

300627



UNIVERSIDAD LA SALLE 2
ESCUELA DE QUÍMICA
Incorporada a la UNAM 20

"EFECTO DE LA ORQUIECTOMIA SOBRE LA
ACTIVIDAD DE ARGINASA PANCREÁTICA"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

QUÍMICA FARMACEÚTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

MARIA DE LOURDES CANDINI SANCHEZ

Director de Tesis
DR. JOSE DOMINGO MENDEZ FRANCISCO

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, 1994



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.

A mi madre con todo mi amor y como muestra de mi agradecimiento por haberme dado cariño, apoyo, educación, confianza, fe y todo lo que soy.

A Fernando con todo mi amor por su estímulo, comprensión y cariño.

A mis Hijos Fernando y César con todo mi amor.

A mis Hermanas Susana y Adriana
con cariño por su apoyo.

A mis maestros y compañeros por
su apoyo, comprensión, y momen-
tos que compartimos.

Al Dr. José Domingo Méndez
por su paciencia y apoyo.

Lugar en donde se desarrolló la Tesis :

**Laboratorio de Bioquímica Experimental
Unidad de Investigación Biomédica
Centro Médico Nacional. IMSS.**

Bajo la dirección del Dr. José Domingo Méndez Francisco

INDICE

	pag.
RESUMEN	2
INTRODUCCION	3
GENERALIDADES	6
OBJETIVOS	51
MATERIAL Y METODO	52
RESULTADOS	57
DISCUSION DE RESULTADOS	73
CONCLUSIONES	81
APENDICE	83
BIBLIOGRAFIA	95

RESUMEN

Se estudió el efecto de la castración sobre la función del páncreas a diferentes tiempos en ratas macho adultas y prepúberes (21 días). Se utilizaron 80 ratas (35 adultas y 45 prepúberes) y se agruparon en lotes de 5 ratas :grupo 1.- ratas adultas no castradas (control). Los grupos 2,3,4,5,6 y 7 fueron ratas adultas castradas y mantenidas en condiciones y alimentación normales de bioterio por: 24 hrs, 48 hrs., 5 días, 20 días, 30 días y 60 días respectivamente. Las ratas prepúberes se agruparon de la misma manera castrándose y manteniéndolos de igual forma que los anteriores e incluyendo 4 grupos control : 21 días, 41 días, 51 días y considerando como cuarto control al grupo control de ratas adultas. En el suero se midieron :concentración de glucosa, triacilglicéridos y proteínas totales, además, las actividades de α -amilasa y arginasa. En el tejido pancreático se midieron las proteínas, peso seco y actividad de arginasa y α -amilasa. Los resultados indican que la castración produce ligeros cambios en las actividades de arginasa y α -amilasa pancreáticas; siendo estos cambios más notables en las ratas castradas en la fase prepúber de crecimiento. La castración produjo cambios que indirectamente podrían tener que ver con un efecto sobre la producción o secreción de insulina. Aunque esta idea se ha sugerido, no está comprobada.

INTRODUCCION

El efecto de la castración sobre la actividad de algunas enzimas como arginasa y las fosfatasa ácida y alcalina se han estudiado en órganos como riñón, hígado e intestino delgado de diferentes animales. Se ha encontrado que estas enzimas son sensibles a la castración, lo que se podría atribuir básicamente a la falta de testosterona (54,55,56,57,58,59,60,61).

En 1976, Ake Poussette administró testosterona marcada en ratas castradas y observó que una gran cantidad de esta hormona aparecía en el páncreas en poco tiempo. Sus estudios *in vitro* permitieron demostrar la existencia en el páncreas de una proteína que fija la testosterona y dihidrotestosterona con afinidades similares.

La proteína parcialmente caracterizada tiene muchas de las propiedades típicas observadas en receptores androgénicos : alta afinidad y baja capacidad de enlace, coeficiente de sedimentación de 3.55 en altos gradientes de sal y sacarosa y un pI aproximado a 5. El complejo testosterona-receptor fue relativamente sensible al calor. Experimentos *in vivo* indican que el ligando

fisiológico para el receptor androgénico es testosterona..

Aún así, el receptor tiene la capacidad de ligar a 5- α -dihidrotestosterona al menos de igual forma, este ligando normalmente está ausente en el páncreas. Después de la administración de testosterona marcada en ratas machos castradas, la radioactividad recuperada en el citosol consistía en : testosterona (75-90%), androstendiona (5-15%) y esteroides polares (5-20%). En el núcleo consistía en testosterona (70-90%) y androstendiona (10-30%).

La cantidad de receptor androgénico en páncreas es relativamente alta comparada con otros órganos y tejidos que no son blanco clásico de andrógenos.

Apoyados en la presencia de una proteína receptora en páncreas específica para andrógenos, se sugiere que existe una clase común de receptores de testosterona en muchos órganos y que estos receptores pueden detectarse *in vivo* o *in vitro* con métodos suficientemente sensibles.

Antes de evocar efectos biológicos, las hormonas esteroides se unen a una proteína de alta afinidad y baja capacidad.

Finalmente se sugiere que el receptor androgénico pancreático, que también esta presente en ratas hembras castradas, puede participar en la regulación por esteroides sexuales de la función pancreática (39).

Parece ser que la arginasa tiene una función crucial en la síntesis de proteína pancreática y se ha sugerido su participación en la biosíntesis de proteínas a través de putrescina , espermina y espermidina. Esta interacción puede representar parte del mecanismo para la regulación de la biosíntesis y secreción de insulina (45).

Con base en estos antecedentes, consideramos importante investigar el efecto que tiene la castración sobre la función pancreática a través de la medición de algunos parámetros bioquímicos indicadores de la función exócrina y endócrina.

GENERALIDADES

ORGANIZACION Y REGULACION DEL SISTEMA ENDOCRINO

La composición de los líquidos que bañan las células de los organismos multicelulares tiene que estar regulada, la estabilidad de este ambiente interno se consigue gracias a la actividad coordinada de dos grandes sistemas: el endócrino y el nervioso vegetativo.

En el sistema vegetativo la información es transportada por impulsos nerviosos, y en el endócrino por la sangre. Las respuestas vegetativas son más localizadas y más rápidas que las hormonales, aunque las terminaciones nerviosas liberan transmisores químicos (acetilcolina y noradrenalina) que en algunas circunstancias circulan en el plasma y pueden ser considerados como productos glandulares u hormonas.

El concepto general más importante en la organización es el de control por retroacción, especialmente el de retroacción negativa. Existen dos variables : A y B; si $A=f(B)$ y $B=f(A)$ existe una relación de retroacción entre las dos : si la concentración o efecto de A aumenta cuando aumenta B, la retroacción es positiva, mientras que si A disminuye cuando B aumenta, la retroacción es negativa (Fig.1).

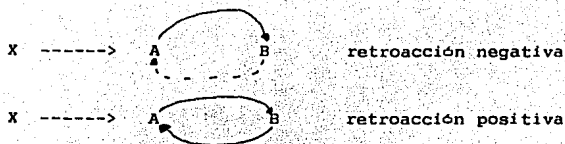


Figura 1.- ----- La variable dependiente cambia en forma opuesta. ----- La variable dependiente cambia en la misma dirección.

La actividad de todo el sistema endócrino está estrechamente integrada, por lo que cualquier perturbación, como la extirpación o disfunción de una de las glándulas, produce cambios en la función de otras muchas glándulas o en el resultado de acción de otras hormonas sobre las células. Todas las células sensibles a las hormonas tienen mecanismos autorreguladores incorporados que funcionan en ausencia de hormonas específicas.

El más simple de los sistemas de control endócrino es en el que la hormona actúa sobre las células específicas provocando así un cambio en la variable controlada del líquido extracelular que a su vez regula la secreción de hormona por la glándula (Fig.2).

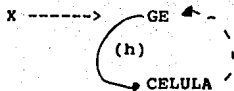


Figura 2.- Sistema de control endócrino.

Si bien, este tipo de retroacción negativa funciona como un circuito cerrado, su contexto particular puede ser modificado por una acción endócrina o nerviosa ejercida sobre la propia glándula o sobre las células efectoras hormonalmente sensibles. Ejemplos de este tipo son el caso de insulina-glucemia, glucagón-glucemia, aldosterona-sodemia, etc. Un rasgo básico de este tipo de sistema es la falta de control hipotalámico o hipofisiario directo.

En el control endócrino por liberación de un precursor hormonal un órgano (hígado) secreta al torrente sanguíneo un homólogo (angiotensinógeno) que es activado en la sangre por una enzima (renina) de otro órgano (riñón) y convertido en una hormona trópica (angiotensina) que estimula la producción de aldosterona en la corteza suprarrenal. Esta última hormona, al actuar sobre el riñón, altera la excreción de electrolitos, lo que a su vez provoca una disminución en la producción de la enzima por el riñón (Fig.3).

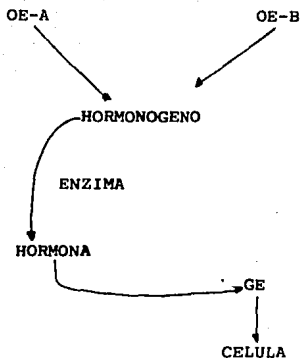


Figura 3.- Control endócrino por liberación de un precursor hormonal. OE-A.- órgano endócrino A. OE-B.- órgano endócrino B.

En el siguiente orden de complejidad la actividad de la glándula endócrina está bajo el control del hipotálamo. El control por retroacción no se ejerce sobre la glándula sino sobre la función hipotalámica que a su vez regula la función glandular. El efector de la retroacción parece ser uno o más componentes del plasma (Fig.4).

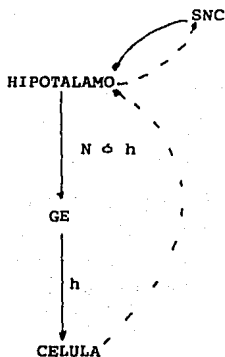


Fig.4.-Control por ordenación jerárquica Hipotálamo-glándula endócrina-célula efectora.

En el máximo orden de complejidad la actividad del órgano efector endócrino final es regulada por la hipófisis anterior, la actividad de la cual es regulada a su vez por el hipotálamo. Se caracterizan por dos rangos importantes : a) el efector del mecanismo de retroacción es el producto endócrino final y no alguna sustancia producida como resultado de su acción sobre las células sensibles, b) el asiento del control por retroacción esta en el nivel hipotalámico y no en la glándula hipofisiaria (Fig.5).

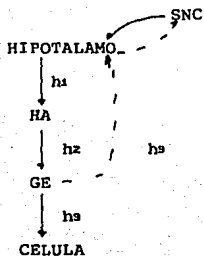


Fig.5.- control por ordenación jerárquica hipotalámico
-hipófisis- glándula endócrina-célula efectora.

Todos estos sistemas son cerrados, pero en cada caso la actividad de los distintos componentes puede ser alterada por señales procedentes del exterior del circuito cerrado que pueden modificar el equilibrio final del sistema.

Esta fue una visión vertical del sistema endócrino, pero centrandó la atención en una variable en particular, como la glucosa en sangre, puede contemplarse la organización endócrina horizontalmente. En este caso, la concentración de la sustancia controlada es bastante constante debido a un sistema de retroacción dual en el que se producen una o más hormonas en respuesta a un aumento de la concentración de la sustancia controlada. Este aumento de las concentraciones hormonales sirve para volver a la

normalidad la concentración de la sustancia controlada, y cuando la concentración de ésta disminuye, se producen una o mas hormonas que actúan en sentido contrario para volver a aumentarla. Las hormonas influyen por regla general la tasa de más de una sustancia. Este mecanismo protege al organismo de las consecuencias de la hiperfunción o fallo del control en uno de los sistemas, además una sola hormona puede alterar la concentración de más de un componente plasmático (37).

HIPOFISIS

Es una pequeña glándula de origen doble que forma un apéndice basal medio del hipotálamo. Se sitúa en la fosa hipofisiaria, entre la lámina cuadrilátera del esfenoideas por detrás y el tubérculo pituitario por delante. Está recubierta de duramadre y queda cerrada incompletamente por arriba por el diafragma de la silla turca. Es una estructura redondeada de dimensiones medias de : 14 mm transversalmente, 9 mm anteroposteriormente y 6 mm verticalmente. Pesa mas de medio gramo y se distinguen en ella las siguientes partes : a) lóbulo anterior y b) lóbulo posterior; ambos poseen una irrigación arterial abundante y entre ambas hay una pequeña zona relativamente avascular denominada parte intermedia.

La hipófisis anterior produce diferentes hormonas (Fig.6):

- a) Hormona del crecimiento.- estimula el crecimiento animal modificando el metabolismo proteico y la proliferación y deferenciación celular.
- b) La adrenocorticotropina o corticotropina .- regula la secreción de algunas hormonas corticosuprarrenales, que a su vez modulan el metabolismo de glucosa, proteínas y grasa.
- c) Tirotropina .- controla la intensidad de la secreción de tiroxina por la tiroides, que a su vez controla la intensidad de la mayor parte de las reacciones químicas de la economía.
- d) Prolactina .- estimula el desarrollo de la glándula mamaria y la producción de leche.
- e) Hormona estimulante de los folículos
- f) Hormona luteinizante

La hipófisis posterior secreta dos hormonas :

- a) Antidiurética o vasopresina .- regula la excreción renal de agua.
- b) Oxitocina .- favorece el transporte de leche desde las glándulas mamarias hasta el pezón durante la succión.

Los cuerpos de las células que secretan estas hormonas no están localizadas en la glándula; más bien son grandes neuronas de los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo. Las hormonas son

transportadas a la hipófisis posterior en el axoplasma de las fibras nerviosas de las neuronas que pasan desde el hipotálamo hasta la hipófisis posterior (36).

HIPOTALAMO

Esta región es la prolongación craneal del tegmento del mesencéfalo. Casi toda la secreción de la hipófisis es controlada por señales hormonales o nerviosas provenientes del hipotálamo. La secreción de la hipófisis anterior esta controlada por hormonas llamadas factores hipotalámicos de liberación y de inhibición secretados entro del propio hipotálamo y conducidos a la hipófisis anterior por los llamados vasos portales hipotalamicohipofisiarios. En la hipófisis anterior estos factores actúan sobre las células glandulares para controlar su secreción. El hipotálamo es un centro colector de información relacionada con el bienestar del organismo, y a su vez gran parte de esta información se utiliza para controlar las secreciones de muchas hormonas hipofisiarias de importancia global.

hipotalamohipofisiarios y transportadas directamente a los senos de la hipófisis anterior. La función de estas sustancias es controlar la secreción de las hormonas de la hipófisis anterior. Cada tipo de hormona adenohipofisiaria tiene su correspondiente factor hipotalámico de liberación y algunas tienen también el correspondiente factor hipotalámico de inhibición; los factores hipotalámicos de importancia fisiológica son :

a) Hormona de liberación de la hormona estimulante de la tiroides .- induce la liberación de la hormona que estimula la tiroides (TRH).

b) Hormona de liberación de la corticotropina (CRH).

c) Hormona de liberación de la hormona del crecimiento .- causa la liberación de la hormona del crecimiento y hormona inhibidora de la hormona del crecimiento o somatostatina.

d) Hormona liberadora de gonadotropinas.- causa la liberación de la hormona luteinizante y de la folículoestimulante.

e) Hormona inhibidora de la prolactina.- inhibe la secreción de prolactina.

Además de éstas hay otras que estimulan la secreción de prolactina y diversos factores inhibidores que regulan algunas hormonas de la adenohipófisis (32).

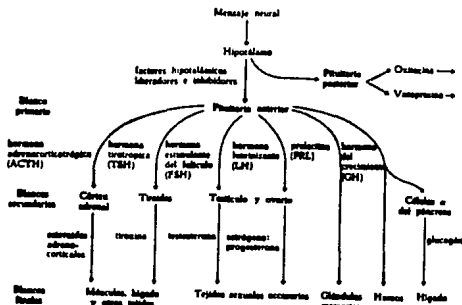


Figura 6.- Control jerárquico de la regulación endocrina.

PANCREAS

Es un órgano blando y lobulado que cruza la pared abdominal posterior desde la zona del duodeno hasta la zona del bazo (Fig.7). Tiene 12-15 cm de largo y se sitúa en las regiones epigástrica e hipocondriaca izquierda a nivel de la primera y segunda vértebra lumbar. Pesa unos 90 g y se divide en cabeza, cuerpo y cola.

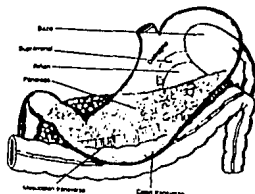


Figura 7.- Estructuras situadas detrás del estómago.

El páncreas comprende dos tipos principales de tejidos : los acini que secretan jugos digestivos en el duodeno y los islotes de Langerhans que secretan insulina y glucagón directamente hacia la sangre. El páncreas humano tiene de uno a dos millones de islotes de Langerhans, cada uno de aproximadamente 0.3 mm de diámetro de forma redonda u ovalada. Cada uno compuesto por cordones irregulares de alrededor de 300 células pequeños capilares hacia los que sus células secretan las hormonas que producen. Se distinguen tres tipos principales de células : alfa, que producen glucagón, son el 25% del total y se tienden a situar en la periferia; beta, que constituyen el 60% del total, secretan insulina y se sitúan centralmente y las delta que secretan somatostatina y constituyen el 10% del total (Fig.8). Además están las llamadas células PP en pequeñas cantidades dentro de los islotes que secretan el polipéptido pancreático de función desconocida (36).

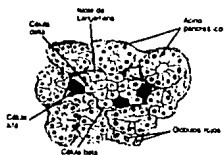


Figura 8.- Anatomía fisiológica del páncreas.

INSULINA

Es una proteína constituida por 51 aminoácidos; esta compuesta por dos cadenas de aminoácidos que se conectan

La síntesis de la insulina se inicia en el núcleo de la célula β , en donde el gen que codifica la molécula precursora, la preproinsulina, la transcribe al 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 al entrar en el RER, quedando la proinsulina que se compone de la secuencia de aminoácidos que formará la insulina unida por el péptido C.

La proinsulina, probablemente unida a los receptores y proteasas, se transporta en pequeñas vesículas hasta el polo cis del Aparato de Golgi y se desplaza al final de la cisterna o saco de Golgi en donde se forman por invaginación, vesículas que van hasta la siguiente cisterna y se fusionan con ella. Cuando se alcanza el punto más alejado del Aparato de Golgi o trans, las vesículas recubiertas de clatrina dan lugar a los gránulos de secreción revestidos en donde 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 clatrina; el resultado es la formación de gránulos desnudos que contienen mayoritariamente insulina, que se libera a través de la membrana celular al torrente sanguíneo (33) (Fig.10).

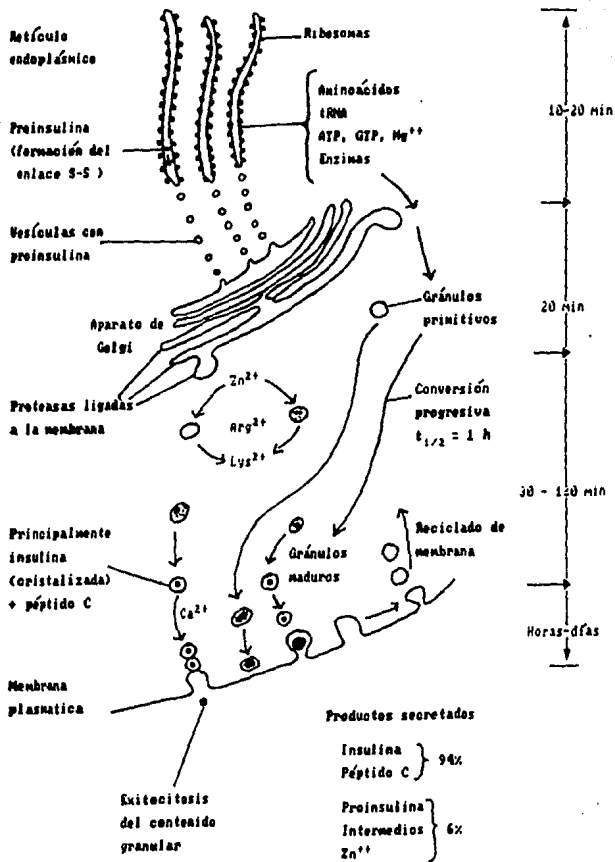


Figura 10.- Síntesis de insulina.

La idea de que la insulina se liga a receptores específicos situados en el interior o sobre sus células blanco, fué propuesta ya hace tiempo, pero los experimentos realizados por Cuatrecasas proporcionaron nuevos datos a favor de que la unión de la insulina marcada es 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 temperatura. Cuatrecasas y colaboradores consiguieron extraer la proteína insulino-receptora de las células adiposas la cual posee un peso molecular de 300 000 y tiene alta afinidad por la insulina (34).

Después de una ingesta de alimento, la concentración de glucosa sanguínea aumenta propiciando una secreción rápida de insulina que determina la captación rápida, almacenamiento y uso de la glucosa casi por todos los tejidos del organismo (32).

La insulina en el metabolismo de carbohidratos promueve la captación, depósito y uso de glucógeno por el hígado inhibiendo la fosforilasa, incrementando la actividad de la glucocinasa, fosfofructocinasa y glucógeno sintetasa, promueve también la conversión de glucosa hepática en ácidos grasos que son depositados como grasa en tejido adiposo, inhibe la glucogenólisis, promueve el metabolismo de glucosa en el músculo

propicia el depósito de glucógeno en el músculo y facilita el transporte de glucosa al interior de las células.

En el metabolismo de las grasas la insulina promueve la síntesis y depósito de grasas aumentando la utilización de glucosa y síntesis de ácidos grasos, inhibe la acción de la lipasa hormonosensible en las células adiposas y promueve la síntesis de triglicéridos en adipocitos.

En el metabolismo de proteínas la insulina promueve la síntesis y almacenamiento de proteínas inhibiendo su catabolismo, aumentando la traducción del RNA mensajero en los ribosomas y facilitando el transporte activo de aminoácidos al interior de la célula (32).

TESTICULOS

Los testículos producen esperma y las hormonas esteroideas que regulan la vida sexual en el hombre. Ambas funciones se encuentran bajo un complejo control de retroalimentación por el sistema hipotalámico-hipofisiario. Durante la embriogénesis, las hormonas testiculares participan también en la formación del fenotipo básico del hombre. Los testículos constan de dos componentes : un sistema de túbulos espermatógenos para la producción y transporte del

esperma y grupos de células intersticiales o de Leydig que están situadas entre los túbulos y producen testosterona.

Se requieren cinco enzimas para la conversión de colesterol a testosterona : 20,22-desmolasa, complejo 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa- δ 4,5 isomerasa, 17α -hidroxilasa, 17,20-desmolasa y 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa. La reacción que limita la velocidad en la síntesis de testosterona es la conversión del colesterol a pregnenolona por la 20,22-desmolasa; la hormona luteinizante actúa en esta etapa para regular la velocidad de formación de testosterona(Fig.11). Se sabe que 6 mg por día se producen en un hombre adulto, pero solamente 100 μ g se excretan con la estructura δ 4-3cetoesteroide intacta, esto nos da una idea del extenso metabolismo de la testosterona en humanos (35).

La testosterona es transportada en el plasma unida a proteínas, en especial la albúmina y a una proteína específica de transporte de la hormona esteroidea, la globulina de unión de la testosterona. En el plasma las fracciones unidas y libres están en equilibrio dinámico. La testosterona sirve como precursor circulante del estradiol y la dihidrotestosterona que intervienen en muchos procesos fisiológicos relacionados con la acción de los andrógenos. Los andrógenos circulantes pueden convertirse a estrógenos en los tejidos periféricos

siendo el tejido adiposo el más importante.

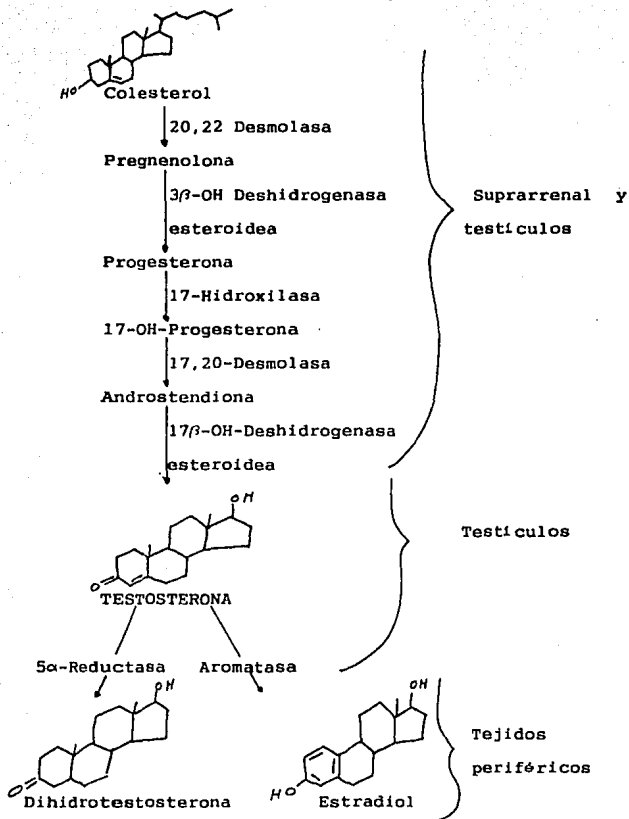


Figura 11.- Formación de andrógenos

La testosterona del plasma y sus metabolitos activos son convertidos a metabolitos inactivos en el hígado y se excretan en gran parte en la orina como 17-cetoesteroides urinarios y el resto se excreta como una serie de compuestos polares.

La secreción de testosterona es regulada por la hormona luteinizante de la hipófisis. La hormona estimulante del folículo también puede aumentar la secreción de testosterona, tal vez regulando la cantidad de los receptores de LH sobre la membrana plasmática de la célula de Leydig. La testosterona ejerce retroalimentación sobre la hipófisis para alterar la sensibilidad de la glándula hacia el factor hipotalámico liberador de la hormona liberadora de la hormona luteinizante. La misma testosterona es el principal regulador de la secreción de gonadotropinas (Fig.12).

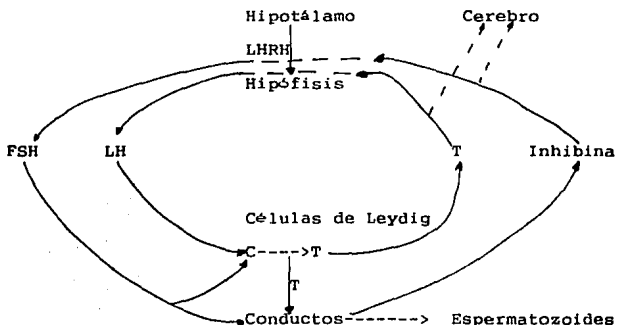


Figura 12.- Regulación de la testosterona.

Las principales funciones de los andrógenos son la regulación de la secreción de gonadotropinas, la iniciación y mantenimiento de la espermatogénesis, formación del fenotipo masculino durante la diferenciación sexual y la inducción de la maduración y función sexuales una vez que se establece la pubertad.

La testosterona penetra a la célula por difusión pasiva y en el interior puede convertirse en dihidrotestosterona por acción de la enzima 5 α -reductasa; ahí cualquiera de los dos se unen en el citosol a la proteína receptora de andrógenos. El complejo hormona-receptor es transportado hacia el núcleo en donde se une a sitios cromosómicos específicos; como resultado se adapta un nuevo mensajero RNA y aparece una proteína nueva dentro del citoplasma celular.

La FSH y testosterona son esenciales para la espermatogénesis. El principal sitio de acción de la FSH es el componente de las células de Sertoli de los conductos seminíferos. El conducto es también un blanco para la testosterona y contiene receptores específicos para los andrógenos. La célula de Sertoli depende de la testosterona que se difunde desde las células de Leydig adyacentes. Los conductos seminíferos producen también la hormona inhibina que regula la secreción de FSH por

el eje hipotalámico-hipofisiario. La testosterona del plasma y la producción de esperma ejercen un efecto de retroalimentación sobre el sistema hipotalámico-hipofisiario para regular sus propios niveles de producción. La testosterona es secretada hacia el plasma de manera pulsátil cada 20-30 minutos.

En el embrión del sexo masculino la producción de testosterona por los testículos comienza en la séptima semana de gestación. Poco después, la testosterona del plasma alcanza un valor elevado que se mantiene hasta la fase tardía de gestación y empieza a descender de manera que al momento del nacimiento la testosterona del plasma es ligeramente más elevada en el hombre que en la mujer. Poco después del nacimiento, la testosterona vuelve a elevarse y permanece elevada por unos tres meses, cayendo a niveles bajos más o menos al año de edad. Entonces la concentración permanece baja hasta la pubertad alcanzando los niveles de un adulto a los 17 años de edad.

En el adulto, el nivel medio del plasma permanece más o menos constante hasta la edad media y después declina lentamente durante los últimos decenios de la vida. Se desconoce el papel de la elevación posnatal en la formación de la testosterona durante el primer año de vida (35).

POLIAMINAS

Las poliaminas son una serie de pequeñas moléculas de cadena lineal de naturaleza no proteica, de bajo peso molecular y se encuentran distribuidas ampliamente en los sistemas vivientes, lo que quizá constituye un indicativo de que su presencia es esencial para la realización de los procesos básicos de la función celular.

La presencia de poliaminas en materiales biológicos se reportó hace más de 300 años. Se ha demostrado que en los mamíferos los niveles tisulares de estas moléculas son mayores en órganos con síntesis activa del ácido ribonucleico (RNA) (38), tal es el caso de la médula ósea, la próstata y el páncreas. En este último se han destacado altas concentraciones de espermina particularmente en las células productoras de insulina (30, 40).

Las concentraciones de poliaminas se incrementan de manera marcada en el hígado de rata en regeneración y se observa un incremento en las enzimas involucradas en su biosíntesis (41, 42).

Los procariotes tienen generalmente más altas

concentraciones de putrescina que de espermidina y carecen de espermina. Los eucariotes tienen bajas concentraciones de putrescina además de contener espermina y espermidina.

La putrescina es el precursor de la síntesis de la espermina y espermidina; en las células animales, esta diamina se obtiene de la ornitina, sin embargo, en las células vegetales superiores, bacterias y algunos hongos la putrescina puede obtenerse a partir de agmatina (43), que a su vez es producida por la descarboxilación de arginina.

En los mamíferos, la biosíntesis de poliaminas se lleva a cabo a partir de la ornitina que proviene del plasma, aunque puede formarse dentro de las células por acción de la arginasa. Es posible que esta enzima se encuentre en tejidos extrahepáticos para facilitar la disponibilidad de ornitina para la biosíntesis de poliaminas. Por esta razón se ha pensado que la arginasa puede ser una de las enzimas que regulan la etapa inicial de la biosíntesis de poliaminas.

La ruta que conduce a la formación de putrescina es a través de la enzima ornitina descarboxilasa (ODC), que depende para su actividad del fosfato de piridoxal.

Para convertir la putrescina en espermidina, debe adicionarse un grupo propilamina, el cual se deriva de la metionina, que primero es convertida en S-adenosilmetionina y luego descarboxilada por la S-adenosilmetionina descarboxilasa (SAMD); el producto de la descarboxilación, la S-adenosilhomocisteamina, es utilizado como donador de grupos propilamina para la síntesis de espermina y espermidina (Fig.13)(34).

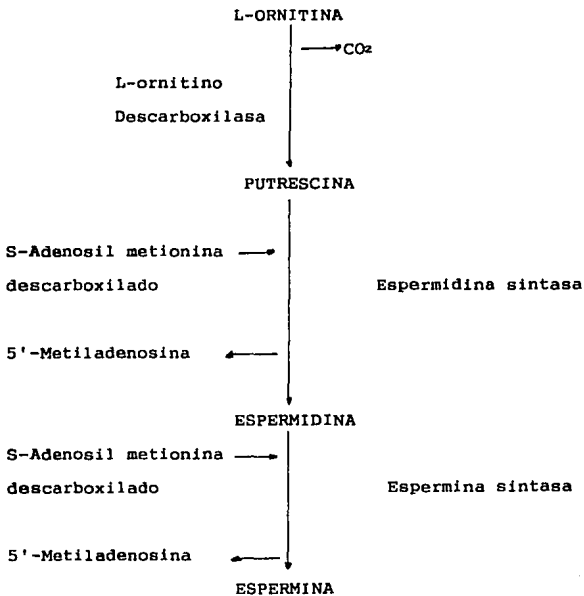


Figura 13.- Síntesis de poliaminas.

La SAMD de los mamíferos es activada por putrescina e inhibida por espermidina, esta enzima depende del piruvato como cofactor y esta presente en los tejidos en muy altas concentraciones. Se ha observado que la actividad de la espermidina sintetasa se eleva en respuesta a hormonas, regeneración tisular y factores de crecimiento celular.

Se ha demostrado que las reacciones catalizadas por la espermina y espermidina sintetetasas son irreversibles, y que la conversión de espermina en espermidina y de ésta en putrescina ocurre *in vivo*. Esta interconversión tiene lugar por acción de las enzimas : espermidina-N-acetiltransferasa y poliamina oxidasa.

Por otra parte, la putrescina puede ser oxidada por la diamina oxidasa produciendo γ -aminobutiraldehído en lugar de convertirse en espermidina; este aldehído puede oxidarse otra vez a γ -aminobutirato (GABA) o dar origen a compuestos cíclicos. la putrescina puede también ser acetilada por una enzima microsomal y la monoacetilputrescina ser oxidada por una monoamina oxidasa para producir GABA (34).

En muchos sistemas celulares, las poliaminas son necesarias para el crecimiento óptimo; en la mayoría de las células, esta necesidad es absoluta :

- 1) Poliaminas como factores de crecimiento en microorganismos y en células de mamíferos.
- 2) Estabilización de membranas celulares.
- 3) Estabilización de partículas subcelulares.
- 4) Asociación con ácidos nucleicos :
 - a.- Estabilización del DNA contra la desnaturalización del DNA.
 - b.- Asociación con tRNA.
 - c.- Estabilización de la forma superenrollada del DNA.
 - d.- Empacamiento del DNA en bacteriófagos.
 - e.- Estimulación de la síntesis de DNA.
 - f.- Estimulación de la síntesis de RNA.
 - g.- Modificación de la actividad de ribonucleasas.
 - h.- Estabilización del RNA recién sintetizado.
- 5) Efectos sobre la síntesis de proteínas :
 - a.- Fijación de moléculas de tRNA a ribosomas.
 - b.- Estimulación de metilación del tRNA.
 - c.- Reemplazamiento de Mg^{++} en la reacción de aminoacil tRNA sintetasa.
 - d.- Asociación con ribosomas.
 - e.- Fidelidad de la traducción.
 - f.- Iniciación de la traducción.
 - g.- Estimulación de la nucleotidiltransferasa del tRNA.
- 6) Efectos sobre varias reacciones metabólicas :
 - a.- Estimulación de nucleótido cinasas.
 - b.- Modificación de las actividades de las proteínas

cinasas.

c.- Incremento de la ADP-ribosilación de proteínas nucleares.

d.- Activación de la fosforilasa b.

e.- Estimulación de lipólisis.

f.- Activación de colina cinasa.

g.- Incremento en la utilización de fructosa en espermatozoides (epidídimo).

h.- Inhibición de ATPasa.

i.- Modificación de la actividad de acetil colina esterasa.

j.- Inhibición de la agregación de plaquetas.

k.- Estimulación del metabolismo del estradiol en microsomas de hígado.

La incubación de adipocitos de rata con insulina, espermidina o espermina; estimula la conversión de glucosa a dióxido de carbono e inhibe la lipólisis, estos efectos han sido observados cuando las concentraciones de las poliaminas varían entre 1-50 μ M (40). Cuando se utilizan concentraciones elevadas de espermidina y espermina, el aumento de la oxidación de la glucosa y la supresión de la lipólisis son idénticos a los efectos producidos por insulina. La inhibición de la lipólisis por poliaminas se debe a supresiones en los niveles de AMPc ya que la lipólisis inducida con epinefrina o teofilina se inhibe por las poliaminas, sin embargo, cuando se administra dibutiril AMPc esta acción

no se produce (44).

Las poliaminas intervienen en varios procesos biológicos a nivel membrana. El grupo de Elgavish demostró que estas moléculas estimulan el transporte de D-glucosa en células ciliadas renales. Dicho transporte puede deberse a la inhibición de la vía Na^+/H^+ por espermina, estimulando así el mecanismo "simport" de D-glucosa y Na^+ . En presencia de Mg^{++} , la espermina permite tener un 10% de la actividad de la Mg-ATPasa que se debe a la habilidad de esta poliamina por reemplazar el Mg^{++} en la síntesis de ATP. El Mg^{++} reduce la carga negativa de ATP formando Mg-ATP que después se combina con la ATPasa. Las poliaminas tienen un efecto similar al combinarse con el ATP (1).

Recientemente se ha demostrado que algunas enzimas de la vía glucolítica como hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa del sitio de implantación de la rata son activadas significativamente por espermina (46,47).

Las poliaminas en tiroides están asociadas con el crecimiento neoplástico y la formación de bocio. La biosíntesis de poliaminas en tiroides se regula por la tirotrófina de la pituitaria (TSH). El suplemento de ornitina en tiroides se relaciona con los niveles circulantes de TSH. La espermina tiroidea es muy

sensible a los cambios de TSH circulante (12).

POLIAMINAS Y PANCREAS

Las poliaminas son cationes alifáticos ubicuos relacionados con la diferenciación celular, síntesis macromolecular y crecimiento en numerosos sistemas celulares. En 1986, Hougaard et al (24) encontraron que las poliaminas son grandemente limitadas por la producción de insulina de las células β y que la glucosa estimuló la biosíntesis de poliaminas; contrario a esto, Thams et al (24) sugirieron un papel inhibitorio de las poliaminas por la secreción de insulina. Se propuso que las poliaminas inhiben la proteína kinasa C y que este papel inhibitorio puede contraatacarse con un estímulo inducido de la movilización de Ca^{++} .

Las poliaminas están involucradas en el contenido de insulina del RNAm, biosíntesis de insulina y proteínas y liberación de insulina sensible a la glucosa.

Se ha sugerido que la espermina ejerce una acción inhibitoria en la actividad de ornitina descarboxilasa. La espermidina y putrescina son regulantes a algún nivel de transporte que no controla específicamente la biosíntesis de insulina. Se ha informado que las poliaminas afectan el transporte regulando la unión ribosomal e interactuando con RNA.

Los posibles niveles de la regulación de espermina del contenido de insulina el RNAm son : interacciones con DNA y factores de transcripción, activación de RNA polimerasa, regulación de la estabilidad del RNA y modulación de la actividad de la enzima dependiente de poliaminas casein kinasa II.

Hougaard et al (24) sugieren que estas sustancias pueden ejercer un papel en la liberación de insulina estimulada por la glucosa funcionando como mensajeros intracelulares. Las poliaminas pueden ser necesarias para la liberación de insulina estimulada por la glucosa actuando como sustratos de las transglutaminasas.

La putrescina y espermidina parecen ser necesarias para la biosíntesis de insulina y proteína, puesto que el agotamiento de la última disminuye los contenidos de RNAm, biosíntesis de insulina, contenido de insulina en los islotes, liberación de insulina glucosa-sensitiva y síntesis de DNA. Las poliaminas actúan como factores de estimulación o permisivos en diferentes sitios de la producción de insulina *in vitro* (24).

Comparado con todo el páncreas, los islotes contienen una gran concentración de espermina relativa a espermidina. Se localizaron poliaminas en las células productoras de insulina y se encontró que la biosíntesis de poliaminas *in vitro* es estimulada por la glucosa, que

también estimula la replicación de células en los islotes. La glucosa estimula la biosíntesis de poliaminas a partir de ornitina y putrescina. Es posible que la glucosa afecte la ornitina descarboxilasa y las enzimas biosintéticas de poliaminas. Muchas poliaminas están restringidas al citoplasma de las células productoras de insulina en donde se encuentran en gránulos secretores. El papel de las poliaminas en las transglutaminasas es mediar la liberación de insulina o como mensajeros intercelulares (30).

Las concentraciones tisulares de poliaminas en páncreas de rata se ha reportado con la concentración de espermidina que es de 8.62 moles/gr de peso húmedo.

POLIAMINAS Y HORMONAS

En ratones machos y hembras, la testosterona induce la hipertrofia celular y un incremento en la actividad de algunas enzimas específicas del riñón. Estos efectos son mediados vía un receptor de andrógenos, cuando la testosterona se liga a él, el complejo receptor es transportado al núcleo donde hay un incremento en la actividad de RNA polimerasa y un incremento en la síntesis de proteínas específicas. Se sabe que los andrógenos estimulan un incremento grande y rápido en la actividad de ornitina descarboxilasa en el riñón de ratón.

La actividad de esta enzima se correlaciona con la actividad de andrógenos endógenos, incrementándose en la pubertad de los machos y bajando con la castración. La respuesta es específica para la testosterona y otros compuestos androgénicos, requiriendo un receptor de andrógeno funcional. Esta enzima no se estimula con estrógenos o cortisol en el riñón de ratón, pero sí lo hace en el de rata (52).

Se han reportado cambios bioquímicos en el útero después de pocas horas de tratamiento con estradiol-17 β antes de detectar los primeros cambios en el RNA y contenido de proteína. El estradiol-17 α incrementa la actividad de ODC pero hay que administrarla en cantidades mayores (10 veces). Existe una combinación de especificidad orgánica y química provocando un incremento en la actividad de ODC. La actividad de SAMDC aumenta en la próstata ventral de ratas castradas por efecto de la testosterona (51).

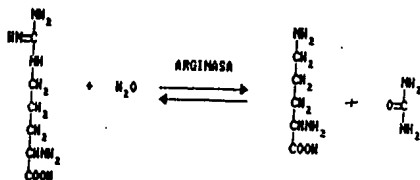
Una sola inyección intraperitoneal de estradiol-17 β de 0.5 μ g estimula durante cuatro horas un pico en la actividad de ODC que baja a sus niveles intermedios antes de regresar a los niveles de control a las 20hrs. postinyección en ratas de 20-24 días. Con una inyección de 0.5 μ g de estriol, la actividad de la ODC se eleva a las cuatro horas y regresa a los niveles de control a las 14 hrs. postinyección. Los patrones de SAMDC son similares a los de ODC pero de menor magnitud.

Se ha sugerido que la inyección continua de estradiol-17 β , estriol o ambas, producen respuestas de crecimiento uterino equivalentes cuando se miden a intervalos diarios. La actividad de ODC y SAMDC con una sola inyección y el patrón de la ODC en experimentos con inyecciones múltiples son diferentes cuando se comparan como resultado de un tratamiento de estradiol-17 β y éste con estriol, la diferencia en el tiempo del pico no se debe a la dosis ni tampoco a simples diferencias físicas en los estrógenos; estas diferencias parecen deberse a alguna compleja interacción entre estos dos estrógenos. Se sugiere que el estriol modula la estimulación uterina del estradiol-17 β (50).

ARGINASA

La arginasa (L-arginina amidinohidrolasa E.C.3.5.3.1.) fue descubierta por Kossel y Dankin; cataliza la reacción de hidrólisis de L-arginina a L-ornitina y urea como se ilustra en la siguiente reacción :





La fuente más abundante de arginasa es el hígado de animales urotélicos (mamíferos y batracios) y en cantidades mucho menores en riñón, testículo, bazo, etc. También se encuentra en las mamas en el período de lactancia. Está ausente en el hígado de animales uricitélicos. Se encuentra en granos en germinación, levaduras, algunos mohos y bacterias. En los animales se encuentra en la fracción soluble del citoplasma, mitocondrias, lisosomas, aparato de Golgi y tal vez en el núcleo (1). La actividad de arginasa se ha encontrado también en cerebro y próstata; además, esta actividad está influenciada por la ingesta de comida, factores ambientales y envejecimiento (28).

BIOSÍNTESIS DE POLÍMEROS

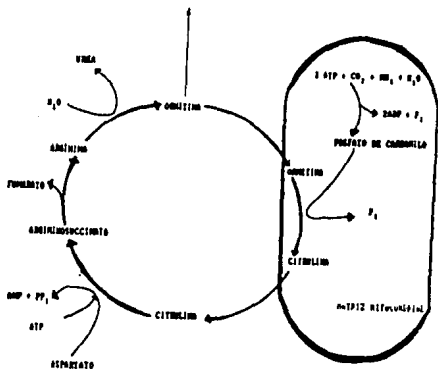
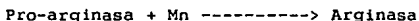


Figura 14.- ciclo de la urea.

Su peso molecular es de 138000, es estabilizada por manganeso, cobalto y níquel; es inhibida por cinc, lisina, ornitina y serina. Su pH óptimo es de 9.8-10 en presencia de cobalto y manganeso, y en presencia de ambos es de 8.5-9. En el hígado, el manganeso es el activador natural de la arginasa:



Se ha reportado una disminución en la actividad de arginasa hepática en ratas deficientes de cinc (19). Colman et al (18) mostraron al cinc no como parte esencial de la enzima, sino como un modificador alostérico inhibitorio (18).

Los derivados guanidínicos monosustituidos no pueden ser sustratos de la arginasa si no cumplen con :

- a) tener un grupo guanidínico, un radical NH libre y un carboxilo asociado con un grupo NH o OH en alfa.
- b) que haya cierta separación entre el primero y el segundo.

La arginasa se combina con el resto guanidínico de una parte y otra y la orientación de su grupo activo descansa sobre una atracción que parece hacer el manganeso sobre el grupo carboxilo, amino o hidroxilo del sustrato. El metal se comporta como agente coordinador entre enzima y sustrato por intermedio de sus últimos grupos. La arginasa actúa sobre la canavanina y de forma moderada sobre la cupleína y monobenzoil-arginina. No ataca a la benzoilarginina, ácido guanidinacético (glicociamina), creatina ni creatinina (1).

La arginasa tiene una aplicación clínica como medio de diagnóstico en las enfermedades hepáticas. Junto con la ornitincarbamiltransferasa son los datos enzimáticos de mayor hepatoespecificidad que se conocen. La formación de urea se verifica exclusivamente en el hígado y la producción de ésta a expensas del amoníaco depende de la presencia en el tejido de ornitina, citrulina y arginina (Fig.14)(1).

La deficiencia de arginasa se caracteriza por un deterioro mental y neurológico severo después de haber tenido un desarrollo normal aparente los primeros años de vida. Los glóbulos rojos de niños y adultos tienen un alto contenido de arginasa. Las propiedades cinéticas e inmunológicas son idénticas a las de la arginasa hepática. Los glóbulos rojos fetales pueden usarse para diagnosticar errores del metabolismo del innato. La enzima en el tejido fetal es la misma postnatalmente y el rango de valores normales está bien establecido (4).

Para la formación de enzimas, generalmente un grupo de enzimas aparece durante la vida fetal final, otro inmediatamente después del nacimiento y otro durante la fase tardía de lactancia. La arginasa se acumula al principio con el grupo de enzimas del final de la vida fetal y muestra una segunda fase de aumento coincidiendo con el grupo de fase lactante tardía. La tiroxina puede ser el estímulo para la formación prenatal, y los glucocorticoides el estímulo para la fase lactante tardía que coincide con el aumento de la función adrenocortical de la pituitaria. La arginasa aparece en el hígado de tejidos fetales de rata y después se desarrolla a una alta concentración en el hígado adulto y en pequeñas pero significativas concentraciones en el intestino delgado, riñón y páncreas. También se han encontrado a bajos niveles en tumores trasplantados (11).

Bajando el pH del óptimo(9.5) a un valor más fisiológico (7.5), hay una transición cinética de hiperbólica a sigmoideal. Los efectos cooperativos se observaron en presencia y ausencia del producto ornitina. Los dímeros de arginasa exhiben una cinética típica de Michaelis-Menten aún en presencia de ornitina. La inhibición por ornitina es competitiva y la cooperatividad positiva por el sustrato es aparente a pH7.5. El comportamiento cinético a este pH se relaciona con el estado estructural de la enzima. Si la enzima está disociada en dos dímeros, hay una transición cinética de sigmoideal a hiperbólica. Laysen y Strecker (10) sugirieron un segundo sitio de ligadura para arginina y ciertos aminoácidos, los cuales, cuando lo ocupan; modifican el sitio catalítico que es dependiente del pH. Bedino sugirió una regulación alostérica de la enzima por el producto de la arginasa hepática del bovino (26). La urea no produce inhibición enzimática sobre la arginasa (10).

La actividad de arginasa se estimuló por elevadas concentraciones de arginina y bajó con niveles elevados de prolina en células cultivadas (14). La presencia de arginasa y demás enzimas responsables de la síntesis de arginina no significa necesariamente que esté operando el ciclo de la urea(5,11).

En infartos recientes, la arginasa hepática estaba

elevada al doble debido al factor hemolítico. La arginasa asciende siempre que haya hígado en éstasis sea del tipo que fuere, el ascenso evoluciona sincrónicamente de forma paralela al grado de descompensación derecha valorada por la hepatopatía estática. Esto tal vez es debido a la hipoxia condicionada por la hipertensión venosa, siendo las alteraciones de la membrana y no la necrosis el factor directo de la liberación de la enzima. En los casos de insuficiencia cardiaca irreversible, la enzima se normaliza o desciende por el agotamiento de sus reservas en el hígado (3).

La arginasa se libera al torrente sanguíneo en individuos con daño hepatocelular, incluso hepatitis viral o cirrosis hepática (7).

La arginasa posiblemente esta involucrada en la inhibición del crecimiento celular por membranas plasmáticas del hígado. Se ha demostrado que el mayor principio inhibitorio aquí es la arginasa. La amplia distribución de arginasa en muchos tejidos sugiere que ésta puede poseer algunas funciones adicionales aparte de ser la enzima clave en el ciclo de la urea. La arginasa de la membrana plasmática es diferente a la del citosol hepático. La inhibición de síntesis de DNA y la proliferación de células por el citosol hepático ha sido investigado y se ha identificado al principio

inhibitorio del citosol hepático como arginasa (22).

Otro papel de la arginasa puede ser su participación en la síntesis de espermidina que aumenta marcadamente en el tejido lactante así como las actividades de ornitindescarboxilasa y S-adenosil-L-metionina descarboxilasa. En presencia de estas dos enzimas, la ornitina puede convertirse en espermidina a través de putrescina. Estudios recientes han demostrado que la espermidina junto con la insulina y prolactina producen un marcado incremento en la producción de proteínas lácteas. Estudios preliminares indican que la H-arginina es convertida a H-espermidina y que la prolactina estimula esta conversión aumentando la actividad de arginasa. La insulina, glucocorticoides y prolactina interactúan para estimular un grupo de enzimas involucradas en la biosíntesis de espermidina durante el desarrollo del epitelio mamario (6).

El suplemento de ornitina en la tiroides de rata para la biosíntesis de poliaminas está regulado por el nivel de lisina y arginasa en tiroides. La arginasa tiroidea sirve para proveer suficiente ornitina como sustrato para la síntesis de putrescina(12).

ARGINASA Y GLANDULAS

La actividad de arginasa en la glándula mamaria aumenta marcadamente durante la lactancia. Estudios recientes sugieren que la enzima está implicada en la

formación de prolina en combinación con la ornitina aminotransferasa para la síntesis incrementada de proteína láctea (6).

Las enzimas del ciclo de la urea se afectan por la carencia de glucocorticosteroides durante el período fetal tardío a excepción de la argininosuccinasa. El glucagón aumenta la actividad de arginasa en el último día de la gestación. No hay respuesta sinérgica de las tres enzimas (8).

El glucagón apoyado en un papel permisivo por glucocorticoides es el único inductor hormonal de las cinco enzimas del ciclo de la urea. El AMPc trabaja acelerando el rango de transporte e incrementando la cantidad funcional de RNAm. En la rata, la adrenalectomía baja la actividad de las cinco enzimas, la cortisona las restaura y a grandes dosis se incrementan las actividades. El AMPc es el mediador de la acción del glucagón en la inducción de las enzimas del ciclo de la urea. Solo los glucocorticosteroides interactúan con el glucagón como inductor del Ciclo de la Urea (16,17).

La actividad de arginasa en el hígado está regulada por los corticoides y factores dietéticos. La adrenalectomía provoca la reducción de la actividad de arginasa hepática pero no modifica el nivel de arginasa

renal (21).

Las hormonas tiroideas y glucocorticosteroides son capaces de estimular la actividad de arginasa después del nacimiento. La actividad de arginasa en fetos aumenta durante la gestación prolongada (23).

En el periodo posnatal inmediato, la actividad de arginasa se vuelve sensible a la hormona glucocorticosteroide exógena. La elevación de la actividad enzimática durante la senectud puede deberse a la elevación simultánea de los niveles de corticosterona. La actividad en rata aumenta entre los 2 y 4 días postparto en un periodo con bajos niveles de corticosterona, esto puede deberse al bajo radio insulina-glucagón y los altos niveles de AMPc en hepatocitos de neonato (25).

La glándula mamaria lactante de la rata exhibe una apreciable actividad de arginasa y tal vez sea la segunda fuente más rica de esta enzima en el cuerpo. La arginasa de la glándula mamaria tiene que ver con la desaminación de aminoácidos por dicha glándula y que el incremento en la cantidad de arginasa durante la lactancia tardía en la rata se debe al incremento en el requerimiento de residuos deaminados para la síntesis de los constituyentes de la leche (27).

ARGINASA Y HORMONAS SEXUALES

Los estrógenos participan en la regulación de arginasa que se relaciona con el contenido total de proteína uterina. Se ha reportado un aumento en la actividad de arginasa con la aplicación de estradiol, observándose el mayor incremento en dosis de $2\mu\text{g}$ (2).

La castración y administración de estrógenos provocan artritis tisular. La actividad de arginasa en próstata ventral disminuye con la castración y aumenta después de la administración de andrógenos a animales castrados (20).

En la próstata dorsolateral, la involución estrogénica ocasionó un incremento en la actividad de arginasa. La actividad de arginasa se redujo considerablemente en la próstata ventral después de la castración y en la dorsolateral no cambió (20).

Los esteroides 17-OH aumentan la actividad de arginasa hepática, la cual disminuye en animales adrenalectomizados (21).

Se ha sugerido que la arginasa está bajo el control regulatorio de andrógenos. El papel del incremento de la actividad de arginasa en ratones castrados es para prevenir la sobreproducción de pirimidinas. Se ha

reportado una rápida proliferación del retículo endoplasmático en la próstata ventral después de la administración de testosterona y esto puede estar correlacionado con la elevación de saltos de partículas de arginasa. Se ha reportado una rápida elevación de biosíntesis de espermidina seguida de la administración de testosterona en ratas castradas y el incremento de actividad de arginasa puede contribuir a esta biosíntesis. La arginasa en riñón y próstata ventral es una enzima regulada por la testosterona (28).

Después del nacimiento, la administración de estradiol causa un incremento en la carbamilsfosfato sintasa y actividad de arginasa a dosis altas. La progesterona inhibe fuertemente o hasta revierte los efectos estimulatorios del estradiol. Los glucocorticosteroides influyen la actividad enzimática y los perfiles de contenido de DNA mientras la progesterona y testosterona modulan los perfiles ejerciendo un efecto antagónico sobre los glucocorticosteroides (29).

OBJETIVOS

- 1) Estudiar la actividad de arginasa y α -amilasa del páncreas de ratas orquiectomizadas a diferente tiempos, ya que la acción de algunas enzimas es dependiente de las hormonas sexuales.
- 2) Correlacionar estas actividades enzimáticas con otros parámetros bioquímicos.

MATERIAL Y METODO

MATERIAL BIOLÓGICO

Se emplearon siete grupos de cinco ratas machos adultos de la cepa Sprague-Dowley con un peso de 350-400 g y nueve grupos de cinco ratas machos con 21 días de nacidos de los cuales un grupo y tres grupos fueron utilizados como controles respectivamente debido a que las ratas se encontraban en etapa de crecimiento. Los demás grupos se castraron y sacrificaron a diferentes tiempos :24 hrs., 48 hrs., 5 días, 20 días, 30 días y 60 días.

El sacrificio de las ratas fue por desangrado para poder obtener el suero. A las ratas adultas se les administró 0.3 ml de Droperidol (tranquilizante) y 0.6 ml de Ketalar (anestésico); a las ratas púberes se les administró 0.3 ml de Droperidol y de 0.3-0.6 ml de Ketalar según el tamaño. Una vez anestesiadas se hacen incisiones para abrirla por la mitad y poder encontrar la arteria aorta abdominal (Fig.15); se extrae la sangre con una jeringa de 5-10 ml y con una aguja de 21x32. Después de desangradas, se extrae el páncreas (Fig.16) y se coloca en una solución salina al 0.9% a baja temperatura. La sangre se deja reposar a temperatura

ambiente por 10 minutos y se centrifuga a 3000rpm durante 10 minutos, se recupera el suero y se toman las alícuotas para hacer las diferentes determinaciones. Los páncreas se limpian perfectamente para pesarlos y después homogenizarlos con 4 ml de solución salina al 0.9% y se toman las alícuotas necesarias para todas las determinaciones. Todas las determinaciones se hicieron por duplicado.

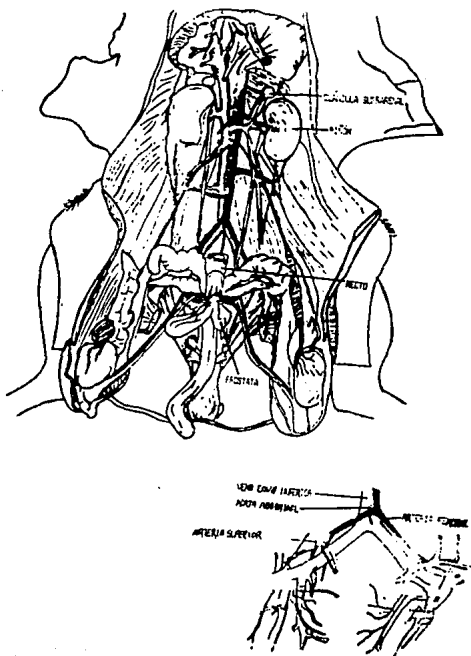


Figura 15.- sistema circulatorio de la rata.

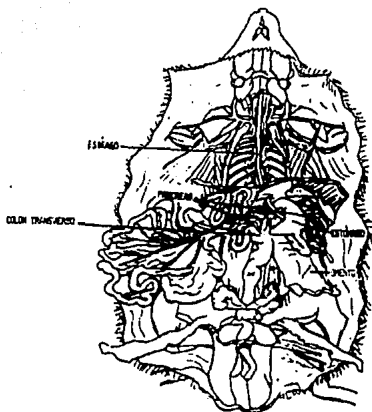


Figura 16.- Anatomía de la rata (línea media).

DETERMINACIONES EN SUERO SANGUINEO

1) Glucosa.- Se toma una alícuota de 20 μ l de suero, se le agregó 2 ml de reactivo de glucosa mezclandose perfectamente y se incubó por 10 minutos a 37°C en la obscuridad y se midió la absorbancia final a 530 nm después de calibrar el colorímetro y frente al blanco.

2) Triacilglicéridos.- A 10 μ l de suero se le agregó 1ml de reactivo para triacilglicéridos y después de 20 minutos a temperatura ambiente se leyó la absorbancia a

530 nm en un espectrofotómetro previamente calibrado y frente a un blanco de reactivos.

3) α -Amilasa .- A una alícuota de 40 μ l se le agregó 1ml de reactivo para α -amilasa a 37°C y se incubó durante un minuto y se tomó la lectura inicial, después se dejó incubar otro minuto y se tomó la lectura final en un espectrofotómetro previamente calibrado y frente a un blanco de reactivos a una absorbancia de 405 nm.

4) Proteínas.- Una alícuota de suero se diluyó 1:10 y de esta dilución se tomaron 10 μ l para determinar proteínas según el método propuesto por Lowry (48).

5) Arginasa.- A una alícuota de suero se le hizo una dilución 1:100 con amortiguador de Tris HCl 0.04M conteniendo cloruro de manganeso 0.2 mM en NaCl 0.154 M. De esta dilución se tomaron 0.9ml y se activaron a 55° C durante una hora, después se agregó 0.1ml de una solución acuosa de arginina 0.4 M/glicina 0.15 M, se incubó a 37°C por 15 minutos y se sumergió en agua hirviendo por 7 minutos. Transcurrido el tiempo, se tomó una alícuota de 0.2ml para determinar la actividad de arginasa cuantificando la urea (15).

DETERMINACIONES EN TEJIDO PANCREATICO

1) Peso Seco.- A 10 μ l de homogenizado se le agregaron

990 μ l de agua destilada y 2ml de mezcla crómica, se dejó enfriar y se leyó la absorbancia a 660 nm frente a un blanco de reactivos en un colorímetro previamente calibrado (49).

2) Proteínas.- A 100 μ l de homogenizado se le agregaron 0.5ml de NaOH 1N y se incubó a 37°C por 30 minutos. Se centrifugó por 10 minutos a 3000rpm y del sobrenadante se hizo una dilución 1:10 y se tomaron 100 μ l para la determinación según Lowry (48).

3) Arginasa.- A 200 μ l de homogenizado se les adicionaron 0.5ml de amortiguador de Tris HCl 0.04 M conteniendo cloruro de manganeso 0.2 mM disuelto en solución salina 0.154 M. Se activó por una hora a 55°C y se centrifugó a 3000rpm por 10 minutos. Una alícuota del sobrenadante se diluyó 1:100 y se tomaron 0.9ml, a los que se les agregó 0.1ml de una solución acuosa de arginina 0.4M/glicina 0.15M y se incubó durante 15 minutos a 37°C; pasado este tiempo se sumergió en agua hirviendo por 7 minutos. Pasado este tiempo se tomó una alícuota de 0.2ml para determinar la actividad de arginasa cuantificando la urea (15).

RESULTADOS

DETERMINACIONES EN SUERO

GLUCOSA

ADULTAS.- Los niveles de glucosa no se modifican considerablemente. Algunas desviaciones estándar son altas, pero los valores promedio caen dentro del mismo rango de concentración (Fig.17)(Tabla 1).

PREPUBERES.- Los niveles de glucosa se elevaron un 35% a los cinco días; después se recuperó, pero a los 60 días sufrió un incremento del 58% (Fig.17)(Tabla 2).

TRIACILGLICERIDOS

ADULTAS .- A las 24 horas se presenta un incremento del 84% y del 134% a las 48 horas.Después los valores tienden a disminuir sin alcanzar los niveles basales, aunque a los 60 días el valor se eleva alcanzando un 141% con respecto al control (Fig.18)(Tabla 1).

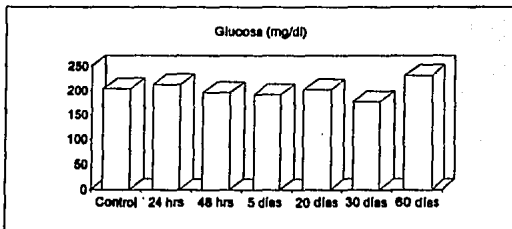
PREPUBERES.- El primer día, el valor disminuye en un 44%; al segundo día tiende a recuperarse, pero al quinto día vuelve a disminuir en un 52% , a los 20 y 30 días el valor se mantiene, pero a los 60 días se eleva en un 81% (Fig.18)(Tabla 2).

ACTIVIDAD DE α - AMILASA

ADULTAS .- La gráfica muestra una disminución del 27% a

RATAS ADULTAS

	Glucosa (mg/dl)
Control	204.136
24 hrs	213.0407
48 hrs	198.3006
8 días	192.1875
20 días	201.9753
30 días	177.1429
60 días	231.7877

**RATAS PREPUBERES**

	Glucosa (mg/dl)
Control Púberes	163.1061
24 hrs	164.6421
48 hrs	164.088
8 días	219.459
Control 20 días	193.6471
20 días	210.1225
Control 30 días	165.4118
30 días	164.3808
Control adultas	204.136
60 días	323.2844

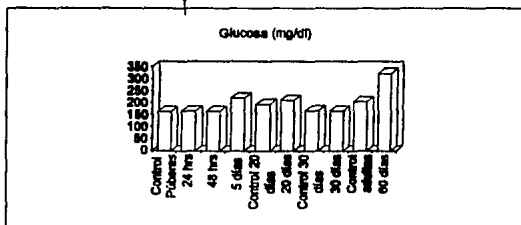
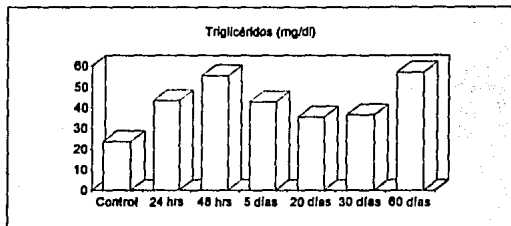


Figura 17.-Gráficas de concentración de glucosa en suero de ratas adultas y prepúberes.

RATAS ADULTAS

	Triglicéridos (mg/dl)
Control	23.6374
24 hrs	43.4931
48 hrs	55.314
8 días	42.8489
20 días	35.5538
30 días	38.5959
60 días	57.0069

**RATAS PREPUBERES**

	Triglicéridos (mg/dl)
Control Púberes	62.5276
24 hrs	34.9678
48 hrs	58.1955
8 días	30.2309
Control 20 días	65.2125
20 días	27.4496
Control 30 días	38.9105
30 días	27.9352
Control adultas	23.6374
60 días	42.7751

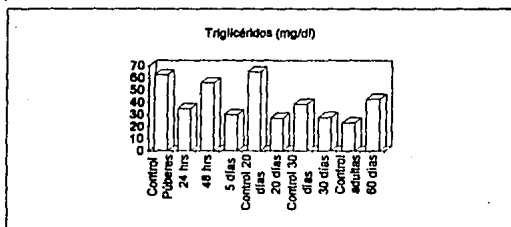
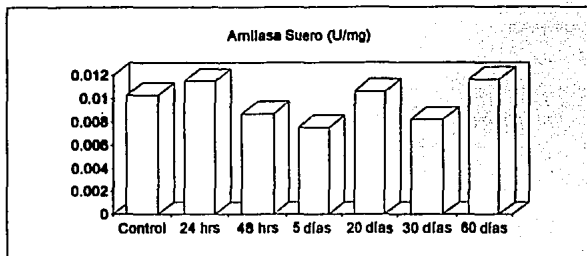


Figura 18.-Gráficas de concentración de triglicéridos en suero de ratas adultas y prepúberes.

RATAS ADULTAS

	α - Amilasa Suero (U/mg)
Control	0.0103
24 hrs	0.0115
48 hrs	0.0087
5 días	0.0075
20 días	0.0106
30 días	0.0082
60 días	0.01162

**RATAS PREPUBERES**

	α - Amilasa Suero (U/mg)
Control Púberes	0.0081
24 hrs	0.0108
48 hrs	0.00754
5 días	0.0123
Control 20 días	0.0074
20 días	0.0093
Control 30 días	0.0095
30 días	0.0068
Control adultas	0.0103
60 días	0.0073

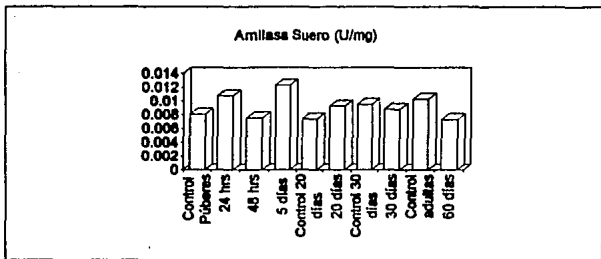


Figura 19.- Gráficas de actividad de α -amilasa en suero de ratas adultas y prepúberes.

los 5 días; el valor se recupera y vuelve a bajar a los 20 días en un 20% tendiendo a la recuperación a los 60 días (Fig.19)(Tabla 1).

PREPUBERES.- La gráfica muestra un aumento del 33% en el primer día, al segundo día el valor se normaliza pero al quinto día se vuelve a elevar en un 52%, después los valores tienden a estabilizarse(Fig. 19)(Tabla 2).

PROTEINAS

ADULTAS.- No se presentaron cambios significativos en las concentraciones (Fig.20)(Tabla 1).

PREPUBERES.- Los valores se mantienen estables a excepción del quinto día, donde el valor disminuye un 47% (Fig.20)(Tabla 2).

ACTIVIDAD DE ARGINASA

ADULTAS.- Este valor mostró un aumento del 130% a las 24 horas, después se estabilizó, elevándose a los 60 días un 79% (Fig.21)(Tabla 1).

PREPUBERES.- El cambio más notable ocurrió a los 5 días con una elevación de un 234% (Fig.21)(Tabla 2).

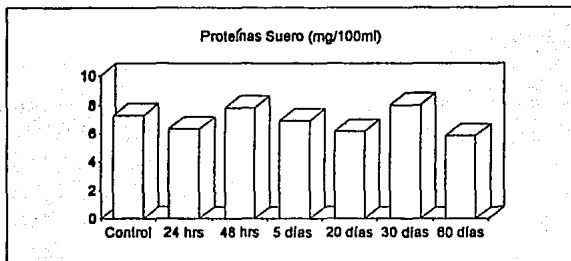
DETERMINACIONES EN TEJIDO PANCREATICO

PESO GLANDULAR

ADULTAS.- Todos los valores presentaron una ligera disminución a excepción del grupo de las 48horas el cual

RATAS ADULTAS

	Proteínas Suero (mg/100ml)
Control	7.3
24 hrs	6.3625
48 hrs	7.6375
5 días	6.93
20 días	6.1825
30 días	8.0175
60 días	5.85825

**RATAS PREPÚBERES**

	Proteínas Suero (mg/100ml)
Control Púberes	7.25
24 hrs	6.595
48 hrs	7.425
5 días	3.8275
Control 20 días	8.275
20 días	7.885
Control 30 días	8.225
30 días	6.08
Control adultas	7.3
60 días	7.5425

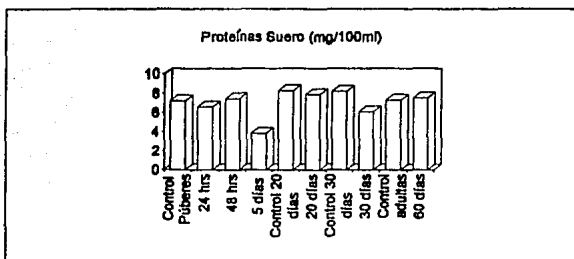
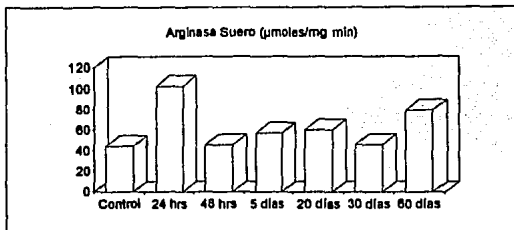


Figura 20.- gráficas de concentración de proteínas en suero de ratas adultas y prepúberes.

RATAS ADULTAS

	Arginasa Suero ($\mu\text{moles/mg min}$)
Control	44.4797
24 hrs	102.488
48 hrs	45.7768
8 días	57.0984
20 días	60.2103
30 días	45.9823
60 días	79.6807

**RATAS PREPÚBERES**

	Arginasa Suero ($\mu\text{moles/mg min}$)
Control Púberes	44.4403
24 hrs	54.3419
48 hrs	49.7638
8 días	148.2131
Control 20 días	43.1729
20 días	38.5785
Control 30 días	32.8368
30 días	43.968
Control adultas	44.4797
60 días	55.5724

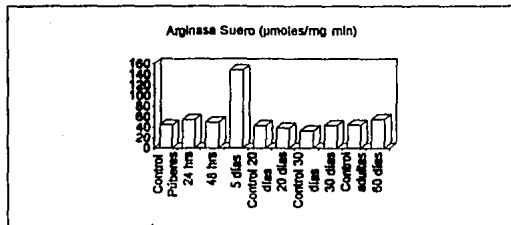
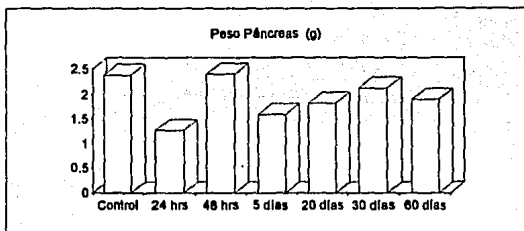


Figura 21.- Gráficas de actividad de arginasa en suero de ratas adultas y prepúberes.

RATAS ADULTAS

	Peso Páncreas (g)
Control	2.3791
24 hrs	1.2638
48 hrs	2.3987
5 días	1.5942
20 días	1.8242
30 días	2.1175
60 días	1.8905

**RATAS PREPUBERES**

	Peso Páncreas (g)
Control Púberes	0.4307
24 hrs	0.5299
48 hrs	0.758
5 días	0.8689
Control 41 días	0.8917
20 días	1.399
Control 61 días	0.9951
30 días	2.4044
Control adultas	2.3891
60 días	1.4858

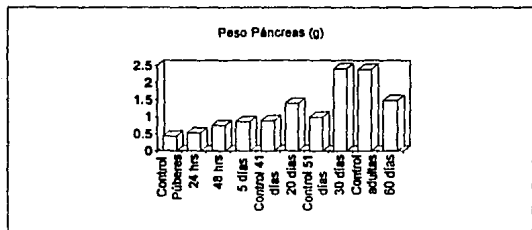


Figura 22.- Gráficas comparativas del peso glandular en ratas adultas y prepúberes.

presenta un valor igual al del control (Fig.22)(Tabla 1).
PREPUBERES.- En los primeros días el peso se mantiene normal, pero a los 20 días comienza a elevarse y alcanza hasta un 142% a los 30 días; y a los 60 días disminuye en un 63% de su valor de control (Fig.22)(Tabla 2).

PESO SECO

ADULTAS.- Todos los grupos presentan una ligera disminución, a excepción del grupo de las 24horas que bajó en un 45% de su valor control (Fig.23)(Tabla 1).

PREPUBERES.- Se observó una pérdida de peso a las 24horas y 5 días (33% y 29% respectivamente), después se estabiliza para elevarse un 364% a los 30 días para disminuir en un 45% del nivel control a los 60 días(Fig.23)(Tabla 2).

ACTIVIDAD DE α -AMILASA

ADULTAS.- Hay una ligera pérdida de actividad a las 24horas (24%) que se recupera y vuelve a disminuir a los 20 días un 54% para después tender a la recuperación (Fig.24)(Tabla 1).

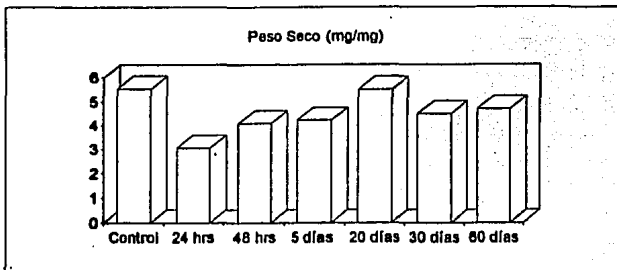
PREPUBERES.- Todos los valores se muestran sin cambios a excepción de una disminución del 49% a los 5 días (Fig24)(Tabla 2).

PROTEINAS

ADULTAS.- No hay cambios significativos (Fig.25)(Tabla 1).

RATAS ADULTAS

	Peso Seco (mg/mg)
Control	5.5378
24 hrs	3.0555
48 hrs	4.1028
5 días	4.2332
20 días	5.5088
30 días	4.5071
60 días	4.7058

**RATAS PREPUBERES**

	Peso Seco (mg/mg)
Control Púberes	7.3193
24 hrs	4.9483
48 hrs	8.9005
5 días	5.2002
Control 20 días	4.8935
20 días	4.3518
Control 30 días	3.367
30 días	15.6318
Control adultas	5.5378
60 días	3.1982

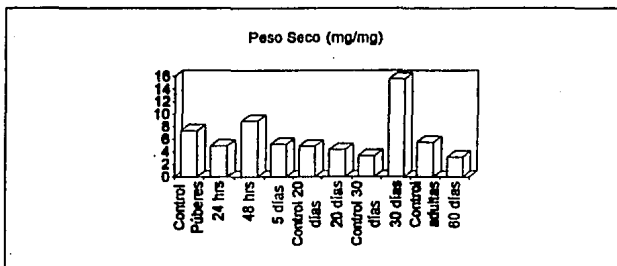
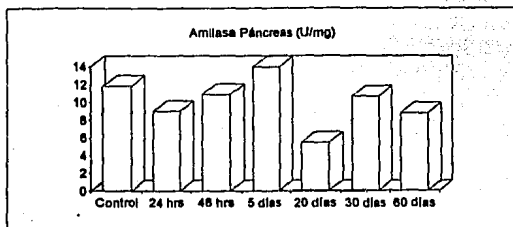


Figura 23.- Gráficas de peso seco en ratas adultas y prepúberes.

RATAS ADULTAS **α - Amilasa Páncreas (U/mg)**

Control	11.855
24 hrs	8.9949
48 hrs	10.8917
5 días	13.9655
20 días	5.4705
30 días	10.6856
60 días	6.7756

**RATAS PREPUBERES** **α - Amilasa Páncreas (U/mg)**

Control Púberes	10.8237
24 hrs	8.9185
48 hrs	8.8008
5 días	5.3716
Control 20 días	10.4883
20 días	10.4775
Control 30 días	13.0066
30 días	8.6694
Control adultas	11.855
60 días	9.2718

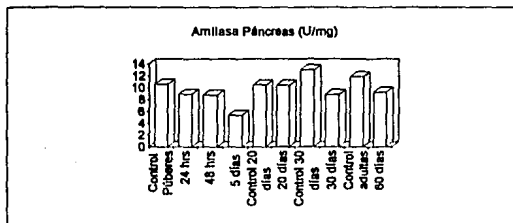
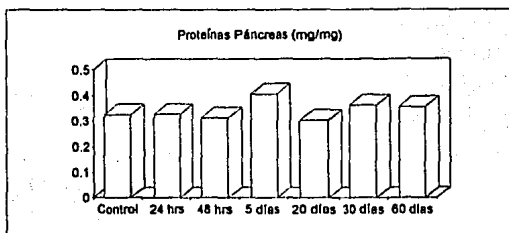


Figura 24.- Gráficas de actividad de α -amilasa pancreática en rata adulta y prepúberes.

RATAS ADULTAS

	Proteínas Páncreas (mg/mg)
Control	0.3253
24 hrs	0.3287
48 hrs	0.3121
5 días	0.4059
20 días	0.3037
30 días	0.3821
60 días	0.3558

**RATAS PREPUBERES**

	Proteínas Páncreas (mg/mg)
Control Púberes	1.0888
24 hrs	0.7956
48 hrs	1.2152
5 días	0.3518
Control 20 días	0.7448
20 días	0.5047
Control 30 días	0.4191
30 días	0.8896
Control adultas	0.3253
60 días	0.3174

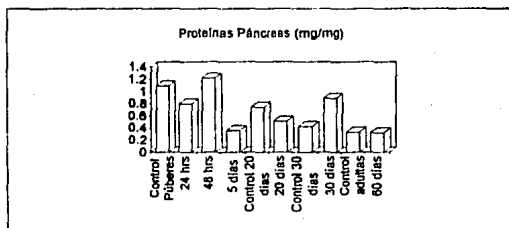


Figura 25. — Gráficas de concentración de proteína pancreática en ratas adultas y prepúberes.

PREPUBERES.- A las 24 horas hay una ligera disminución de un 27%, el valor se recupera y se eleva a los 30 días en un 112% con respecto a su control y se vuelve a recuperar a los 60 días (Fig.25)(Tabla 2).

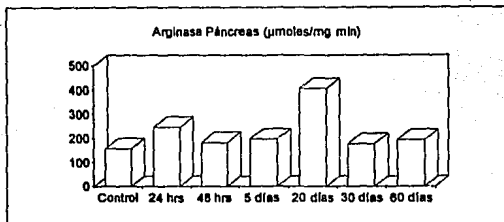
ACTIVIDAD DE ARGINASA

ADULTAS.- Hay una elevación del 55% a las 24 horas; este valor se recupera y se eleva a los 20 días en un 156% para después normalizarse(Fig.26)(Tabla 1).

PREPUBERES.- El valor disminuye en un 35% a las 24 horas, se normaliza y a los 5 días se eleva un 28%, después los valores tienden a estabilizarse y se elevan un 49% a los 60 días (Fig.26)(Tabla 2).

Todos los porcentajes están calculados con respecto a su control respectivo: para las adultas sólo existe un control, para las prepúberes de 1, 2 y 5 días se utilizó el control de ratas de 21 días, para las prepúberes de 20 días se utilizó el control de ratas de 41 días de nacidas, para las prepúberes de 30 días de castración se utilizó el control de ratas de 51 días de nacidas y para las prepúberes de 60 días de castración se utilizó el control de ratas adultas. Esta variedad de controles se utilizó debido a que las ratas castradas en la etapa prepúber se encontraban en la fase de crecimiento activo.

RATAS ADULTAS	Arginasa Páncreas ($\mu\text{moles/mg min}$)
Control	158.6493
24 hrs	246.6915
48 hrs	183.3376
5 días	198.0717
20 días	406.8335
30 días	177.9672
60 días	194.658



RATAS PREPUBERES	Arginasa Páncreas ($\mu\text{moles/mg min}$)
Control Púberes	380.1237
24 hrs	248.3134
48 hrs	341.2594
5 días	484.9844
Control 20 días	163.0722
20 días	148.0474
Control 30 días	167.4513
30 días	183.3425
Control Adultas	158.6493
60 días	235.7837

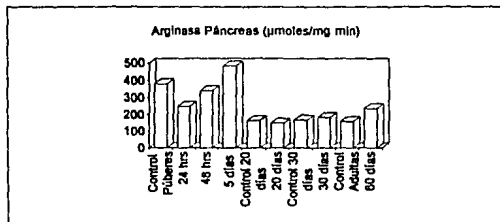


Figura 26.- Gráficas de actividad de arginasa pancreática en ratas adultas y prepúberes.

	Peso (g)	Glucosa (mg/dl)	Triglicéidos (mg/dl)	Proteínas suero(mg/100ml)	Arginasa suero (µmoles/mg min)	Amilasa suero(U/mg)
Control Púberes	73.6 ± 2.7477	163.1061 ± 52.0684	62.5276 ± 10.3510	7.2500 ± 1.20364	44.4403 ± 6.0394	0.0061 ± 0.00096
24 hrs	64.6 ± 2.4850	164.8421 ± 23.6620	34.9676 ± 7.6266	6.5950 ± 0.26407	54.3419 ± 7.8691	0.0108 ± 0.0031
48 hrs	99.0 ± 6.1644	164.0860 ± 11.5460	56.1955 ± 17.0300	7.4250 ± 0.72133	49.7638 ± 6.1437	0.00754 ± 0.0012
6 días	111.5 ± 13.4367	219.4590 ± 12.0075	30.2309 ± 5.7317	3.8275 ± 0.93877	148.2131 ± 30.1968	0.0123 ± 0.0056
Control 41 días	153.4 ± 12.7348	193.6471 ± 10.8857	65.2125 ± 12.9267	8.2750 ± 1.14343	43.1729 ± 8.0172	0.0074 ± 0.0017
20 días	215.0 ± 24.4233	210.1225 ± 25.5846	27.4496 ± 3.6343	7.8850 ± 0.67172	38.5765 ± 3.3394	0.0093 ± 0.0011
Control 61 días	191.0 ± 11.5434	185.4118 ± 18.5251	38.9105 ± 9.3387	8.2250 ± 0.33541	32.8368 ± 4.4504	0.0096 ± 0.0011
30 días	233.5 ± 9.6177	164.3808 ± 14.8561	27.9352 ± 2.6491	6.0800 ± 1.2808	43.9680 ± 5.5623	0.0086 ± 0.0012
Control Adultas	386.7 ± 10.2963	204.136 ± 23.3362	23.6374 ± 5.4894	7.3000 ± 0.60338	44.4797 ± 13.0496	0.0103 ± 0.0024
60 días	360.6 ± 18.3521	323.2844 ± 30.3996	42.7751 ± 8.5812	7.5425 ± 1.42515	55.5724 ± 13.01941	0.0073 ± 0.0019
	Peso (g)	Peso páncreas (g)	Peso Seco(mg/mg)	Proteínas páncreas (mg/mg)	Arginasa páncreas (µmoles/mg min)	Amilasa páncreas(U/mg)
Control Púberes	73.6 ± 2.7477	0.4307 ± 0.0803	7.3193 ± 2.7105	1.0886 ± 0.4480	380.1237 ± 75.6155	10.6237 ± 3.4379
24 hrs	64.6 ± 2.4850	0.5299 ± 0.0652	4.9483 ± 1.1924	0.7968 ± 0.05997	248.3134 ± 36.0469	8.9165 ± 3.0140
48 hrs	99.0 ± 6.1644	0.7580 ± 0.1070	6.9005 ± 0.5206	1.2152 ± 0.33990	341.2594 ± 50.9496	8.8006 ± 2.2249
6 días	111.5 ± 13.4367	0.8689 ± 0.0681	5.2002 ± 1.4462	0.3518 ± 0.0748	484.9844 ± 31.6126	5.3716 ± 0.6003
Control 41 días	153.4 ± 12.7348	0.8917 ± 0.1100	4.8935 ± 0.6109	0.7448 ± 0.1577	163.0722 ± 23.5652	10.4883 ± 0.6921
20 días	215.0 ± 24.4233	1.3990 ± 0.2425	4.3516 ± 0.7581	0.5047 ± 0.1301	148.0474 ± 43.0740	10.4775 ± 2.1694
Control 61 días	191.0 ± 11.5434	0.9951 ± 0.2430	3.3670 ± 1.0020	0.4191 ± 0.0858	167.4513 ± 22.3702	13.0066 ± 1.9367
30 días	233.5 ± 9.6177	2.4044 ± 0.5776	15.6316 ± 1.8041	0.8896 ± 0.1892	183.3425 ± 6.0559	8.8694 ± 1.1133
Control adultas	386.7 ± 10.2963	2.3891 ± 0.2086	5.5376 ± 1.6373	0.3253 ± 0.0869	158.6493 ± 21.5370	11.8550 ± 1.1129
60 días	360.6 ± 18.3521	1.4856 ± 0.0586	3.1982 ± 0.4743	0.3174 ± 0.1160	235.7637 ± 53.8086	9.2718 ± 1.7316

Tabla 2 .- Concentración de los resultados obtenidos al analizar los diferentes parámetros en suero y páncreas de ratas prepúberes.

	Peso (g)	Glucosa (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)	Proteínas suero (mg/100ml)	Arginasa suero (µmoles/mg min)	Amilasa suero (U/mg)
Control	386.7 ± 10.2993	204.136 ± 23.3382	23.6374 ± 5.4994	7.3000 ± 0.60338	44.4797 ± 13.0496	0.0103 ± 0.0024
24 hrs	361.1 ± 10.2372	213.0407 ± 23.0379	43.4931 ± 10.5942	6.36250 ± 0.80816	102.4880 ± 18.8263	0.0115 ± 0.0082
48 hrs	384.2 ± 22.6539	196.3006 ± 16.6410	55.3140 ± 9.7444	7.83750 ± 0.30189	45.7768 ± 1.0789	0.0087 ± 0.0019
5 días	311.8 ± 13.755	192.1875 ± 14.2458	42.8469 ± 5.8179	6.9300 ± 1.18300	57.0984 ± 9.03998	0.0075 ± 0.0012
20 días	365.2 ± 19.9894	201.9753 ± 62.2362	35.5538 ± 24.1574	6.18250 ± 0.52801	60.2103 ± 5.3572	0.0106 ± 0.0015
30 días	344.5 ± 9.1652	177.1429 ± 25.5107	36.5959 ± 1.7320	8.01750 ± 1.17525	45.9823 ± 4.9953	0.0082 ± 0.0022
60 días	433.6 ± 44.5286	231.7877 ± 28.7571	57.0069 ± 10.7780	5.85625 ± 2.05443	79.6807 ± 20.0771	0.01162 ± 0.0024
	Peso (g)	Peso páncreas (g)	Peso Seco (mg/mg)	Proteínas páncreas (mg/mg)	Arginasa páncreas (µmoles/mg min)	Amilasa páncreas (U/mg)
Control	386.7 ± 10.2993	2.3791 ± 0.2066	5.5376 ± 1.6373	0.3253 ± 0.0869	158.6493 ± 21.5570	11.8550 ± 1.1129
24 hrs	361.1 ± 10.2372	1.2638 ± 0.0101	3.0555 ± 0.7828	0.3267 ± 0.1376	246.6915 ± 49.2083	8.9949 ± 1.1573
48 hrs	384.2 ± 22.6539	2.3987 ± 0.1356	4.1025 ± 0.2711	0.3121 ± 0.0488	183.3376 ± 18.9052	10.8917 ± 2.1952
5 días	311.8 ± 13.755	1.5942 ± 0.2824	4.2332 ± 0.7991	0.4059 ± 0.0867	198.0717 ± 15.1249	13.9655 ± 2.7107
20 días	365.2 ± 19.9894	1.8242 ± 0.3076	5.5086 ± 1.3903	0.3037 ± 0.0809	406.8335 ± 60.7564	5.4705 ± 2.0157
30 días	344.5 ± 9.1652	2.1175 ± 0.2334	4.5071 ± 1.689	0.3621 ± 0.1865	177.9672 ± 26.8268	10.6856 ± 1.7051
60 días	433.6 ± 44.5286	1.8995 ± 1.04869	4.7056 ± 1.0685	0.3558 ± 0.0823	194.6560 ± 47.5519	8.7756 ± 1.5195

Tabla 1 .- Concentración de los resultados obtenidos al analizar los diferentes parámetros en suero y páncreas de ratas adultas.

DISCUSION DE RESULTADOS

DETERMINACIONES EN SUERO

GLUCOSA

ADULTAS.- Cualquier cambio bioquímico derivado de la castración no tiene influencia en ningún parámetro que pueda modificar la concentración de glucosa sanguínea (Fig.17).

PREPUBERES.- El descontrol que existe a los 5 días y 60 días puede deberse a la reacción del organismo a la castración, pues se ha demostrado que las poliaminas están en altas concentraciones en islotes pancreáticos, y su presencia está restringida a las células β productoras de insulina que están asociadas con las glándulas secretoras (24, 45). Se ha propuesto que la arginasa está presente en el páncreas para proveer de la ornitina requerida para la biosíntesis de poliaminas(45). Se ha reportado también que los andrógenos estimulan un grande y rápido incremento en la actividad de la ornitina descarboxilasa en el riñón de ratón (52) y se ha encontrado que la castración de los cuyos produce una disminución en la actividad de arginasa en el riñón (61). Esta disminución de la actividad de arginasa puede suceder en la misma forma en el páncreas; por lo que la pérdida de esta actividad provoca un descenso en la cantidad de la ornitina requerida para la síntesis de poliaminas necesarias para

que las células β produzcan o secreten la insulina suficiente para metabolizar toda la glucosa. Este parece ser un desajuste que trata de estabilizarse pero que a largo plazo no se logra pues la glucosa se eleva considerablemente en el grupo de ratas castradas y mantenidas por 60 días (Fig.17).

TRIACILGLICERIDOS

ADULTAS.- Las ratas adultas castradas contienen ya un mínimo aporte de testosterona por otras glándulas que la secretan en cantidades casi despreciables comparado con el suministro mayoritario de esta hormona que son los testículos. En este caso, este aporte mayoritario se ha eliminado y esto provoca una ligera disminución en la secreción de insulina (24, 45, 61) que no afecta la concentración de glucosa, pero sí a la de los triacilglicéridos, en la cual hay un descontrol que se trata de estabilizar pero que a largo plazo no se logra y los niveles de triacilglicéridos se elevan debido a la activación de la lipasa sensible a hormonas que propicia el desdoblamiento de los ácidos grasos almacenados en los adipocitos a triacilglicéridos y glicerol, y su liberación al torrente sanguíneo. Tal vez si se dejaran las ratas castradas por más tiempo, estos altos niveles permanecerían y hasta hubiera una ligera repercusión sobre la concentración de glucosa (Fig.18).

PREPUBERES.- Los valores control en los primeros 20 días se mantienen altos y van disminuyendo conforme la rata

va creciendo. El sensible descenso de este valor en cada grupo con respecto a su control puede deberse a un intento del organismo por estabilizar dichos niveles, ya que en los primeros 5 días hay un evidente descontrol debido a la castración y después los niveles de las ratas castradas se estabilizan con el valor control de las ratas adultas. A largo plazo la falta de testosterona se manifiesta con la falta de insulina que provoca la activación en los adipocitos de la lipasa sensible a hormonas que propicia el desdoblamiento de los ácidos grasos a triacilglicéridos y glicerol y su liberación al torrente sanguíneo. Es por esta razón que el valor se eleva un 81% a los 60 días (Fig.18).

ACTIVIDAD DE α -AMILASA

ADULTAS.- Existen ligeras variaciones, pero ninguna llega a ser importante como para suponer un cambio bioquímico (Fig.19).

PREPUBERES.- Este valor se mide con el propósito de buscar indirectamente alguna alteración de la función exócrina. Este incremento irregular durante los primeros 5 días puede ser debido a que la enzima pancreática baja, entonces pudiera ser que las glándulas salivales realizaran una función compensatoria los primeros días, aunque esto no ha sido comprobado; después, los valores logran estabilizarse a los niveles basales (Fig.19).

PROTEINAS

ADULTAS.- No se produce ningún cambio que contribuya a aumentar la concentración de proteínas al torrente sanguíneo; por lo tanto, no se detectan mayores cambios en el suero (Fig.20)..

PREPUBERES.- La drástica disminución de proteínas puede deberse a una ligera disminución de la actividad de arginasa propiciada por la falta de testosterona; ésto y la gran actividad de arginasa para la restauración de los tejidos debido a la operación pudo haber ocasionado una disminución temporal en la producción de proteínas para otros fines que no fueran la restauración de los tejidos lesionados (Fig.20).

ACTIVIDAD DE ARGINASA

ADULTAS .- La sensible elevación de la actividad de esta enzima a las 24horas es debida a que esta enzima esta implicada en el crecimiento, diferenciación celular y restauración de tejidos lesionados, por lo que un día después de la operación, se necesitaba una mayor actividad de arginasa para producir las poliaminas necesarias para la restauración del daño. Después, los valores tienden a normalizarse. Se ha demostrado que las poliaminas son limitadas por la producción de insulina (24), por lo que la elevación a los 60 días puede deberse a una ligera falta de insulina producida por la castración, que no produce una elevación en la concentración de glucosa pero sí en la actividad de

arginasa, pues no ejerce su efecto limitante sobre las poliaminas (Fig.21).

PREPUBERES.- La elevación en el valor es debida también a la reparación de los tejidos dañados durante la operación. La reacción en las ratas prepúberes tardó mas tiempo en manifestarse pero lo hizo casi al doble que las ratas adultas. Esto puede deberse a que estas ratas estan en crecimiento activo y con constante necesidad de esta enzima para la diferenciación celular y el crecimiento, por lo que logra mantener sus niveles estables a principio, pero al requerir un mayor aporte de otros metabolitos como prolina para la reparación del tejido, eleva su actividad de arginasa en un 234%. Después la actividad logra estabilizarse (Fig.21).

DETERMINACIONES EN TEJIDO PANCREATICO

PESO GLANDULAR

ADULTAS .- Se ha reportado que después de la castración, el peso glandular baja indicando un efecto androgénico sobre el tejido pancreático (24). En este estudio ocurre también una ligera pérdida de peso en el tejido pancreático de las ratas castradas (Fig.22).

PREPUBERES.- Al principio el peso aumenta debido a la fase de crecimiento activo de las ratas ya largo plazo también hay una pérdida de peso en el tejido pancreático (Fig.22).

PESO SECO

ADULTAS.- Los grupos presentan una ligera disminución debido quizá al efecto androgénico causado por la castración sobre el tejido pancreático. A las 24 horas, la disminución fue mayor, pero la desviación estándar no indica un efecto significativo (Fig.23).

PREPUBERES.- La marcada elevación a los 30 días puede deberse a que en este tiempo también la cantidad de proteínas pancreáticas es mucho mayor a los niveles basales, por lo que la materia orgánica en el páncreas aumenta aunque su peso glandular no lo hace (Fig.23).

ACTIVIDAD DE α -AMILASA

ADULTAS.- La disminución a los 20 días puede deberse a un daño temporal en la función exócrina como reacción tardía a la falta de testosterona, que logra estabilizarse a los 60 días (Fig.24).

PREPUBERES.- La disminución al quinto día puede deberse también a un efecto temporal en la función exócrina que se trata de regularizar a mediano plazo. Esta disminución se trata de compensar con una mayor secreción de esta enzima de las glándulas salivales en este mismo lapso de tiempo (Fig.24).

PROTEINAS

ADULTAS .- No se presenta cambio alguno en el contenido de proteína pancreática, ya que la castración no influye en ninguna forma en este parámetro (Fig.25).

PREPUBERES.- Inicialmente hay una desestabilización en el contenido de proteína pancreática y puede deberse a que la actividad de arginasa a los 5 días está produciendo poliaminas para la restauración del tejido dañado y limitando la producción normal de proteínas para el buen funcionamiento pancreático. La producción de proteínas se estabiliza pero a los 30 días se eleva significativamente tratando de recuperar la cantidad de proteínas necesarias para el páncreas. Estos valores logran estabilizarse a los 60 días (Fig.25).

ACTIVIDAD DE ARGINASA

ADULTAS.- No se producen cambios significativos a excepción de las 24 horas y 20 días. El primer pico puede deberse a una coparticipación en la producción de arginasa para la síntesis de poliaminas para la restauración de los tejidos lesionados. El pico de los 20 días puede deberse a un efecto tardío a la castración sobre las enzimas pancreáticas, ya que a los 20 días la actividad de α -amilasa disminuye (Fig.26).

PREPUBERES.- Se ha demostrado que las poliaminas son limitadas por la producción de insulina y que la glucosa estimula la biosíntesis de poliaminas(24), por lo tanto, si la insulina falta, la producción de poliaminas se eleva como en los ratos de 5 y 60 días. Se ha sugerido

que la enzima está bajo el control regulador de andrógenos(28),y también se sabe que la arginasa tiene dos etapas pico de formación :a) durante la vida fetal final,b) durante la fase tardía de lactancia (11). El destete de estas ratas fue a los 21 días, exactamente cuando se les practicó la operación; por esta razón la actividad de arginasa control prepúber es alta con respecto a los demás controles. Después de la operación, la actividad de arginasa sufre un descontrol por la castración y se eleva a los 5 días debido también a su etapa pico de formación durante la fase tardía de lactancia. Después el valor se estabiliza, pero debido a la falta de insulina que limite su producción, el valor se vuelve a elevar a los 60 días (Fig.26).

CONCLUSIONES

1.- De acuerdo a las observaciones realizadas en este estudio se puede concluir que los efectos más significativos se presentaron en las ratas castradas en la fase prepúber de crecimiento y los cambios fueron mas ligeros en las ratas castradas siendo ya adultas.

2.- Como efecto de la castración se produce una ligera pérdida del peso glandular, una disminución temporal en la actividad de α -amilasa pancreática y un aumento temporal en la actividad de arginasa pancreática.

3.- Apoyados en que se ha demostrado que las poliaminas están en altas concentraciones en islotes pancreáticos y que su presencia está restringida a las células β productoras de insulina y que están asociadas con las glándulas secretoras (24, 45) y que se ha demostrado la presencia de un receptor androgénico en el páncreas sugiriendo su participación en la regulación por esteroides sexuales de la función pancreática (39); podemos pensar que la castración podría tener una ligera influencia indirecta sobre la producción o secreción de insulina, pues en este estudio hubo una notable elevación en las concentraciones de glucosa y triacilglicéridos en los grupos de ratas operadas en la fase prepúber. Esto necesita un estudio más profundo y extenso ya que, a

pesar de que otros autores han sugerido esta relación, aún no está comprobado.

APENDICE

DETERMINACION DE GLUCOSA (Test-combinación. Glucosa GOD-POD. Boeringer Mannheim GmbH, Mannheim, Alemania Occidental)

FUNDAMENTO

GOD

glucosa + O₂ -----> gluconato + H₂O₂

POD

2 H₂O₂ + 4 aminofenazona + fenol ----->
4(p-benzoquinona-monomico)-fenazona + 4 H₂O

REACTIVOS Y APARATOS

Amortiguador / enzimas / 4 aminofenazona

Fenol

Estándar de glucosa 100 mg/dl

Centrífuga

Colorímetro

PROCEDIMIENTO

Se mezclan 20µl de suero con 2 ml de la mezcla de reacción, se incuba por 10 minutos a 37°C en ausencia de luz y se mide el color final 530 nm a temperatura ambiente en un lapso no mayor a 15 minutos posteriores a

duplicado frente a un blanco y un estándar.

CALCULOS

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

OBSERVACIONES

La solución contiene azida de sodio como conservador, se debe evitar todo contacto con piel y mucosas. La ingestión de grandes dosis puede provocar vasodilatación y descenso de la presión sanguínea. La solución 2 contiene fenol que es venenoso si está en contacto con la piel y es ingerido; causa cauterización.

TRIACILGLICERIDOS (reactivo para triglicéridos -color-)

FUNDAMENTO

lipasa

triglicéridos -----> glicerol + ácidos grasos

GK

glicerol + ATP -----> 1-glicerolfosfato + ADP

G-1-PDH

1-glicerolfosfato + NAD+ -----> fosfato de
hidroxiacetona + NADH

REACTIVOS Y APARATOS

Juego de reactivos para triglicéridos que contiene:

- ATP
- NAD
- INT
- GK(microbiana)
- G-1-PDH (músculo de conejo)
- Diáfora (Cl. Kluyveril)
- Lipasa (microbiana)
- Amortiguador pH=7
- Espectrofotómetro

PROCEDIMIENTO

Se mezclan 10 μ l de la muestra con 1ml de reactivo reconstituido, después de 18 y antes de 30 minutos se lee la absorbancia a 530 nm en las pruebas hechas por duplicado frente a un blanco de reactivos y un estándar.

CALCULOS

$$c \text{ mg/dl} = \frac{\text{lectura prueba} - \text{lectura blanco} \times 500}{\text{lectura estándar} - \text{lectura blanco}}$$

OBSERVACIONES

Evitar la ingestión y contacto con la piel ya que la toxicidad del reactivo no ha sido establecida.

ACTIVIDAD DE α -AMILASA

FUNDAMENTO

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

α -amilasa

PNPG7 -----> PNPG3 + maltotetraosa

glucoamilasa

PNPG3 -----> PNPG1 + glucosa

maltasa

PNPG1 -----> PNP + glucosa

REACTIVOS Y APARATOS

Juego de reactivos para α -amilasa que contiene:

- PNPG7 bloqueada
- Cloruro de sodio
- Cloruro de calcio
- Maltasa
- glucoamilasa
- Amortiguador pH=7
- Azida de sodio
- Cronómetro
- Espectrofotómetro

PROCEDIMIENTO

Se mezclan $40\mu\text{l}$ de la muestra con 1ml de reactivo reconstituido, después de un período de incubación a 37°C por 1 minuto se toma la lectura a una absorbancia de 405 nm (A_0) y después de 1 minuto de incubación a 37°C se toma una segunda lectura (A_1). Las pruebas se realizan por duplicado frente a un blanco.

$$\text{actividad de } \alpha\text{-amilasa} = \frac{\Delta A/\text{min} \times 10^{-6} \times 1.04}{(8.9 \times 10^{-3}) \times 1 \times 0.04} =$$

(U/ml)

$$\Delta a/\text{min} \times 2921$$

10^{-6} = conversión de moles a μmoles

1.04 = volumen total de reacción en ml

0.04 = volumen de muestra en ml

l = recorrido de la luz en cm

8.9×10^{-3} l/molcm = absorbancia molar de PNF a 405 nm y 37°C

OBSERVACIONES

Este reactivo es sumamente susceptible a la contaminación por amilasa salival así que no se debe pipetear con la boca. Los anticoagulantes como EDTA o citrato de sodio inhibirán la actividad de la α -amilasa.

PROTEINAS (Método de Lowry con el reactivo de Folin-Ciocalteu)(48)

FUNDAMENTO

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 de fosfomolibdato-fosfotungstato del reactivo por la proteína tratada.

REACTIVOS Y APARATOS

-Solución preparada en agua destilada de Na_2CO_3 al 2%, tartrato doble de sodio y potasio 0.02% y NaOH 0.4%.

-Solución al 0.5% de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada.

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

PROCEDIMIENTO

Se toma la alícuota de la muestra una vez procesada y se completa el volumen a 0.5ml, se añaden 2ml de una solución hecha con las dos soluciones primeras en proporción de 50 a 1, se mezcla y se deja reposar por 10 minutos, se agrega 0.2ml de reactivo de Folin-Ciocalteu, se mezcla y se deja reposar por 20 minutos. Se mide la absorbancia a 530 nm frente a un blanco; además se realiza una curva estándar para los cálculos.

CALCULOS

La concentración de proteínas es expresada como mg de proteína / μ l al interpolar el valor de la absorbancia de la muestra menos la absorbancia del blanco en una curva estándar de absorbancia vs. concentración. Posteriormente se relaciona este valor con el proceso que se le dió a la muestra para expresarse finalmente como mg de proteína / 100ml de homogenizado.

OBSERVACIONES

El reactivo es tóxico, por lo que se debe evitar su contacto con la piel o ingestión

PESO SECO (49)

FUNDAMENTO

Las muestras orgánicas se oxidan al máximo con una solución ácida de dicromato de potasio para cuantificar la materia orgánica presente que es proporcional a la intensidad del color obtenido.

REACTIVOS Y APARATOS

-Solución de dicromato de potasio en ácido sulfúrico concentrado (1g en 50ml).

-Solución estándar de manosa o manitol (2mg/ml).

-Vórtex

-Colorímetro

PROCEDIMIENTO

Se toma una alícuota de 50 μ l de homogenizado y de completa 1ml con agua destilada, se le agregan 2ml de la solución ácida, se deja enfriar y se lee la

absorbancia a 660nm frente a un blanco de reactivos. Las muestras se procesan por duplicado al igual que la curva estándar frente a la que se corren las muestra.

CALCULOS

La concentración de materia orgánica presente se expresa en μg de peso seco/ μl al interpolar el valor de la absorbancia de la muestra menos la absorbancia del blanco en una curva estándar de absorbancia vs. concentración de manosa o manitol. Posteriormente se relacionan las unidades antes mencionadas con el volumen original de la muestra de homogenizado para expresarse como mg de peso seco/ml de homogenizado.

OBSERVACIONES

Este método es aplicable a homogenizados de tejidos en soluciones orgánicas aunque tiene como desventaja que el dicromato reacciona con grupos que contienen carbón de manera específica, por lo que la participación de él u otros elementos en la composición del material biológico darán proporcionalmente menor absorbancia. Se debe tener cuidado en el manejo de los reactivos, ya que producen severas quemaduras.

ACTIVIDAD DE ARGINASA (15)

FUNDAMENTO

La aparición del color en este método se debe a la reacción de la urea formada con tiosemicarbazida diacetil monoxima en ácido úrico. La aparición de color depende del tiempo y temperatura de calentamiento, debe tenerse cuidado pues el producto es lábil a la temperatura.

REACTIVOS Y APARATOS

-Extracto acuoso de una solución cin tiosemicarbazida 2.4mM y 2, 3 butadiona monoxima 4.1mM.

-0.1ml de cloruro de fierro III 0.12M en ácido fosfórico al 56.7% y 100ml de H₂SO₄ al 20%.

-Solución estándar de urea 15µg/ml.

-Parrilla eléctrica

-Vórtex

-Colorímetro

PROCEDIMIENTO

Una vez procesada la muestra de homogenizado se toman alícuotas de 400µl y se completan a 1ml con agua destilada. Se agregan 1ml de la primera solución y 2ml de la segunda, se mezclan y tpan los tubos. Se someten a

calentamiento en baño de agua a 95°C por 25 minutos, se dejan enfriar y se lee la absorbancia a 530 nm frente a un blanco y curva estándar. Todas las lecturas se hacen por duplicado.

CALCULOS

La actividad de arginasa se expresa en $\mu\text{gurea}/\mu\text{l}\times 15\text{min}$ al interpolar la lectura de la absorbancia de la muestra menos la del blanco en una curva estándar de absorbancia vs. concentración de urea. Posteriormente se realciona con el volumen de muestra de homogenizado y el proceso dado para expresarse como :
 $\text{mg urea}/\text{ml homogenizado}\times 15 \text{ minutos.}$

OBSERVACIONES

Los reactivos son tóxicos si están en contacto con la piel o son ingeridos.

ORQUIECTOMIA

Bajo anestesia general inducida con 2mg/Kg de Droperidol y 50mg/Kg de Ketalar se rasura el pelo del área del pubis, en especial el escroto, y con una incisión oblicua que afecte ambos sacos escrotales se extraen los testículos y se efectúa doble ligadura seccionando entre ellas para retirar los testículos para después suturar la incisión de las tunicas y la piel del escroto. se aplica un desinfectante antes y después de la operación (Fig.27).

- 1.- Pene (Bulbo)
- 2.- Epididimo (superior)
- 3.- Prolata
- 4.- Epididimo (inferior)
- 5.- Vas deferens
- 6.- Epididimo (medial)
- 7.- Testículo
- 8.- Conducto deferente
- 9.- Uterus
- 10.- Ovario
- 11.- Uterus
- 12.- Vagina
- 13.- Vagina
- 14.- Vagina

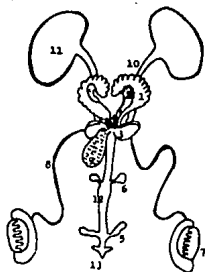


Figura 27.- Aparato reproductor de la ratona.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Nuñez, J. and Rodríguez, A.: La enzima arginasa : bioquímica general, metabolismo, interés en la determinación sérica en patología hepática in Revisiones de Conjunto, primera comunicación, Revista Clínica Española, 123 (3): 213-219, 1971.
- 2) Freeman, J. and Williams, M.: Estrogenic induction of uterine arginase activity, Stop Press Communication, Horm.Met.Res.3: 352, 1971.
- 3) Nuñez, J., Rodríguez, A., Pelaez, J. and Lucena, R.: Actividad arginásica en enfermedades cardiopulmonares, Revista Clínica Española, 124(3): 263-270, 1972.
- 4) Spector, E., Kiernan, M., Bernard, B. and Cederbaum, S.: Properties of fetal and adult red blood cell arginase : a possible prenatal diagnostic test for arginase deficiency, Am.J.Hum.Genet. 32: 79-87, 1980.
- 5) Palacios, r., Huitrón, C. and Soberón, G.: Preferential hydrolysis of endogenous arginine by rat liver arginase, Biochemical and Biophysical Research Communications, 38(3): 438-443, 1970.
- 6) Oka, T. and Perry, J.: Arginase affects lactogenesis

through its influence on the biosynthesis of spermidine, Nature, 250: 660-661, 1974.

7) Ugarte, P., Pino, M., Peirano, P. and Marusic, E.: Serum arginase activity in subjects with hepatocelular damage, J.Lab.Clin.Med.55(4): 522-528, 1960.

8) Husson, A. and Vaillant, R.: Effects of glucocorticosteroids and glucagon on argininosuccinate sintetase, argininosuccinase and arginase in fetal rat liver, Endocrinology, 110(1): 227-231, 1982.

9) Davis, R. and Paulus, T.: Uses of arginaseless cells in the study of poliamine metabolism (*Neurospora crassa*), Methods in Enzimology, 94: 112-116, 1983.

10) Costa A. and Albuquerque, Z.: Effect of experimental chronic renal failure upon the production of urea as measured by the liver arginase activity in rats, Experiencia, 34(11): 1465-1466, 1978.

11) Greengard, O., Sahib, M. and Knox, E.: Developmental formation and distribution of arginas in rat tissues, Archievs of Biochemistry and Biophysics 137: 477-482, 1970.

12) Matsuzaki, S., Suzuki, M. and Hamana K.: A possible

role of arginase in the regulation of polyamine biosynthesis in the rat thyroid, *Acta Endocrinológica*, 98: 57-61, 1981.

13) Pau, M. and Milner, J.: Dietary arginine and sexual maturation of the female rat, *American Institute of Nutrition: 1834-1842*, 1982.

14) Haggerty, D., Spector, E., Lynch, M., Kern, R., Frank, L. and Cederbaum, S.: Regulation by glucocorticoids of arginase and argininosuccinate synthetase in cultured rat hepatoma cells, *The Journal of Biological Chemistry*, 257 (5): 2246-2253, 1982.

15) Kung, J., Brooks, S., Jakway, J., Leonard, L. and Talmage, D.: Sppression of *in vitro* citotoxic response by macrophages due to induced arginase, *The Journal of Experimental Medicine*, 146: 665-672, 1977.

16) Lin, R., Snodgrass, P. and Rabier, D.: Induction of urea cycle enzymes by glucagon and dexamethasone in monolayer cultures of adult rat hepatocytes, *The Journal of Biological Biochemistry*, 257(9): 5061-5067, 1982.

17) Snodgrass, P., Lin, R., Müller, W. and Aokis, T.: Induction of urea cycle enzymes of rat liver by glucagon, *The Journal of Biological Chemistry*, 263(8):

2748-2753, 1978.

18) Rahmarullah, M., Fong, L., Lee, J. and Boyde, T.: Zinc-deficiency and activities of urea cycle-related enzymes in rats, *Experientia*, 36: 1281-1282, 1980.

19) Rabbani, P., and Prasad, A.: Plasma ammonia and liver ornithine transcarbamoylase activity in zinc-deficiency rats, *The American Physiological Society*: E203-E206, 1978.

20) Yamanaka, H., Shimazaki, J., Ima, K., Sugiyama, Y. and Shida, K.: Effect of strogen administration on activities of testosterone 5 α -reductase, alkaline phosphatase and arginase in the ventral and the dorsolateral prostates on rats, *Endocrinol.* 22(4): 297-302, 1975.

21) Mimic-Oka, J. Cupic, Z. and Japundzic, I.: Effect of adrenal function level of hepatic and extrahepatic arginase, *Experientia*, 27(12): 1477-1478, 1971.

22) Terayama, H., Koji, T., Kotani, M. and Okimoto, T: Arginase as an inhibitory principle in liver plasma membranes arresting the growth of various mammalian cells *in vitro*, *Biochimica et Biophysica Acta*, 720: 188-192, 1982.

23) Lamers, W. and Mooren, P.: Role of thyroid hormones in the normal and glucocorticosteroid hormone-induced evolution of carbamoylphosphate synthase (ammonia) and arginase activity in perinatal rat liver, Biol. Neonate 37: 264-284, 1980.

24) Welsh, N. and Sjöholm, A.: Polyamines and insulin production in isolated mouse pancreatic islets, Biochem. J. 252: 701-707, 1988.

25) Lamers, W. and Mooren, P.: Role of glucocorticosteroid hormones on the levels of rat liver carbamoylphosphate synthase (ammonia) and arginase activity during ontogenesis, Biol. Neonate 37: 113-137, 1980.

26) Carvajal, N., Acoria, M., Rodríguez, J., Fernandez, M. and Martínez, J.: Evidence for cooperative effects in human liver arginase, Biochimica et Biophysica Acta 701: 146-148, 1982.

27) Folley, S. and Greenbaum, A.: Changes in the arginase and alkaline phosphatase contents of the mammary gland and liver of the rat during pregnancy, lactation and mammary involution, Biochem. 41: 261-268, 1947.

28) Yamanaka, H., Mayuzumi, T., Shimazaky, J. and Shida, K.: Properties and androgen-induced changes of arginase kidney and ventral prostate of rats, *Endocrinol.*18(6): 487-494, 1971.

29) Lamers, W. and Mooren, P.: Role of sex steroid hormones in the normal and glucocorticosteroid hormone-induced evolution of carbamoylphosphate synthase (ammonia) and arginase activity in rat liver ontogenesis, *Biol. Neonate*, 40: 78-90, 1981.

30) Hougaard, D., Nielsen, J. and Larsson, L.: Localization and biosynthesis of polyamines in insulin-producing cells, *Biochem.J.*238: 43-47, 1986.

31) Petersdorf, R., Adams, R., Braunwald, E., Isselbacher, K., Martin, J. and Wilson, J., Principios de Medicina Interna, Vol.1, 6a.ed., Ed. Mc Graw Hill, 1983.

32) Guyton, A., Tratado de Fisiología Médica, 7a.ed., Ed. Interamericana Mc Graw Hill, 1986.

33) Orci, L., Vassalli, J. and Perrelet, A.: La fábrica de insulina, *Investigación y Ciencia*, 146: 52-63, 1988.

34) Leninger, A., Bioquímica, 2a.ed., Ed. Omega, España,

1985.

35) Hobkirk, R., Steroid Biochemistry, CRC Press inc., vol.I, E.E.U.U., 1988.

36) Romanes, G., Cunningham Tratado de Anatomía, 12a.ed., Ed. Interamericana McGraw Hill, España.

37) Williams, R.H., Tratado de Endocrinología, 6a.ed.

38) Cohen, S.: Nature (London) 274, 209-210, 1978.

39) Poussette, A.: Demonstration of an androgen receptor in rat pancreas. Biochem. J., 157: 229-232, 1976.

40) Welsh, N. and Sjöholm, A.: Polyamines and insulin production in isolate mouse pancreatic islets, Biochem.J.252: 701-707, 1988.

41) Hannonen, P., Raina, A. and Janne, J.: Polyamine synthesis in the regenerating rat liver : stimulation of s-adenosylmethionine decarboxilase and spermidine and spermine synthases after partial hepatectomy, Biochem.Acta. 273: 84, 1972.

42) Russel, D. and Shyder, S.: Amine synthesis in regeneration rat liver: extremely rapid turnover of

ornithine decarboxilase, Mol.Pharmacol. 5:253, 1969.

43) Méndez, J. y Hicks, J.: Metabolismo, función de las poliaminas en las células vegetales, Rev.Soc.Quim.Méx.27(4): 169, 1983.

44) Lockwood, D., Lipsky, J., Meruk, F. and East, L.: Actions of polyamines on lipid and glucose; metabolism on fat cells. Biochim.Biophys.Res.Com.44(3): 600-607, 1971.

45) Méndez, J.D. and Arreola, M.A.: Effect of L-arginine on pancreatic arginase activity and polyamines in alloxan treated rats. Biochem. Int. 28(4): 569-575, 1992.

46) Brownlee, M. and Cerami, A.:The biochemistry of the complications of the diabetes mellitus, Ann.Rev.Biochem.50 : 385-432, 1981.

47) Hafez, E.: Reproduction and breeding techniques for laboratory animals, Department of Gynecology-obstetrics and Department of Physiology, Detroit, Michigan; Lea & Febrieger, 1970, pp 28-55.

48) Lowry, O., Rosenbrough, N., Parr, A. and Randall, R.: Protein measurement with the Folin phenol reagent,

J.Biol.Chem. 193 : 265-275, 1951.

49) Bernal, A., M6ndez, J. y Rosado, A.: Determinaci6n r6pida del peso seco por colorimetría, Arch.Invest.Med.12: 83-88, 1981.

50) Lavis, L., Lemon, H. and Stohs, S.: Rat uterine polyamine biosynthetic decarboxylase activities following multiole injections of estradiol-17 β and/or estriol, Steroids, 43(4): 415-427, 1984.

51) Kaye, A., Icekson, I. and Lindner, H.: Stimulation by estrogens of ornithine and s-adenosylmethionine decarboxylases in the immature rat uterus, Biochim.Biophys.Acta.252: 150-159, 1971.

52) Bullock, L.: Androgen and progestin stimulation of ornithine decarboxylase activity in the mouse kidney, Endocrinology, 112(6): 1903-1909, 1983.

53) M6ldrup, A., Douglas, E. and H6irps, J.: Effects of sex and pregnancy hormones on growth hormone and prolactin receptor gene expression in insulin-producing cells., Endocrinology, 133 (3): 1165-1172, 1993.

54) Clark, L.C., Kochakian, C.D.Jr. and Phyllis Fox, r.: The effect of castration and testosterone propionate on

D-aminoacid oxidase activity in the mouse., Science 98, 99, 1943.

55) Kochakian, C.D. and Phyllis Fox, R.: The effect of castration and testosterone propionate on the "alkaline" and "acid" phosphatases of the kidney, liver and intestines of the mouse., J. Biol. Chem., 153: 669-674, 1944.

56) Kochakian, C.D.: The effect of castration and various steroids on the arginase activity of the tissues of the mouse., J. Biol. Chem., 155: 579-589, 1944.

57) Kochakian, C.D.: The effect of dose and nutritive state of kidney arginase after steroid stimulation., J. Biol. Chem., 161: 115-125, 1945.

58) Kochakian, C.D. and Stettner, C.E.: Effect of testosterone propionate and growth hormone on the arginase and phosphatases of the organs of the mouse., Amer. J. Physiol., 155: 262-264, 1948.

59) Kochakian C.D. and Robertson, E.: The effect of androgens and hypophysectomy on arginase and phosphatases of the kidney and liver of the rat., Arch. Biochem., 29: 114-123, 1950.

60) Kochakian, C.D. , Bartlett, M.N. and Góngora, J.:
Effect of castration and androgens on body and organ
weights and the arginase and phosphatases of kidney and
liver on the male syrian hamsters., Amer. J. Physiol.,
153: 210-214, 1948.

61) Harrison Humm, J., Kochakian, C.D. and Bartlett,
M.N.: Effect of castration and steroids on the arginase
and phosphatases of the organs of the Guinea pig., Amer.
J. Physiol., 155: 251-254, 1948.