

300627

33

2ej



**UNIVERSIDAD LA SALLE**

**ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS  
INCORPORADA A LA U. N. A. M.**

**"ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS  
SEXUALES ACCESORIAS DE RATA"**

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A :  
ADRIANA MARIA SOSA BENAVIDES

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. José Domingo Méndez Francisco

TESIS CON  
FALLA DE COPIA

México, D. F.

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.

# INDICE.

Página.

RESUMEN.....	i
INTRODUCCION.....	ii
OBJETIVOS.....	1
GENERALIDADES.....	2
Diabetes.....	2
Diabetes Mellitus.....	2
Sintomatología y Fisiopatología.....	2
Clasificación de la diabetes.....	3
Etiología.....	5
Diagnóstico de la diabetes.....	5
Tratamiento de la diabetes.....	7
Complicaciones de la Diabetes Mellitus.....	9
Morbimortalidad por diabetes.....	12
Diabetes Experimental.....	13
Ruta de administración.....	13
Cambios histológicos en los islotes de Langerhans producidos por la aloxana.....	14
Cambios de glucosa sanguínea, glucógeno en hígado y niveles de insulina provocados por la aloxana.....	14
Glándulas Sexuales Accesorias.....	17
Organos reproductores masculinos.....	17
Vesícula Seminal.....	19
Próstata.....	19
Glándulas Ampulares.....	22
Glándulas Bulbouretrales.....	22
Glándulas Prepucales.....	23
Factores fisiológicos y ambientales que influyen en las estructuras de las glándulas sexuales accesorias.....	23
Poliaminas en las glándulas sexuales accesorias.....	26
Arginasa.....	30
Generalidades.....	30
Ciclo de la urea.....	31
Arginasa extrahepática.....	33
Biosíntesis de poliaminas.....	35
Actividad de arginasa en diversos órganos.....	35
Arginasa como indicador clínico.....	37

<i>Insulina</i> .....	38
<i>Generalidades</i> .....	38
<i>Síntesis de insulina</i> .....	38
<i>Receptores de insulina</i> .....	41
<i>Efecto de la insulina en el metabolismo de los carbohidratos</i> .....	41
<i>Efecto de la insulina en el metabolismo de las grasas</i> .....	41
<i>Efecto de la insulina en el metabolismo de las proteínas y el crecimiento</i> .....	44
<i>Control de la secreción de la insulina</i> .....	44
<i>Arginina</i> .....	46
<i>Generalidades</i> .....	46
<i>Arginina y movilidad espermática</i> .....	46
<i>HIPOTESIS</i> .....	47
<i>MATERIALES Y METODOS</i> .....	48
<i>RESULTADOS</i> .....	55
<i>DISCUSION DE RESULTADOS</i> .....	86
<i>CONCLUSIONES</i> .....	91
<i>APENDICE</i> .....	92
<i>BIBLIOGRAFIA</i> .....	106

## ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS

### DE RATA

#### RESUMEN.

La heterogeneidad de arginasa en tejidos ha sido postulada desde 1965. Su actividad ha sido estudiada en diversos tejidos y fluidos en condiciones de salud y enfermedad. Los cambios que presenta se consideran de importancia en el estudio bioquímico y clínico de algunas enfermedades.

En el presente trabajo se compara la actividad de arginasa en glándulas sexuales accesorias de ratas normales, ratas con diabetes inducida y ratas diabéticas sometidas a diferentes tratamientos. Se utilizaron ratas macho de la cepa Long Evans, las cuales se clasificaron en cuatro grupos principales: 1.- Grupo Control (sin ningún tratamiento), 2.- Grupo diabético (120 mg de aloxana / Kg. de peso), 3.- Grupo diabético tratado con insulina (0.15 unidades de insulina de acción intermedia / Kg. de peso.) y 4.- Grupo diabético tratado con arginina (5 mg / Kg. de peso.).

El estado diabético de las ratas fué establecido por los valores de la glucosa sanguínea, además de cuantificar triglicéridos,  $\alpha$ -amilasa y proteínas en suero. Se determinó la actividad de arginasa en cada una de las glándulas sexuales accesorias (Vesícula seminal, Glándulas coagulantes, Próstata, Glándulas ampulares, Glándulas bulbouretrales y Glándulas prepuciales.). También se midieron parámetros bioquímicos tales como el peso seco y la concentración de proteínas.

Los resultados nos indican cambios en la actividad de arginasa muy marcados en los tratamientos con insulina y con arginina en casi la mayoría de las glándulas sexuales accesorias, con respecto al control.

Estas observaciones proporcionaron la evidencia de que cada glándula realiza sus funciones metabólicas de manera independiente, por lo que son afectadas de modo diferente tanto por la enfermedad como por los diferentes tratamientos, como puede observarse por el incremento ó disminución de la actividad de arginasa por insulina ó arginina con respecto al control.

## INTRODUCCION.

La diabetes es una enfermedad metabólica crónica que constituye un importante problema de salud pública ya que afecta a gran parte de la población mundial, su prevalencia es cada vez mayor causando un elevado cociente de incapacidad física y social además de constituir un factor importante de mortalidad.

Las alteraciones metabólicas de la diabetes se deben a una deficiencia relativa ó absoluta de insulina y un exceso de glucagon, lo que ocasiona alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas.

Esta enfermedad produce alteraciones en el aparato cardiovascular, sistema nervioso, glóbulo ocular, así como predisponibilidad a las infecciones y complicaciones en la cicatrización.

Se sabe que la diabetes causa cierto grado de impotencia y pérdida del deseo sexual en el hombre debido a un desequilibrio hormonal que propicia la atrofia de los órganos sexuales accesorios productores del líquido seminal y los órganos encargados de la producción de espermatozoides (testículos).

Las células, por su deterioro normal dejan escapar a la sangre diversas moléculas y entre ellas las enzimas. Los individuos "normales" que no presentan cuadro patológico muestran una pequeña liberación de moléculas y consecuentemente su actividad enzimática en suero se considera normal. Cuando un tejido es dañado, la célula deja escapar enzimas a la sangre en proporción directa a la gravedad ó dimensión del daño.

Su cuantificación en correlación u apoyo con el cuadro clínico contribuye de manera muy importante al diagnóstico correcto, identificando incluso el órgano lesionado; esto justifica que la actividad de las enzimas séricas se haya correlacionado con enfermedades específicas y que la determinación enzimática tenga excepcional importancia para el diagnóstico, pronóstico y guía terapéutica; estas ventajas se amplían con la determinación de las isoenzimas.

La cuantificación de la actividad de arginasa en suero se ha propuesto como apoyo para el diagnóstico y pronóstico de varias enfermedades fundamentalmente las relacionadas con los procesos que afectan al hígado, corazón, pulmón, cerebro y próstata.

La arginasa (EC 3.5.3.1 L - arginina ureohidrolasa ) es localizada en el hígado de animales urotélicos y es un componente enzimático del ciclo de la urea. La actividad de esta enzima, ha sido observado que es influenciada por factores hormonales, factores ambientales, ingesta adecuada de alimentos y procesos de envejecimiento.

Se han reconocido que la actividad de arginasa es encontrada en varios órganos como los ya mencionados anteriormente y se han reportado también varios trabajos concernientes a la arginasa extrahepática, la función fisiológica de esta enzima extrahepática es en general poco conocida, pero se sabe que favorece la síntesis de poliaminas, donde la arginasa provee de ornitina, importante precursor de las poliaminas.

**OBJETIVOS:**

- 1.- *Determinar la actividad de arginasa en Glándulas Sexuales Accesorias de rata, en condiciones normales, con diabetes inducida y diabéticos bajo tratamiento con insulina y con arginina.*
  
- 2.- *Correlacionar la variación de actividad con los cambios causados por los distintos tratamientos en dichas glándulas.*



## DIABETES.

### DIABETES MELLITUS.

La diabetes es una de las enfermedades humanas más intensamente estudiadas que constituye un importante problema sanitario ya que afecta a cerca del 3 % de la población mundial.

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica que consiste en una deficiencia relativa ó absoluta de la producción de insulina por los islotes de Langerhans del páncreas y una producción excesiva de glucagón.

La diabetes es una enfermedad compleja que presenta distintas clases y grados de patología, así como un conjunto de anomalías metabólicas debidas a las alteraciones hormonales y una serie de complicaciones a largo plazo que afectan la mayor parte de los aparatos y sistemas. ( 5 , 6 )

### SINTOMATOLOGIA Y FISIOPATOLOGIA DE LA DIABETES MELLITUS.

Los primeros síntomas de diabetes son: hiperglicemia (aumento del nivel de glucosa sanguínea. Figura 1 ), poliuria (eliminación excesiva de orina), polidipsia (ingestión excesiva de agua), polifagia (ingestión exagerada de alimentos), pérdida de peso y

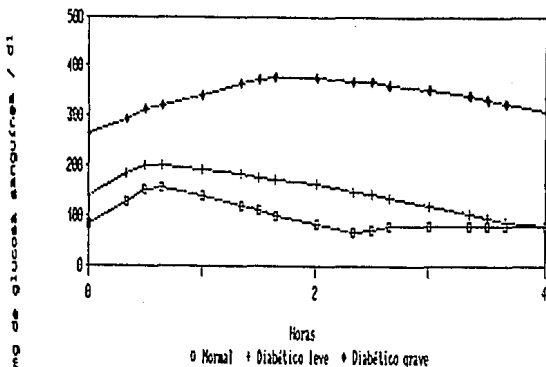


FIGURA 1. NIVELES DE GLUCOSA EN DIABETES.

astenia (falta de energía). La hiperglicemia es causada por la irregular producción de insulina, lo que impide la entrada de glucosa a los tejidos para su utilización en la producción de energía. La poliuria se debe al efecto diurético osmótico de la glucosa en el túbulo renal. A su vez, la polidipsia es causada por la deshidratación provocada por la poliuria. La mala utilización de glucosa por el organismo provoca pérdida de peso y tendencia a la polifagia. La astenia se debe principalmente a la pérdida de proteínas. (56)

#### CLASIFICACION DE LA DIABETES.

La diabetes según su gravedad se clasifica en:

- 1.- Leve.- La cual por lo general se corrige con dieta.
- 2.- Moderada.- Este grado de diabetes se trata generalmente con dieta, ejercicio, aplicación de insulina y/o hipoglicemiantes.
- 3.- Intensa.- En este estado de diabetes se da tratamiento principalmente con insulina.

Es aceptado actualmente que el término de diabetes mellitus, más que a una enfermedad, describe a un grupo de enfermedades en las que el común denominador es la hiperglicemia.

La diabetes se clasifica según sus características y cuadro clínico en:

- 1.- Diabetes mellitus tipo I.- Diabetes insulino dependiente.

En este grupo se incluyen a los diabéticos que dependen en forma permanente de la insulina para controlar la hiperglicemia. Este tipo de diabetes se presenta por lo general en personas menores de 20 años de edad, delgados, con tendencia a desarrollar cetoacidosis diabética y que requieren la aplicación de insulina para su control.

Este tipo de diabetes, que antes se clasificaba como diabetes juvenil, puede presentarse en cualquier etapa de la vida, por lo que se decidió eliminar la edad de inicio como un criterio de diagnóstico para distinguir este tipo de diabetes.

- 2.- Diabetes mellitus tipo II.- Diabetes no insulino dependiente.

En este grupo se incluyen a los diabéticos cuya hiperglicemia se controla con dieta e hipoglicemiantes bucales.

Este tipo de diabetes, se manifiesta en adultos mayores de 40 años de edad, frecuentemente cuando existe obesidad y sólo eventualmete conduce al desarrollo de cetoacidosis. La

prevalencia de este tipo de diabetes aumenta con la edad y el grado de obesidad.

### 3.- Diabetes Gestacional.

Este tipo de diabetes se refiere a la hiperglucemia que se descubre durante el embarazo y ocurre generalmente en el segundo y tercer trimestre, dicha anomalía cesa al terminar el embarazo, aunque algunas pacientes llegan a desarrollar diabetes mellitus tipo II en los siguientes años.

Debido a que la diabetes gestacional se asocia con una alta morbimortalidad fetal, es importante su detección y tratamiento en forma oportuna.

### 4.- Diabetes mellitus secundaria.- Trastornos en la tolerancia a la glucosa.

Esta variedad se relaciona con defectos en la secreción pancreática de insulina y con interferencia para que esta ejerza su acción sobre las células efectoras.

Los factores que propician este tipo de diabetes son externos y algunos de estos son:

- a) Destrucción de células B por enfermedades pancreáticas, la secreción de insulina se reduce; como ocurre en los casos de pancreatitis y fibrosis quística.
- b) Exceso de hormonas antagónicas a la insulina, como en el caso de enfermedad de Cushing, acromegalia, glucagonoma, hipertiroidismo etc., donde los niveles hormonales se ven aumentados por estas enfermedades.
- c) Existencia de anticuerpos en contra de los receptores de insulina, disminución de receptores de insulina ó secreción de formas moleculares anormales de insulina ó insulina sin actividad biológica.
- d) Enfermedades genéticas como el síndrome de Turner y de Klinefelter, cuya incidencia de diabetes es muy grande.
- e) Fármacos del tipo de glucocorticoides, diuréticos y agentes adrenérgicos, estos pueden causar diabetes o simplemente intolerancia a los carbohidratos.

### 5.- Diabetes mellitus tipo III.- Diabetes tropical.

Este tipo de diabetes no es muy común y se presenta en regiones tropicales donde las personas se alimentan con dietas deficientes en nutrientes esenciales, también es conocida como diabetes de desnutrición.

Entre los tipos de diabetes mellitus, se distinguen dos tipos importantes: La diabetes tipo I y II; las diferencias entre estos tipos de diabetes se resumen en el cuadro 2. (6)

#### ETIOLOGIA.

La herencia tiene un papel muy importante en el desarrollo de la diabetes tipo I y II. Por otra parte el ejercicio físico, la calidad de la alimentación, las infecciones virales, la condición física del individuo (obeso ó no) y el ambiente ejercen un profundo efecto sobre su incidencia.

En el cuadro 1. se resumen algunos de los factores etiológicos y patogénicos más importantes de la diabetes mellitus.

#### DIAGNOSTICO DE LA DIABETES.

El diagnóstico de la diabetes mellitus se apoya en tres criterios esenciales:

- a) Cuadro clínico
- b) Glucemia de ayuno
- c) Prueba de tolerancia a la glucosa.

El cuadro clínico comprende todas las manifestaciones clínicas de hiperglucemia, como son poliuria, polidipsia, polifagia ect.

La glucemia de ayuno consiste en la medición de los niveles de glucosa en sangre en estado de ayuno. En esta prueba, la glucemia de ayuno se valora con base en las cifras normales, medidas en suero (Según método enzimático de glucosa oxidasa), que son: en las personas adultas  $\leq 115\text{mg/dl}$ ; durante el embarazo,  $\leq 105\text{mg/dl}$  y en niños,  $\leq 130\text{mg/dl}$ .

El diagnóstico de diabetes se da cuando los valores de glucemia en ayuno exceden  $140\text{ mg/dl}$  al menos dos veces consecutivas.

En la prueba de tolerancia a la glucosa determina la habilidad de un individuo para remover una cierta cantidad de glucosa ingerida de la circulación sanguínea. Una cantidad de glucosa es administrada oralmente (En adultos la dosis es de 50 a 100 g. ó en razón de 1.75 g. por Kg de peso, en niños la dosis va también en la misma razón siendo la dosis mínima de 50 g.), la absorción ocurre rápidamente y el nivel de glucosa sanguínea aumenta, propiciando la liberación de insulina, cuya acción disminuye el nivel de glucosa sanguínea a normal en el plazo de 2 a 3 horas.

En cuanto a la interpretación de la prueba de tolerancia a la glucosa, se toman en cuenta varios criterios: El método de Wilkerson de puntos, el método de Fajans y Conn y el método de suma. (69)

En el método de Wilkerson, se asignan valores de puntuación a los niveles de glucosa sanguínea determinados a tiempos 0,1,2 y 3 horas.

CUADRO 1. FACTORES ETIOLÓGICOS EN LA DIABETES MELLITUS.

I.- Anormalidad genética de la función ( estímulo, reconocimiento, propagación del mensaje y secreción) y número de las células  $\beta$ .

A.- Disminución del número y afinidad de sitios receptores de las células  $\beta$  a glucosa y aminoácidos.

B.- Disminución de biosíntesis de insulina

C.- Anormalidades en la conversión de proinsulina a insulina

D.- Síntesis irregular de insulina con actividad biológica deteriorada

E.- Disminución en el nivel de replicación de células  $\beta$

F.- Susceptibilidad incrementada de las células  $\beta$  a factores ambientales relacionados al sistema de histocompatibilidad.

II.- Factores ambientales que alteran la intensidad y función de las células  $\beta$

A.- Obesidad y gestación.      B.- Agentes infecciosos - virus.

C.- Autoinmunidad.              D.- Sistema nervioso central, actividad adrenergética alta.

III.- Anormalidades en la acción de la insulina.

A.- Insensibilidad a insulina endógena.

- 1) Insulina con actividad biológica deteriorada.
- 2) Disminución del número de sitios receptores de insulina.
- 3) Interferencia con la unión de insulina a sus sitios receptores (anticuerpos)
- 4) Disminución de actividad de enzimas claves

IV.- Anormalidad en la secreción de glucagón.

CUADRO 2. CARACTERÍSTICAS DE LA DIABETES TIPO I Y II.

CARACTERÍSTICAS	DIABETES TIPO I	DIABETES TIPO II
X DE OCURRENCIA	20 x	80 x
OTROS NOMBRES	Diabetes Mellitus Insulino Dependiente (IDDM)	Diabetes Mellitus no Insulino Dependiente (NIDDM)
CONDICION DE SALUD	Moderada a severamente grave	Muestra pocos síntomas
CAUSAS	Escasa o nula producción de insulina	Resistencia a la insulina
ETIOLOGIA	Presencia de reacciones de autoinmunidad, factores genéticos y de medio ambiente.	Factores genéticos y de medio ambiente no asociación. antiguamente con obesidad.
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	Repentino, polidipsia polifagia, poliuria, pérdida de peso, bajos niveles de insulina y altos niveles de glucagón	Inicio gradual de síntomas, obesos, nivel de insulina normal pero altos niveles de glucosa plasmática y glucagón
COMPLICACIONES	Cetoacidosis	Coma hiperglucémico, resistentes a la cetoacidosis
TRATAMIENTO	Insulina, ejercicios y dieta controlada	Dieta, ejercicio y medicación oral.

Tiempo (horas)	Glucosa (mg./dl.)		Puntos
	Sin embarazo	Con embarazo	
0 (Ayuno)	130	105	1
1	195	190	0.5
2	140	165	0.5
3	130	145	1

Valores iguales ó mayores a los listados acreditan el número de puntos citados. Se considera que existe un estado diabético declarado con 2-3 puntos, sospecha de diabetes con 0.5 - 1.5 puntos y no existencia de diabetes con 0 puntos.

En el método de Fajans y Conn se considera un paciente diabético cuando cualquiera de los niveles de glucosa excede a los valores dados:

Tiempo (horas)	Glucosa (mg/dL)
1	185
1.5	165
2	140

En el método de suma, se considera un paciente diabético si la suma de los valores obtenidos a 0,1,2, y 3 horas es mayor de 600.

En la interpretación de la prueba de tolerancia a la glucosa influyen ciertas variables que deben cuidarse, con el fin de obtener los mejores resultados posibles, algunas de estas son:

- Tipo de fluido a analizar (plasma, suero ó sangre total)
- Métodos para determinar la glucosa sanguínea (enzimáticos ó reductivos)
- Dosis y concentración de glucosa adecuada en una prueba de tolerancia a la glucosa.
- Dieta preparatoria alta en carbohidratos antes de la prueba.
- Actividad física antes y durante la prueba.
- Hora del día de aplicación de la prueba.
- Consideración de enfermedades agudas ó crónicas sufridas por el paciente y embarazo.
- Drogas ingeridas.
- Período de ayuno.

En base a lo anterior es necesaria la aplicación de los mayores medios posibles, con el fin de obtener un diagnóstico seguro y evitar errores en este. (29)(69)(70)

#### TRATAMIENTO DE LA DIABETES HELLITUS.

En el tratamiento de la diabetes son importantes los siguientes factores:

## Educación

Este factor ha sido reconocido últimamente a pesar de ser el más importante de todos, ya que permite la aplicación correcta del tratamiento señalado y permite al paciente comprender la importancia de este.

## Ejercicio.

El ejercicio es uno de los métodos originales de controlar la diabetes, quizá no por este mismo sino porque mejora el efecto de los otros tratamientos. Es importante porque no solo mejora la salud general sino que puede reducir los requerimientos de insulina haciendo la insulina más efectiva probablemente por mejoramiento de la función de los receptores de insulina. El nivel requerido de actividad de cada individuo es importante e individual de acuerdo a sus requerimientos.

## Dieta.

Las necesidades de insulina de cada diabético se calculan en función de una alimentación estándar que contiene cantidades normales bien controladas de carbohidratos, ya que cualquier modificación de la cantidad de éstos que se ingiera cambia dichas necesidades. En condiciones normales, el páncreas tiene la capacidad de ajustar la cantidad de insulina producida a la ingestión de carbohidratos, pero cuando hay diabetes, esta función de control se ha perdido por completo. En los primeros tiempos del tratamiento de la diabetes había tendencia a disminuir los carbohidratos de la alimentación, para que las necesidades de insulina fueran mínimas. Este procedimiento permitía conservar la glucemia en valores cercanos al normal y evitaba la pérdida de glucosa por la orina, pero no evitaba las anomalías del metabolismo de las grasas. En consecuencia existe actualmente la tendencia a permitir que el paciente ingiera los carbohidratos que correspondan a una alimentación normal, administrándole simultáneamente grandes cantidades de insulina para que las metabolice. Disminuyendo así el metabolismo de las grasas, tanto como el alto nivel de colesterol sanguíneo.

## Medicación oral.

La aplicación de agentes hipoglicemiantes orales propicia la disminución del nivel de glucosa ya que pueden estimular la liberación de insulina, desafortunadamente no son efectivos para todos los tipos de diabetes, sólo en los casos en los que el páncreas puede producir insulina (Tipo II).

## Insulina.

Cuando el cuerpo no dispone de insulina ó esta insulina no es adecuada (Tipo I) ó si se necesita más insulina que la provista

por la dieta (Tipo II), entonces es necesaria la administración de insulina.

Se dispone de insulina en diversas formas y con varios tiempos de acción. (Cuadro 3). En general se proporciona una dosis importante al diabético para realizar el metabolismo de los carbohidratos e impedir la hiperglucemia durante el día, pero cada paciente recibe un tratamiento individual y se le indica el tipo de insulina que debe recibir así como la dosis de ésta. (56, 58).

#### COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS.

En la diabetes crónica ó permanente se aprecia un conjunto secundario de síntomas también llamados complicaciones de la diabetes mellitus, generalmente se presentan a un plazo más largo y entre estas complicaciones se encuentran:

##### - Coma diabético.

La falta de secreción de insulina por el páncreas impide el aprovechamiento normal de la glucosa para el metabolismo. En su lugar, las grasas se metabolizan por los tejidos para lograr energía en lugar de glucosa, esto último tiene a su vez como consecuencia la formación excesiva de un grupo de ácidos orgánicos llamados cuerpos cetónicos; ello origina una forma de acidosis: la cetosis, que conlleva a la disminución del pH sanguíneo. (Fig. 2) Cuando el pH de la sangre cae por debajo de 7.0, el sistema nervioso central se deprime tanto por hipoxia que produce un estado de coma diabético. Estos efectos extremos ocurren en casos de diabetes no controlada y cuando se presentan pueden causar la muerte en pocas horas. (56, 57)

##### - Trastornos neurológicos.

La neuropatía es la causa más frecuente de incapacidad y la que más empeora la calidad de vida del diabético. Se trata de una complicación muy frecuente ya que afecta indistintamente la mitad de los casos de los dos tipos de diabetes. La intensidad y extensión de la neuropatía es variable y no siempre está en relación con el grado de control del diabético. La neuropatía se manifiesta principalmente en nervios periféricos (pares craneales y médula espinal) causando una hipersensibilidad superficial y profunda, además de dolor.

##### - Aumento considerable de la susceptibilidad a infecciones.

El diabético tiene gran propensión a mostrar alteraciones de la piel, principalmente infecciones.



CUADRO 3. TIPOS DE INSULINA Y SUS TIEMPOS DE ACCION.

TIPO DE INSULINA	ARRANQUE DE ACCION (HRS)	PICO DE ACCION (HRS)	DURACION DE ACCION (HRS)
CORTA DURACION (RAPIDA)	Apox		
-REGULAR	0.5	2-4	6-8
-SEMILENTA	1-2	3-8	10-10
ACCION INTERMEDIA (LENTA)			
-NPH	1-2	6-12	18-26
-LENTA	1-3	6-12	18-26
ACTIVIDAD PROLONGADA (MUY LENTA)			
-ULTRALENTA	4-6	18-24	28-36
-PROTAMINA ZINC	4-6	14-24	26-36

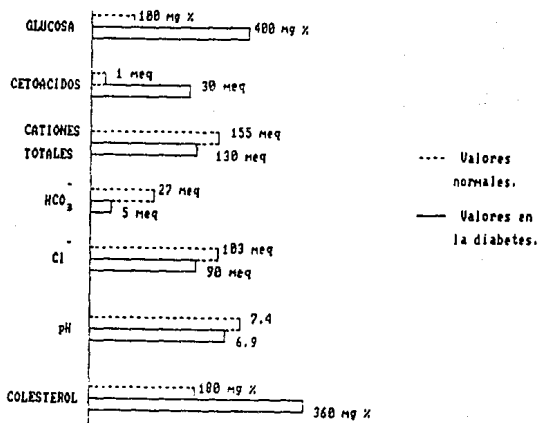


FIGURA 2. CAMBIOS DE LOS COMPONENTES SANGUINEOS EN LA DIABETES.

- Trastornos Cardiovasculares.

Las concentraciones de lípidos y colesterol utilizados como fuente de energía son transportados por la sangre desde los sitios de almacenaje de las células de diversos tejidos y son depositados en las paredes de los vasos sanguíneos, lo cual ocasiona lesiones como: arterosclerosis, enfermedades coronarias, insuficiencia cardíaca, hipertensión y diversos problemas circulatorios que en algunos casos degeneran en gangrena.

- Trastornos oculares.

Aunque son varios los órganos que resultan afectados por la degeneración de las paredes de los vasos sanguíneos, especialmente de los capilares finos y de sus membranas de susten, los ojos parecen ser de los más susceptibles, de hecho la diabetes mellitus es una de las causas principales de la ceguera y cataratas. (12)

- Trastornos renales.

El riñón es un órgano particularmente susceptible de presentar daño en los diabéticos, ya que además del producido propiamente por la enfermedad los trastornos renales se dan como consecuencia de otras complicaciones de la diabetes como son la arterosclerosis, alta concentración de cuerpos cetónicos y especialmente en la compensación de los cambios globales de electrolitos en la sangre a consecuencia de una acidosis diabética grave. (12) (69)

- Trastornos sexuales.

Se han reportado niveles anormales de andrógenos en pacientes con diabetes tipo I; especialmente concentraciones plasmáticas disminuidas de testosterona, apesar de reportarse niveles plasmáticos normales de hormona luteinizante (LH) y hormona foliculo estimulante (FSH). ( 51 ) En el varón diabético se observa también una pérdida del deseo sexual, dolor al eyacular y en algunos casos impotencia. Además de una disminución en la producción de espermatozoides y semen por parte de los testículos y glándulas sexuales accesorias, lo que nos señala que en el estado diabético se presenta un cierto grado de atrofia en estas estructuras. (58).

## MORBIMORTALIDAD POR DIABETES.

De acuerdo a los datos publicados por el IMSS en 1991. En la población mexicana afiliada al IMSS durante los años de 1988-1989 se encuentran cifras de morbilidad y mortalidad por diabetes, tales como:

### Mortalidad:

La mortalidad por diabetes representa un 12% de la mortalidad general (Dando un total de 7242 defunciones en toda la República Mexicana.).

Un 80 % de estas defunciones fueron debidas al tipo II de diabetes mellitus. Las defunciones por diabetes ocurren en un 42 % en hombres y en un 58 % en mujeres.

La mortalidad por diabetes ha tenido un incremento en los últimos años (Debe tomarse en cuenta que también la población ha sufrido un gran incremento)

La mortalidad por diabetes ocupa el 5to lugar en niños de 15 - 19 años de edad, mientras que ocupa un tercer lugar en personas de 20 -24 años.

En la mayoría de los estados de la República Mexicana la mortalidad por diabetes ocupa el primer lugar, excepto en Chiapas y Quintana Roo, donde ocupa el 2 y 3 lugar respectivamente, superada esta causa de mortalidad por infecciones intestinales y afecciones del recién nacido. (Debe tomarse en cuenta la abeccción y condiciones económico-sociales de estos estados.)

El mayor número de defunciones por diabetes en la República Mexicana se da principalmente en: Edo. de México, Nuevo León, Jalisco, D.F., Chihuahua, Tamaulipas, Guanajuato, Puebla, Coahuila, B.C., Durango y Veracruz.

Esta alta mortalidad se debe a condiciones que favorecen la aparición de la diabetes, como son el tipo de alimentación, vida sedentaria, factores ambientales, etc.

Se debe atacar y modificar estos factores con el fin de disminuir esta mortalidad tan alta.

### Morbilidad:

La morbilidad por diabetes ocupa el 5 lugar en magnitud, (después de enfermedades respiratorias, intestinales, hipertensión y dentales) con un 3.8% (1988) y 4.3% (1989) en porcentaje de la población que acude a consultas en clínicas familiares y de especialización.

La morbilidad obtenida por consultas en unidades familiares es mayor en estados como B.C., Colima, Nuevo León y D.F.

Debe destacarse la gran tendencia de la diabetes cuya atención integral resulta prioritaria principalmente en medicina familiar para evitar que por las complicaciones que se registren en los enfermos diabéticos se tengan que canalizar a especialidades.

La morbilidad obtenida por consulta en servicios de especialidades ocupa el primer lugar en estados como: Coahuila, Guanajuato, Jalisco, Edo. de México y Nuevo León principalmente.

## DIABETES EXPERIMENTAL.

La diabetes experimental está relacionada con aquellos agentes químicos que tienen un efecto tóxico selectivo en las células B de los islotes de Langerhans; este efecto es seguido por un estado diabético crónico de duración no necesariamente permanente. Estos agentes químicos son conocidos también como sustancias B citotóxicas ó B citotoxinas, con la implicación de que su acción es restringida a las células B de los islotes de Langerhans. (9)

La aloxana ( Fig 3 ) cuyo efecto para producir diabetes fué descubierto por Dunn y colaboradores y cuyo uso introdujo el término de diabetes química ó experimental. La aloxana, es probablemente el agente diabetogénico mas ampliamente usado para la inducción de diabetes en la experimentación. Este descubrimiento fué el principio de una intensa investigación por todo el mundo de la diabetes química, que suplementó las formas de diabetes experimental ya conocidas (pancreotomía y diabetes causada por alteraciones de la hormona de crecimiento.)

La diabetes causada por aloxana presenta los signos clásicos de la diabetes humana ( hiperglicemia, glucosuria, polidipsia, poliuria, pérdida de peso corporal, polifagia, cetonuria y acidosis) en conejo, rata, perro, hamster, gato, oveja, mono y ratón.

### RUTA DE ADMINISTRACION.

La diabetes experimental se ha producido después de administración de aloxana vía intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, oral, enteral e intrapulmonar, (9, 31,34,39,59)

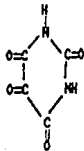


FIGURA 3. ALOXANA, AGENTE DIABETOGENICO.

Los trabajos reportados sobre este tema concluyen que la aloxana pasa fácilmente de los tejidos a la circulación, por lo que la vía de administración esta influida por la dosis a aplicar, el daño que se desee causar y de la disponibilidad que se tenga con el modelo experimental. En ratas, la diabetes puede ser producida con una dosis desde 60 a 200 mg de aloxana por Kg. de peso vía intravenosa.

#### CAMBIOS HISTOLOGICOS EN LOS ISLOTES DE LANGERHANS PRODUCIDOS POR LA ALOXANA.

Después de una dosis diabetogénica de aloxana se observa una necrosis masiva de las células B ( Ver cuadro 4 ) de los islotes de Langerhans en la mayoría de los mamíferos.

A pesar de que la aloxana es selectivamente tóxica para las células B del páncreas una dosis diabetogénica alta causa daños secundarios en el riñón, principalmente cambios hidrópicos, necrosis y descamación de las células tubulares. Las lesiones renales no son permanentes y si reversibles en la mayoría de los casos en los que se presentan.(9)

#### CAMBIOS DE GLUCOSA SANGUINEA, GLUCOGENO EN HIGADO Y NIVELES DE INSULINA PROVOCADOS POR ALOXANA.

En animales, el nivel de glucosa sanguínea fluctua después de una dosis diabetogénica de aloxana de una manera característica usualmente trifásica; ( Fig 4 )

Estas fases que representan el desarrollo de la diabetes con aloxana son:

- 1) Una rápida y marcada hiperglicemia de corta duración ( de 1 a 4 horas )

Esta temprana hiperglicemia está representada por lo menos por dos efectos; una repentina disminución ó interrupción de la liberación de insulina y por un efecto glucogenolítico en el hígado iniciado por la falta de glucosa bajo influencia adrenal.

- 2) Una hipoglicemia más ó menos severa de duración de hasta 48 horas, que provoca algunas veces convulsiones y muerte, la cual puede ser prevenida con tratamiento con glucosa.

Esta fase es producida por la insulina presente en las células B que no es inactivada por la aloxana, de hecho se sugiere que esta fase es la consecuencia de un derramamiento incontrolado de insulina de las células B dañadas.

**CUADRO 4. CAMBIOS HISTOLOGICOS EN LOS ISLOTES DE LANGERHANS  
PRODUCIDOS POR UNA DOSIS DIABETOGENICA DE ALOXANA.**

Tiempo transcurrido después de aplicada la dosis de aloxana	Cambios histológicos observados
3 minutos	Cambios ligeros pero definitivos consistentes en la disminución del contenido de los gránulos pancreáticos ( células $\beta$ )
15 minutos	Reducción marcada en el número de gránulos, disminución de células $\beta$ y un incremento de espacio pericaplilar.
1 hora	Es evidente la piconósis nuclear ( forma de necrosis que consiste en la reducción de tamaño y aumento de densidad del núcleo) y hay disminución marcada del citoplasma.
24 horas	Los signos degenerativos se vuelven intensos. El núcleo sufre careólisis, el citoplasma se desintegra, la membrana celular desaparece y finalmente se observa en la masa de desechos, fragmentos de material nuclear. Esto indica la última fase del proceso necrótico.

3) Una hiperglucemia crónica de larga pero no necesariamente de permanente duración.

Esta fase es producida por la falta de insulina que no es producida ya por las células B del páncreas que han sido necrosadas (7, 49)

El glucagón del hígado se agota durante la primera fase, observándose las más bajas concentraciones en el nivel máximo de hiperglucemia. Durante la fase hipoglucémica los niveles de glucógeno en el hígado se incrementan retornando al nivel que tenían antes de la dosis aplicada de aloxana. Durante el estado diabético crónico, los niveles de glucógeno en hígado permanecen en niveles disminuidos a los normales.

Los niveles de insulina plasmática disminuyen radicalmente durante la primera fase, posteriormente se incrementan a niveles marcadamente arriba de los niveles normales siendo más altos en el tiempo de la hipoglucemia más intensa. Después, en el estado crónico de diabetes, los niveles de insulina plasmática disminuyen a niveles por debajo de lo normal incluso inmediatos en el transcurso de pocas semanas.

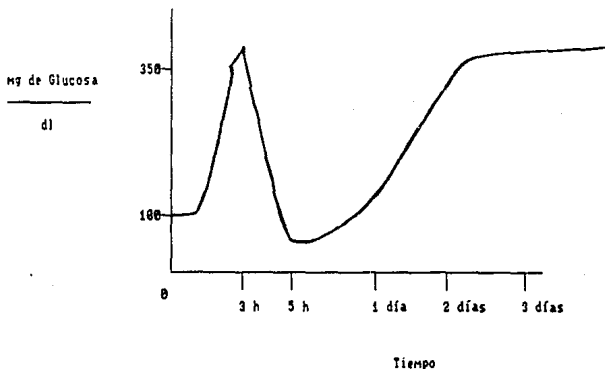


FIGURA 4. RESPUESTA TRIFÁSICA DEL NIVEL DE GLUCOSA SANGUÍNEO A UNA DOSIS DIABETOGÉNICA DE ALOXANA.

## GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS.

### Organos reproductores masculinos.

El sistema reproductor masculino está asociado con el sistema urinario del cual deriva parcialmente. En general está constituido por los órganos sexuales primarios, glándulas sexuales accesorias, una serie de ductos y los genitales externos. La función de cada componente se define a continuación:

- A.- Organos sexuales primarios.- Estos están constituidos por los testículos y tienen como función la producción de espermatozoides.
- B.- Las glándulas sexuales accesorias.- Las cuales producen los fluidos que se combinan con los espermatozoides y que sirven de medio de transporte durante la emisión. (Fig 5)
- C.- Una serie de ductos.- Constituidos por el epididimo y el conducto deferente a través de los cuales los fluidos y los espermatozoides son transportados hacia afuera.
- D.- Genitales Externos.- Formados por las estructuras genitales externas como son, el pene y el escroto.

Los mamíferos se caracterizan por un alto grado de desarrollo de las glándulas sexuales accesorias y éstas según su ubicación se clasifican en:

- 1.- Aquéllas que se derivan de la parte baja del ducto deferente y por lo tanto de origen medio. (Vesícula Seminal, Glándulas Coagulantes, Glándulas Ampulares, en el caso de la rata.)
- 2.- Las glándulas que se derivan de la parte interior del seno urogenital. (Próstata)
- 3.- Glándulas que derivan de la porción membranosa de la uretra. (Glándulas Bulbouretrales.)
- 4.- Aquéllas glándulas derivadas fuera de la región prepucial o inginal (Glándulas Prepuciales.)



- 1.- VESICULA SEMINAL
- 2.- GLANDULAS COAGULANTES
- 3.- PROSTATA
- 4.- GLANDULAS AMPULARES
- 5.- GLANDULAS PREPUCIALES
- 6.- GLANDULAS BULBOURETRALES
- 7.- TESTICULO
- 8.- CONDUCTO DEFERENTE
- 9.- VEGIGA
- 10.- URETERO
- 11.- RINON
- 12.- URETRA
- 13.- PEHE
- 14.- RECTO

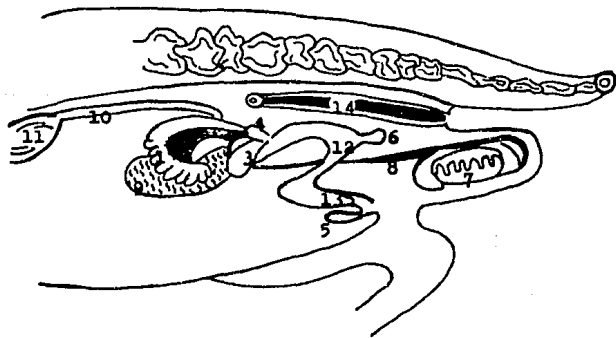
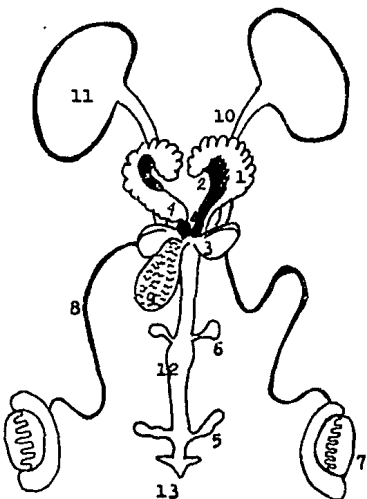


FIGURA 5. APARATO REPRODUCTOR DE LA RATA.

Los productos de estas glándulas se combinan con los espermatozoides en la uretra para formar el semen. Hay mucha variación entre especies con respecto a la presencia y grado de desarrollo de varias glándulas además de las propiedades químicas de su secreción. (Cuadro 5 y Tabla 1)

En el hombre existen como glándulas sexuales accesorias la vesícula seminal, la próstata y las glándulas bulbouretrales, mientras que en la rata se presentan 6 glándulas como se puede apreciar en la Fig 5. (13)

### Vesícula Seminal.

Las vesículas seminales surgen como evaginaciones del ducto deferente, cada una consiste de un elongado simple ó tubulo ramificado el cual es distendido con el fluido que contiene. El tubulo puede unirse con el ducto deferente para formar el ducto eyaculatorio ó éste puede abrirse independientemente dentro de la uretra.

La secreción de la vesícula seminal varía de viscosa a gelatinosa, usualmente es de color claro ó ligeramente amarillento. Este fluido sirve como un medio para transporte de espermatozoides. En combinación con la secreción de la próstata anterior ó en algunas especies con la secreción de las glándulas bulbouretrales, éste fluido combinado se coagula, en algunas especies las formas de coagulación en la copulación previenen la pérdida de semen.

El coágulo subsecuentemente se rompe y el esperma es liberado en la vagina en un baño de temperatura uniforme. El coágulo copulatorio es necesario para fertilización en algunas especies, particularmente en los roedores.

### Próstata.

Esta presente en todos los mamíferos y está presente como: A) Una masa de tejido, la cual puede estar lobulada a grados variantes y se localiza en la unión del ducto deferente y uretral. B) Puede estar diseminada, extendiéndose por toda la uretra, encapsulada en el interior del músculo uretral y C) Puede formar una masa simple dividida por septas para formar 2 ó 3 lóbulos distintos, para nombrar los distintos lóbulos se utiliza un tipo especial de nomenclatura:

	Hombre	Otras especies
Próstata anterior	Ventral	Cranial
Próstata media	Media	Media
Próstata posterior	Dorsal	Caudal

CUADRO 5. ACTIVIDAD SECRETORA DE LAS GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS.

GLANDULA	PROPIEDAD DE SECRECION.	PORCENTAJE DE APORTE AL LIQUIDO SEMINAL.
VESICULA SEMINAL	Fluido blanco amarillento ú blanco azulado, de aspecto gelatinoso que contiene: fructosa, proteínas, ácido cítrico y ácido ascórbico, además de contener pequeñas cantidades de prostaglandinas.	85 - 90 %
PROSTATA	Líquido incoloro que contiene fibrinolisisa, fibrinogenesa, diastasa, anhidrasa carbónica amilasa, fructosa, ácido cítrico, aminoácidos libres y zinc.	
GLANDULAS COAGULANTES	Su secreción es la misma de la próstata de la cual forma parte, pero contiene también una enzima llamada vesiculasa y una llamada transglutaminasa.	10 - 15 %
GLANDULAS AMPULARES	Líquido amarillento que contiene ergotianina, fructosa, ácido sialico y fósforo.	
GLANDULA BULBOURETRAL	Fluido viscoso que contiene sialoproteína	
GLANDULA PREPUCCIAL	Contiene 7-dehidrocoesterol	

TABLA 1. COMPARACION ANATOMICA DE LAS GLANDULAS REPRODUCTORAS.

ESPECIES	MEDIDAS EN MM DE LAS DISTINTAS ESTRUCTURAS.					
	TESTICULO	VESTICULA SEMINAL	PROSTATA	GLANDULA AMPULAR	GLANDULA SULBOURETRAL	GLANDULA PREPUICIAL
HOMBRE	50 X 25	50 X 20	50 X 30	A	8 X 8	A
PERRO	40 X 30	A	25 X 15	NFM	A	A
GATO	14 X 8	A	5 X 2	A	4 X 3	A
HAMSTER	14 X 11	11 X 6	8 X 6	3 X 3	4 X 3	3 X 1
RATON	6 X 4	13 X 4	4 X 4	2 X 1	3 X 2	6 X 5
RATA	20 X 12	20 X 10	13 X 10	4 X 4	5 X 3	16 X 4

A - Indica que dicha glándula esta ausente.

NFM - Indica que dicha glándula existe pero no fué medida.

En algunas especies el lóbulo anterior de la próstata toma forma alargada y se localiza estrechamente unida a la curva interior de la vesícula seminal conociéndose entonces como glándulas coagulantes.

La secreción de estas glándulas sirve como un medio de transporte para espermatozoides. Esta secreción estimula la movilidad en el espermatozoide y también provee de nutrimentos.

En el lóbulo anterior de la próstata, (Glándulas coagulantes) la secreción es rica en fructosa y ácido cítrico mientras que en el lóbulo medio y posterior la secreción es rica fructosa y poco ácido cítrico.

La producción de la secreción prostática es principalmente controlada por el nivel de testosterona y secundariamente por estimulación nerviosa. La producción puede ser relativamente constante ó puede ser periódica con altos picos de producción.

La fracción coagulante de la próstata anterior, glándulas coagulantes, es conocida como vesiculosa. La coagulación del fluido de la vesícula seminal es una doble acción, en la cual la procoagulasa de la vesícula seminal se combina con la vesiculasa para formar la enzima coagulasa, la cual se combina con una fracción de proteína de la secreción de la vesícula seminal coagulinógena para formar la proteína coagulada.

#### Glándulas Ampulares.

Las glándulas ampulares son estructuras altamente variables, surgen desde el ducto deferente cerca de su unión con la uretra. Las glándulas consisten de lóbulos los cuales están encerrados por una cápsula de tejido conectivo y músculo liso.

Aunque un poco de esperma puede ser encontrado en los lóbulos donde estas glándulas están abiertas a los ductos deferentes, no hay indicación de que las glándulas ampulares sean un almacén para espermatozoides.

#### Glándulas Bulbouretrales.

También llamadas glándulas de Cowper, son un par de glándulas dorsales al bulbo del pene y están parcial ó completamente introducidas en el músculo bulbo cavernoso, se encuentran rodeadas por una cápsula de tejido conectivo y músculo estriado.

La secreción bulbouretral es un material lechoso blanco, como material mucoso, no es una mucosa real porque no precipita cuando se le trata con ácido acético. Se pensó que sería un lubricante simplemente, sin embargo dicha secreción ha mostrado contener una glucoproteína la cual pasa por una reacción iónica no enzimática

con una fracción de proteína de las vesículas seminales para producir un coágulo.

El sustrato sobre el cual la secreción bulbouretral actúa es diferente del que actúa sobre la enzima vesicular de la glándula coagulante. Adn más la secreción bulbouretral reacciona a un pH óptimo de 5.9, en contraste a un pH de 7.4 para la enzima de la glándula coagulante. La reacción de coagulación es responsable de la formación del coágulo vaginal en roedores.

#### Glándulas prepuciales.

También llamadas glándulas de Tyson, son pequeñas glándulas ramificadas y tubuloalveolares. En roedores un par de estas glándulas están ubicadas a ambos lados de la parte distal del pene y abiertas a la cavidad prepucial cerca de su orificio.

En la rata, estas glándulas se componen de 2 tipos de células:

- a) Las células escamosas, las cuales forman parte de una pared simple la cual se estrechan para formar el ducto epitelial.
- b) Las células acinares, las cuales acumulan sustancias grasas en su citoplasma fusionándose juntas. En adición a la sustancia grasa, gránulos de proteínas son producidos y liberados al ducto excretor.

El principal contenido de estas glándulas es el 7-deshidrocolesterol. (13)

#### FACTORES FISIOLÓGICOS Y AMBIENTALES QUE INFLUYEN EN LAS ESTRUCTURAS DE LAS GLÁNDULAS SEXUALES ACCESORIAS.

##### Actividad Sexual:

Algunos animales se caracterizan por ser:

- Sexualmente activos todo el año.
- Sexualmente activos varios meses del año.
- Sexualmente activos períodos breves.

Los órganos reproductivos que solo están activos parte del año sufren atrofia durante el tiempo restante, los testículos, glándulas sexuales accesorias y ductos regresan entonces a una condición juvenil, disminuyendo su peso comparado al peso que tenían cuando estaban activos. Histológicamente los órganos atrofiados muestran más tejido conectivo que los órganos juveniles.

### Cantidad de testosterona.

La testosterona controla el desarrollo y función de las glándulas sexuales accesorias y tubulos vía vaso deferente. Es comunmente aceptado que la función endócrina es correlacionada con la masa endócrina, el tamaño del testículo y la función deberia ser más cercanamente correlacionada con el tamaño y función de las estructuras sexuales accesorias.

La cantidad de testosterona es regulada por acción hormonal como se muestra en la Figura 6. (17, 23, 30 )

### Efectos del clima.

La producción de la hormona folículo estimulante ( FSH ) y de la hormona luteinizante ( LH ) u hormona estimulante de células intersticiales ( ICSH ) además del período de actividad sexual están regulados por un gran número de factores como son:

- La duración del día
- Temporadas de lluvia
- Presencia de comida
- Niveles de vitaminas

Cuando aumenta la duración del día se estimula indirectamente la adenohipófisis y propicia la iniciación de la temporada de crianza en roedores.

La estimulación de actividades reproductivas por el inicio de la temporada de lluvia aparentemente está relacionada con la renovación y crecimiento de la vegetación y accesibilidad de comida y nutrientes.

### Efectos del desequilibrio fisiológico.

Una relación inversa entre el tamaño de las estructuras sexuales y la densidad poblacional han sido reportadas en ciertas clases de roedores. Los testículos, vesículas seminales y glándulas prepuciales decrecen en tamaño cuando la población aumenta. Los cambios en la talla de los órganos reproductores fueron atribuidos a la supresión de la función gonadotrópica, aumentando la función adrenocorticotropica de la pituitaria anterior y resultando una declinación en la salida de andrógenos y actividad testicular.

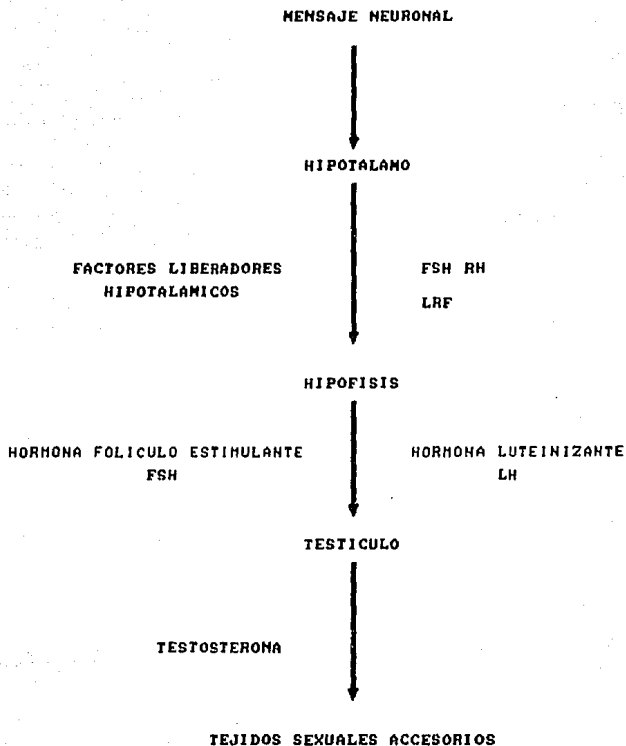


FIGURA 6. REGULACION HORMONAL DE LAS GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS.



### Otros.

La castración se sabe que causa atrofia en las estructuras sexuales secundarias, especialmente en la próstata. Esta atrofia es reflejada por un envolvimento del epitelio y pérdida de las secreciones de las glándulas y túbulos.

La actividad secretora de las glándulas sexuales accesorias en el caso de ratas tratadas con estreptozotocina para causar diabetes inducida disminuye y se observa atrofia en éstas e infertilidad; además de una disminución de testosterona.

El tratamiento con testosterona restaura las glándulas a un estado activo y funcional de síntesis de proteínas y sus respectivas secreciones normales. (30,45,46,47,54)

### POLIAMINAS EN LAS GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS.

Como indica su nombre, la espermina y espermidina fueron primeramente determinados en fluidos seminales. El semen normal humano contiene espermidina en concentraciones del orden de 5 a 15 umoles /ml. (23)

La presencia de poliaminas en el aparato reproductor masculino ha sido discutido en numerosos trabajos al ser relacionada su presencia con procesos de capacitación y fertilización.

La espermina seminal es presumiblemente originada como secreción de la próstata y se encuentra principalmente en el plasma seminal y no en el espermatozoide. La espermina probablemente se encuentra en el semen fresco como una base libre, la cual es convertida a fosfato insoluble sólo cuando se acumula suficiente fosfato inorgánico. Esto ocurre durante la hidrólisis enzimática de fosforilcolina.

La secreción de la próstata del hombre sexualmente maduro es prácticamente la única fuente de concentraciones altas de espermina en el plasma seminal humano mientras que los niveles de putrescina y espermidina en éste son respectivamente sólo el 7 y el 4 % de las cantidades de espermina; es decir casi nulas. (24)

Williams - Asman y colaboradores; estudiaron la distribución de poliaminas en los órganos sexuales accesorios en rata macho adulta y encontraron que las secreciones de los lóbulos dorsolateral y ventral de la próstata contienen cantidades aproximadamente equivalentes de espermidina y espermina a concentraciones de varios milimoles, pero muy poca ó ninguna putrescina. Por contraste, las secreciones de la próstata anterior (glándulas coagulantes) y la vesícula seminal contienen muy poca espermidina y espermina (25)

CUADRO 6. POLIAMINAS EN GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS.

Fuente	Poliaminas ( $\mu$ mol / g. P.H. )	
	Espermidina	Espermina
Rata		
Vesícula Seminal	0.8	0.5
Glándulas Coagulantes	0.5	0.3
Próstata		
Dorsolateral	2.8	3.1
Ventral	5.2	5.6
Humano		
Fluido seminal	-	16.2

(23)

El interés en las poliaminas del semen humano está basado en 3 puntos importantes:

- a) Preparación de derivados cristalinos como picrato de espermina como prueba para semen en la medicina forense.

Este uso es limitado desde que se han desarrollado pruebas más sensibles para lograr el mismo objetivo.

- b) La oxidación de espermina para producir el producto responsable del olor peculiar del semen.

El olor peculiar del semen es probablemente debido a actividad enzimática en el plasma seminal, Zeller y colaboradores; reportaron que el plasma seminal contiene diamino oxidasa, que oxida la espermina. La actividad de la espermina oxidasa en el semen humano es más alta que en el suero sanguíneo, ésta enzima consume la mayor parte del oxígeno del fluido seminal y está actividad es responsable de la formación del producto oloroso.

- c) Funciones reproductivas de la espermina con especial referencia a la movilidad del espermatozoide.

Williams-Ashman y colaboradores; han aclarado el papel de las poliaminas en la fisiología reproductiva con especial énfasis en la acción hormonal. Estudiaron la biosíntesis y oxidación de poliaminas en la próstata ventral de rata. (Fig 7).

La bien establecida estabilización de membranas biológicas y varios polinucleótidos debida a poliaminas conduce a la pregunta de si la espermina seminal beneficia a las células espermáticas ó no. (23,24)

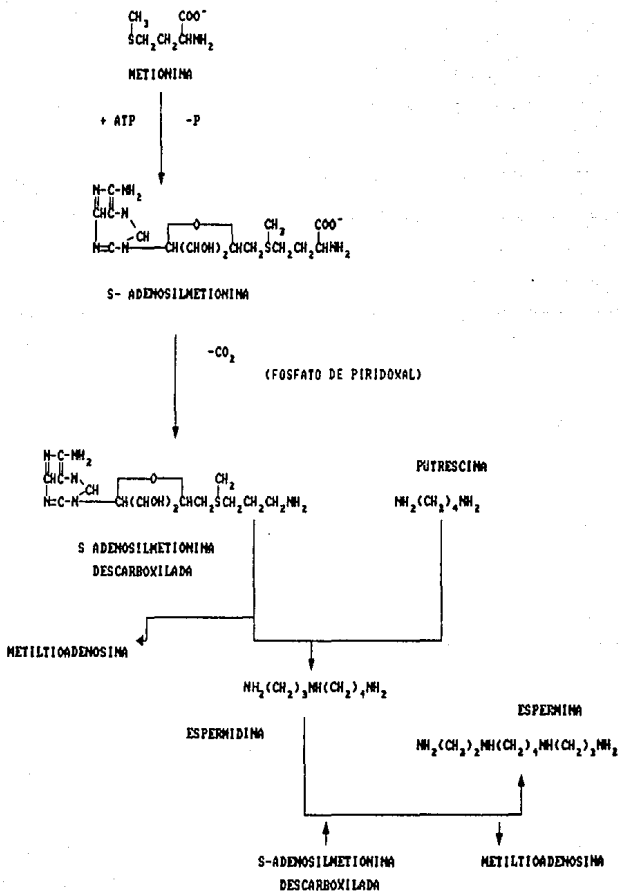


FIGURA 7. SINTESIS DE ESPERMIDINA Y ESPERMINA EN PROSTATA DE RATA

El hecho de que la concentración de espermina en el semen humano sea mucho más alta que en ningún otro tejido y fluido corporal permite varias especulaciones en su papel fisiológico.

Fue encontrado que la espermina no afecta la movilidad espermática en humano y bovino "in vitro". Otros reportes indican que la espermina no tiene efecto benéfico ó nocivo en la movilidad y metabolismo de espermatozoides de mamíferos cuando se adiciona "in vitro". Por otra parte algunos investigadores reportaron que la espermidina activa la movilidad espermática en espermatozoide humano y de conejo. También se ha obtenido evidencia de que la espermina mejora la actividad de la maltasa seminal, la cual incrementa la utilización de glucosa por el espermatozoide y al mismo tiempo reduciendo la utilización de fructosa, además se ha propuesto que la espermina sea un agente antibacteriano aunque la evidencia a favor de esto no sea concluyente. Finalmente se cree que la espermina puede jugar un papel muy importante en la coagulación del semen. ( 24,26,27)

## ARGINASA

### Generalidades.

La arginasa (E.C. 3.5.3.1 L-arginina amidinohidrolasa), cuya existencia fué sospechada por Richet en 1894, fué descubierta por Kossel y Dakin. (11)

La arginasa cataliza la reacción de hidrólisis de L-arginina a L-ornitina y urea (Fig 8 ). En los mamíferos la arginasa existe en la fracción soluble del citoplasma además de en las diversas estructuras celulares como son: mitocondrias, lisosomas, aparato de Golgi además de existir grandes posibilidades de que se encuentre también en el núcleo de la célula.

El peso molecular de la arginasa es de 138,000, es estabilizada por diversos iones metálicos, principalmente manganeso cobalto y níquel, éstos metales se comportan como agentes coordinadores entre la enzima y el sustrato; por el contrario su acción es inhibida por el zinc, al igual que por ciertos aminoácidos básicos como son: lisina, ornitina y serina. El pH óptimo de acción está situado entre 9.8 y 10 en presencia de manganeso. (11)

La fuente más abundante de arginasa está representada por el hígado de animales ureotéticos, ( aquellos donde la urea constituye el último y principal producto del catabolismo proteico) donde es un miembro del sistema enzimático del ciclo de la urea.

La actividad de esta enzima es influenciada por la ingesta de alimento, factores ambientales, factores hormonales y procesos de envejecimiento. ( 62 ), (41).

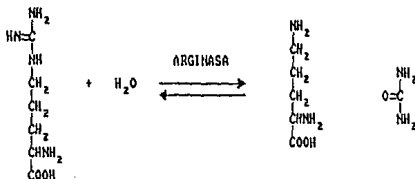
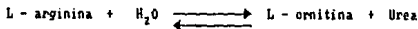


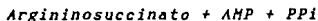
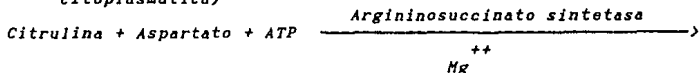
FIGURA 8.

REACCION CATALIZADA POR LA ARGINASA



Posteriormente la citrulina formada abandona la matriz mitocondrial hacia el citoplasma.

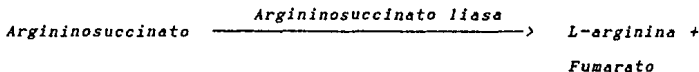
- 3) La conversión de citrulina y aspartato en argininosuccinato catalizado por la argininosuccinato sintetasa (enzima citoplasmática)



El segundo grupo amino necesario para la síntesis de urea llega en forma de aspartato, que lo adquirió a su vez del glutamato por acción de la aspartato transaminasa en el citoplasma.

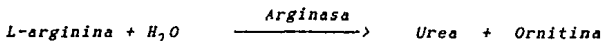
En esta reacción es necesaria la presencia del ATP y el pirofosfato formado en esta reacción queda hidrolizado a fosfato inorgánico.

- 4) Hidrólisis de argininosuccinato para formar L-arginina y fumarato catalizado por argininosuccinato liasa en el citoplasma.



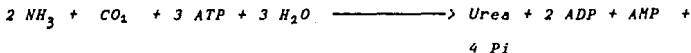
La L-arginina formada en esta reacción se transforma en el precursor inmediato de la urea, mientras que el fumarato retorna al conjunto de intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbóxicos.

- 5) Degradación de arginasa para formar urea y ornitina. Esta reacción es catalizada por la arginasa en el citoplasma.



De esta manera la ornitina, producto final de este ciclo que a su vez queda nuevamente disponible para renovarlo indefinidamente y facilitar la eliminación de urea, además de ser el precursor de la biosíntesis de poliaminas.

La ecuación global del ciclo de la urea es:



La formación de una molécula de urea necesita la hidrólisis de cuatro grupos fosfato de elevada energía aportados por el ATP.

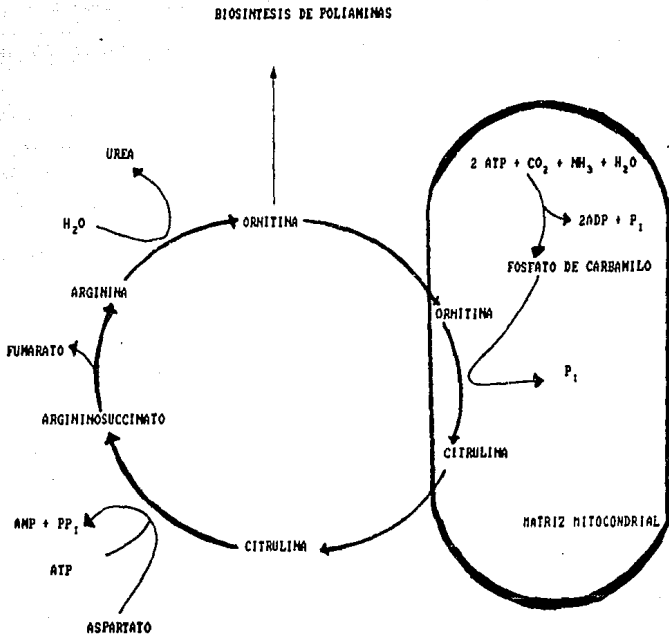
#### ARGINASA EXTRAHEPÁTICA.

Se ha reportado que la actividad de arginasa es encontrada en algunos otros órganos ( Cuadro 7 ) como cerebro, riñón, pulmón, próstata, intestino delgado y otros. (19,20,28,44,52,54,55,). El papel fisiológico de la arginasa extrahepática no es claro en general pero el ciclo de la urea puede operar en algunos órganos como riñón e intestino delgado (30) además de que la hidrólisis de la L-arginina a L-ornitina y urea se considera como el paso inicial en la biosíntesis de poliaminas en tejidos excentos del ciclo de la urea y muestran una apreciable actividad de arginasa (18) (Figura 10). Esta vía, en sí es muy importante ya que estos compuestos policationicos están relacionados con procesos de crecimiento y diferenciación celular. (29)

CUADRO 7. ACTIVIDAD DE ARGINASA EN DISTINTOS ORGANOS.

Tejido de rata.	Arginasa ( $\mu$ / g. de tejido)
Hígado	2545 ± 356
Intestino Delgado	129 ± 21
Epididimo	125 ± 11
Páncreas	183 ± 9
Riñón	56.5 ± 7
Pulmón	5.4 ± 1.9
Cerebro	2.5 ± 0.5
Corazón	0.6 ± 0.03





**FIGURA 9. CICLO DE LA UREA**

## BIOSINTESIS DE POLIAMINAS.

Las poliaminas putrescina, espermidina y espermina son compuestos que se producen de manera natural en todos los tejidos. A pesar de que la función fisiológica de estas aminas no ha sido totalmente entendida a nivel molecular, estudios recientes han mostrado que sus concentraciones son finamente reguladas y que el crecimiento celular normal, la multiplicación y la diferenciación requieren de poliaminas.

Estas moléculas a semejanza de los ácidos nucleicos, aminoácidos y proteínas se encuentran ampliamente distribuidas 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. (48), (50), (60)

La biosíntesis de las poliaminas (Figura 10) es iniciada con la ornitina, (Formada por la acción de la arginasa) la cual es convertida a putrescina por la acción de la ornitino descarboxilasa (ODC).

La putrescina es convertida a espermidina por la acción de una aminopropiltransferasa llamada espermidina sintasa. Una segunda aminopropiltransferasa conocida como espermina sintasa, agrega un grupo propilamina a la espermidina formando la espermina. (48), (50).

## ACTIVIDAD DE ARGINASA EN DISTINTOS ORGANOS.

La actividad de arginasa ha sido estudiada en diversos fluidos y tejidos corporales en diversos estados de desarrollo, reproducción y estados patológicos.

Durante el final de la preñez y el período de lactancia se observa un aumento en la actividad de la arginasa en glándula mamaria comparada sólo con la actividad de arginasa en hígado, esto ha sugerido que la arginasa está involucrada en la formación de prolina en conjunto con la biosíntesis de espermidina a través de putrescina para incrementar la síntesis de proteínas y principalmente la proteína de la leche. Esto es comprobado con el registro de que no hay aumento en el nivel de urea circulante en ese período. (55), (19), (46).

La elevación de actividad de arginasa ha sido observada también en otros tejidos extrahepáticos como en próstata estimulada por tratamiento con andrógenos (30), en espermatozoide en pacientes diabéticos con tratamiento de insulina (14), hiperplasias y carcinomas prostáticos (20,52) y en tejido tiroideo, (28) donde se comprobó que la arginasa en tiroides de rata provee ornitina suficiente como sustrato para la síntesis de putrescina. En este

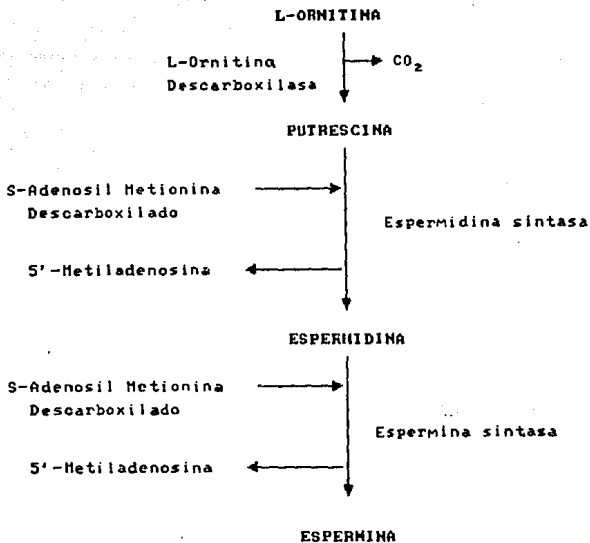


FIGURA 10. BIOSINTESIS DE POLIAMINAS.

caso el ciclo de la urea es inoperante, ya que no se encontraron actividades de otras enzimas implicadas en el ciclo de la urea.

Se han observado también cambios marcados de aumento de actividad de arginasa en suero en: enfermedades cardiopulmonares (44), accidentes vasculares del encéfalo (45), enfermedades hepáticas (43), y cuadros en los que los signos de necrosis son predominantes (como en el caso de la pancreatitis) (11), (42)

#### ARGINASA COMO INDICADOR CLINICO.

La mayoría de las proteínas fabricadas por el organismo son enzimas y su producción debe realizarse de forma equilibrada que permita su correcta integración a las funciones bioquímicas; pero, además la contribución enzimática de un organismo jamás es estática, sino que está sujeta a todo tipo de modificaciones, tanto cualitativas como cuantitativas a través del tiempo. La diferenciación morfológica que ocurre durante el desarrollo ó en alguna enfermedad se acompaña de una diferenciación del esquema enzimático, lo cual determina que en el organismo cada área tisular posea una distribución característica y distintiva de las enzimas. (11)

Se ha llamado a la arginasa "enzima indicador" por la fácil salida y consiguiente elevación en el suero sincrónicamente a la descompensación causada por algún daño tisular ó su disminución en tejido causada por algún cambio metabólico, daño ó factor ambiental u hormonal. (44)

Existe la ventaja de que la determinación de actividad de arginasa no tiene una técnica muy complicada ni costosa, lo que permite su fácil aplicación.

## INSULINA.

### Generalidades.

La insulina es una proteína que está constituida por 51 aminoácidos, está compuesta por dos cadenas de aminoácidos que se conectan entre sí por enlaces disulfuros. Su peso molecular es de 5808 en el caso de la especie humana (56) y 5700 en el caso de la insulina bovina ( Figura 11).

La insulina fué aislada por Banting y Best en 1921 y su estructura química quedó totalmente aclarada gracias a los trabajos de F. Sanger.

Esta hormona polipeptídica es producida por las células B de los islotes de Langerhans del páncreas, éstas células constituyen más del 70 % de la población celular de los islotes y segregan la hormona directamente a la circulación sanguínea. (56)

### SINTESIS DE INSULINA.

La síntesis de la insulina ( Fig 12 ) se inicia en el núcleo de la célula B, donde el gen que codifica la molécula precursora, la preproinsulina, se transcribe en ácido ribonucleico (RNA). El RNA mensajero se transporta al citoplasma; en donde da las instrucciones a los ribosomas anclados en el retículo endoplásmico rugoso (RER) para que ensamblen aminoácidos y formen la preproinsulina.

La presecuencia se corta probablemente cuando la preproinsulina entra en el RER, quedando la proinsulina, se compone esta última de la secuencia de aminoácidos que formará la insulina unida por el péptido C.

La proinsulina unida probablemente a los receptores y las proteasas se transportan en pequeñas vesículas hasta el polo cis del aparato de Golgi. Se desplaza hasta el final de la primera cisterna ó saco de Golgi, en este lugar, se forman por evaginación, vesículas que van hasta la siguiente cisterna y se fusionan con ella. Estas vesículas poseen una membrana con un recubrimiento distinto.

Cuando se alcanza el punto más alejado del aparato de Golgi ó trans, las vesículas recubiertas de clatrina dan lugar a los gránulos de secreción revestidos. En éstos gránulos, las proteasas comienzan a separar el péptido C de la molécula de proinsulina para producir insulina.

Este proceso va acompañado de la pérdida del revestimiento de



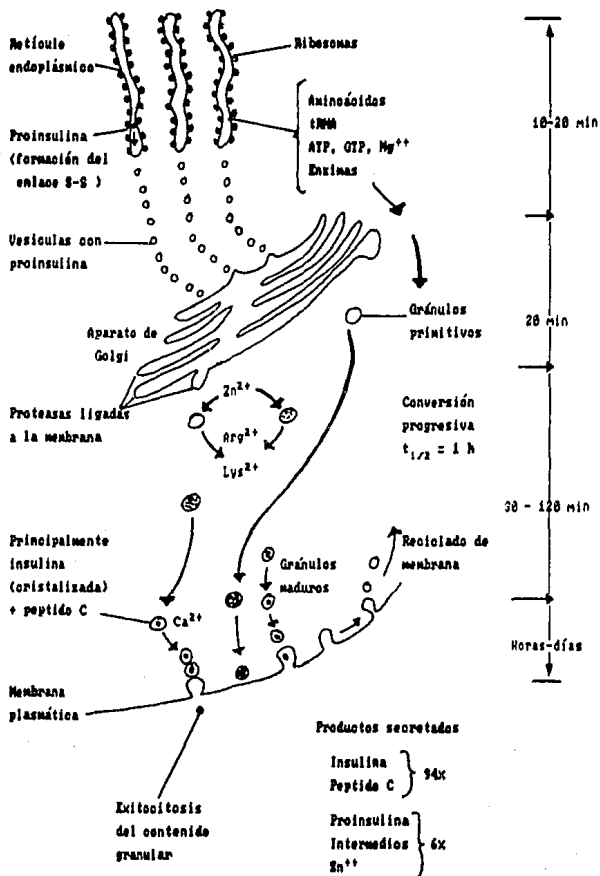


FIGURA 12. SINTESIS DE INSULINA.

ciatrina; el resultado es la formación de los gránulos desnudos que contienen mayoritariamente insulina, que se libera a través de la membrana celular hacia el torrente sanguíneo (8).

#### RECEPTORES DE INSULINA.

La idea de que la insulina se liga a receptores específicos situados en el interior ó sobre sus células blanco, fué propuesto ya hace tiempo pero en los años 60 los experimentos realizados por P. Cuatrecasas proporcionaron nuevos datos en favor de que la unión de la insulina marcada tiene lugar sobre la superficie exterior de la célula además de comprobarse que la insulina se une con gran afinidad a receptores específicos de las células musculares y adiposas, con dependencia del tiempo y de la temperatura.

Cuatrecasas y colaboradores consiguieron extraer la proteína insulino-receptora de las células adiposas mediante detergentes no iónicos y la purificaron por cromatografía de afinidad utilizando perlitas de insulina - agarosa consiguiendo extraer la proteína insulino - receptora que posee un peso molecular de 300 000 y tiene alta afinidad por la insulina (57).

#### EFEECTO DE LA INSULINA EN EL METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS.

Posterior a una ingesta de alimento el nivel de glucosa sanguínea que aumenta, propicia una secreción rápida de insulina que, a su vez, determina la captación rápida, almacenamiento y uso de la glucosa casi por todos los tejidos del organismo (56).

En el cuadro 8, se resumen los efectos de la insulina sobre el metabolismo de carbohidratos.

#### EFEECTO DE LA INSULINA EN EL METABOLISMO DE LAS GRASAS.

La insulina también afecta el metabolismo de las grasas y en especial la falta de insulina a largo plazo tiene repercusiones en el desarrollo de algunas de las complicaciones en la diabetes mellitus como son: el desarrollo de la arterosclerosis que a su vez origina transtornos cardiovasculares.

En el cuadro 9, se resumen los efectos de la insulina y la falta de ésta en el metabolismo de las grasas.



## CUADRO 8. EFECTO DE LA INSULINA SOBRE EL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS.

## LA PRESENCIA DE INSULINA TIENE LOS SIGUIENTES EFECTOS:

1.- Promueve la captación, depósito y uso de glucógeno en hígado por:

- A) Inhibición de la fosforilasa.
- B) Incremento en la actividad de la glucocinasa.
- C) Incremento en la actividad de la fosfofructocinasa.
- D) Aumento de la actividad de la glucogeno sintetasa.

2.- Promueve la conversión de glucosa hepática en ácidos grasos que son depositados como grasa en tejido adiposo.

3.- Inhibe la glucoenólisis

4.- Promueve el metabolismo de glucosa en músculo.

5.- Propicia el depósito de glucógeno en músculo.

6.- Facilita el transporte de glucosa al interior de las células.

## EN AUSENCIA DE INSULINA :

1.- Se anulan los efectos para el depósito de glucógeno.

- A) Disminuye la síntesis de glucogeno.
- B) Se activa nuevamente la fosforilasa.
- C) Se activa la fosfatasa glucosa.

LA PRESENCIA DE INSULINA PROMUEVE:

- 1.- Síntesis y depósito de grasas
  - A) Aumenta la utilización de glucosa y se permite el depósito de grasas.
  - B) Aumenta la síntesis de ácidos grasos.
- 2.- Inhibe la acción de la lipasa hormonasensible. en las células adiposas.
- 3.- Promueve la síntesis de triglicéridos en adipositos.

LA AUSENCIA DE INSULINA PRODUCE:

- 1.- Lipólisis del depósito de grasas y liberación de ácidos grasos.
- 2.- Activación de la lipasa hormonasensible en las células adiposas.
- 3.- Aumento en los almacenes de grasa en el hígado.
- 4.- Aumento de los lípidos en plasma ( fosfolípidos y colesterol).
- 5.- Aumento de la producción de cuerpos cetónicos.
- 6.- Disminución de la captación de glucosa con preferencia a la utilización de ácidos grasos como fuente de energía.

CUADRO 10. EFECTO DE LA INSULINA SOBRE EL METABOLISMO DE LAS PROTEÍNAS.

LA PRESENCIA DE INSULINA PROMUEVE:

- 1.- Síntesis y almacenamiento de proteínas.
  - A) Transporte activo de aminoácidos al interior de la célula.
  - B) Aumenta la traducción del RNA mensajero en los ribosomas.
  - C) Inhibe el catabolismo de las proteínas.

EN AUSENCIA DE INSULINA :

- 1.- Se detiene el almacenamiento de proteínas.
- 2.- Aumenta el catabolismo de las proteínas.
  - A) Aumenta la formación de urea.
- 3.- Aumenta el transporte de aminoácidos al plasma.

## EFFECTO DE LA INSULINA EN EL METABOLISMO DE LAS PROTEINAS Y EL CRECIMIENTO.

Quando se disponen de cantidades excesivas de nutrientes en la sangre circulante, no sólo se almacenan carbohidratos y grasas en los tejidos, sino también proteínas, para que ocurra esto es necesaria la presencia de insulina. El mecanismo mediante el cual se promueve este almacenamiento no es muy claro, pero se sabe que la insulina fomenta la formación de proteínas y también que impide su degradación.

Los efectos de la insulina sobre el metabolismo de proteínas se resumen en el cuadro 10.

### CONTROL DE LA SECRECIÓN DE INSULINA.

Existen varios factores que regulan la producción de insulina; entre ellos se encuentran:

#### 1.- Concentración de glucosa sanguínea. ( Figura 13 )

Después de un incremento en la concentración de la glucosa sanguínea mayor a los límites normales, ocurre un incremento en la secreción bifásica de insulina, una etapa de secreción rápida y una secreción retrasada pero más elevada y sostenida.

Este es un mecanismo de retroalimentación, ya que la hiperglicemia incrementa la secreción de insulina y ésta a su vez aumenta la entrada de glucosa a la célula con lo cual se reduce la glucemia.

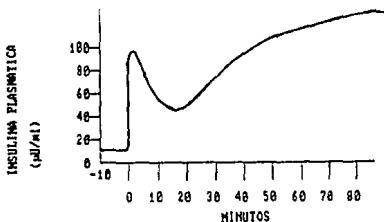


FIGURA. 13.

RESPUESTA BIFASICA NORMAL DE INSULINA AL NIVEL ALTO DE GLUCOSA SANGUINEA.

## 2.- Hormonas gastrointestinales.

Las hormonas gastrointestinales: colecistocinina, secretina, péptido gástrico inhibidor y gastrina, producen un aumento en la secreción de insulina probablemente como preparación para la absorción de glucosa y aminoácidos de los alimentos consumidos.

## 3.- Otras hormonas y sistema nervioso central.

El glucagón, hormona del crecimiento, cortisol y en menor grado progesterona y estrógenos potencian de manera directa la secreción de insulina.

Su efecto prolongado y en grandes cantidades (aportadas por fármacos) pueden producir agotamiento de las células B y por lo tanto producir un tipo de diabetes llamado diabetes insípida.

Dajo ciertas condiciones, la estimulación de los nervios parasimpáticos ó simpáticos que inervan el páncreas pueden incrementar la secreción de insulina.

## 4.- Aminoácidos.

Las proteínas y los aminoácidos pueden estimular la secreción de insulina bajo condiciones fisiológicas. Los aminoácidos pueden actuar como secretagogos estimulando la secreción de insulina en ausencia de glucosa (33). La leucina, arginina y lisina son los más potentes secretagogos. Su mecanismo de acción es todavía desconocido y las teorías que involucran dicho mecanismo como un paso inicial obligatorio metabólico se contraponen con aquellos mecanismos de reconocimiento de membrana, transporte y mecanismos de depolarización de membrana secundarios a la acumulación de aminoácidos cargados positivamente en las células B. (16)

La leucina fué el primer aminoácido cuya acción como secretagogo fué estudiada, pero los experimentos con dietas altamente proteicas mostraron que la estimulación de las células B no puede ser solamente atribuída a su contenido de leucina.

Los aminoácidos esenciales individuales propician la secreción de insulina, reconociéndose como el más potente a la arginina y la lisina. Se ha mostrado que el efecto es independiente de cambios concomitantes en el nivel de la glucosa sanguínea además de que se ha demostrado el sinergismo entre varios aminoácidos y la glucosa. (16) (32)

Se ha estudiado también la respuesta de la secreción de insulina en ratas diabéticas y se encontró dicha respuesta disminuída (26), (35), (36), además de que esto coincide con casos de diabetes tipo 2 en humanos.

Hay poca información disponible concerniente al efecto de la edad en la respuesta de las células B a los secretagogos de insulina además de glucosa, pero existen trabajos cuyos resultados demuestran que la secreción de insulina por las células B declina con la edad y este cambio es aparentemente independiente de la naturaleza del secretagogo estudiado (67).

## ARGININA.

### GENERALIDADES.

La L-arginina es un aminoácido esencial, dibásico, cargado positivamente y de peso molecular de 174.

Es un constituyente normal de las proteínas del cuerpo y está asociado con las reacciones esenciales del metabolismo intermediario. (57)

Algunas de los procesos en los cuales participa la L-arginina son:

- 1.- Ciclo de la urea.
- 2.- Ciclo de los ácidos tricarbóxicos.
- 3.- Contribuye a la formación de las histonas.
- 4.- Síntesis de poliaminas.
- 5.- Síntesis de creatinina.
- 6.- Estimula la producción de insulina.
- 7.- Síntesis de proteínas.

### ARGININA Y MOVILIDAD ESPERMÁTICA.

La estimulación en la movilidad del espermatozoide se correlaciona con la concentración de L-arginina ya que este aminoácido es de gran importancia para una espermatogénesis normal y para el mantenimiento de la movilidad espermática "in vivo". Esto sugiere que la estimulación por L-arginina podría ser una función del metabolismo endógeno del espermatozoide.

En algunos trabajos se ha observado que la molécula de L-arginina no sufre cambios, lo cual sugiere que una modificación de L-arginina no es responsable de la disminución de estimulación de la movilidad espermática. (64)

En 1973, Scharttler y colaboradores informaron que un tratamiento de administración oral de L-arginina a pacientes oligospermicos incrementó la concentración de espermatozoides y su movilidad. También se ha reportado que la espermatogénesis en ratas adultas disminuye con dietas pobres en arginina. (65)

**HIPOTESIS:**

- 1.- *La actividad de arginasa disminuye en las glándulas sexuales accesorias de rata durante la diabetes inducida con aloxana. (120 mg por kg de peso i.v.)*
- 2.- *La disminución de la actividad de arginasa en glándulas sexuales accesorias ocurre en diferente proporción en cada glándula.*
- 3.- *La actividad de arginasa aumenta en suero de ratas durante la diabetes inducida con aloxana.*
- 4.- *El tratamiento con insulina (0.15 unidades por kg. de peso) de la diabetes inducida con aloxana tiende a aumentar la actividad de arginasa de las glándulas sexuales accesorias a niveles normales.*
- 5.- *El tratamiento de la diabetes inducida con arginina (5 mg. por kg. de peso) a corto y a largo plazo ( 2 horas y 3 días respectivamente) tiende a normalizar la actividad de arginasa en las glándulas sexuales accesorias sobre todo el tratamiento a largo plazo.*
- 6.- *La recuperación de la actividad de arginasa en las glándulas sexuales accesorias de rata es más notoria en el tratamiento con insulina que con el tratamiento con arginina.*

## MATERIALES Y METODO.

### **MATERIALES:**

#### *Material Biológico:*

Se emplearon ratas macho de la cepa Long Evans de 250 a 300 g. de peso, mantenidas en un bioterio en condiciones adecuadas de alimentación, temperatura y limpieza.

#### *Material Químico:*

En este se incluyen todos los reactivos necesarios para las diferentes determinaciones. (Ver Apéndice).

### **METODO:**

Las ratas se agruparon 7 grupos, cada grupo contenía un total de 5 ratas. A continuación se describe el tratamiento que se le dió a cada grupo de ratas.

Una vez aplicado el tratamiento en cada grupo las ratas se anestesiaron con 0.35 ml. de dehydrobenzperidol (25 mg./ml.) y 0.6 ml. de ketamina (50 mg./ml) i.m., después se obtuvo una muestra de sangre de la aorta abdominal. Posteriormente se disecan las glándulas sexuales accesorias (Fig 5). Las muestras de sangre y las glándulas sexuales accesorias se procesaron siguiendo el esquema de las figuras 14 y 15. Para determinar los diferentes parámetros bioquímicos, se aplicaron las técnicas descritas en las figuras 16 - 18.

## DESCRIPCION DE LOS GRUPOS TRATADOS.

- GRUPO 1 :** CONTROL.- Ratas a las cuales no se les aplicó tratamiento alguno.
- GRUPO 2 :** DIABETICO DE 72 HORAS.- Ratas tratadas con aloxana, en una dosis de 120 mg. / Kg. de peso, (i.v.), disuelta en solución salina al 0.9%. Lo cual produce un estado diabético inducido, por daño específico a las células B del páncreas, dichas ratas se sacrificaron a las 72 horas de aplicada la aloxana.
- GRUPO 3 :** DIABETICO DE 96 HORAS.- Ratas tratadas en las mismas condiciones del grupo 2. Sacrificadas a las 96 horas de aplicada la aloxana.
- GRUPO 4 :** DIABETICO TRATADO CON INSULINA POR 2 DIAS.- Ratas tratadas como los grupos 2 y 3. Después de las 96 horas se les trató con insulina de acción intermedia, en una dosis de 0.15 unidades / Kg. de peso (i.m.) diariamente por 2 días, después de los cuales se sacrificaron.
- GRUPO 5 :** DIABETICO TRATADO CON INSULINA POR 3 DIAS.- Ratas tratadas como en el grupo 4. Después de las 96 horas, se les trató con insulina de acción intermedia, en una dosis de 0.15 unidades / Kg. de peso (i.m.) diariamente por 3 días, después de los cuales se sacrificaron.
- GRUPO 6 :** DIABETICO TRATADO CON ARGININA POR 2 HORAS.- Ratas tratadas con aloxana, en una dosis de 120 mg. /Kg. de peso (i.v.) disuelta en solución salina al 0.9%. Después de las 96 horas, se les trató con 1 mg. de arginina /Kg. de peso (i.p.) disuelta en solución salina al 0.9%, 2 horas antes del sacrificio.
- GRUPO 7 :** DIABETICO TRATADO CON ARGININA POR 3 DIAS.- Ratas tratadas con aloxana, en una dosis de 120 mg. /Kg. de peso (i.v.) disuelta en solución salina al 0.9%. Después de las 96 horas, se les trató con 5 mg. de arginina / Kg. de peso (i.p.) disuelta en solución salina al 0.9%, diariamente por 3 días, después de los cuales se sacrificaron.



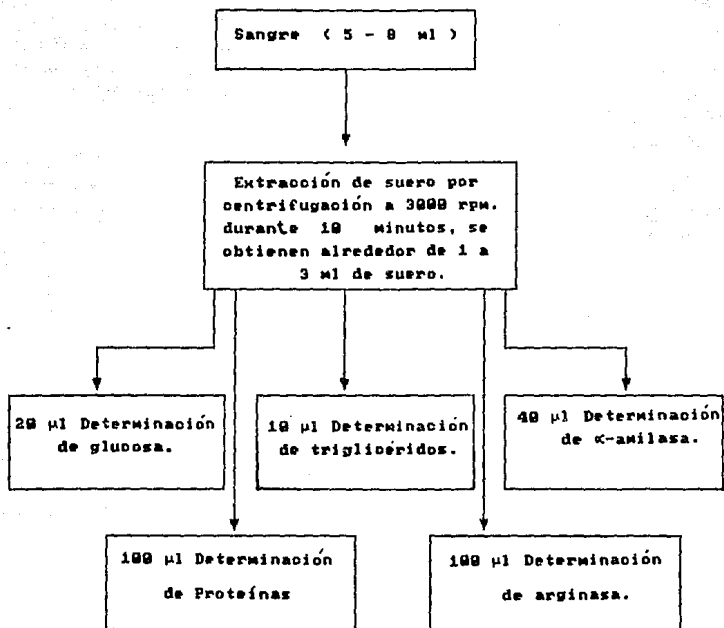


FIGURA 15.

DIFERENTES PARAMETROS DETERMINADOS EN LA MUESTRA DE SANGRE DE RATAS NORMALES, DIABÉTICAS Y DIABÉTICAS TRATADAS CON INSULINA Y ARGININA.

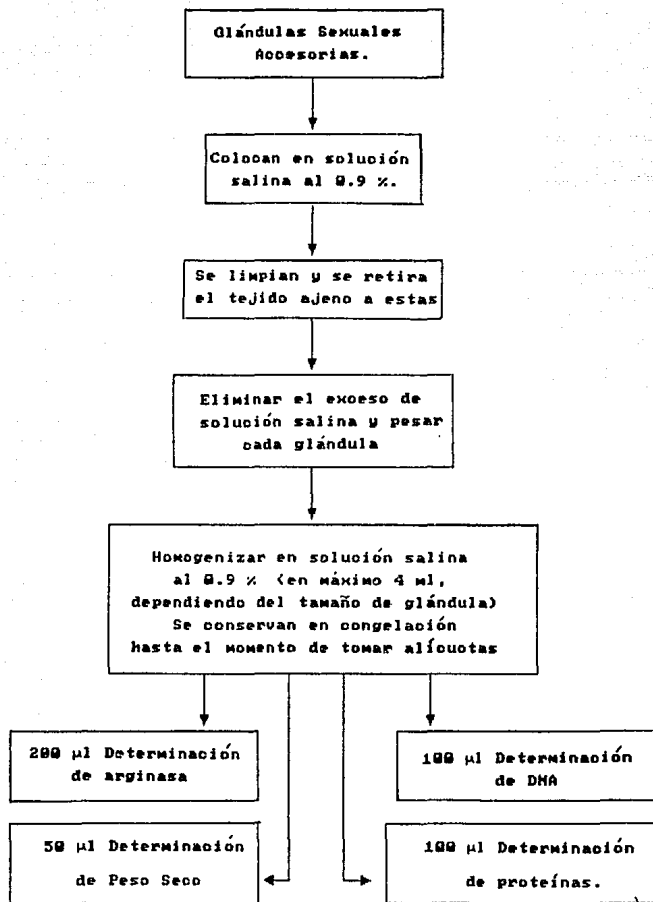
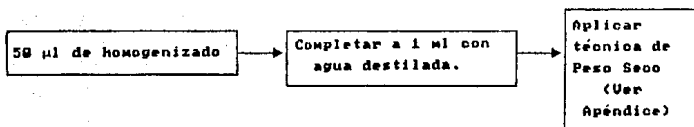


FIGURA 16.  
DETERMINACIONES EN EL TEJIDO GLANDULAR DE RATA BAJO CONDICIONES EXPERIMENTALES DESCRITAS.

## PESO SECO.



## PROTEINAS.

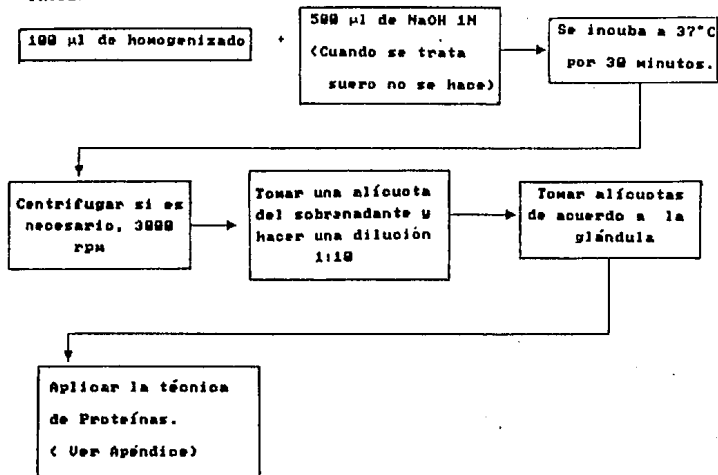


FIGURA 17.  
 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA LAS  
 DISTINTAS DETERMINACIONES.

## ARGINASA.

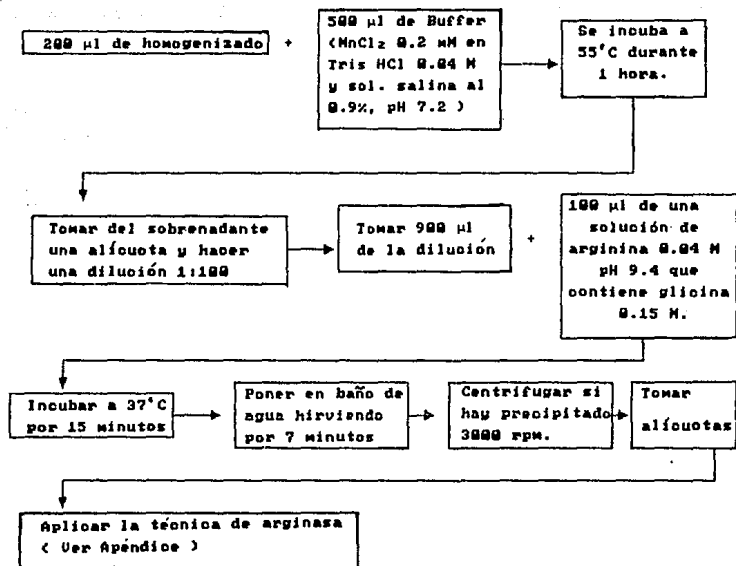


FIGURA 18.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA LA DETERMINACION DE ARGINASA.

DNA.

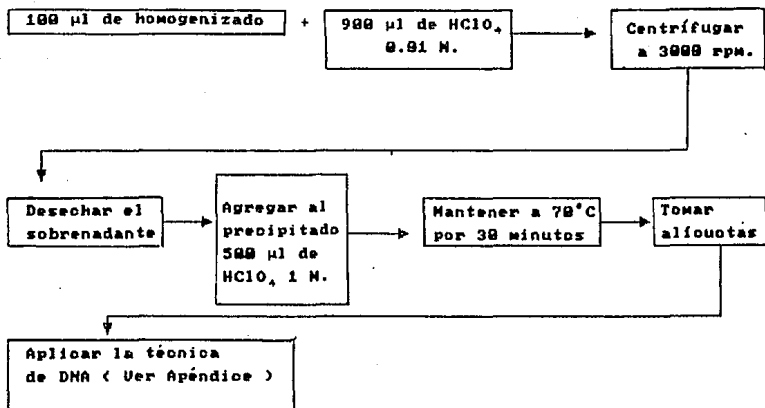


FIGURA 19.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA LA  
DETERMINACIÓN DE DNA.

**RESULTADOS.**

Los resultados obtenidos se presentan en forma de tablas y gráficas.

Primeramente se mostrarán tablas que contienen los resultados de los parámetros bioquímicos medidos en suero, (glucosa, triglicéridos, proteínas,  $\alpha$ -amilasa y actividad de arginasa).

Posteriormente se mostrarán las gráficas de cada uno de estos parámetros en los distintos tratamientos ya antes descritos.

A continuación se mostrarán las tablas que contienen los resultados obtenidos de actividad de arginasa en cada una de las glándulas sexuales accesorias. (vesícula seminal, glándulas coagulantes, próstata, glándulas ampulares, glándulas bulbouretrales y glándulas prepuciales.) así como los resultados obtenidos de concentración de DNA en dichas glándulas en cada uno de los tratamientos ya descritos.

Posteriormente se mostrarán las gráficas correspondientes a cada glándula en los distintos tratamientos.

Finalmente se discutirán por escrito las diferencias observadas entre los resultados obtenidos en parámetros medidos en suero y en actividad de arginasa de las distintas glándulas en los grupos estudiados.

## PARAMETROS BIOQUIMICOS MEDIDOS EN SUERO.

GRUPOS TRATADOS (n = 3)	DETERMINACIONES EN SUERO		
	GLUCOSA mg/dl	TRIGLICERIDOS mg/dl	PROTEINAS EN SUERO g/x
I.- Control	128 ± 7.3	48.14 ± 6.22	8.58 ± 1.2
II.- Diabético de 72 horas	329 ± 82 <sup>N</sup>	57.86 ± 7.09 <sup>N</sup>	8.98 ± 0.88
III.- Diabético de 96 horas	338 ± 53 <sup>N</sup>	87.33 ± 6.73 <sup>N</sup>	8.89 ± 0.31
IV.- Diabético de 96 horas tratado con insulina 2 días	32 ± 2.3 <sup>N</sup>	36.85 ± 9.88	7.95 ± 0.33
V.- Diabético de 96 horas tratado con insulina 3 días	66 ± 16.9 <sup>N</sup>	38.54 ± 5.4	7.99 ± 0.95
VI.- Diabético de 96 horas tratado con arginina 2 horas	399 ± 84.8 <sup>N</sup>	58.51 ± 8.75	8.43 ± 0.84
VII.- Diabético de 96 horas tratado con arginina 3 días	459 ± 16.3 <sup>N</sup>	81.26 ± 15.08 <sup>N</sup>	9.04 ± 0.36

\* Diferencia significativa con el control.  $p < 0.005$

Según prueba estadística de Fisher.

## PARAMETROS BIOQUIMICOS MEDIDOS EN SUERO.

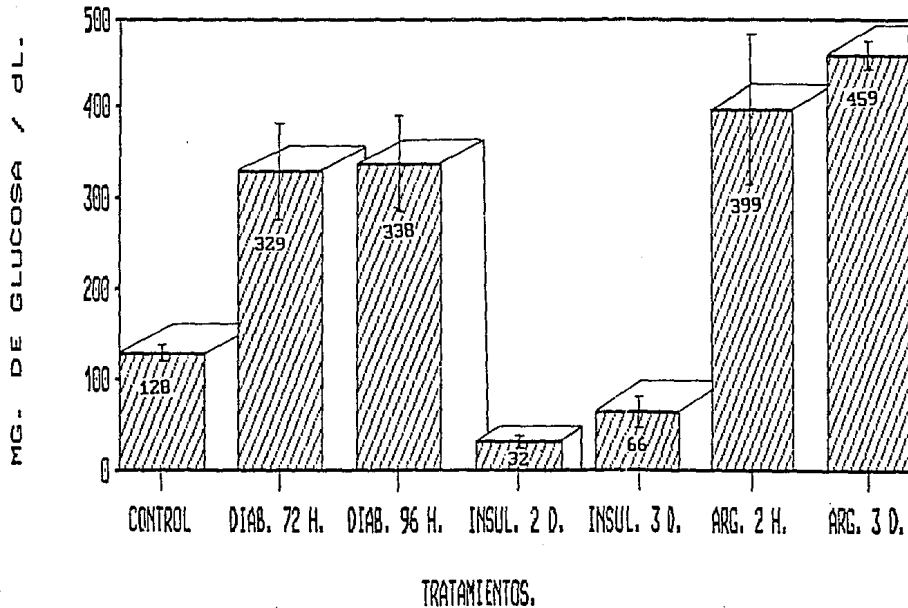
GRUPOS TRATADOS (n = 5)	DETERMINACIONES EN SUERO	
	< - AMILASA U / L	ACTIVIDAD DE ARGININASA EN SUERO µmol urea/mg prot min
I.- Control	1240.57 ± 224.3	4.91 ± 0.35
II.- Diabético de 72 horas	790.3 ± 85.3 <sup>#</sup>	7.45 ± 1.02 <sup>#</sup>
III.- Diabético de 96 horas	679.86 ± 72.1 <sup>#</sup>	11.3 ± 1.62 <sup>#</sup>
IV.- Diabético de 96 horas tratado con insulina 2 días	971.23 ± 186.85 <sup>#</sup>	20.5 ± 9.58 <sup>#</sup>
V.- Diabético de 96 horas tratado con insulina 3 días	1294.74 ± 120.63	15.1 ± 3.73 <sup>#</sup>
VI.- Diabético de 96 horas tratado con arginina 2 horas	842.22 ± 132 <sup>#</sup>	16.3 ± 1.76 <sup>#</sup>
VII.- Diabético de 96 horas tratado con arginina 3 días	1297.9 ± 91.95	6.2 ± 1.6 <sup>#</sup>

# Diferencia significativa con el control. p < 0.005

Según prueba estadística de Fisher.



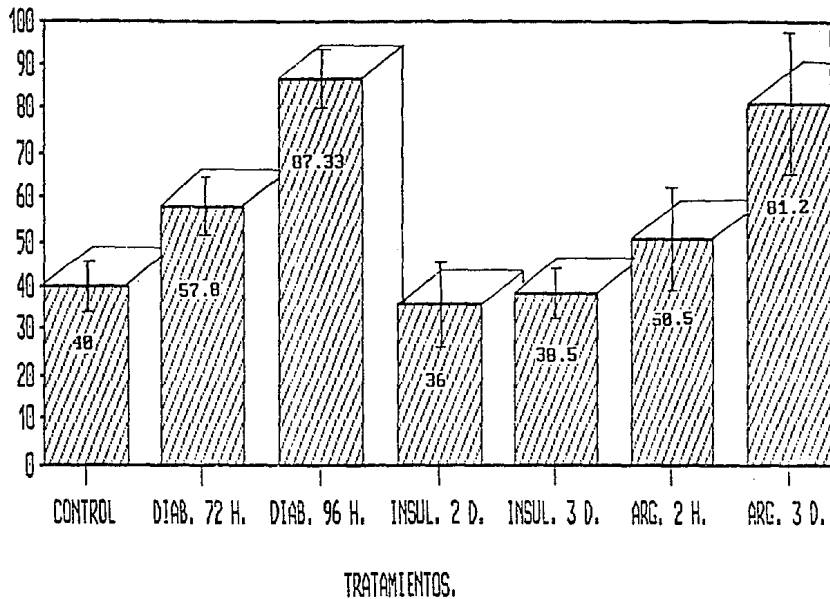
# GLUCOSA EN SUERO EN LOS GRUPOS TRATADOS



*Niveles de glucosa sanguínea obtenidos de los grupos sometidos a los diferentes tratamientos.*

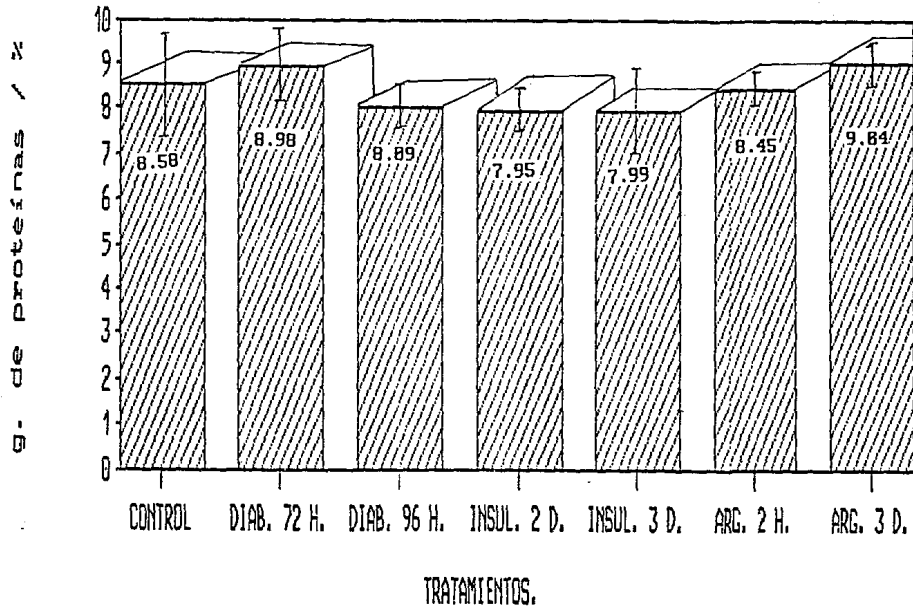
TRIGLICERIDOS EN SUERO  
EN LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS.

MG. DE TRIGLICERIDOS / DL.



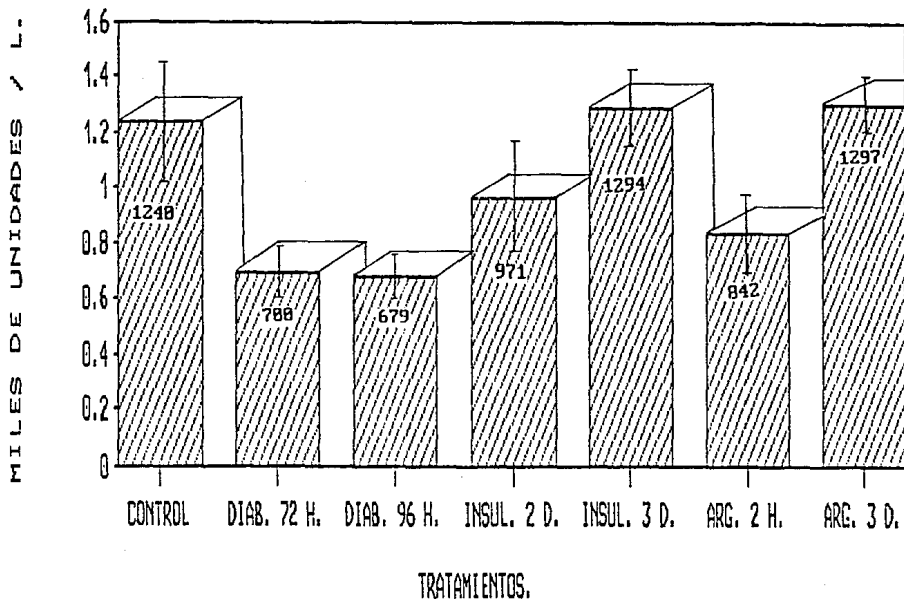
*Niveles de triglicéridos sanguíneos obtenidos de los grupos sometidos a los diferentes tratamientos.*

# PROTEINAS EN SUERO EN LOS GRUPOS TRATADOS



*Niveles de proteínas sanguíneas obtenidos de los grupos sometidos a los diferentes tratamientos.*

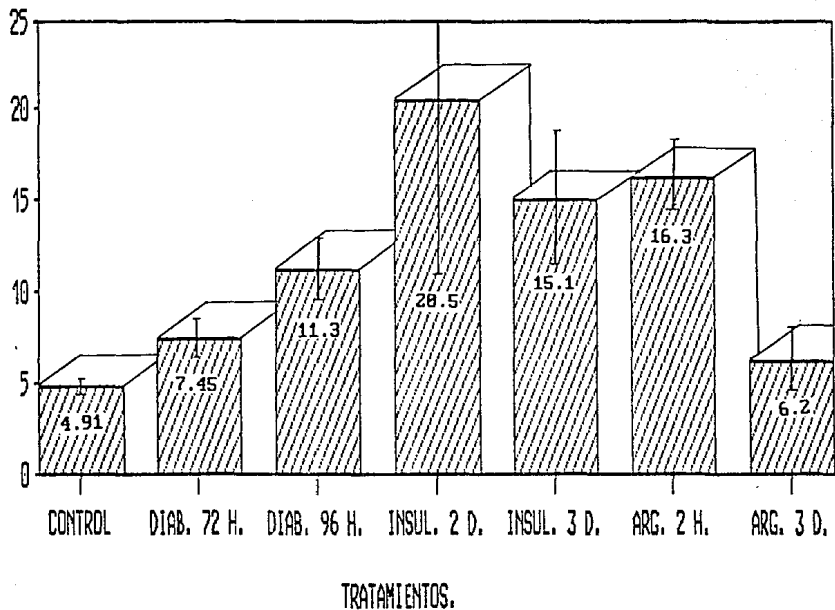
ACTIVIDAD DE  $\alpha$ -AMILASA SERICA.  
EN LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS.



*Niveles de actividad de  $\alpha$ -amilasa sanguínea obtenidos de los grupos sometidos a los diferentes tratamientos.*

μMOL UREA / G. PROTEINA / MIN

### ACTIVIDAD DE ARGINASA SERICA EN LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS.



*Niveles de actividad de arginasa sanguínea obtenidos de los grupos sometidos a los diferentes tratamientos.*

## ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS

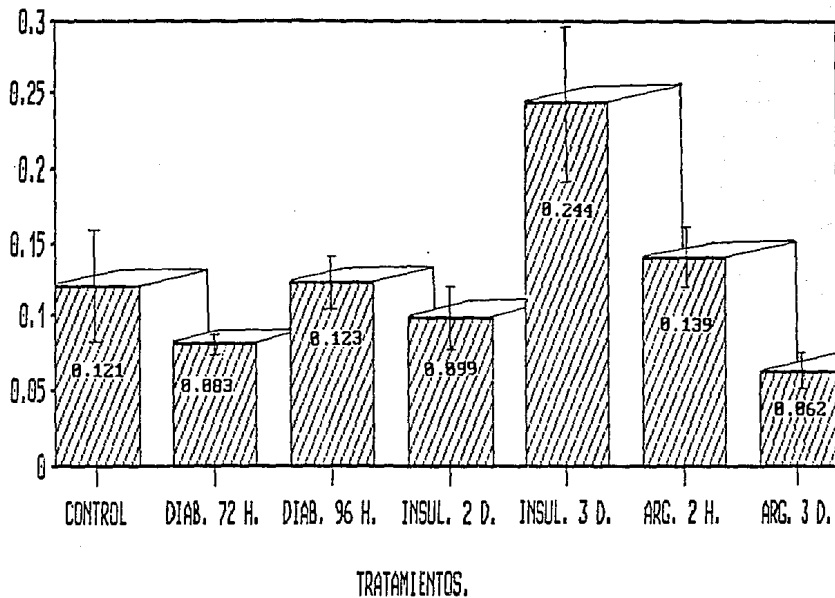
GRUPOS (n = 3)	ACTIVIDAD DE ARGINASA $\mu$ moles de urea / mg proteina / min					
	VESICULA SEMINAL	GLANDULAS COAGULANTES	PROSTATA	GLANDULAS AMPULARES	GLANDULAS BULBOURETRALES	GLANDULAS PREPUCIALES
I.- Control	0.121 $\pm$ 0.04	0.610 $\pm$ 0.054	0.457 $\pm$ 0.07	0.810 $\pm$ 0.099	0.603 $\pm$ 0.076	0.456 $\pm$ 0.098
II.- Diabético de 72 horas	" 0.002 $\pm$ 0.007	" 0.511 $\pm$ 0.001	" 0.273 $\pm$ 0.06	" 0.400 $\pm$ 0.162	" 0.641 $\pm$ 0.066	" 0.402 $\pm$ 0.069
III.- Diabético de 96 horas	" 0.123 $\pm$ 0.02	" 0.606 $\pm$ 0.042	" 0.260 $\pm$ 0.09	" 0.543 $\pm$ 0.109	" 0.514 $\pm$ 0.051	" 0.380 $\pm$ 0.004
IV.- Diabético de 96 horas tratado con insulina por 2 días	" 0.099 $\pm$ 0.03	" 1.221 $\pm$ 0.250	" 0.200 $\pm$ 0.04	" 1.032 $\pm$ 0.035	" 1.952 $\pm$ 0.093	" 0.539 $\pm$ 0.094
V.- Diabético de 96 horas tratado con insulina por 3 días	" 0.244 $\pm$ 0.06	" 4.116 $\pm$ 0.965	" 0.490 $\pm$ 0.01	" 2.509 $\pm$ 0.626	" 4.157 $\pm$ 0.993	" 1.247 $\pm$ 0.245
VI.- Diabético de 96 horas tratado con arginina por 2 horas	" 0.139 $\pm$ 0.023	" 0.391 $\pm$ 0.051	" 0.176 $\pm$ 0.06	" 0.430 $\pm$ 0.09	" 0.730 $\pm$ 0.070	" 0.247 $\pm$ 0.041
VII.- Diabético de 96 horas tratado con arginina por 3 días	" 0.062 $\pm$ 0.013	" 0.557 $\pm$ 0.004	" 0.522 $\pm$ 0.05	" 0.041 $\pm$ 0.193	" 0.070 $\pm$ 0.119	" 0.344 $\pm$ 0.070

\* Significativamente diferentes al control  $p < 0.005$

Según prueba estadística de Fisher.

μMOLES UREA / MG. PROTEINA / MIN

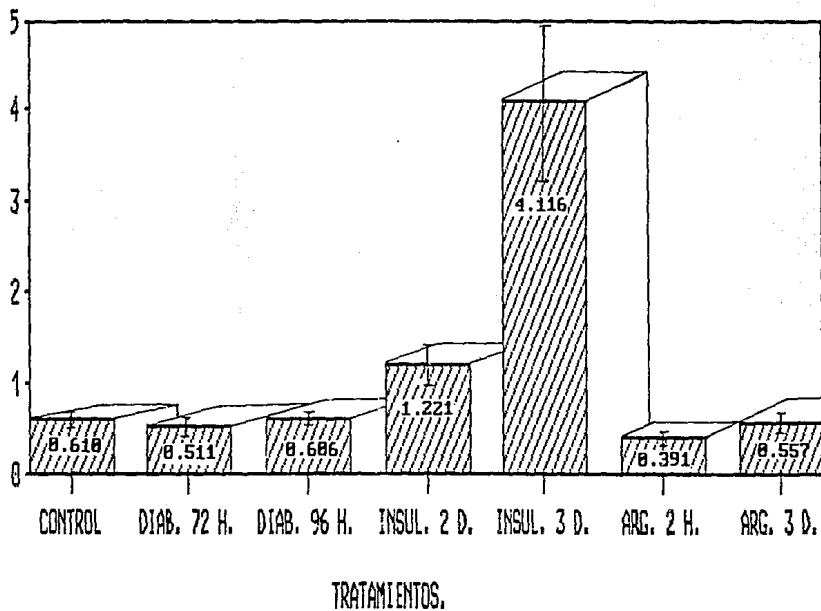
### ACTIVIDAD DE ARGINASA EN VESÍCULA SEMINAL.



*Actividad de arginasa observada en vesícula seminal de rata en los diferentes tratamientos.*

μMOL UREA / MG. PROTEINA / MIN

### ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLÁNDULAS COAGULANTES.

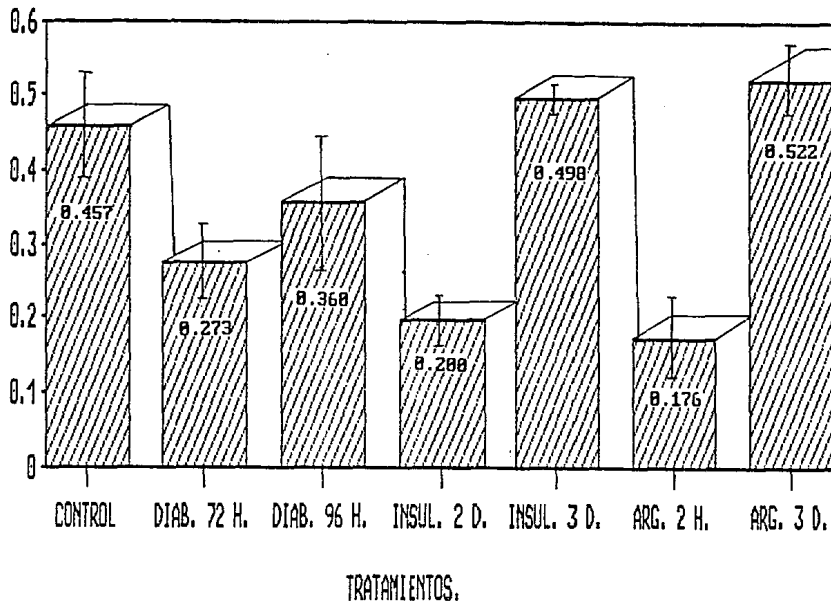


Actividad de arginasa observada en glándulas coagulantes de rata  
en los diferentes tratamientos.



UMOLAS UREA / MG. PROTEINA/MIN

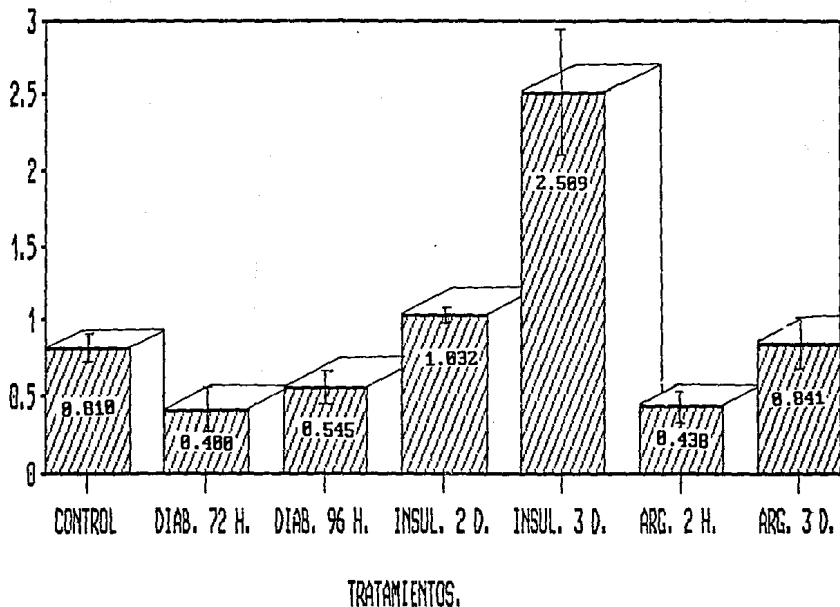
### ACTIVIDAD DE ARGINASA EN PROSTATA.



Actividad de arginasa observada en próstata de rata en los diferentes tratamientos.

μMOLES UREA / MG. PROTEINA / MIN

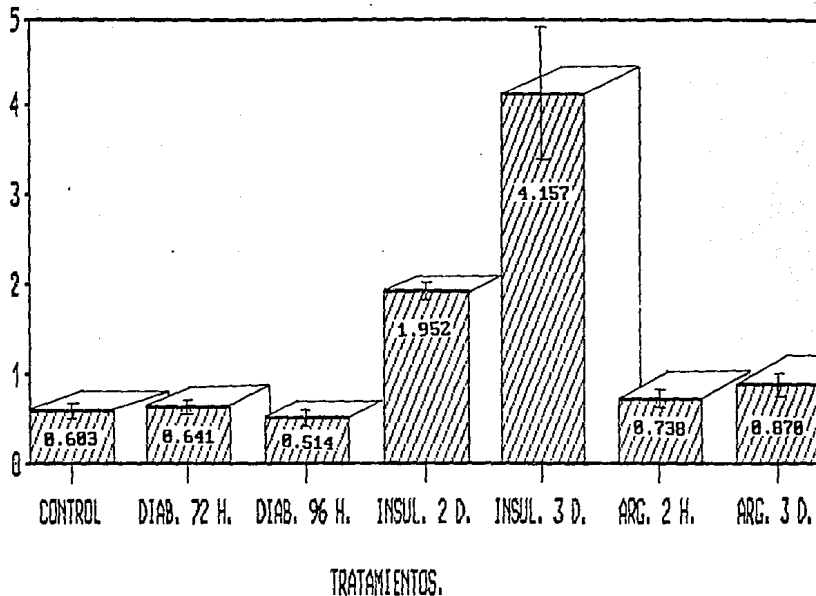
### ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS AMPULARES.



*Actividad de arginasa observada en glándulas ampulares de rata en los diferentes tratamientos.*

μMOLES UREA / MG. PROTEINA / MIN

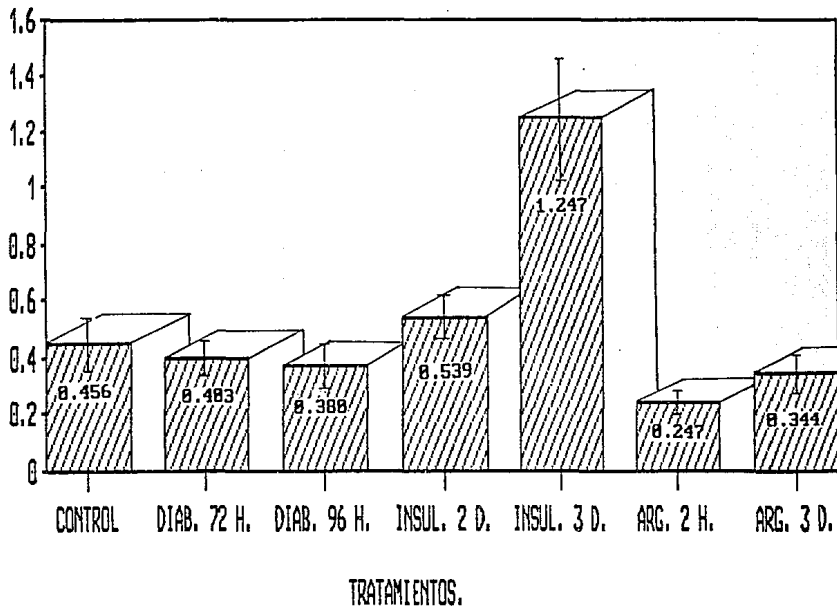
### ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS BULBOURETRALES.



Actividad de arginasa observada en glándulas bulbouretrales de  
rata en los diferentes tratamientos.

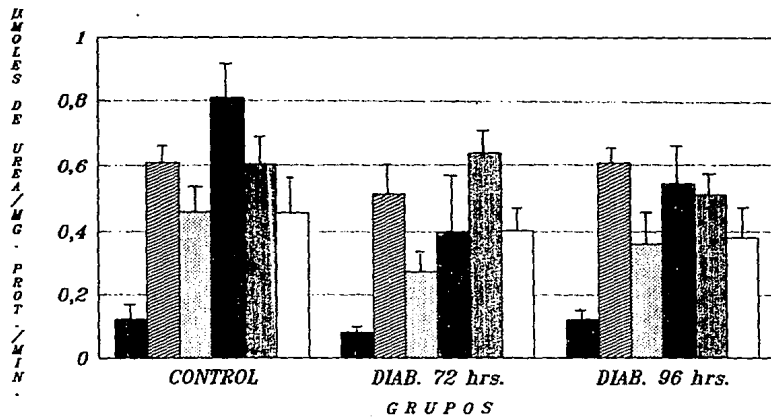
μMOLES UREA / MG. PROTEINA / MIN

### ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS PREPUCALES.



*Actividad de arginasa observada en glándulas prepucales de rata en los diferentes tratamientos.*

## COMPARACION DE ACTIVIDAD DE ARGINASA EN LOS GRUPOS CONTROL Y DIABETICOS.



■ V. SEMINAL

▨ G. COAGULANTE

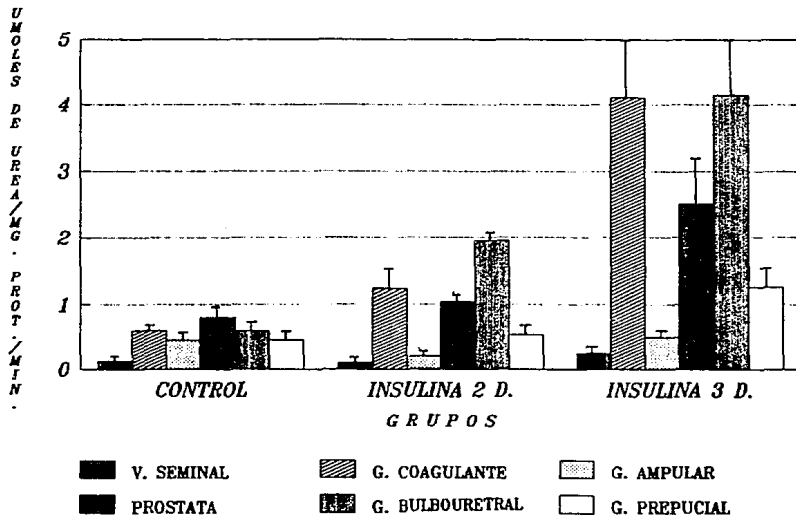
▤ G. AMPULAR

■ PROSTATA

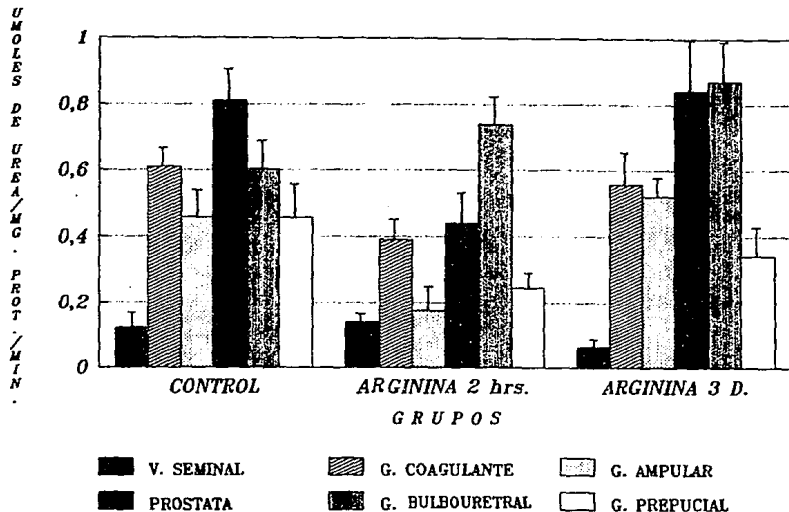
▨ G. BULBOURETRAL

▤ G. PREPUCIAL

# COMPARACION DE ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GRUPOS CONTROL Y TRATADOS CON INSULINA



## COMPARACION DE ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GRUPOS CONTROL Y TRATADOS CON ARGININA



## CONCENTRACION DE DNA EN GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS

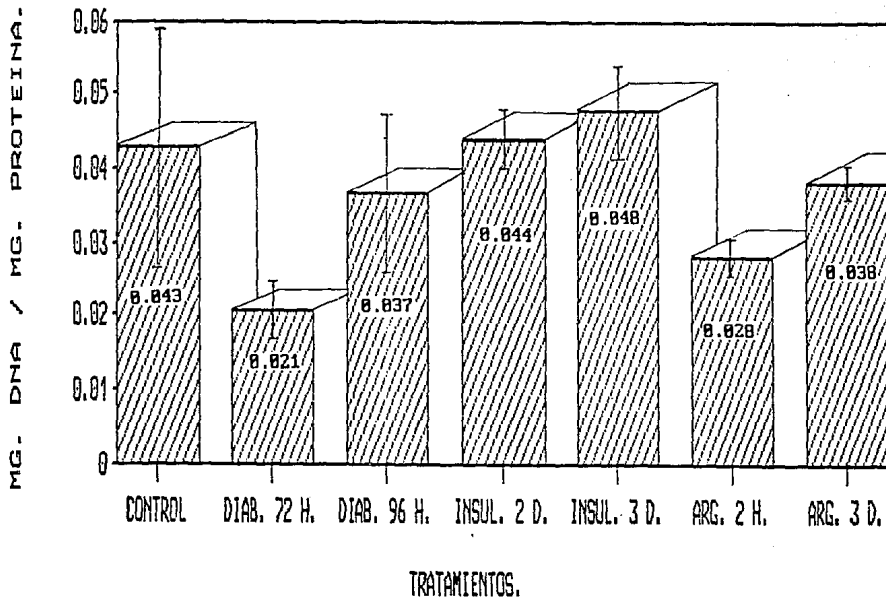
GRUPOS (n=5)	CONCENTRACION DE DNA $\mu\text{g de DNA} / \mu\text{g proteina}$					
	VESICULA SEMINAL	GLANDULAS COAGULANTES	PROSTATA	GLANDULAS AMPULARES	GLANDULAS BULBOURETRALES	GLANDULAS PREPUCIALES
I.- Control	0.043 ± 0.017	0.122 ± 0.24	0.121 ± 0.015	0.077 ± 0.014	0.117 ± 0.011	0.162 ± 0.016
II.- Diabético de 72 horas	0.021 ± 0.004	0.0722 ± 0.014	0.067 ± 0.003	0.062 ± 0.004	0.074 ± 0.005	0.099 ± 0.010
III.- Diabético de 96 horas	0.037 ± 0.011	0.11 ± 0.028	0.103 ± 0.008	0.071 ± 0.004	0.065 ± 0.0041	0.106 ± 0.028
IV.- Diabético de 96 horas tratado con insulina por 2 días	0.044 ± 0.004	0.14 ± 0.013	0.131 ± 0.026	0.152 ± 0.007	0.185 ± 0.0164	0.164 ± 0.06
V.- Diabético de 96 horas tratado con insulina por 3 días	0.048 ± 0.006	0.17 ± 0.025	0.25 ± 0.025	0.23 ± 0.039	0.27 ± 0.078	0.22 ± 0.06
VI.- Diabético de 96 horas tratado con arginina por 2 horas	0.028 ± 0.002	0.088 ± 0.014	0.099 ± 0.004	0.08 ± 0.006	0.11 ± 0.026	0.083 ± 0.007
VII.- Diabético de 96 horas tratado con arginina por 3 días	0.038 ± 0.002	0.14 ± 0.028	0.12 ± 0.037	0.19 ± 0.024	0.12 ± 0.022	0.116 ± 0.015

\* Significativamente diferentes al control  $p < 0.005$ 

Según prueba estadística de Fisher.

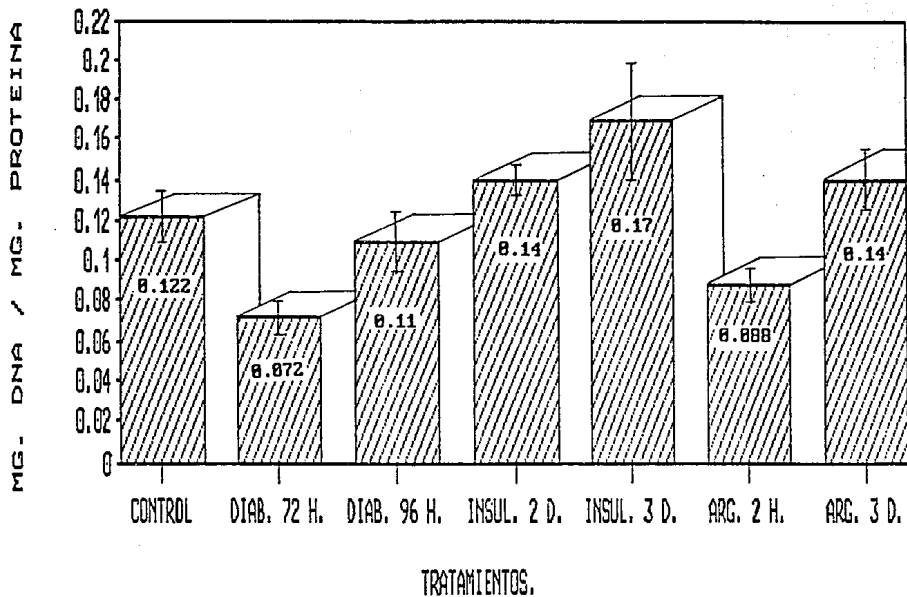


CONCENTRACION DE DNA  
EN VESICULA SEMINAL.



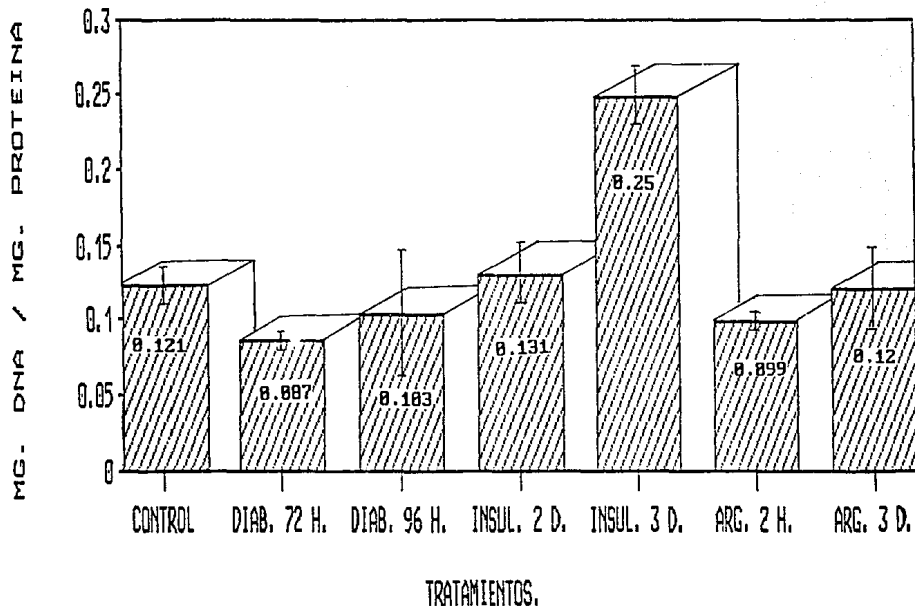
Concentración de DNA encontrada en vesícula seminal de rata en los diferentes tratamientos.

CONCENTRACION DE DNA  
EN GLANDULAS COAGULANTES.



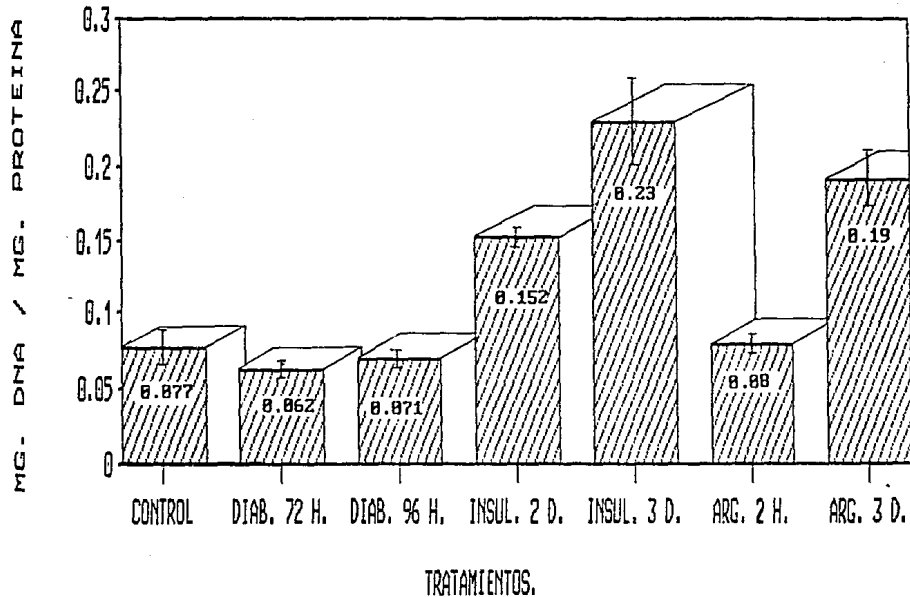
Concentración de DNA encontrada en glándulas coagulantes de rata en los diferentes tratamientos.

CONCENTRACION DE DNA  
EN PROSTATA.



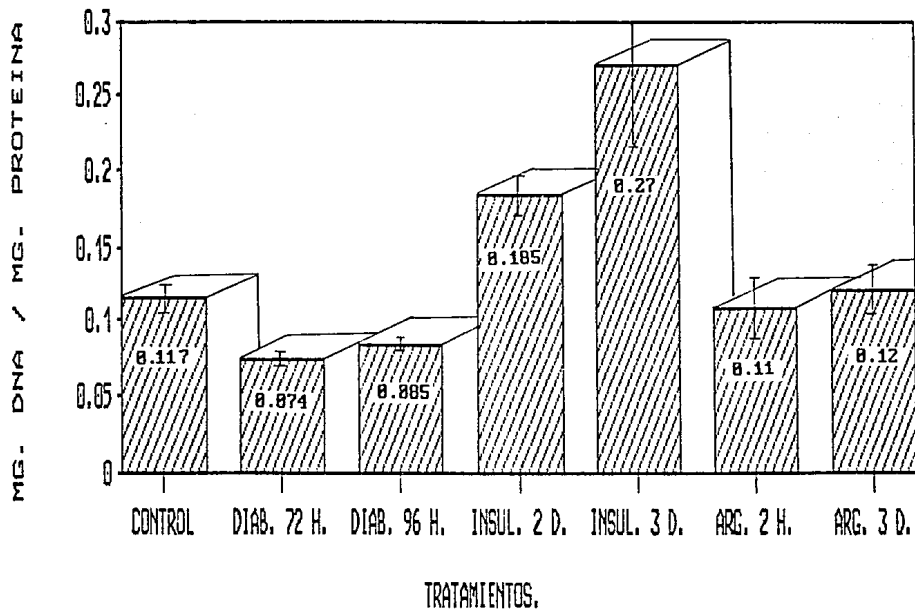
Concentración de DNA encontrada en próstata de rata en los diferentes tratamientos.

CONCENTRACION DE DNA  
EN GLANDULAS AMPULARES.



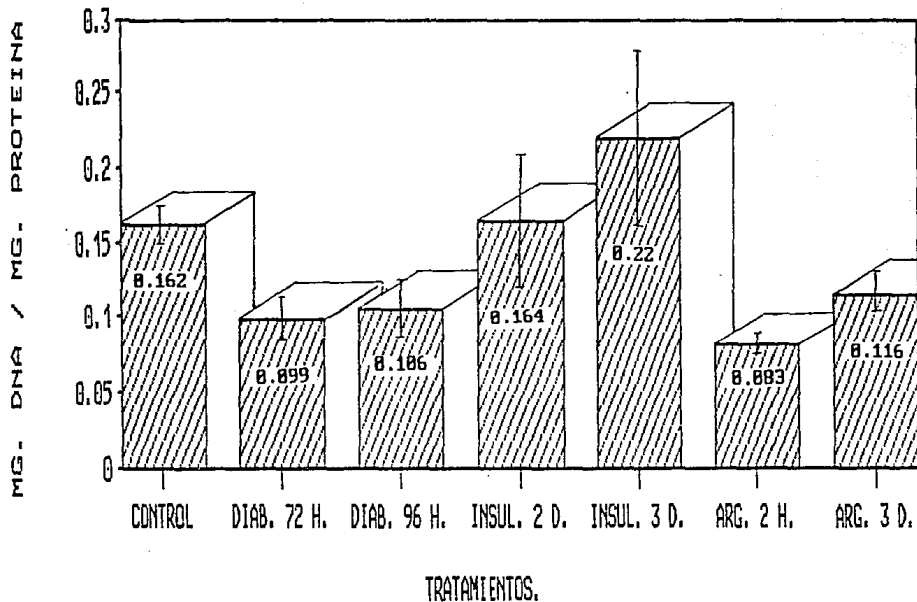
*Concentración de DNA encontrada en glándulas ampulares de rata en los diferentes tratamientos.*

CONCENTRACION DE DNA  
EN GLANDULAS BULBOURETRALES.



*Concentración de DNA encontrada en glándulas bulbouretrales de  
rata en los diferentes tratamientos.*

CONCENTRACION DE DNA  
EN GLANDULAS PREPUCIALES.



Concentración de DNA encontrada en glándulas prepuceales de rata en los diferentes tratamientos.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## PARAMETROS MEDIDOS EN SUERO.

### Glucosa en suero.

La glucosa en suero en el caso de los grupos diabéticos 2 y 3 de 72 horas y 96 horas aumenta respectivamente (Grupo 2.-  $329 \pm 82$  y grupo 3.-  $338 \pm 53$  mg./dl.) comparado con el nivel normal de glucosa en el grupo control 1. ( $128 \pm 7.3$  mg./dl.). Lo que nos indica que existe una hiperglicemia en los grupos diabéticos.

La glucosa en suero se ve disminuida con el tratamiento diario de insulina (Grupo 4, diabético tratado con insulina 2 días;  $32 \pm 2.3$ , y grupo 5, diabético tratado con insulina 3 días;  $66 \pm 16.9$  mg./dl.) hasta un nivel por debajo del normal, lo que nos indica que existe una hipoglicemia.

En los grupos diabéticos 6 y 7, tratados con arginina (por 2 horas, grupo 6.-  $399 \pm 84.8$  mg./dl. y diariamente por 3 días, grupo 7.-  $459 \pm 16.3$  mg./dl.) el nivel de glucosa en suero es mayor que el nivel del grupo control 1, por lo que también existe hiperglicemia.

### Triglicéridos en suero.

Los grupos diabéticos inducidos 2 y 3, de 72 y 96 horas presentan niveles aumentados de triglicéridos en suero (Grupo 2.-  $57.86 \pm 7.09$  y grupo 3.-  $87.33 \pm 6.73$  mg./dl. respectivamente) con respecto al nivel del grupo control 1 ( $40.14 \pm 6.22$  mg./dl.).

El tratamiento con insulina en los grupos 4 y 5, propicia que los niveles de triglicéridos en suero (Grupo 4, tratamiento por 2 días;  $36.05 \pm 9.88$  y grupo 5, tratamiento por 3 días;  $38.54 \pm 5.4$  mg./dl.) regresen a niveles normales.

El tratamiento de la diabetes inducida con arginina en los grupos 6 y 7 (Grupo 6, tratamiento por 2 horas y grupo 7 tratamiento por 3 días) no tiene ningún efecto sobre los niveles de triglicéridos en suero, de hecho estos valores son altos comparados a los valores del grupo control 1. (Grupo 6;  $50.51 \pm 8.75$  y grupo 7;  $81.26 \pm 15.08$  mg./dl.)

### Proteínas en suero.

Las proteínas en suero no presentan cambios significativos en ninguno de los grupos estudiados con respecto al control, (Grupo 1) el nivel normal obtenido de este último fué de  $8.50 \pm 1.2$  g/%.

### $\alpha$ - amilasa en suero.

Los niveles de  $\alpha$  - amilasa en suero disminuyen notablemente en los grupos diabéticos 2 y 3 de 72 y 96 horas respectivamente, (Grupo 2.-  $700.3 \pm 85.3$  y grupo 3.-  $679.86 \pm 72.1$  U / l.) con respecto al grupo control 1. ( $1240.57 \pm 224.3$  U/l.).

En el caso de los grupos diabéticos 4 y 5 tratados con insulina los niveles de  $\alpha$  - amilasa en suero tienden a recuperar sus valores normales ( Grupo 4, tratamiento diario con insulina por 2 días;  $971.23 \pm 186$  y grupo 5, tratamiento diario con insulina por 3 días;  $1294.74 \pm 128$  U / l.).

Los grupos diabéticos tratados con arginina 6 y 7 tienden a recuperar sus valores normales, notándose mejor recuperación en el grupo 7 ( Tratamiento diario con arginina por 3 días;  $1297.9 \pm 91.95$  U/L) que en el grupo 6 ( Tratamiento con arginina por 2 horas;  $842.22 \pm 132$  U/l) con respecto al grupo control 1.

### Actividad de arginasa en suero.

La actividad de arginasa en suero se ve incrementada notablemente con respecto al grupo control 1 ( $4.91 \pm 0.35$   $\mu$ moles urea/ g protefna min) en los grupos diabéticos 2 y 3 ( Grupo 2, diabético de 72 horas;  $7.45 \pm 1.02$  y grupo 3, diabético de 96 horas;  $11.3 \pm 1.62$   $\mu$ mol urea / g. protefna min. respectivamente).

La actividad de arginasa en suero se mantiene alta en los grupos diabéticos tratados con insulina 4 y 5 ( Grupo 4, diabético con tratamiento diario con insulina por 2 días;  $20.5 \pm 9.58$   $\mu$  moles urea / g. protefna min. y grupo 5, diabético con tratamiento diario con insulina por 3 días  $15.1 \pm 3.73$   $\mu$ moles urea / g protefna min.)

En el caso de los grupos diabéticos tratados con arginina 6 y 7, se observa un nivel elevado de actividad de arginasa en suero. En el grupo 6 ( Tratamiento con arginina por 2 horas;  $16.3 \pm 1.76$   $\mu$ moles de urea / g. protefna min) mientras que el grupo 7 (Tratamiento con arginina diariamente por 3 días ) se observa una disminución del nivel de actividad de arginasa en suero, ( $6.2 \pm 1.6$   $\mu$ moles urea /g. protefna min) que tiende a igualarse con el nivel del grupo control 1.

### PARAMETROS MEDIDOS EN TEJIDO. (Glándulas sexuales accesorias.)

#### Actividad de arginasa en vesícula seminal.

La actividad de arginasa en vesícula seminal disminuye



aproximadamente en un 31 % en el grupo 2 (Diabético de 72 horas), mientras que en el grupo 3 (diabético de 96 horas) dicha actividad no presenta ningún cambio, ambos con respecto al grupo control 1.

En el grupo 4 (Diabético tratado diariamente con insulina por 2 días) se observa una ligera disminución que no es significativa (18 %), mientras que en el grupo 5 (Diabético tratado con insulina diariamente por 3 días) se observa un aumento de casi 100 % en la actividad de arginasa, ambos con respecto al grupo control 1.

La actividad de arginasa en los grupos 6 y 7 (Diabéticos tratados con arginina por 2 horas y 3 días respectivamente) presenta niveles normales a corto plazo (Grupo 6) y niveles disminuidos a largo plazo en un 48 % (Grupo 7) con respecto al grupo control 1.

#### Actividad de arginasa en glándulas coagulantes.

La actividad de arginasa en las glándulas coagulantes disminuye en los grupos 2 (en un 16 %) y 3 (en un 1 %) con respecto al grupo control 1.

En el caso de los grupos 4 y 5 (Diabéticos tratados con insulina) se observa un aumento en la actividad de arginasa en ambos grupos de más del 100 % con respecto al grupo control 1.

En los grupos diabéticos tratados con arginina, se observa una disminución de la actividad de arginasa, que es mayor en el tratamiento con arginina a corto plazo (Grupo 6, 35 % menor) que en el tratamiento a largo plazo (Grupo 7, 8 % menor), ambos con respecto al grupo control 1.

#### Actividad de arginasa en próstata.

La actividad de arginasa en próstata disminuye con respecto al grupo control 1 en los grupos diabéticos 2 (Menor en un 40 %) y 3 (Menor en un 21 %).

En el grupo 4 (Diabético tratado con insulina diariamente por 2 días) se observa una disminución de actividad de arginasa de un 56 %, mientras que el grupo 5 (Diabético tratado con insulina diariamente durante 3 días) los valores de actividad de arginasa son normales, ambos en comparación al grupo control 1.

La actividad de arginasa en el grupo 6 (Diabético tratado con arginina por 2 horas) disminuye notablemente con respecto al grupo control en un 61 %, mientras que el grupo 7 (Diabético tratado con arginina diariamente por 3 días) se observan valores casi normales. (Arriba del nivel normal en un 14 %).

#### Actividad de arginasa en glándulas ampulares.

La actividad de arginasa en glándulas ampulares disminuye en los grupos diabéticos 2 y 3 en un 50 % y 32 % respectivamente con respecto al grupo control 1.

En los grupos diabéticos tratados con insulina 4 y 5, se observa un aumento de actividad de arginasa de 27 % en el caso del grupo 4 y de más del 100 % en el grupo 5, ambos con respecto al grupo control 1.

En el caso de los grupos diabéticos tratados con arginina, grupos 6 y 7 se observa una disminución de actividad de arginasa de un 46 % en el tratamiento a corto plazo (Grupo 6) y valores normales de actividad de arginasa en el tratamiento a largo plazo (Grupo 7).

#### Actividad de arginasa en glándulas bulbouretrales.

La actividad de arginasa en glándulas bulbouretrales mantiene niveles casi normales en el caso del grupo 2 y niveles disminuidos en un 15 % en el grupo 3, ambos con respecto al grupo control.

Los grupos diabéticos tratados con insulina 4 y 5 presentan valores elevados de actividad de arginasa (Ambos mayores al 100 % con respecto al grupo control 1.)

Los grupos diabéticos tratados con arginina presentan un aumento de actividad de arginasa de un 22 %, en el caso del tratamiento a corto plazo (Grupo 6) y de un 44 % en el caso del tratamiento a largo plazo (Grupo 7), ambos con respecto al grupo control 1.

#### Actividad de arginasa en glándulas prepuciales.

La actividad de arginasa en glándulas prepuciales mantiene niveles ligeramente disminuidos al grupo control 1, esto es de un 11 % en el grupo 2 y 16 % en el grupo 3.

La actividad de arginasa en el grupo 4 (Diabético tratado con insulina diariamente por 2 días) es 18 % mayor que el control, mientras que el grupo 5 (Diabético tratado con insulina diariamente por 3 días) aumenta más de un 100 % con respecto al grupo control.

Los grupos diabéticos tratados con arginina muestran a corto plazo (Grupo 6) una disminución de un 45 % de actividad de arginasa con respecto al control (Grupo 1), mientras que a largo plazo (Grupo 7) se aprecia una disminución de 24 %.

### CONCENTRACION DE DNA EN GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS.

Todas las observaciones hechas y las diferencias encontradas, son referidas al grupo control 1.

#### Concentración de DNA en vesícula seminal.

La concentración de DNA (mg de DNA /mg. de proteína) en vesícula seminal sufre una disminución en los grupos diabéticos de 72 (Grupo 2) y 96 horas (Grupo 3), esta disminución es de un 51 % en el grupo 2 y de un 14 % en el grupo 3.

Las concentraciones de DNA en los grupos 4 y 5 (diabéticos tratados con insulina diariamente por 2 y 3 días respectivamente) muestran concentraciones normales de DNA.

En los grupos diabéticos tratados con arginina por 2 horas (Grupo 6) y diariamente por 3 días (Grupo 7) se observa una disminución en la concentración de DNA, esta disminución es de 34 % en el grupo 6 y de 11 % en el grupo 7.

#### Concentración de DNA en glándulas coagulantes.

La concentración de DNA en glándulas coagulantes se ve disminuida en un 41 % en el grupo 2 y en un 10 % en el grupo 3.

En los grupos 4 y 5, se observan niveles aumentados en la concentración de DNA, este aumento es de un 14 % en el grupo 4 y un 39 % en el grupo 5.

En el grupo 6 (Diabético tratado con arginina por 2 horas) se observa una disminución del 28 % en la concentración de DNA, mientras que en el grupo 7 (Diabético tratado con arginina diariamente por 3 días) se observa un aumento de un 14 %.

#### Concentración de DNA en próstata.

La concentración de DNA en próstata disminuye en los grupos diabéticos 2 y 3, en el grupo 2 la disminución es de un 28 % y en el grupo 3 esta disminución es de un 15 %.

En los grupos diabéticos tratados con insulina se observan niveles altos en la concentración de DNA, principalmente en el grupo 5, en el cual el aumento es de más del 100 %, mientras que en el grupo 4 el aumento es de sólo 8 %.

La concentración de DNA en los grupos diabéticos tratados con arginina 6 y 7, se observa una disminución del 18 % en el grupo 6 y niveles normales en el grupo 7.

### *Concentración de DNA en glándulas ampulares.*

La concentración de DNA en glándulas ampulares disminuye ligeramente en los grupos diabéticos 2 y 3, el grupo 2 disminuye su concentración en un 19 %, mientras que en el grupo 3 la disminución es de sólo el 8 %.

En los grupos diabéticos tratados con insulina, se observan concentraciones altas de DNA, en el grupo 4 se aprecia un aumento de casi el 100 %, mientras que en el grupo 5 el aumento es mayor del 100 %.

Los grupos 6 y 7 (Diabéticos tratados con arginina) presentan concentraciones de DNA ligeramente elevadas en 4 % en el grupo 6 y niveles elevados en un 100 % en el grupo 7.

### *Concentración de DNA en glándulas bulbouretrales.*

La concentración de DNA en glándulas bulbouretrales presenta disminución en los grupos diabéticos 2 y 3, esta disminución es de 37 % en el grupo 2 y de 27 % en el grupo 3.

En los grupos 4 y 5 (diabéticos tratados con insulina) se observan concentraciones de DNA altas, en el grupo 4 el aumento es de 58 % y en el grupo 5 el aumento es mayor del 100 %.

En los grupos diabéticos tratados con arginina 6 y 7, se observan concentraciones normales de DNA.

### *Concentración de DNA en glándulas prepuciales.*

La concentración de DNA en glándulas prepuciales en los grupos diabéticos 2 y 3 sufre una disminución de 39 % en el grupo 2 y 34 % en el grupo 3.

En el grupo 4 (Diabético tratado con insulina diariamente por 2 días) se observan concentraciones normales de DNA, mientras que el grupo 5 (Diabético tratado con insulina diariamente por 3 días) se observa un aumento del 36 % en la concentración de DNA.

En los grupos 6 y 7 (Diabéticos tratados con arginina por 2 horas y diariamente por 3 días respectivamente) se observa una disminución del 49 % en el grupo 6 y una disminución del 28 % en el grupo 7.

## DISCUSION DE RESULTADOS.

### PARAMETROS MEDIDOS EN SUERO.

#### Glucosa en suero.

El aumento de glucosa sanguínea (Hiperглиcemia) en los grupos diabéticos de 72 y 96 horas (Grupos 2 y 3) es causada por la falta de insulina que ya no es producida por las células  $\beta$  del páncreas, necrosadas por la acción específica de la aloxana.

Los grupos diabéticos con tratamiento con insulina de acción intermedia (Grupos 4 y 5) presentan niveles de glucosa sanguínea menores, esto es causado por la acción de la insulina, que permite la entrada de glucosa sanguínea a las células para su posterior utilización. La dosis de insulina (0.15 U/Kg. de peso, vía i.m.) es alta ya que los niveles de glucosa sanguínea bajan a niveles menores que los normales, por lo que se provoca la hipoglicemia.

La arginina es un aminoácido que actúa como secretagogo propiciando la liberación de insulina, pero en el caso de los grupos diabéticos tratados con arginina (Grupos 6 y 7), la función de secretagogo de la arginina se ve disminuida por el efecto de la diabetes inducida, por lo que no se propicia la secreción de insulina en el páncreas y no hay disminución de glucosa sanguínea.

#### Triglicéridos en suero.

En el caso de diabetes inducida por aloxana (Grupos 2 y 3) cuando no hay producción de insulina, se activa en los adipocitos (células grasas) la lipasa hormosensible; esta enzima propicia el desdoblamiento de los ácidos grasos almacenados en los adipocitos a triglicéridos y glicerol y su posterior liberación al torrente sanguíneo por lo que su concentración en sangre aumenta.

La insulina aplicada a las ratas diabéticas (Grupos 4 y 5) propicia la inactivación de la lipasa hormosensible, promoviéndose nuevamente la captación de triglicéridos, transformación de estos en ácidos grasos y su almacenamiento en los adipocitos, por lo que los niveles de triglicéridos en suero disminuyen.

La arginina no tiene efecto directo en el almacenamiento de ácidos grasos, pero sí indirecto por su función de secretagogo; pero como se menciona antes, esta función se ve disminuida por el estado diabético inducido, por lo que los niveles sanguíneos de triglicéridos se mantienen altos.

### Proteínas en suero.

Las proteínas en suero representan un 7 % mientras que en el líquido intersticial su valor es 3 veces menor por lo que las proteínas del suero (principalmente albúmina) tienen la función de producir presión osmótica para impedir la pérdida de proteínas del líquido intersticial.

Cuando hay un daño tisular grave, se vierten proteínas (principalmente enzimas) del líquido intersticial al torrente sanguíneo. En el caso de todos los tratamientos estudiados, no se observaron diferencias significativas en la cantidad de proteínas en suero, por lo que se cree que el daño causado por la acción específica de la aloxana en las células  $\beta$  del páncreas no causa una lesión grave en este último que propicie el vertimiento de proteínas al torrente sanguíneo.

### $\alpha$ - amilasa en suero.

Con la medición de la actividad de  $\alpha$  - amilasa en suero se trata de determinar el daño en la función exócrina del páncreas provocado por la aloxana.

La cantidad de  $\alpha$  - amilasa en suero sufre un descenso en la diabetes inducida (Grupos 2 y 3) quizá por un desequilibrio en su función exocrina que se regulariza a largo plazo, al igual que con el tratamiento con insulina (El cual ayuda a regularizar el metabolismo de carbohidratos, grupos 4 y 5) y el tratamiento con arginina (Grupos 6 y 7).

Una posibilidad que no se debe pasar por alto es que la glándula salival produce también  $\alpha$  - amilasa y que esta última puede aumentar su producción con el fin de equilibrar cualquier tipo de daño en esta función exócrina del páncreas.

### Actividad de arginasa en suero.

La actividad de arginasa en suero se ve incrementada en algunos tipos de enfermedades (principalmente hepáticas) y daños tisulares, por ser esta enzima de fácil salida al suero.

En este estudio se observa un daño pancreático causado por la acción específica de la aloxana (Grupos 2 y 3), el cual propicia un aumento notable en la actividad de arginasa en suero.

En el caso de los grupos diabéticos tratados con insulina (Grupos 4 y 5) este aumento en la actividad de arginasa en suero es aún mayor; quizás debido a la acción de la insulina en el aumento de síntesis de proteínas (enzimas) y quizás a un exceso en la dosis aplicada de insulina.

También debe hacerse notar que la arginina (En el caso de los grupos 6 y 7) es el aminoácido que la arginasa transforma en L-ornitina y urea (Ciclo de la urea). La L-ornitina a su vez es el compuesto principal en la biosíntesis de poliaminas, las cuales están relacionadas con procesos de crecimiento y diferenciación celular en caso de daños tisulares.

En el caso de un tratamiento con arginina a corto plazo (Grupo 6) la actividad de arginasa es alta quizá porque se favorece la biosíntesis de poliaminas, mientras que en el caso del tratamiento con arginina a largo plazo (Grupo 7) los niveles de arginina estén en exceso, lo cual propicia la saturación de la arginasa y disminuye su actividad.

#### DETERMINACIONES HECHAS EN GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS.

Actividad de arginasa.

Actividad de arginasa en glándulas sexuales accesorias de ratas con diabetes inducida (Grupos 2 y 3, con respecto a la actividad de arginasa de estas glándulas en el grupo control 1)

En vesícula seminal, glándulas coagulantes, próstata y glándulas ampulares se observa una disminución en la actividad de arginasa. Esta disminución es más notoria en tiempos cortos de estado diabético (Grupo 2) que en tiempos más largos (Grupo 3), donde los valores de actividad de arginasa tienden a recuperar sus niveles normales.

Esta disminución de actividad de arginasa es posiblemente debida a la sensibilidad de estas glándulas y de esta enzima a un desequilibrio general del organismo causado por el daño específico de la aloxana al páncreas, que produce el estado diabético.

A largo plazo y en respuesta a un desajuste el organismo tiende a equilibrarse, de ahí que la actividad de arginasa en estas glándulas tienda a recuperar sus valores normales.

Sin embargo este comportamiento no se observa en las glándulas bulbouretrales y glándulas prepuciales, donde la disminución de actividad de arginasa es más notoria a largo plazo, ( Grupo 3, diabéticas de 96 horas) que en tiempos más cortos (Grupo 2, diabéticas de 72 horas).

Es posible que estas glándulas debido a su pequeña participación en la producción de líquido seminal (ambas menor al 10 %) y a su diferente función metabólica con respecto a las otras glándulas sexuales accesorias sean menos sensibles a los cambios producidos por la diabetes inducida en periodos de tiempo menores.

Actividad de arginasa en glándulas sexuales accesorias de ratas diabéticas tratadas con insulina (Grupos 4 y 5, con respecto a la actividad de arginasa del grupo control 1).

En glándulas coagulantes, glándulas ampulares, glándulas bulbouretrales y glándulas prepuciales se observa un aumento notable en la actividad de arginasa en ambos grupos, 4 y 5 (Tratamiento de la diabetes inducida con insulina diariamente por 2 y 3 días respectivamente.)

El tratamiento de la diabetes con insulina ayuda a regularizar el metabolismo de carbohidratos y almacenamiento de grasas en los distintos tejidos, además de promover la síntesis de proteínas y disponibilidad de aminoácidos libres.

Es posible que el aumento de actividad de arginasa en estas glándulas sexuales accesorias (cuyas secreciones aportan diversos componentes al líquido seminal) se deba a que la dosis de insulina sea lo suficiente como para intensificar los efectos de esta sobre la síntesis de proteínas.

También debe tomarse en cuenta que el tiempo de sacrificio (2 horas después de la última aplicación de insulina) coincide con el inicio de acción de esta en el organismo, además de tener todavía restos de acción de la insulina del día anterior. El tiempo de arranque de acción de la insulina NPH (acción intermedia) es de 1 a 2 horas después de aplicada, alcanzando su pico de acción en un período de 6 a 12 horas y teniendo su efecto una duración aproximada de 18 a 26 horas.

En la vesícula seminal y en próstata el aumento de actividad de arginasa es menos notable, quizás porque estas glándulas (cuyas secreciones aportan de un 85 a un 90 % de volumen al líquido seminal) requieren de mayor síntesis de compuestos y por que su metabolismo es más intenso.

Actividad de arginasa en glándulas sexuales accesorias de ratas diabéticas tratadas con arginina (Grupos 6 y 7, con respecto a la actividad de arginasa del grupo control 1).

En el tratamiento de la diabetes con arginina, los niveles de actividad de arginasa en las glándulas sexuales accesorias son bajos con tendencia a normalizarse especialmente en el tratamiento a largo plazo.

La recuperación de los niveles de actividad de arginasa en estas glándulas es menos notoria en el tratamiento con arginina que en el tratamiento con insulina, quizás porque la función de secretagogo de la arginina está disminuida por la diabetes y porque su influencia en la síntesis de proteínas es menor.

La presencia de L-arginina en el líquido seminal esta relacionada



con el mantenimiento de la movilidad espermática, por lo que la producción y disponibilidad de este aminoácido en las secreciones de las glándulas sexuales accesorias es muy importante en su metabolismo.

#### Concentración de DNA.

La concentración de DNA en un tejido nos da idea de su crecimiento y de posibles daños en este.

#### Concentración de DNA ( mg. de DNA /mg. proteína) en los grupos diabéticos 2 y 3 (Con respecto a la concentración de DNA en el grupo control 1)

Los niveles de DNA muestran una disminución en las glándulas sexuales accesorias en respuesta a la descompensación en el organismo causada por la diabetes inducida con aloxana. Esta disminución es más apreciable a corto plazo (Grupo 2), mientras que a largo plazo (Grupo 3) las concentraciones de DNA tienen mayor tendencia recuperarse a pesar del estado diabético con el fin de compensar al organismo del daño recibido.

#### Concentración de DNA en los grupos diabéticos tratados con insulina 4 y 5 (Con respecto a la concentración de DNA en el grupo control 1)

En ambos grupos, el tratamiento con insulina controla la diabetes inducida, por lo que la concentración de DNA en las glándulas sexuales accesorias es normal e incluso tiende a ser más alta debido a la influencia de la insulina en la síntesis de proteínas.

#### Concentración de DNA en los grupos diabéticos tratados con arginina 6 y 7 (Con respecto a la concentración de DNA en el grupo control 1)

La concentración de DNA en las glándulas sexuales accesorias de las ratas diabéticas con tratamiento con arginina es baja tendiendo a normalizarse (Especialmente a largo plazo, grupo 7) pero esta normalización es lenta, ya que la arginina no tiene los mismos efectos de la insulina en la síntesis de proteínas y su función de secretagogo esta disminuida con el estado diabético.

**CONCLUSIONES.**

- 1.- *La actividad de arginasa disminuye en las glándulas sexuales accesorias de rata durante la diabetes inducida por aloxana.*
- 2.- *La actividad de arginasa aumenta a niveles mucho mayores que los normales en las glándulas sexuales accesorias de rata durante el tratamiento de la diabetes inducida con insulina, producido probablemente por el efecto de la insulina en la síntesis de protefnas.*
- 3.- *El tratamiento de la diabetes inducida con dosis de arginina a corto y largo plazo propicia la recuperación de la actividad de arginasa en las glandulas sexuales accesorias, sin llegar a valores normales del todo. El efecto secretagogo de la arginina se ve disminuido por el estado diabetico inducido.*
- 4.- *La disminución de la actividad de arginasa en glándulas sexuales accesorias de rata no ocurre en la misma proporción en cada glándula, por lo que el metabolismo de cada glándula es independiente.*
- 5.- *El aumento y normalización de la actividad de arginasa en glándulas sexuales accesorias con tratamiento de insulina e arginina respectivamente es distinto en cada glándula, por su metabolismo independiente.*

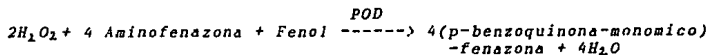
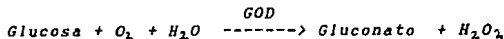
APENDICE.

Técnicas Aplicadas:

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:

- Centrífuga.
- Colorímetro.

Procedimiento:

Se mezclan 20  $\mu$ l de suero con 2 ml de la mezcla de reacción, se incuba 10 minutos a 37°C. en la obscuridad y se mide el color final (470 -560 nm) a 20-25°C en un lapso no mayor de 15 minutos posteriores a la incubación. Todas las mediciones de muestras se hacen por duplicado, frente a un blanco y un estándar. (por duplicado también.)

Cálculos:

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

$$c = 100 \times \frac{\text{Lectura prueba} - \text{Lectura Blanco.}}{\text{Lectura estándar} - \text{Lectura Blanco}} \quad \text{mg. / dl.}$$

$$c = 5.55 \times \frac{\text{Lectura prueba} - \text{Lectura Blanco}}{\text{Lectura estándar} - \text{Lectura Blanco}} \quad \text{mmol. / l.}$$

Observaciones:

La solución 1 contiene azida de sodio como conservador. Evitar el contacto con la piel ó las mucosas. La ingestión de grandes dosis puede provocar vasodilatación y un descenso de la presión sanguínea. Terapia sintomática.

La solución 2 contiene fenol, es venenoso si está en contacto con la piel ó es ingerido. Causa cauterización. En caso de contacto con la piel lavar con abundante agua.

Triglicéridos.

Reactivo para triglicéridos (color).

Fundamento:

El glicerol producido por hidrólisis enzimática de triglicéridos es fosforilado por adenosinatrifosfatasa (ATP) para producir 1-glicerofosfato y ADP en la reacción catalizada por gliceroquinasa (GK). El glicerofosfato en presencia de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD+) para producir NADH que es usado para reducir la anilina de cloruro de 2-tetrazolio (iodofenil-p)-3-(nitrofenil-p)-5-fenil (INT) a formazan en la reacción catalizada por diaforasa. El formazan absorbe la luz a 500 nm. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glicerol y por tanto, a la concentración de triglicéridos.

Triglicéridos  $\xrightarrow{\text{Lipasa}}$  Glicerol + Ácidos Grasos

Glicerol + ATP  $\xrightarrow{\text{GK}}$  1-Glicerofosfato + ADP

1-Glicerofosfato + NAD<sup>+</sup>  $\xrightarrow{\text{G-1-PDH}}$  Fosfato de dihidroxiacetona + NADH

NADH + INT  $\xrightarrow{\text{Diaforasa}}$  Formazan + NAD<sup>+</sup>

### Reactivos:

Juego de reactivos para triglicéridos, que contiene:

- ATP
- NAD
- INT
- GK (microbiana).
- G-1-PDH (músculo de conejo).
- Diafora (Cl. Kluyveri).
- Lipasa (microbiana).
- Amortiguador pH 7.7

### Aparatos:

Espectrofotómetro

### Procedimiento:

Se mezclan 10  $\mu$ l de la muestra con 1 ml del reactivo reconstituido, después de 10, pero dentro de 30 minutos, a temperatura ambiente, leer las absorbancias de cada prueba. Cada prueba se realiza por duplicado frente a un blanco y un estándar. (Por duplicado también).

Calculos:

La concentración ( c ) de triglicéridos se determina por:

$$c = \frac{\text{Abs. prueba} - \text{Abs. blanco.} \times 500}{\text{Abs. Calibrador} - \text{Abs. Blanco}} \quad \text{mg / dl}$$

Observaciones:

Evitar la ingestión y el contacto con la piel. La toxicidad de este reactivo no ha sido establecida. Como este reactivo mide también glicerol, todos los materiales usados en el ensayo deben estar libres de glicerol.

 $\alpha$  - Amilasa.

Reactivo para  $\alpha$  - amilasa.

Fundamento:

La  $\alpha$  - amilasa cataliza la hidrólisis de p-nitrofenil maltoheptaosida bloqueada (PNPG7 bloqueada) El grupo bloqueador de la PNPG7 inmuniza el sustrato contra la descomposición por medio de las dos enzimas auxiliares que contiene el reactivo, pero no por la  $\alpha$  - amilasa. Una de las enzimas auxiliares, la glucoamilasa, hidroliza los productos de la reacción de la amilasa y otra, la maltasa ( $\alpha$  - glucosidasa), cataliza la liberación del p-nitrofenilato (PNF). El índice de producción de PNF, observado es proporcional a la actividad de la amilasa en la muestra.

$\alpha$  - amilasa  
PNPG7 -----> PNPG3 + Maltotetraosa.

*Glucoamilasa*

PNPG3 -----> PNP<sub>1</sub> + Glucosa.

*Maltasa*

PNPG1 -----> PNP + Glucosa.

Reactivos:

Juego de reactivos para  $\alpha$ -amilasa, que contiene:

- PNPG7 bloqueada
- Cloruro de sodio
- Cloruro de calcio
- Maltasa ( $\alpha$ -glucosidasa)
- Glucoamilasa
- Amortiguador pH 7
- Azida de sodio.

Aparatos:

Cronómetro

Espectrofotómetro

Procedimiento:

Se mezclan 40  $\mu$ l de la muestra con 1 ml del reactivo reconstituido, después de un periodo de incubación a 37°C de 1 minuto tomar la lectura de absorbancia ( $A_0$ ) a 405 nm y hacer otra lectura posterior después de transcurrido 1 minuto ( $A_1$ ).

Las pruebas se realizan por duplicado frente a un blanco también por duplicado.

Cálculos:

La actividad de la  $\alpha$ -amilasa puede expresarse usando la unidad internacional ( la cantidad de la enzima que cataliza la transformación de 1  $\mu$ mol de sustrato por minuto bajo condiciones definidas).

Primero se resta la lectura de absorbancia  $A_0$  (tiempo 0) a la lectura de absorbancia  $A_1$  (tiempo 60 seg), para obtener  $\Delta A$

$$\alpha \text{ amilasa actividad (U/L)} = \frac{\Delta A / \text{min} \times 10 \times 1.04}{(8.9 \times 10^{-5}) \times 1 \times 0.04}$$

Donde:

$\Delta A$  = Incremento en la absorbancia a 405 nm.

min = minuto.

$8.9 \times 10^{-5}$  = Absorbancia molar de PNF a 405 nm y 37°C  
(  $8.9 \times 10^{-5}$  litros x mol x cm. )

10 = Factor de conversión de moles a  $\mu$ moles

1 = Recorrido de la luz en cm

1.04 = Volumen total de reacción en ml.

0.04 = volumen de la muestra en ml.

Observaciones:

No se debe pipetear directamente con la boca este reactivo debido a que este reactivo es sumamente susceptible a la contaminación de la amilasa salival.

Los anticoagulantes como EDTA ó citrato de sodio inhibirán la actividad de la  $\alpha$ -amilasa.

Proteínas:

Método de Lowry para determinación de proteínas con el reactivo de Folin - Cicocalteau. (1)



Fundamento:

Desde que se propuso el uso del reactivo de Folin para la determinación de proteínas, han sido reportados numerosas modificaciones analíticas a su procedimiento de utilización. Se han estudiado las limitaciones y peculiaridades de este reactivo con respecto a efectos a diferentes pH, tiempo de reacción, concentración del reactivo y sustancias que interfieran.

La modificación de Lowry para la determinación de proteínas con el reactivo de Folin proporciona gran sensibilidad ( hasta 5  $\mu$ g de proteína) y simplicidad en el procedimiento.

El color que produce el reactivo de Folin - Ciocalteu se debe a la reacción de la proteína con la solución de cobre alcalino y a la reducción del fosfomolibdato - fosfotungstato del reactivo por la proteína tratada.

Reactivos:

- 1.- Solución preparada en agua destilada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 2%, tartrato doble de sodio y potasio 0.02% y NaOH 0.4%
- 2.- Solución al 0.5% de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en agua destilada.
- 3.- Se mezcla la solución 1 con la 2 en una proporción de 50 a 1

Aparatos:

Vórtex.  
Colorímetro.  
Baño de 37°C.  
Centrífuga.

Procedimiento:

Se toma la alícuota de la muestra una vez procesada y se completa el volumen a 0.5 ml.  
Se añaden 2 ml de la solución cupro alcalina (sol. 3), se mezclan y se deja reposar por 10 minutos, después de ese tiempo se añade

0.2 ml del reactivo diluido de Folin - Cicalteau, se mezcla y se deja reposar 20 minutos después de los cuales se lee absorbancia a 530 nm.

Esta prueba se realiza por duplicado frente a un blanco y curva estándar. (también por duplicado.)

### Cálculos

La concentración de proteínas es expresada como:

$$\mu\text{g de proteína} / \mu\text{l}$$

Al interpolar el valor de la absorbancia de la muestra menos el valor de absorbancia del blanco en una curva estándar de absorbancia vs concentración.

Posteriormente se relacionan los  $\mu\text{g de proteína} / \mu\text{l}$  con el procesamiento que se le dió a la muestra y el volumen de ésta y se expresa finalmente como:

$$\text{mg de proteína} / \text{ml de homogenizado.}$$

### Observaciones:

El reactivo de Folin - Cicalteau debe manejarse con cuidado y evitarse su ingestión ó contacto con la piel, pues es tóxico.

### Peso Seco

Determinación de peso seco ó oxidación de materia orgánica.

### Fundamento

El método consiste en hacer reaccionar muestras biológicas con una solución ácida de dicromato de potasio con el fin de oxidar al máximo la materia orgánica contenida en la muestra, la cantidad de materia orgánica presente es proporcional a la intensidad del color obtenido.

### Reactivos

- 1.- Solución de dicromato de potasio en ácido sulfúrico concentrado, en proporción de 1g de dicromato por 50 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- 2.- Solución estándar de manosa ó manitol de 2 mg / ml.

### Aparatos

Vórtex.  
Colorímetro.

### Procedimiento

Se toma una alícuota de 50  $\mu$ l de homogenizado y se completa a 1 ml con agua destilada, se le agregan 2 ml de la solución de dicromato de potasio en ácido sulfúrico, se mezcla bien, se deja enfriar y se lee absorbancia a 660 nm.

Las muestras se procesan por duplicado lo mismo que el blanco y la curva estándar frente a las que se corren las muestras.

### Cálculos

La concentración de materia orgánica presente se expresa en:

$$\frac{\text{ug de Peso Seco}}{\mu\text{l}}$$

Al interpolar el valor de la absorbancia de la muestra menos el valor de la absorbancia del blanco en una curva estándar de absorbancia vs concentración de manosa ó manitol.

Posteriormente se relacionan las unidades antes mencionadas de  $\mu\text{g}$  de Peso Seco / $\mu\text{l}$  con el volumen original de muestra de homogenizado expresandose entonces como:

$$\frac{\mu\text{g de Peso Seco}}{\mu\text{l de homogenizado}}$$

### Observaciones

Este método tiene la ventaja de ser sensible, exacto y preciso usando equipo estándar insensible a compuestos inorgánicos, es aplicable a homogenizados de tejidos en soluciones orgánicas así como tiene la desventaja de que el dicromato reacciona específicamente con grupos que contienen carbono y por lo tanto la participación de él u otros elementos en la composición del material biológico darán proporcionalmente menor absorbancia.

Se debe tener cuidados con el manejo del ácido sulfúrico concentrado pues puede causar serias quemaduras.

### Arginasa

Determinación de la actividad de arginasa y cantidad de urea producida por arginasa. ( 4 )

### Fundamento

La actividad de arginasa ha sido establecida por medición de:

- a) Incremento de la concentración de arginasa.
- b) Un incremento en la concentración de ornitina.
- c) Un incremento en la concentración de urea.

Se debe hacer notar que sólo algunos métodos son útiles para la medición de actividad de arginasa en extractos de tejidos u homogenizados.

El método que utiliza el reactivo de tiosemicarbazida-diacetil monoxima - urea (TDMU) es el que presenta la ventaja de ser un método 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.

El tiempo requerido para el desarrollo máximo de color es dependiente de la temperatura, la intensidad de la reacción disminuye con el incremento del tiempo de calentamiento sobre 85oC, lo que indica que el producto es lábil a la temperatura.

### Reactivos

Solución 1.- Reactivo colorido: Extracto acuoso de una solución que contiene tiosemicarbazida 2.4 mM y 2,3 butadiona monoxima 4.1 mM.

Solución 2.- Reactivo ácido: 0.1 ml de cloruro de fierro III 0.12 M en ácido fosfórico al 56.7% y 100 ml de ácido sulfúrico al 20 %

Solución 3.- Solución estándar de urea 15 ug / ml.

### Aparatos

Parrilla eléctrica.

Vórtex.

Colorímetro.

### Procedimiento

Una vez procesada la muestra de homogenizado para esta prueba, se toman alícuotas de 400 ul y se completan a 1 ml con agua destilada.

Se agregan a esta muestra 1 ml del reactivo colorido y posteriormente 2 ml del reactivo ácido. Se mezclan y se cubren los tubos que contengan estas muestras y se someten a un calentamiento en baño de agua a 92°C por 25 minutos, después de lo cual se enfrían y se lee absorbancia a 530 nm.

Estas muestras se hacen por duplicado, lo mismo que el blanco y la curva estándar que se corre con las muestras.

Cálculos

La actividad de arginasa se expresa en:

$$\frac{\mu\text{g urea}}{\mu\text{l} \times 15 \text{ min.}}$$

Al interpolar la lectura de la absorbancia de la muestra menos el valor de la lectura del blanco en una curva estándar de absorbancia vs concentración de urea.

Posteriormente se relacionan las unidades anteriores,  $\mu\text{g urea}/\mu\text{l} \times 15 \text{ min.}$  con el volumen de muestra de homogenizado y el procesamiento dado y finalmente se expresan como:

$$\frac{\text{mg urea}}{\text{ml homog.} \times 15 \text{ min.}}$$

Observaciones

Se debe tener cuidado con el manejo de los reactivos: tiósemicarbazida, monoxima y ácido sulfúrico al 20 % que son tóxicos si están en contacto con la piel ó son ingeridos.

DNA

Determinación de DNA (Ácido desoxiribonucleico) ( 2 ).

Fundamento

En 1956, Burton propuso una modificación al método de Dische en la cuantificación de DNA al adicionar en la reacción el acetaldehído, lo que permite el desarrollo de color en esta. Este método es 3.5 veces más sensible que el original de Dische. En 1965 se publica una modificación al método de Burton, que lo hace aún más sensible. Las modificaciones son:

- a) El acetaldehído no se incorpora a la mezcla de reactivos en un principio si no se agrega aislado al final de la reacción, con lo que se consigue hacer descender el blanco a una tercera parte del método original.
- b) Se prueba que la adición de ácido sulfúrico es innecesaria, la muestra de tejido se encuentra ya en ácido perclórico 2 M, lo cual simplifica el método produciendo mayor desarrollo de color.
- c) La sensibilidad del método es casi duplicada al aumentar la difenilamina de un 2 a un 4% y la relación entre muestra y reactivo es de 4.2 a 2.2

#### Reactivos

- Ácido perclórico 2 M.
- Acetaldehído 1.6 mg / ml
- Difenilamina 4% en ácido acético glacial.
- Solución estándar de DNA de 100  $\mu\text{g} / \mu\text{l}$  en ácido perclórico 2 M.

#### Aparatos

Centrífuga.  
Espectrofotómetro.  
Vórtex.  
Baño de 37° C.

#### Procedimiento.

Se toman alícuotas de 100 a 200  $\mu\text{l}$  de las muestras una vez procesadas y se completa el volumen a 500  $\mu\text{l}$  con ácido perclórico 2 M, después de lo cual se agregan 50  $\mu\text{l}$  de acetaldehído 1.6 mg / ml y se agita para incorporar adecuadamente, después se agregan 0.5 ml de difenilamina al 4% en ácido acético, agitándose también para ayudar a incorporar. Se procede a cubrir los tubos e incubarlos en un baño de agua a temperatura de 37° C por 18 horas aproximadamente, después de las cuales se lee absorbancia a 600nm.

#### Cálculos

La concentración de DNA se expresa como:

mg de DNA  
ml

Obtenidos al interpolar la lectura de absorbancia de la muestra menos el valor de la lectura de absorbancia del blanco en una curva estándar de absorbancia vs concentración de DNA.

Posteriormente se relacionan las unidades anteriores con el procesamiento de la muestra y el volumen original de homogenizado quedando expresado el valor entonces:

mg de DNA  
ml

#### Observaciones

El acetaldehído concentrado al diluirse produce una reacción exotérmica muy fuerte por lo que debe tomarse en cuenta en la preparación del reactivo, además de que es muy volátil por lo que debe mantenerse en congelación.

Tanto el acetaldehído como la difenilamina son tóxicos si permanecen en contacto con la piel por largos períodos.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1.- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Parr, A.L. and Randall, R.J.: PROTEIN MEASSUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT. J Biol CHEM. 193:265-275, 1951.
- 2.- Giles, K.W. and Myers, H.: AN IMPROVED DIPHENYLAMINE METHOD FOR THE ESTIMATION OF DEOXIRIBONUCLEIC ACID. Nature. 206,93, 1965.
- 3.- Bernal, A., Méndez, J.D. y Rosado, A.: DETERMINACION RAPIDA DEL PESO SECO POR COLORIMETRIA. Arch Invest Hed. 12:83-88, 1981.
- 4.- Geyer, W.J. and Dabich, D.: RAPID METHOD FOR DETERMINATION OF ARGINASE ACTIVITY IN TISSUE HOMOGENATES. Anal Biochem. 39:412-417, 1971.
- 5.- Taylor, R. and Angius, L.: THE BIOCHEMISTRY OF DIABETES. REVIEW ARTICLE. Biochem J. 250: 625-640, 1988.
- 6.- James, E. and Griffin, M.D.: MANUAL CLINICO DE ENDOCRINOLOGIA Y METABOLISMO. Mc Graw Hill. México, 1982. p. 45-48, 231-257.
- 7.- Martin, G., Goldner, M.D. and George Gomori, M.D.: STUDIES ON THE MECHANISM OF ALLOXAN DIABETES. Endocrinology. 35:241-249, 1944.
- 8.- Orci, L., Vassalli, J.D. and Perrelet, A.: LA FABRICA DE INSULINA. Investigación y Ciencia. 146:52-63,1988.
- 9.- Rerup, C.C.: DRUGS PRODUCIN DIABETES THROUGH DAMAGE OF THE INSULIN SECRETION CELLS. Pharmacological Reviews. 22,4:485-518, 1970.
- 10.- Morgan, D.M.L.: POLYAMINES. Essays in Biochemistry. 23:82-113, 1987.

- 11.- Rodríguez Cuartero, A. y Nájuez Carril, J.: EL ENZIMA ARGINASA: BIOQUIMICA GENERAL, METABOLISMO, INTERES DE LA DETERMINACION SERICA EN PATOLOGIA HEPATICA. Primera comunicación. *Revista Clínica Española.* 123,3:213-219, 1971.
- 12.- Brownlee, M. and Cerami, A.: THE BIOCHEMISTRY OF THE COMPLICATIONS OF DIABETES MELLITUS. *Ann Rev Biochem.* 50:385-432, 1981.
- 13.- Hafez, E.S.E.: REPRODUCTION AND BREEDING TECHNIQUES FOR LABORATORY ANIMALS. Department of Gynecology-Obstetrics and Department of Physiology. Detroit Michigan. Lea & Febiger, 1970, p. 28-55.
- 14.- Hicks, J.J., Rojas, L. and Rosado, A.: INSULIN REGULATION OF SPERMATOZOA METABOLISM. *Endocrinology.* 92:3:833-837, 1973.
- 15.- Chodhury, I., Chaudhuri, D., Kushari, J. and Mukherjea, M.: ACTION OF POLYAMINES ON RIBONUCLEIC ACID AND PROTEIN SYNTHESIS DURING ONTOGENY OF HUMAN FETAL LIVER. *Biol Neonate.* 46:209-214, 1984.
- 16.- Malaisse, W.J., Blachier, F., Mourtada, A., Camara, J., Albor, A., Valverde I. and Sener, A: STIMULUS SECRETION COUPLING OF ARGININA INDUCEN INSULIN RELEASE, METABOLISM OF L-ARGININE AND L-ORNITHINE IN PANCREATIC ISLETS. *Biochim Biophys Acta.* 1013,2:133-143, 1989.
- 17.- Imai, K., Watanabe, K., Takahashi, O. and Shimizu, N.: A STUDY OF THE ANDROGENIC ACTIVITY OF ANTI-ANDROGEN. *Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi.* 66,6:597-606, 1990.
- 18.- Pegg, A.E.: RECENT ADVANCES IN THE BIOCHEMISTRY OF POLYAMINES IN EUKARYOTES. *Biochem J.* 234:249-262, 1986.
- 19.- Takami, O., Perry, J.W.: ARGINASE AFFECTS LACTOGENESIS THROUGH ITS INFLUENCE ON THE BIOSYNTESIS OF SPERMIDINE. *Nature.* 250:660-661, 1974.
- 20.- Harris, B.E., Pretlow, T.P., Edwin, B.L.: ARGINASE ACTIVITY IN PROSTATIC TISSUE OF PATIENTS WITH BENING PROSTATIC HYPERPLASIA AND PROSTATIC CARCINOMA. *Cancer Reseach.* 43:3008-3012, 1983.

- 21.- Mohan, C. and Bessman, S. P. : INSULIN "INHIBITION" OF GLUCONEOGENESIS BY STIMULATION OF PROTEIN SYNTHESIS. Biochemical Medicine. 26:403-426, 1981.
- 22.- Hicks, J.J., Martínez Manautou, J., Pedron, N. and Rosado, A.: METABOLIC CHANGES IN HUMAN SPERMATOZOA RELATED TO CAPACITATION. Fertil Steril. 23:172-179, 1972.
- 23.- Bachnach, U. and Heimer, Y.: THE PHYSIOLOGY OF POLYAMINES. CRC Press, Inc, Florida, U.S.A., 1989. Vol I, Cap 1 y 2.
- 24.- Pegg, A.E. and Williams - Ashman, H.G.: BIOSYNTHESIS OF PUTRESCINE IN THE PROSTATE GLAND OF THE RAT. Biochem J. 108:533-540, 1968.
- 25.- Rhodes, J.B. and Williams - Ashman, H.G.: OBSERVATIONS ON POLYAMINES IN MALE ACCESSORY GLANDS OF REPRODUCTION. Med Exp. 10:281-287, 1964.
- 26.- Radany, E.W. and Atherton, R.W.: ARGININE INDUCED STIMULATION OF RABBIT SPERM MOTILITY. Achives of Andrology. 7:351-355, 1971
- 27.- Paz, G.F., Sofer, A., Homonnai, Z.T. and Kraicer, P.F.: HUMAN SEMEN ANALYSIS, SEMINAL PLASMA AND PROSTATIC FLUID COMPOSITION AND THEIR INTERRELATIONS WITH SPERM QUALITY. Int J Fertil. 22:141-147, 1977.
- 28.- Matsuzaki, S., Suzuki, M. and Hamana, K.: A POSSIBLE ROLE OF ARGINASE IN THE REGULATION OF POLYAMINE BIOSYNTHESIS IN THE RAT THYROID. Acta Endocrinologica. 98:57-61, 1981.
- 29.- Degroot, L.J., Cahill, G.F., Odell, W.D. and Martini, L.: ENDOCRINOLOGY. Vol 2. Ed. Grune And Stration. N.Y. U.S.A., 1979.
- 30.- Yamanaky, H., Muiyurumi, T., Shimazuki, J., Shida, K.: PROPERTIES AND ANDROGEN INDUCED CHANGES OF ARGINASE IN KIDNEY AND VENTRAL PROSTATE OF RATS. J Endocrinol Japan.

- 31.- Lazarow, A.: GLUTATHIONE AND ALLOXAN DIABETES. Proc American Diabetes Association. 9:407-420, 1949.
- 32.- Gerich, J.E., Charles, A. and Grodsky, G.M.: CHARACTERIZATION OF THE EFFECTS OF ARGININE AND GLUCAGON AND INSULIN RELEASE FROM THE PERFUSED RAT PANCREAS. The Journal of Clinical Investigation. 54:833-841, 1974.
- 33.- Rinehart, C.A., and Canellakis, E.S.: INDUCTION OF ORNITHINE DECARBOXYLASE ACTIVITY BY INSULIN AND GROWTH FACTORS IS MEDIATED BY AMINO ACIDS. Proc Natl Acad Sci. 82:4365-4368, 1985.
- 34.- Hara, M., Patton, G., Gerich, J.: INCREASED SOMATOSTATIN RELEASES OF ALLOXAN DIABETIC RATS PERFUSED IN VIVITRO. Life Sciences. 24:625-628, 1979.
- 35.- Pau, M.Y. and Milner, J.A.: DIETARY ARGININE AND SEXUAL MATURATION OF THE FEMALE RAT. J Nutr. 112:1834-1842, 1982.
- 36.- Frankel, B.J., Gerich, J.E., Franska, R.E., Gerritsen, G.C. and Grodsky, G.M.: RESPONSES TO ARGININE OF THE PERFUSED PANCREAS OF THE GENERICALLY DIABETIC CHINESE HAMSTER. Diabetes. 24:3:272-279, 1975.
- 37.- Garganta, C.L. and Bond, J.S.: ASSAY AND KINETICS OF ARGINASE. Analytical Biochemistry. 154:388-394, 1986.
- 38.- Haggerty, D.F., Spector, E.B., Lynch, M., Kern, R., Frank, L.B. and Cederbaum, S.D.: REGULATION BY GLUCOCORTICOIDS OF ARGINASE AND ARGININOSUCCINATE SYNTHETASE IN CULTURED RAT HEPATOMA CELLS. The Journal of Biological Chemistry. 25:5:2246-2253, 1982.
- 39.- Soskin, S.: METABOLISM OF THE FOODSTUFFS IN EXPERIMENTAL DIABETES. Proc American Diabetes Association. 6:349-372, 1946.
- 40.- Rodríguez Cuartero, J., Mora Lara, R.J., Morata García, F. y Pelaez Redondo, J.: ACCIDENTES VASCULARES DEL ENCEFALO. VALOR DE LA ARGINASA SERICA EN EL DIAGNOSTICO DIFERENCIAL. Revista Clínica Española. 1124:4:369-374, 1972.

- 41.- Kumar, A.N. and Kalyankar, G.D.: EFFECT OF STEROID HORMONES ON AGE DEPENDENT CHANGES IN RAT ARGINASE ISOENZYMES. *Experimental Gerontology*. 19:191-198, 1984.
- 42.- Núñez Carril, J., Rodríguez Cuatero, A., Peláez Redondo, J., Morata García, F. y Mora Lara, R.J.: ACTIVIDAD DE LA ARGINASA SERICA EN NORMALES Y MISCELANEA. *Revista Clínica Española*. 123:3:245-249, 1971.
- 43.- Peláez Redondo, J., Rodríguez Cuartero, J., Núñez Carril, J. y Mora Lara, R.J.: ARGINASA Y SEROMUCOIDE EN CIRROSIS E HIGADO CARDIACO, SU INTEGRACION EN EL PATRON BIOQUIMICO DE ESTAS ENFERMEDADES. *Revista Clínica Española*. 124:6:567-570, 1972.
- 44.- Rodríguez Cuartero, J., Núñez Carril, J., Peláez Redondo, J. y Lucena Conde, R.: ACTIVIDAD ARGNASICA EN ENFERMEDADES CARDIOPULMONARES. *Revista Clínica Española*. 124:3:263-270, 1972.
- 45.- Joshi, U.M.: ENDOCRINE AND ACESORY SEX ORGAN FUNCTION AFTER VASECTOMY AND VASOVASOSTOMY. *Archives of Andrology*. 7:187-191, 1981
- 46.- Seidenfel, J., Wilson, J. and Williams-Ashman, G.: ANDROGENIC REGULATION OF 5'-DEOXY-5'-METHYLTHIOADENOSINE CONCENTRATIONS AND METHYLTHIOADENOSINE PHOSPHORYLASE ACTIVITY IN RELATIOS TO POLYAMINE METABOLISH OF RAT PROSTATE. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 95:4:1861-1868, 1980.
- 47.- Naik, V.K., Joshi, U. M. and Sheth, A.R.: LONG-TERM EFFECTS OF VASECTOMY ON PROSTATIC FUNCTION IN MEN. *J Reprod Fert*. 58:289-293, 1980.
- 48.- McAnulty, P.A. and Williams, J.P.G.: POLYAMINES AND THEIR BIOSYNTHETIC DECARBOXYLASES IN VARIOUS TISSUES OF THE YOUNG RAT DURING UNDERNUTRITION. *Br J Nutr*. 38:73-86, 1977.
- 49.- Carrasco - Formiguera, R.: THE MECHANISM OF ALLOXAN HYPOGLYCEMIA. *Proc American Diabetes Association*. 7:277-287, 1947.
- 50.- Herb, O. and Persson, L.: MOLECULAR GENETICS OF POLYAMINE SYNTHESIS IN EUKARYOTIC CELLS. *Tibs*. 15:153-158, 1990.

- 51.- Arreola, F., Paniagua, R., Herrera, J., and Villalpando, S.: LOW PLASMA ZINC AND ANDROGEN IN INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS. *Archives of Andrology*. 16:151-154, 1986.
- 52.- Pretlow, T.G., Harris, B.E., Bradley, E.L., Bueschen, A.J., Lloyd, K.L. and Pretlow, T.: ENZYME ACTIVITIES IN PROSTATIC CARCINOMA RELATED TO GLEASON GRADES. *Cancer Research*. 45:442-446, 1985.
- 53.- Brown, G.W. and Cohen, P.P.: COMPARATIVE BIOCHEMISTRY OF UREA SYNTHESIS. *Journal of Biological Chemistry*. 234:7:1769-1775, 1959.
- 54.- Yamanaka, H., Shimazaki, J., Imai, K., Sugiyama, Y. and Shida, K.: EFFECT OF ESTROGEN ADMINISTRATION ON ACTIVITIES OF TESTOSTERONE 5 $\alpha$ -REDUCTASE, ALKALINE PHOSPHATASE AND ARGINASE IN THE VENTRAL AND THE DORSOLATERAL PROSTATES OF RATS. *Endocrinol. Japon.* 22:4:297-302, 1975.
- 55.- Remesar, X., Aroca, L.I., Palow, A. and Alemany, M.: ARGINASE ACTIVITY DURING PREGNANCY AND LACTATION. *Horm Metabol Res.* 16:468-470, 1984.
- 56.- Guyton, A.C.: TRATADO DE FISILOGIA MEDICA. 7a Edición. Ed. Interamericana McGraw Hill, 1986.
- 57.- Leninger, A.L.: BIOQUIMICA. 2a Edición. Ed. Omega. Barcelona España, 1985.
- 58.- Krall, L.P. and Beaser, R.S.: JOSLIN DIABETES MANUAL. 12th Edition. Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1989.
- 59.- Ruben, J.A. and Yardumian, K.: DIABETES IN THE RAT CAUSED BY INTRODUCEN OF ALLOXAN INTO THE ALIMENTARY CANAL. *Am J Clin Pathol.* 15:230-233, 1946.
- 60.- Feuerstein, B., Williams, L.D., Basu, H.S. and Marton, L.J.: IMPLICATIONS AND CONCEPTS OF POLYAMINE - NUCLEIC ACID INTERACTIONS. *Journal of Cellular Biochemistry*. 46:37-47, 1991.

- 61.- Dimitriadis, G.D., Pehling, G.B. and Gerich, J.E.: *ABNORMAL GLUCOSE MODULATION OF ISLET A- AND B- CELL RESPONSES TO ARGININE IN NON-INSULIN DEPENDENT DIABETES MELLITUS.* Diabetes. 34:541-547, 1985.
- 62.- Freeman, J.J. and Williams, M.A.: *ESTROGENIC INDUCTION OF UTERINE ARGINASE ACTIVITY.* Horm Metab Res. 3:352, 1971.
- 63.- Radany, E.W. and Atherton, R.W.: *ARGININE INDUCED STIMULATION OF RABBIT SPERM MOTILITY.* Archives of Andrology. 7:351-355, 1971.
- 64.- Fleming, A.D. and Armstrong, D.T.: *EFFECTS OF POLYAMINES UPON CAPACITATION AND FERTILIZATION IN THE GUINEA PIG.* Journal of Experimental Zoology. 233:93-100, 1985.
- 65.- Papp, J., Graf, J. and Tambor, E.: *DIE ROLLE DES ARGININGEHALTES UND DER ARGINASE-AKTIVITAT IN DER FERTILITAT.* Andrologia. 11:1:37-41, 1979.
- 66.- Solomon, S., Solomon, W. and Duckworth, C.: *THE GLUCOSE INTOLERANCE OF ACUTE PANCREATITIS. HORMONAL RESPONSE TO ARGININE.* Diabetes. 29:22-26, 1980.
- 67.- Curry, D.L., Safarik, R.H. and Reaven, E.: *EFFECT OF AGE ON THE INSULIN SECRETORY RESPONSE OF PERFUSED RAT PANCREAS TO ARGININE AND TOLBUTAMIDE.* Horm Metabol Res. 19:453-457, 1987.
- 68.- Menchini, M. and Meshi, F.: *C-PEPTIDE RESPONSE TO ARGININE STIMULATION IN DIABETIC CHILDREN.* Journal of Pediatrics. 96:3:362-366, 1980.
- 69.- Zarate Treviño, A.: *DIABETES MELLITUS. BASES PARA SU TRATAMIENTO.* Ed Trillas. España 1989.
- 70.- Bauer, J.D. : *ANALISIS CLINICOS. METODOS E INTERPRETACION.* Ed Reverté. Barcelona, España, 1986.