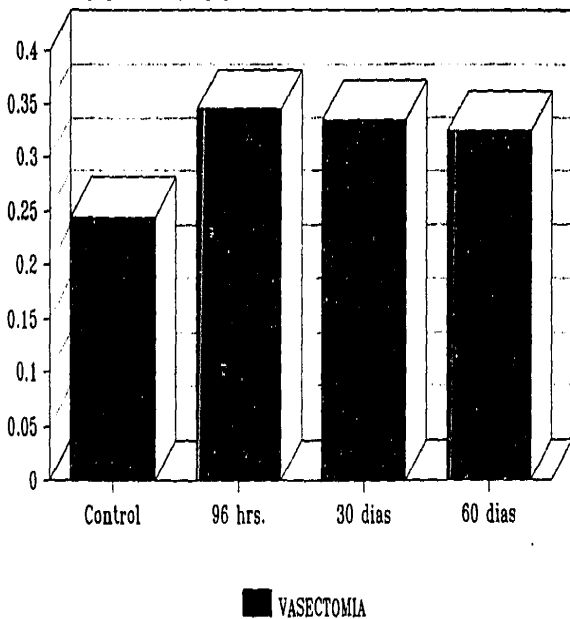


Figura 34

PESO SECO EN GLANDULA BULBOURETRAL

mg. peso seco/mg. peso humedo

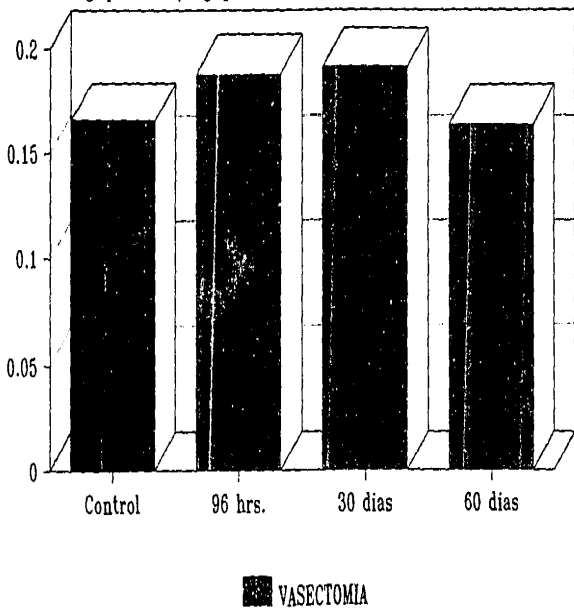


Figura 35

DISCUSION DE RESULTADOS

GLUCOSA

Se observó un aumento gradual en la concentración de glucosa en el suero sanguíneo, desde las 96 horas hasta los 60 días post-vasectomía. Al contrario de lo reportado en la bibliografía (10), en este estudio sí se observó un cambio significativo en la concentración de glucosa en el suero (tabla 2), pudiera tratarse de un desajuste en la función pancreática causada por alteraciones en la función testicular y consecuentes cambios en los niveles hormonales. Esto puede dar idea de que este tipo de operación podría no ser recomendable para personas con tendencia a presentar problemas con el metabolismo de carbohidratos, particularmente aquellas personas con predisposición a la diabetes, pues aunque se ha demostrado que aun después de 10 años de realizada la cirugía (10) no se han presentado cambios en la concentración de este azúcar en el suero, es posible que a tiempos mayores se puedan presentar este tipo de alteraciones.

TRIACILGLICERIDOS

La concentración de triacilglicéridos disminuyó a los 30 y 60 días después de la vasectomía.

Podría pensarse que al no haber una utilización de glucosa normal por las células, estas podrían utilizar a los triacilglicéridos para obtener su energía de ahí que el nivel de

estos disminuya.

También se pudiera pensar que en lugar de disminuir su concentración en suero ésta aumentara, pues están pasando del tejido adiposo al torrente sanguíneo para distribuirse por todas las células del cuerpo. Sin embargo la explicación a esto puede ser que estos triacilglicéridos se depositen en el hígado y que este órgano utilice los ácidos grasos que vienen con los triacilglicéridos para la formación de fosfolípidos y colesterol, dos de los principales productos del metabolismo de las grasas. Estas dos sustancias junto con algunos triacilglicéridos formados por el hígado pasan después a la sangre dando una concentración mayor de lípidos que la normal. Este valor elevado de lípidos, en especial de colesterol, conduce a un rápido desarrollo de aterosclerosis, estado físico que se ha encontrado en especies de monos y ratas vasectomizadas (11,12,13,14) con mucha frecuencia.

PROTEINAS

Cuando los tejidos experimentan un agotamiento de las proteínas, aquellas que se encuentran en el plasma pueden restituirlas con rapidez, pues estas proteínas proporcionan los aminoácidos necesarios para que las células corporales elaboren las proteínas requeridas. De esta manera, las proteínas plasmáticas funcionan como medio de almacenamiento lábil de proteínas y representan un sitio de rápida disponibilidad de aminoácidos en todos los casos en que lo requiera un tejido en

particular.

Como se observa en los resultados existe una disminución en las proteínas del plasma, lo que nos conduce a pensar que están siendo utilizadas por ciertos tejidos, en este caso particular por las glándulas sexuales accesorias, es decir, al no haber un suministro normal de testosterona, vía conducto deferente, hacia las glándulas sexuales accesorias, estas podrían empezar a atrofiarse o sufrir una degeneración lo que originaría que estas glándulas estén utilizando una cantidad importante de proteínas plasmáticas para regenerar su tejido, de aquí que el nivel de proteínas en plasma disminuya.

Por otro lado, se podría pensar que esta disminución es debida a que gran parte de las globulinas presentes en el suero estén participando en reacciones de tipo inmunológico, lo que es muy posible pues con la vasectomía se dan muchas reacciones de este tipo en la formación de granulomas y de anticuerpos contra espermatozoides.

Por otra parte, la testosterona aumenta el depósito de proteínas en tejidos (58). Al no haber un aporte normal de testosterona, el depósito en tejidos se ve afectado, de forma que el tejido toma las proteínas que necesita del plasma.

Esta disminución de proteínas en suero también se ha observado en otros estudios realizados en ratas (15).

ARGINASA EN SUERO

La arginasa sérica es una enzima de origen hepático que puede

utilizarse como indicador de enfermedades del hígado (59) pues su actividad sérica aumenta cuando existen lesiones hepáticas aún mínimas, pues basta que existan alteraciones ultramicroscópicas de la membrana celular para que se detecten ascensos en la actividad de esta enzima.

En este caso no se observó un aumento o disminución en suero de la actividad de arginasa por lo que se podría pensar que no existe alteración hepática alguna.

POSFATASA ALCALINA

Los niveles séricos de esta enzima nos puede indicar la existencia de varias enfermedades del hígado así como de los huesos (59,60). Cuando existe un aumento en la actividad de esta enzima se puede pensar que existen indicios de una ictericia obstructiva, hepatitis tóxica, parenquima hepático, osteitis deformante ó carcinoma oseo.

En este trabajo solo se observó un aumento a los 60 días después de la vasectomía, sin embargo, para poder establecer un resultado determinante en cuanto a la existencia de un daño hepático u oseo se deben realizar estudios de la función hepática y osea del animal.

ACTIVIDAD DE ARGINASA EN TEJIDO

Al analizar los resultados obtenidos se puede decir que cada glándula funciona y reacciona de diferente manera.

En el caso de la vesícula seminal, se observa una disminución

en cuanto al contenido de materia orgánica presente en la glándula después de la vasectomía; posiblemente, esto se deba a una disminución en la cantidad de fructosa que produce esta glándula, pues como se mencionó anteriormente, este es el principal producto de la secreción de esta glándula. Además, esto puede tener bases, pues en estudios realizados anteriormente se ha visto que con la vasectomía el volumen del fluido seminal disminuye lo que puede indicar una alteración en la vesícula seminal, pues es una de las glándulas que contribuyen en mayor proporción a la formación de este fluido.

La explicación a este hecho puede ser que al no haber un flujo normal de espermatozoides, la glándula no produzca la misma cantidad de fructosa, de ahí que disminuya la producción de este azúcar, además la cantidad de este azúcar es regulada por las hormonas androgénicas, de modo que al no haber un aporte normal de estas hormonas a la glándula, vía conducto deferente, la síntesis de sus productos puede verse alterada, principalmente la síntesis de este carbohidrato.

Ahora bien, el aumento en el contenido de proteínas que se observa a las 96 hrs. después de la vasectomía, puede deberse al desequilibrio que pueda originar la cirugía, pues a los 30 y 60 días posteriores, la cantidad de estas moléculas vuelve a ser normal con respecto al control.

En cuanto a la actividad de arginasa en este tejido, esta no se ve alterada y se puede pensar que esta enzima no contribuye en la síntesis de proteínas, como ha sido reportado para otros

sistemas (45), pues si esta enzima participara en ello debería haber un aumento en su actividad a las 96 hrs..

En el caso de las glándulas coagulantes se observa un aumento significativo en la actividad de arginasa a las 96 hrs. y 60 días después de la operación. El primer aumento puede ser debido al desequilibrio causado por la cirugía, ya que después de este aumento, la actividad tiende a sus valores normales, sin embargo, a los 60 días vuelve a aumentar, lo que coincide también con un aumento en la concentración de proteínas al mismo tiempo. Aquí, la arginasa podría estar involucrada con la síntesis de prolina como se mencionó que puede ocurrir (45) y de esta forma contribuir a la formación de proteínas.

Por otra parte no se observa ningún efecto sobre la glándula prostática en ninguno de los parámetros estudiados. Este resultado es algo sorprendente, pues es precisamente en esta glándula donde la actividad de arginasa podría haber experimentado algún efecto, pues como se sabe la próstata es la glándula que proporciona la mayor cantidad de poliaminas, y la biosíntesis de estas moléculas se relaciona con la arginasa, sin embargo, no existe aparentemente ningún efecto.

En la glándula ampular se ve una disminución muy marcada en la actividad de arginasa en los tiempos estudiados después de la operación. Basándonos en algunos experimentos anteriores (47) podría pensarse que esta disminución se deba a la falta de una cantidad normal de testosterona. A la vez también se observa una disminución en el contenido proteico, lo que nos orilla a

pensar que posiblemente en esta glándula si exista una relación entre la actividad de arginasa y la síntesis de proteínas.

Ahora bien, al existir una disminución en la síntesis de proteínas en el tejido, posiblemente este tejido esté utilizando las proteínas del plasma para compensar de algún modo esta falta lo que explicaría la disminución en la concentración de proteínas plasmáticas.

Por otro lado las glándulas prepuciales también sufren un aumento en la actividad de arginasa a las 96 hrs. producto del desequilibrio inicial que existe, pero es poco probable que se relacione con la síntesis de proteínas, pues estas en vez de aumentar disminuyen. En cuanto al aumento de materia orgánica que se observó este podría deberse a la síntesis aumentada de alguno de sus productos de secreción.

Definitivamente, la glándula que tiene un efecto más pronunciado con la vasectomía parece ser la glándula bulbouretral, pues aquí existe una disminución marcada en cuanto a la cantidad de proteínas y un aumento excesivo en la actividad de arginasa. Se podría pensar que puede existir una degeneración tisular, pues de hecho la cantidad de proteínas disminuyen cuando existe esta situación; además, en una situación así, la arginasa aumentaría su actividad para proporcionar la ornitina necesaria para la síntesis de poliaminas, las cuales se relacionan con el restablecimiento de tejido cuando existe un caso de atrofia tisular. De modo que en base a esto se podría pensar en una posible degeneración de esta glándula .

CONCLUSIONES

1. La concentración de glucosa en suero sanguíneo aumenta marcadamente después de realizada la vasectomía. Esto sugiere que posiblemente la vasectomía no sea adecuada para personas que tienden a presentar problemas con el metabolismo de carbohidratos, particularmente aquellas personas con predisposición a la diabetes.
2. La disminución en la concentración de triacilglicéridos en el suero sanguíneo, se debe posiblemente a la conversión de éstos en fosfolípidos y colesterol, lo que pudiera incrementar el riesgo de aparición de enfermedad aterosclerótica.
3. Con la vasectomía, las proteínas plasmáticas pueden estar restituyendo a las proteínas que estén agotadas en algunas de las glándulas sexuales accesorias, o bien, posiblemente en el páncreas.
4. De acuerdo con los resultados de la arginasa y fosfatasa alcalina en suero, no existe daño hepático alguno.
5. Cada glándula sexual accesoria, funciona y reacciona de diferente manera.
6. En una sola glándula, la próstata, no se observan cambios en los parámetros medidos.
7. En algunas glándulas, la actividad de arginasa aumenta significativamente a las 96h. lo que posiblemente sea

una reacción inmediata al desequilibrio causado por la cirugía.

8. En algunas glándulas, se sugiere que la arginasa se relaciona con la síntesis de proteínas.
9. La arginasa también puede estar involucrada en la biosíntesis de poliaminas, siendo estas utilizadas para reestablecer el tejido.
10. En ciertas glándulas, existe una disminución en la concentración de proteínas, de modo que las células utilizan las proteínas plasmáticas como fuente de aminoácidos para la síntesis de las proteínas que estén requiriendo.
11. Se ha propuesto la existencia de un control testicular, vía conducto deferente, sobre las glándulas sexuales. La vasectomía puede estar alterando ese control, dando como resultado una disminución en la función de estas glándulas. En este caso, la disminución de la actividad de arginasa en ciertas glándulas puede provenir del aporte anormal de la testosterona.
12. Una disminución en el aporte normal de testosterona, también puede afectar la síntesis de algunos productos de secreción de las glándulas.
13. El tiempo es un componente importante para evaluar la respuesta del organismo a la vasectomía, pues a tiempos largos, se pueden observar cambios que a tiempos cortos no se presentan.

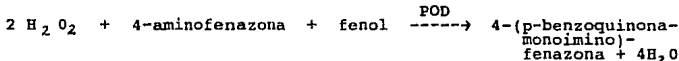
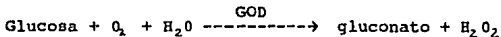
14. Es evidente que se debe de investigar más acerca de los efectos de la vasectomía, no solo sobre las glándulas sexuales accesorias, sino sobre el organismo en general, pues aún cuando existan estudios que sugieran la inexistencia de riesgos con esta cirugía, muchos estudios en animales, entre los que se incluye este trabajo, ponen de manifiesto varias preguntas válidas con respecto a la seguridad de la vasectomía a tiempos largos, por lo que se debe obtener información por periodos de tiempo mayores antes de poder emitir un juicio definitivo.

APENDICE

GLUCOSA

Test-combinación
Glucosa GOD-PAP
Prueba enzimática colorimétrica

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA:



REACTIVOS:

1. Amortiguador/enzimas/ 4-aminofenazona
2. Fenol
3. Estándar de glucosa 100 mg./dl.

APARATOS:

1. Centrifuga
2. Colorímetro Science Essentials CP-1
3. Baño maria a 37°C

PROCEDIMIENTO:

Se toman 20 ml. del suero sanguíneo y se le agregan 2 ml. de la mezcla de la reacción. Se mezclan bien y se incuban 10 minutos en la oscuridad a 37°C. Se mide a 20-25°C el color final en un lapso no mayor de 10 minutos posteriores a la incubación, frente al blanco reactivo y estándar. Todas las mediciones se hacen por duplicado.

CALCULOS:

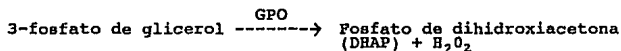
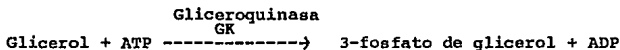
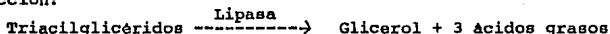
La concentración (c) de la glucosa en suero se calcula como sigue:

$$c = 100 \times \frac{\text{lectura de la prueba} - \text{lectura del blanco}}{\text{lectura del estándar} - \text{lectura del blanco}} \quad (\text{mg/dl})$$

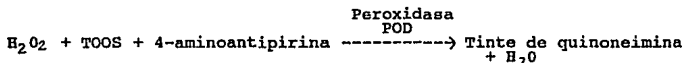
TRIACILGLICERIDOS

FUNDAMENTO:

El reactivo EXPRESS GPO de triacilglicéridos se basa en la acción de la oxidasa de fosfato de L- α - glicerol (GPO) sobre el 3-fosfato de glicerol producido en el siguiente proceso de reacción:



El H_2O_2 oxida el cromógeno compuesto de TOOS (sal sódica de n-etilo-n-sulfohidroxipropilo-M-toluidina) y 4-aminoantipirina para producir un tinte de quinoneimina de color morado, del modo siguiente:



En el tipo de reacción Trinder, el aumento de absorbancia a 540 nm del tinte de quinoneimina es directamente proporcional a la concentración de triacilglicéridos y glicerol libre en la muestra.

REACTIVOS:

Juego de Reactivo GPO de triacilglicéridos EXPRESS.

APARATOS:

1. Espectrofotómetro Beckman DU-64

PROCEDIMIENTO:

Se toman 10 μl . de la muestra de suero sanguíneo y se le agrega 1 ml. del reactivo de triacilglicéridos. Luego de 10 minutos a 37°C se lee la absorbancia de la solución a 540 nm. frente a un blanco y un calibrador. Todas las mediciones se hacen

por duplicado.

CALCULOS:

Conc. de
GPO de = Absorbancia prueba - Absorbancia blanco X Conc. de
Triacil- ----- X calibrador
glicé- Absorbancia calibrador - Absorbancia blanco
ridos.
(mg./dl)

F O S F A T A S A A L C A L I N A

Determinación Colorimétrica de Fosfatasa Alcalina por el método de Bessey-Lowry-Brock

FUNDAMENTO:

La fosfatasa libera al grupo fosfato del P-nitrofenilfosfato, para formar el P-nitrofenol que en medio alcalino se transforma en ión nitrofenolato de color amarillo, cuya intensidad es porporcional a la actividad de la enzima presente. La reacción se efectúa en 30 minutos exactamente y se detiene por la adición de hidróxido de sodio que inactiva la enzima.

REACTIVOS:

1. Solución amortiguadora alcalina
2. Sustrato de P-nitrofenilfosfato disódico
3. Hidróxido de sodio al 0.02N
4. Solución estándar de P-nitrofenol 0.05mm/L
5. Acido clorhídrico concentrado

APARATOS:

1. Baño María a 37°C
2. Colorímetro Science Essentials CP-1

PROCEDIMIENTO:

Se toma 1 ml. de sustrato buffer alcalino precalentado a 37°C y se le añade 0.1 ml. de suero. Se incuba a 37°C durante 30 minutos exactamente y luego se le añaden 10 ml. de hidróxido de sodio 0.02N mezclando por inversión. Leer a 415nm o en filtro de 410. Se ajusta a 100% de transmitancia y se anota la lectura de la muestra y del blanco. Se añaden dos gotas de Acido clorhídrico concentrado a cada tubo y se mezcla por inversión. Se vuelve a leer ajustando a 100% de transmitancia.

CALCULOS:

UNIDADES DE FOSFATASA = UNIDADES DE LA - UNIDADES DE LA
ALCALINA 1a. LECTURA 2a. LECTURA

La unidad enzimática se define como el número de milimoles de P-nitrofenol, formado en 60 minutos por litro de suero.

Las unidades alcalinas se obtienen de la siguiente forma: al valor de la absorbancia de la muestra se le resta el valor de la absorbancia del blanco de modo que el valor resultante se interpola en una curva estándar de absorbancia vs unidades alcalinas. Teniendo las unidades de la primera y segunda lectura solo se aplica la fórmula de unidades de fosfatasa alcalina. Todas las determinaciones se hacen por duplicado.

A R G I N A S A

Determinación de la actividad de arginasa y cantidad de urea producida por esta enzima (55).

FUNDAMENTO:

La actividad de arginasa se ha establecido por mediciones de:

- a) una disminución en la concentración de arginina.
- b) un incremento en la concentración de ornitina.
- c) un incremento en la concentración de urea.

Ha de hacerse notar que solo algunos procedimientos son útiles para medir la actividad de arginasa en extractos de tejidos u homogenizados.

El método que emplea tiosemicarbazida-diacetilmonoxima-urea (TDMU) tiene la ventaja de ser un procedimiento colorimétrico directo aplicable a homogenizados de tejido.

La aparición de color en este método es debida a la reacción de la urea formada con la tiosemicarbazida diacetil monoxima en medio ácido.

La aparición de color en este método depende del tiempo y temperatura de calentamiento. Aún cuando el tiempo requerido para la aparición máxima del color es dependiente de la temperatura, la intensidad de la reacción disminuye conforme se incrementa el tiempo de calentamiento a temperaturas próximas a 85°C. Lo que indica que el producto puede ser afectado por la temperatura.

REACTIVOS:

1. Reactivo Colorido: Extracto acuoso de una solución que contiene tiosemicarbazida 2.4mM y 2-3 butanediona monoxima 4.1 mM.
Diacetilmonoxima 3.5 ml.
Tiosemicarbazida 0.005g
c.b.p. H₂O 25 ml.
2. Reactivo Acido: 0.1ml. de FeCl₃ 0.12 M en H₃PO₄ al 56.7% mas 100 ml. de H₂SO₄ al 20%
3. Solución estándar de urea 15 ug/ml.

APARATOS:

1. Parrilla Eléctrica
2. Colorimetro Science Essentials CP-1

PROCEDIMIENTO:

Se toman 0.2 ml. del homogenizado y se le agregan 0.5 ml. de buffer (MnCl 0.2mM en Tris HCl 0.04 M y solución salina al 0.9% pH= 7.2), se incuba a 55°C durante 1 hora, y se toma del sobrenadante una alícuota para hacer una dilución 1:100. De la dilución anterior se toman 0.9 ml. y se le agrega 0.1 ml. de una solución de arginina 0.04M pH=9.4 que contiene glicina 0.15M. se incuba a 37°C por 15 minutos, e inmediatamente se pone en baño de agua hirviendo por 7 minutos. Si es necesario se centrifuga a 3000 rpm.. Se toman las alícuotas y se completa a 1 ml. con agua destilada. Se agrega a esta muestra 1 ml. del reactivo colorido y 2 ml. del reactivo Acido, se mezclan y se cubren los tubos con las muestras. Se calientan a 92°C durante 25 minutos. Posteriormente se enfrían y se lee la absorbancia a 530 nm.

Las muestras, el blanco y la curva estándar se hacen por duplicado.

Existe una modificación en el caso del suero sanguíneo pues se parte de una dilución 1:100 con el buffer. De esta dilución se toman los 0.9ml., se incuba a 55°C por 1 h. y después se le agrega el 0.1ml. de arginina-glicina siguiendo con el procedimiento normal.

CALCULOS:

La actividad de arginasa se expresa como:

$\mu\text{moles urea / mg prot. / minuto}$

A la lectura de la muestra se le resta la lectura del blanco de forma que la absorbancia resultante se interpola en una curva

estándar de absorbancia vs concentración de urea en μg . Teniendo los μg . de urea estos se relacionan con los μg de tejido que se tienen al final de todo el procedimiento, partiendo de la concentración inicial del homogenizado. El factor obtenido μg urea/ μg peso húmedo (tejido) se relaciona con los factores de proteínas y peso seco, y finalmente solo se hace la conversión a μmoles de urea en 15 minutos.

P R O T E I N A S

Método de Lowry para determinación de proteínas con el reactivo de Folin -Ciocalteu (56).

FUNDAMENTO:

Desde que fue propuesto el uso del reactivo de Folin para la determinación de proteínas, se han reportado numerosas modificaciones analíticas en cuanto a su procedimiento de utilización. Se han estudiado las peculiaridades y limitaciones de este reactivo en cuanto a efectos a diferentes pH, tiempo de reacción, concentración de reactivos y sustancias que interfieren.

Existen dos pasos que dan origen al color final con la proteína: a) la reacción con el cobre en álcali, y b) la reducción del reactivo fosfomolibdico-fosfotúngstico por la proteína tratada con el cobre.

REACTIVOS:

1. Solución 1:
Na₂CO₃ al 2%
Tartrato doble de sodio y potasio al 0.02%
Hidróxido de Sodio 0.1N
2. Solución 2:
Solución al 0.5% CuSO₄ .5H₂O en agua destilada.
3. Solución 3:
Se mezclan 50 Volúmenes de la solución 1 con 1 volumen de la solución 2 al momento de usarse.
4. Reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido)
5. Solución estándar de Albúmina bovina 0.2 mg/ml.

APARATOS:

1. Colorímetro Science Essentials CP-1
2. Baño de 37°C
3. Centrifuga
4. Vortex

PROCEDIMIENTO:

Se toman 0.1 ml. de homogenizado y se le agregan 0.5ml. de hidróxido de sodio 1 N, se incuba a 37°C durante 30 minutos. Si es necesario se centrifuga a 3000 rpm y se toma una alícuota del sobrenadante para hacer una dilución 1:10. Se toman las alícuotas según el tipo de glándula y se completa a 0.5 ml. con agua destilada. Hecho lo anterior se agrega 2ml. de la solución 3 y se deja reposar durante 10 minutos. Después se agregan 0.2ml. del reactivo de Folin y se deja reposar 20 minutos, de forma que pasado este tiempo se lee la absorbancia a 530nm.

Las muestras, blanco y curva estándar se hacen por duplicado. Existe además una modificación en cuanto al suero sanguíneo, pues este solo se debe diluir en la proporción 1:10, y de la dilución formada se toman 10 μ l y se completan a 0.5 ml. con agua destilada agregando los reactivos en la forma ya indicada.

En ocasiones fue necesario eliminar la dilución 1:10 en ciertas glándulas con el propósito de obtener lecturas dentro del rango aceptable de la curva estándar.

CALCULOS:

La unidad en la que fue reportada la cantidad de proteína en tejido fue la siguiente:

mg. prot/ mg. peso seco

A la lectura de la muestra se le resta la lectura del blanco de modo que la absorbancia resultante se interpola en una curva estándar de absorbancia vs concentración de proteínas en μ g.. Teniendo los μ g. de proteínas se relacionan con los μ g. de tejido que se tienen al final de todo el procedimiento partiendo de la concentración inicial de homogenizado. Teniendo el factor de μ g. de prot/ μ g. peso húmedo (tejido) este solo se relaciona con el factor de peso seco y se reporta en mg..

En el caso del suero los μ g. de proteínas se dividen entre los mililitros de suero que resultan del procedimiento dado, de forma que al tener los μ g. de proteínas/ ml. de suero se hacen las conversiones necesarias para reportar como:

gramos de proteínas/ 100 ml. suero

P E S O S E C O

Determinación rápida del peso seco por colorimetría (57).

FUNDAMENTO:

Es un método colorimétrico rápido y preciso para la determinación del peso seco de muestras biológicas. El método consiste en hacer reaccionar estas muestras con una solución Ácida de dicromato durante 20 minutos a 92°C y enseguida determinar la densidad óptica a 630nm del producto formado. Las ventajas de este procedimiento son: 1) requiere un mínimo de tiempo para la determinación, 2) su mayor sensibilidad, exactitud y precisión usando equipo estándar de laboratorio, 3) el método es insensible a compuestos inorgánicos y por lo tanto puede ser aplicado a homogenizados de tejidos preparados en soluciones inorgánicas. La única desventaja del método parece ser que el dicromato reacciona específicamente con grupos que contienen carbono y, por lo tanto, la participación del nitrógeno u otros elementos en la composición del material biológico darán proporcionalmente menor absorbancia.

REACTIVOS:

1. Solución de dicromato de potasio en Ácido sulfúrico concentrado.
1 g. de $K_2Cr_2O_7$
50 ml. de H_2SO_4 concentrado.
Calentar a 70°C
2. Solución estándar de manosa o manitol 2 mg/ml.

APARATOS:

1. Parrilla Eléctrica
2. Colorímetro Science Essentials CF-1
3. Vortex

PROCEDIMIENTO:

Se toman 0.05ml. del homogenizado y se completa a 1ml. con agua destilada. Una vez hecho esto se agregan, resbalando por la pared del tubo, 2 ml. de la solución de dicromato de potasio en Ácido sulfúrico y se mezcla bien. Se deja enfriar y se lee la absorbancia 660nm.

Las muestras, el blanco y la curva estándar se procesan por duplicado. En el caso específico de las vesículas seminales la alícuota utilizada fueron 0.01ml. en lugar de 0.05ml.

CALCULOS:

La cantidad de peso seco se reporta como:
mg peso seco/ mg de peso húmedo

A la lectura de la muestra se le resta la lectura del blanco de modo que la absorbancia resultante se interpola en una curva estándar de absorbancia vs concentración de manosa ó manitol. Teniendo los μg de peso seco se relacionan con los μg de tejido que resultan del procedimiento dado partiendo de la concentración original del homogenizado, lo que se expresa como μg peso seco/ μg de peso húmedo. Finalmente se reporta en mg .

BIBLIOGRAFIA

- (1) Hafez, E.S.E., *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*, Department of Gynecology-Obstetrics and Department of Physiology, Detroit Michigan, Lea and Febiger, 1970, 28-55.
- (2) Kilby, D., *Sexo Seguro, educación sexual, anticoncepción y enfermedades venéreas*, Interamericana-Mc Graw Hill, México, 1988, 1-12.
- (3) Harrison, R.G. and de Boer, C.H., *Sex and Infertility*, Academic Press, London, 1977, 1-31.
- (4) James, E. and Griffin, M. D., *Manual clínico de Endocrinología y Metabolismo*, Mc Graw Hill, 1984, 113-119.
- (5) Stanwood, S. and Schmidt, M.D., *Vasectomy*, Urol. Clin. North Am. Vol. 14, No. 1, 1987, 149-154.
- (6) Giner, J., *Vasectomía parcial bilateral*, Gac. Med. Mex., Vol. 119, No. 6, 1983, 255-262.
- (7) Pfenniger, J.L., *Complications of Vasectomy*, A.F.P., Vol. 30, No. 5, 1984, 111-115.
- (8) Mc Cormack, M. and Lapointe, S., *Physiologic consequences and complications of vasectomy*, CMAJ, Vol. 138, 1988, 223-225.
- (9) Hussey, H.H., *Vasectomy*, JAMA, Vol. 245, No. 22, 1981, 2333.
- (10) Petitti, D.B., Klein, R., Kipp, H., Kahn, W., Siegelau, A.B., and Friedman, G.D., *Physiologic measures in men with and without vasectomies*, Fertil. Steril., Vol. 37, No. 3, 1982, 438-440.
- (11) Alexander, N.J. and Clarkson, T.B., *Vasectomy increases the severity of diet-induced atherosclerosis in Macaca fascicularis*, Science, Vol. 201, 1978, 538.
- (12) Clarkson, T.B. and Alexander, N.J., *Long-term vasectomy. Effects on the occurrence and extent of atherosclerosis in rhesus monkeys*, J. Clin. Invest., Vol. 65, 1980, 15.
- (13) Bridges, F.S. and Westerfield, R.C., *Effects of vasectomy and exercise upon aortic extensibility, cholesterol deposition and stainable tissue lipids*, Biol. Reprod., Vol. 31, No. 2, 1984, 296-302.
- (14) Edwards, I.S., *Vasectomy is bad for your rat*, Med. J. Aust., Vol. 2, No. 9, 1983, 418.

- (15) Miller, R.J., Killian, G.J. and Vasilenko, P., Effects of long and short term vasectomy on structural and functional parameters of the rat, *J. androl.*, Vol. 5, 1984, 381-388.
- (16) Verheugt, F.W.A. and Maksimovic, P., Vasectomy and cholesterol, *N. Engl. J Med.*, Vol. 305, No. 8, 1981, 462.
- (17) Giner, J., Lozano, M., Tarazona, M., Pedrón, N. and Zamora, G., Perfil lipido en hombres vasectomizados, *Arch. Invest. Med.*, Vol. 19, 1988, 199-205.
- (18) Nikkanen, V. and Lehtonen, A., The effect of vasectomy on the serum lipids, *Andrologia*, Vol. 21, No. 2, 1989, 174-177.
- (19) Ritchey, M.L., Sago, A.L. and Novicki, D.E., Effect of vasectomy on high density lipoproteins, *J. urol.*, Vol. 133, No. 1, 1985, 42-44.
- (20) Campbell, W.B., Vasectomy and arterial disease, *J. R. Soc. Med.*, Vol. 81, No. 12, 1988, 683-685.
- (21) Harris, J.D. and Lipshultz, L.I., The effect of vasectomy on sertoli cells function in rats, *Invest. Urol.*, Vol. 18, No. 4, 1981, 305-307.
- (22) Dias, P.L.R., The effects of vasectomy on testicular volume, *Br. J. Urol.*, Vol. 55, No. 1, 1983, 83-84.
- (23) Mc Donald, S.W., Vasectomy and the human testis, *BMJ*, Vol. 301, 1990, 618-619.
- (24) Hirsch, I.B. and Choi, H., Quantitative testicular biopsy in congenital and acquired genital obstructions, *J. Urol.*, Vol. 143, 1990, 311-312.
- (25) Grewal, R.S. and Sachan M.S., Changes in testicle after vasectomy, An experimental study, *Int. Surg.*, Vol. 49, 1968, 460-462.
- (26) Kothari, L.K., Mishra, P. and Mishra R.K., Effect of bilateral vasectomy on the structure and function of the testis, *Am. J. Surg.*, Vol 126, 1973, 84-88.
- (27) Mac Dougall, M.K., Mc.Cowin, K., Derrick F.K., Glover, W.L. and Jacobson, C.B., The effects of vasectomy on spermatogenesis in the dog, *Canis familiaris*: a meiotic analysis, *Fertil. Steril.*, Vol. 26, 1975, 786-790.
- (28) Vare, A.M. and Bansal, P.C., Changes in the canine testis after bilateral vasectomy: an experimental study *Fertil. Steril.*, Vol. 24, 1973, 793-797.

- (29) Flickinger, C.J. and Spell, D.R., The incidence of spermatic granulomas and their relation to testis weight after vasectomy and vasovasostomy in Lewis rats, *J. Androl.*, Vol.7, 1986, 285-291.
- (30) Jarvis, L.J. and Dubbins, P.A., Changes in the epididymis after vasectomy:sonographic findings, *AJR.Am.J. Roentgenol.*, Vol. 152, No.3, 1989, 531-534.
- (31) Flickinger, C.J. and Howards, S.S., Inflammatory changes in the epididymis after vasectomy in the Lewis rat, *Biol. Reprod.*, Vol.43, No.1, 1990, 34-45.
- (32) Stanwood, S.S. and Robert, B.B., Post-vasectomy congestive epididymitis, *JAMA*, Vol.253, No.6, 1985, 776.
- (33) Jouannet P. and David G., Evolution of the properties of semen immediately following vasectomy, *Fertil. Steril.*, Vol.29, 1978, 435-441.
- (34) Jakobsen, H., Rui, H., Thomassen, Y., Hald, F. and Purvis, K., Polyamines and other accessory sex gland secretions in human seminal plasma 8 years after vasectomy, *J. Reprod. Fertil.*, Vol. 87, No. 1, 1989, 39-45.
- (35) Lohiya, N.K. and Tiwari, S.N., Vasectomy in Langur monkeys (*Presbytis entellus entellus Dufresne*), *Arch. Androl.*, Vol.11, No.1, 1983, 85-87.
- (36) Joshi, U.M., Endocrine and accessory sex organ function after vasectomy and vasovasostomy, *Arch. Androl.*, Vol.7, No.2, 1981, 187-191.
- (37) Naik, V.K., Joshi, U.M. and Sheth, A.R., Long term effects of vasectomy on prostatic function in men, *J. Reprod. Fertil.*, Vol.58, 1980, 289-293.
- (38) Das, R.P. and Roy, S., Biochemical studies with human semen. I. A correlative study of some constituents with the count and motility of spermatozoa, *J. Reprod. Fertil.*, Vol.27, 1971, 291.
- (39) Kothari, L.K., Gupta, A.S., Chaturvedi, K.C. and Paliwal, O.L., Seminal fructose and acid phosphatase in vasectomized men, *Int. J. Fertil.*, Vol. 22, 1977, 60-62.
- (40) Zagoria, R.J. and Young, H.H., Seminal vesicle abscess after vasectomy: Evaluation by transrectal sonography and CT, *AJR. Am. J. Roentgenol.*, Vol. 149, No. 1, 1987, 137-138.
- (41) Méndez, J.D. : Poliaminas en : *Bioquímica e Inmunología*, Hicks, J.J. and Zagoya, J.C., Eds., Vol. II, Facultad de Medicina, UNAM., México, 1988, 365-385.

- (42) Méndez, J.D.: Polyamines and human reproduction in: *The Physiology of Polyamines*, Vol. I, Bachrach, U. and Heimer, Y., Eds., C.R.C., Press Inc., Florida U.S.A., 1989, 23-38.
- (43) Williams-Ashman, H.G., Polyamines and steroid sex hormone action in: *The Physiology of Polyamines*, Vol. I, Bachrach, U. and Heimer, Y., Eds., C.R.C., Press Inc., Florida U.S.A., 1989, 3-22.
- (44) Rodríguez, A. y Nández, J., El enzima arginasa: Bioquímica general, metabolismo, interés de la determinación sérica en patología hepática. Primera comunicación. *Revista clínica española*, Vol. 123, No. 3, 1971, 213-219.
- (45) Yip, M. and Knox, W.E., Function of arginase in lactating mammary gland, *Biochem J.*, Vol. 127, 1972, 893-899.
- (46) Oka, T. and Perry, J.W., Arginase affects lactogenesis through its influence on the biosynthesis of spermidine, *Nature*, Vol. 250, 1974, 660-661.
- (47) Yamanaka, H., Mayuzumi, T., Shimazaki, J. and Shida, K., Properties and androgen induced changes of arginase in kidney and ventral prostate of rats, *Endocrinol. Japon.*, Vol. 18., No. 6, 1971, 487-494.
- (48) Kochakian, C.D., The effect of castration and various steroids on the arginase activity of the tissues of the mouse, *J. Biol. Chem.*, Vol. 155, 1944, 579-589.
- (49) Kochakian, C.D., The effect of dose and nutritive state on kidney arginase after steroid stimulation, *J. Biol. Chem.*, Vol. 161, 1945, 115-125.
- (50) Kochakian, C.D. and Stettner, C.E., Effect of testosterone propionate and growth hormone on the arginase and phosphatases of the organs or the mouse, *Amer. J. Physiol.*, Vol. 155, 1948, 262-264.
- (51) Kochakian, C.D. and Robertson, E., The effect of androgens and hypophysectomy on arginase and phosphatases of the kidney and liver of the rat, *Arch. Biochem.*, Vol. 29, 1950, 114-123.
- (52) Kochakian, C.D., Bartlett, M.N. and Gongora, J., Effect of castration and androgens on body and organ weights, and the arginase and phosphatases of kidney and liver of the male Syrian hamster, *Amer. J. Physiol.*, Vol. 153, 1948, 210-214.
- (53) Harrison, J., Kochakian, C.D. and Bartlett, M.N., Effect of castration and steroids on the arginase and phosphatases of the organs of the guinea pig, *Amer. J. Physiol.*, Vol. 155, 1948, 251-254.

- (54) Remesar, X., Arola, Ll., Palou, A. and Alemany, M., Arginase activity during pregnancy and lactation, *Horm. Metabol. Res.*, Vol. 16, 1984, 468-470.
- (55) Geyer, J.W. and Dabich, D., Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates, *Anal. Biochem.*, Vol. 39, 1971, 412-417.
- (56) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall R.J., Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, Vol. 193, 1951, 265-275.
- (57) Bernal, A., Méndez, J.D. and Rosado, A., Determinación rápida del peso seco por colorimetría, *Arch. Invest. Med. (Méx.)*, Vol. 12, 1981, 83-88.
- (58) Guyton, A. C., *Tratado de Fisiología Médica*, 7a. Edición, Interamericana-Mc Graw hill, México, 1986, 827.
- (59) Rodríguez, A., Núñez, J., Duran, E. y Pelaez, J., Correlaciones arginasa-fosfatasa alcalina. Interés de sus determinaciones en el diagnóstico diferencial de las ictericias, *Revista Clínica Española*, Vol. 124, No.5, 1972, 489-495.
- (60) Tietz, N. W., *Química Clínica Moderna*, 1a. edición, Interamericana, 1972, 403-417.