

LOCALIZACION HISTOQUIMICA DEL GLUCOGENO Y LA FOSFORILASA EN LAS GLANDULAS VESICULARES DEL TORO ADULTO

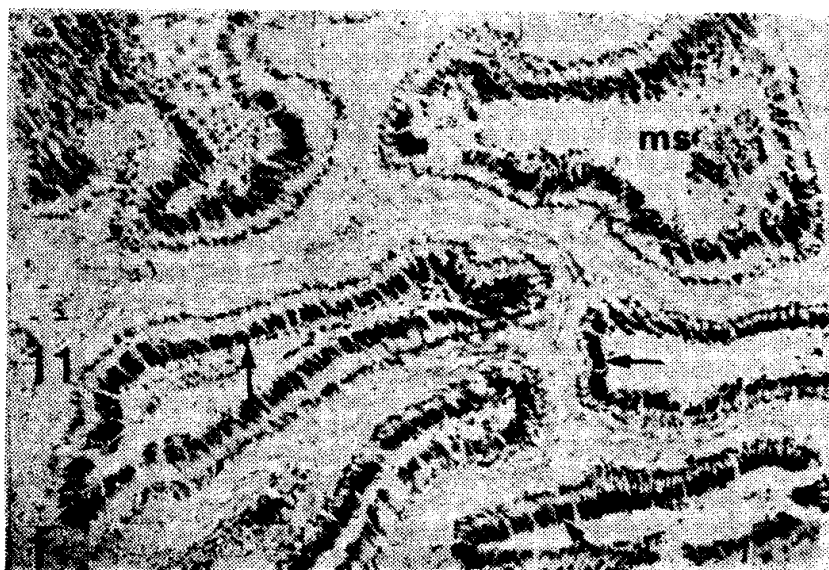


FIG. 1

Toro de 4 años. Vesícula seminal preparada con la técnica para la demostración histoquímica de la fosforilasa. Intensa reacción en el epitelio, especialmente marcada en la porción apical de las células columnares (flechas) y en el material secretorio luminal (ms). x 180.

Dr. Carlos Ohanián ¹
Bach. Julio Alves ²

INTRODUCCIÓN

El glucógeno ha sido considerado como un sustrato intermediario en el complejo sistema enzimático que lleva a la formación de la fructosa, principal hidrato de carbono del plasma seminal del toro (7). Según Mann (12) y Sajonski y cols. (15), los espermatozoides de muchos mamíferos pueden metabolizar los productos de degradación del glucógeno (oligosacáridos) durante su tránsito por los conductos excretorios y antes de tener acceso a la fructosa segregada por las glándulas accesorias. La síntesis del glucógeno en el tracto genital de los mamíferos parece ser andrógeno-dependiente. En la rata castrada, Singhal y cols. (16) han demostrado que la testosterona aumenta el contenido de glucógeno de la próstata y de las vesículas seminales, posiblemente induciendo una mayor formación de las enzimas vinculadas con la síntesis de glucógeno. Sin embargo, el papel específico del glucógeno y de sus metabolitos en los procesos de maduración de los espermatozoides es desconocido en la actualidad. Si bien existen varios trabajos histoquímicos y bioquímicos que indican la presencia de glucógeno en las glándulas vesiculares del toro (2, 3, 4-6, 15), es mucho menos lo que se ha publicado referente a las enzimas que intervienen en el metabolismo del glucógeno (fosforilasas, glucógeno-sintetasa). Solamente Filotto (5, 6) ha descrito brevemente la presencia de fosforilasa y glucó-

geno-sintetasa en el epitelio y en la luz de las glándulas vesiculares del toro. Con una incubación en un medio simple que contenía solamente glucosa-1-fosfato, la reacción era muy débil, pero se volvió muy intensa luego de la adición al medio de adenosín-monofosfato y sobre todo de adenosín-5-trifosfato, indicando así que la fosforilasa inactiva (fosforilasa b) era la forma predominante tanto en el epitelio como en el material secretorio. Todos estos datos fueron plenamente confirmados con los análisis bioquímicos correspondientes.

El presente trabajo se refiere primariamente a la localización histoquímica del glucógeno y de la fosforilasa en las glándulas vesiculares del toro adulto. La finalidad del mismo es aportar datos que puedan servir en la dilucidación del significado funcional del glucógeno en el tracto genital del bovino, tanto en condiciones normales como experimentales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron glándulas vesiculares macroscópicamente normales de 7 toros Hereford y Shorthorn de 2 a 5 años de edad. El material obtenido en un matadero local fue conservado a 4°C durante su transporte al laboratorio y fue procesado dentro de las 4 horas siguientes a la muerte del animal. Parte del tejido fue reducido a pequeños bloques de ½ a 1 mm de espesor y se incubó durante 2-3 horas a 37°C en medios diferentes para la demostración de fosforilasa total, activa e inactiva (10, 11, 14). Luego de la incubación, los tejidos fueron fijados durante 12-18 horas en líquido de Carnoy a 4°C, incluidos en parafina en la forma usual y seccionados a 6-8 mi-

1) Prof. Adj. de la cátedra de Histología y Embriología.
2) Asistente de la cátedra de Histología y Embriología.

cras de espesor. El glucógeno neoformado se demostró mediante la técnica de la dimedona-ácido periódico-Schiff (1), habiéndose tratado algunos cortes con saliva para asegurar aún más la especificidad de la tinción del glucógeno. Se incubaron también en los mismos medios bloques de control, usándose en estos casos medios de incubación desprovistos de sustrato (glucosa-1-fosfato). La presencia del glucógeno nativo se estudió en material fijado en líquido de Bouin o de Rossmann y coloreado con las técnicas del ácido periódico-Schiff y dimedona-ácido periódico-Schiff, con tratamiento previo de los cortes en saliva. La histología de las glándulas vesiculares y de los testículos pertenecientes al mismo animal se estudió en material fijado en líquido de Bouin y coloreado con ácido periódico-Schiff-hematoxilina. Solamente se emplearon los tejidos de animales sanos y con una espermatogénesis normal.

RESULTADOS

El epitelio y la luz de los túbulos secretores contiene abundantes gránulos de glucógeno de diámetro variable. En el epitelio, la mayor parte del glucógeno estaba acumulada en la región supranuclear de las células columnares y en menor grado en el citoplasma de las células basales.

La reacción de la fosforilasa total fue intensa a nivel del epitelio (Fig. 1). La actividad enzimática estaba localizada exclusivamente en el citoplasma, mientras que los núcleos eran totalmente negativos. La reacción es de carácter granular y se distribuye predominantemente en una estrecha banda infranuclear y una gruesa banda supranuclear (Fig. 2). No se observaron diferencias de tinción entre las células columnares de tipo A y C, siendo todas las células tubulares igualmente reactivas. El material secretorio, cuya cantidad era variable de un tubo a otro, era altamente positivo para la fosforilasa total. La reacción con un medio provisto sólo de glucosa-1-fosfato era débil o negativa en el epitelio (fosforilasa activa) y aumentó claramente luego del agregado de adenosín-monofosfato y sobre todo de adenosín-5-

trifosfato al medio de incubación. (Fosforilasa inactiva.)

Las células conjuntivas del estroma, las fibras musculares lisas, los vasos sanguíneos y las fibras nerviosas (axones) también aparecían intensamente positivas para la fosforilasa. En el caso del músculo liso, la reacción aumentó muy poco luego de la adición de adenosín-monofosfato o de adenosín-5-trifosfato al medio de incubación.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo muestran que el glucógeno y la fosforilasa constituyen componentes metabólicos importantes de las glándulas vesiculares del toro adulto. Algunos estudios cuantitativos previos han demostrado que estas glándulas contienen cantidades significativas del glucógeno, hasta $36,1 \pm 8$ mg/gm (15), indicando así el importante papel que esta fuente de energía debe jugar en las actividades metabólicas de este órgano (2). En un estudio histoquímico detallado de las glándulas vesiculares del toro, Egli (3) localizó los gránulos de glucógeno en la porción apical de las células columnares y dentro de las células basales. La disposición general era la de dos capas bien definidas, una gruesa supranuclear que hace saliencia en la luz a la manera de una excreción apocrina, y una delgada infranuclear. La distribución de la actividad fosforilásica en nuestro material coincide con la descrita por Egli (3) para el glucógeno, es decir una gruesa capa supranuclear correspondiente a las células columnares y una fina capa infranuclear perteneciente a las células basales. Este hallazgo histoquímico apoya la opinión de Cons (2) de que las células columnares y las células basales representan simplemente distintas fases funcionales de un mismo tipo celular y no constituyen dos tipos celulares diferentes como habían establecido previamente Mann y cols. (13) sobre bases puramente morfológicas.

Nuestros resultados sobre los distintos tipos de actividad enzimática coinciden y extienden los de Filotto (5,6) en el mismo

material. El aumento de la reacción luego de la adición de adenosín-monofosfato y adenosín-5-trifosfato indica claramente que la forma inactiva de la fosforilasa (b) constituye el tipo predominante en el epitelio y en el material secretorio de las glándulas vesiculares del toro. Esto concuerda con la situación que prevalece en la inmensa mayoría de los tejidos de mamíferos (10, 11, 14). En el músculo liso, por el contrario, la reacción enzimática aumenta muy poco como consecuencia de la adición de adenosín-monofosfato y adenosín-5-trifosfato al medio de incubación, indicando así que la mayor parte de la enzima ya se encontraba en la forma activa en este tejido (14).

La presencia constante de glucógeno y fosforilasa en la luz de los túbulos secretores, señalada igualmente por Filotto (5,6) y por Sajonski y cols. (15), podría indicar que tanto la síntesis como la degradación del glucógeno pueden tener lugar dentro del epitelio y en la luz de los túbulos glandulares. Esta condición es muy similar a la

RESUMEN

Se ha estudiado con técnicas histoquímicas la presencia y distribución del glucógeno y la fosforilasa en las glándulas vesiculares del toro adulto. Ambas sustancias tienen una distribución similar. En el epitelio, se localizan esencialmente en la región supranuclear de las células columnares, en las células basales y en el interior de las luces de los túbulos secretores. La actividad epitelial corresponde predominantemente a la forma inactiva (b) de la fosforilasa. El músculo liso muestra una intensa actividad, debida principalmente a la forma activa (a) de la enzima. También aparecen positivos las células conjuntivas intersticiales, las paredes de los vasos sanguíneos y las fibras nerviosas. Finalmente, se hacen algunas consideraciones sobre la posible importancia del metabolismo del glucógeno en la función del tracto genital y especialmente en la formación de la fructosa seminal.

descrita por Fouquet y Guha (8) en la rete testis y conductillos eferentes del testículo del hamster, los cuales contienen cantidades importantes de glucógeno y fosforilasa dentro de sus luces. Es probable que la degradación de este glucógeno llevada a cabo en el interior mismo de los conductos excretores por las fosforilasas y otras enzimas conduzca a la producción de diversos hidratos de carbono, entre otros glucosa que podría ser convertida a fructosa por intermedio del sistema de la sorbitol-deshidrogenasa, enzima que se ha mostrado muy activa en el tracto genital del toro adulto (9). De este modo podría integrarse el metabolismo del glucógeno dentro del sistema enzimático que lleva a la formación de la fructosa, principal hidrato de carbono del plasma seminal del toro y de muchos otros mamíferos. Sin embargo, se requieren nuevas investigaciones para determinar con exactitud el verdadero papel que cumplen en el tracto genital de los mamíferos el glucógeno y sus enzimas de síntesis y degradación.

SUMMARY

The histochemical distribution of glycogen and phosphorylase has been studied in the vesicular glands of adult bulls. Both substances showed similar distribution. In the epithelium, they appeared predominantly localized in the apical region of columnar cells, in the basal cells and within the lumen. Enzyme activity in the epithelium is predominantly of the inactive form (phosphorylase b). Intense activity was present in the smooth muscle fibers; this was predominantly of the active form (phosphorylase a). The interstitial connective tissue cells, blood vessel walls and nerve fibers appeared also reactive. The functional significance of glycogen and phosphorylase in the male genital tract and particularly relative to formation of semen fructose is briefly discussed.