

ACCION DE LA CORTISONA SOBRE LA ACTIVIDAD RIBONUCLEASICA DEL TEJIDO HEPATICO

Por ROBERTO LLAMAS, GUILLERMO
MASSIEU, y MA. DE LA LUZ SUAREZ
SOTO
del Instituto de Biología

Se ha considerado a la cortisona como hormona antianabólica que favorece la gluconeogénesis a partir de las proteínas; es factible, además, que la propia síntesis de las proteínas se modifique por efecto de esta sustancia y que ambos factores expliquen algunos hechos observados experimentalmente que se relacionan, sobre todo, con la falta de crecimiento de los animales que reciben inyecciones de la hormona. Se ha señalado, por Wells y col. y por Winter y col., que dosis altas de cortisona (3 miligramos) inyectada a ratones durante 6 semanas, detienen el crecimiento a pesar de que los animales tratados ingieren 47% más de alimento que los testigos. Cantidades semejantes de la hormona provocan balance negativo de nitrógeno, mientras que cantidades menores (1 a 2 miligramos) restablecen, según Ingle, el balance positivo, con aumento de peso corporal. 1 a 2 miligramos de cortisona inyectada a ratones de 150 a 200 gramos hace que el peso descienda, según Bodansky y Money, hasta un tercio de lo normal en 43 días.

La hormona no tiene efecto sobre el nitrógeno total ni sobre el peso del hígado, según Winter. Otros autores encuentran que el peso sí aumenta y que también se eleva el nitrógeno total, que como es sabido constituye 90% de nitrógeno proteínico (Bodansky y Money).

La cortisona provoca profundas alteraciones hepáticas, estudiadas por Lowe y Williams, a saber: aumento en el tamaño de las células, aumento de glucógeno y disminución de la basofilia celular. No se puede demostrar la presencia de ácido ribonucléico en las mitocondrias o en los microsomas de las ratas tratadas, el cual reaparece 8 días después de cesar la administración de la hormona.

Aparentemente no hay pérdida de ácido ribonucléico sino desalojamiento del mismo; por lo demás, la relación ribonucléico-desoxi-ribonucléico no se modifica.

La cortisona provoca aumento del contenido protéico del hígado o sea que aparentemente estimula la síntesis de proteínas en este órgano, según Clark y col.. Cannon y col. señalan que esta hormona actúa como agente catabólico que inhibe la síntesis de proteínas en los tejidos. Mehrotra y Mangalik han encontrado que la cortisona retarda la regeneración del hígado en las ratas con hepatectomía parcial y Pesch y Clark señalan que la cortisona aumenta el catabolismo de los prótidos en el diafragma pero no en el hígado.

Las hormonas corticales labilizan las proteínas hícticas que pueden ser utilizadas en forma anabólica o catabólica, según las necesidades de los tejidos en un momento dado, de acuerdo con Roberts.

La experimentación acerca de las propiedades anabólicas o catabólicas de la cortisona, particularmente en el hígado, es de resultados contradictorios lo que debe explicarse, seguramente, por factores diversos que varían en cada caso, como el *status* nutricional del animal, dosis empleadas y tiempo de administración.

Aparentemente la disminución del peso corporal es la expresión de actividad catabólica aumentada, porque se acompaña de balance negativo de nitrógeno, pero parece no expresar acción catabólica en el hígado, porque la disminución de peso coincide, según Clark y col. con aumento de peso del órgano y aumento absoluto de su contenido protéico. El posible incremento de la síntesis de las proteínas hepáticas producido por la cortisona, debe hacer suponer que existe también aumento en su contenido en ácido desoxiribonucléico y ribonucléico, lo cual no se encuentra completamente aclarado.

Las modificaciones en la actividad ribonucléica del hígado, producidas por la cortisona, han sido también poco estudiadas; se ha encontrado, sin embargo, por Allard y col. que la cortisona no modifica la actividad de la ribonucleasa alcalina por célula, pero que las mitocondrias aisladas del hígado de animales tratados la poseen en grado elevado. En forma al parecer contradictoria con los resultados anteriores, Stevens y Reid han encontrado que la actividad de la ribonucleasa ácida del citoplasma completo de hígado de rata aumenta en los animales adrenalectomizados.

La actividad ribonucléica se traduce por despolimerización del subs-

trato y seguramente tiene influencia sobre la síntesis proteínica. La ribonucleasa hepática posee modalidades de acción semejantes a las ribonucleasas pancreática y esplénica según Kaplan y Heppel, o sea que hidroliza parcialmente el ácido ribonucléico y deja en libertad ésteres fosfóricos secundarios de pirimidín nucleósido 3' fosfato, es decir, que produce solamente mononucleótidos pirimidínicos. El aumento de dicha actividad, por lo tanto, deberá interpretarse como causante de menor síntesis proteínica. Sin embargo, la ribonucleasa pancreática cataliza la síntesis de polinucleótidos a partir del ácido citidílico y puede exceder a la hidrólisis según han demostrado Heppel y Whitfeld. Comportamiento semejante puede esperarse de la ribonucleasa hepática, en vista de su acción enzimática semejante a la de la ribonucleasa del páncreas.

La inhibición producida por la cortisona sobre el crecimiento de la rata desaparece por efecto de la vitamina B12 según ha demostrado Meites, y además dicha vitamina disminuye, según Meites y Feng, las pérdidas de nitrógeno por la orina producida por la cortisona. Nosotros hemos señalado que la vitamina B12 y el ácido fólico inhiben la actividad enzimática de la ribonucleasa cristalina del páncreas y es de esperarse que la cortisona ejerza efecto contrario.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratones jóvenes machos cuyo peso osciló entre 20 y 25 gramos a los cuales se proporcionó alimentación uniforme y sin restricciones. Se inyectó por vía intraperitoneal 0.25 mg. de acetato de cortisona contenida en 0.125 ml. de líquido de suspensión (Cortadren, Shering).

Los ratones testigos se mantuvieron en condiciones semejantes. Los ratones inyectados, 14 en total, recibieron la hormona durante 20 días, o sea que cada uno recibió un total de 5 mg. De acuerdo con el peso promedio de los animales, la dosis diaria fué de 1.25 mg. y la total de 25 mg. calculados para 100 de peso corporal. Los animales fueron sacrificados mediante golpe en el cuello, el hígado se separó de inmediato y se homogeneizó (Potter y Elvehjem) con agua destilada y a razón de 5 ml. por gramo de tejido hepático. La homogeneización se practicó a temperatura constante de 0° C.

La actividad ribonucleásica total se determinó según el procedimiento señalado por Schucher y Hokin. Se empleó ácido ribonucléico de la casa Nutritional Biochemicals Co.

RESULTADOS

Los resultados se expresan en la tabla siguiente:

TABLA I

D a t o s	Normales	inyectados con Cortisona
Peso final de los animales	21 g.	17 g.
Relación entre los pesos del hígado y corporal	0.049	0.052
Materia seca en 0.5 ml. de homogenado de tejido hepático	25.0 mg.	22.4
Contenido en fracciones despolimerizadas de ácidos nucléicos en 0.5 ml. de homogenado	1.685 +	1.200 +
Actividad enzimática de 100 mg. de material seco, ex- presada en unidades (++) , en un período de incubación de 90 minutos	920	1366

+ Lectura espectrofotométrica expresada en densidad óptica. (260 milimicrones).
 ++ Cada unidad = 0.01 de aumento de la densidad óptica (260 milimicrones).

Tal como ha sido señalado en otros trabajos la hormona provocó descenso del peso corporal de los ratones en un 20% aproximadamente. No hubo modificación de importancia estadística entre el peso del hígado y el peso total del animal, ya que las relaciones fueron de 0.049 y de 0.052 para los animales normales y los tratados, respectivamente.

En los animales tratados aumentó ligeramente el contenido acuoso del hígado, o sea que a igualdad de peso la materia seca es menor. Este aspecto reviste importancia en la estimación de la actividad enzimática.

La determinación de las fracciones despolimerizadas de ácidos nucleicos, se hizo en los homogenados cuya actividad enzimática se inhibió de inmediato. Los resultados señalan que dichas fracciones se encuentran en mayor cantidad en el tejido hepático de los animales normales, lo que hace aceptable el hecho de que las fracciones polimerizadas predominen en el hígado de los animales tratados; este hallazgo puede interpretarse de dos maneras: o bien la actividad enzimática es menor en los animales tratados cuando se ejerce sobre el propio ácido ribonucleico del hígado, o bien existe aumento en la actividad y se traduce por un proceso sintético e integrativo de moléculas de ácido ribonucleico a partir de mononucleótidos.

La actividad ribonucleásica con formación de fracciones despolimerizadas, es mayor en el hígado de los animales tratados con cortisona, cuan-

do se utiliza como substrato ácido ribonucleico altamente polimerizado, cuya actividad óptica, a 260 milicrones, no es superior a 0.08.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Ratones machos de 20 gramos de peso corporal como promedio, recibieron 20 inyecciones intraperitoneales en días consecutivos de 0.25 mgs. de acetato de cortisona suspendidos en 0.125 ml. de vehículo acuoso.

El peso de los animales inyectados disminuyó en un 20%.

La relación entre peso de hígado y peso corporal fué semejante en los dos grupos de animales.

En los animales tratados se encontró aumento en el contenido acuoso del hígado.

Las fracciones despolimerizadas de ácido nucleico fueron sensiblemente mayores en los animales normales que en los inyectados.

La actividad ribonucleásica del tejido hepático sobre ácido ribonucleico altamente polimerizado, fué de 920 unidades por cada 100 mg. de materia seca en el hígado de los animales normales y de 1366 en el de los animales que recibieron cortisona.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALLARD C., LAMIRANDE G., WEBER G., CANTERO A., 1956: Effect of cortisone on the intracellular distribution of phosphatases and ribonucleases in rat liver. *Canad. J. of Biochem. and Physiol.* Vol. 34, No. 2, p. 170.
- BODANSKY O., MONEY W. I., 1954: Rates of development and regresion of changes during and after prolonged cortisone administration in rats., *Endocrinology* Vol. 55, p. 173.
- CANNON P. R., FRAZIER L. E., HUGHES R. H., 1956: The influence of cortisone upon protein metabolism. *Arch. Pathol.*, Vol. 61, No. 4, p. 271.
- CLARK J. H. JR., PESCH L. A., 1956: Effects of cortisone upon liver enzymes and protein synthesis., *Jour. Pharmacol. and Exptl. Therap.* Vol. 117, p. 202.
- HEPPEL L. A., WHITFIELD P. R., MARKHAM R., 1955: Nucleotide exchange reactions catalised by ribonuclease and spleen phosphodiesterase. *J. Biochem.* Vol. 60, p. 8.
- INGLE D. I., 1949: Some studies on the role of the adrenal cortex in organic metabolism., *Ann. New York. Acad. Sci.*, Vol. 50, p. 576.
- KAPLAN H. S., HEPPEL L. A., 1956: Purification and properties of spleen ribonuclease. *J. Biol. Chem.* Vol. 222, p. 907.
- LOWE CH. V., WILLIAMS L., 1953: Effect of cortisone administration on intracellular composition or rat liver. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, Vol. 84, p. 70.

- LLAMAS R., 1955: Efecto de la cianocobalamina (Vitamina B 12) y del ácido fólico sobre la actividad de la ribonucleasa pancreática cristalina. *Ann. Inst. Biol.* Vol. XXVI, No. 1, p. 1.
- MEITES J., 1952: Beneficial effects of vitamin B₁₂ and aureomycin in rats given large doses of cortisone. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* Vol. 81, p. 307.
- MEITES J., FENG Y. S. A., 1954: Prevention by vitamin B₁₂ of protein catabolic action of cortisone. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* Vol. 85, p. 341.
- MEHROTRA R. M. L., MANGALIK V. S., 1956: An experimental study of the effects of cortisone. DOCA and adrenalectomy on regeneration of liver after partial hepatectomy. *Indian. J. Med. Res.* Vol. 44, p. 325.
- PESCH L. A., CLARK J. H. JR., 1956: Organspecific effects of cortisone on protein synthesis in protein deplet rats. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* Vol. 91 No. 3, p. 510.
- ROBERTS S., 1953: The influence of the adrenal cortex on the mobilization of tissue protein. *J. Biol. Chem.* Vol. 200, p. 77.
- STEVENS B. M., REID E., 1956: Hormones and liver cytoplasm. *Biochem. J.* Vol. 64, p. 735.
- SCHUCHER R., HOKIN L., 1954: The synthesis and secretion of lipase and ribonuclease by pigeon pancreas slices. *J. Biol. Chem.* Vol. 210, p. 551.
- WELLS B. B., KENDALLE C., 1940: The influence of corticosterone and C-17-hidroxy - 11 dehydrocorticosterone on the growth of young adrenalectomized rats. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic.*, Vol. 15, p. 324.
- WINTER C., SILBER R. H., STOERK H. C., 1950: Production of reversible hyperadrenocorticism in rats by prolonged administration of cortisone. *Endocrinology.* Vol. 47, p. 60.