

# INFLUENCIA DEL SEXO Y EFECTO DEL 20-METIL-COLANTRENO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LAS NUCLEASAS ACIDA Y ALCALINA DEL HIGADO DE RATA

ROBERTO LLAMAS

y

ERNESTINA CORONAS

Departamento de Bioquímica, Instituto de Biología,  
Universidad Nacional Autónoma de México

Los hidrocarburos carcinogénicos, entre ellos el 20-metilcolantreno, inhiben el crecimiento, tanto de los tejidos normales como de los neoplásicos.<sup>1</sup> Sin embargo, la inhibición se atenúa si el animal recibe dieta rica en proteínas.<sup>2</sup> Este efecto depresor de los hidrocarburos carcinogénicos, es opuesto a la estimulación que ejercen sobre algunas funciones bioquímicas, particularmente sobre la síntesis<sup>3</sup> y excreción del ácido ascórbico<sup>4</sup> y la síntesis de proteínas. Por lo que respecta a la influencia del 20-metil-colantreno sobre la inducción de proteínas específicas o sea de enzimas, es interesante el hecho ya bien conocido de que la administración de este hidrocarburo impide la acción carcinogénica en el hígado del 4-dimetil-amino 3-metil-azo-benceno, porque dicho hidrocarburo estimula la síntesis de la enzima que inactiva a aquella sustancia. También es interesante recordar que el 20-metil-colantreno disminuye la actividad carcinogénica del 2-acetoamino-fluoreno, debido a que los animales que reciben el hidrocarburo son capaces de inactivar en mucho mayor grado a la sustancia en estudio.<sup>5</sup> El mecanismo de acción es semejante al señalado con anterioridad, o sea que el hidrocarburo estimula la inducción de enzimas que inactivan al acetoamino-fluoreno por modificación de su estructura química.

En general el 20-metil-colantreno aumenta la actividad de enzimas microsómicas, y este efecto es más notable en ratas jóvenes, en las cuales algunas de las enzimas cuya actividad es estimulada por el hidrocarburo, aún no han aparecido o existen en poca cantidad.<sup>5</sup> La inducción de tumores mamarios por el 20-metil-colantreno se logra, a su vez, mucho más fácilmente, en los animales jóvenes.

La estimulación de actividades enzimáticas por los hidrocarburos carcinogénicos es fundamentalmente hepática, a pesar de que el efecto apropiadamente carcinogénico no se mani-

fieste en este órgano sino en sitios diversos como la glándula mamaria.<sup>6</sup> Sin embargo, se han señalado aumentos de actividad de la benzopirenohidroxilasa no solamente en el hígado, sino también en el tracto digestivo, riñón y pulmón de la rata.<sup>7</sup>

El metil-colantreno aumenta la actividad de las enzimas que desmetilan el 3-metil-4-monometil-amino-azo-benceno y también de otras enzimas microsómicas del hígado, que metabolizan la zoxazolamina, fenil-butazona, aminopirina, hexobarbital y 3-4-benzopireno.<sup>8</sup>

Este efecto del metil-colantreno es de naturaleza inespecífica y debido a la estimulación que ejerce sobre la síntesis de proteínas, particularmente en el hígado.

Se ha demostrado que este hidrocarburo estimula la incorporación de ácidos aminados a proteínas en preparaciones acelulares de tejido hepático.<sup>9</sup> El hecho de que tanto la puromicina<sup>10</sup> como la actinomicina<sup>11</sup> impiden el aumento de actividad de la amino-azo-desmetilasa producida por el metil-colantreno, demuestra que el mecanismo de acción del hidrocarburo es la síntesis *de novo* de nuevas moléculas enzimáticas por aumento en la producción de ácido ribonucleico "mensajero", condición previa para el aumento en la síntesis de proteínas y de enzimas.

Mecanismos semejantes al anterior explican el efecto sobre la síntesis de proteínas de sustancias cuya estructura química guarda cierta semejanza con el 20-metil-colantreno, o sean los esteroides androgénicos<sup>12, 13, 14, 15</sup> y estrogénicos,<sup>16, 17, 18, 19, 20</sup> así como la cortisona y el cortisol.<sup>21, 22, 23, 24</sup>

El efecto inespecífico del 20-metil-colantreno, de los andrógenos y estrógenos y del cortisol, sobre el aumento de actividad enzimática por síntesis *de novo* de proteínas y por lo tanto de nuevas moléculas enzimáticas, encuentra una excepción importante y tal vez de naturaleza específica, en lo que se refiere al

interferon. Esta sustancia proteínica, que aparece por la infección viral de las células y que inhibe la replicación de los virus, limitando la extensión del proceso infeccioso,<sup>25</sup> disminuye por efecto del metil-colantreno, en cultivos de tejidos embrionarios de rata infectados con el virus variólico.<sup>26</sup> Efecto semejante es producido por el cortisol.<sup>27</sup> Por otra parte, y para hacer más notable la diferencia que se señala, la puomicina inhibe la producción de interferón por inhibición inespecífica de la síntesis de proteínas.<sup>28</sup> La producción de interferón, como la de proteínas en general, es un proceso que comprende la síntesis del ácido ribonucleico controlado por el desoxi-ribonucleico y la síntesis de proteínas propiamente dicha.<sup>29</sup>

Para la etiología viral del cáncer, los hechos anteriores son de evidente significación.

El factor sexo es importante de considerar: en efecto, en la rata macho la N-2-fluorenil acetamida y otros carcinogénicos, producen hepatomas más fácil y frecuentemente que en las hembras. Por lo demás, tanto la testosterona como otras hormonas de acción anabólica, así como la cortisona, favorecen esta carcinogénesis,<sup>30, 31</sup> mientras que la hipofisectomía impide por completo la aparición de los hepatomas. Esta susceptibilidad al hepatoma se restablece mediante la administración de somatotrofina, hormona de preponderante acción anabólica.<sup>32</sup>

Es evidente que el sexo, como expresión somática de fórmulas cromosómicas características y como asiento de peculiares comportamientos metabólicos, ligados a la presencia o a la ausencia de hormonas androgénicas y estrogénicas respectivamente, es el factor que determina por sí solo, muchas diferencias biológicas. Se ha señalado, así, la existencia de una proteína hepática en la rata macho, que no existe en la hembra y que aparece en ésta mediante tratamiento con testosterona; en el macho disminuye al aplicarse estradiol o por la castración.<sup>33</sup>

Los homogenados de hígado de rata hembra reducen más fácilmente el anillo A de diversas hormonas esteroideas, por tener mayor concentración de la  $\Delta^4$  deshidrogenasa respectiva.<sup>34</sup> La castración aumenta y la testosterona disminuye la concentración de dicha enzima en los animales machos.<sup>35</sup> Otros numerosos

ejemplos de diferencias en la concentración y actividad de las enzimas, condicionadas por el sexo, han sido cuidadosamente recopilados por Knox y Auerbach.<sup>36</sup>

## EXPERIMENTAL

En el presente trabajo se ha estudiado el efecto del 20-metil-colantreno sobre las actividades ribonucleásicas y desoxi-ribonucleásicas en el homogenado de tejido hepático de la rata. En trabajos anteriores se ha demostrado que tanto la cortisona como el cortisol, estimulan estas actividades.<sup>37, 38</sup> por síntesis *de novo*, lo que se demuestra por el hecho de que diversos derivados de la tetraciclina se oponen al efecto estimulante del esteroide.<sup>39</sup> En estos experimentos el factor sexo no parece modificar en ninguna forma los resultados.

Por lo que respecta al 20-metil-colantreno, si bien los hallazgos experimentales se refieren al aumento que origina en las proteínas microsómicas y a la mayor actividad, por síntesis *de novo*, de las enzimas de estas partículas subcelulares, también es cierto que dicha sustancia aumenta la síntesis de proteínas en todas las fracciones del tejido hepático, como efecto genérico de los hidrocarburos policíclicos.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas blancas jóvenes procedentes de la granja del Instituto de Biología, con peso que osciló entre los 100 y 150 g. Alimentadas con Purina y agua natural *ad-libitum*, recibieron una sola inyección intraperitoneal de 40 mg por kilogramo de peso, de 20-metil-colantreno disueltos en aceite vegetal. Los animales testigos fueron inyectados por la misma vía con volumen igual del disolvente graso. Se les dio muerte por golpe cervical en unos casos a las 2, en otros a las 6 y en otros a las 24 horas después de recibir el hidrocarburo. Se determinaron las actividades ribonucleásica y desoxi-ribonucleásica, tanto ácida como alcalina, de acuerdo con los métodos señalados con anterioridad.<sup>40, 41</sup>

En otros experimentos los animales recibieron una inyección diaria de metil-colantreno, a la misma dosis, durante 4 días, y se les

sacrificó 20 horas después de la última inyección. Los homogenados de tejido hepático se prepararon con agua destilada, y se les sujetó, antes de proceder a las determinaciones de la actividad enzimática, a congelaciones y descongelaciones repetidas, con la finalidad de lograr la máxima liberación de las enzimas.

Puede advertirse, al examinar el cuadro N° 1, que los resultados son erráticos e irregulares, ya que en los animales tratados se produce a veces aumento y a veces disminución de la actividad enzimática en los experimentos A y B, o sea cuando las determinaciones se hicieron a las 2 y a las 6 horas después de haber sido inyectado el metil-colantreno. Pero, por otra parte, llama la atención que en el experimento C, o sea cuando la determinación de la actividad enzimática se hizo 24 horas más tarde, los resultados adquieren uniformidad y se encuentra disminución en cada una de las actividades enzimáticas estudiadas.

En los machos se observa que a excepción de lo encontrado en la actividad de la ribonucleasa ácida en los experimentos A y B, en los que aparece ligera disminución, en todas las demás determinaciones el aumento de actividad, tanto de la ribonucleasa como de la desoxi-ribonucleasa ácida y alcalina, es evidente. (Cuadro N° 2.)

En vista de que los resultados adquieren uniformidad cuando las determinaciones de actividad enzimática se practica a las 24 horas después de administrar metil-colantreno, se juzgó interesante llevar al cabo experimentos a plazo mayor, o sea aplicar a los animales una inyección diaria del hidrocarburo durante 4 días, por la misma vía y a la misma dosis, y hacer la determinación de actividades enzimáticas de las ribonucleasas ácida y alcalina, 20 horas después de la última aplicación de esa substancia. Se juzgó importante, también, estudiar las posibles modificaciones de la actividad ribonucleásica, tomando en cuenta, además, la edad de los animales, y al efecto se hicieron los siguientes grupos:

- 1º Animales menores de 30 días.
- 2º Animales de 3 meses.
- 3º Animales de 6 meses.

El primer grupo está formado por animales jóvenes que aún no han llegado a la madurez sexual. El segundo lo integran ratas también jóvenes sexualmente maduras y el tercero lo forman animales que han terminado la etapa de crecimiento. (Cuadros 3 y 4.)

Los resultados anteriores señalan que en todos los casos se produce disminución de la actividad enzimática en las hembras y aumento en los machos. En las hembras, la disminución de actividad se hace progresiva del grupo 1 al 2 para ser menor en el grupo 3. En los machos, esta característica se observa solamente en la ribonucleasa alcalina, pero la edad no modifica los resultados en el caso de la ácida.

## DISCUSION

El metil-colantreno estimula la síntesis *de novo* de diversas enzimas microsómicas por aumento en la producción de ácido ribonucleico "mensajero" y aumento en la síntesis de proteínas. Este hidrocarburo ejerce, en realidad, estimulación sobre la síntesis de proteínas en todas las fracciones subcelulares, efecto que puede considerarse como característico de diversos hidrocarburos policíclicos.

En el presente estudio se ha encontrado que el metil-colantreno aumenta la actividad de las ribonucleasas y desoxi-ribonucleasas ácida y alcalina, sobre todo cuando el hidrocarburo ha sido aplicado a los animales 24 horas antes de ser sacrificados. Este aumento aparece en los animales machos, mientras que en las hembras se origina, por lo contrario, disminución de actividad igualmente más notable a las 24 horas de haber recibido el hidrocarburo. Resultados semejantes se observaron en experimentos prolongados en los cuales además es dable apreciar que la curva de disminución de actividad en las hembras se inicia en los animales jóvenes y se eleva en las ratas aun jóvenes pero sexualmente maduras para disminuir en las ratas de 6 meses de edad, sexualmente activas pero en las cuales el proceso de crecimiento prácticamente ha terminado.

La explicación del aumento de actividad enzimática en los machos puede intentarse suponiendo que el efecto estimulante del 20-me-

til-colantreno se ejerce, en estos animales, libremente o que, mejor aún, es favorecido en forma sinérgica por las hormonas androgénicas, cuya actividad anabólica es manifiesta. La disminución de actividad en las hembras, de evidente menor magnitud que el aumento en los machos, es un hallazgo para el cual no tenemos hipótesis que la explique. Consideramos de interés la experimentación en animales machos castrados o que reciban estradiol y en ratas a las que se administren hormonas androgénicas, particularmente testosterona.

### RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudió el efecto de la aplicación intraperitoneal de 20-metil-colantreno a ratas, sobre la actividad de las ribonucleasas y desoxiribonucleasas ácida y alcalina del homogenado de tejido hepático. A las 24 horas de haber sido inyectada una sola dosis de 40 mg por kilogramo de peso, se observó aumento uniforme de actividad en los machos y disminución en las hembras, de las enzimas estudiadas. En experimentos prolongados, o sea la aplicación de una inyección diaria del hidrocarburo durante 4 días, el resultado es el mismo y se aprecia, además, que en las hembras la disminución de actividad de las ribonucleasas ácida y alcalina aumenta del grupo 1, o sea de animales jóvenes menores de 30 días, al grupo 2, formado por animales de 3 meses de edad y se atenúa en

el grupo 3, integrado por ratas de 6 meses. En los machos se observó este cambio en la ribonucleasa alcalina, pero la edad aparentemente no modificó los resultados en el caso de la ribonucleasa ácida.

La suma de efectos del 20-metil-colantreno y de las hormonas androgénicas, probablemente explique el aumento de actividad enzimática en los machos. Para la disminución de actividad en las hembras, no se tiene hipótesis que la explique.

### SUMMARY

The *in vivo* effect of 20-methylcholanthrene upon the activity of rat liver ribonuclease and deoxyribonuclease both acid and alkaline was studied. After 24 hrs. of IP administration of 20-MC (40 mg/kg of body weight) the activity of these enzymes was found increased in the male and decreased in the female. In experiments in which the 20-MC was injected during 4 consecutive days the results are the same. Besides, it was observed that the decrease of acid ribonuclease activity in females is more apparent in immature animals than in adults. In the group of males there was the same difference, in connection with the age, only in the alkaline ribonuclease activity. The additional effects of androgenic hormones on the 20-MC activity perhaps explain the increase of enzymatic activity in the male.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- HADDOW, A. 1935. *Nature* 136, 868.
- ELSON, L. A. y F. L. WARREN. 1947. *Brit. J. Cancer* 1, 86.
- KENNAWAY, E. L., N. M. KENNAWAY y F. L. WARREN. 1944. *Cancer Res.* 4, 367.
- BOYLAND, E. y P. L. GROVER. 1962. *Biochem J.* 81, 163.
- CRAMER, J. W., A. J. MILLER y E. C. MILLER. 1960. *J. Biol. Chem.* 235, 250.
- BOYLAND, E. y K. SYDNOR. 1963. *Brit. J. Cancer* 16, 731.
- WATTENBERG, L. W., J. LEONG y P. J. STRAND. 1962. *Cancer Res.* 22, 1120.
- CONNEY, A. H., C. DAVISON, R. GASTEL y J. J. BURNS. 1960. *J. Pharm. exp. Therap.* 130, 1.
- GELBOIN, H. V. y L. SOKOLOFF. 1961. *Science* 134, 611.
- CONNEY, A. H. y A. G. GILMAN. 1963. *J. Biol. Chem.* 238, 3682.
- GELBOIN, H. V. y N. BLACKBURN. 1963. *Biochim et Biophys Acta* 90, 201.
- KENNEY, F. T., W. D. WICKS y D. C. GREENMAN. 1964. *VI International Congress of Biochemistry* 1, 64.
- PUCHOL, J. R. y A. CARBALLIDO. 1961. *Med. Exp.* 4, 45.
- KOKACHIAN, D. y J. HILL. 1964. *Federation Proc.* 23, 482.
- KOKACHIAN, D., R. TANAKA, J. HILL y D. G. HARRISON. 1961. *V International Congress of Biochemistry Abstracts* 257.
- GORSKI, J. y J. A. NICOLETTE. 1963. *Arch. Biochem and Biophys* 103, 418.
- GORSKI, J. 1964. *J. Biol. Chem.* 239, 889.

18. GORSKI, J. y M. C. SISTER. 1964. *Arch. Biochem and Biophys* 105, 517.
19. HAGERMAN, D. O. 1964. *VI International Congress of Biochemistry. Abstracts*, 9, 720.
20. HIROSHI, V. y G. C. MUELLER. 1963. *Federation Proc.* 23, 409.
21. FEIGELSON, M. y P. H. Feigelson. 1961. *V International Congress of Biochemistry. Abstracts*, Pág. 269.
22. SEKERIS, C. E. y N. LANG. 1964. *VI International Congress of Biochemistry New York Vol. 1* Pág. 86.
23. LLAMAS, R. E. y E. CORONAS. 1964. *VI International Congress of Biochemistry New York Vol. 9*, 725.
24. GARREN, L. D., R. R. HOWELL, y G. M. Tomkins. 1964. *J. Mol. Biol.* 9, 100.
25. ISAACS, A. y J. LINDENMANN. 1957. *Proc. Roy. Soc. London* 147 B, 268.
26. DE MAEYER, E. y J. DE MAEYER-GUIGNARD. *Cit. Cellular Control Mechanisms and Cancer 1964*, Pag. 365. Elsevier Publishing Co. Amsterdam.
27. DE MAEYER, E. y J. DE MAEYER. 1963. *Nature* 197, 724.
28. BUCHAN, A. y D. C. BURKE. 1964. *VI International Congress of Biochemistry New York Vol. 1*, 24.
29. BURKE, D. C. *I*, 24. *Biochem J.* 94 2P, 1965.
30. FIRMINGER, H. I. y M. D. REUBER. 1961. *J. Natl. Cancer Inst.* 27, 559.
31. SYMEONIDIS, A. 1963. *Acta Unio Intern. contra Cancrum* 19, 771.
32. WEISBURGER, J. H., S. R. PAI y R. S. YAMAMOTO. *Cit. Cellular Control Mechanisms and Cancer 1964*, Pag. 302. Elsevier Publishing Co. Amsterdam.
33. BARZILAI, D. y G. PINCUS. 1965. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 118, 57.
34. FORCHIELLI, E., K. BROWN-GRANT, y R. I. DORFMAN. 1958. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 99, 594.
35. YATES, F. G., A. L. HERBST, y J. URQUHART. 1958. *Endocrinology* 63, 887.
36. KNOX, W. E., y V. AUERBACH. *Physiol Rev.* 1956 36, 164
37. LLAMAS, R. y E. CORONAS. 1962. *Ann. Inst. Biol. Mex.* 33, 3.
38. LLAMAS, R. y E. CORONAS. 1963. *VI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas Villahermosa*, Tab. Resúmenes. Pág. 79.
39. LLAMAS, R. y E. CORONAS. 1963. *Ann. Inst. Biol. Mex.* 34, 17.
40. LLAMAS, R. y E. CORONAS. 1960. *Ann. Inst. Biol. Mex.* 31, 3.
41. LLAMAS, R. y E. CORONAS. 1963. *Ann. Inst. Biol. Mex.* 34, 3.

## CUADRO I

Tratamiento: Una inyección intraperitoneal de metil-colantreno.

Dosis: 40 mg por kilogramo de peso.

Determinación de actividad  
enzimática:  $\left\{ \begin{array}{l} \text{A) A las 2 horas.} \\ \text{B) A las 6 horas.} \\ \text{C) A las 24 horas.} \end{array} \right.$

## Animales hembra

Actividad nucleásica	Experimento A		Experimento B		Experimento C	
	Norm. (6)	Trat. M.C. (6)	Norm. (6)	Trat. M.C. (6)	Norm. (6)	Trat. M.C. (6)
<i>Rnasa ácida</i>	*					
Unid.	6.8 ± 0.40	7.80 ± 0.60	7.0 ± 0.45	5.83 ± 0.25	6.3 ± 0.40	5.35 ± 0.72
Porc.	= 100	= 114.7	= 100	= 83.35	= 100	= 85.00
Dif. %		+ 14.7 %		- 16.65 %		- 15.00 %
<i>Rnasa alcalina</i>						
Unid.	8.45 ± 0.82	8.42 ± 0.95	8.2 ± 1.0	8.4 ± 0.84	8.6 ± 0.45	7.57 ± 0.70
Porc.	= 100	= 99.7	= 100	= 102.43	= 100	= 88.00
Dif. %		- 0.3 %		+ 2.40 %		- 12.00 %
<i>Dnasa ácida</i>						
Unid.	2.86 ± 0.35	2.63 ± 0.50	2.45 ± 0.18	2.18 ± 0.34	2.40 ± 0.41	2.23 ± 0.60
Porc.	= 100	= 92.00	= 100	= 88.97	= 100	= 93.05
Dif. %		- 8.00 %		- 11.03 %		- 6.95 %
<i>Dnasa alcalina</i>						
Unid.	4.03 ± 1.2	4.76 ± 0.82	5.9 ± 0.67	6.03 ± 0.90	4.52 ± 1.4	3.52 ± 0.99
Porc.	= 100	= 118.11	= 100	= 102.2	= 100	= 77.9
Dif. %		+ 18.11 %		+ 2.2 %		- 22.1 %

En paréntesis: número de animales utilizados.

\* Error tipo.

CUADRO 2

Tratamiento: Una inyección intraperitoneal de metil-colantreno.

Dosis: 40 mg por kilogramo de peso.

Determinación de actividad  
enzimática:  $\left\{ \begin{array}{l} \text{A) A las 2 horas.} \\ \text{B) A las 6 horas.} \\ \text{C) A las 24 horas.} \end{array} \right.$

Animales macho

Actividad nucleásica	Experimento A Norm. (6)	Experimento A Trat. M.C. (6)	Experimento B Norm. (6)	Experimento B Trat. M.C. (6)	Norm. (6)	Experimento C Trat. M.C. (6)
<i>Rnasa ácida</i>						
Unid.	7.37 ± 0.25 *	7.19 ± 0.18	7.87 ± 0.23	7.79 ± 0.20	8.34 ± 0.28	13.20 ± 0.30
Porc.	= 100	= 97.59	= 100	= 99.04	= 100	= 158.3
Dif. %		= 2.41%		= 0.96%		+ 58.3 %
<i>Rnasa alcalina</i>						
Unid.	8.2 ± 0.29	8.25 ± 0.31	8.8 ± 0.18	8.78 ± 0.26	8.6 ± 0.15	11.6 ± 0.12
Porc.	= 100	= 100.60	= 100	= 100.86	= 100	= 134.88
Dif. %		+ 0.6 %		+ 0.86%		+ 34.88%
<i>Dnasa ácida</i>						
Unid.	2.8 ± 0.80	3.4 ± 0.12	2.58 ± 0.15	2.85 ± 0.10	2.7 ± 0.20	2.94 ± 0.10
Porc.	= 100	= 121.4	= 100	= 110.46	= 100	= 109.0
Dif. %		+ 21.42%		+ 10.46%		+ 9.0 %
<i>Dnasa alcalina</i>						
Unid.	7.2 ± 0.12	7.2 ± 0.14	8.6 ± 0.18	9.3 ± 0.20	7.4 ± 0.15	8.0 ± 0.19
Porc.	= 100	= 100	= 100	= 107.75	= 100	= 108.10
Dif. %		0		+ 7.75%		+ 8.10%

En paréntesis: número de animales utilizados,

\* Error tipo,

CUADRO 3

## ANIMALES HEMBRA

	Grupo 1 (10)			Grupo 2 (6)			Grupo 3 (6)		
	N.	M.C.	N.	N.	M.C.	N.	M.C.	N.	M.C.
<i>Rnasa ácida</i>									
Unid.	* 7.90 ± 1.2	6.87 ± 0.80	7.0 ± 0.64	7.0 ± 0.64	5.71 ± 0.80	7.2 ± 1.0	5.71 ± 0.80	7.2 ± 1.0	6.71 ± 0.79
Porc.	= 100	= 87.00	= 100	= 100	= 82.00	= 100	= 82.00	= 100	= 86.70
Dif. %		= 13.00%			= 18.00%				= 13.30%
<i>Rnasa alcalina</i>									
Unid.	8.00 ± 0.75	6.80 ± 0.40	7.4 ± 0.25	7.4 ± 0.25	5.92 ± 0.42	5.18 ± 0.68	5.92 ± 0.42	5.18 ± 0.68	4.74 ± 0.80
Porc.	= 100	= 85.00	= 100	= 100	= 80.00	= 100	= 80.00	= 100	= 92.27
Dif. %		= 15.00%			= 20.00%				= 7.73%

\* Error tipo.

CUADRO 4

## ANIMALES MACHO

	Grupo 1 (6)			Grupo 2 (6)			Grupo 3 (6)		
	N.	M.C.	N.	N.	M.C.	N.	M.C.	N.	M.C.
<i>Rnasa ácida</i>									
Unid.	* 7.2 ± 0.80	9.07 ± 0.62	7.0 ± 0.45	7.0 ± 0.45	9.66 ± 0.75	7.4 ± 0.60	9.66 ± 0.75	7.4 ± 0.60	10.36 ± 1.2
Porc.	= 100	= 126.00	= 100	= 100	= 138.00	= 100	= 138.00	= 100	= 140.00
Dif. %		+ 26.00%			+ 38.00%				+ 40.00%
<i>Rnasa alcalina</i>									
Unid.	4.22 ± 0.22	4.38 ± 0.50	8.0 ± 0.63	8.0 ± 0.63	9.35 ± 0.82	6.8 ± 0.85	9.35 ± 0.82	6.8 ± 0.85	7.15 ± 0.62
Porc.	= 100	= 103.08	= 100	= 100	= 116.83	= 100	= 116.83	= 100	= 104.9
Dif. %		+ 3.08%			+ 16.83%				+ 4.9 %

\* Error tipo.