

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

Cambios con la edad del metabolismo de proteínas en
cerebro de ratas, en el periodo de la lactancia.

SOLER CLAUDIN CARMEN

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

MEXICO, D.F. 1969.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado originalmente segun el tema:

Presidente:	Jose Suarez Isla
Vocal:	Guadalupe Velez Pratt
Secretario:	Angela Sotelo Lopez
1er Suplente:	Isabel Resano Gonzalez
2do Suplente:	Paulina J. Castro Ardon

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio de Energía Nuclear.

Nombre completa y firma del sustentante: Carmen Soler Claudin
Nombre completo y firma del Asesor: Angela Sotelo Lopez
Nombre completo y firma del supervisor: Ing. Manuel Navarrete

A mis padres.

A los Dres: Luis Cervantes
y Jorge Bautista.

A los compañeros caídos
el 2 de octubre

Quiero expresar mi mas sincera
gratitud a Angela Sotelo por
su inapreciable ayuda en el de-
sarrollo de este trabajo.

- I. INTRODUCCION.
- II. GENERALIDADES.
- III. MATERIALES Y METODOS.
- IV. RESULTADOS.
- V. CONCLUSIONES.
- VI. BIBLIOGRAFIA.

I. INTRODUCCION:

Se conoce muy poco de las respuestas metabólicas de un animal al trauma del nacimiento. Al nacer el organismo debe empezar a utilizar independientemente sus propios procesos homeostáticos y esto puede causar algunas respuestas metabólicas abruptas que pueden verse en los primeros días de vida.

Investigaciones recientes reportan que para cada órgano en particular existe un patrón de desarrollo característico, que comprende las variaciones encontradas en el ritmo de síntesis proteica relacionadas con la edad.

La presencia de altas concentraciones de algunos amino ácidos en el momento del nacimiento se explica como una reserva prenatal para la adaptación postnatal. De la misma forma su disminución después del primer día puede indicar un abatimiento de la poza metabólica como resultado de la incorporación de dichos amino ácidos en síntesis proteica o bien la existencia de un transporte de ellos hacia el exterior del órgano.

Este trabajo tiene por objeto determinar el patrón de desarrollo correspondiente al cerebro; se usó como referencia la incorporación de L-leucina- C^{14} a proteínas cerebrales de ratas de 1 a 23 días de edad (nacimiento a destete).

También se estudia la influencia de la concentración de amino ácidos de la poza metabólica en la síntesis proteica, determinando para ello la poza metabólica de leucina libre en ratas de las mismas edades mencionadas.

Finalmente se reportan los datos obtenidos para pozas metabólicas de 17 amino ácidos libres con el objeto de conocer los cambios y la distribución de estos, dando una visión de conjunto mas completa del desarrollo cerebral postnatal.

II. GENERALIDADES:

SINTESIS DE PROTEINAS:

Durante la década pasada se ha estudiado extensivamente el papel de los ácidos nucleicos en la síntesis proteica, comprobándose que el DNA del núcleo dirige la síntesis de proteínas citoplasmáticas mediante varios tipos de RNA.

El DNA se encuentra casi exclusivamente en el núcleo de las células; está compuesto de dos cadenas de nucleótidos extremadamente largas conteniendo adenina, guanina, timina, y citosina en varias secuencias. Las cadenas están unidas entre sí por ligaduras de hidrógeno entre las bases (A-T y G-C), resultando una estructura de doble hélice.

El DNA forma los cromosomas que llevan el "mensaje genético", esto es, la marca para todas las características hereditarias de las células y sus descendientes. Cada cromosoma es de hecho un segmento de la doble hélice de DNA. El mensaje genético está codificado por la secuencia de bases púricas y pirimídicas en las cadenas de nucleótidos.

Los genes son segmentos de cromosomas; su función es dirigir la secuencia de amino ácidos en la biosíntesis de proteínas individuales. Las proteínas formadas incluyen todas las enzimas, las cuales controlan el metaboli-

mo de la célula. Pauling ha estimado que debe haber 100,000 a 150,000 genes en el organismo de los mamíferos (15).

La síntesis de proteínas se lleva a cabo en el citoplasma de la célula, específicamente en los ribosomas, que son gránulos citoplasmáticos de aproximadamente 200 Å de diámetro, asociados al retículo endoplasmático, compuestos de 60% de RNA y 40% de proteína.

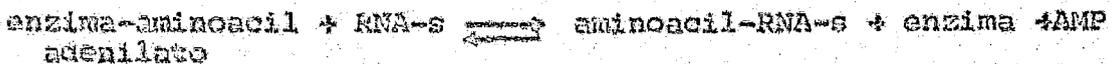
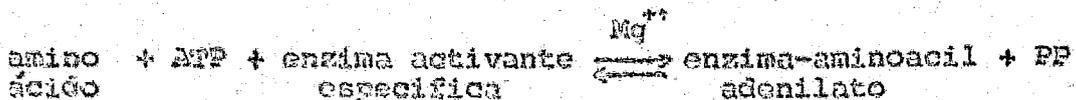
El DNA que lleva la información genética específica sirve como "plantilla" para el RNA mensajero, que es el encargado de llevar dicha información al citoplasma.

Dicho RNA-m se sintetiza por apareamiento de bases con una sola cadena de DNA, este proceso se denomina "transcripción" y ocurre en el núcleo. La reacción es catalizada por la enzima RNA polimerasa. De esta manera el RNA-m es complementario de la cadena original de DNA nuclear, cambiándose la base timina del DNA por uracilo en el RNA.

Este RNA-m es el encargado de llevar la información genética para síntesis proteica a los ribosomas, llamándose a este proceso "traducción".

Los amino ácidos por si mismos no son incorporados directamente en la proteína, primero deben ser activados, lo cual ocurre en dos etapas: primero se forma un derivado activado de cada amino ácido por combinación con ATP, produciendo un acil adenilato, el cual se une en la segunda

etapa al RNA soluble correspondiente:



Hay una enzima activante específica para cada - L-amino ácido; gran cantidad de ellas ya han sido purificadas. El RNA-s es una molécula pequeña que tiene la secuencia terminal de bases C-C-A en el lado aceptor.

Una vez que los amino ácidos han sido activados deben ser transferidos al sistema ribosoma-RNA-m, en la secuencia dictada por este último. Después de esto el ribosoma se mueve a lo largo del RNA-m o viceversa y el amino ácido se une por una ligadura peptídica a la cadena peptídica en formación. Posteriormente el RNA-s es liberado. Este proceso continúa hasta que la molécula de proteína es completada según especifica su gen.

Una sola molécula de RNA-m puede estar unida a varios ribosomas (5 a 8)(polisoma), pudiéndose formar tantas cadenas de polipéptidos como ribosomas haya.

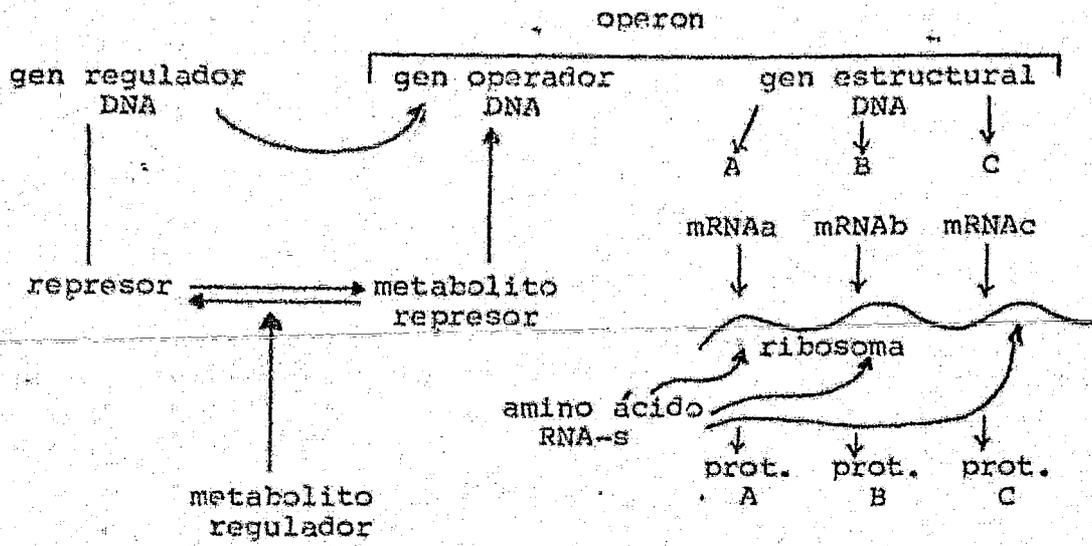
La biosíntesis de proteínas esta influenciada por un gran número de factores. Se cree que el control primario es de tipo genético, incluyendo inducción y represión. El concepto original fue propuesto por Jacob y Monod en -

1961 y consiste fundamentalmente en lo siguiente: la síntesis de proteínas por medio del DNA genético y su complementario el RNA-m se lleva a cabo en un complejo organizado llamado "operón". Un "operón" es un cúmulo de genes en un cromosoma que tienen funciones relacionadas y que son regulados conjuntamente.

Segun Jacob y Monod un operón está compuesto de un número variable de "genes estructurales" (cistrones) y un "gen operador". Los genes estructurales consisten de DNA, forman el RNA-m que controla la secuencia de amino ácidos en los ribosomas. El gen operador regula la actividad del gen estructural, esta localizado en el mismo cromosoma adyacente al gen estructural e inicia el proceso de síntesis por el gen estructural.

Hay un segundo gen de control, el "gen regulador" que controla la actividad del gen operador. El gen regulador produce un "represor" citoplásmico, que se combina con un "metabolito regulador" dando una "señal regulatoria". Esta ligadura puede activar o inactivar al represor, dependiendo si el sistema comprendido es "represible" o "inducible".
Ejemplos.

Se cree que diversas hormonas, como la insulina, la hormona del crecimiento, la testosterona y el estradiol afectan la biosíntesis de proteínas.



POZA METABOLICA:

En un organismo adulto normal, - bajo condiciones usuales, hay una relación directa entre la cantidad de amino ácidos ingeridos y los degradados, produciéndose una excreción diaria de nitrógeno. Esto significa que la cantidad de nitrógeno perdida en un periodo de 24 horas es aproximadamente la misma que la consumida por dicho organismo.

Por el contrario en un organismo en desarrollo solo parte de los amino ácidos sufren degradación, la cantidad restante entra en la síntesis de proteínas característica del crecimiento. Es decir, durante la vida fetal o infantil de un organismo los amino ácidos siguen predominantemente la ruta anabólica y al pasar a vida adulta hay un cambio a la ruta catabólica.

En el caso de los amino ácidos no hay un depósito verdadero conocido comparable al de los carbohidratos (glicógeno) o grasas (tejido adiposo), sin embargo se sabe que la concentración de amino ácidos libres en los tejidos es comunmente mayor que en el plasma, esto implica que los tejidos si tienen un mecanismo para la concentración de amino ácidos.

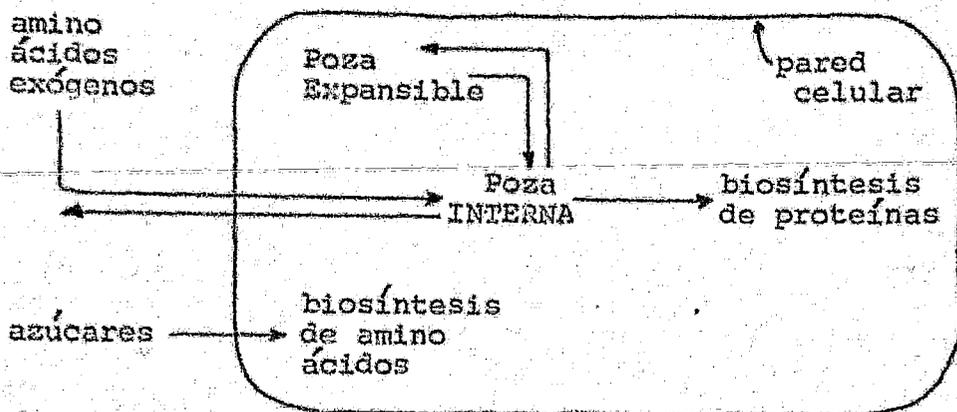
La concentración total de amino ácidos en el plasma en un gran número de especies cae en el rango de 2 a 4 mM y sus niveles individuales estan entre 0.03 y 1 mM; la concentración total de amino ácidos en forma libre presente en los tejidos es de 15 a 30 mM mientras que la cantidad total de amino ácidos en proteínas es de 60 a 120 veces esta cantidad. (1).

En cada tejido hay una poza metabólica de amino ácidos libres la cual provee material constructivo para las proteínas e indica el grado de conversión y de degradación de proteínas asi como las interconversiones entre los diferentes amino ácidos.

Hay tres procesos que contribuyen con amino ácidos para las pozas metabólicas:

1. Formación endógena (en las células) de amino ácidos parenterales.
2. Concentración activa de amino ácidos exógenos.

3. Difusión de amino ácidos hacia las pozas metabólicas. (2).



La poza expansible esta formada por los amino ácidos que pueden extraerse con agua fría, en ella hay intercambio de amino ácidos con el medio, pero no se producen interconversiones de amino ácidos. La composición de esta poza es altamente variable con el medio ambiente y con las condiciones de crecimiento.

Por otra parte, la poza interna consiste de amino ácidos que aparentemente estan unidos de alguna manera a macromoléculas y a algunas estructuras subcelulares. Sus interconversiones normales no son modificadas por la presencia del mismo tipo de amino ácidos en el medio externo. Los amino ácidos exógenos compiten con los amino ácidos formados por biosíntesis pero no desplazan a ninguno que

este ya en la poza interna. .

Se ha demostrado que entre los factores que influyen en la síntesis "in vivo" de proteínas se encuentra el tamaño de la poza de los amino ácidos, la generación de energía, la edad, el sexo, el estado nutricional y el estado hormonal. (7).

III. MATERIALES Y METODOS:

1. Animales:

Las ratas usadas fueron de origen Wistar, de la colonia del Departamento de Farmacología (Facultad de Medicina, UNAM). Las camadas se mantuvieron con la rata madre hasta el momento de ser inyectadas, las madres recibieron alimentación Purina, sin ningún cambio con respecto a estímulos.

Para cada edad (1, 3, 5, 7, 11, 15, 19, 21 y 23 días), se usó un número variable de ratas, tomando en cuenta el material que era necesario para llevar a cabo los análisis.

Tabla I.

Las ratas fueron pesadas e inyectadas con L-leucina $1-C^{14}$ (New England Nuclear Corp. Lote No. 315-190-1). La solución inyectada contenía 50 μ c de L-leucina $1-C^{14}$ en 0.5 ml de HCl 0.1N, a la que se le agregó 0.05 ml de NaOH 1N para neutralizar el ácido y 0.45 ml de solución salina isotónica, obteniendo un volumen final de 1000 μ l. Las cantidades inyectadas en cada caso están reportadas en la tabla I. Se usó una micro jeringa Hamilton de 50 μ l. La inyección fue intraperitoneal salvo en las ratas más pequeñas (1, 3 y 5 días) que fueron inyectadas subcutáneamente en el área lumbar.

2. Preparación de las muestras:

a) Extracción de

los cerebros; exactamente una hora después de inyectadas - las ratas fueron muertas por decapitación, extrayéndoseles el cerebro en menos de dos minutos y colocándolo en hielo. Se pesaron los cerebros y se homogenizaron con 5 veces su peso de agua destilada helada.

b) Separación de proteínas y amino ácidos libres; se tomaron 10 ml de tejido homogenizado (salvo en el caso de las ratas de 1 día, en el cual se tomaron 5 ml), se precipitaron con 10 ml de ácido pícrico saturado (1.2%), se centrifugó por 30 minutos para separar el precipitado (proteínas) del sobrenadante (amino ácidos libres). El precipitado se resuspendió en 10 ml de HCl 0.02N y se volvió a centrifugar.

Sobrenadante:

Al sobrenadante y agua de lavado se les quitó el exceso de ácido pícrico pasándolos por una columna (1 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Analytical Grade Anion Exchange Resin. AG- 2- X8, 200-400 Mesh Chloride form. Calbiochem), se eluyó con HCl 0.02N lavando 3 ó 4 veces la resina, finalmente se pasó suficiente HCl - 0.02N para llevar a un volumen final de 100 ml en un matraz volumétrico.

Las muestras fueron liofilizadas y llevadas posteriormente a un volumen final de 5 ml.

Precipitado:

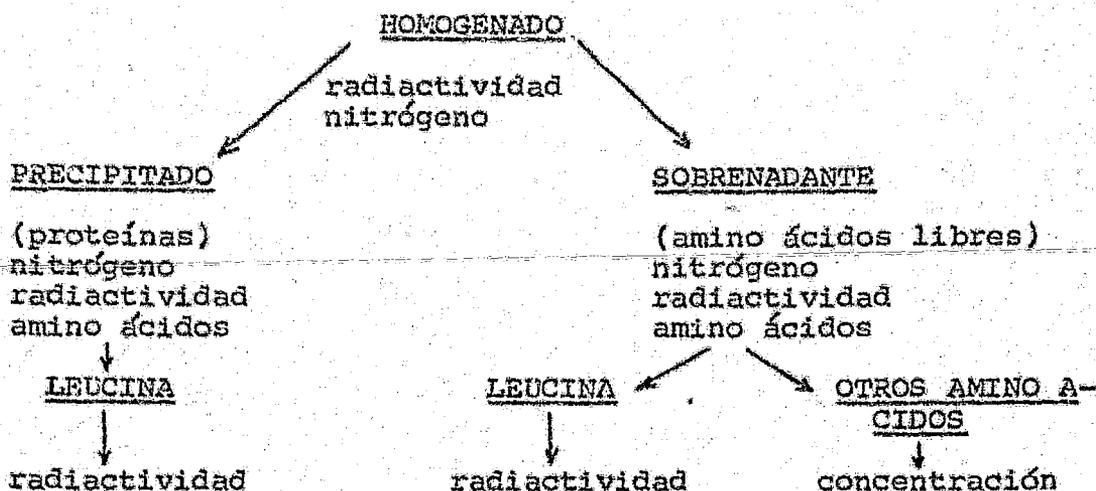
El precipitado se pasó a un matraz redondo de boca esmerilada de 500 ml, añadiendo 200 ml de HCl 6N. Se conectó una extensión con llave de paso y enfriando con hielo se hizo vacío por 10 ó 15 minutos, se cerró la llave de paso y se aseguró firmemente la extensión y la llave por medio de resortes y alambres para evitar que se destape con el calentamiento. Se colocó en la estufa a 110°C por 22 horas. Pasado este tiempo se evaporó todo el HCl usando un rotavapor a una temperatura de 60°C, posteriormente se añadieron 300 ml de agua destilada y se evaporó de la misma manera, esto se repitió por 3 ó 4 veces hasta eliminar totalmente el HCl de la muestra.

Finalmente se agregaron aproximadamente 50 ml de agua y esta solución se pasó por una columna (3.5 x 20 cm) con el mismo tipo de resina que en el caso del sobrenadante, eluyendo con HCl 0.02N. El eluido se colectó en un matraz volumétrico de 250 ml.

Las muestras fueron liofilizadas y llevadas a un volumen final de 10 ml.

Durante todo el proceso entre cada paso las muestras se mantuvieron congeladas, el homogenado se mantuvo desde su extracción hasta el momento de llevar a cabo los análisis a una temperatura de -40° a -60° C.

3. Analisis, esquema general:



A. Determinación de nitrógeno:

Se hizo por el método de Kjeldahl en tres fracciones de cada muestra: homogenado, precipitado y sobrenadante. La cantidad de muestra tomada fue de 0.5 ml en los tres casos; la muestra se puso en el matraz de Kjeldahl con 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y una cantidad estándar de catalizador (Mezcla reactiva del Selenio, E. Merck A.G. Darmstadt).

La muestra se digirió por dos horas hasta que se decoloró totalmente. El amoníaco formado se destiló burbujeándolo en solución al 4 % de ácido bórico, usando azul de metileno 1:10000 y rojo de metilo al 1 % como indicador. La muestra se tituló con ácido sulfúrico 0.01N.

B. Cuentas de radiactividad:

Las muestras se prepararon de la siguiente manera: para el homogenado se puso 0.5 ml de muestra mas 1 ml de hidróxido de hiamina en un vial, se calentó en una estufa a 70° C por 30 minutos. Para el sobrenadante y el precipitado se colocó 1 ml de muestra en el vial. A todas se les agregó 15 ml de solución de centelleo de la siguiente composición: xileno:dioxano:metilcelosolve, 1:3:3 ; 1.5 % de 5 difenil oxazol (PPO); 0.5 % de 1,3 bis 2 (4 metil-5 fenil oxazol)-benceno (POPOP) y 8 % de naftaleno.

Se contaron por 5 minutos en un Packard Tri-Carb Liquid Scintillation Spectrometer. Las cuentas fueron corregidas por una gráfica obtenida en el mismo aparato y también por estandarización interna usando tolueno- C^{14} , añadiendo 2630 dpm a cada muestra. La eficiencia para homogenados fue de 55 a 65 %, para sobrenadante y precipitado de 50 a 60 % y para leucinas de 60 a 70 %.

C. Determinación de amino ácidos:

La determinación de amino ácidos se hizo basándose en la tecnica cromatográfica descrita por Moore y Stein (3), se usó un Autoanalizador de Amino Ácidos (Technicon Corporation), con una modificación en la técnica colorimétrica de la ninhidrina (4).

Se usó una unidad de autogradiante con 9 cámaras, usando la siguiente mezcla que es la propuesta por el manual del aparato, llevándolas a un volumen de 100 ml por cámara:

Cámara	Buffer pH 2.875	Buffer pH 3.8	Buffer pH 5.0
1	93.5 + 6.5 ml MeOH.	0	0
2	96.0 + 4 ml MeOH	0	0
3	100.0	0	0
4	100.0	0	0
5	0	93.5	6.5
6	8.0	12.0	80.0
7	0	0	100.0
8	0	0	100.0
9	0	0	100.0

La columna usada para la separación es de 150 x 0.9 cm, empacada con resina sulfónica y provista de una chaqueta de calentamiento que la mantiene a 60°C.

Se utilizó norleucina como estándar interno. Cada nuevo lote de solución de ninhidrina que se preparó se corrió un estándar (Technicon Std. Amino Acid Mixture), con 0.2 μ M de cada amino ácido.

Las muestras se prepararon de la siguiente manera: sobrenadante; 1.8 ml de muestra, 0.2 ml de norleucina y 0.5

ml de sacarosa al 62.5 %, de esta mezcla se inyectó 1 ml cada vez. Precipitado; 0.5 ml de muestra, 0.2 ml de norleucina y 0.3 ml de sacarosa, de esta mezcla se inyectó 0.4 ml.

A fin de poder coleccionar la fracción radiactiva se hizo una modificación al auto analizador, que consistió en hacer una separación de la muestra que salía de la columna en 2 fracciones iguales, una de ellas sirvió para coleccionar la fracción deseada y la otra para la medición de la concentración del amino ácido.

Para medir la síntesis de proteína se usó la "actividad específica relativa", la cual corrige los datos obtenidos tomando en cuenta la variación del tamaño de la poza precursora.

Los datos obtenidos se refieren a mg de nitrógeno en vez de a gm de tejido para descartar el error debido a las variaciones en contenido de agua y grasa que son considerables en los animales en desarrollo.

IV. RESULTADOS:

1. Peso de animales y cerebros:

El peso de los animales va aumentando proporcionalmente a la edad de estos; el peso de los cerebros aumenta rápidamente en los primeros 15 días de vida, después de este período su aumento es muy lento y se mantiene casi estable. (Tabla I y Gráfica I).

Estos resultados coinciden con los reportados por estudios anteriores (Agrawal et. al., 1966; Sotelo, 1967).

2. Cambios en contenido de nitrógeno en homogenado:

La concentración de nitrógeno en el homogenado cerebral aumenta muy uniformemente, en cambio el nitrógeno total del órgano aumenta rápidamente. (Tabla II y Gráfica II).

3. Incorporación de Leucina-C¹⁴ en proteína y sobrenadante:

La incorporación máxima de Leucina-C¹⁴ en proteínas cerebrales ocurre en el 3er día de vida, encontrándose un pico menor en el 15avo día. La menor incorporación corresponde al día 23.

En la poza metabólica de leucina libre (exclusivamente radiactiva) se encuentra el punto máximo en el 1er día y otros dos picos en los días 7 y 15 de casi igual intensidad. (Tabla III y Gráfica III).

TABLA I
CAMBIOS CON LA EDAD EN EL PESO DE
RATAS Y DE CEREBROS.

Edad	1	3	5	7	11	15	19	21	23
Número de animales	12	12	10	7	6	6	6	7	5
ml inyectados	4	4	10	15	20	20	20	20	20
Peso ratas gm	6.26	6.34	10.07	18.18	21.5	25.25	34.06	43.6	47.6
Peso cerebros gm	0.12	0.47	0.53	0.82	1.01	1.25	1.25	1.39	1.46

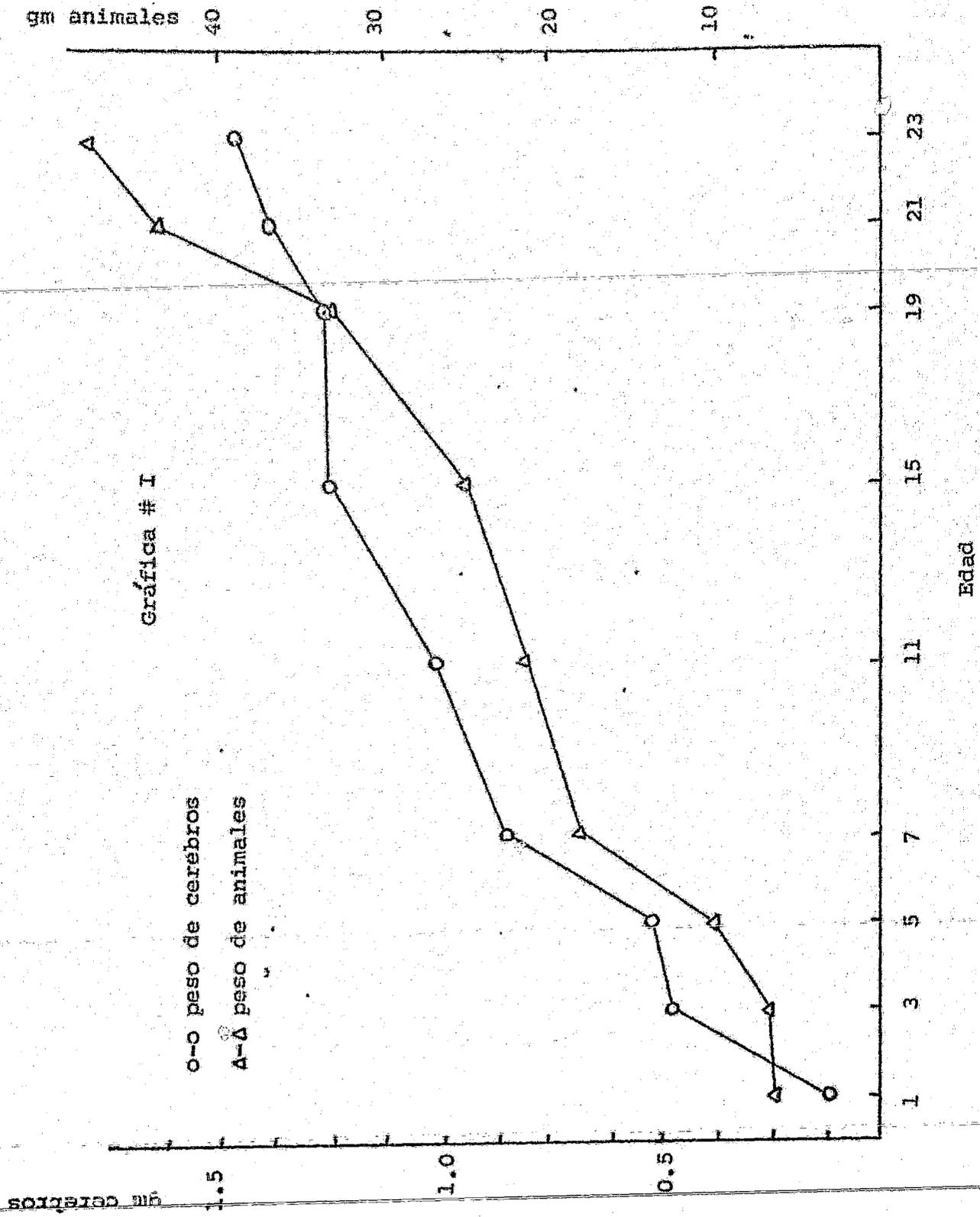
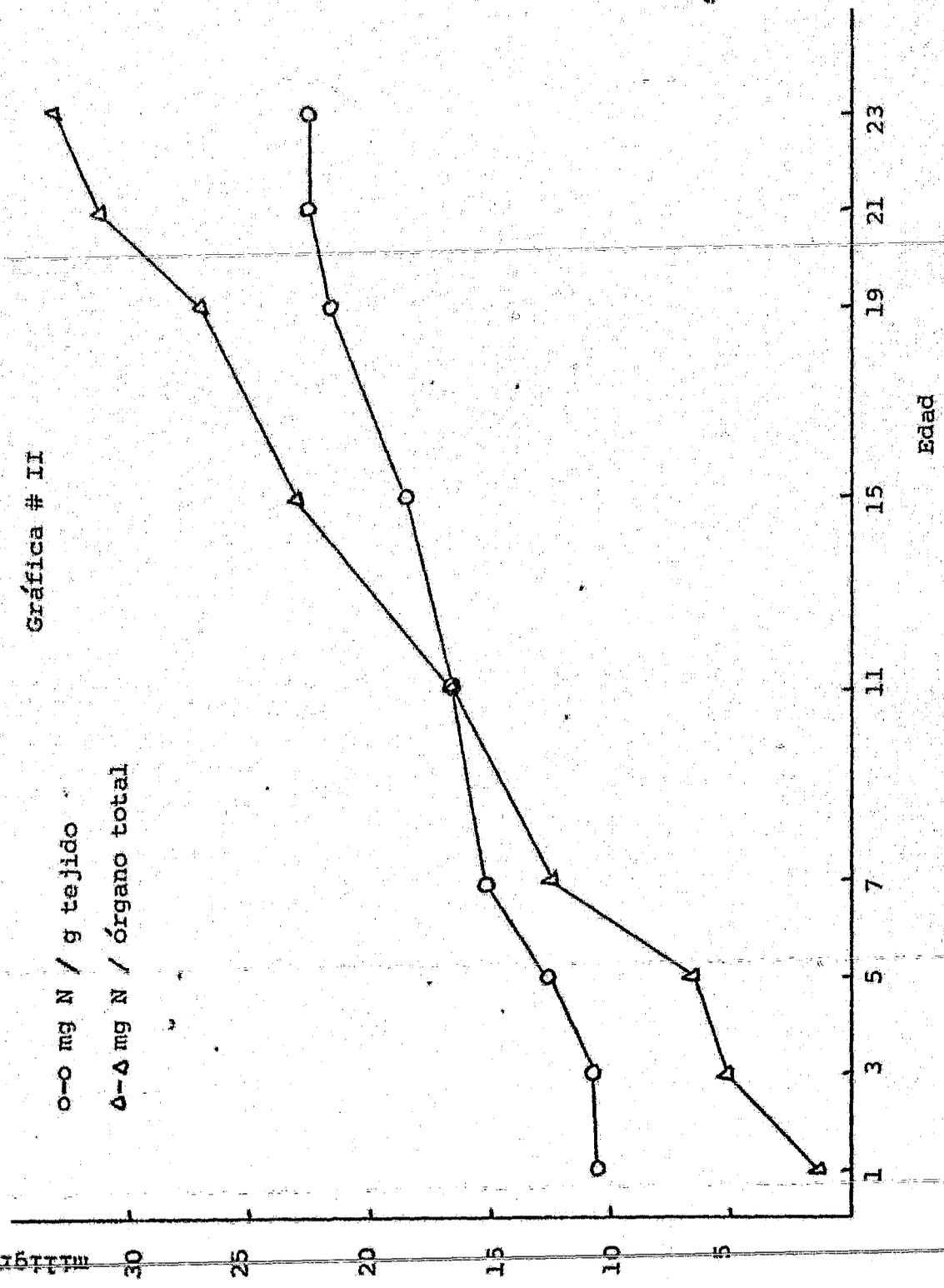


TABLA II
 CONTENIDO DE NITROGENO Y PROTEINA EN
 HOMOGENIZADO

Edad	1	3	5	7	11	15	19	21	23
mg N/ g tejido	10.59	10.92	12.6	15.13	16.8	18.49	21.7	22.6	22.8
mg prot/ g tejido	66.2	68.25	78.75	94.56	105.06	115.56	135.6	141.25	142.5
mg N / órgano	1.27	5.13	6.68	12.41	16.98	23.11	27.1	31.41	33.3
mg prot / órgano	7.94	32.06	41.75	77.56	106.12	144.44	169.5	196.3	208.06

Gráfica # II

o-o mg N / g tejido
Δ-Δ mg N / órgano total



miligramos

Edad

TABLA III
 CAMBIOS POSTNATALES EN LA INCORPORACION DE
 LEUCINA-C¹⁴ EN PROTEINA Y SOBRENADANTE

EDAD	1	3	5	7	11	15	19	21	23
dpm/mg N/dosis SN	7.328	5.3	4.04	7.0	5.92	6.94	6.49	3.72	2.88
dpm/mg N/dosis PP	25.32	35.66	15.92	5.67	7.4	11.6	8.18	5.86	3.98

(los resultados son x 10³)

$\times 10^3$

$\times 10^3$

Gráfica # III

SN

PP

10

50

●-●-● dpm/mg N/dosis PP

○-○-○ dpm/mg N/dosis SN

9

8

40

7

6

30

5

4

20

3

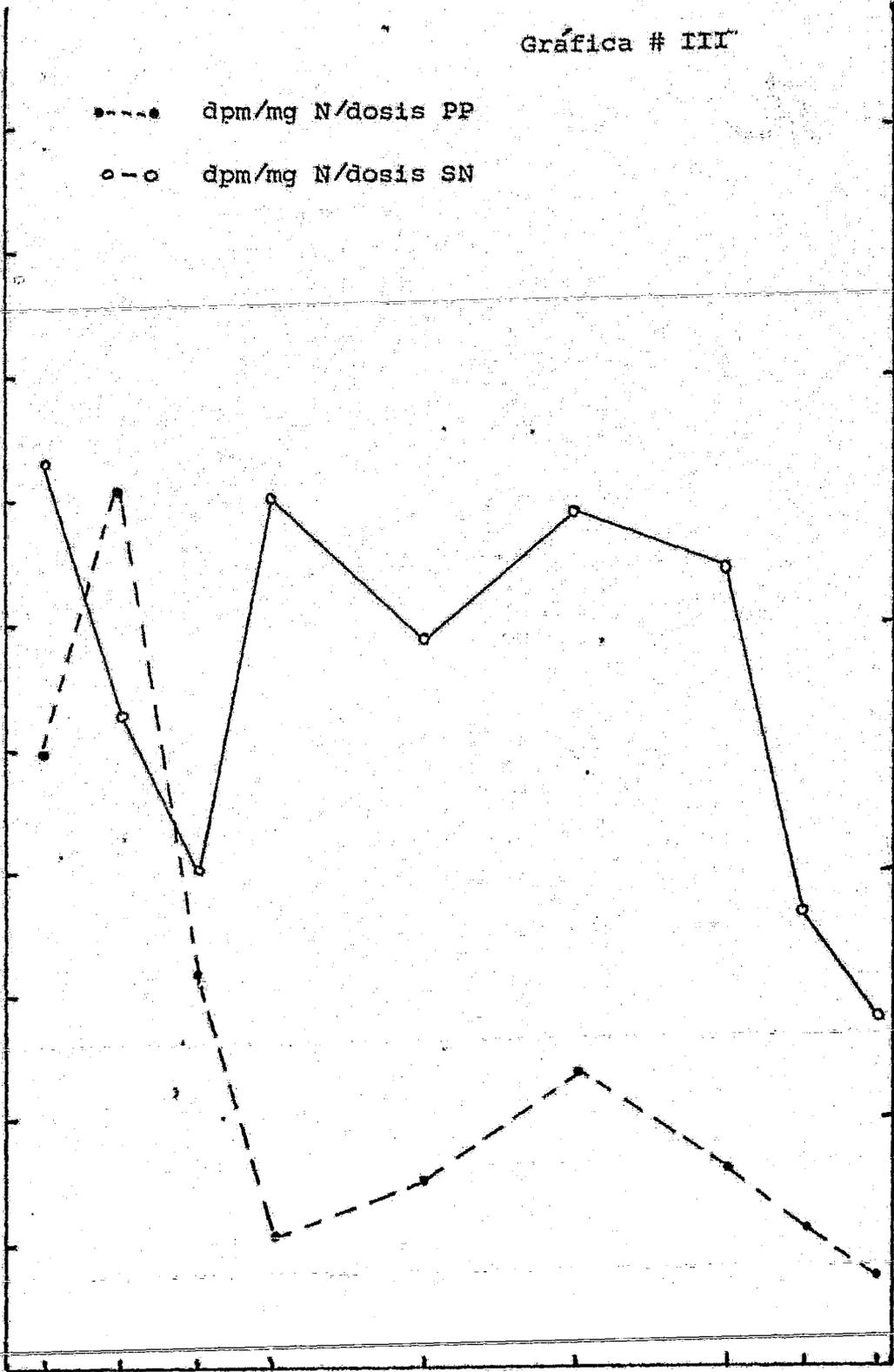
2

10

1

1 3 5 7 11 15 19 21 23

Edad



4. Poza metabólica de leucina libre:

Se encuentran

dos puntos máximos correspondientes a los días 3 y 15.

(Tabla IV y Gráfica IV).

5. Actividad específica de la poza metabólica de leucina libre:

La actividad específica de la poza metabólica de leucina libre es inversa a la concentración de leucina libre, encontrándose un pico en el 5o día y siendo el día 23 el de mayor actividad específica. (Tabla IV y Gráfica IV)

6. Actividad específica relativa:

Tiene dos puntos

muy marcados de intensidad en la actividad en los días 3 y

15. (Tabla IV y Gráfica V).

7. Pozas metabólicas de los diversos amino ácidos:

Por los resultados obtenidos podemos dividirlos en tres grandes grupos:

a) amino ácidos que se encuentran en grandes concentraciones: ácido aspártico, ácido glutámico y fenil alanina y en concentraciones ligeramente menores treonina, serina y glicina.

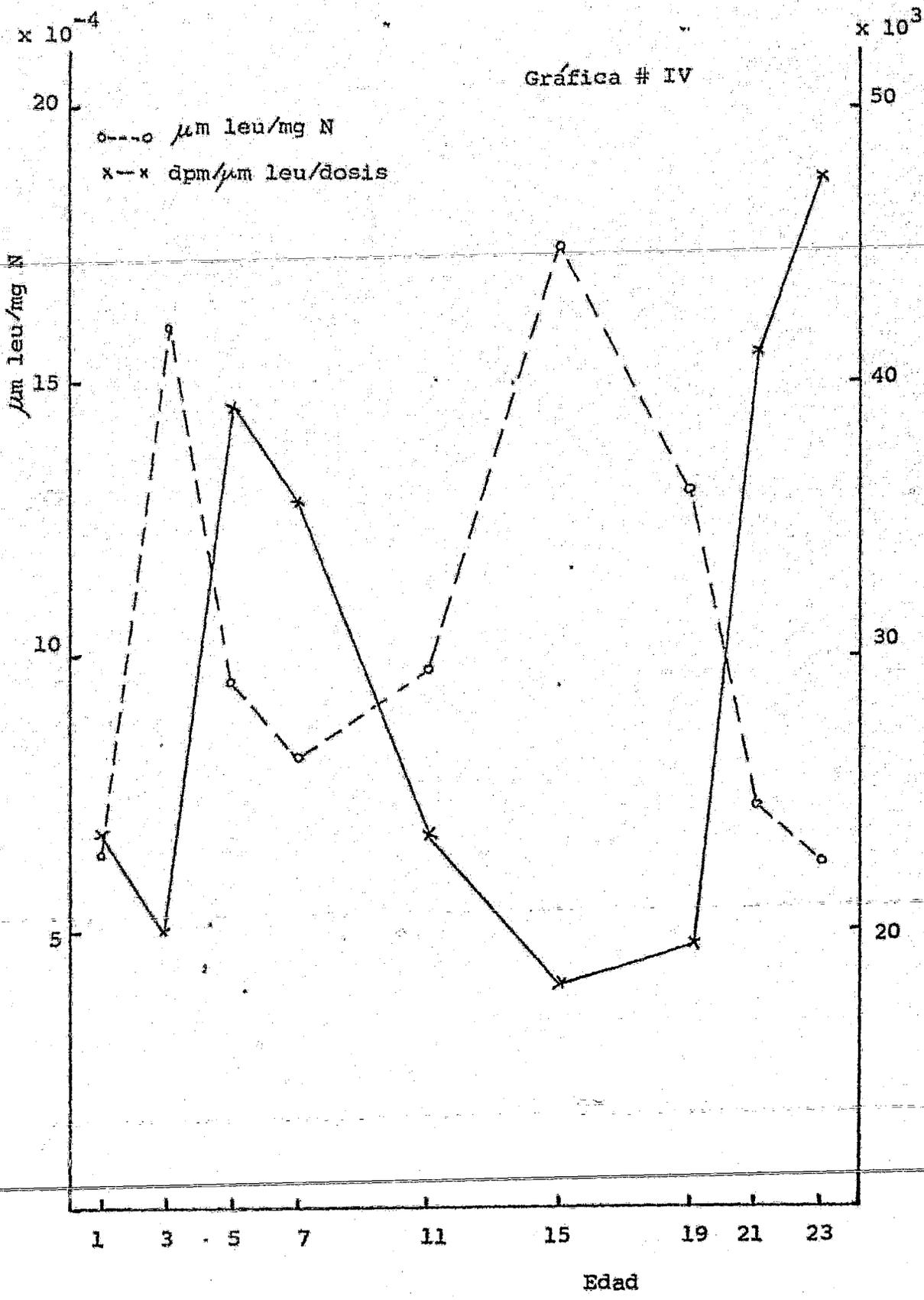
Los tres primeros tienen picos de máximas concentraciones en los días 3 y 21, treonina en los días 3 y 15 y serina y glicina en los días 3 y 19. (Tabla V y Gráficas VI y VII)..

TABLA IV
 CAMBIOS POSTNATALES EN LA ACTIVIDAD ESPECIFICA
 RELATIVA DE LEUCINA EN PROTEINA Y
 SOBRENADANTE

Edad	1	3	5	7	11	15	19	21	23	
$\mu\text{m leu/mg N SN}$	64.7	160.7	96.5	82.6	98.3	175.5	131.3	73.1	63.1	$\times 10^{-3}$
$\text{dpm}/\mu\text{m leu/dosis}^*$	23.5	20.7	39.3	35.9	23.8	18.3	19.5	41.2	47.5	$\times 10^3$
$\text{dpm}/\mu\text{m leu/dosis}^{**}$	190	609	505	586	365	803	298	693	484	
Act. Esp. Rel. **	0.008	0.029	0.013	0.016	0.011	0.0411	0.016	0.0168	0.01	

** Actividad Especifica relativa = $\frac{\text{Actividad especifica en Proteina}^{**}}{\text{Actividad especifica de la Poza Metabolica}^*}$

Gráfica # IV



Gráfica # V

Actividad Especifica
Relativa

0.04

0.03

0.02

0.01

1 3 5 7 11 15 19 21 23

Edad

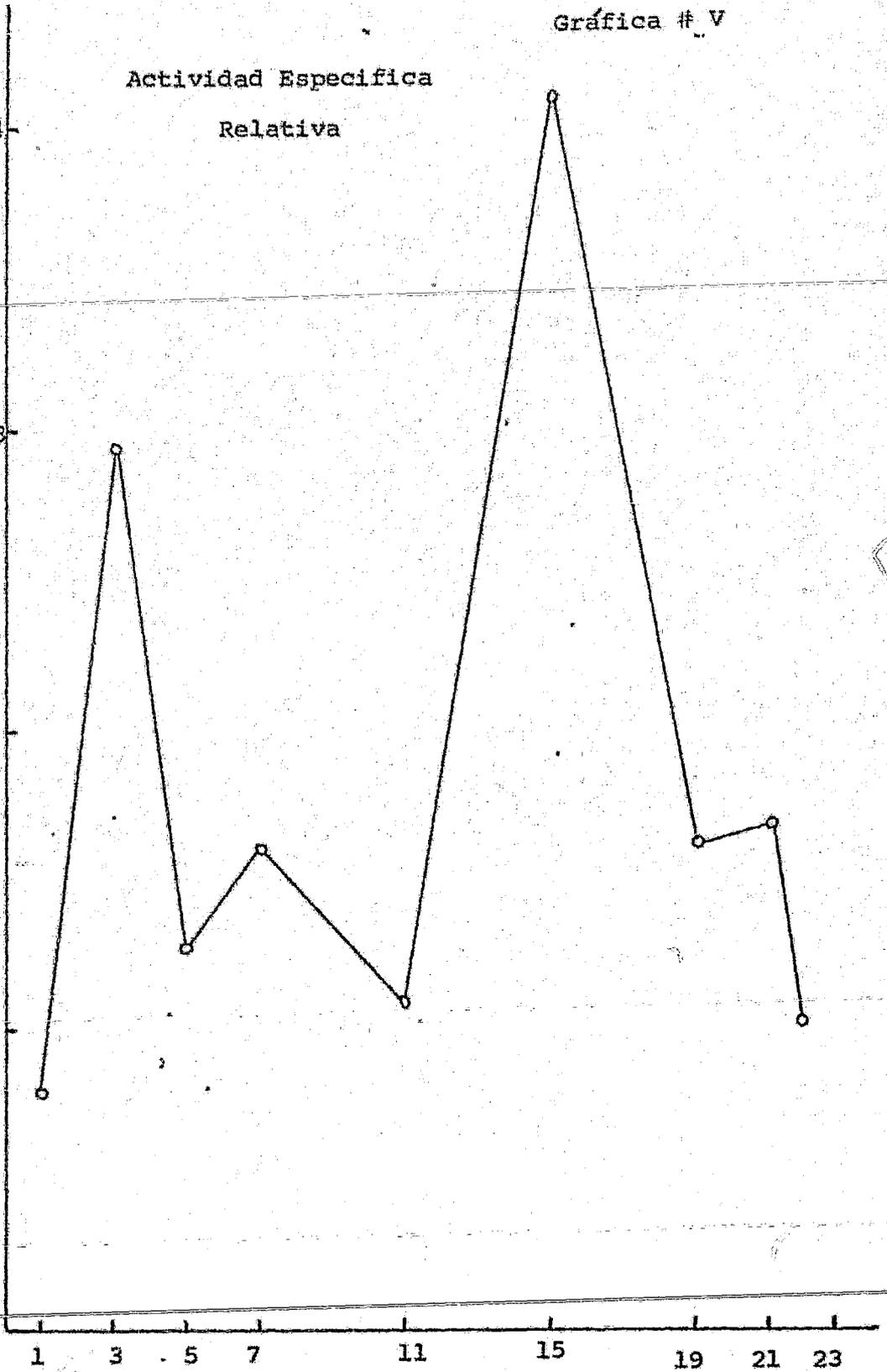


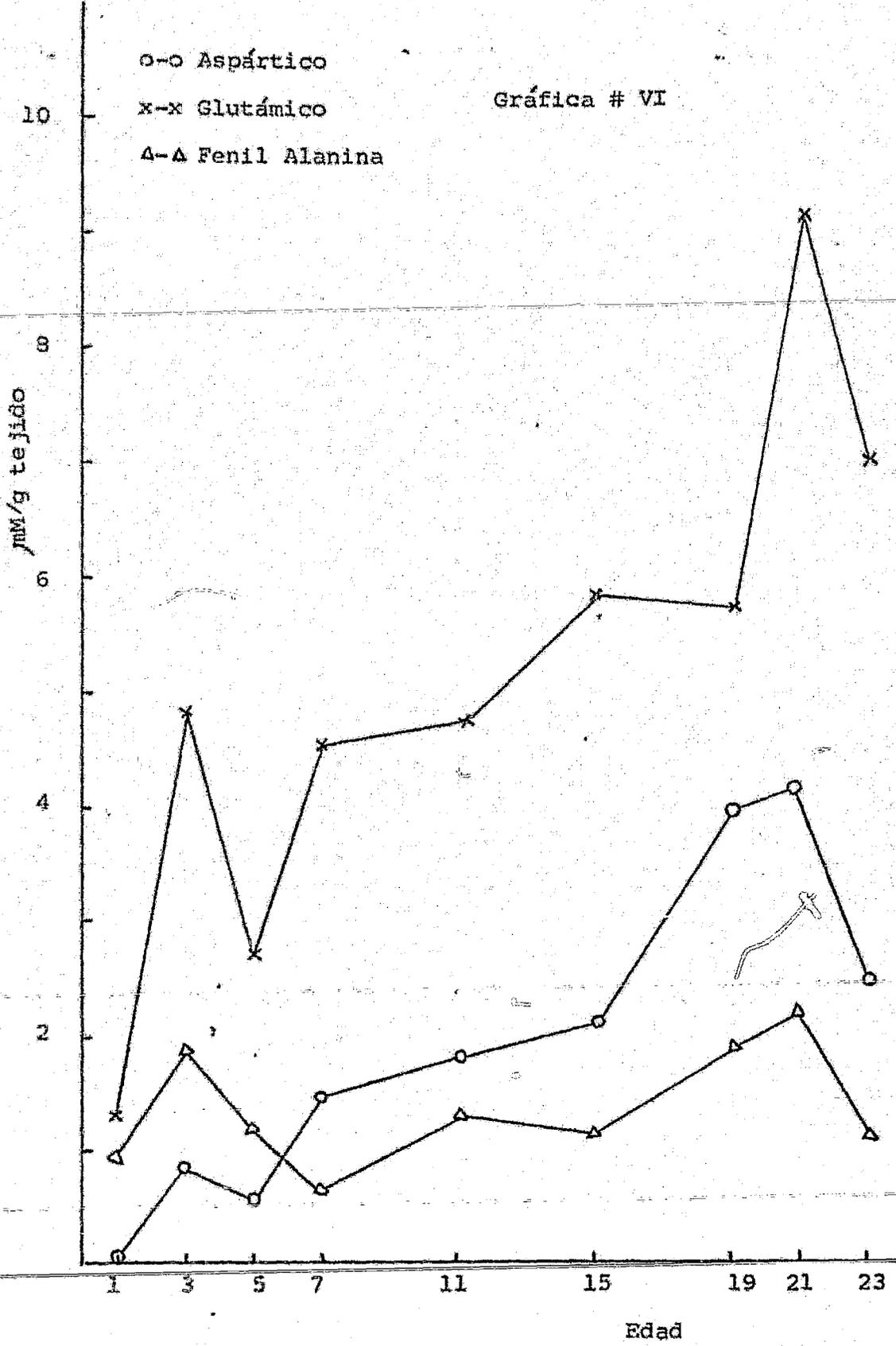
TABLA V
 CAMBIOS POSTNATALES EN POZAS METABOLICAS
 LIBRES.

Edad	Aspártico	Glutámico	Fenil alanina	Treonina	Serina	Glicina
1	0.0753	0.1297	0.987	0.0476	0.1087	0.092
3	0.8414	4.807	1.87	1.037	0.6924	1.3096
5	0.5794	2.682	1.188	0.746	0.5138	0.8117
7	1.4539	4.5669	0.6611	1.3326	0.6987	0.8494
11	1.826	4.7029	1.3104	2.1368	0.9058	0.7405
15	2.117	5.8221	1.1001	2.4414	1.2761	1.182
19	3.993	5.7134	1.8745	1.3138	1.4309	1.4016
21	4.1296	9.1631	2.1924	1.6108	1.0167	0.9916
23	2.4916	7.084	1.1087	0.589	0.8472	0.9748

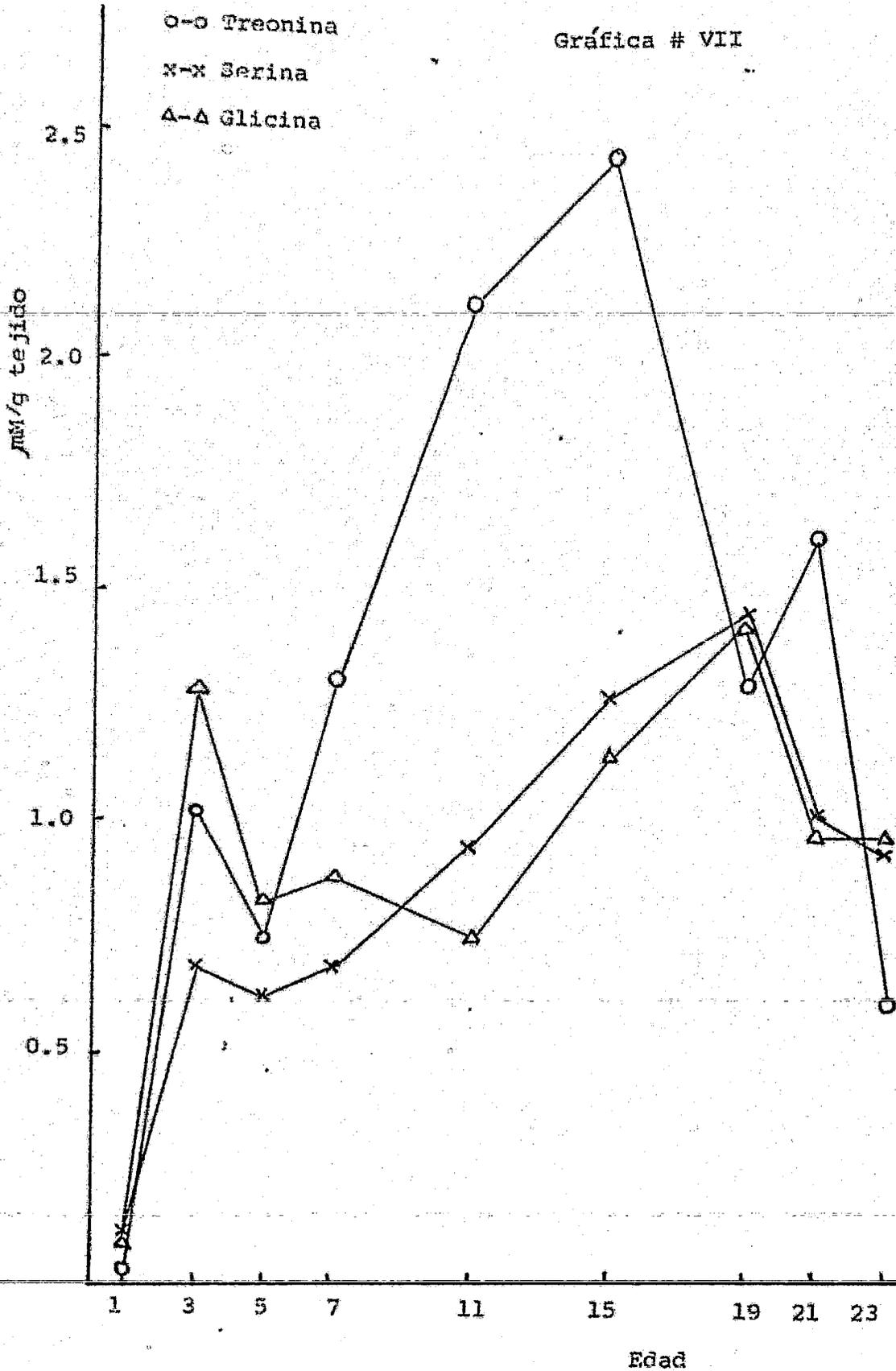
valores en $\mu\text{M/g}$ tejido

Gráfica # VI

o-o Aspártico
x-x Glutámico
Δ-Δ Fenil Alanina



Gráfica # VII



b) amino ácidos presentes en concentraciones bajas pero que tienen relación con la síntesis y degradación de proteínas tisulares que está llevándose a cabo constantemente durante el desarrollo; prolina y valina, con picos máximos en los días 3 y 19; isoleucina y leucina con picos máximos en 3 y 15 y tirosina con picos en 3 y 11 días. (Tabla VI y Gráficas VIII y IX).

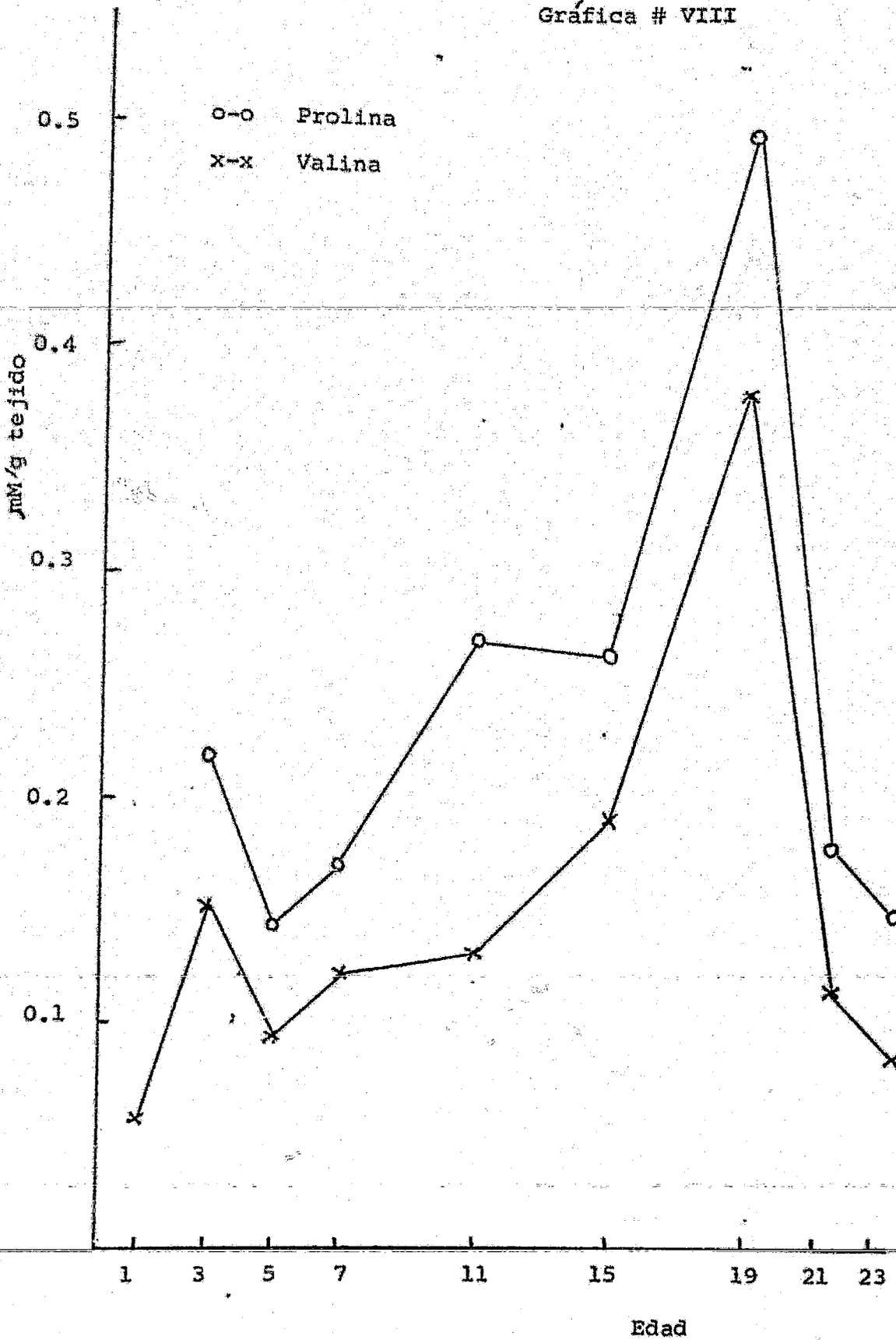
c) compuestos de menor importancia que tienden a mantenerse constantes y en algunos casos a disminuir aunque también presentan sus picos característicos: arginina, ornitina, histidina, metionina, alanina y lisina. (Tabla VII)

TABLA VI
 CAMBIOS POSTNATALES EN POZAS METABOLICAS
 LIBRES.

Edad	Prolina	Valina	Isoleucina	Leucina	Tirosina	Amoniaco
1	no salio	0.0585	0.0326	0.0544	0.0794	no salio
3	0.217	0.151	0.0765	0.135	0.556	1.904
5	0.1464	0.094	0.0682	0.0975	0.1606	2.51
7	0.1715	0.1234	0.0585	0.1108	0.2468	3.7615
11	0.2709	0.132	0.0753	0.1416	0.3807	5.223
15	0.2677	0.1903	0.1192	0.2510	0.3179	3.619
19	0.4979	0.3807	0.1066	0.1882	0.3326	14.389
21	0.1757	0.1129	0.0543	0.1171	0.3347	6.585
23	0.1464	0.0815	0.0564	0.0887	0.2991	2.192

valores en $\mu\text{M/g}$ tejido

Gráfica # VIII



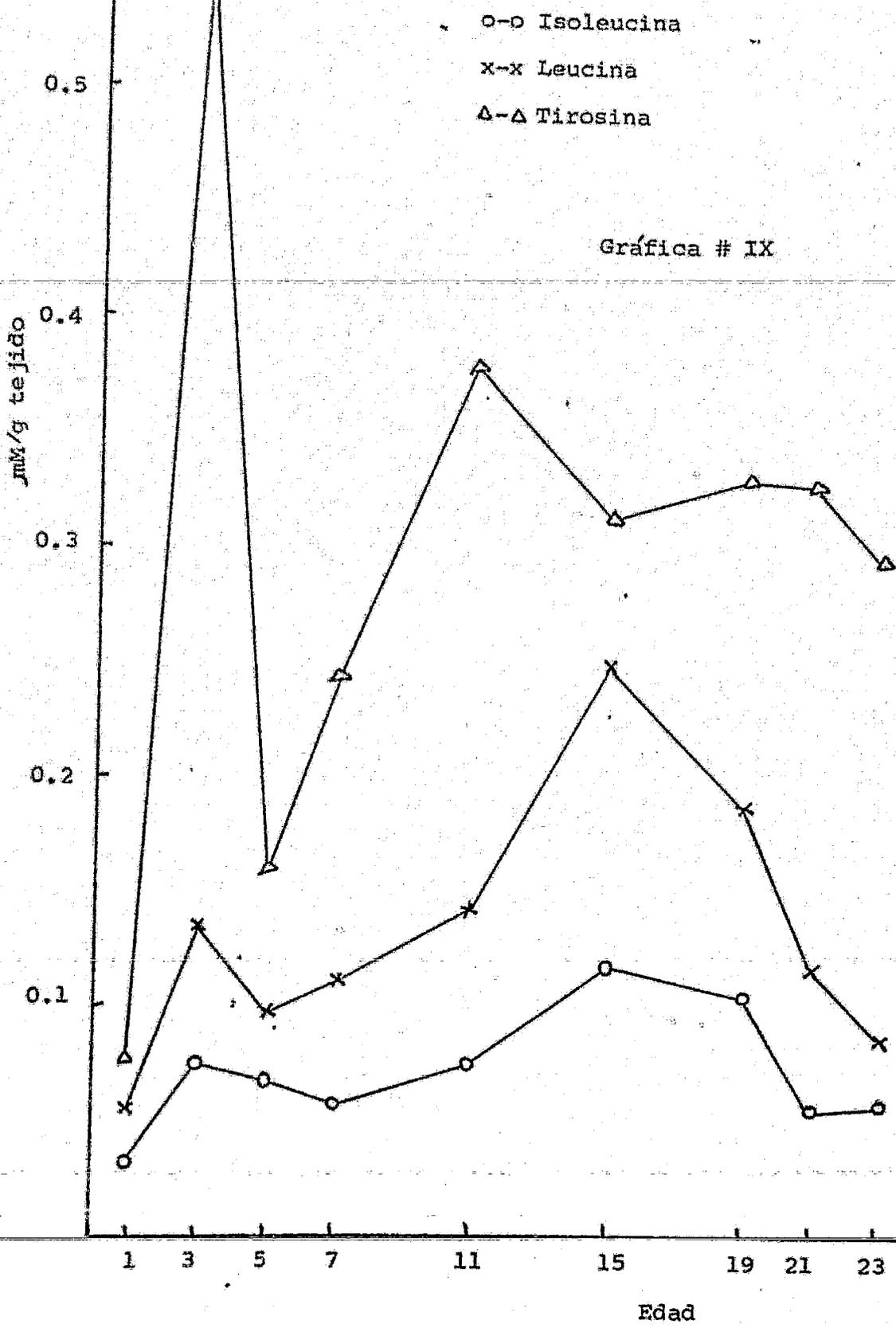


TABLA VII
 CAMBIOS POSTNATALES EN POZAS METABOLICAS
 LIBRES

Edad	Alanina	Metionina	Lisina	Histidina	Arginina	Ornitina
1	0.1004	no salio	0.0527	0.0251	0.0468	no salio
3	0.619	0.056	0.1297	0.1326	0.0671	0.0791
5	0.3803	0.0506	0.1087	0.0619	0.0471	0.0983
7	0.5815	0.0857	0.2088	0.1171	0.0573	0.0648
11	0.9815	0.0801	0.2462	0.1274	0.1284	0.0885
15	1.1234	0.1297	0.4393	0.1569	0.2238	0.0752
19	1.481	0.1799	0.705	0.1924	0.2782	0.1841
21	0.8702	0.1255	0.523	0.1213	0.1589	0.0669
23	0.7573	0.0774	0.2815	0.0952	0.1129	0.1276

valores en $\mu\text{M/g}$ tejido

V. CONCLUSIONES:

El proceso de desarrollo postnatal de un mamífero es muy complejo y es necesario integrar parámetros muy diversos para poder sacar alguna conclusión.

Siempre se ha asociado el crecimiento de un organismo a un aumento en la síntesis proteica y también a una mayor retención de nitrógeno por los diversos órganos que lo componen. Con diversos trabajos se ha comprobado que el aumento en síntesis de proteínas no es continuo, sino que presenta picos de máxima y mínima actividad específicos para cada órgano y que pueden relacionarse con cambios en ácidos nucleicos en el mismo órgano.

Según se ha encontrado con el trabajo desarrollado, la síntesis proteica correspondiente al cerebro de ratas en el periodo de la lactancia presenta dos picos de máxima actividad en los días 3 y 15, encontrándose depresiones y periodos de relativa estabilidad.

Se confirma en este trabajo las observaciones encontradas por Scheier y Porath (1965) y A. Sotelo (1967) de que hay una caída en la síntesis de proteínas en el primer día de vida, y no que al nacer hay una elevada síntesis de proteínas como otros autores indican. El pico encontrado en el 3er día tiene concordancia con la teoría de algunos neurofisiólogos de que esa es la edad en la cual empieza la ac

tividad eléctrica del cerebro en esta especie.

También se ha encontrado que el tamaño de las pozas metabólicas de los diversos amino ácidos estudiados varia con la edad, por lo general disminuyendo. Podemos dividir los amino ácidos según su concentración y sus picos de máxima concentración en tres grupos:

a) Acido glutámico, ácido aspártico, fenil alanina, treonina, serina y glicina. Estan presentés en grandes concentraciones, lo cual se explica en los dos primeros por el papel que desarrollan en el metabolismo intermedio, controlando el ritmo del ciclo del ácido tricarboxílico, al mantener el balance de sus diferentes constituyentes.

La fenil alanina se encuentra en el cerebro en una proporción mucho mayor que en ningún otro órgano y esto parece deberse a que tiene una relación directa con el funcionamiento cerebral.

b) Prolina, valina, isoleucina, leucina, y tirosina; que se encuentran en menores proporciones y que están relacionados con síntesis y degradación de proteínas tisulares.

c) Arginina, ornitina, histidina, metionina, alanina y lisina; que se encuentran en bajas proporciones y que tienden a disminuir.

Se sugiere la determinación de DNA y RNA en mues-

tras correspondientes a las utilizadas para confirmar los puntos críticos de máxima síntesis de proteínas.

VI. BIBLIOGRAFIA:

- 1) Halvor N. Christensen. Free Amino Acids and Peptides in Tissues. in Mammalian Protein Metabolism, Munro H.A. Academic Press, New York. (1964).
- 2) Reithel F.J. (1967) Concepts in Biochemistry, Mc Graw-Hill Book Company. pag. 128-130.
- 3) Moore S. & Stein W.H. (1954) Procedures for the Chromatographic Determination of Amino Acids on four per cent Cross-linked Sulphonated Polystyrene Resins. J. Biol. Chem. 211, 893-906.
- 4) Moore S. & Stein W.H. (1954) A modified Ninhidrin Reagent for the Photometric Determination of Amino Acids and related Compounds. J. Biol. Chem. 211, 907-913.
- 5) Peterson & Sober (1959) Analytical Chem. 31, 857.
- 6) Techniques in amino acids analysis. Technicon Corporation
- 7) Carver M.J. (1969) Free amino acids of Fetal Brain. J. Neurochem. 16, 113-116.
- 8) McKean C.M., Boggs D.E. & Peterson N.A. (1968) The Influ-

ence of high phenylalanine and tyrosine on the concentrations of essential amino acids in brain. *J. Neurochem.* 15, 235-241.

9) Cowie D.B. in *Amino Acid Pools*, JTHolden editor American Elsevier Publishing Co. Inc. N.Y. 1962. pag 633-645.

10) Sotelo Lopez Angela (1967) *Changes of Protein Metabolism with age in the Neonatal rat.* M.Sc. Thesis, Massachusetts Institute of Technology.

11) Agrawal H.C., Davis J.M. & Himwich W.A. (1966) *Postnatal Changes in Free Amino Acids Pool of Rat Brain.* *J. Neurochem.* 13, 607-615.

12) Agrawal H.C., Davis J.M., & Himwich W.A. (1968) *Changes in some free amino acids of Guinea pig Brain during postnatal ontogeny.* *J. Neurochem.* 15, 539-531.

13) Kleiner J.S., & Orten J.M. (1967) *Biochemistry*, 7th edition, The C.V.Mosby Company. Pag. 535-540.

14) Ganong W.F. (1967) *Review of Medical Physiology.* Lange Medical Publications. pag. 234-240.

15) Steiner R.F. & Edelhoeh H. (1965) *Molecules and Life.*

D. Van Nostrand Company, Inc. pag 111-133.

16) Wang C.H. & Willis D.L. (1965) Radiotracer Methodology in Biological Science. Prentice-Hall, Inc.

17) Wolf G. (1964) Isotopes in Biology. Academic Press, New York.

18) Schreier, K. & Porath, U. (1965) "Eiweissynthese in Der Pra-und Postnatalperiode" in Fortschritte der Padologie, F. Lenneweh, Ed. Springer Verlag.