

**Influencia de la dieta
y antimetabolitos
sobre algunos
efectos metabólicos
de la hidrocortisona**

ENRIQUE PIÑA GARZA*

A PESAR DE LA GRAN cantidad de trabajos publicados periódicamente, sobre la actividad de las hormonas esteroideas, aun no se ha llegado a precisar, en particular para la hidrocortisona, ni su mecanismo de acción, ni las sustancias que activa o inhibe para modificar el metabolismo general de un organismo multicelular.

Aunque en 1855 Addison describió los resultados clínicos de la insuficiencia suprarrenal, no fue sino hasta 1930 en que Hartman y Brownell¹ y Swingle y Pfiffner² prepararon extractos potentes de corteza suprarrenal cuando realmente se inició el problema del mecanismo de acción de los principios activos que contenían dichos extractos. Desde antes de la cristalización, realizada por Pfiffner, Wintersteiner y Kendall en los Estados Unidos y Reichstein y su grupo en Suiza, se empezaron a conocer las acciones fisiológicas que a nivel del animal íntegro eran observables después de la administración de sus extractos. Posteriormente se facilitó su estudio y la observación de sus actividades fisiológicas al ser posible suministrar separadamente, gracias a la cristalización, cada una de las hormonas.

La hidrocortisona, compuesto F de Kendall, cortisol ó 17 hidroxicorticosterona, es uno de los corticoides naturales aislados y cristalizados de sangre de las venas suprarrenales de varias especies; también se ha obtenido de homogenados perfundidos en todas las especies investigadas. Junto con la corticosterona constituyen la principal porción de secreción de la cápsulas suprarrenales, aunque la relativa proporción de cada una de ellas varía considerablemente en las diferentes especies.

* Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Ciudad Universitaria. México, D. F.

Químicamente la hidrocortisona es la Δ^4 pregneno 11 beta, 21, triol 3,20 diona. Posee desde luego el núcleo básico del ciclopentano perhidrofenantreno, teniendo sustituido un hidrógeno de los carbonos 10 y 13 por radical metilo en idéntica forma que el androstano. La oxigenación en las posiciones 11 y 17 le confieren un marcado efecto sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas.

Para el estudio de las acciones fisiológicas de la hidrocortisona, en un animal íntegro, las podemos agrupar en la siguiente forma:

1. Alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos.
2. Efectos sobre el metabolismo de agua y electrolitos.
3. Efectos hematológicos.
4. Efectos sobre fenómenos inflamatorios y alérgicos.
5. Acción secretoria.
6. Resistencia a estímulos nocivos.

Alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. El cortisol aumenta los niveles de glucosa sanguínea, acentúa la gluconeogénesis hepática a partir de proteína, provocando un mayor catabolismo protéico elevando concomitantemente la cantidad de nitrógeno eliminado por la orina. Tiene una acción aparentemente opuesta a la insulina, pues su administración prolongada llega a provocar cuadros de diabetes; además la adrenalectomía seguida de la pancreatectomía experimental disminuye la severidad de la diabetes. Mas recientemente se han mencionado las modificaciones en el metabolismo de los lípidos, semejantes a las que ocurren en la diabetes mellitus y se ha dicho son una consecuencia de las alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos; las modificaciones señaladas son hiperlipemia con hipercolesterolemia, aumento de depósito de lípidos de los tejidos incluyendo hígado e íntima de vasos sanguíneos; eventualmente se observa cetonemia y cetonuria.

Efecto sobre el metabolismo del agua y electrolitos. Es bien sabido que la aldosterona y la desoxicorticosterona son los mas potentes esteroides naturales que actúan sobre el metabolismo del agua y los electrolitos, sin embargo la hidrocortisona aunque en menor grado (1/50 a 1/100 de

acción en comparación con la 11-desoxicorticosterona³ y 1/500 a 1/1000 en comparación con la aldosterona⁴ posee acciones bien establecidas sobre el agua y los electrolitos; es de interés el estudio de éstas acciones pues en determinadas enfermedades la administración de grandes dosis farmacológicas de hidrocortisona llega a provocar alteraciones más o menos serias. La hidrocortisona administrada en grandes dosis produce retención de sodio y de agua, edema, aumento del tamaño del corazón, hipertensión arterial, disminución de reabsorción de potasio a nivel de tubulo y por lo tanto hipopotasemia, hipocloremia; en plasma y líquido extracelular reemplazamiento del cloro por bicarbonato resultando una alcalosis metabólica. También se observa hipercalcemia

Efectos hematológicos. Dentro de los efectos más notables y más propios de la hidrocortisona se encuentran los cambios que provoca en el tejido linfático y en los elementos figurados de la sangre. La hidrocortisona produce una disminución del tejido linfático (timo, bazo, nódulos linfáticos, etc.) y una rápida disminución en el número de linfocitos circulantes. Se desconoce la base de esta acción linfocitolítica. Igualmente produce una disminución en el número de eosinófilos circulantes. En contraste la hidrocortisona estimula la médula ósea ocasionando un aumento de neutrófilos y una clara acción eritropoyética. De acuerdo con esto está el hallazgo clínico de anemia en la insuficiencia suprarrenal.

Efectos sobre fenómenos inflamatorios y alérgicos. Dentro de éstos se encuentran toda una serie de observaciones en el sentido de que la hidrocortisona y también la cortisona son sustancias marcadamente anti-inflamatorias, indistintamente del agente, químico, físico o bacteriano que provoque la inflamación. Esta ha sido una de las propiedades más conocidas más usadas y más abusadas del esteroide que estudiamos. La acción puede ser demostrada por la administración local o general del cortisol y se observa una disminución del aflujo de polimorfonucleares de la sangre al área de inflamación, hay inhibición localizada de destrucción de fibroblastos y se altera la permeabilidad capilar disminuyendo la exudación extravascular y la formación de edema.

También hay bastante información sobre la acción del cortisol en disminuir las manifestaciones de hipersensibilidad, teniendo un efecto protector sobre la reacción antígeno anticuerpo, inclusive llegando a suprimir algunas reacciones.

Por último la hidrocortisona eleva el título de anticuerpos debido a la destrucción de linfocitos.

Acción secretoria. En general el cortisol aumenta la actividad secretoria de las glándulas del tracto gastrointestinal. Después de la administración del esteroide hay aumentos de ácido clorhídrico, pepsinógeno y tripsinógeno.

Resistencia a estímulos nocivos. Aunque son de las acciones menos explicadas es un hecho bien conocido la influencia de los corticosteroides, en particular la hidrocortisona por ser de los más abundantemente producidos, sobre la homeostasis y la resistencia a estímulos nocivos.

Toda esta amplísima gama de efectos, imputables a la hidrocortisona, necesariamente poseen una base molecular que los explique. Todas las acciones deben ser el resultado de modificaciones en la actividad de una o un grupo de enzimas ya obedezca dicha modificación a la acción directa de la hormona sobre la enzima, a alteraciones en los cofactores de los sistemas enzimáticos, actuando la misma hormona como coenzima; a modificaciones en la permeabilidad celular o de los componentes celulares, per se; o favoreciendo la entrada o salida de metabolitos que modifiquen la actividad celular; modificando la concentración de electrolitos creando condiciones especiales de eficiencia enzimática, etc.

En el presente trabajo se trata de ahondar un poco más en las acciones de la hidrocortisona sobre el metabolismo de los carbohidratos y proteínas. Sólo se escogió este pequeño campo debido a la complejidad del conjunto y se prefirió éste debido a su gran importancia fisiológica, ya que es el tipo de acción que normalmente está realizando la hidrocortisona dentro de un organismo, no sometido a agentes extraños. Por otra parte es de los temas más ampliamente estudiados, nos ayuda a conocer el metabolismo normal e integral de un organismo en condiciones basales y es probable que el conocimiento adecuado y completo de la acción del cortisol sobre el metabolismo intermediario nos explique más adecuadamente y mejor todas las demás acciones de la hormona.

Uno de los problemas más serios al intentar el estudio de los corticoides a nivel bioquímico es decidir cual es la "acción primaria o el efecto directo" de una hormona y cuales son secundarios o dependientes del primero⁵. La hidrocortisona, tal vez, sea el ejemplo más típico.

Esta dificultad no ha podido ser resuelta con los estudios *in vitro*, pues las dosis empleadas para obtener resultados significativos son bastante altas en comparación con los valores fisiológicos, inclusive en la conferencia sobre Regulación Hormonal del Metabolismo Energético, celebrada en 1957 con la asistencia de grandes especialistas en la materia, no se tomaron en cuenta los efectos de los esteroides a las dosis de 1×10^{-3} M. por considerarse no específicos⁶. Ahí mismo Astwood⁷ insistió que los efectos obtenidos por sobredosis podían no ser las acciones normales de las hormonas. Houssay⁸ se inclina a que la acción de la hidrocortisona y de los esteroides en general es fundamentalmente permisiva a condiciones y únicamente se nota con el animal íntegro y normal. Otra objeción que puede hacerse a los estudios *in vitro* es el punto de vista indicado por Lardy⁹, entre otros, tratando de explicar la multiplicidad de efectos diciendo que son los metabolitos varios que se obtienen después de la administración de un esteroide, los que aisladamente irían a realizar cada uno, por separado, acciones específicas. Taylor¹⁰ por ejemplo ha investigado los productos del metabolismo de la desoxicorticosterona.

En vista de esas objeciones quizá sea preferible el estudio de la acción de los esteroides con el animal íntegro cuantificando las modificaciones metabólicas después de la administración de la hormona. Son múltiples los trabajos que nos han llevado a crear todo un cúmulo de conocimientos sobre las alteraciones producidas por los glucocorticoides, pero aun persiste la duda sobre el sitio primario de acción.

A la administración de la hidrocortisona sigue los ya mencionados efectos sobre el metabolismo intermediario. El notable aumento del glucógeno hepático aparentemente sería el resultado del catabolismo protéico sin embargo cuantitativamente ese catabolismo no es suficiente para explicar la elevación del glucógeno ni la eliminación de glucosa por la orina, siendo mayor la cantidad de carbohidratos neoformada que la de proteína degradada¹¹. Sin embargo Kochakian¹² y Silver y Porter¹³ se inclinan hacia la acción primitiva de la hidrocortisona sobre la degradación de las proteínas no estructurales de músculo, piel y esqueleto, no habiendo modificación en las estructurales del tipo de la colágena y elastina, además esta acción tendría cierta especificidad pues aumentaría el contenido de proteína dentro del hígado y algunos otros órganos. Opuesta a este punto de vista de una acción catabólica, tenemos la teoría antianabólica que sugiere como efecto primario la no utilización de carbohidratos por las células periféricas, ocasionando la hiperglucemia y provocando,

dentro de las células una disminución de la energía disponible indispensable para la síntesis de proteínas, quedando bloqueada dicha síntesis por este efecto antianabólico: Ingel¹⁴, Engel¹⁵. Por su parte Stetten¹⁶ menciona el hecho de una sobreproducción de azúcar seis a siete veces mayor y debida a la gluconeogénesis.

Por las íntimas interrelaciones se dificulta la interpretación correcta de los resultados obtenidos, por lo tanto se pensó en orientar en determinado sentido el metabolismo intermediario por medio de la dieta y de algunos antimetabolitos, para observar que modificaciones ocurrieran a las acciones clásicas de la hidrocortisona, intentando avanzar un poco sobre el conocimiento del mecanismo de acción.

Los datos existentes en la literatura y orientados en el mismo sentido son los siguientes: Einstein¹⁷, ¹⁸ ha reportado que en ratas deficientes en piridoxina el cortisol no provoca aumento de actividad de transaminasa glutámico pirúvica ni gluconeogénesis. Meites y Feng¹⁹, ²⁰ bloquean parte de la acción catabólica de la hidrocortisona administrando vitamina B₁₂, encuentran la misma cantidad de nitrógeno eliminado por la orina en ratas con hidrocortisona inyectadas o no con vitamina B₁₂ pero el mayor consumo de alimento en los últimos animales prevenía la pérdida de peso que ocasiona el esteroide. Sin embargo, una revisión en 1957²¹ dice que no se logró contrarrestar la pérdida de peso debido en este caso a la cortisona, por dietas hiperprotéicas, depleción de potasio, vitaminas del complejo B, B₁₂, C y aumento del valor calórico de la dieta. Davis²² somete ratas adrenalectomizadas a diferentes dietas protéicas midiendo glucógeno hepático y sobrevivencia después de la administración de cortisona; encuentra mayor sobrevivencia con caseína al 20% que con gluten gelatina o lactoalbúmina, pero éstas últimas aumentaban el depósito de glucógeno en el hígado (excepto la gelatina); no había diferencia con proteína al 40%. Recientemente Bloch y Cox²³ alimentaron ratones normales y adrenalectomizados con dos dietas distintas; una de glucosa pura y otra exclusivamente de caseína; concluyen que la dieta pura en proteína solo causa ligero aumento en la glucosa y el glucógeno en comparación con la dieta de glucosa y dicen que la posesión de las suprarrenales no influencia la capacidad del ratón para elevar la glucosa o el glucógeno independientemente de la dieta. Goodlad y Munro²⁴ mantuvieron ratas con niveles calóricos y de proteína en la dieta perfectamente controlados y con administración de cortisona durante 4 días; observaron que el efecto catabólico general era independiente del contenido protéico o energético

de la dieta, mientras la acción anabólica sobre hígado era mayor al aumentar el contenido energético de la dieta. Aschkenasy y Wellers²⁵, ²⁶ encuentran aumento en el contenido de glutatión hepático en ratas con hidrocortisona y dieta sin proteínas. Por otra parte ratas adrenalectomizadas mueren mucho más rápidamente que controles no adrenalectomizados con dietas carentes de aminoácidos esenciales, particularmente isoleucina²⁷.

Nosotros preferimos usar crónicamente ratas inmaduras, ya que varía la capacidad de degradar esteroide con el sexo²⁸, mantenidas crónicamente con una dieta baja en proteínas. Usamos dos antimetabolitos; el ácido piridín sulfónico antagonista de la nicotinamida y ácido isonicotínico antagonista poco específico de la nicotinamida y de la piridoxina. Se escogieron ambos, pues se intentaba disminuir la cantidad de difosforidín nucleótico (DPN) en cuya composición entra la nicotinamida, en el hígado tratando de bloquear la acción que se le ha señalado a la hidrocortisona inhibiendo, las enzimas DPN dependientes²⁹.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron 90 ratas blancas, prepuberales y agrupadas por su peso en la siguiente forma:

20 ratas de 20 a 30 gramos de peso
 45 ratas de 40 a 50 " " "
 25 ratas de 60 a 70 " " "

Las 45 ratas con peso entre 40 y 50 g. (lote I) se dividieron en tres grupos de 15 ratas cada uno y se les administró durante 5 semanas una dieta sintética. Las 45 ratas restantes distribuyéndolas de acuerdo con su peso también quedaron repartidas en tres grupos (lote II), recibiendo durante tres semanas la dieta sintética.

	Dieta 18% de caseína	Dieta 9% de caseína	Dieta 18% de caseína ac. iso- nicotínico	Dieta 9% de ca- seína con ac. piri- dín sulfónico.
Lote	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Lote I	15 ratas	— — —	15 ratas	15 ratas
Lote II	15 " "	15 ratas	— — —	15 " "

Para la dieta se siguieron los lineamientos generales del Manual de Bioquímica del Grupo Piloto del año 1957³⁰ y consistió en lo siguiente:

Dieta con caseína al 18%:	
Sacarosa	73 %
Caseína	18 %
Mezcla de sales ³¹	4 %
Aceite de maíz	4 %
Aceite de hígado de bacalao	1 %

Complementos Vitamínicos:	Piridoxina .HCL	4 mg. K de dieta
	Tiamina .HCL	4 mg. " " "
	Riboflavina	8 mg. " " "
	Pantotenato de calcio	25 mg. " " "
	Niacina	40 mg. " " "
	Cloruro de colina	1 gr. " " "

Cuando la dieta poseía además ácido isonicotínico (grupo 3) se sustituyó la niacina de los complementos vitamínicos por la misma cantidad del ácido isonicotínico; el resto de constituyentes permaneció igual.

En los grupos en que la dieta tenía caseína al 9%, la reducción en la fracción protéica se compensó aumentando hasta 82% el contenido de sacarosa para mantener un total de 100%; también en este caso cuando se añadió a la dieta el ácido piridín 3 sulfónico (grupo 4) se hizo suprimiendo los 40 mg. de niacina y sustituyéndolos por 40 mg. del mencionado ácido.

La mezcla salina usada fue la Hawk-Oser³¹

Citrato de Ca.4H ₂ O		308.35
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O		112.76
K ₂ HPO ₄		218.72
KCL		124.76
CaCO ₃		77.08
3MgCO ₃ .Mg(OH) ₂ .3H ₂ O		35.17
MgSO ₄		38.34
Citrato Ferroso	94.81	
NaF	3 1 ²	
MnSO ₄ .2H ₂ O	1.24	16.16
KAl(SO ₄) ₃ .12H ₂ O	0.57	
KI	0.25	
	<hr/>	<hr/>
	100.00	1000.00

Las ratas se mantuvieron durante el tiempo indicado con agua y comida ad libitum. 24 horas antes de su muerte se les inyectó, a la mitad de cada grupo, por vía intraperitoneal, hidrocortisona suspendida en solución salina a la dosis de 10mg/100 g. de peso. La otra mitad recibieron un volumen equivalente de solución salina, por la misma vía. En ambos casos se les quitaba la comida hasta el momento de sacrificarlas.

Las ratas se mataron por decapitación, se recogió la sangre para determinar la glucosa, y rápidamente se extrajo el hígado en el que se hicieron las siguientes determinaciones:

Peso seco, proteína total, ácido desoxirribonucleínico (DNA), glucógeno, difosfopiridín nucleótido (DPN), transaminasa, arginasa y deshidrogenasa del ácido glutámico.

Peso seco. En pequeños tubos de ensaye, previamente tarados y mantenidos a peso constante, se colocó un fragmento de hígado que se pesó cuidadosamente; se transfirieron los tubos a un horno a 100°C durante 3 horas y se pasaron a un desecador hasta que estuvieron a la temperatura ambiente. Se volvieron a pesar y la diferencia encontrada se consideró agua, denominándose a la fracción restante peso seco.

Proteína total. Se usó el método de Lowry³² que se basa en la formación de un complejo de color azul al poner la reaccionar en medio alcalino el reactivo de Folin Ciocalteau³³ con el grupo fenólico de la tirosina. De un homogenado de hígado 1:400 se tomaba una alícuota de 0.1 ml. 0.9 ml. de agua y 5 ml. de reactivo C. (50 ml. Na₂CO₃ en NaOH 0.1 N, mas 0.5 ml. de tartrato de sodio y potasio al 1%, más 0.5 ml. CuSO₄ al 0.5%) se dejaba reposar 10 min. al cabo de los cuales se adicionaba 0.5 ml. de reactivo de Folin Ciocalteau; a los 30 min. se leía en un colorímetro Coleman Jr. a 700 milimicras. La lectura era llevada a una curva hecha con cantidades conocidas de albúmina y los resultados expresados como microgramos de proteína por 100 mg. de hígado. El método no es muy específico, ni da valores absolutos precisos, pero desde un punto de vista comparativo es aceptable.

Acido desoxirribonucleínico (DNA). Se utilizó la técnica de Schmidt y Tannhauser³⁴. Se toma 1 ml. de un homogenado 1:10 de hígado y se precipitan proteínas y extraen compuestos fosforados libres con ácido tricloracético frío al 10% por tres veces consecutivas. Al último centrifugado, se le extraen lípidos con lavados sucesivos con acetona, etanol, etanol-cloroformo 3:1, etanol-éter 3:1, etanol-éter 3:1 hirviente, y éter. El cen-

trifugado es tratado después con NaOH N a 37°C. durante 20 horas para hidrolizar el ácido ribonucleínico (RNA) a nucleótidos quedando el DNA en solución. El residuo que queda sin digerir se lava dos veces con NaOH y se guardan los sobrenadantes. Estos son neutralizados con HCl 5N y tratados con medio volumen de ácido tricloracético al 30%, precipitándose así el DNA. Se determina el DNA en función de la desoxipentosa por el método de la difenilamina de Dische³⁵ comparando las lecturas con las obtenidas con una curva hecha con cantidades conocidas de DNA. Los resultados se expresan como microgramos por 100 mg. de tejido.

Glucógeno. Se siguió el método de Good³⁶. Menos de 1 g. de hígado después de pesado se colocaba en 5 ml. de KOH al 30% y calentada en un baño hirviendo hasta su completa disolución en unos 30 min., aún caliente se añadían 6 ml. de etanol al 95% para la precipitación del glucógeno. Se dejaba reposar toda la noche y se centrifugaba 20 min. a 3000 rpm.; el sobrenadante se tiraba y el glucógeno precipitado se hidrolizaba 2 horas a 100° C. con HCl N., se neutralizaba el ácido y se llevaba a un volumen adecuado para tomar una alícuota de 1 ml y determinar glucosa por el método de Nelson 'Somogyi³⁷. La alícuota problema se colocaba en un baño maría hirviendo durante 20 minutos junto con 1 ml de reactivo de cobre en medio alcalino, el ión cúprico es oxidado por la glucosa y se transforma en ión cuproso de color rojo que precipita. Se añade 1 ml. de arsenomolibdato que forma un complejo azul al unirse al ión cuproso proporcional a la cantidad de ión oxidado que es a su vez proporcional a la cantidad de azúcar reductor presente. El resultado obtenido como glucosa se multiplica por el factor 0.927 para dar los resultados en gramos de glucógeno por 100 gr. de hígado.

Difosfopiridín nucleótico (DPN). Se adaptó el método de Colowick³⁸ a nuestras necesidades. Un fragmento de hígado era homogenado con ácido perclórico frío al 4% para extraer nucleótidos libres solubles en ácido. Se eliminaban las proteínas por centrifugación y el sobrenadante era neutralizado con KOH al 10%, el perclorato formado también se eliminaba por centrifugación aforándose el sobrenadante a un volumen de 5 ml. del cual se tomaba una alícuota de 1 ml. que era mezclada con 2 ml. de cianuro de potasio 1.5 formándose un complejo cianurado proporcional a la cantidad de DPN presente. Simultáneamente se hace una curva patrón con cantidades conocidas de DPN y curva y problemas son leídos en el espectrofotómetro Beckman DU. a 340 milimicras. Los resultados se dan en gamas de DPN por 100 mg. de hígado.

Transaminasa. Se determinó la transaminasa glutámico pirúvica de acuerdo con la técnica de Reitman y Frankel³⁹. Se incubaban 0.5 ml. de un homogenado de hígado 1:400 hecho con buffer de fosfatos 0.1 M pH 7.4, junto con 1 ml. de una mezcla de ácido alfa cetoglutámico 2 mM más dl-alfa-alanina 200 mM, durante 30 min. a 37°C. La reacción se paraba por la adición de 1 ml. de 2,4—dinitrofenolhidraxina 1 mM dejándose reposar por 20 min., se añadían 10 ml. de NaOH 0.4 N mezclando por inversión y leyendo a los 5 min. a 505 milimicras en el espectrofotómetro Coleman Jr. Los resultados se dan en Unidades de Transaminasa por mg. de peso seco.

Arginasa. Se siguió el método descrito por Greenberg⁴⁰. Se activaba 1 ml. de un homogenado 1:100 a 37°C. por 3 horas en presencia de manganeso (MnSO_4 0.05 M y ácido maléico 0.05 M a pH 7); a las tres horas se llevaba el mililitro a 50 ml. ml. con agua destilada y una alícuota de 1 ml más 0.5 ml. de arginina 0.85 M pH 9.5 eran incubados 10 minutos a 25°C. Se detenía la reacción con 2 ml. de ácido acético 87% y se determinaba la urea formada agregando al tubo 0.2 ml. de reactivo de xantidrol al 5% en metanol, se guardaban en el refrigerador por toda la noche. El precipitado de dixantilurea formado se lavaba con metanol saturado con dixantilurea y dos veces más con metanol-agua 3:1 saturado con dixantilurea. Se desarrollaba color con 10 ml. de ácido sulfúrico al 50% añadido al precipitado, leyéndose en el Colorímetro Coleman Jr., a 450 milimicras. Los resultados se dan en unidades de arginasa⁴⁰.

Deshidrogenasa glutámica. El método empleado fue una modificación del de Copenhaver⁴¹. En el cual se mide la cantidad de O_2 consumida en la deshidrogenación del grupo amínico del ácido glutámico, que se transforma en alfa ceto glutámico.

Se colocan en el comportamiento central del vaso de Warburg enfriado en hielo, los siguientes reactivos: Buffer de fosfato de potasio 0.6 ml., Difosfopiridín nucleótido al 0.8%, 0.5 ml., Citocromo c 4×10^{-4} M, 0.2 ml. y glutamato de potasio 0.5 M pH 7.2, 0.5 ml., En la copa central se ponen 0.2 ml. de KOH al 30%. El homogenado de hígado a estudiar se hace en frío, en proporción de 1:10 también en buffer de fosfatos 0.1 M pH 7.2. Se agrega un ml. del homogenado a la mezcla de reactivos, se conecta el vaso con el manómetro; se equilibra a 37°C. durante cinco minutos y se toma la lectura cero. Las lecturas siguientes se hacen cada 10, durante treinta minutos. La actividad de deshidrogenasa se expresa

como microlitos de oxígeno consumidos en treinta minutos por 100 mg. de tejido húmedo.

Glucosa. Se siguió el micrométodo de Nelson Somogyi³⁷. La sangre obtenida por decapitación se recibía en un vaso con oxalato para impedir la coagulación e inmediatamente se precipitaban las proteínas de acuerdo con la técnica de Nelson Somogyi⁴²: en un tubo de ensayo que contenía 1.5 ml. de agua y 0.95 ml. de $ZnSO_4$ al 5% se añadía 0.1 ml. de sangre y 0.95 ml. $Ba(OH)_2$, se agitaba y centrifugaba eliminando así las proteínas y tomando 1 ml. de sobrenadante para la determinación de glucosa en idéntica forma que en el caso del glucógeno. Se dan los resultados en mg. de glucosa por 100 ml. de sangre.

Para los análisis estadísticos se siguieron los lineamientos generales del libro de Croxton⁴³.

RESULTADOS

Los datos de la curva ponderal, a pesar de la dispersión obtenida por los distintos pesos de las ratas, nos muestran una marcada y siempre constante disminución en los grupos de ratas que recibieron una dieta con sólo 9% de contenido protéico (Lote I, grupo 4 y Lote II grupos 2 y 4). Porcentualmente tomado como 100% el peso de las ratas con 18% de caseína y sin antimetabolitos se nota una reducción en el peso que varía de 28 al 47% siendo más notable la disminución en el peso mientras más pequeñas eran las ratas. La adición de antimetabolitos a la dieta muestra un efecto de disminución aunque más moderado en el peso de las ratas que representa aproximadamente un 5% menos en relación con el grupo que poseía la misma composición porcentual de caseína. Ver fig. 1.

Peso seco. Los datos obtenidos (ver tabla 1), muestran una tendencia a la constancia; las variaciones observadas son mínimas, y en caso de existir no tienen ninguna significación estadística.

PROTEINA

(microgramos por cada 100 mg. de tejido)

Grupo	1		3		4	
	18% Caseína		9% Caseína		9% Caseína	
	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.
Lote I	326.5 ± 28	315 ± 51	327 ± 64	341 ± 40	347 ± 25	345 ± 57
	(7)	(7)	(7)	(7)	(7)	(7)

TABLA 1

PESO SECO (POR CIENTO DEL TEJIDO HÚMEDO)

Grupo	1		2		3		4	
	18% Caseína		9% Caseína		18% Caseína + Ac. Isonicotí- nico.		9% Caseína + Ac. Píridinsulfónico	
Lote	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.S.	S.S.	H.C.
	29.8*	29.6			29.4	29.4	32.1	30.2
	(7)	(7)			(7)	(7)	(5)	(7)
II	31.8	31.4	31.8	30.6			30.4	29.2
	(7)	(7)	(7)				(7)	(7)
I y II	30.8	30.5					31.2	29.7
	(14)	(14)					(12)	(14)

* (Cifra promedio. Entre paréntesis está el número de casos estudiados).

Proteína total: Lo mismo dicho del peso seco puede aplicarse a los resultados de proteína total, en este caso, la dispersión de los datos es todavía mayor. Los resultados aparecen en la tabla 2.

Acido desoxirribonucleínico. Los análisis revelaron una disminución del contenido de ácido desoxirribonucleínico en los animales tratados con hidrocortisona, tanto en los alimentados con 18% de caseína como en los alimentados con 9% que recibían ácido piridín sulfónico; el dato no aparece en el otro grupo. También en este caso es difícil encontrar significación estadística por la variabilidad de los datos. Ver tabla.

ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

(microgramos por cada 100 mg. de tejido húmedo)

Grupo	1		2		4	
	18% Caseína		9% Caseína		9% Caseína	
	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.
Lote II	235±114	124±32	151±22	155±73	191±34	163±82
	(7)	(7)	(7)	(7)	(7)	(7)

Glucógeno hepático. Los resultados se pueden apreciar en la figura 2, en la cual se comprueba el aumento constante y notable de la cantidad de glucógeno depositado en los animales tratados con hidrocortisona. Por otra parte, se puede ver que la respuesta en el sentido de aumento del

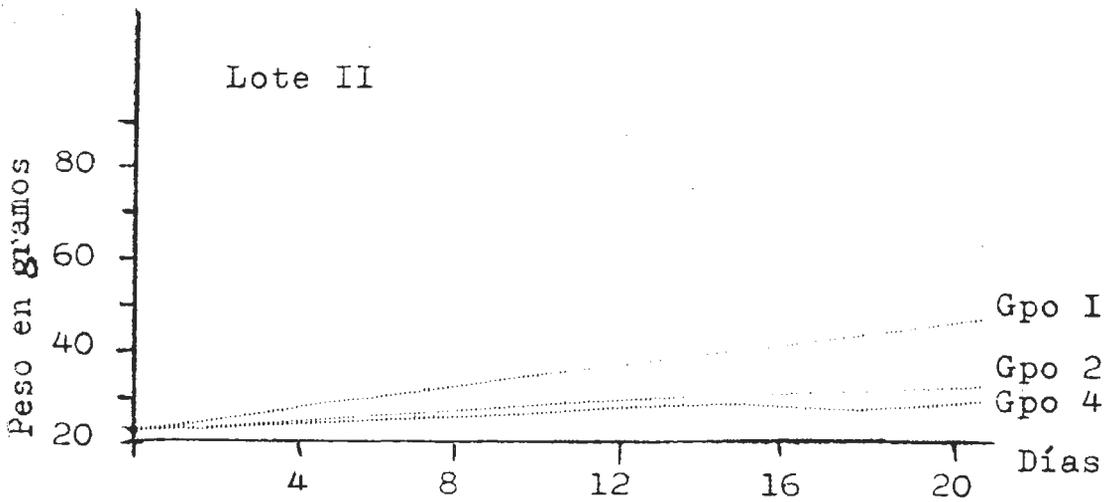
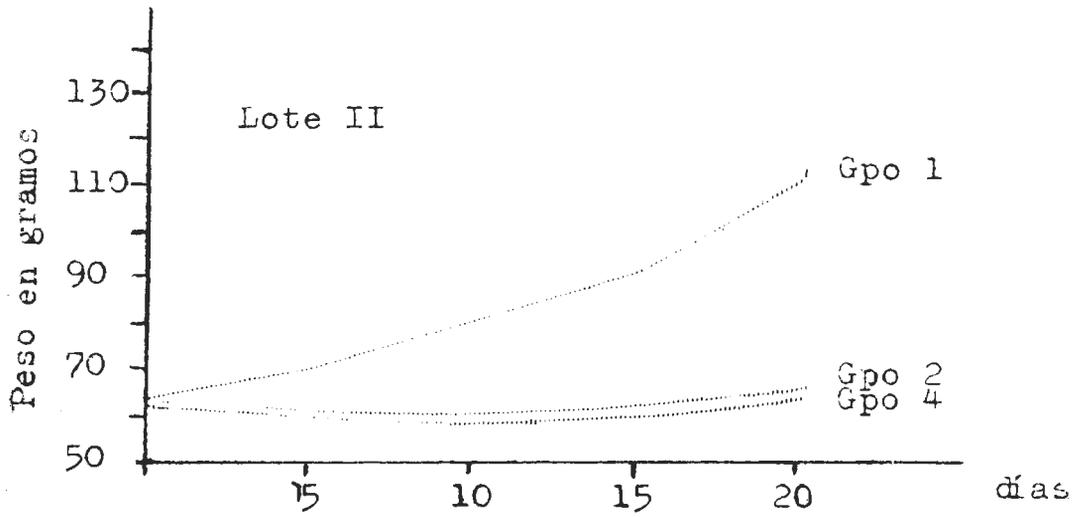
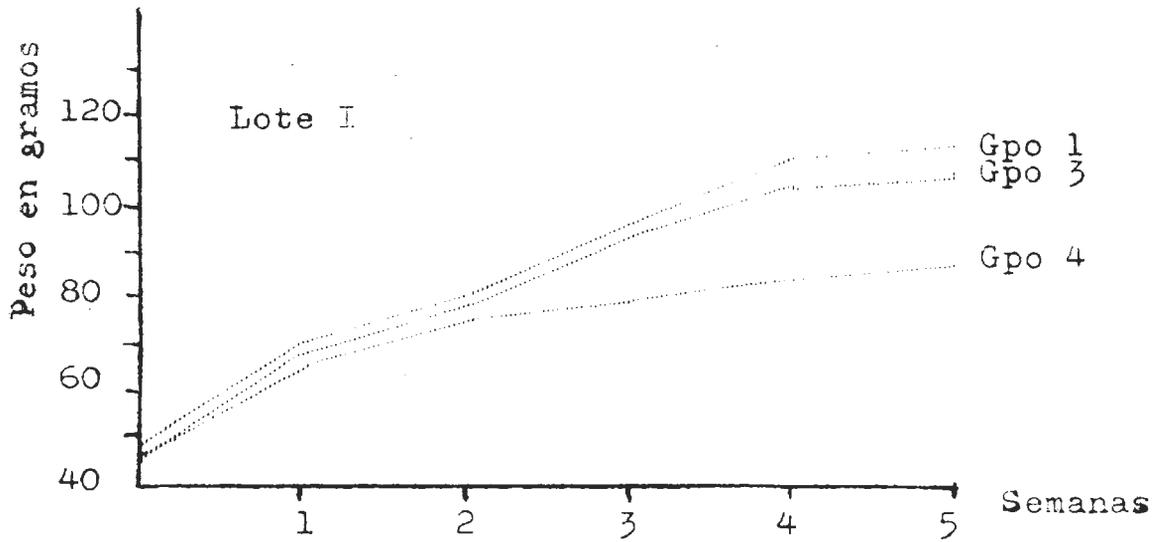


Fig. 1.- Curva ponderal de los animales empleados en los experimentos.

glucógeno hepático es mayor en los animales con una dieta de 18% de proteína que en aquellos con 9%; los resultados obtenidos son altamente significativos (P menor de 0.001); con los grupos con dieta al 9% de caseína entre sí, no existe diferencia significativa, como se ve en la tabla anexa.

GLUCOGENO

(gramos por ciento)

Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
18% Caseína		9% Caseína		Isonicotínico 18% Caseína		Piridín S. 9% Caseína	
S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.
.0074 ±	3.50 ±	.004 ±	.45 ±	.0091 ±	1.69 ±	.0195 ±	.6298 ±
.0054	1.2	.006	.1	.005	.64	.015	.367
(10)	(8)	(4)	(4)	(6)	(7)	(9)	(7)

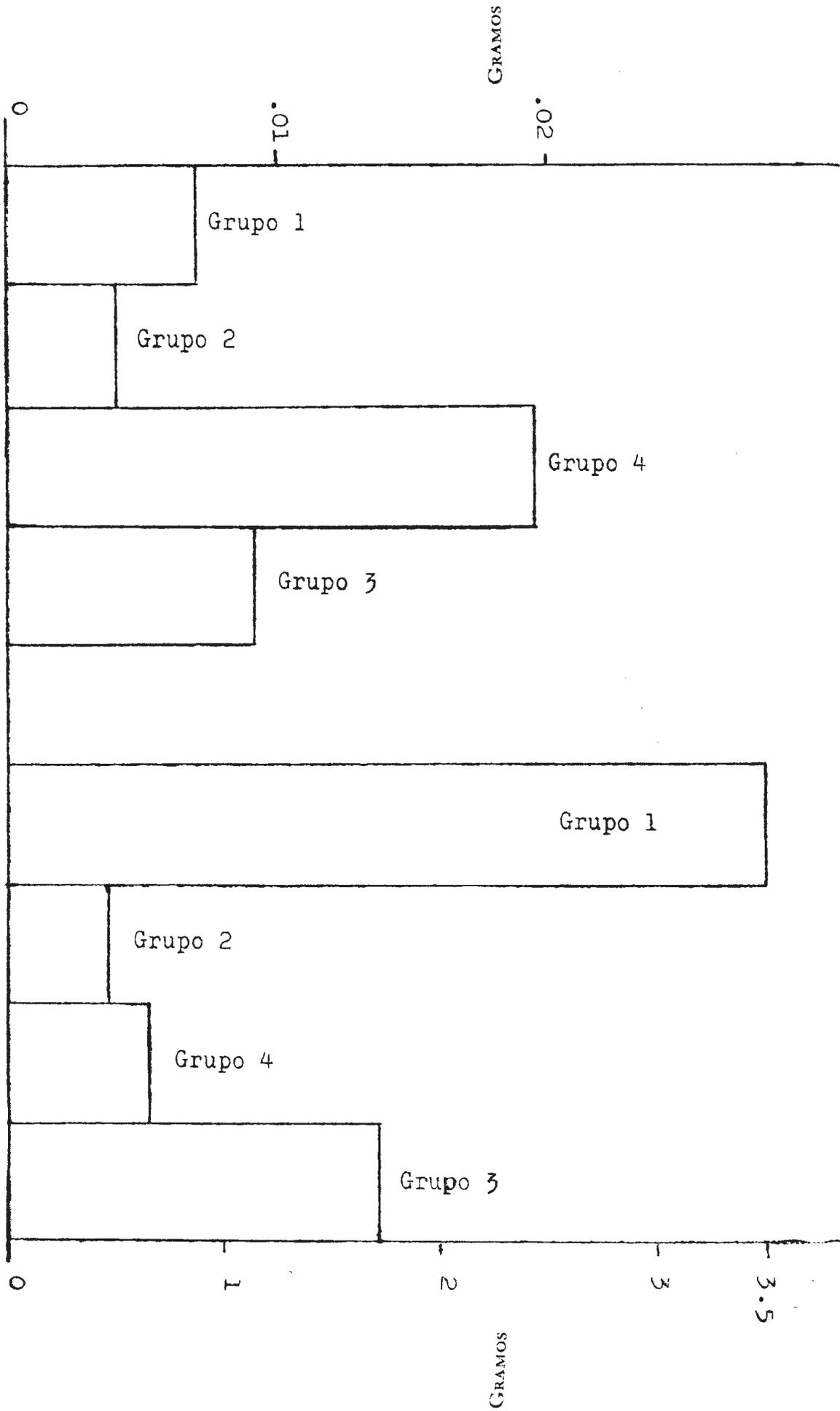
Glucosa. Los valores de glucosa sanguínea están dados en la tabla siguiente. Se observa un aumento debido a la administración de hidrocortisona; incidentalmente, es de observarse la tendencia por parte de los animales alimentados con la dieta pobre en proteína, a presentar menor hiperglucemia que los alimentados con una dieta con un 18% de caseína.

GLUCOSA

(miligramos por 100 ml. de sangre)

Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
18% Caseína		9% Caseína		Isonicotínico 18% Caseína		Piridín S. 9% Caseína	
S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.
39.7 ±	68.9 ±	33.7 ±	49.1 ±	39.3 ±	59.5 ±	40.9 ±	62.4 ±
6.8	4.0	8.4	4.3	2.8	9.4	7.0	12.4
(11)	(8)	(4)	(4)	(7)	(7)	(10)	(7)

Difosfopiridín nucleótido. Los resultados de la cantidad de DPN, no mostraron ninguna variación en ninguno de los casos, los datos se dan en la tabla siguiente.



HIDROCORTISONA

Fig. 2. Glucógeno hepático por 100 gr. de tejido seco

TESTIGOS

DIFOSFOPIRIDIN NUCLEICO

(microgramos por 100 mg. de tejido)

Grupo 1		Grupo 3		Grupo 4	
18% Caseína		Isonicotínico 18 Caseína		Piridín S. 9% Caseína	
S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.
74±11	78±36	66±18	69±19	63±17	73±23

Transaminasa glutámico-pirúvica hepática. (Ver fig. 5) En todos los casos estudiados, se observó un aumento en la actividad de esta enzima con la administración de hidrocortisona. Los valores obtenidos con el método que se utilizó, muestran gran dispersión, de manera que no es posible tratar de establecer comparación entre la respuesta a la administración del esteroide obtenida en los diferentes grupos. Una unidad de la enzima es igual a 0.234 Unidades ópticas.

TRANSAMINASA

(unidades por mg.de tejido seco por hora)

Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
18% Caseína		9% Caseína		Isonicotínico 18% Caseína		Piridín S. 9% Caseína	
S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.
7.6±2.5	10.8±1.6	7.3±4.0	10.6±3.4	8.1±2.8	13.7±4.2	6.0±2.8	11.4±2.3
(14)	(14)	(7)	(7)	(7)	(7)	(13)	(14)

Arginasa. Con los resultados obtenidos de la determinación de la actividad de esta enzima, es posible observar una tendencia solamente a aumentar en los grupos con dieta al 9% de caseína.

ARGINASA

(unidades por 200 microgramos de tejido)

Grupo 1		Grupo 2		Grupo 4	
Caseína 18%		Caseína 9%		Piridín S. Caseína 9%	
S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.
129±.016	127±.013	.142±.019	.151±.008	.141±.014	.152±.004
(7)	(7)	(7)	(7)	(6)	(7)

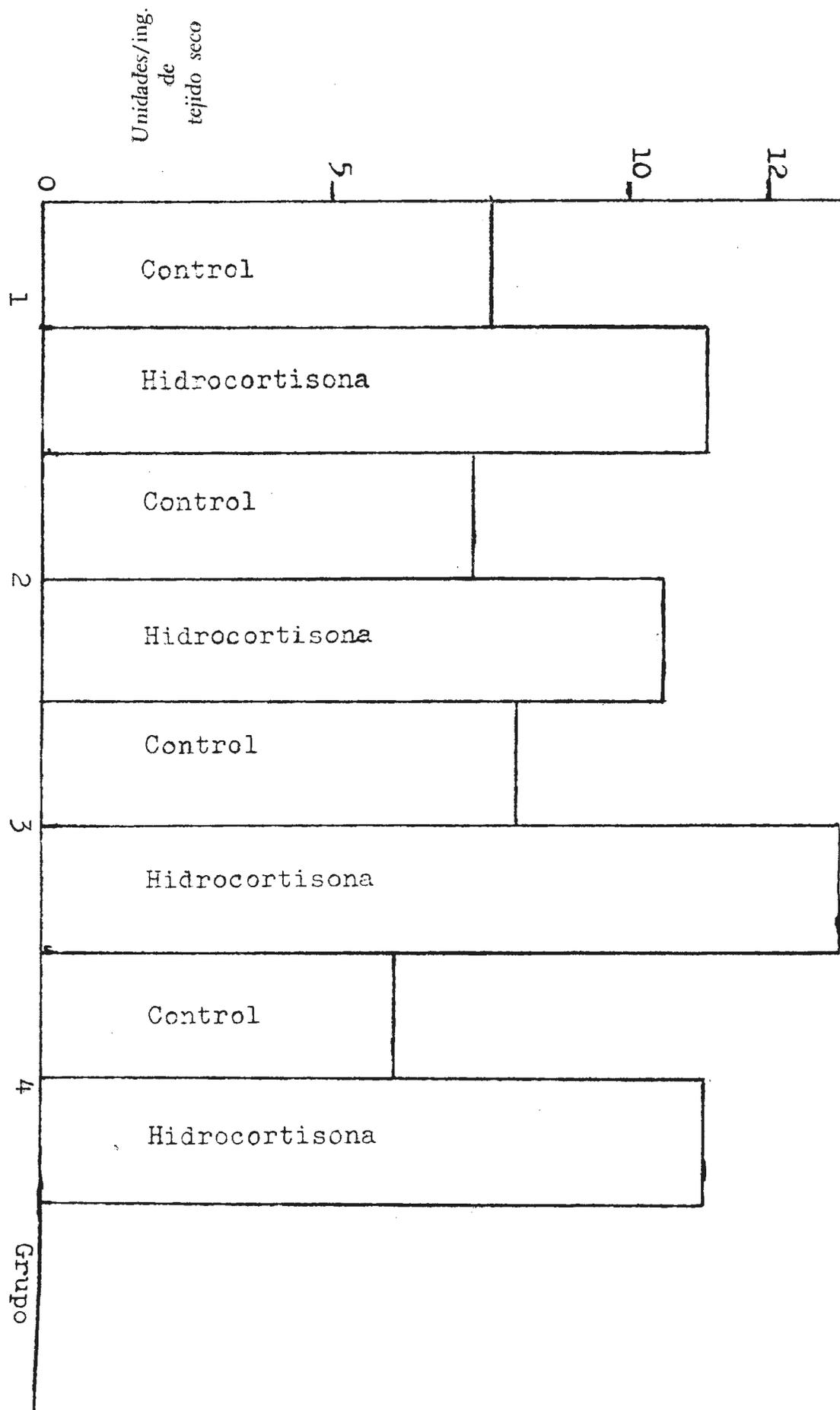


Fig. 3. Actividad de transaminasa hepática.

Microlitros de O₂ consumidos por 100 mgr. de tejido húmedo en 30 minutos.

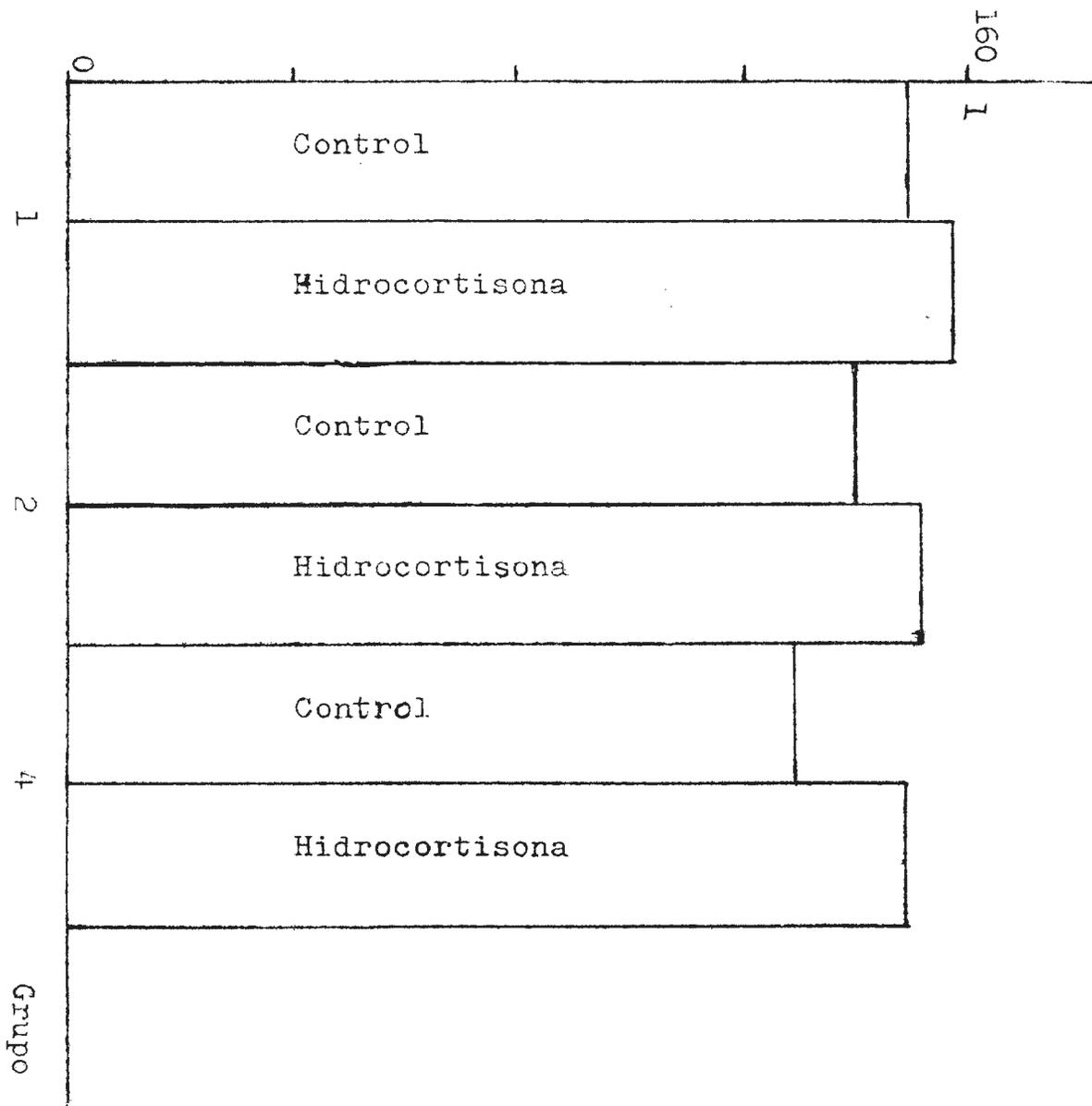


Fig. 4. Actividad de deshidrogenasa glutámica.

Una unidad de arginasa se define como la cantidad de enzima capaz de producir una micromola de urea en un minuto bajo las condiciones del experimento.

Deshidrogenasa del ácido glutámico. Los datos de actividad de esta enzima muestran en todos los casos la tendencia al aumento mediante la administración de hidrocortisona, en el último grupo, o sea el alimentado con dieta con 9% de caseína y ácido piridín sulfónico, el valor del aumento obtenido, es estadísticamente significativo. (P menor de 0.01). Sin embargo, este aumento se observa más claramente que en el resto de los grupos porque el valor del grupo testigo correspondiente es más bajo en éstos animales. Los valores se dan en la tabla siguiente y en la figura 4.

DESHIDROGENASA GLUTAMICA

(microlitros de oxígeno consumidos por 100 mg. de tejido por treinta minutos)

Grupo 1		Grupo 2		Grupo 4	
Caseína 18%		Caseína 9%		Piridín S. Caseína 9%	
S.S.	H.C.	S.S.	H.C.	S.S.	H.C.
149 ± 17	156 ± 17	142 ± 14	153 ± 19	128 ± 20	146 ± 5
(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

DISCUSIÓN

Para dar una interpretación más adecuada a los resultados obtenidos intentaremos hacer un cuadro esquemático de las acciones conocidas de la hidrocortisona.

En primer lugar es conveniente señalar que la cortisona es un esteroide no natural y que se ha aislado de la sangre de los animales estudiados; sin embargo es un producto de transformación intercambiable funcionalmente con el cortisol y la mayoría de autores están de acuerdo con extrapolar los resultados obtenidos con este esteroide los cuales se consideran superponibles a los de la hidrocortisona y valederos desde un punto de vista estrictamente fisiológico.

Para este fin es conveniente aceptar la teoría de Kochakian¹² y Silver y Porter¹³ de que la acción primitiva de la hidrocortisona se ejerce sobre la degradación de proteínas no estructurales en el músculo, la piel

y el hueso. En apoyo de esto se tienen los trabajos de Rose y cols.⁴⁴ que obtuvieron in vivo aumento de actividad de diaminopeptidasas, enzimas encargadas del rompimiento de péptidos en aminoácidos, en músculo después de la administración de cortisona, aunque no pudieron repetir la observación in vitro. Samuels⁴⁷ al encontrar, una mortalidad mucho más rápida en animales adrenalectomizados y con carencia de un aminoácido esencial, interpreta sus resultados diciendo que en el animal adrenalectomizado no hay hormona que movilice las proteínas periféricas y por lo tanto el aminoácido no puede ser llevado a los sitios metabólicos donde se necesita sobreviviendo rápidamente la muerte; la administración de hidrocortisona moviliza las proteínas de depósito y prolonga la vida. Totalmente de acuerdo están los datos de Dubreuil y Timiras⁴⁵ que publicaron un aumento de la mayoría de los aminoácidos en músculo después de la inyección de cortisona: el aumento, temporalmente, ocurre primero en músculo y posteriormente en sangre. Independientemente de que sea cierta o no la acción primaria de la hidrocortisona en músculo de los datos expuestos se deriva una secuencia bastante lógica: el cortisol aumenta el catabolismo protéico al aumentar la actividad de diaminopeptidasas haciendo que se eleven los aminoácidos en el tejido muscular que posteriormente por difusión pasan a la sangre donde se elevan y aumenta su eliminación por la orina⁴⁶.

Para completar el cuadro podemos incluir dentro de los tejidos con reserva de proteína, los órganos linfáticos, en los que se observa la reducción de su tamaño que traduce un aumento de catabolismo, cooperando al incremento de aminoácidos en sangre, además en este caso habría destrucción de material nuclear⁴⁷, y posiblemente aumento de bases púricas y pirimídicas en la sangre, aunque no hemos encontrado el dato en la literatura, y también aumento de fósforo sanguíneo, hecho al que se le pueden dar otras explicaciones. Los aminoácidos, bases púricas y pirimídicas irían al hígado.

En estas condiciones se tiene un hígado que está recibiendo mayor cantidad de aminoácidos que en condiciones normales. El mismo músculo no los usa: por ejemplo, Wool y cols.⁴⁸ encontraron que la cortisona reduce la incorporación de aminoácidos marcados en músculo (acción antianabólica) y Fritz⁴⁹ dice que la misma cortisona obliga a una menor pérdida en hígado, de nitrógeno marcado, que el que ocurre sin la administración del esteroide.

El aumento en la poza de aminoácidos en la celdilla hepática ocasiona toda una serie de cambios más o menos relacionados entre sí.

Entre los efectos más notables imputables al aumento de aminoácidos se encuentra el aumento en la proteína total de hígado¹⁸; últimamente Munro²⁴ ha encontrado que el anabolismo en el hígado de animales sometidos a la acción de los esteroides depende del contenido energético de la dieta.

En el presente trabajo no se encontraron variaciones de importancia en la proteína hepática; el método usado no es muy bueno para valores absolutos: en efecto, no se cuantifica toda la proteína del hígado que es como mejor se notan los cambios y las dietas no tenían variaciones sustanciales en su contenido energético.

Se acepta que la hidrocortisona dentro de su acción anabólica hepática no modifica el DNA. Nuestros resultados obtenidos de disminución en el DNA en el grupo de animales tratados con hidrocortisona y con dieta completa de proteína no tienen explicación satisfactoria. Los datos en la literatura siempre se refieren a animales adultos y en nuestro caso se trataba de animales prepúberos; el dato parece requerir una reinvestigación en la que se vigilen las variantes implicadas.

Recientemente ha llamado la atención una enzima del metabolismo protéico la deshidrogenasa glutámica; es una enzima DPN dependiente que al deshidrogenar al ácido glutámico simultáneamente lo desamina y lo convierte en ácido alfa cetoglutámico. De gran interés para estas consideraciones es el informe de Struck y Sizer⁵⁰ quienes encontraron que la deshidrogenasa glutámica es una enzima de poca especificidad pudiendo transformar en cetoácidos diferentes aminoácidos dependiendo fundamentalmente del pH de la mezcla de incubación, se trata, por lo tanto de una enzima con sustratos abundantes de los tejidos periféricos.

Peña y Gómez-Puyou⁵¹ en sus estudios in vitro en homogenados de hígado de la actividad de deshidrogenasa glutámica bajo la acción de la hidrocortisona, encontraron datos parecidos a los de Engel⁵² que indican un aumento en la actividad de la enzima cristalina y con dosis muy reducidas de esteroide, y distintas a los de Yelding⁵³ quien encontró inhibición. La diferencia parece radicar en la cantidad de DPN usado en la incubación; cuando ésta baja de un nivel crítico hay inhibición enzimática en vez de actividad⁵¹. Los resultados de Peña y Gómez-Puyou también fueron de activación y en este trabajo igualmente se encontró aumento de la actividad enzimática en los animales que habían recibido hidrocor-

tisona; no en todos los casos llegó a ser estadísticamente significativo el aumento por el reducido número de determinaciones pero la tendencia es indudable.

El aumento de actividad de deshidrogenasa glutámica ocasiona un aumento de los productos finales de la reacción: amoníaco y cetoácidos. Debido a su toxicidad el amoníaco no puede permanecer libre ocasionando también un aumento en la actividad de la arginasa⁵⁴, glutamina sintetasa y carbamifosfatossintetasa⁵⁵. Sería este el camino para explicar el aumento de excreción de urea y de glutamina. Por su parte el exceso de glutamina puede llegar a producir en riñón elevación de la glutaminasa⁵⁶.

Los cetoácidos pueden pasar a la sangre⁵⁷ o seguir diferentes caminos aunque la oxidación de alguno de ellos está disminuída en mitocondrias de animales previamente tratados con hidrocortisona⁵⁸. La presencia de cantidades elevadas de aminoácidos y de cetoácidos puede fácilmente explicar los denominados aumentos inespecíficos en la actividad de transaminasa⁵⁹ en contra de la denominación de específicos usada anteriormente por los mismos autores⁶⁰. Hasta el momento nuestros resultados no se diferencian de los reportados en la literatura inclusive en los lotes de ratas con dieta de bajo contenido protéico; se encontró aumento discreto en la actividad de arginasa y resultados semejantes en los distintos grupos de animales inyectados con hidrocortisona respecto a la actividad de transaminasa; esto nos hace suponer que los aminoácidos liberados por los tejidos periféricos bastan para mantener los cambios estudiados. Es probable que la administración crónica del esteroide diera resultados diferentes. Otra posibilidad sería una activación independiente de la deshidrogenasa glutámica que degradaría los aminoácidos presentes, aunque no estuvieran en exceso, pero continuamente se regenerarían ya que el aumento de actividad de la transaminasa se encargaría de ello estableciéndose un ciclo y manteniendo elevada la actividad de arginasa.

En estrecha relación con los cetoácidos y la transaminasa está el aumento en el depósito de glucógeno. Los cetoácidos formados vía transaminasa irían a terminar como glucógeno almacenado, interpretando en esa forma los resultados de Eisenstein^{17, 18} que encuentra un bloqueo de la elevación de transaminasa y el aumento en el depósito de glucógeno en ratas con carencia de piridoxina. Una objeción posible es que los cetoácidos no deben provenir necesariamente de la actividad de la transaminasa pues la carencia de piridoxina independientemente puede bloquear la

transaminasa y la síntesis de glucógeno ya que hay trabajos en el sentido de que la piridoxina interviene en la síntesis del polisacárido⁶¹.

Desde el principio dijimos que cuantitativamente no era posible explicar el aumento de glucógeno¹¹ exclusivamente a partir de la proteína degradada. Se han hecho intervenir a las grasas pensándose en una acción gluconeogénica a partir de ellas. Se sabe⁶² que en general la hidrocortisona bloquea la movilización de las grasas de los depósitos; también se ha mencionado, aumento de los lípidos circulantes⁶³ y no utilización de las grasas en el hígado por disminución en la coenzima A y acumulación de las mismas⁶⁴. Todos estos datos están un poco al margen de nuestro esquema general, aparte de que la interrelación de la hidrocortisona con el metabolismo de las grasas es muy fragmentario y nosotros no estudiamos ningún aspecto del metabolismo de las grasas; por estos motivos no insistiremos más en este campo ni entraremos en la discusión de gluconeogénesis a partir de grasas, Stadie⁶⁵ dice que ocurre realmente pero la vía no es bien conocida.

En este trabajo nosotros obtuvimos una disminución estadísticamente significativa en el depósito de glucógeno hepático a la administración de hidrocortisona cuando bajamos el contenido protéico de la dieta. Nuestros resultados no están de acuerdo con los datos señalados en la introducción, de Bloch y Cox²³ y de Goodlad y Munro²⁴, pero ellos nunca mantuvieron sus animales con una dieta crónica ya que todos sus experimentos fueron de tipo agudo.

Comprobamos desde un punto de vista muy diferente las relaciones catabolismo protéico síntesis de glucógeno. De acuerdo con el esquema general que veníamos elaborando podemos explicar hipotéticamente nuestros resultados obtenidos cuando menos en dos formas: a) el menor número de aminoácidos que llegan al hígado van a mantener elevada la actividad de deshidrogenasa del ácido glutámico, arginasa y transaminasa de acuerdo con el ciclo descrito previamente pero los cetoácidos formados serán insuficientes para elevar el depósito de glucógeno a los valores obtenidos con dieta normal de proteínas y por lo tanto con aporte suficiente de aminoácidos. b) otra posibilidad, muy semejante a la anterior, sería que la hidrocortisona directamente influyera, haciendo que los cetoácidos volvieran a convertirse en aminoácidos para mantener elevada la deshidrogenasa glutámica y solo en pequeña escala pasaran a formar glucógeno; en ambos casos tendríamos menor cantidad de aminoácidos disponibles.

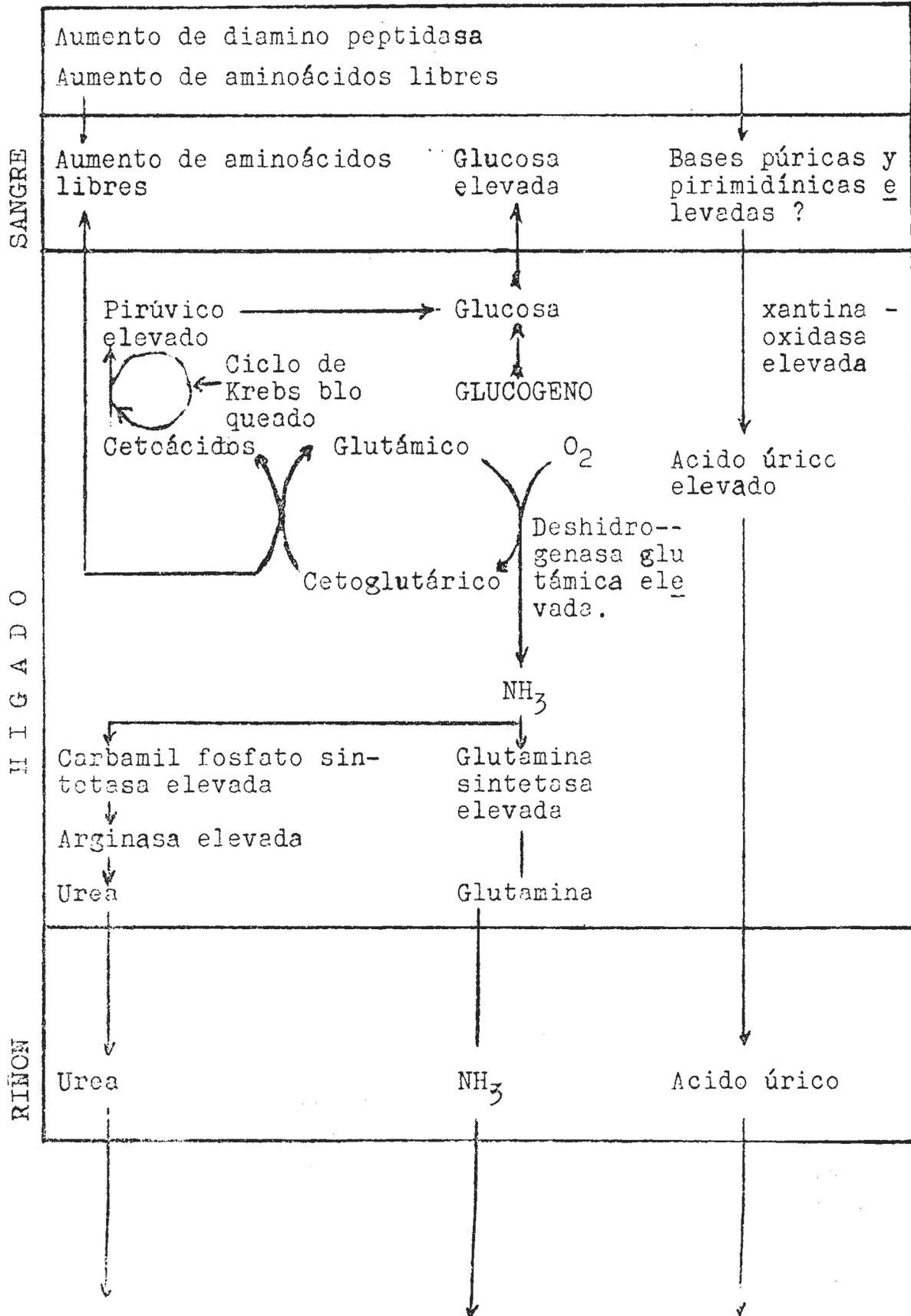
Un hecho que se puede hacer notar es el de las diferencias obtenidas

por Eisenstein^{17, 18} y por nosotros; él obtiene disminución en la actividad de transaminasa y disminución en el contenido de glucógeno en ratas con carencia de transaminasa y disminución en el contenido de glucógeno. De esto último podemos concluir que no necesariamente hay relación estrecha entre la actividad de transaminasa y la gluconeogénesis, podemos también recordar tratando de explicar los resultados diferentes de acción propia de la piridoxina en la síntesis de glucógeno.

La disminución en el depósito de glucógeno obtenida con la dieta de 18% de caseína con ácido isonicotínico en comparación con la que no tenía antimetabolito; ambas con hidrocortisona; es el único dato significativo que obtuvimos con el uso de antimetabolitos. Quizá sea debido a las bajas concentraciones a que usamos los antimetabolitos, en general por debajo de las comunicaciones en la literatura. El dato obtenido es de difícil explicación pero está de acuerdo con los datos registrados por Beaton⁶⁶ quien también obtiene menores valores de glucógeno y glucosa en animales tratados con ácido isinicotínico en comparación con los controles, todos sin hidrocortisona. Nuestras dosis fueron inferiores a las usadas por Beaton.

Continuando con nuestro esquema pasaremos del glucógeno a la glucosa. Dijimos en la introducción¹⁶ que debido a la gluconeogénesis se encontraba un aumento de seis a siete veces en la formación de glucosa. Existe además el dato⁶⁷ de un aumento en la actividad de glucosa-6-fosfatasa, enzima que se encarga de un paso en la conversión de glucógeno a glucosa, en hígado de animales tratados con esteroides y un aumento en el fósforo que Guzmán⁶⁸ interpreta como debido a la glucogenolisis exagerada. En nuestros datos encontramos una tendencia muy marcada pero no estadísticamente significativa a disminuir la cantidad de glucosa circulante en las ratas inyectadas con cortisol que tenían dieta baja en proteínas. Entonces nos inclinamos más hacia la hipótesis de que el aumento en la glucosa circulante se debe principalmente a un aumento en la glucogenólisis y ese aumento guarda cierta relación con la cantidad de glucógeno presente. Estaríamos en contra de Bacila y Barron⁶⁹ que han comunicado una disminución en la actividad de hexoquinasa postulando que la hidrocortisona actúa uniéndose a los grupos SH de la enzima e inactivándola. Manchester y Youn⁷⁰ han reportado disminución de la incorporación de glucosa marcada en diafragma in vitro bajo la acción del cortisol. Por otra parte Pratt⁷¹ demostró que la administración simultánea de insulina y cortisona no modifica el efecto catabólico de la última

TEJIDOS PERIFERICOS (catabolismo aumentado)



concluyendo que la acción de los esteroides es sobre el catabolismo proteico y no sobre la falta de utilización de carbohidratos. Ambas teorías pueden coexistir; sin embargo, todos los resultados de no incorporación de glucosa han sido obtenidos *in vitro* y los de no influencia sobre la glucosa se han obtenido con animales íntegros. De ser cierta la acción del cortisol sobre la glucosa entonces la falta de materiales energéticos dentro de célula provocaría un bloqueo en la síntesis de proteína (acción antianabólica⁴⁸ explicando en esa forma el aumento de aminoácidos en músculo⁴⁵ para continuar el ciclo en este esquema que hemos bosquejado.

Un poco fuera del ciclo nos quedarían las acciones de la hidrocortisona, sobre el DPN. Nuestros intentos por obtener animales con bajo contenido de DPN hepático fallaron; obtuvimos disminuciones muy discretas y nunca estadísticamente significativas, de modo que no se pudo bloquear la acción de la hidrocortisona suprimiendo la sustancia sobre la que iba a actuar. La administración del esteroide tampoco nos produjo modificaciones significativas. Sin embargo es de mucho interés el dato obtenido por nosotros de aumento de la deshidrogenasa glutámica en animales tratados con el esteroide. Se considera clásica la inhibición de enzimas DPN dependientes como resultados de la administración de esteroides²⁹ y en la literatura revisada todos los datos estuvieron acordes; el aumento aquí obtenido con la deshidrogenasa glutámica, enzima también DPN dependiente, tomando en cuenta que la determinación se hizo a partir de homogenados de hígado de ratas tratadas con hidrocortisona y no con enzima pura como en el caso de Engel⁵², nos hacen reconsiderar las posibilidades de interrelaciones DPN cortisol.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudiaron algunas de las modificaciones metabólicas que produce la hidrocortisona en ratas prepuberales con dietas de bajo contenido proteico y antimetabólitos.

Los resultados obtenidos nos muestran las acciones conocidas del esteroide de aumento de actividad de la deshidrogenasa glutámica, la arginasa y la transaminasa; aumento en la cantidad de glucógeno hepático y glucosa sanguínea. Las dietas de bajo contenido proteico no modificaron la respuesta de la hidrocortisona sobre las mencionadas enzimas, pero provocaron una disminución estadísticamente significativa en la acumulación de glucógeno hepático y una marcada tendencia a bajar los ni-

veles de glucosa circulante. Semejantes resultados se obtuvieron en un lote con cantidades normales de proteína pero con adición de ácido isonicotínico.

Se hace un esquema general de las principales modificaciones que produce la hidrocortisona en el metabolismo y a la luz del mismo se discuten los resultados obtenidos.

Se concluye que los resultados obtenidos nos inclinan a pensar más en favor de la teoría catabólica que la antianabólica, y que la disminución en el depósito de glucógeno acumulando obedece fundamentalmente a una baja de aminoácidos de reserva, así como la baja en la glucosa es el resultado de la menor cantidad de glucógeno presente.

No se encuentra explicación satisfactoria para los resultados obtenidos con el ácido isonicotínico, que cuantitativamente son de menor magnitud. Tampoco se encuentra explicación a una baja notable que se obtuvo en el DNA en las ratas con proteína completa e hidrocortisona.

Se hace notar las diferencias obtenidas por otros autores en comparación con nuestros datos, refiriéndose especialmente a la actividad de transaminasa en relación con la gluconeogénesis. También se hace notar la posible importancia del aumento de actividad de la deshidrogenasa glutámica, enzima DPN dependiente.

El presente trabajo únicamente es de introducción, nos abre un campo amplísimo ya que siguiendo este método de investigación suprimiendo nutrimentos en la dieta o adicionando antimetabolitos podremos posteriormente entender mejor las modificaciones de cualquiera de las hormonas administradas. En este mismo experimento, administrando por varios días la hormona seguramente se obtendrán resultados diferentes y por último, aumentando el número de determinaciones se podrían hacer estadísticamente significativos los datos en que se observaron las tendencias señaladas.

REFERENCIAS

1. West, E. S. y Todd, W. R.: "Textbook of Biochemistry" Second Edition. Macmillan Company, New York. 1956. Pág. 1277.
2. Véase 1 pág. 1277.
3. Paschkis, K. E., Rakoff, A. E. y Cantarow, A.: "Clinical Endocrinology". Second Edition. Hoeber Harper. 1958. Pág. 260.
4. Laguna, J.: "Bioquímica". Prensa Médica Mexicana. 1960. Pág. 641.
5. Kinsell, L. W.: "Hormonal Regulation of Energy Metabolism". Charles, C. Thomas. Springfield, Ill 1957. Pág. 223.

6. Véase 5, Pág. 55.
7. Véase 5, Pág. 224.
8. Véase 5, Pág. 232.
9. Véase 5, Pág. 66.
10. Taylor, W.: *Biochem. J.* 72:442, 1959.
11. Véase 5, Pág. 332
12. Kochakian, J.: *Biol. Chem.* 190: 495, 1951.
13. Silber, R. H., Porter C. C.: *Endocrinology.* 52: 518, 1953.
14. Ingle, J. *Clin. Endocrinol.* 10:1312, 1950.
15. Engel, L. L.: *Recent Progress in Hormone Research.* 6:277, 1951.
16. Véase 5, Pág. 332.
17. Eisenstein, A. B.: *Biochim. Biophys. Acta.* 36:580, 1959.
18. Eisenstein, A. B.: *J. of Lab. and Clin. Med.* 54: 808, 1959.
19. Meites, J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 81:307, 1952.
20. Meites, J., Feng, Y. S. L. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 85: 341, 1954.
21. *Nutrition Rev.* 15: 23, 1957.
22. Davis, R. H. *Fed. Proc.* 17: 33, 1958.
23. Bloch, B. P., Cox, G. S.: *Nature* 184: 721, 1959.
24. Goodland, G. A. J. Muro, H. N. *Biochem, J.* 73:343, 1959.
25. Aschkenasy, A., Wellers, G.: *Annales d'Endocrinologie.* 20: 90, 1959.
26. Aschkenasy, A., Wellers, G.: *Endocrinol.* 65:172, 1959.
27. Véase 5. Pág. 59-60.
28. Troop, R. C.: *Fed. Proc.* 17:415, 1958.
29. Gallagher, C. H.: *Biochem, J.* 74: 38, 1960
30. *Manual de Lab. del Depto. de Bioquímica para el Gpo. Piloto* 1957.
31. Hawk, P. B., Oser, B. L., Summeron, W. H.: "Química Fisiológica Práctica". Duodécima Edición 1949. Pág. 1188
32. Lowry y Col. *J. Biol. Chem.* 193: 265, 1951.
33. Folin, O. Ciocalteau, J. *Biol. Chem.* 73: 627-50, 1927.
34. Schmidt and Tannhauser. *J. Biol. Chem.* 161: 83, 1945; citado por McIndoe, W. M. y Davidson, I. N. *British, J. of Cncer.* 6: 200, 1952.
35. Dische, Z., *Micochem.* 8; 4, 1930; citado por 40.
36. Umbreit, W. W., Burris, R. H., Stauffer, J. F.: *Manometric techniques.* Burgess Publishing Co. Minneapolis, Minn. 1959. Pág. 278.
37. Nelson, J. *Biol. Chem.*, 153: 375, 1944.
38. Colowick, S. P. Kplan, N. O. Ciotti, M. M. *J. Biol Chem,* 191, 447; 1951. 447; 1951.
39. Reitman, S., Frankel, S. m. *J. Clin. Pathol.* 28: 56; 1957.
40. Colgwick, S. P. Kaplan, N. O. *Methods in Enzymology.* Academic Press Inc. New York, 1955; Pág. 368. Tomo II.
41. Copenhaver, J. H., McShan, W. H., Meyer, R. K. *J. Biol. Chem* 183: 73.
42. Véase 37.
43. Croxton, F. E.: *Elementary Statistics with Applications in Medicine.* Prentice-Hall, Inc. New York 1953.
44. Rose, H. G. Robertson, M. C., Schwartz, T. B. *Am. J. Physiol* 197: 1063, 1959

45. Dubreuil, R. M., Timiras, P. M.: Am. J. Physiol. 174: 20, 1953.
46. Shefner, A. L. Bergeim, O. Arch. Biochem. Biophys. 49: 327, 1954.
47. Véase 5, pág. 229.
48. Wool, I. G., Weinshelbaum, E. I.: Am. J. Physiol. 197; 1089, 1958.
49. Fritz, I. Endocrinol. 58: 484, 1956.
50. Struck, J., I. W. Arch. Biochem. Biophys. 86: 260, 1960.
51. Peña, A., Gómez Puyou, A. Datos no publicados.
52. Engel, L. L. Scott, Y. F. y Colman, R. F. Fed. Proc. 19: 1959, 1960.
53. Yielding, L. K. Tomkins, G. M. Munday, J. S., Curran, J. F. Biochem. Biophys Res. Comm. 2: 303, 1960.
54. Bach, S. G., Carter, S. G., Killip, G. D. Biochim Biophys Acta 28: 168, 1958.
55. Gómez Puyou A., Laguna García J., Peña Díaz A., Chagoya Hazas V., Piña Garza E.: *Programa General y Extractos de las comunicaciones del Tercer Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. México, 1960. Pág. 47.*
56. Peña, Díaz A., Laguna García, J., Piña Garza, E., Gómez Puyou A. Véase 55, Pág. 79.
57. Hennes, A. R., Waychenberg, B. L., Fajans, S. S., Conn, J. W. Metabolism 6: 339, 1957.
58. Clark, J. H. Pesh, L. A. J. Pharmacol. 117: 202, 1956.
59. Rosen, F., Roberts, N. R. Nichol, Ch. J. Biol Chem. 234: 476, 1959.
60. Nichol, C. A., Rosen, F., Roberts, N. R., Budnick, L. E. Endocrinol. 65: 256, 1959.
61. Beaton, J. R. Goodwin, M. E. Can. J Biochem Physiol. 32: 684 1954.
62. Lovey, A. C. Ramey, E. R. Endocrinol. 64: 586, 1959.
63. Véase 3, Pág. 263.
64. Villaseñor, G. Bravo, L., María Guzmán, J., Laguna, J.: *Programa general y extractos de las comunicaciones del segundo congreso nacional de ciencias fisiológicas. Monterrey, N. L. 1959. Pág. 113.*
65. Véase 5, Pág. 230.
66. Véase 61
67. Ashmore, J. Hastings, A. B. Nesbett, F. B. Renold, E. A. J. Biol. Chem. 218: 77; 1956.
68. Guzmán, J. Olivera, H. Castro, E. Laguna, J., Véase 64, Pág. 53.
69. Bacila, M. Barron, E. S. G.: Endocrinol. 54: 591, 1954.
70. Manchester, K. A., Young, F. G. J. Endocrinol. 18: 395, 1959.
71. Pratt, O. E. J. Physiol. 148: 19 P. 1959.