

REVISTA CLÍNICA ESPAÑOLA

Depósito Legal M. 56 - 1958.

Director: C. JIMENEZ DIAZ. Secretarios: J. DE PAZ y F. VIVANCO
REDACCION Y ADMINISTRACION: Antonio Maura, 13, MADRID. Teléfono 221829

TOMO LXXI

15 DE OCTUBRE DE 1958

NUMERO 1

REVISIONES DE CONJUNTO

ALGUNOS ASPECTOS DEL METABOLISMO PARCIAL DE LAS PROTEINAS EN EL HIGADO

J. MORENO CALVO.

Profesor Adjunto de Bioquímica de la Universidad de Madrid, Investigador del Centro Experimental del Frio (P. J. C. - C. S. I. C.), A. I. E. F. B., M. I. I. F., M. A. A. F., M. S. E. C. F.

El contenido proteico de ciertos órganos puede variar de acuerdo con el aporte en la dieta. Este hecho sirvió a los fisiólogos de la nutrición para distinguir dos clases de proteína: a) La correspondiente a la estructura celular, firmemente fijada; y b) la de reserva, flojamente unida y capaz de circular. La fracción b es variable, mientras que la a es constante. Por tanto, hay que admitir que las oscilaciones orgánicas del contenido proteico corresponden a las reservas móviles de la segunda fracción.

Sin embargo, este concepto, generalizado en otro tiempo, no se ha confirmado, y en cuanto al hígado se sabe que este órgano puede multiplicar por 1,5 su contenido proteico con un régimen abundante en nitrogenados. El análisis bioquímico de las fracciones proteicas del hígado en cuestión no presenta ningún punto de apoyo a favor de la idea de que las células hepáticas sean capaces de almacenar una proteína especial de reserva, sino que, por el contrario, este aumento se reparte por igual entre todas las fracciones proteicas. En consecuencia vemos cómo no es posible distinguir una fracción proteica orgánica de una fracción de reserva.

No obstante, las reservas proteínicas hepáticas deben existir, si bien no en el sentido en que se aplica al glucógeno o a los lípidos de reserva, ya que durante el ayuno prolongado, cuando se agotan las reservas tanto glucídicas como lipídicas, el organismo puede vivir en parte de las reservas proteínicas hepáticas (juntamente con la de la musculatura esquelética).

El intercambio o renovación continuada de las proteínas, en el sentido moderno y dinámico de SCHOENHEIMER y RITTENBERG, se realiza también en las cé-

lulas hepáticas. Para dar una idea de la importancia metabólica del hígado debemos citar el hecho de que la administración de aminoácidos marcados permite observar en el hígado una renovación semanal de la mitad de las proteínas del mencionado órgano. Es decir, que la mitad de las proteínas son movilizadas por semana, entrando en su lugar una cantidad análoga. Si se comparan estos resultados con los obtenidos en otros órganos se pone de manifiesto la importancia excepcional del hígado. El metabolismo del músculo es inferior, ya que la renovación de los protídos, en el sentido dinámico, es más lenta, que en el hígado.

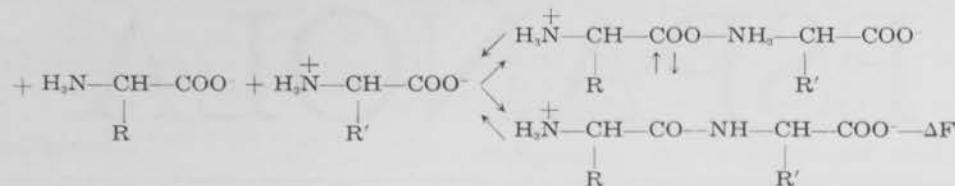
A continuación nos ocuparemos del metabolismo intermedio de las proteínas y aminoácidos en el hígado, y, para ello, seguiremos el orden natural, comenzando por la síntesis de las proteínas (anabolismo), y luego nos ocuparemos de las transformaciones reversivas (catabolismo), así como de diversas reacciones de degradación de aminoácidos que tienen lugar, de modo preferente, en el parénquima hepático.

La célula hepática, al estar bañada por aminoácidos, hace entrar éstos en el interior de ella. Esta absorción está basada fundamentalmente en un mecanismo de permeabilidad; es decir, un transporte por difusión biológica a través de la membrana celular. Aun desde el punto de vista físico-químico, es fácil admitir esta entrada, por el hecho de que los aminoácidos difunden fácilmente por tener pesos moleculares bajos. Este hecho queda patente al considerar la ecuación teórica de DANIELLI, en cuyo estudio no podemos detenernos en este lugar:

$$e_i = F_k \cdot \Psi e_i \cdot \sqrt{\frac{RT}{2\pi M}} \cdot a - \frac{\mu e_i}{RT}$$

Una vez que los aminoácidos han entrado en la célula hepática, entre ellos deben realizarse las uniones peptídicas. Si consideramos ahora el gran número de aminoácidos que intervienen en las moléculas de los protídos comprenderemos fácilmente que la síntesis de estas sustancias es un proceso complejo. Como por

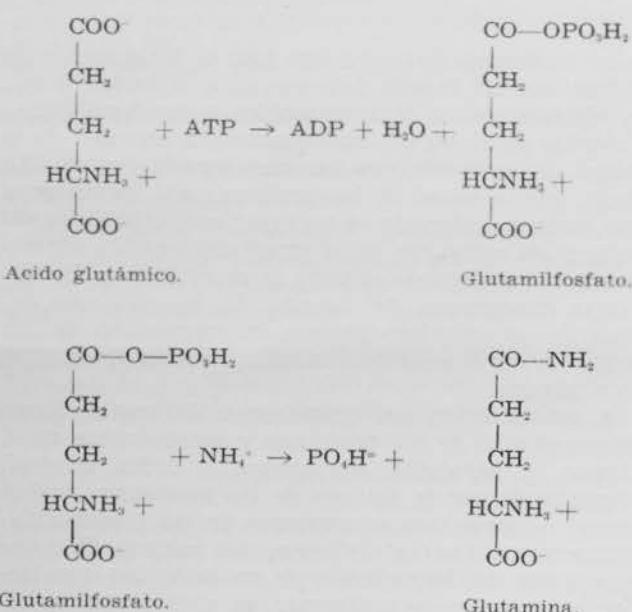
otra parte, la hidrolisis de las uniones peptidicas es un proceso exergónico, la síntesis, es decir, la reacción contraria, sólo puede realizarse mediante aco-



plamiento con otro proceso que produzca energía libre, apta para encerrarse inmediatamente en la unión peptídica que es endergónica:

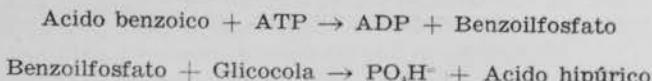
También se admite que en esta reacción de equilibrio puede ser separado el péptido de la célula, en virtud del metabolismo, y ello facilitaría el desplazamiento de la reacción anterior en el sentido izquierda → derecha. Con proteasas se han podido realizar experiencias que demuestran esta posibilidad bajo condiciones especiales.

Como ejemplo de síntesis peptídica, acoplada a un proceso exergónico, citemos la transformación del ácido glutánico en glutamina con arreglo al esquema siguiente:



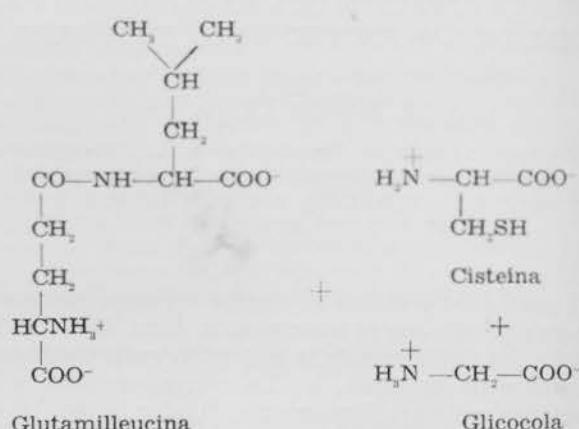
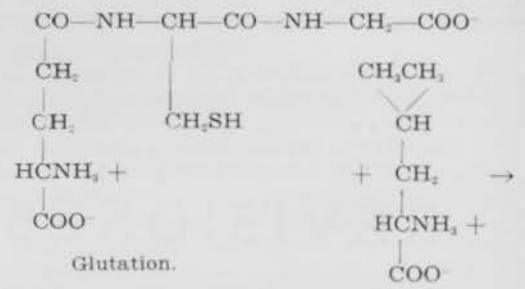
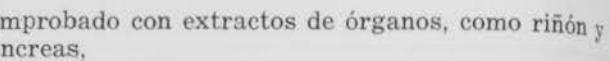
Para que se produzca la primera de estas reacciones se necesita el concurso de un extracto hepático fresco, mientras que la segunda transcurre espontáneamente, es decir, sin el concurso de enzimas.

La célula hepática forma por este mecanismo el ácido hipúrico, al igual que en el riñón y como mecanismo detoxificante:

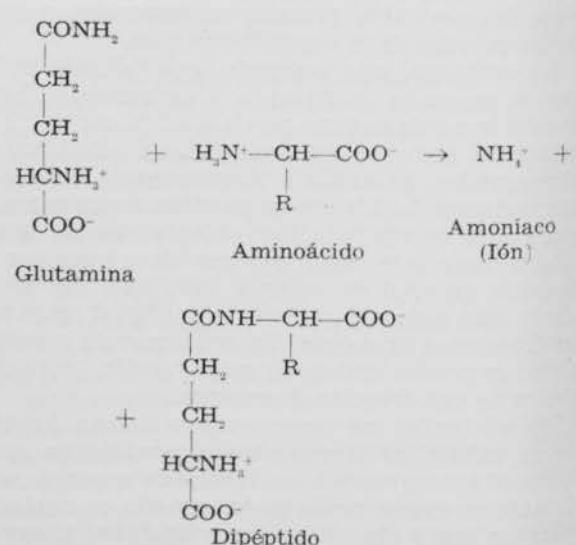


CHANTRENNE hace intervenir, teóricamente por el momento, el coenzima A, con lo que se suministraría por mecanismo análogo la síntesis del compuesto peptídico endergónico.

Independientemente de la cuestión energética es posible, en opinión de otros autores (HANES y otros), que muchos péptidos se integren por mecanismo de transpeptidación con arreglo al siguiente esquema:

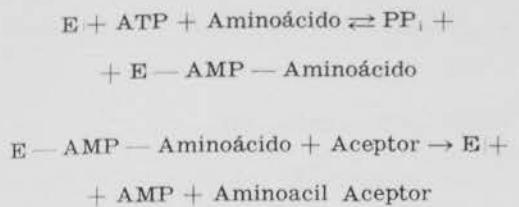


o bien conforme a la siguiente reacción:

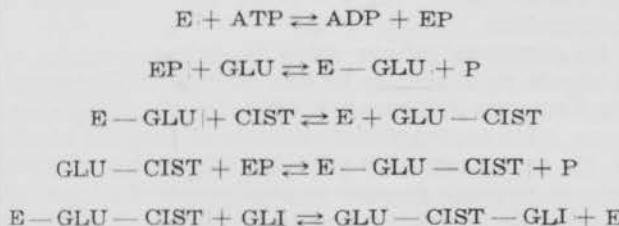


Sin embargo, la razón fundamental que motiva la biosíntesis de los prótidos es la activación de los aminoácidos, mediante el ATP como suministrador energético e inducción concomitante en sentido específico, motivada por enzimas aún no bien conocidos.

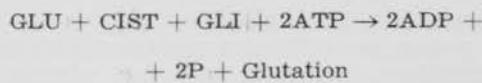
en cuyas interacciones deben participar todavía los ácidos nucleicos y polinucleótidos en general. Como esquemas que recojan las ideas expuestas citaremos uno generalizado de activación de aminoácidos y un caso particular de biosíntesis del glutatión (BLOCH):



Para el caso de la biosíntesis del tripéptido glutation, estudiada *in vitro* por BLOCH, utilizando como agente de catálisis el extracto de hígado de pichón, se han podido ultimar los detalles siguientes, altamente gráficos y que, además, ponen de manifiesto una sorprendente sencillez, por lo que afecta la biosíntesis de las proteínas, si este esquema pudiera generalizarse:



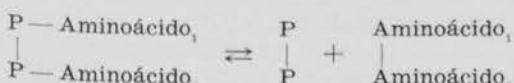
y sumando todas estas reacciones y simplificando tenemos:



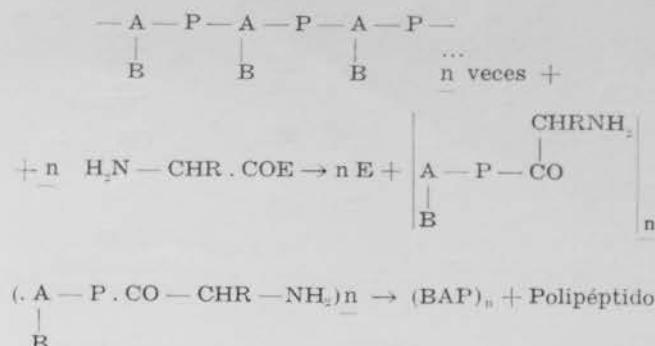
en la que termodinámicamente la energía del ATP se integra en el glutation.

En resumen, para la síntesis primaria de los péptidos y prótidos en el hígado deben tenerse en cuenta las acciones del ATP, Acetil coenzima A y proteasas (catepsinas); mientras que para la síntesis secundaria debe tenerse en cuenta el fenómeno de la transpeptidación, estimulado por la presencia del ácido glutámico y la glutamina, aun cuando se desconozcan numerosos detalles de este mecanismo. Citaremos a continuación algunos modelos y hallazgos recientes.

En esta biosíntesis, sobre todo cuando se trata de la formación de proteínas específicas de elevada complejidad molecular, deben participar los polinucleótidos específicos y que forman parte del protoplasma celular. Un modelo del mecanismo que interviene lo tenemos en la siguiente reacción:



y en el caso de la activación de los aminoácidos aparecerían los compuestos del enzima específico con el resto monopeptídico (BOBSOOK).



En estas reacciones deben intervenir de modo específico las naturalezas no solo químicas, sino las afinidades electrónicas de los aminoácidos con respecto a las bases *B*, que determinarían especificidad.

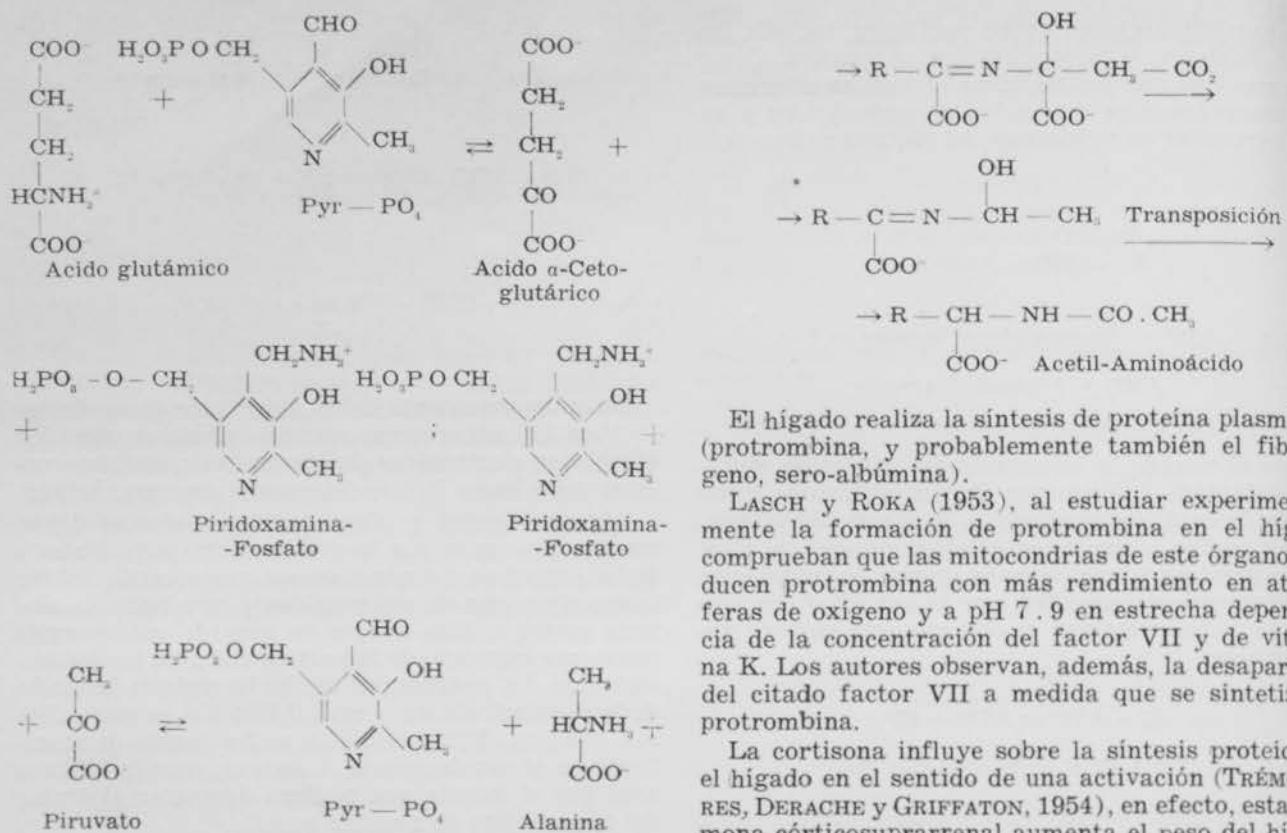
Algunos hechos y observaciones recientes deben tenerse en cuenta por lo que respecta la biosíntesis de las proteínas. La ribonucleasa, por ejemplo, inhibe la incorporación de aminoácidos y, por tanto, la síntesis proteica. Ello estaría de acuerdo con lo anteriormente expuesto de la participación de los polinucleótidos. La azaguanina inhibe la síntesis inducida de la β -galactosidasa y esta inhibición se neutraliza con guanina. Esta inhibición se ha puesto de manifiesto en el esquizomiceto *S. aureus*, pero la citamos aquí por el interés que pudiera despertar al tratar del tema objeto de nuestro estudio.

Las células tumorales contienen un mayor porcentaje de ácido ribonucleico, sugiriéndose recientemente que las células malignas pudieran tener sitios extramicrosómáticos para la síntesis proteica. El cloramfenicol inhibe la síntesis proteica sin afectar la biosíntesis del ácido ribonucleico. La síntesis proteica dependería, pues, de la co-síntesis del ácido nucleico, y por eso el cloramfenicol descopula la síntesis proteica.

NISMAN y su escuela estudiaron la incorporación aparentemente reversible de algunos aminoácidos, requiriéndose nucleótidos de adenina y pudiéndose inhibir el fenómeno mediante una mezcla de aminoácidos y cloramfenicol. STRAUB y su escuela han logrado recientemente la biosíntesis enzimológica de la amilasa a partir de un extracto de páncreas, ATP, ácido ascórbico e hidrolizado de caseína. Esta importante observación no se ha hecho en el hígado, pero la centralizamos aquí porque presumimos la importancia de las reacciones de este tipo en el terreno de la investigación de la bioquímica del hígado.

No deben incluirse en el hígado las influencias endocrinas directas e indirectas sobre el metabolismo nitrogenado (influjos de la hormona del crecimiento del lóbulo anterior de la hipófisis, hormonas suprarrenales y ACTH), que o bien favorecen la biosíntesis de las proteínas no solo en el hígado, sino en todos los tejidos, o bien se limita al hígado como en el caso concreto del ACTH y hormonas suprarrenales, influyendo primariamente el metabolismo glucídico en el mismo órgano, y de este modo podría interpretarse la acción catabólica sin admitir una influencia directa. Por otra parte, la hormona del crecimiento tampoco actúa sola, siendo necesaria la presencia de la insulina.

Otro fenómeno que interviene en la síntesis de los prótidos en la célula hepática es la transaminación (BRAUNSTEIN y KRITSMANN) o cesión del grupo amino de un α -aminoácido a otro pasando por el correspondiente α -cetoácido. La reacción debe transcurrir con arreglo al siguiente esquema resumido:

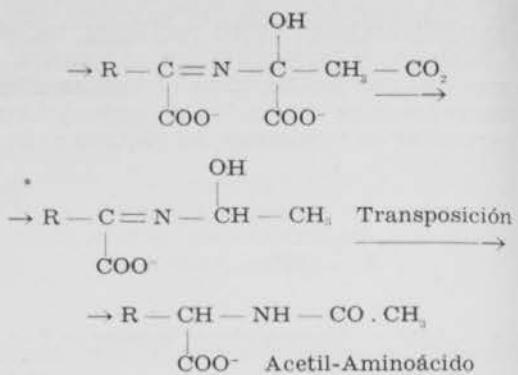
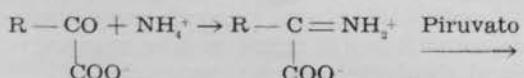


En las mitocondrias del hígado nos encontramos las aminoferasas o transaminasas intimamente unidas a dichos gránulos celulares. Hasta hace poco este fermento no se había podido poner de manifiesto en el hígado y este fracaso se atribuye a que dicho enzima no sólo es insoluble, sino también inestable.

La transaminación se pone de manifiesto mediante las experiencias de SCHOENHEIMER y RITTENBERG con leucina marcada con N^{15} y administrada a la rata blanca. Se observa después del experimento la distribución del isótopo y su rápida incorporación no sólo a las proteínas hepáticas, sino también a los diversos aminoácidos que constituyen estas mismas proteínas del hígado. A continuación reproducimos una tabla ilustrativa de cómo el nitrógeno N^{15} se reparte a los distintos aminoácidos del hígado, después de su administración. El tanto por ciento del nitrógeno isotópico en la leucina administrada fué 100:

Leucina	7,95 %
Glicocola	0,74 %
Tirosina	0,50 %
Glutámico	1,85 %
Aspártico	1,16 %
Arginina	0,89 %
Lisina	0,06 %

Otra posibilidad de biosíntesis en el hígado es la α -aminación de los α -cetoácidos, que fué practicada por medios puramente químicos (KNOOP y ÖSTERLIN) y desarrollada teóricamente por DU VIGNEAUD, en el sentido de α -aminación acetilante, ya que al administrar los correspondientes α -cetoácidos aromáticos se obtienen los mencionados derivados, según el esquema:



El hígado realiza la síntesis de proteína plasmática (protrombina, y probablemente también el fibrinógeno, sero-albúmina).

LASCH y ROKA (1953), al estudiar experimentalmente la formación de protrombina en el hígado, comprueban que las mitocondrias de este órgano producen protrombina con más rendimiento en atmósferas de oxígeno y a pH 7,9 en estrecha dependencia de la concentración del factor VII y de vitamina K. Los autores observan, además, la desaparición del citado factor VII a medida que se sintetiza la protrombina.

La cortisona influye sobre la síntesis proteica en el hígado en el sentido de una activación (TRÉMOLIRES, DERACHE y GRIFFATON, 1954), en efecto, esta hormona córticosuprarrenal aumenta el peso del hígado en las ratas normales y en las adrenalectomizadas. Este incremento de peso se explica por el 67 por 100 de aumento de proteínas y el 33 por 100 de aumento a favor del glucógeno con cortisona. Estos autores hacían ayunar a los animales veinticuatro horas antes de su muerte, observando que un ayuno prolongado a veinticuatro horas más producía una disminución de las materias acumuladas en el hígado antes mencionadas. Ello indica que las proteínas sintetizadas podían ser utilizadas posteriormente para fines energéticos, incluso si se seguía administrando la cortisona. Con una dieta integrada por el 18 por 100 de proteínas se observa un 23 por 100 de pérdida de masa muscular debido a balance negativo del nitrógeno que se inhibe en parte inyectando simultáneamente cortisona y testosterona. Con esta mezcla de hormonas el aumento de peso del hígado, que se observa muy bien con cortisona sola, se neutraliza también considerablemente por la presencia de la testosterona.

KRITSMAN, GAVRILOWA y KONIKOWA (1954) estudiaron la aterosclerosis experimental en conejos administrando colesterol y obtuvieron un suero homólogo marcado inyectando repetidamente metionina S^{35} en otros conejos que eran decapitados y el suero era sometido a diálisis para separar la metionina S^{35} no incorporada. Este suero artificial se inyectaba intracardiacamente en los primeros animales citados y sus proteínas se separaban y analizaban para ver los cambios experimentados en el suero y órganos, observando que tanto en los animales de control como en los ateroscleróticos las proteínas del suero marcado no sufrieron una descomposición previa en aminoácidos antes de convertirse en proteínas orgánicas. Las actividades específicas relativas de las proteínas orgánicas y de las de los tejidos eran prácticamente idénticas en los animales normales y en los experimentalmente enfermos que recibieron el suero marcado de los donadores normales, pero no cuando se utilizaba el suero de donadores enfermos experimentalmente de aterosclerosis. Esta diferen-

cia de comportamiento confirma la idea generalmente admitida de que en los conejos ateroscleróticos el proceso normal de biosíntesis de proteínas y regeneración a partir de proteínas plasmáticas está francamente alterado en perjuicio de la incorporación en forma de proteínas orgánicas (hígado, corazón, corteza renal, etc.). Los autores rusos inducen que esta alteración debe tenerse en cuenta como dato importante para el esclarecimiento de la patogénesis de la aterosclerosis.

También la escuela rusa (KUZOFLEWA, 1954) al estudiar la transformación de las proteínas plasmáticas en tisulares mediante inyecciones intravenosas de metionina S^{35} y tirosina C^{14} comprueba la aparición rápida de los aminoácidos marcados en los componentes del hígado, tanto en los proteicos como en los no proteicos. En primer lugar los componentes no proteicos se retrasan en la fijación del C^{14} con respecto a las proteínas, pero a partir de cuatro horas sucede lo contrario (figs 1 y 2). La presencia de

mente se utilizan directamente como tales en la construcción de proteínas tisulares orgánicos, de la manera dicha, esto es, sin descomposición previa en aminoácidos.

La incorporación de glicocola marcada en diversas proteínas (complejo de histona con DNA, núcleo proteína y pentosa o globulina aislada del hígado de animales experimentales) mediante homogeneizados de hígado se observa claramente después de incubación a 37° y con más intensidad a temperatura más alta, pero la velocidad es menor cuando el aminoácido se incorpora a las proteínas complejas. Hay diferencias de incorporación en la desoxirribonucleohistona aislada del hígado de rata de la extraída del hígado de conejo (KONIKOWA, KRITSMAN y SAMARINA, 1954).

El hígado presenta un aumento de intensidad en la incorporación de aminoácidos durante el estado de sueño (narcosis con uretano y barbital; FRIDMAN-POGOSOWA, 1955) y la edad de los animales influye de manera marcada en la intensidad de renovación de proteínas en los órganos internos (TOROPOWA, 1955).

KESIN (1954) inyectó subcutáneamente aminoácidos marcados (metionina S^{35} y tirosina C^{14}) a ratas alimentadas con dieta normal equilibrada y los hígados correspondientes desprovistos de sangre mediante la perfusión fueron homogeneizados, fraccionados, purificadas las fracciones y analizadas, comprobando que la metionina S^{35} y tirosina C^{14} habían sido incorporadas a la estructura de las proteínas microsómicas a gran velocidad, así como en la estructura de los gránulos proteicos y centrifugados correspondientes a velocidades más bajas. Estos gránulos están formados principalmente por mitocondrias que incorporan los aminoácidos a una velocidad muy pequeña. Los gránulos de proteína de mayor tamaño presentan una velocidad de incorpora-

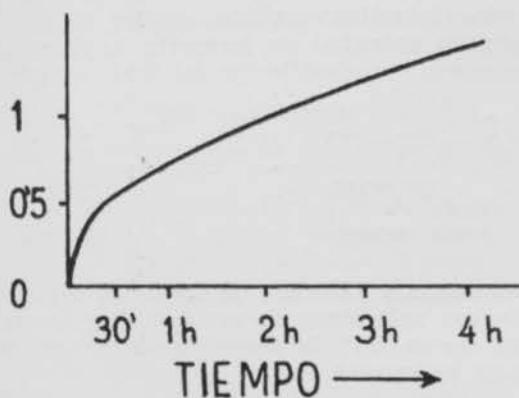


Fig. 1.—Actividad de los filtrados no proteinicos de hígado de rata después de la introducción en el suero de metionina, en relación con el tiempo de su introducción (abscisas). En ordenados impulsos por minuto por gramo de peso seco de hígado en porcentaje del introducido (Kuzoflewa).

pequeñas cantidades de actividad específica en los compuestos no proteicos del hígado durante un corto tiempo revela que en este órgano tiene lugar alguna separación de aminoácidos.

RUTMAN y colaboradores (1955), al estudiar la síntesis proteica *in vitro* y los efectos de la dieta y del ayuno en la incorporación de metionina con S^{35} en las proteínas hepáticas de la rata, observan que las variaciones del contenido proteico de la dietas afectan directa o indirectamente la capacidad de los cortes de hígado *in vitro* para incorporar la metionina marcada.

HENRIQUES y colaboradores (1955) comprueban que la velocidad de síntesis proteica en el músculo es mucho más pequeña que en el hígado. Esta observación confirma la importancia del papel del hígado en el metabolismo de las proteínas.

También GAVRILOWA y KONIKOWA (1954), en estudios similares a los ya citados de KRITSMAN y colaboradores de incorporaciones de átomos marcados, concluyen que tanto los sueros homólogos como los heterólogos inyectados parenteralmente se utilizan en la integración de las proteínas nucleares de la rata, protoplasma de hígado y tejidos renales sin una descomposición previa en aminoácidos. Después de la introducción de sueros homólogos y heterólogos marcados con metionina aparece mucha más radiactividad en el fibrinógeno que en las proteínas hepáticas. Las proteínas del suero y del hígado o los homogeneizados de riñón inyectados intraperitoneal-

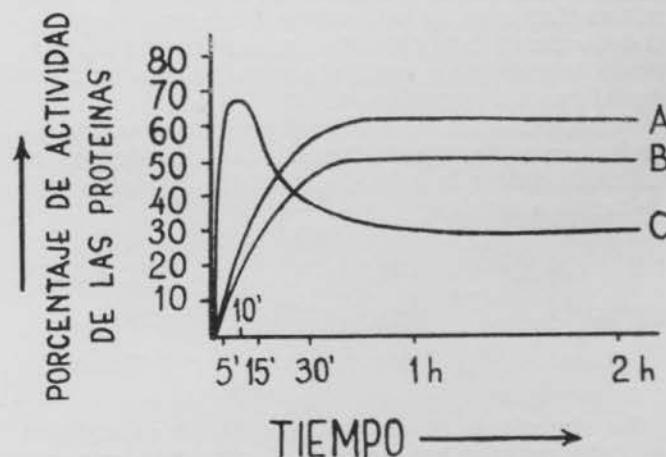


Fig. 2.—Distribución isotópica en distintas fracciones de proteínas de hígado de rata (Kuzoflewa).

A.—Proteína estructural.
B.—Proteína estructural soluble (en urea al 30 por 100).
C.—Proteínas fácilmente solubles.

ción de aminoácidos mucho más intensa. La velocidad de inclusión de los aminoácidos en las proteínas estructurales globales del hígado de rata es mucho menor que la velocidad de incorporación de aminoácidos en los elementos proteínicos de la seroalbúmina. Después de la hepatectomía parcial, la velocidad de incorporación de los aminoácidos en las proteínas microsómicas indica que las proteínas de los distintos elementos estructurales del hígado de rata son de diferente constitución. El ácido ribo-

nucleico de la fracción granular de mayor tamaño se concentra principalmente en los gránulos de la capa más externa y en menor o ninguna proporción en los mitocondrias. Se observa un paralelismo entre la incorporación de aminoácidos en las proteínas de los elementos estructurales del hígado de rata y la incorporación del fósforo del ácido ribonucleico de estos mismos elementos histoquímicos. Evidentemente esto se relaciona con la importante participación de los gránulos citoplasmáticos de mayor tamaño en la biosíntesis de las proteínas.

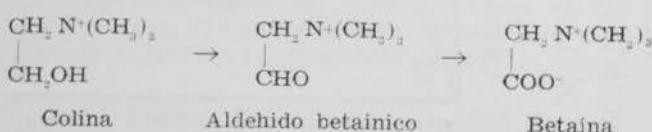
PELLEGRINI (1954), al estudiar la patología del hígado en relación con los síndrome infantiles de deficiencia proteica, realizó electroforeticamente la observación de las proteínas del suero en un grupo de niños mantenidos en condiciones de penuria por lo que afecta al metabolismo proteico, y en otro grupo de niños normalmente alimentados, no deduciendo ninguna diferencia característica entre ambos grupos. Las alteraciones más frecuentes son: el aumento de la gamma globulina y la disminución de la albúmina. Las cromatografías sobre papel de las orinas acusan la excreción aumentada de diversos aminoácidos (glicocola, alanina, valina, arginina, lisina, metionina y triptófano).

KLENK y FAILLARD (1955) confirman la presencia del ácido neuramínico en las proteínas del hígado en la degeneración amiloide (1,6 por 100 de ácido metoxineuramínico en el hígado desecado con acetona de un paciente con amiloidosis).

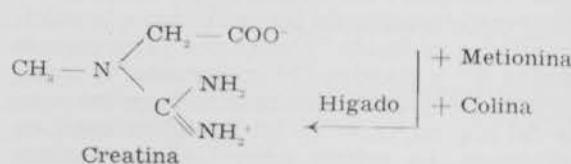
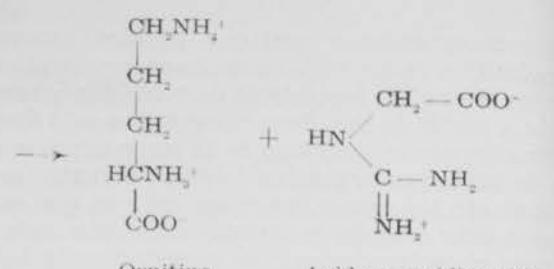
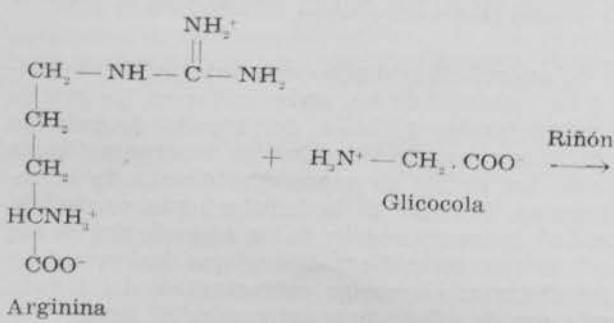
Después de haberlos ocupado de la síntesis de las proteínas en el hígado, en la que todavía participan además los ácidos nucleicos (ácido ribonucleico del protoplasma localizado en los microsomas de las células hepáticas), vamos a tratar ahora de las reacciones más importantes de degradación (catabolismo proteico en el hígado).

Uno de los fenómenos de la degradación de los aminoácidos que tienen lugar en el hígado y que al mismo tiempo es un mecanismo de detoxificación es el denominado betainización, que es un caso particular de la metilación realizada para los mismos fines de defensa del organismo.

Se ha demostrado *in vitro* (extracto fresco de hígado, cortes de hígado fresco) que este órgano es capaz de oxidar la colina, a aldehido betainico y finalmente a betaina:

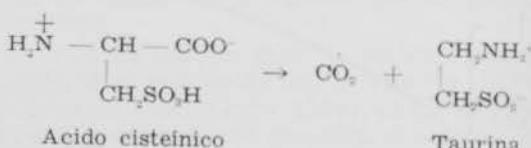


La síntesis de la creatina a partir de la arginina se debe realizar con arreglo al siguiente esquema metabólico y en él participan la metilación, junto a una transaminidación previa que transcurre en el riñón:



Lo mismo que el ácido hipúrico, como proceso detoxificante, el hígado es capaz también de copular diversos aminoácidos con los residuos más diversos (glicocola, glutamina, ornitina, cistina, etc.).

BLASCHKO encontró un fermento hepático capaz de efectuar la decarboxilación del ácido cisteínico.

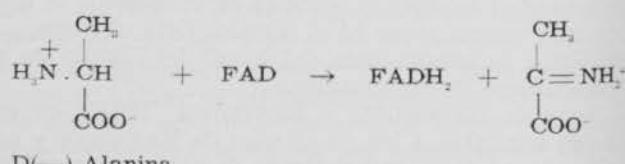


GUGGENHEIM y LÖFFLER, al tratar el hígado perfundido con soluciones de aminas observaron, por primera vez en 1916, la desaminación oxidativa (reacción de aminooxidasa):

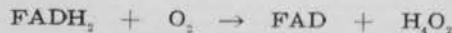
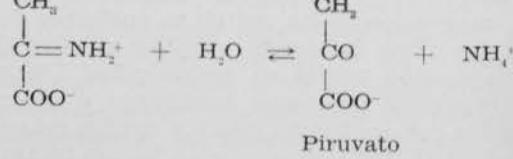


Las aminooxidadas desempeñan un gran papel fisiológico, puesto que evitan la intoxicación del organismo a través de la vena porta y del hígado, destruyendo sustancias amínicas de origen putrefactivo y bacteriano de localización intestinal, de intensa acción farmacológica.

La desaminación oxidativa de los α -aminoácidos fué descubierta en cortes de hígado (y de riñón) por KREBS. Este autor observó dos mecanismos fundamentales: los que tienen como sustrato los aminoácidos de la serie D y los que actúan sobre los correspondientes de la serie L (D-aminoácido-oxidasa y L-aminoácido-oxidasa). El grupo activo de la D-aminoácido-oxidasa (DAAO) es el flavin-adenin-dinucleótico (WARBURG y CHRISTIAN) y las reacciones podemos esquematizarlas de la manera siguiente:



D(-) Alanina

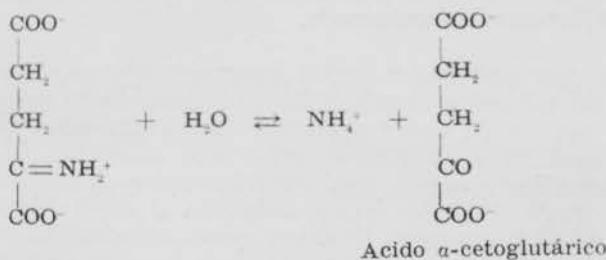
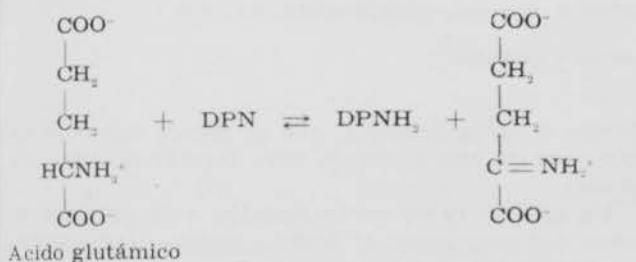


De la D-aminoácido oxidasa, fácilmente extraíble, no se sabe todavía su misión exacta, ya que los aminoácidos de la serie D no son naturales. La D-aminoácido-oxidasa es más activa en presencia de indicios de cianuro. Entre sus inhibidores figura la semicarbazida.

La L-aminoácido-oxidasa (LAAO) produce el mismo resultado, pero actuando en este caso sobre los aminoácidos de la serie natural; está íntimamente ligada a la estructura celular. Los aminoácidos básicos y los ácidos no son atacados por este enzima.

La LAAO se inhibe por los iones amonio, benzoato, yodoacetato y alcohol octílico. El carácter unitario de este fermento no se conoce aún con exactitud y también parece llevar isoaloxazina en el grupo activo.

Una LAAO especial es la glutámicooxidasa, que también se encuentra en el hígado (también en el riñón y músculo). Se diferencia de la DAAO y LAAO porque el acceptor de hidrógeno es el DPN para el organismo animal (codehidrasa I).



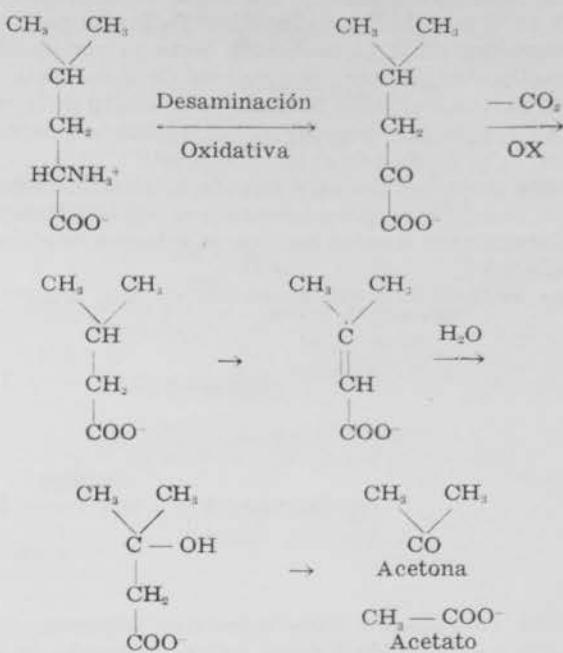
Como indica el esquema su acción es reversible. La reacción inversa (aminación reductora) explica la biosíntesis del ácido glutámico, así como de otros aminoácidos en el hígado.

Dentro de nuestro tema entramos ahora en el estudio de la degradación de las cadenas carbonadas de los aminoácidos en el parénquima del órgano hepático.

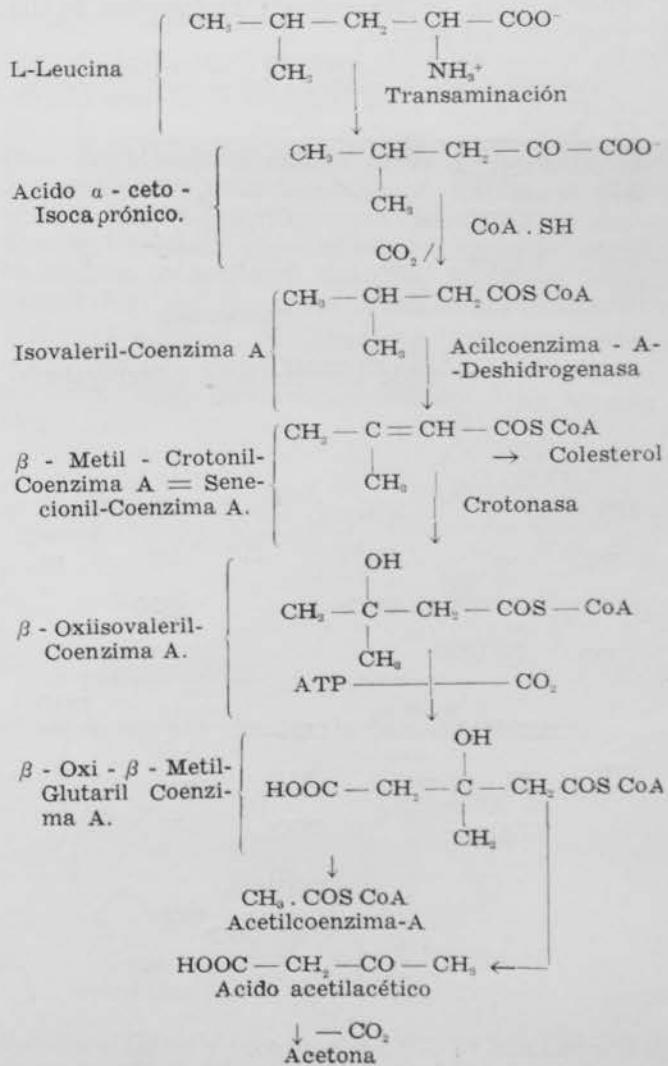
Los α -cetoácidos procedentes de la desaminación oxidativa de los L-aminoácidos pueden transformarse de acuerdo con la situación metabólica del organismo, originando los más diversos productos (azúcares, ácidos grasos o cuerpos cetónicos), o bien se oxidan liberando energía dentro del ciclo de Krebs, energía que se consume en la actividad termodinámica. En este último caso nos encontramos con aminoácidos de tal naturaleza que al desaminarse oxidativamente mediante las aminoácido-oxidases proporcionan directamente elementos o sillares ácidos del ciclo de Krebs, como sucede, respectivamente, con los ácidos pirúvico, oxalacético y α -cetoglutárico que proceden, respectivamente, de la L-alanina, ácido L-aspártico y L-glutámico.

Con el método del hígado perfundido demostraron EMBDEN y su escuela que los aminoácidos se transforman en el hígado del perro en los mismos productos de degradación correspondientes a aquellos ácidos grasos que tienen un átomo de carbono menos. Así, la norleucina da los mismos resultados de

oxidación que el ácido valeránico y la leucina que el ácido isovaleránico y la valina que el ácido isobutírico. De éstos la leucina se oxida originando acetona:



Hoy día se interpretan estos conocimientos empíricos haciendo intervenir todo un sistema enzimático. Veamos como ejemplo la degradación de la leucina:



De acuerdo con estas ideas modernas la acetona, procedente de la leucina, se forma pasando por la sustancia madre, el ácido acetilacético, con incorporación simultánea de una molécula de acetilcoenzima A en el metabolismo glucídico. De forma parecida se degradan otros aminoácidos como la nor-leucina, isoleucina, valina, etc., poniéndose de manifiesto algunas particularidades después de la acción de la crotinasa (oxidación por DPN, activación de formilo mediante el ácido tetrahidrofólico, etc.).

Sobre estos hechos está basada la clasificación de los aminoácidos en glucoformadores o glucoplásticos, cetoformadores o cetoplásticos y agluco-acetoplásticos (DAKIN).

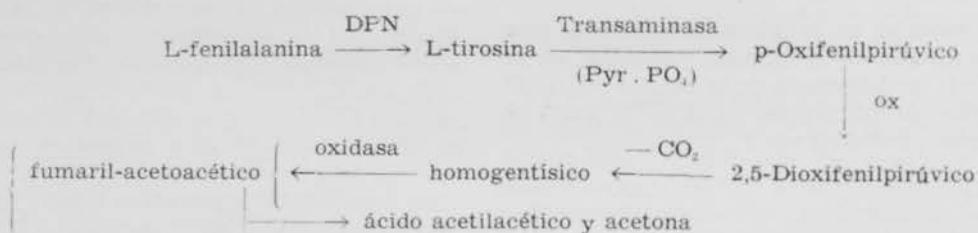
Los aminoácidos glucoformadores son, principal-

mente: Ácidos glutámico y aspártico, alanina, glicocola, cisteína y serina, arginina, ornitina, prolina, oxiprolina e histidina (?).

Los cetoplásticos son cuatro: fenilanina, tirosina, leucina e isoleucina.

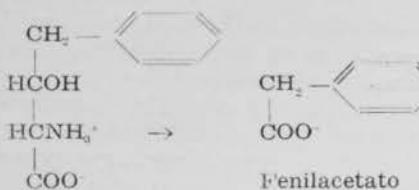
Finalmente en el grupo de los agluco y acetoplásticos, figuran el triptófano y la lisina como más seguros.

EDSON observó que tanto la tirosina como la fenilanina suministran ácido acetilacético como producto final metabólico en el hígado (método de los cortes). La serie de transformaciones se puede escribir a la luz actual de nuestros conocimientos del siguiente modo y en forma resumida:

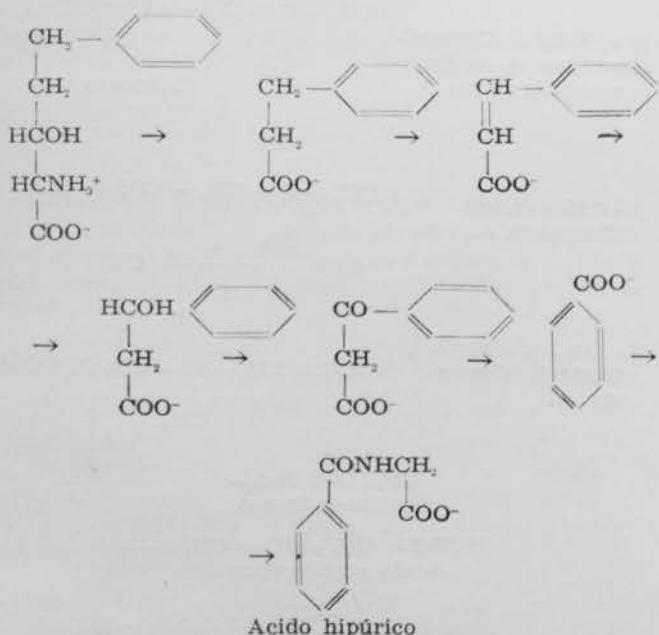


Como excepciones experimentales debemos citar las observaciones de KNOOP, quien comprobó la degradación de los α -amino- β -oxiácidos, así como de los α -aminoácidos, con un resto aromático (incombustible), de cuyo estudio comparativo se deducen interesantes conclusiones respecto al mecanismo de la degradación de las cadenas carbonadas de los aminoácidos en general.

En el caso del ácido α -amino- β -oxi- γ -fenil-butírico se produce en el organismo del perro ácido fenilacético.

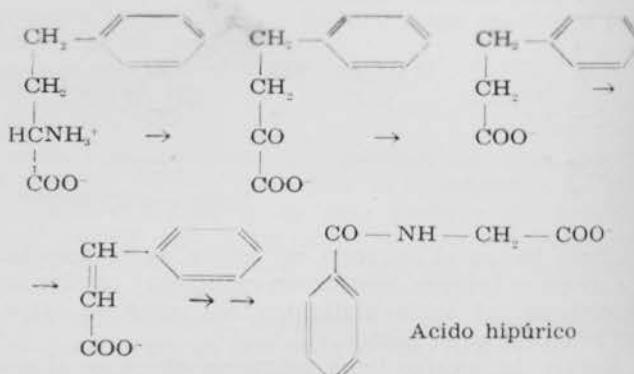


mientras que el ácido α -amino- β -oxi- δ -fenil-valeriano



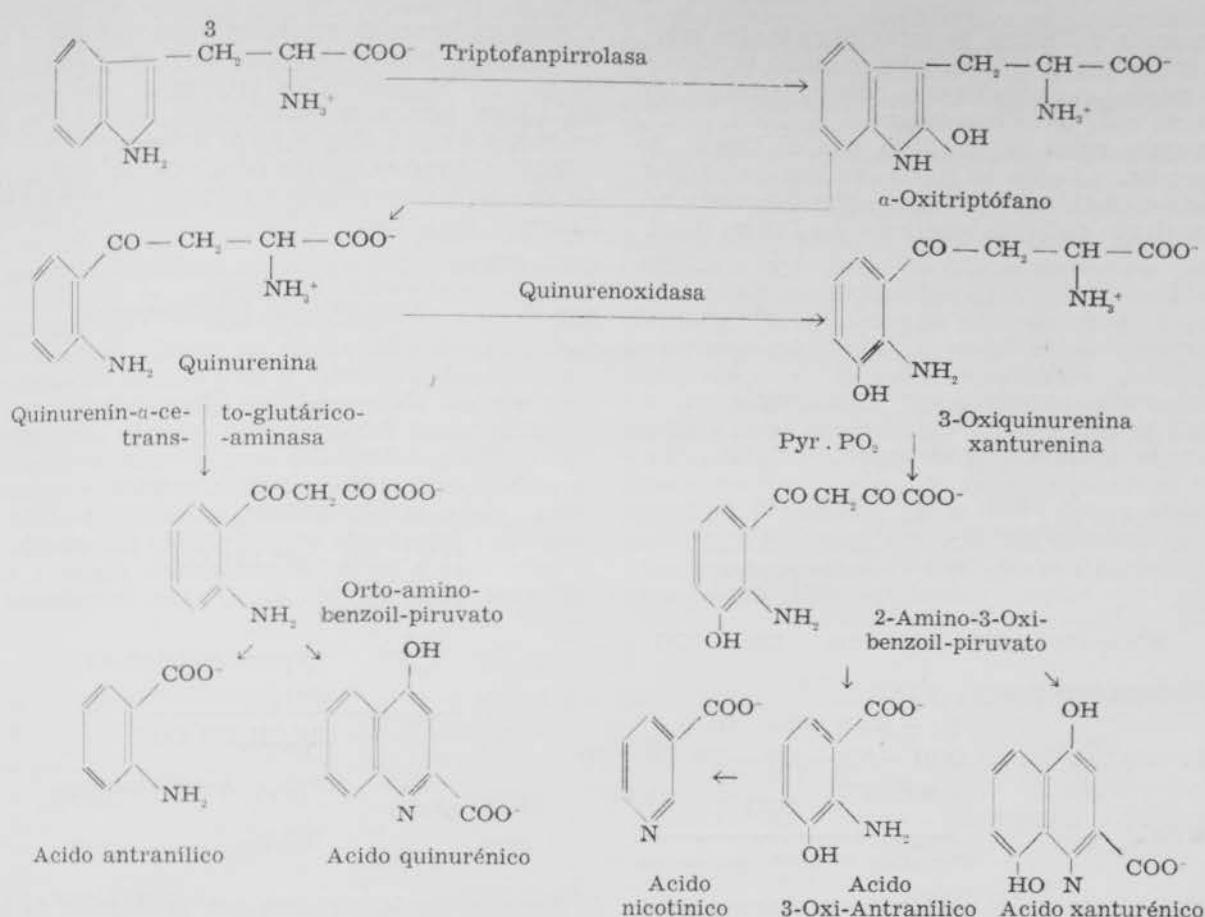
forma el ácido benzoico, que el hígado (como el riñón) copula con glicocola para formar el ácido hipúrico.

En cambio, y en contraposición a la primera de estas dos reacciones, el ácido α -amino- γ -fenil-butírico suministra el mismo producto que la segunda y últimamente mencionada.



con lo que se pone de manifiesto el gran papel desarrollado por la presencia o ausencia de un oxhidrilo en posición beta, circunstancia que influye decisivamente en el destino de estas degradaciones biológicas. Es decir, que las α -amino- β -oxi-ácidos en general deben seguir la ley de la β -oxidación y no la regla de Embden. Por otra parte los α -amino- β -oxi-ácidos no pueden ser productos normales del metabolismo intermedio en el hígado y metabolitos de la degradación normal de los aminoácidos. La serina y treonina, por ejemplo, siguen otras transformaciones para dar lugar a la glicocola.

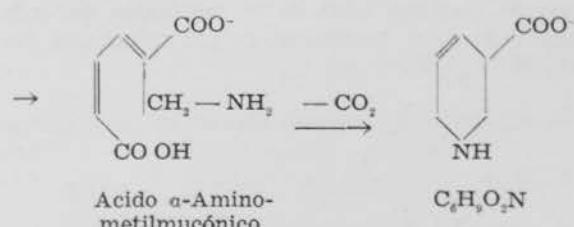
A continuación nos ocuparemos del metabolismo hepático de algunos aminoácidos constituyentes de las proteínas del mismo órgano. Como se sabe, este metabolismo se desplaza claramente en el sentido catabólico durante un ayuno prolongado. En esta última circunstancia la proteolisis libera sus sillares fundamentales monopeptídicos y éstos se aprovechan en su mayor parte para la formación de azúcar. Pero esto no sucede en el caso del triptófano, cuyo estudio haremos a continuación de manera esquemática y en lo que al hígado se refiere:



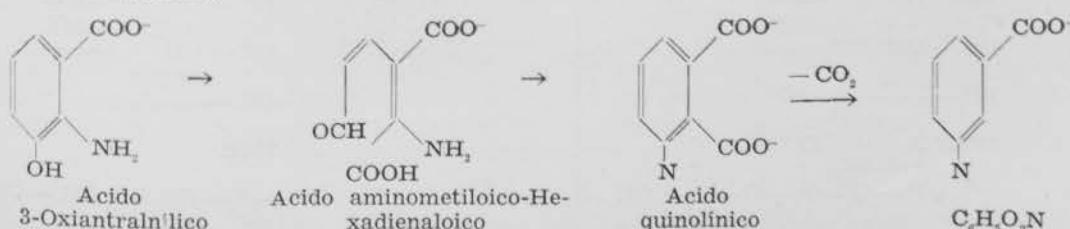
Como se sabe, los pasos detallados de este metabolismo se han puesto en claro gracias al empleo del moho *Neurospora crassa* (BEADLE y cols.) y sus mutantes obtenidos con rayos Roentgen. A primera vista podría pensarse lógicamente que el ácido quinurénico fuera la sustancia madre del ácido nicotínico, sin embargo, como indica el esquema, el ácido nicotínico procede de la 3-oxiquinurenina, pasando por el ácido 3-oxiantranílico. Esto se ha comprobado administrando triptófano marcado con carbono C¹⁴ isotópico en el átomo n.º 3, porque entonces se obtiene un ácido nicotínico completamente desprovisto de C¹⁴, lo que demuestra la degradación acabada de la cadena lateral. Cuando la rata blanca y jo-

ven se alimenta con triptófano y quinurenina racémica se observa en el hígado un acúmulo de alanina libre, lo cual corrobora lo anterior. Wiss logró extraer del hígado un enzima capaz de desdobljar la quinurenina en ácido antranílico y alanina, el cual sería responsable del fenómeno fisiológico anterior. Wiss ha llamado la atención sobre el papel de la fosforilación oxidativa al aislar del hígado el ácido 3-oxiantranilfosfórico como producto intermedio.

HARRIS y BINNS, recientemente (1957), sugieren el esquema siguiente a favor del ácido *α*-aminometilmucónico, como precursor posible del ácido nicotínico:



ya que hasta el presente se han propuesto otras suposiciones, como, por ejemplo, la que admite las siguientes transformaciones:



que encuentran apoyo experimental por haberse aislado y caracterizado el ácido aminometiloico hexa-

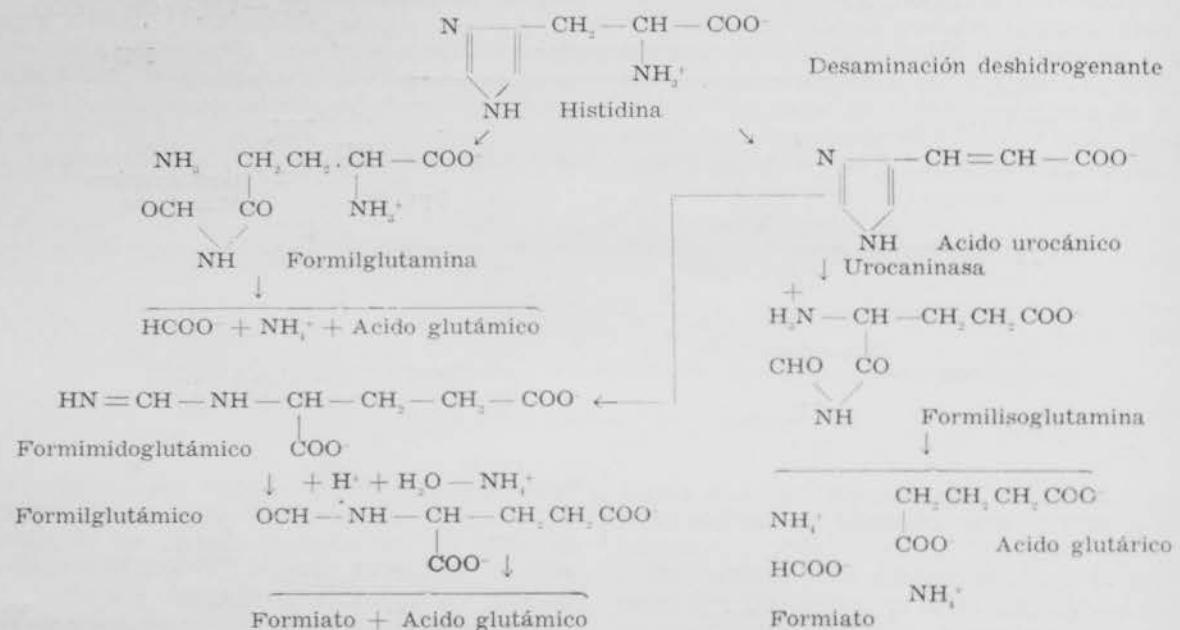
dienalico (Wiss y otros, 1956-1957) al incubar a 0° un preparado de hígado con ácido 3-oxiantranílico.

La marcha definitiva de estas complicadas reacciones del mayor interés bioquímico queda pendiente de ulteriores investigaciones y comprobaciones que aclaren de una vez este problema.

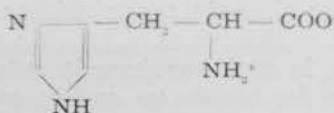
EDIBACHER encontró, en 1926, que el hígado de la mayor parte de los animales contiene un enzima denominado histidasa, que actúa específicamente sobre el sustrato histidina separando dos tercios de ni-

trógeno en forma de amoníaco, mientras que el tercer átomo se separa en forma de ácido 1-glutámico. No se conocen todavía los detalles de esta reacción enzimática, pero sí se sabe que se forman diversos productos y entre ellos el ácido fórmico.

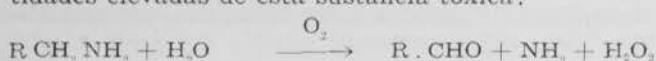
Existen diversas teorías para explicar esta degradación, las cuales podemos resumir en el siguiente diagrama sinóptico:



En el laboratorio ha podido comprobarse que el hígado (así como el riñón y el páncreas) es capaz

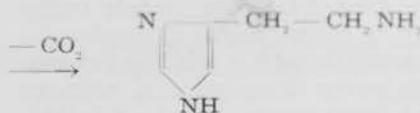


Según ACKERMANN, a partir de 1 kg. de hígado de buey se pueden extraer 66 mg. de histamina. La histaminasa, un fermento que también se encuentra en el hígado, desamina oxidativamente la histamina y su misión en el organismo es la de eliminar las cantidades elevadas de esta sustancia tóxica;



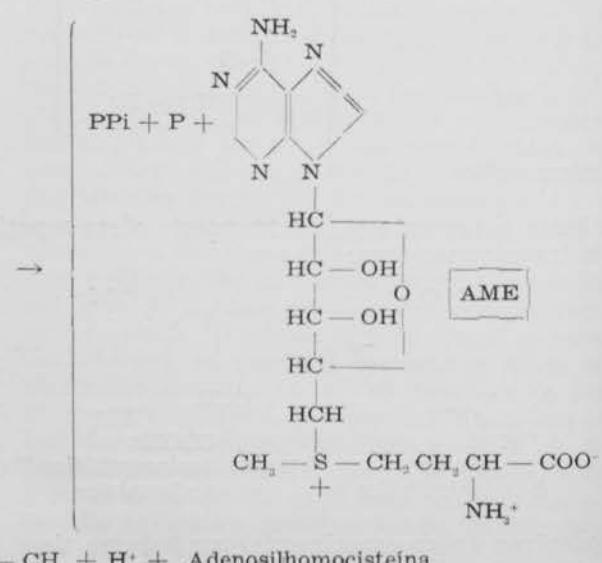
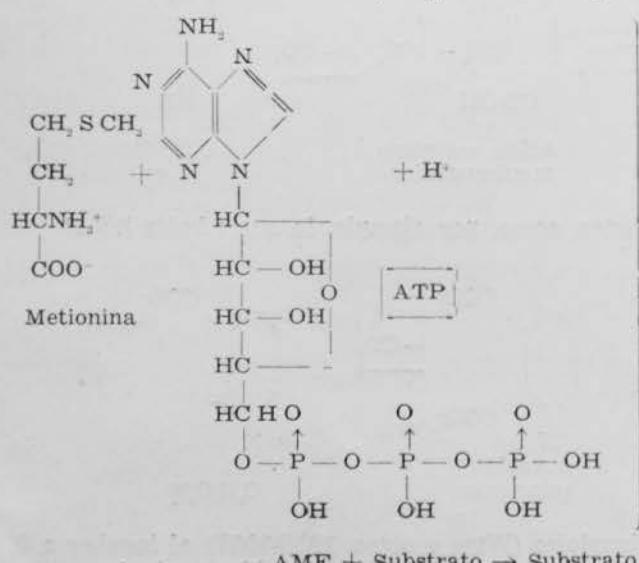
El grupo metílico labil de la metionina se cede fácilmente a otros sustratos, originándose así las

de decarboxilar la histidina con producción de histamina o β -imidazoletilamina:



betaínas, ya mencionadas, y otros metabolitos de gran importancia, como, por ejemplo, la colina (síntesis de la colina a partir de la colamina y de la glicocola).

El ácido fólico y la vitamina B_{12} participan aquí como factores de metilación en el hígado. BORSOOK y DUBNOFF formularon la metilación del ácido guanidin-acético para la síntesis de la creatina, que ya hemos mencionado al hablar de la betainización. Esta metilación es debida a la metionina en su forma activa (reacciones de Cantoni):

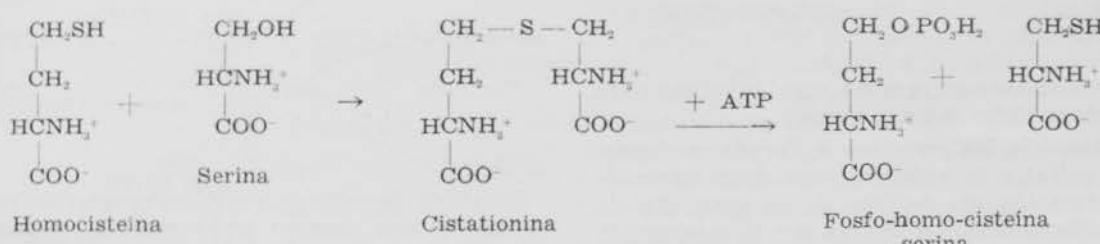


En la práctica médica esta variedad de reacciones bioquímicas debe afectar la integridad orgánica del hígado cuando estas reacciones no se equilibren, y si bien en el presente apenas si podemos concretar algunos datos, es de esperar que próximas investigaciones sobre este órgano aclaren los problemas que la Patología plantea. Por el momento sabemos algunas de las relaciones que existen entre ciertas enfermedades del hígado y los trastornos funcionales conocidos en la literatura como: a), degeneración adiposa del hígado; b), cirrosis; c), hiperplasia nodular; d), necrosis, y e), atrofia aguda amarilla o distrofia hepática aguda. Como ha dicho HÜBSCHMANN, las diferencias entre distrofias y atrofias y cirrosis pueden considerarse como pequeñas, toda vez que las observaciones clínicas sólo permiten hacer diferencias cuantitativas, pero difícilmente cualitativas.

Un régimen alimenticio con sobrecarga lipídica y deficiencia de proteínas y colina origina la degeneración adiposa del hígado (efecto alipotropo, motivado por la ausencia simultánea de colina y metionina o por abundancia relativa de cisteína o cistina). El

efecto lipotropo se produce por administración del aminoácido metionina. Se comprende fácilmente que, dado el alto valor biológico de la metionina, su ausencia motive una distrofia con degeneración adiposa en el hígado.

Las necrosis hepáticas serían trastornos metabólicos por inhibición primaria de la biosíntesis de los protídos. Aquí una aminoácido en exceso, como la cistina, actúa como si fuera un tóxico, igual que el arsénico o el fósforo. La misma metionina ausente o la cisteína ausente actúan en el mismo sentido, favoreciendo la aparición de necrosis. A la recíproca, la necrosis del hígado se puede evitar o curar administrando uno de estos aminoácidos: cistina, metionina, homocisteína. Este último aminoácido interviene como sillar de la biosíntesis de la cisteína y procede directamente de la metionina, cuando la adenosilmetionina sintetiza colina a partir de la serina. La homocisteína que se libera de la adenosilhomocisteína reacciona con la serina para dar cistationina, y este producto intermedio se descompone en presencia de ATP, originando cisteína:

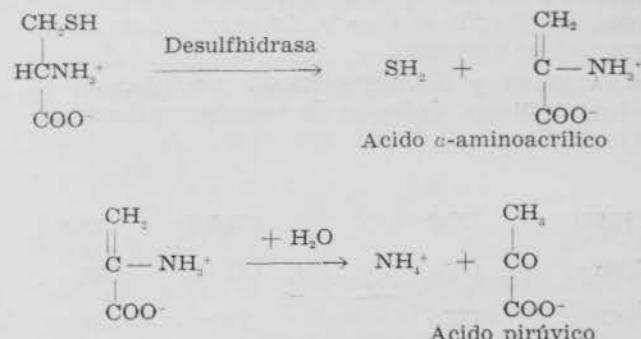


La fosfohomoserina se transformaría inmediatamente en el ácido α -cetobutírico.

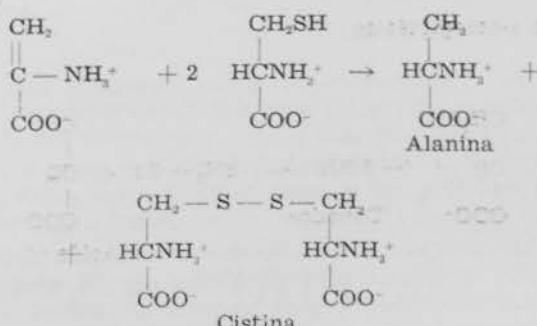
Durante el ayuno no se origina necrosis, explicándose esta paradoja porque los aminoácidos que se liberan en la proteolisis impiden la aparición de esta dolencia. Se manifiesta en estos comportamientos una idea biológica: la necesidad de equilibrar la presencia de aminoácidos que afluyen al hígado, pero todavía estamos lejos de conocer con exactitud cuáles son las condiciones que rigen este equilibrio biológico, pues el principio de la relatividad debe ser dominante y un tanto impreciso por la diversidad de factores que determinan este equilibrio realmente complejo.

El metabolismo de la cisteína y su transformación sucesiva en ácido cisteínico y taurina es del mayor interés, ya que esta última se transforma en ácido taurocólico y como tal es eliminado por la vía biliar.

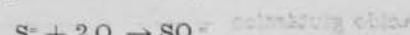
transforma primeramente en ácido α -aminoacrílico, el cual se desamina a ácido pirúvico o



mediante un exceso de cisteína se convierte en alanina:

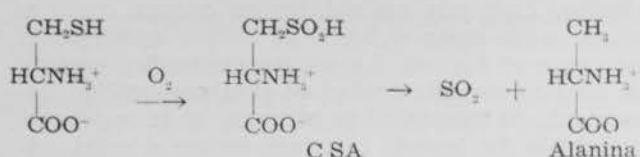


por otro lado, el SH_2 se oxida a SO_4^{2-} :

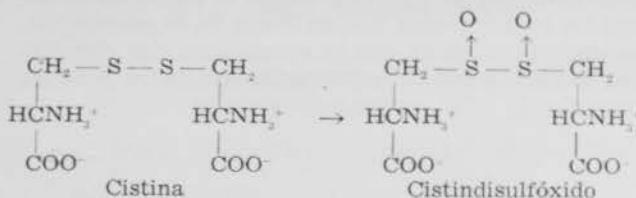


El hígado también participa en el metabolismo del azufre de los aminoácidos y protídos. A los fermentos que actúan en este sentido se les denomina desulfhidrasas. Si consideramos la cisteína, ésta se

La cisteína puede oxidarse en el azufre y convertirse en un compuesto sulfínico (C SA), que sirve de sustrato al fermento desulfinitinasa (FROMAGEOT), hallado en el hígado, que separa anhídrido sulfuroso. Estas reacciones podrían resumirse del siguiente modo:



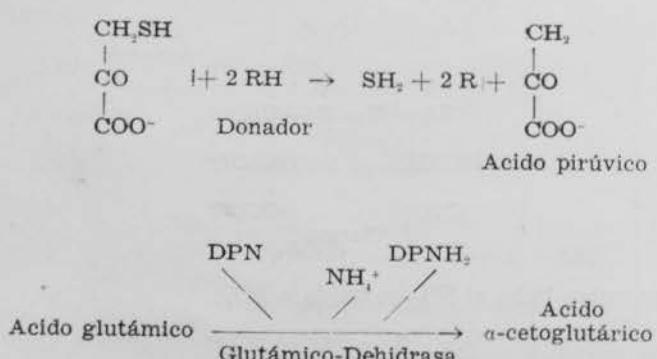
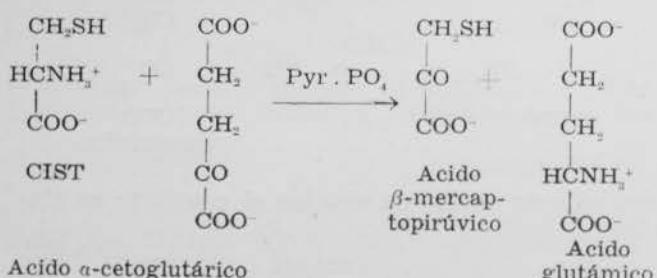
La cistina se oxida también en el azufre, formándose cistindisulfóxido



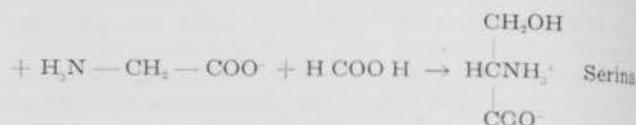
el cual se transforma en taurina, combinándose para formar también el ácido taurocólico.

En consecuencia, las proteínas sulfuradas se transforman en sulfatos inorgánicos o en ácido taurocólico. La formación del sulfato es de gran interés para el equilibrio ácido-básico, ya que la combustión de los prótidos en el organismo suministra por este motivo valencias fuertemente ácidas, a expensas de grupos SH, -S-S y CH₂-S- de naturaleza neutra. Por esta razón disminuyen las reservas de álcali. Como vemos, todo esto se realiza en el hígado. En el ricketismo renal se deposita la cistina en diversos órganos, incluyendo el hígado. La etiología de la enfermedad se desconoce.

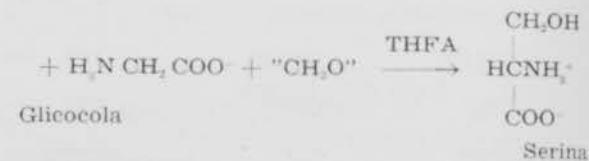
CHATAGNER y SAURETTE-IGNAZI proyectan el siguiente esquema, deducido de sus observaciones experimentales:



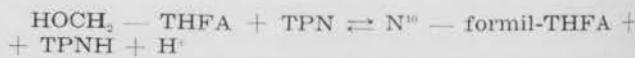
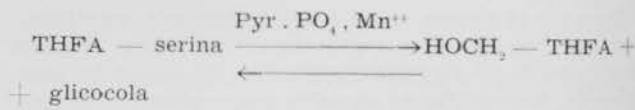
Los aminoácidos no esenciales glicocola y serina están estrechamente relacionados metabólicamente, pudiendo transformarse mutuamente de acuerdo con las necesidades del momento, precisamente el hígado es la sede de estas transformaciones. LEUTHARDT demostró que los cortes de hígado en presencia de serina y ácido benzoico forman ácido hipúrico, lo que es una prueba de que la serina se transforma en glicocola. También la serina marcada isotópicamente demuestra el paso directo de serina a glicocola (SHEMIN). SAKAMI observó que el ácido fórmico marcado con C¹⁴ se integra con glicocola para formar serina:



Esta reacción se formula hoy con formaldehído activado con ácido tetrahidrofólico:



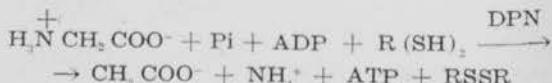
JAENICKE describe la reacción reversible, como resultado de sus observaciones precisas, según el esquema sencillo:



FLACKS, por otra parte, descubre la reacción:

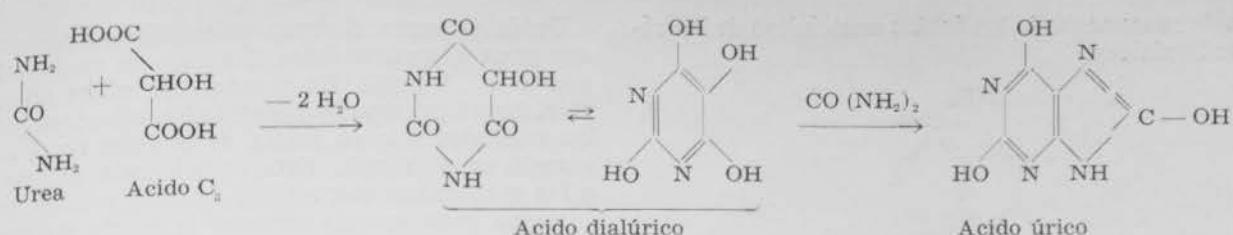


STADTMAN y ELLIOT observan una nueva manera de degradación de glicocola con formación de ATP rico en energía y liberación de amoníaco:



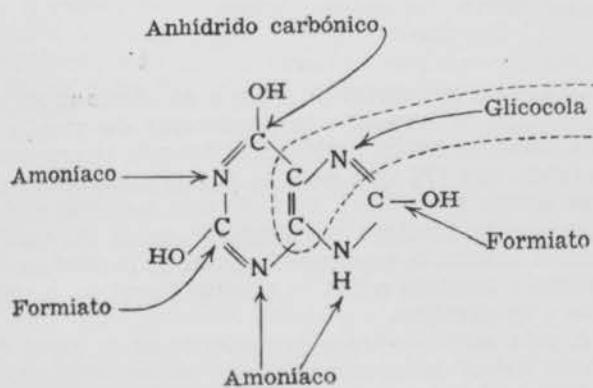
El hígado de los aves y reptiles sintetiza ácido úrico como producto de excreción del nitrógeno proteico (MINKOWSKI).

La antigua teoría que se formula de acuerdo con el siguiente esquema, en el que una molécula de urea se une a un resto tricarbonado, que luego reacciona con una segunda molécula de urea, para dar la trioxipurina,



ha sido desechada, ya que cae por su base al no poderse formar urea con facilidad en el cuerpo de las aves y reptiles, entre otras razones, por carecer de arginasa en su hígado, que es el fermento que descompone la arginina en urea y ornitina.

Pero las ideas más modernas sobre la uricogénesis se concretan y resumen en la siguiente distribución, resultado de investigaciones con isótopos, como demostraron entre otros BUCHANAN y SONNE:



En esta integración intervienen diversos factores de la mayor importancia, ya que la integración de

los restos formiato se realiza en la forma denominada de "formiato activo", que corre a cargo del ácido tetrahidrofólico, THFA, activado a su vez por la vitamina B₁₂. Reacciones de este tipo se demuestran experimentalmente, pues un producto intermedio, como el 4-Amino-5-carbamilimidazol, se acumula en los cultivos de *Escherichia coli* cuando se añade al medio de cultivo una cantidad de sulfamida suficiente para inhibir la integración del formiato activo por bloqueo del sistema fólico.

El formiato se incorpora a la inosina en presencia de un extracto de hígado de pichón sustituyendo al átomo de carbono núm. 2 de la inosina y esta inosina puede transformarse en adenosina incorporando amoniaco. Estas facilidades de reacción se explican por la gran tendencia a formar nucleóxidos y nucleótidos que parecen estar en un estado particularmente activo. Esta idea debe tenerse en cuenta para explicarnos la gran capacidad metabólica e inducitora de los polinucleótidos.

En el hígado de diversos mamíferos se han puesto de manifiesto diversas enzimas que actúan específicamente sobre las bases púricas, quitando grupos aminos y poniendo en su lugar un oxhidrilo (desaminación hidrolítica: acción de la adenasa sobre la adenina, de la guanasa sobre la guanina) o haciendo introducir el oxhidrilo de manera oxidativa (acción de xantina-oxidasa):



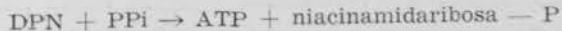
La uricasa, un fermento que se encuentra en muchos mamíferos (buey, cerdo, perro) y que oxida el ácido úrico (de ahí su otro nombre de úrico-oxidasa) a alantoina, no se encuentra en el hígado humano.

La adenasa transforma la adenina (6-aminopurina) en hipoxantina (6-oxipurina) y no se ha demostrado en el hombre. La guanasa transforma la guanina (2-amino-6-oxipurina) en xantina (2,6-dioxopurina), por desaminación del grupo amino en posición 2 del núcleo purínico. Esta guanasa existe en el hígado del hombre, pero falta en el cerdo; por esta razón la gota del cerdo o artritis no es de ácido úrico como en el hombre, sino de guanina, por carecer de guanasa, que es la que transforma la guanina en xantina, como paso previo a ácido úrico.

La xantinoxidasa, que oxida la hipoxantina a xantina y la xantina a ácido úrico está mucho más difundida en los hígados de la mayor parte de los animales mamíferos.

KORNBERG obtuvo del hígado un enzima denominado adeniltransferasa, que actúa sobre la coenzima I (DPN) en presencia del fosfato inorgánico (PPi)

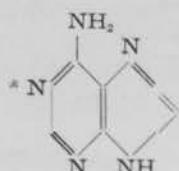
de acuerdo con el esquema, que podemos admitir como clásico, y representando al mismo tiempo un tipo especial de reacción bioquímica (reacción de KORNBERG):



Las hormonas cáracteres suprarrenales y el ACTH estimulan el catabolismo purínico —en el mismo sentido que el proteico— en el hígado, favoreciendo así, en el caso del metabolismo purínico, la formación de ácido úrico y, en el caso de los proteídos, la producción de urea.

Al administrar adenina marcada con nitrógeno pesado N¹⁵ se incorpora este elemento isótopo en los ácidos nucleicos, encontrándose el isótopo al estado de derivados guanínicos. Aquí es nuevamente el hígado el órgano que desarrolla el mayor trabajo y máxima actividad al parecer, puesto que absorbe la mayor parte de adenina y la actividad específica correspondiente va paralela a un mayor in-

dice de renovación de los ácidos nucleicos de las células hepáticas.



Adenina marcada

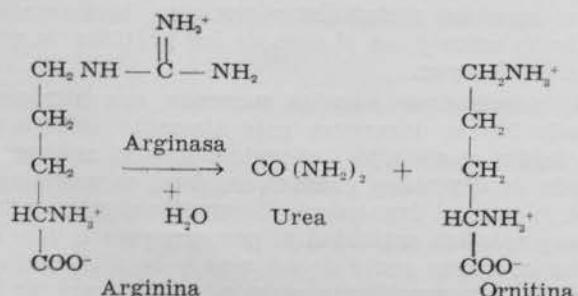
Cuando se investiga mediante la técnica isotópica el reparto entre las diversas purinas, constituyentes de los dos tipos fundamentales de ácidos nucleicos de la célula (RNA y DNA), se observa cuando ésta está en reposo que el RNA absorbe de isótopo el 99 por 100, y el 1 por 100 restante (aproximado) se fija por el DNA. Esto quiere decir que el núcleo de la célula en reposo apenas participa en el metabolismo, mientras que el RNA del protoplasma (microsomas) desenvuelve la mayor actividad.

Por el contrario, en aquellas células que están en crecimiento y reproducción por mitosis como las del parénquima hepático en proceso de regeneración, la fracción de DNA de los núcleos celulares absorben un 43 por 100 de los isótopos, mientras que a la fracción RNA del protoplasma le corresponde aproximadamente el 57 por 100. Este segundo comportamiento sólo se explica porque la división celular necesita aumentar la cromatina precisa para los núcleos; de ahí el incremento de actividad de un 42 por 100 a favor del DNA, mientras que tiene lugar un decremento análogo para el RNA en el estudio comparativo. Como regla general y en el mismo sentido expresado, las renovaciones isotópicas máximas y actividades específicas mayores corresponden a tejidos tales como medula ósea, mucosa intestinal, bazo, hígado en proceso regenerativo, etc., que presentan una actividad biológica mucho mayor.

Finalmente, vamos a ocuparnos de la formación de urea o ureogénesis, puesto que un gran número de observaciones clásicas concuerdan que el hígado es el único lugar del organismo donde se forma la urea, procediendo el nitrógeno correspondiente del catabolismo de los prótidos. En los reptiles y aves no se forma urea, como hemos dicho, sino que el hígado de estos animales transforma los prótidos en ácido úrico.

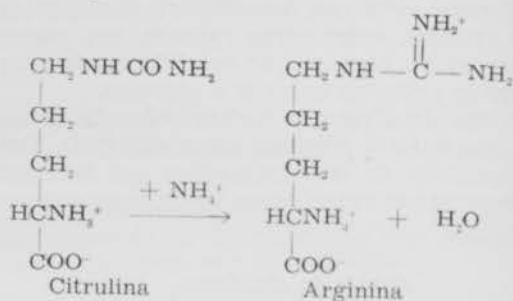
En el animal mamífero el hígado es, como hemos dicho, el único lugar de producción de la urea. La teoría más antigua en este sentido supone que la urea se forma pasando antes por las fases de carbonato amónico y carbamato. WERNER había tenido en cuenta el ácido ciánico. Pero, en realidad, estas teorías solo tienen ya carácter histórico.

La versión plenamente confirmada es que el hígado contiene un fermento llamado arginasa, el cual actúa sobre la arginina, produciendo urea y ornitina.



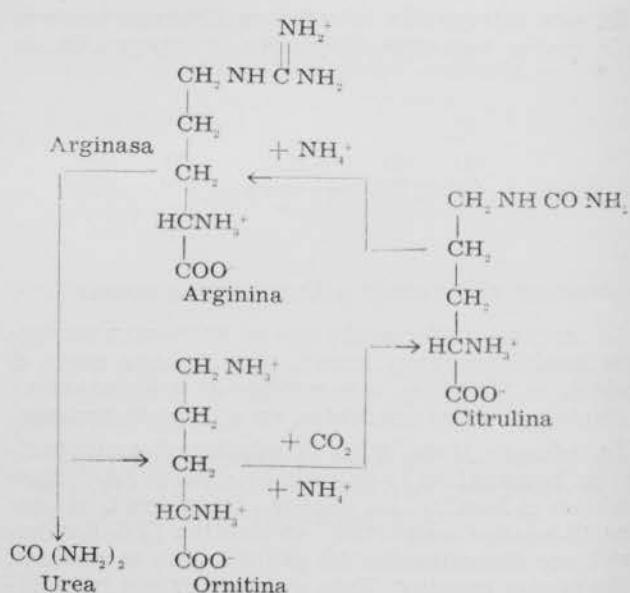
Desde el punto de vista químicofisiológico existe una gran diferencia entre el hígado de un mamífero y el de ave o reptil. En el mamífero existe arginasa en el hígado en grandes cantidades, mientras que en los segundos sólo en forma de indicios en el riñón y nada en el hígado. Esta coincidencia es paralela a las excreciones respectivas de urea y ácido úrico.

KREBS y su escuela crearon la teoría de que la citrulina, que en lugar del grupo amino en S como la ornitina lleva un resto de urea, sirve de sustancia madre de la urea, pero no directamente, sino a través de la arginina:



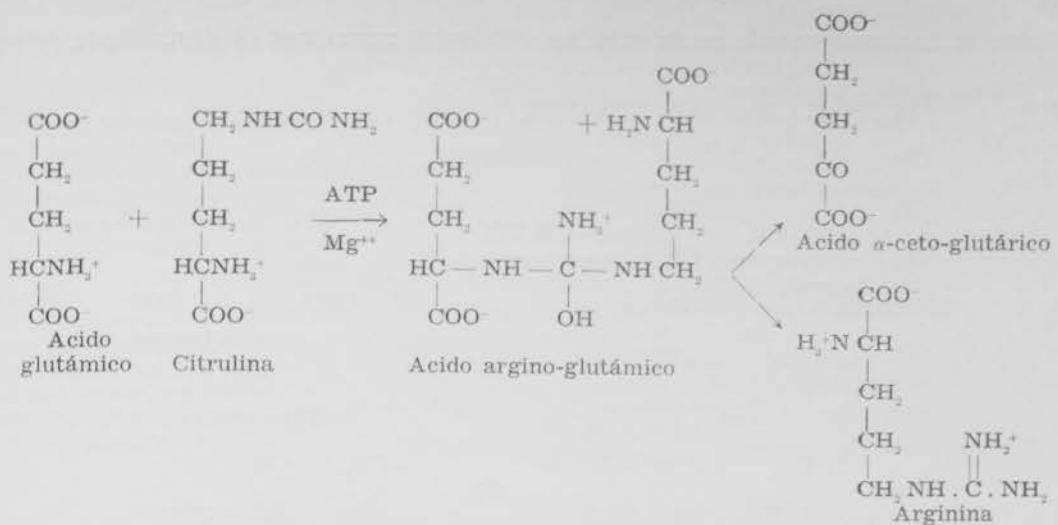
Cuando a los cortes de hígado se añade arginina o citrulina se aumenta la producción de urea, por otra parte, se ha comprobado utilizando bicarbonato marcado con C^{14} que éste se integra en forma de urea (grupo carbonilo). De todo este material se deduce que la ornitina se comporta como un catalizador o sustancia madre activadora en la producción de urea y también actúa en el mismo sentido la arginina y la citrulina.

A esta serie de transformaciones se le llama ciclo de Krebs de la urea y puede esquematizarse en el hígado de la manera siguiente:



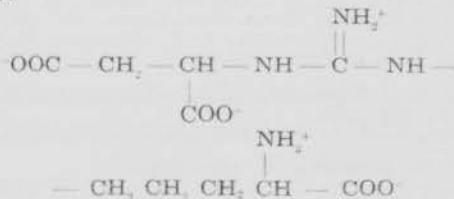
LEUTHARDT ha observado experimentalmente que cuando a los cortes de hígado se administra la glutamina se forma mayor cantidad de urea, así como en presencia de ácido pirúvico. Estos hechos confirman la complejidad de este metabolismo, cuyos pasos detallados se desconocen aún por el momento.

BORSSOK y DUBNOFF propusieron, en relación con el problema, la siguiente transaminación interna seguida de un desdoblamiento, en la que además hace falta la presencia del ATP, iones Mg^{++} y un enzima específico,



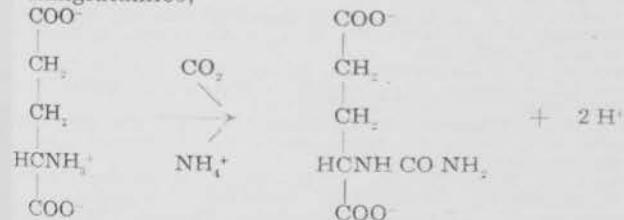
con lo que se pone de manifiesto la posibilidad de que también el nitrógeno aminico puede desempeñar el mismo papel que el ión amonio, sintetizando también arginina a partir de citrulina.

Análogamente se combina la citrulina con ácido aspártico para dar el compuesto intermedio argino-succínico



que se transforma en arginina y ácido mágico como productos principales.

El ácido glutámico interviene, además de otra manera, formando el producto intermedio ácido carbamilglutámico,

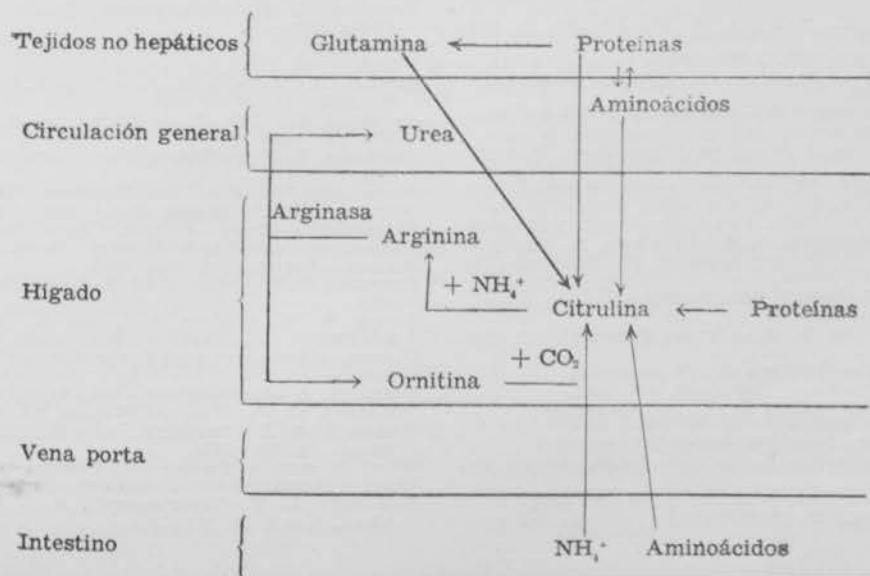


sustancia que a su vez, mediante un enzima específico, aún no muy bien conocido, y en presencia de ATP, CO_2 y NH_4^+ , origina citrulina —y quizás también ornitina— a partir de la ornitina (autocatálisis).

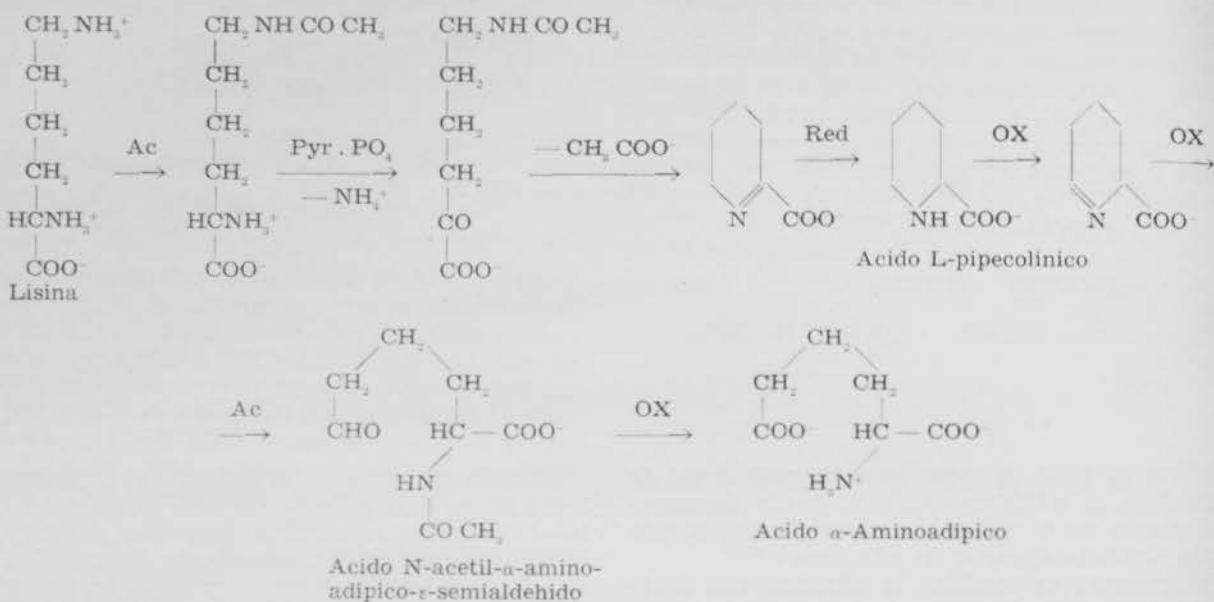
En toda esta serie de reacciones, el organismo integra en su hígado, como órgano principal del metabolismo proteico, un funcionamiento cíclico y continuo igual que el funcionamiento de un reloj, que sólo necesita para ponerse en marcha un suministro de energía antes de agotar la acumulada en su muelle real: En el caso del hígado el agente suministrador de energía es el ATP y el trabajo producido es la combinación del CO_2H^- con el NH_4^+ para dar urea (proceso endergónico acoplado a reacciones exergónicas). Vemos, pues, que el consumo energético presenta rasgos comunes tanto en la neogénesis de urea en el hígado como en la biosíntesis de las proteínas en los organismos heterotrofos.

Si tenemos en cuenta los restantes detalles que afectan fisiológicamente estas transformaciones, tendríamos que considerar los hechos siguientes: El hígado realiza el ciclo de Krebs para la urea. La citrulina procede aquí de las mismas proteínas hepáticas y también de las extrahepáticas, y de los aminoácidos que vienen del intestino. La urea formada en el hígado va a parar a la sangre.

La citrulina se formaría, además, a partir de la ornitina, como hemos dicho, aprovechando el bicarbonato formado por la respiración en el hígado, mientras que el ión amonio o amoniaco procede de la sangre por la vena porta que, a su vez, procede del intestino. La glutamina, procedente de las proteínas extrahepáticas, pasaría al hígado para integrar citrulina, gracias al paso previo por la circulación general. Todas estas particularidades podrían resumirse de acuerdo con LEUTHARDT con el siguiente esquema, algo modificado:



Para la lisina se han comprobado en la rata las siguientes reacciones de degradación (WORK):



Pero en este caso la reacción inversa de síntesis es muy difícil de realizar en el mamífero; de ahí el carácter esencial o indispensable del aminoácido lisina.

BIBLIOGRAFIA

- AGREN, G.; HENRIC DE VERDIER, y GLOMSET, J.—Acta Chem. Scand., 8, 1570; 1954.
 AGREN, G.; HENRIC DE VERDIER, y GLOMSET, J.—Acta Chem. Scand., 8, 503; 1954.
 ALLISON, J. B.—Ann. Rev. Biochem., 17, 275; 1948.
 BENSON, J. A.; KIM, K. S.; BOLLMAN, J. L., y VAN HOOK.—Ann. J. Physiol., 182, 217; 1955.
 BEREZOPSKAIA, N. N.—Biokimia, 21, 733; 1956.
 BEREZOPSKAIA, N. N., y SMIRNOV, N.—Biokimia, 21, 457; 1956.
 BERG, C. P.—Ann. Rev. Biochem., 13, 239; 1944.
 BLANCHARD et al.—J. Biol. Chem., 161, 583; 1945.
 BLASCHKO, H., y HOPE, D. B.—Bioch. J., 62, 335; 1956.
 BLOCK, W.—Hoppe-Seyler's Zeits. Phys. Chem., 294, 1; 1953.
 BORSOOK, H., y DEASY, C. L.—Ann. Rev. Biochem., 20, 209; 1951.
 BORSOOK y otros.—J. Biol. Chem., 179, 689; 1949; eadem, 184, 529; 1950; eadem, 215, 111; 1955.
 BOULANGER, P., y OSTEUX, R.—Bioch. et Biophys. Acta, 21, 552; 1956.
 BRAUNSCHTEIN, A. E.; SEVERINA, I. S., y BABSKAIA, I. E.—Biokimia, 21, 738; 1956.
 CAMPBELL, P. N., y WORK, T. S.—Nature, 171, 997; 1953.
 CANTONI, G. 2.—Proc. 3rd. Intern. Congr. Biochem. Bruselas, 1955.
 CANTONI, G. L., y DURELL, J.—Fed. Proc., 15, 229; 1956.
 CHANTRENE, H.—Nature, 177, 580; 1956.
 CHATANGER y otros.—Bioch. et Biophys. Acta, 9, 370; 1952.
 CHATANGER, F., y SAURETTE-IGNAZI, G.—Bull. Soc. Chim. Biol., 38, 415; 1956.
 COHEN, P. P.—Ann. Rev. Biochem., 14, 357; 1945.
 COHEN, G. N., y HIRSCH, M. L.—Compt. Rend. Soc. Biol., 239, 1.709; 1954.
 CURLETT, R.; AMMAN, Z., y VILLA, A. M.—Plasma, 2, 513; 1954.
 DALGLIESH, C. E.—Nature, 171, 1.027; 1953.
 EDLFACHER-LEUTHARDT.—Tratado de Química Fisiológica. Aguilar. Madrid, 1958.
 ENNOR, A. H., y ROSENBERG, H.—Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci., 32, 701; 1954.
 FLAKS, J. G., y BUCHANAN, J. M.—Ann. Chem. Soc., 76, 2.275; 1954.
 FRIEDEBERG, W.; WALTER, H., y HAUROWITZ.—Science, 121, 1.871; 1955.
 FRIDMAN-POGOSWA, A. V.—Dokl. Akad. Nauk, 102, 1.227; 1955.
 GABRILOWA, K. I., y KONIKOWA, A. S.—Biokimia, 19, 414; 1954.
 GERSCHENOVITCH, Z. S., y KRICHESKAIA, A. H.—Biokimia, 21, 715; 1956.
 GORDIN, R.—Acta Med. Scand., 149, 1; 1954.
 GORIUKINA, T. A.—Biokimia, 21, 90; 1956.
 GREENLEES, J., y LE PAGE, G. A.—Cancer Research, 15, 256; 1955.
 GUGGENHEIM y LÖFFLER.—Biochem. Z., 72, 325; 1916.
 HARRIS, J. O., y BINNS, F.—Nature, 179, 475; 1957.
 HENRIQUES, O. B.; HENRIQUES, S. B., y NEUBERGER, A. —Biochem. J., 60, 409; 1955.
 HOFFBAUER, F. W.—Ann. Rev. Physiolog., 11, 83; 1949.
 HÜESCHMANN, P.—Anales del Instituto de Farmacología Española, 1, 63; 1952.
 JACQUOT y VIGNERON.—Le Besoin Azoté. A. E. C., 1958.
 JAENICKE, L.—Fed. Proc., 15, 281; 1956.
 KAMIN, H., y HANLER, P.—Ann. Rev. Bioch., 26, 419; 1957.
 KAMIN, H., y HANLER, P.—J. Biol. Chem., 188, 193; 1951.
 KAPLANSKI, S. I., y AZIAFCHIK, A. V.—Biokimia, 21, 755; 1956.
 KAPLANSKI, S. I., y BEROZOFSKAIA, N. N.—Biokimia, 21, 119; 1956.
 KAPLANSKI, S. I.; KUZOFLEWA, O. B., y USPENSKAIA, B. A.—Biokimia, 21, 469; 1956.
 KAZANTSEWA, V. S., y KAPLANSKI, S. Ia.—Biokimia, 21, 528; 1956.
 KESIN, R. V.—Biokimia, 19, 407; 1954.
 KLENK, E., y FAILLARD, H.—Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 299, 191; 1955.
 KLUGE, I. V.—Biokimia, 21, 516; 1956; D. A. A., 109, 997; 1955.
 KONIKOWA, A. S.; KRITSMAN, M. G., y SAMARINA, O. P.—Biokimia, 19, 400; 1954.
 KOSTERLITZ, H. W.—Trans. 12th. onf. on liver Injury., 108; 1953.
 KREBS.—Enzymologia, 7, 53; 1939.
 KRFES, H. A.; EGGLESTON, L. V., y KNIVETT, V. A.—Biochem. J., 59, 185; 1955.
 KRISKII, G. A., y MIAGKAIA, G. L.—Biokimia, 21, 694; 1956.
 KRITSMAN, M. G.; GAVRILOWA, K. I., y KONIKOWA, A. S.—Biokimia, 19, 557; 1954.
 KRUGLOF, V. T.—Veterinariya, 31, 58; 1954.
 LANG, K., y SCHOEN, R.—Tratado de Nutrición. Aguilar. Madrid, 1957.
 LANG, K., y WESTPHAL, V.—Z. Physiol. Chem., 276, 179; 1942.
 LASCH, H. G., y ROKA, L.—Hoppe-Seyler's Zeit. Physiol. Chem., 294, 30; 1953.
 LELOIR, L. F., y CARDINI, C. E.—Bioch. et Biophys. Acta, 12, 15; 1953.
 LEUTHARDT, F.—Hoppe-Seyler's Zeits. Physiol. Chem., 252, 238; 1938.
 LOFTFIELD, R. B.; GROVER, J. W., y STEPHENSON, M. L.—Nature, 171, 1.024; 1953.
 MANDELSTAM, J.—Biochim et Biophys. Acta, 22, 313; 1956.
 NEGELEIN y BRÖMEL.—Bioch. Zeits., 300, 225; 1939.
 NISMAN y otros.—Compt. rend., 241, 1.349; 1955.
 PELLEGRINI, V.—Minerva Med., 2, 1.162; 1954.
 PETROWA, A. N., y BEKINA, R. M.—Biokimia, 21, 359; 1956.
 RHULAND, L. E., y BANNISTER, B.—J. Ann. Chem. Soc., 78, 3.548; 1956.
 RITTENBERG, D., y SHEMIN, D.—Ann. Rev. Biochem., 15, 247; 1946.
 RUTMAN, J.; RUTMAN, R. J., y TARVER, H.—J. Biol. Chem., 212, 95; 1955.
 SONNE, J. C.; LIN, I., y BUCHANAN, J. M.—J. Biol. Chem., 220, 369; 1956.
 STADTMAN, T. C., y ELLIOT, P.—J. Ann. Chem. Soc., 78, 2.020; 1956.
 STEINHARDT, J.—Ann. Rev. Biochem., 14, 145; 1945.
 STETTEN, DE W., y BLOOM, B.—J. Biol. Chem., 220, 723; 1956.
 STRASSMAN y otros.—J. Ann. Chem. Soc., 78, 1.599; 1956.
 STRAUB y otros.—Bioch. Biophys. Acta, 18, 439; 1955.
 STRAUB.—Nature, 141, 603; 1938.
 SWANSON, P. P., y CLARK, H. E.—Ann. Rev. Biochem., 19, 235; 1949.
 SWICK, R. W., y KOCH, A. L.—Arch. Biochem. Biophys., 67, 59; 1957.
 TAUBER.—Chemistry and Technology of Enzymes. New York, 1949.
 TISELIUS, A.—Gazz. Chim. Ital., 84, 1.177; 1954.
 TOROPOWA, G. P.—Voprosi Pitania, 14, 12; 1955.
 TRÉMOLIÈRES, J.; DIERACHE, R., y GRIFFATON, G.—Ann. Endocrinol., 15, 694; 1954.
 WISS, SIMMER y FETERS.—Z. Physiol. Chem., 304, 221; 1956.
 WISS y BETTENDORF.—Z. Physiol. Chem., 306, 145; 1957.
 ZAMANSKI, L. N.; LOPUCHANSKI, A. I., y SIVER, P. Y.—Dokl. Akad. Nauk, 99, 177; 1954.

ABREVIATURAS UTILIZADAS

A = Azúcar.
Ac = Acetilación.
ACTH = Hormona adrenocorticotropa.
ADP = 5'-Adenosindifosfato.
AICAR = 4-Amino-5-Imidazol-carboxamid-Ribótido.
AME = S-Adenosil-metionina.
AMP = 5'-Adenosinmonofosfato.
ATP = 5'-Adenosintrifosfato.
B = Base.
CIST = Cisteina.
CoA . SH = Coenzima A.
CSA = Ácido cisteinsulfínico.
DAAO = D-Aminoácido-Oxidasa.
DNA = Ácido desoxirribonucleico.
DPN = Difosfopiridinucleótido oxidado.
DPNH₂ = Idem reducido.
E = Enzima.

FAD = Flavinadenindinucleótido oxidado.
FADH₂ = Idem reducido.
FAD = Flavinadenindinucleótido oxidado.
GLI = Glicocola.
GLU = Ácido glutámico.
IMP = 5'-Inosinmonofosfato.
LAAO = L-Aminoácido-Oxidasa.
OX = Oxidación.
P = Fosfato.
Pi = Fosfato inorgánico.
PPi = Difosfato, pirofosfato.
Pyr. PO₄ = Piridoxal-Fosfato.
Red = Reducción.
RNA = Ácido ribonucleico.
THFA = Ácido tetrahidrofólico.
TPN = Trifosfopiridinucleótido.
TPNH + H⁺ } = Idem en forma reducida.
TPNH₂ }

ORIGINALES

ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA CORNEA
EN COBAYAS SENSIBILIZADOS AL VIRUS
DE LAS PAPERAS

V. SANCHIS-BAYARRI VAILLANT (°)
y H. R. MORGAN (**) .

Catedra de Bacteriología de la Facultad de Medicina
de la Universidad de Rochester. Estado de Nueva
York. U. S. A.

Profesor: H. R. MORGAN.

INTRODUCCIÓN.

La hipersensibilidad tardía se diferencia de la hipersensibilidad inmediata principalmente porque parece tratarse de una reacción celular general, no dependiendo de la respuesta de los vasos sanguíneos o de los músculos de fibra lisa. Reacciones de esta clase pueden ocurrir en cultivos de células "in vitro" ^{1, 2, 3, 4, 5} y ⁶ o en tejidos sin vasos sanguíneos como la córnea ⁷ y ⁸. Sin embargo, recientemente SCHLOSSMAN y STETSON ⁹ han realizado un estudio de la vascularización de la córnea durante las primeras veinticuatro horas después de la inyección de ovalbumina, llegando a la conclusión de que la reacción de hipersensibilidad tardía en la córnea no ocurre en un tejido avascular.

La infección en el hombre por el virus de las paperas va acompañada del desarrollo de un estado de hipersensibilidad tardía, como lo prueba el hecho de poder obtenerse una reacción cutánea tardía tras la inyección de virus de las paperas inactivado por el calor ¹⁰ y ¹¹. GLASGOW y MORGAN ⁶, estudiando la hipersensibilidad tardía "in vitro" mediante la adición de antígeno

del virus de las paperas a cultivos de macrófagos de bazo de cobaya, observaron que éstos disminuían su motilidad y sufrian lisis.

Es, pues, interesante completar estas investigaciones sobre la hipersensibilidad al virus de las paperas mediante el examen "in vivo" de la córnea. Es el objeto de este trabajo estudiar los cambios histológicos producidos en las córneas de animales sensibilizados al virus de las paperas al reaccionar con su antígeno específico.

MATERIAL Y MÉTODOS.

1. Virus.

Se utilizó la cepa de virus de las paperas adaptada al embrión de pollo aislada por el doctor J. F. ENDERS. El virus infectante usado en estos experimentos fué preparado mediante la inoculación en sacos amnióticos de embriones de pollo de siete días, incubados a 37°, de diluciones al 1 por 100 del virus original. Al quinto día después de la inoculación, los huevos fueron colocados en nevera durante doce horas y recogido el líquido amniótico. La cantidad de virus contenido en este líquido fué determinado mediante el método de la hemaglutinación de los hematíes de gallina.

El virus fué concentrado mediante centrifugación de dicho líquido a 2.500 r. p. m. durante diez a quince minutos en una centrifuga "Internacional" refrigerada. De esta forma se eliminaron restos de huevo. A continuación el sobrenadante fué centrifugado de nuevo con una ultracentrifuga "Spinco", a 30.000 r. p. m. durante treinta minutos para sedimentar el virus. El virus fué diluido en "Hanks's BSS" a un pH de 6,8 a 7,2 y almacenado en nevera a — 70° C.

El antígeno empleado en estos experimentos fué preparado a partir de los líquidos concentrados inactivados durante treinta minutos en baño de María a 56° C.

2. Infección de los cobayos con virus de las paperas.

Cobayas pesando unos 250 gr. fueron infectados con 0,1 c. c. de virus infectante por vía intranasal. Tras anestesia con éter, se depositó gota a gota sobre cada uno de los orificios nasales el líquido que se deseaba inocular. El líquido debe aspirarse completamente. En

(*) Becario del Departamento de Microbiología.
(**) Catedrático de Microbiología de la Facultad.