

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**
Facultad de Química

20

Mecanismo de Control de la Síntesis de
Albúmina por el Hígado

T E S I S

Que para obtener el Título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Presenta

Gloria Valdés Degollado

México, D. F.

1973

M-172553



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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	Prof. Fernando Velez Orozco
V O C A L	Prof. Magdalena Acosta Segura
SECRETARIO	Prof. Yolanda Castells de García
1er. SUPLENTE	Prof. Ramón Guevara Estrada
2do. SUPLENTE	Prof. Socorro Cao Romero Martínez

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: Departamento -
de Gastroenterología (Laboratorio de Investigación) del -
Instituto Nacional de la Nutrición.

SUSTENTANTE	Gloria Valdes Degollado
ASESOR DEL TEMA	Q. F. B. Yolanda Castells de García
SUPERVISOR TECNICO	Dr. David Kershenobich

Con inmenso cariño a mis Padres:

J. Trinidad Valdes Ortega
Elena Degollado de Valdes

Quienes con sus palabras alentadoras
y amorosos esfuerzos hicieron posible
la culminación de mi carrera profesional.

A mi querido Esposo:

Jesús Almanza A.

Quien me brindó su
más cariñoso apoyo.

A mis hijos:

Alejandro, Arturo y Alberto.

Agradezco al Dr. David Kershenobich

bajo cuya dirección se realizó este trabajo

Hago patente mi agradecimiento al

Instituto Nacional de la Nutrición

por las facilidades que me dio en el
desarrollo de este trabajo

I N D I C E

- I. INTRODUCCION
- II. GENERALIDADES
- III. MATERIAL Y METODO
- IV. RESULTADOS
- V. DISCUSION
- VI. CONCLUSIONES
- VII. BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

El presente trabajo se llevó a cabo con el objeto de establecer el efecto que se presenta, por la administración de progesterona in vivo e in vitro, sobre la síntesis de albúmina por el hígado, mediante incubaciones de cortes de hígado con lisina H^3 y contribuir en esta forma a esclarecer el proceso de la proteína síntesis por este órgano.

GENERALIDADES

Las proteínas plasmáticas son un grupo heterogéneo de productos sintetizados en diferentes órganos y secretados al plasma en cantidades variables con el fin de mantener un medio constante, sosteniendo el pH del organismo, la presión oncótica, fijar y transportar metabolitos, anticuerpos, aminoácidos, iones, hormonas, vitaminas, ácidos grasos, drogas, productos tóxicos y de degradación y transmitir mensajes a órganos distantes. El plasma contiene cuando menos 30 diferentes proteínas que difieren entre sí por su constitución química, por ejemplo la secuencia de aminoácidos. Por lo tanto difieren también en cuanto a sus propiedades físicas como serían: densidad, solubilidad, carga eléctrica e identidad inmunológica.

Los niveles normales de proteínas totales en el suero humano fluctúan entre 6.2 a 8.0 g. por 100 ml. De éstos una de las fracciones más importantes la constituye las albúminas, cuya concentración normal es de aproximadamente 3.5 a 5.5 g. por 100 ml.

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE LAS ALBUMINAS

Las albúminas tienen un peso molecular aproximado (1) de 70,000 su punto isoeléctrico es de 4.9 y a pH de 8.6 son unas de las proteínas que migran más rápido en un campo electroforético. Esto sugiere que tienen micro-heterogeneidad, Foster 1960 (2). La micro-heterogeneidad no necesariamente depende de las diferencias de la estructura primaria, sino probablemente se debe al hecho de que está fijando al mismo tiempo un material extraño. Así por ejemplo las albúminas en el líquido cefalorraquídeo se supone que derivan del plasma, sin embargo, las albúminas de estos compartimientos tienen diferencias en cuanto a su movilidad electroforética. Se ha mencionado que las albúminas plasmáticas pasan al líquido cefalo-

rraquideo por dos diferentes rutas y que es posible que en un caso las albúminas fijen substancias de peso molecular bajo, responsable del aumento en la carga y por lo tanto de la diferente movilidad electroforética.

Las albúminas no contienen carbohidratos, y aproximadamente $2/3$ partes de la proteína inicial tiene un grupo SH (Mercaptoalbúmina), las fracciones que no son mercaptoalbúminas, son mezclas de disulfuros representados en formas modificadas de mercaptoalbúminas cisteína y glutatión. Su contenido total en lípidos es de 0.2%. En el Cuadro "1" se describe su composición en aminoácidos.

La albúmina cristaliza en presencia de sulfato de amonio y metanol y es precipitable además con ácido perclórico 0.6 Molar, Rivanol 0.0065 Molar y ácido tricloroacético 0.15 Molar.

FUNCIONES DE LAS ALBUMINAS

Las albúminas tienen varias funciones que son vitales para el organismo pero, sin embargo, ninguna de ellas es específica. Quizá la más importante de ellas consiste en la capacidad para fijar y transportar hormonas, cationes, ácidos grasos, drogas, productos tóxicos y de degradación. Esta capacidad de fijación y transporte, sin embargo, no es específica y se debe a la enorme extensión de la superficie de la albúmina. Así por ejemplo, se ha calculado que en un hombre adulto la superficie total de los eritrocitos sería de $3,200 \text{ m}^2$, mientras que la superficie del plasma sería alrededor de $727,000 \text{ m}^2$, por lo que, las albúminas representan aproximadamente el 65% del volumen plasmático, por lo que se comprende su importancia en cuanto a superficie. Otra función bien establecida de las albúminas es su papel en la regulación del volumen plasmá

C U A D R O "1"**A M I N O A C I D O S %**

GLICINA	10.95
HISTIDINA	3.17
AMONIO	0.94
ARGINIA	5.38
ACIDO ASPARTICO	9.05
TREONINA	4.31
SERINA	3.15
ACIDO GLUTAMICO	15.85
PROLINA	3.65
ALANINA	6.67
CISTINA	5.09
VALINA	5.17
METIONINA	1.08
ISOLEUSINA	1.31
LEUSINA	10.30
TIROCINA	4.03
FENILALANINA	6.74
TRIPTOFANO	0.13
NITROGENO	16.00

tico ya que esta proteína ejerce aproximadamente el 80% de la presión oncótica en el espacio intravascular. Otra función de las albúminas es proporcionar aminoácidos a los tejidos para su utilización en caso necesario, actuando por lo tanto como una reserva de nitrógeno (3).

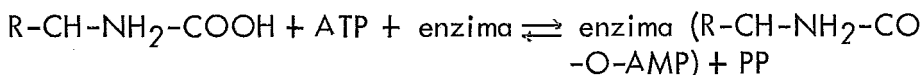
METABOLISMO DE LAS ALBUMINAS

Las albúminas se sintetizan únicamente en el hígado, este hecho quedó bien establecido a partir de los experimentos de Miller (4) en 1951, en el cual los autores perfundieron hígados aislados de rata con sangre que contenía lisina marcada con C^{14} , demostrando que la hepatectomía se acompañaba de falta de síntesis de estas proteínas.

El hígado no es un órgano homogéneo desde el punto de vista histológico, pues el 65% de sus células son hepatocitos y lo demás son células de Küppfer, de conductillos biliares, de fibroblastos, etc., por lo que lógico es suponer que no se sintetizan en la misma proporción en todas ellas (5).

El hepatocito es el responsable de sintetizar la mayor cantidad de albúminas, ya que además de sintetizar sus propias proteínas es responsable de la formación de gran parte de las proteínas plasmáticas. Esta capacidad ha sido demostrada por medio de investigaciones biológicas como: la administración de 1-leucina con N^{15} a ratas en las cuales se observaba una rápida incorporación de este aminoácido a las proteínas hepáticas y a diversas fracciones de las proteínas plasmáticas (6). Al iniciarse este tipo de estudios se discutió mucho si la incorporación de aminoácidos indicaba en realidad la síntesis de una nueva proteína o si lo que tenía lugar era un intercambio de los aminoácidos constituyentes de las moléculas preformadas. Hoy en día es evidente que se verifica la síntesis de proteínas

a partir de aminoácidos libres, efectuándose la siguiente reacción:



Cada enzima activadora tiene un grado elevado de especificidad, que, sin embargo, no es absoluto. Dichas enzimas son las responsables de transmitir el aminoácido activado al ácido ribonucleico (ARN) de transferencia, específico para ese aminoácido.

a) Activación de los aminoácidos: los aminoácidos que han penetrado a la célula o que se han sintetizado dentro de ella, son activados por un grupo carboxilo con una molécula de adenosín-trifosfato (ATP) en presencia de una enzima específica para cada aminoácido, desprendiéndose una molécula de pirofosfato (PP) y, formándose un complejo enzima-aminoácido-Adenosin-amino-fosfato (AMP).

b) Desde 1957 Hoagland y Col. (7), describieron que los aminoácidos activados no eran incorporados directamente a una proteína, sino a moléculas de ácido ribonucleico solubles que se encuentran libres en el citoplasma (llamadas también ARN aceptor y ARN de transferencia). La función del ARN de transferencia es doble, una es reconocer un aminoácido específico que es fijado en uno de los extremos terminales y la otra es: reconocer el sitio exacto en la cadena de un ARN mensajero que corresponde a la posición final de dicho aminoácido en la proteína y que se ha sintetizado sobre aquel.

c) El peso molecular del ARN de transferencia oscila entre 20,000 y 35,000 según diversos autores, lo cual correspondería a una cadena de 75 a 100 nucleótidos. El extremo aceptor de los aminoácidos está compuesto de la secuencia de

bases nitrogenadas, Citosina, Citosina-Adenosina. El aminoácido se une por su grupo carboxilo al hidroxilo 2' ó 3' de la adenosina terminal. El otro extremo del ARN de transferencia está constituido probablemente por guanosina -5' - fosfato.

d) La transferencia de aminoácidos al ribosoma se hace en presencia de varios factores: Guanosin-trifosfato 1' ó 2', iones metálicos como (K^+ , NH_4^+) y glutatión.

Recientemente, estudios con anticuerpos contra albúmina marcados con peroxidasa han demostrado que las albúminas se producen únicamente en aproximadamente 30% de las células normales, incluso en situaciones en las que la síntesis de albúminas se encuentran aumentadas, por ejemplo, en casos de síndrome nefrótico, el número total de células que producen las albúminas no se encuentran significativamente elevado; sino que más bien existe hipertrofia de las mismas. En estudios con anticuerpos anti-albúmina marcados con peroxidasa, se pone de manifiesto que la síntesis ocurre fundamentalmente a nivel del citoplasma. Estos estudios vienen a corroborar la idea de que las diferentes células hepáticas sean responsables de las síntesis de diferentes proteínas y que cada célula no tiene la capacidad potencial de producir cualquier proteína plasmática. Es útil, sin embargo, mencionar que el uso de anticuerpos fluorescentes para medir síntesis de proteínas, no se puede considerar como dato verdadero, ya que la ausencia de fluorescencia, puede en parte estar expresando, que dichas células lo hayan producido pero ya lo hayan excretado, o bien que en realidad no lo hayan producido. De cualquier manera resulta muy interesante el hallazgo de que, independientemente de que lo produzcan, no lo secreten en todas las células hepáticas, las cuales como se acaba de mencionar no tienen la misma capacidad de producción.

Tomando en cuenta que las albúminas intravasculares re-

presentan aproximadamente 42% de la tasa metabólica total en el humano, la tasa intravascular es de aproximadamente 130 g.; siendo la cantidad de albúmina intercambiable de aproximadamente 300 g.

La cantidad de albúminas que se sintetizan a diario parece ser relativamente constante y es alrededor de 200 mg. por kilogramo de peso por día (Schultze (3) y Heremans 1966). Las albúminas se sintetizan en los ribosomas, requiriéndose aproximadamente 30 minutos para la formación y liberación a la circulación sistemática de la molécula.

Las albúminas plasmáticas tienen una vida media de 19 días y la cantidad fraccionaria diaria y expresada como porcentaje de la tasa metabólica intravascular es de 10%.

Aunque no hay duda de que el hígado es la única parte donde se sintetizan las albúminas, no se conoce hasta la actualidad donde se catabolizan (8). Esto debe ser muy importante, ya que algunos autores señalan (9) al tracto gastro-intestinal como el principal sitio del catabolismo de las albúminas, sin embargo, en todos estos estudios queda la duda, si la anestesia o la manipulación quirúrgica, o las técnicas de perfusión, pueden haber producido alteraciones en la mucosa intestinal, responsables de la destrucción de las albúminas, y esta sospecha se vuelve aun más importante, cuando usando albúmina marcada con Cr^{55} , se ha encontrado que normalmente el catabolismo de las albúminas por vía intestinal tiene poco significado, el cual estaría en contra de lo antes mencionado. Efectivamente en clínica el enfermo gastro-ectomizado, generalmente sólo reduce en forma pequeña su catabolismo y en ocasiones incluso lo aumenta (10), en este caso se hablaría en contra del tracto gastrointestinal como principal sitio del catabolismo. Gordon (11), haciendo perfusiones hepáticas ha demostrado que el catabolismo de la albúmina por el hígado es pequeña. Pro

bablemente estudios de síntesis y catabolismo requiera especial relevancia, ya que por ejemplo: en pacientes con cirrosis hepática en los que los niveles de albúminas se encuentran bajos, se observa que la síntesis de albúminas está normal o aumentada, lo cual indicaría que el trastorno ocurre fundamentalmente al nivel del catabolismo.

Hasta la actualidad el único hecho establecido con certeza en relación a la síntesis de albúminas es que se produce en el hígado, ya que los factores responsables de la regulación o distribución de las albúminas permanecen aún desconocidos. Sin embargo, entre los factores que regulan la síntesis de albúminas por el hígado están: ingesta de nitrógeno, ciertas hormonas y alteraciones en la presión oncótica del suero.

Rothschild (12) y colaboradores, después de llevar a cabo su experimento in vivo mediante el uso de albúmina marcada con Iodo¹³¹, mostraron que la inyección de gamma globulina o Dextran que tienden a aumentar la presión oncótica del suero, disminuyen la síntesis de albúminas en conejos normales, lo cual es sugestivo de la existencia de un mecanismo regulatorio de la acción de la presión oncótica. Recientemente se ha descrito además que la presión oncótica en el medio de incubación de cortes de hígado de ratas normales disminuye ambas la síntesis de las albúminas séricas y las proteínas totales solubles en forma reversible. En base a los estudios anteriores queda la posibilidad de que en el animal intacto existan endotelios y el sistema retículo-endotelial pueda estar contribuyendo a la síntesis de gamma-globulinas, y a su vez puede causar un aumento en la presión coloide-osmótica intravascular y por lo tanto una disminución en la síntesis de la albúmina. Esta situación ocurriría por ejemplo en las ratas cirróticas en las que efectivamente Uhr and Möller, han demostrado mediante estudios de perfusión de hígado de ratas cirróticas, los cuales sintetizan una mayor cantidad de proteínas totales solubles, y re-

cientemente se ha demostrado que efectivamente la síntesis de albúminas se encuentra aumentada en estos animales debido a - que el hígado cirrótico es rico en citoplastos; por lo tanto, - puede sugerirse que estas células tuvieran un papel en el au- - mento de la síntesis particularmente por el hecho de que se sa - be que son capaces de sintetizar proteínas en forma activa fun - damentalmente colágena (13), sin embargo, la síntesis de las - proteínas del hígado cirrótico en forma predominante no puede aún excluirse. Las alteraciones en el contenido de coloides y la presión oncótica efectiva varían en forma cotidiana en rela - ción a la sed, pérdida urinaria, sudoración, todo lo cual pro - duce cambios de la distribución de líquidos en el organismo; - existen, sin embargo, varias preguntas que deben aún de con - testarse como son: ¿Cuál es el estado del retículo endoplasma a la exposición de líquidos de perfusión hiperosmóticos? Pitot en 1969, ha sugerido que existe una estructura funcional llama da membrón que está asociada al ARN de la membrana cuya - actividad puede ser regulada por alteraciones en el medio ce - lular. Haldar (14) y Friedman en 1969, encontraron que la in - corporación de la leucina radioactiva en la proteína por mito - condrias se inhibía con la adición de un medio hiperosmolar - de 0.44 Molar de sacarosa disminuyendo la osmolaridad a un - equivalente de 0.25 de sacarosa se aumentaba la incorporación en forma importante. Estos estudios indicaron que la inhibi - ción de la síntesis de las proteínas ocurría en una etapa des - pués de la activación y acoplamiento del aminoácido al ARN - de transferencia.

Las mitocondrias que se aislaron en sacarosa 0.44 Molar se encontraban aumentadas de tamaño y tenían una matriz mu - cho más densa por unas cuantas crestas estrechas, mientras que las mitocondrias que se separaron en sacarosa 0.25 Molar se - encontraban redondas, aumentadas e hinchadas. Witaker (15) - 1966, sugirió que el estado de concentración de alguna mane - ra inhibía la síntesis de proteínas, lo que es más, los cambios

de la concentración de urea en cocodrilos los cuales se les trasladaba de agua salada a agua dulce, se acompañaba por la aparición de una proteína parecida a la albúmina sugiriendo que quizá la producción de la urea y de las albúminas estén también reguladas por la presión oncótica. Interesante especular por lo tanto es el control de la síntesis de albúminas por medio de la presión oncótica, la cual podría llevarse a cabo a través de una deformación del manejo retículoendoplásmico, ARN mensajero y ribosoma.

Esta deformación trae como consecuencia una disminución en la síntesis de albúmina. De esta manera parece que el mecanismo de síntesis subcelular aún no se ha podido establecer pero es indudable que la síntesis de ésta responda a cambios en el contenido coloide-osmótico, el cual indudablemente deberá tratar de establecerse.

HORMONAS:

Además del nitrógeno, las hormonas juegan un papel importante en la regulación de la síntesis de albúminas. Un exceso de tiroides y cortisona estimula la síntesis de albúminas. Esto se ha observado clínicamente, sin embargo, su mecanismo permanece obscuro.

Se sabe que la cortisona estimula la producción del ARN mensajero y del ARN ribosomal y que promueve la aparición de una nueva especie de un ARN mensajero, además la cortisona aumenta la cantidad de nitrógeno que llega al hígado como consecuencia de un aumento de la degradación de las proteínas musculares del tejido conectivo y del tejido linfático. Estas reacciones así como las alteraciones del metabolismo intermedio consecutivas a la administración de cortisona pueden todas afectar la síntesis de albúminas en forma directa o indirecta.

Además la cortisona produce cambios en la distribución de albúminas con un cambio en la fracción de la tasa de albú

minas disponibles para intercambio del compartimiento extravascular. La disminución de las albúminas extravasculares se refleja en el espacio intersticial del hígado y es probable que la síntesis de albúminas sea sensible al contenido coloidal en el sitio de la síntesis de albúminas o cerca de él.

La hormona tiroidea puede estimular la producción de las albúminas a través de aumentar la cantidad de ARN mensajero aún cuando indudablemente un aumento en la producción de nitrógeno podría tener los mismos resultados. Efectivamente trabajos experimentales que demuestran que cuando se lleva a cabo una hipofisectomía (produciendo ausencia de hormonas tróficas); existe una disminución en el contenido del ARN ribosomal que se acompaña por una depresión en la producción de albúminas.

MEDIO AMBIENTE:

La síntesis de albúminas se altera con cambios ambientales y por ejemplo niveles elevados de albúminas se ven en climas fríos y la síntesis de albúmina se deprime durante la climatización al calor.

Este efecto es muy complejo ya que tanto el nitrógeno como la función tiroidea se disminuyen durante la exposición al calor y es probable que estos cambios en la síntesis de albúminas ocurran en otros cambios ambientales.

Se cree en la actualidad que los aminoácidos y otros componentes de la dieta, pueden jugar un papel importante en el control del estado dinámico de los polirribosomas hepáticos y síntesis de proteínas a nivel, ya sea de traducción o transcripción, el hallazgo de que los componentes de la dieta pueden influenciar el nivel de transcripción primaria o secundaria

mente a través de la acción hormonal abre nuevos horizontes - en el control fisiológico y de los estados anormales patofisiológicos del metabolismo de proteínas. En experimentos llevados a cabo en corto tiempo, se ha observado que los polirribosomas y la síntesis de proteínas por el hígado son capaces de responder en forma rápida a la ingestión de proteínas o aminoácidos. El triptofano tiene un papel especial en el hecho de que causa agregación de los polirribosomas hepáticos. Parece que estimula síntesis del RNA nuclear hepático y que aumenta el RNA mensajero del citoplasma. Este efecto parece ser independiente del control hormonal hipofisiario o cortical. En experimentos de uno o más días de duración de las dietas, en las que se privan de un aminoácido esencial (incluyendo dietas deficientes en triptofano), aumentan la síntesis de proteínas y causa agregación de los polirribosomas hepáticos. Este efecto parece medirse a través de un aumento en la síntesis del RNA mensajero hepático. Las ratas que se sobrealimentan con una dieta deficiente en proteínas, muestran un cambio en los polirribosomas hepáticos, mostrando mayor agregación y un aumento en la síntesis de proteínas. Sin embargo, solamente en animales que se encuentran en ayunas por 2 o más días ocurre la respuesta al cabo de 5 hs. Este efecto se cree que es mediado a través de un aumento de los niveles endógenos de insulina.

Estos resultados indican que la ingesta nutricional, particularmente de aminoácidos, puede regular el sistema sintetizador de proteínas por el hígado. De esta manera los estudios con polirribosomas hepáticos y síntesis de proteínas in vivo o in vitro en relación a la ingesta diaria ofrece un buen modelo biológico para el estudio de la síntesis de proteínas.

Las moléculas de albúminas se sintetizan en el hígado a partir de un complejo ribosomal (RNA mensajero unido al retículo endoplásmico).

Las albúminas sintetizadas en esta forma pasan del retículo endoplásmico al Aparato de Golgi y de ahí directamente al plasma hepático. Los factores que regulan la síntesis de albúminas son nutrición, balanza hormonal, presión oncótica y estado de salud. De esto probablemente la nutrición es el más importante ya que la síntesis de albúminas es altamente sensible a la cantidad de aminoácidos disponibles, particularmente triptofano.

En pacientes con cirrosis hepática y ascitis secundaria e ingesta crónica de alcohol, los niveles séricos de albúmina están deprimidos, pero la tasa metabólica de albúminas puede ser intercambiada, ya que no necesariamente se encuentra afectada. Aunque la síntesis de albúminas puede deprimirse durante una ingesta pobre y una ingestión aguda de alcohol, la capacidad de sintetizar albúmina no necesariamente se ve afectada una vez que se pueden remover estos factores inhibidores. A los 30 minutos de la exposición al alcohol la síntesis de albúmina, se deprime en la perfusión de hígado, y puede recobrase tan rápido como se quite el alcohol. El exceso de triptofano no parece ofrecer cierta protección en estos estudios. El tetracloruro de carbono cambia rápidamente la capacidad de síntesis en forma similar.

En pacientes con ascitis debido a hipertensión portal y con distorsión de la arquitectura hepática las albúminas llegan al compartimiento de ascitis directamente brincándose la circulación sistemática y el conducto torácico; esta ruta para las albúminas que se pierden en líquido de ascitis puede complicar o iniciar el desarrollo de la ascitis.

Los factores que regulan la degradación de albúminas son aun menos conocidos. Ningún órgano específico se ha implicado en condiciones de salud y el hígado no interviene en forma significativa en la degradación de las albúminas. Los niveles

de destrucción fraccionada de albúminas están relacionados directamente a la masa de albúminas o a los niveles séricos de albúminas.

La síntesis de albúminas parece ser influenciada por la presión oncótica en varias circunstancias y se ha dicho que un probable sistema regulador de la presión oncótica puede estar localizado en el intersticio hepático. En estudios de perfusión hepática la síntesis de albúminas está inversamente relacionada al contenido de coloide del líquido con que se encuentra perfundiendo.

En cirrosis hepática existen anomalías de la circulación intrahepática, suficientes para explicar cambios significativos en la presión. Estos cambios podrían resultar en una producción alterada de albúminas. Sin embargo, el control de la presión coloidosmótica en el plasma se pierde en el cirrótico y la síntesis de albúminas puede ser normal baja o elevada de los niveles de albúminas y de globulinas.

La influencia del balance hormonal en la cirrosis tampoco puede excluirse ya que todas las hormonas juegan un papel para regular la síntesis de proteínas séricas. La depresión en la producción de colesterol, la alteración en la hormona fijadora de tiroides y en su transporte, los efectos de la desnutrición sobre la síntesis de la hormona tiroidea pueden afectar la síntesis de albúminas.

Sin embargo, los efectos de las hormonas específicas no se han estudiado en la cirrosis excepto para mostrar que cuando se administra cortisona, se estimula la síntesis de albúmina, esto se demuestra porque en la cirrosis y en ascitis el sistema sintetizador de albúminas produce niveles elevados, como respuesta al estímulo adecuado.

Como se ha dicho anteriormente que entre los factores - que regulan la síntesis de albúminas por el hígado están: el nitrógeno, ciertas hormonas y alteraciones en la presión oncótica del suero.

Peters y Anfinsen (16), demostraron que durante la incu- bación de cortes de tejido hepático con un aminoácido, éste - se incorporaba a proteínas y servía para medir la síntesis de - ellas, basando nuestro trabajo en este experimento con varia- ción en el medio de incubación, el cual contenía un catión di valente, el calcio, mientras que el empleo de fósforo se omi- tió ya que previamente se ha demostrado que tiene efecto inhi bidor con o sin la presencia de bicarbonato. En cuanto a la necesidad de adicionar o no aminoácido para obtener una síntesis más completa, existe evidencia de que la síntesis se puede obtener usando este medio sin ningún sustrato añadido ya sea - aminoácido u hormona. Esto último indicaría que la tasa intra hepática de aminoácidos es suficiente. Pero para llevar a ca- bo nuestro trabajo fue necesario el adicionar un aminoácido - marcado, para poder detectar si efectivamente la progesterona había alterado la biosíntesis de la albúmina por el hígado.

Para poder hablar con seguridad de que la incorporación de un aminoácido radioactivo a la proteína mide el grado abso luto de síntesis es necesario conocer la actividad específica - del precursor en el sitio de síntesis hecho que no es posible - usando este método, sin embargo, estudios recientes, han de- mostrado que cuando se estudia la incorporación de un amino- ácido radioactivo a diferentes proteínas, se observan diferen- cias que indican que dicha incorporación es un fenómeno gene- ral a todas las proteínas y que por lo tanto el uso de este mé- todo para medir en forma comparativa cambios de la incorpora- ción, refleja probablemente cambios en la síntesis de las pro- teínas en estudio.

Comparando otros trabajos experimentales se observa que la incorporación del aminoácido radioactivo a otras proteínas, se comporta en diferente forma a la albúmina, lo que indicaría que las diferencias en actividad específica del precursor probablemente no son las responsables de los cambios de la incorporación de la Lisina H^3 que se observan en nuestros experimentos.

Indudablemente para que este método sea válido, es necesario usar medios de identificación adecuados para detectar la proteína cuya biosíntesis se está estudiando. Una de las mejores maneras para hacerlo es por medio del empleo de un suero específico. Por estas razones en este trabajo se obtuvo especial cuidado en obtener una proteína pura con la que se inmuniza a varios conejos. Esto se llevó a cabo de acuerdo con lo descrito por Freeman (20), permitiéndonos al mismo tiempo obtener un suero específico. Desafortunadamente reportes en la literatura médica han demostrado que la precipitación de una proteína trae consigo coprecipitados no específicos (17), por lo cual en este trabajo se llevó a cabo un proceso de purificación de acuerdo con lo descrito por Campbell (18), habiéndose demostrado que el proceso de clarificación era adecuado, y que nuestro precipitado final representaba únicamente la proteína que se encontraba en estudio, siendo directamente proporcional a la cantidad de tritio que se registra en el aparato cintilador.

Como nuestro objeto es observar el efecto in vivo e in vitro de la progesterona, fue necesario emplear un lote de ratas tipo wistar que se trataron en la siguiente forma:

En un grupo de ratas normales se hizo el estudio mediante la incubación de cortes de hígado agregando un aminoácido radioactivo al medio; este grupo nos sirve de control.

Con el objeto de estudiar los efectos de la administración de la progesterona in vitro; se administró ésta al medio de incubación; la cual se disolvió previamente en etanol, por lo que fue necesario primero estudiar la síntesis de la albúmina en cortes de hígado de rata normal, incubándolos en un medio al cual se le agregaba únicamente 30 lambdas de etanol.

Para observar el efecto de la progesterona in vivo; se administró ésta por vía intraperitoneal, por lo que se tuvo que disolver primero en aceite de maíz, y en consecuencia tuvimos que estudiar el efecto que producía el aceite de maíz, por vía intraperitoneal, en otro grupo de ratas.

MATERIAL Y METODO

a) Material Biológico:

Suero de ratas.
Suero anti-rata.
Hígado de rata.
Adyuvante de Freund.
Suero humano normal.
Suero anti-humano.

b) Material de vidrio:

Jeringas de vidrio de 20 ml.
Jeringas desechables de 2.5, 5 y 10 ml.
Agujas del 20 x 32.
Agujas del 22 x 32.
Tubos de centrífuga de 10 ml. y de 15 ml.
Tubos de vidrio de 13 x 100 mm.
Columnas de vidrio de 2.5 x 100 cm. de longitud.
Columnas de vidrio de 2.0 cm. de diámetro x 30 cm. de longitud.
Pipetas volumétricas de 15 ml.
Pipetas serológicas de 1 ml. graduadas en décimas y centésimas.
Pipetas de 5 ml. graduadas en décimas.
Pipetas de 1 ml. graduadas en décimas.
Placas de vidrio para inmuno-electroforesis, debidamente lavadas y desengrasadas, las cuales llevan una película delgada de agar al 1% en agua.
Frascos redondos de 20 ml.
Pipetas Pasteur
Matraces volumétricos de 100 ml., 200 ml., 500 ml. y de 1000 ml.
Probetas de 100 ml.
Matraces Erlen-mayer de 25 ml., 200 ml.

c) Material en general:

Una centrífuga.
 Un agitador mecánico, para tubos de ensaye.
 Un agitador magnético.
 Un baño metabólico Dubnoff.
 Tanques de Carbógeno (95% de O₂ y 5% de CO₂).
 Un homogenizador mecánico.
 Tubos para dializar.
 Pinzas de disección.
 Navajas de disección.
 Un colorímetro Colleman Jr.
 Un Potenciómetro.
 Gradillas.
 Equipo de inmunoelectroforesis.
 Fuente de poder (Power-Back).
 Bulbos de hule.
 Tapones de hule.
 Papel parafilm.

d) Reactivos:

Aceite de maíz.
 Etanol 99°.

Progesterona disuélta en etanol 1 mg/10 - ml. de etanol.

Lisina H³.

Progestágeno (Nordiol ^R) en tabletas.

Solución de TRIS 1 M. (Solución Madre)

121.4 g. de ácido trioxi metil metano -
 c. b. p. 1000 ml. de H₂O dest.

Sephadex

Es un dextrano modificado de origen microbiano; siendo el dextrano un polímero de glucosa, producida en numerosas cepas de *Leuconostoc*, el cual se purifica intensamente, se hidroliza parcialmente y se fracciona por precipitación con etanol, y es sometido a proceso de polimerización, granulada, que es como se expende comercialmente. Existiendo diferentes tipos de Sephadex que difieren en sus propiedades de hinchamiento.

Sephadex G 200 (Pharmacia Uppsala, Swden).

20 g. 1000 ml. de solución - amortiguadora de ácido trioxi metil metano 0.1 M (TRIS) ajustando el pH a 8 con cloruro de sodio 1 M, permitiendo que los granos del Sephadex se hinchen durante - 72 hs.

Sephadex D.E.A.S. "A" 50 (Pharmacia Uppsala Swden)

20 g. 600 ml. de solución - amortiguadora de ácido trioximetil metano 0.01 M, permitiendo que los granos de Sephadex se hinchen durante 24 hs.

Solución de Tris-HCl 0.1 M.

NaCl 1 M (pH 8.0)

100 ml. de la sol. madre se le agregan - 51.44 g. de cloruro de sodioc.b.p. 1000 ml. de H₂O dest. ajustando el pH a 8 con ácido clorhídrico 0.1 N.

Solución de Tris

0.5 M: 150 ml. de la solución madre ... 300 ml. de H₂O dest. ajustando el pH a 8.0.

Solución de Tris HCl 0.05 M: 15 ml. de la solución madre ..
300 ml. ajustando el pH a 8 con ácido
clorhídrico 0.1 N.

Solución de ácido clorhídrico 0.1 N: 8.5 ml. de ácido clorhídrico c.b.p. 1000 ml. de H₂O - dest.

Hidróxido de Sodio 0.1 N: 4 g. 1000 ml. de H₂O dest.

Cloruro de Sodio 0.15 M: 9 g. 1000 ml. de H₂O dest.

Solución cintiladora: en 2.5 litros de tolueno agregar:
0.123 g. de 1-4 bis, 2-(5 feniloxazolil)
10 g. de 2,-5-Difeniloxazole.

Etanol-Acido clorhídrico: 1 ml. de HCl conc. 600 ml.-
de alcohol etílico.

Hidróxido de sodio al 3%: 3 g. de NaOH 100 ml. de
H₂O.

Solución A:

Acetato de sodio en etanol 0.2 M: 27.2 g. de acetato de sodio 50 ml. de metanol.
Sol. A c.b.p. 1000 ml. de etanol.

Solución Amortiguadora de Veronal pH 8.6: 20.6 g. de Dietil barbiturato de sodio a 1000 ml. de agua destilada ajustando el pH a 8.6.

Medio de Incubación: Sol. A: 11.02 g. de NaCl (105 mM)
1.48 g. de KCl (10 mM)
2.94 g. de CaCl₂ (10 mM)
Se disuelven éstos y se afora a 1000 ml.

con agua destilada.

Solución B: 100 ml. de la solución A más
100 ml. de agua destilada más 0.672 g. -
de NaHCO_3

Reactivo de Biuret: 1) 1.73 g. de Sulfato de cobre10 ml.
de H_2O .
2) 17.3 g. de Carbonato de Sodio
80 ml. de H_2O .
Se junta la sol. 1 con la sol. 2 H_2O
c.b.p. 100 ml.

Agar "Noble" (Difco): Se pesan 1.2 g. en el momento que se
va a hacer la placa.

FILTRACION EN GEL
"SEPHADEX G"-200

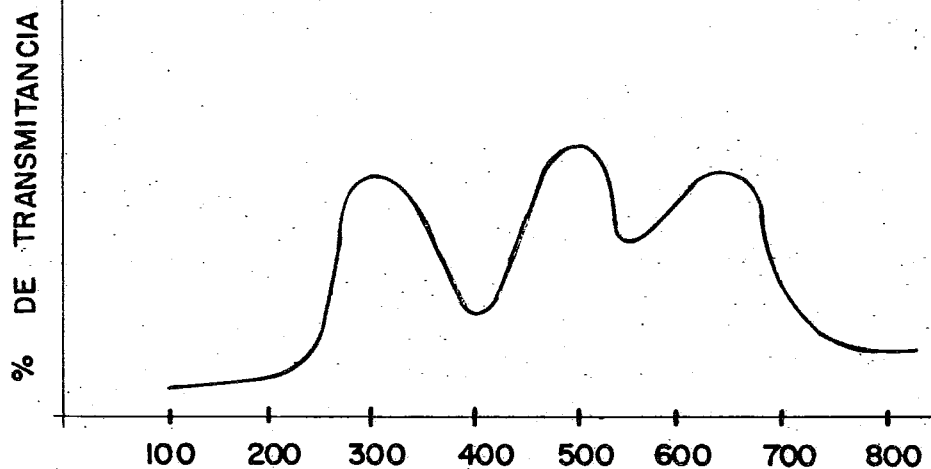


FIG. 1.- SEPARACION DEL SUERO DE RATA MEDIANTE EL USO DE "SEPHADEX G-200" ELUENTE: SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE TRIS 0.1 M, NaCl, 1M (pH 8.0)

TECNICA INMUNOLOGICA

a) Preparación de la Proteína:

Se practicó punción cardíaca en 10 ratas extrayendo un total de 100 ml. de sangre, de las cuales se separó el suero - al que se practicó filtración en Gel con Sephadex G 200 y - posteriormente cromatografía en columna con Sephadex DEAS - A50. De acuerdo a lo descrito por Killander (19), en las columnas de Sephadex G 200 se tuvieron tres picos, la porción - descendente del tercer pico eluido entre 450 y 475 correspondía a la albúmina (Fig. 1), dicha porción se pasó por una segunda columna teniendo como medidas 2.0 cm. de diámetro - por 30 cm. de longitud, la cual se había empacado previamente con Sephadex DEAS A50 empleándose un gradiente de aproximadamente 10 cm. de presión y empleándose una solución - amortiguadora de Tris que varía su molaridad entre 0.01 y - 0.001 M.

En esta purificación se obtuvo una gráfica registrándose únicamente dos picos siendo el eluente de 450 y 475 el que correspondía a la albúmina solamente (Fig. 2).

Ensayo de pureza de la albúmina así obtenida:

Se prepararon placas de agar, del cual se pesó 1.2 g. - en 100 ml. de solución amortiguadora de veronal, calentándose hasta que se disuelve el agar, pero sin llegar a hervir. - Una vez disuelto se vierte sobre los portaobjetos, aproximadamente 3 ml., permitiendo que se solidificara a temperatura ambiente, una vez solidificada se le hicieron: una canal en la - parte central y dos cortes redondos centrales a un lado y otro de la canal; en cada uno de los cortes se pusieron dos microlitros de la solución de proteína en estudio. Se hizo electroforesis en la misma durante 20 minutos usando 25 miliamperios.

CROMATOGRAFIA
DEAS "A-50 SEPHADEX"

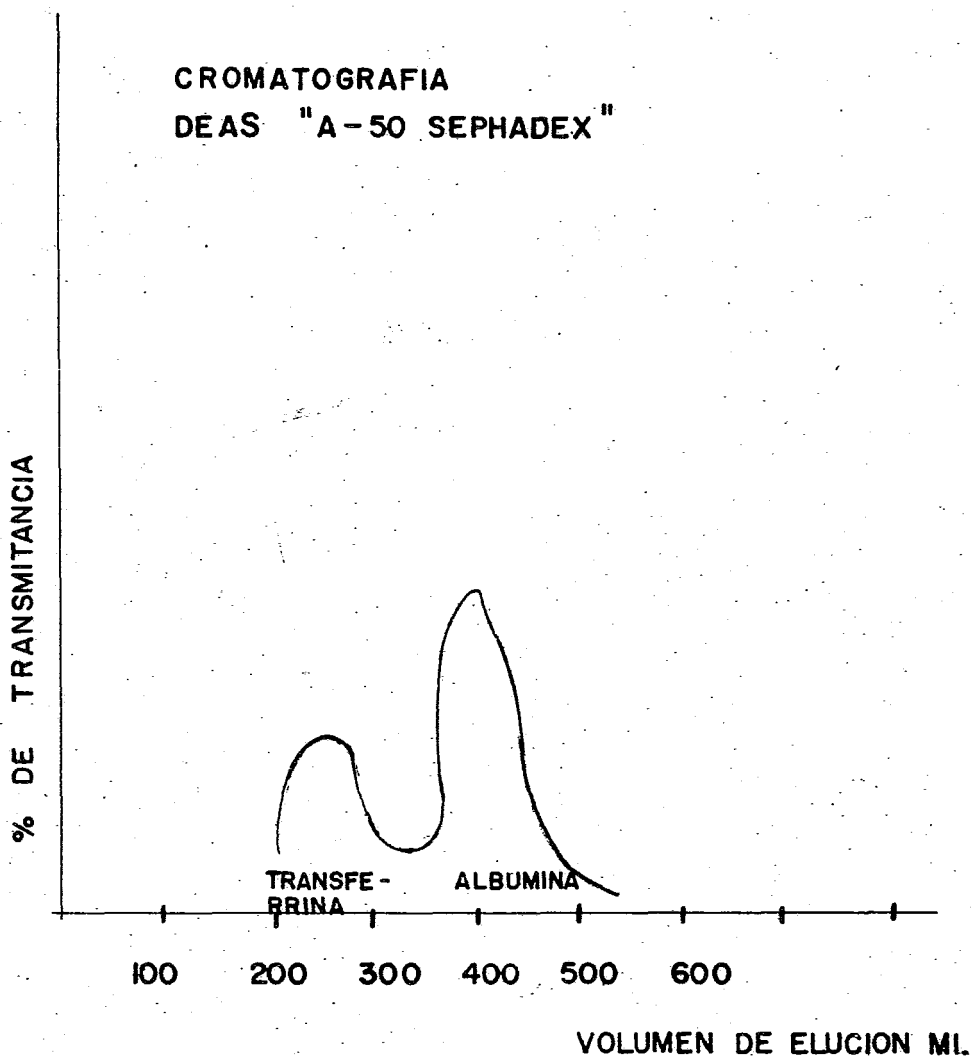


FIG 2.— CROMATOGRAFIA EN DEAS A-50 SEPHADEX DE SUERO DE RATA PREVIAMENTE FILTRADO EN GEL SEPHADEX G-200 (FRACCIÓN ELUIDA ENTRE 450 a 475 ml) ELUENTE: SOLUCION AMORTIGUADORA DE TRIS 0.01 a 0.001 M

Posteriormente se aplicó en las canales el suero anti-rata el cual se obtiene de conejos, los que reciben un tratamiento especial para la producción de anticuerpos, poniéndose posteriormente estas placas en ambiente húmedo y al cabo de 24 hs. se obtuvo una banda de precipitación sin ningún contaminante. Una vez comprobada la pureza de la proteína obtenida se procedió a la preparación del suero anti-rata en conejos.

Inmunización de conejos para obtener suero anti-rata.

Se emplearon cuatro conejos, los cuales recibieron un total de 38 mg. de proteína de acuerdo a lo descrito por Freeman (20) (en este caso albúmina), de acuerdo al siguiente esquema: (Cuadro 2).

El primer día recibieron por vía intramuscular 12.5 mg. de albúmina disueltos en 12.5 mg. de Adyuvante de Freund (1.25 ml.); esta misma dosis se repite a los ocho días por la misma vía pero en la pierna contraria, se deja reposar a los animales de 4 a 6 semanas al cabo de las cuales se les administra por vía endovenosa 1-2-2-4-4 mg., estas dosis se les administraron en días alternos y al cabo de cuatro días de la última inyección se practica punción en la vena femoral extrayendo el suero de los conejos. La presencia de los anticuerpos se demostró mediante Inmunolectroforesis y Electroforesis de doble dimensión de Lorell (16).

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se contó con un lote experimental de ratas tipo Wistar, las cuales se dividieron en grupos para darles un tratamiento especial a cada uno. Dichas ratas una vez que estaban en las condiciones requeridas se anestesiaron con éter, posteriormente se les practicó exsanguíneo transfusión, determinándose en la -

CUADRO "2"

DIA	Mg DE PROTEINA PURA ALBUMINA		Mg ADYUVANTE DE FREUND	VIA DE ADMINISTRACION
1er	12.5 Mg	+	12.5 Mg	INTRAMUSCULAR
8º	12.5 Mg	+	12.5 M	INTRAMUSCULAR (PIER- NA CONTRARIA)
4 A 6 SEMANAS EN REPOSO				
43º	1.0 Mg		0	ENDOVENOSA (VENA-MAR- GINAL DE LA OREJA)
45º	2.0 Mg		0	ENDOVENOSA
47º	2.0 Mg		0	ENDOVENOSA
49º	4.0 Mg		0	ENDOVENOSA
51º	4.0 Mg		0	ENDOVENOSA
SE DEJAN REPOSAR 3 DIAS				
54º				SE SANGRAN LOS CONEJOS

muestra de sangre obtenida: albúmina (21), por método colorimétrico.

Entonces se mata al animal, se extrae el hígado inmediatamente haciéndose cortes de tejido hepático de aproximadamente 3 mm. de grosor, con una navaja, e incubándolos en un medio que contenía:

Solución A:

NaCl 105 milimoles, KCl 10 milimoles, CaCl₂ 10 milimoles..
... c.b.p. 1000 ml. de H₂O destilada.

Solución b:

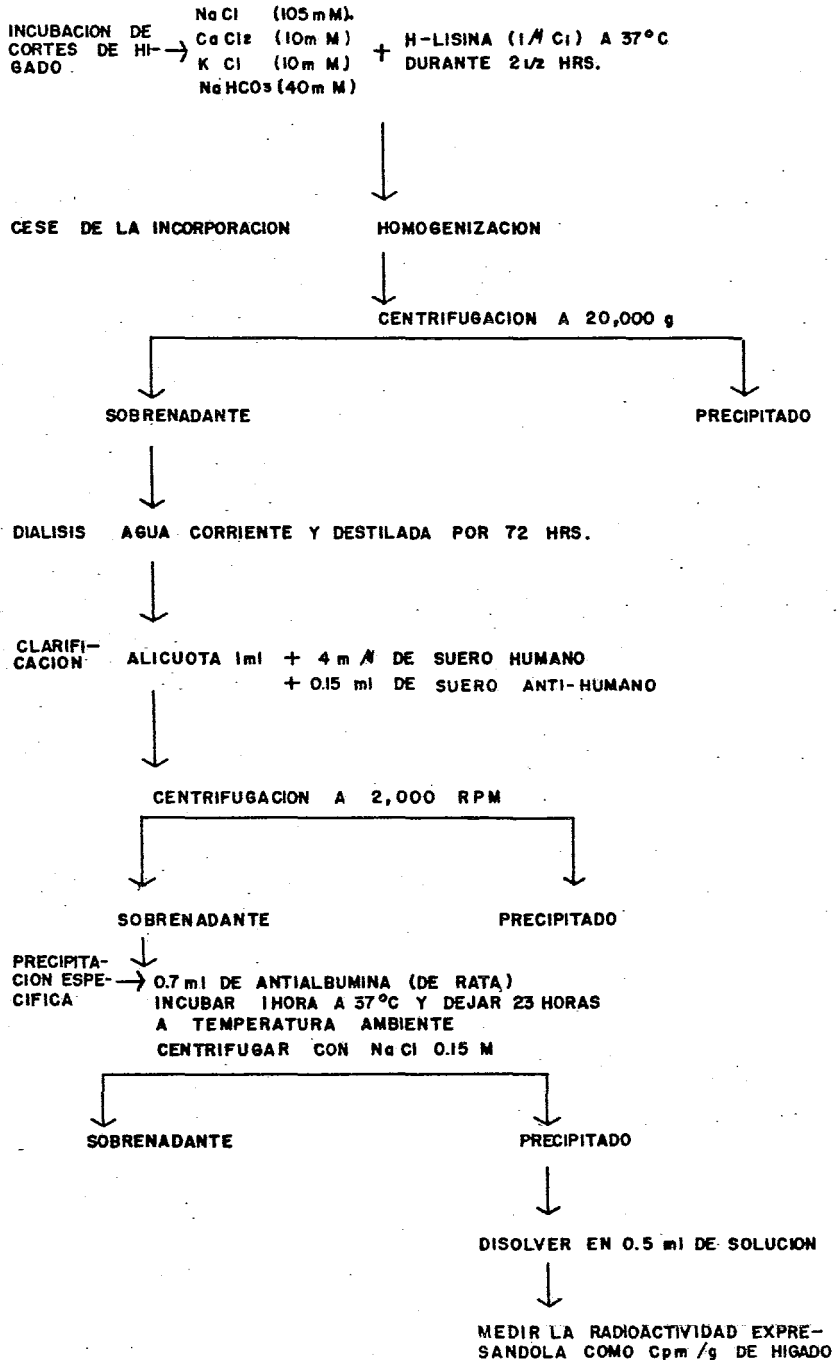
100 ml. de la solución A + 100 ml. de agua destilada y añadir 0.672 g. de NaHCO₃ y se le hace pasar una corriente de carbógeno (95% de O₂ y 5% de CO₂). Se incubó aproximadamente 1 gr. de tejido hepático en 10 ml. de este medio b y un microcurie de lisina H³, las incubaciones se llevaron a cabo durante un período de 2.30 hs. a 37°C, en un baño metabólico Dubnoff, con una atmósfera de carbógeno.

Al cabo de ese tiempo se suspendió la incorporación de la lisina y se procedió a homogenizar la muestra en un homogenizador mecánico, realizando la maniobra con sumo cuidado, procediéndose a centrifugar a 20,000 g. durante 20 minutos, el sobrenadante se dializó durante 24 hs., con agua corriente y 48 hs. con agua destilada, tomando de aquí 1 ml. del sobrenadante, al cual se le determina la albúmina por método colorimétrico (21).

En vista de que se han descrito contaminantes no específicos se procedió a "purificar" la muestra añadiendo suero humano y suero antihumano, en cantidades suficientes para obte-

CUADRO "3"

METODO EXPERIMENTAL



ner una precipitación total en la cual estaban incluidos además los contaminantes no específicos. Una vez que la muestra estuvo "purificada" se incubó con un suero monoespecífico en contra de albúmina de rata y posteriormente se centrifugó, el precipitado se lavó con una solución de cloruro de sodio 0.15 M y se añadió Tolueno que contenía fósforo, se contaron en un contador cintilador Packard expresando la radioactividad como TPM/gramo de hígado. (Esto es expresado como se ve en el Cuadro 3).

Esta técnica fue empleada para el grupo V o grupo Control, trabajando los otros grupos con esta misma, efectuando las siguientes variaciones según el grupo:

Grupo I (Testigo del Solvente Etanol)

En este grupo solo se agregó en el medio 30 lambdas de etanol y 1 microcurie de lisina H³.

Grupo II (Grupo de Prueba)

Este grupo varió en que se le agregaba progesterona al medio de incubación disuelta previamente en etanol, agregándosele además el aminoácido marcado.

Grupo III (Testigo del Solvente Aceite de Maíz)

Este grupo recibió un total de 5 inyecciones de 1 ml. cada una, diaria, por vía intraperitoneal de aceite de maíz, incubando los cortes de hígado en un medio al que solo se le agregaba un microcurie de lisina H³.

Grupo IV (Grupo de Prueba)

Las ratas de este grupo se les administró progesterona

disuelta en aceite de maíz por vía intraperitoneal (1 tableta - en 5 ml. de aceite de maíz, de la cual se aplicó 1 ml. diario, en total 5 inyecciones). Incubando los cortes de hígado - en un medio al que solo se le agregaba 1 microcurie de lisina H³.

R E S U L T A D O S

Se estudiaron un total de 29 ratas, que fueron divididas en cinco grupos:

El Grupo I (Testigo del Solvente Etanol), estuvo formado por tres ratas normales que pesaron entre 150 y 181 g. (con una media de 166.3 g.). Los cortes de hígado de estas ratas se incubaron con 30 lambdas de etanol y 1 μ Ci de lisina H³.

El Grupo II (Grupo de Prueba), estuvo formado por nueve ratas con peso entre 162 y 198 g. (con una media de 179 g.). Las rebanadas de hígado de estos animales se incubaron con 30 lambdas de progesterona (la progesterona estaba disuelta en etanol, la cual fue llevada a una concentración de 1 mg./10 ml.). Al medio se le agregó 1 μ Ci de lisina H³.

El Grupo III (Testigo del Solvente, Aceite de Maíz), se estudiaron dos ratas cuyo peso fue de 170 y 189.5 g. respectivamente, ambas ratas recibieron cinco inyecciones intraperitoneales de aceite de maíz en forma intermitente, durante 5 días. Al cabo del quinto día se sacrificaron, procediéndose a incubar los cortes de hígado en un medio que únicamente contenía lisina H³.

El Grupo IV (Grupo de Prueba), estuvo formado por seis ratas, que pesaron entre 178.9 y 220.7 g. (con una media de 205.5 g.). Estos animales recibieron cinco inyecciones de progestágeno (nordiol^R), en forma de tabletas que se disolvía en cinco ml. de aceite, inyectándose un ml. a cada una de ellas; durante cinco días continuos. Posteriormente se procedió a incubar los cortes de hígado con lisina H³.

El Grupo V (Grupo Control), se estudiaron nueve ratas, cuyo peso varió entre 160 y 216 g. (con una media de 178.1

g.). Este grupo de ratas normales no recibieron ningún medicamento. Las incubaciones de los cortes de hígado se hicieron en un medio que contenía lisina H^3 .

El peso de las ratas que se utilizaron en este estudio varió entre: 160 y 220 g. Todas las ratas en estudio recibieron dieta normal y agua ad-libitum.

En las ratas normales los niveles séricos de albúmina fueron de: 2.7 ± 0.4 g./100 ml. Las pruebas con cortes de hígado de estas ratas, demostró que la actividad específica de la síntesis de albúmina fue de 1.6 ± 1.5 .

Para poder disolver la progesterona fue necesario emplear etanol y añadirlo al medio de incubación; por esta razón fue necesario primero estudiar la síntesis de albúmina en cortes de hígado normal en presencia de 30 λ de etanol. Esto se llevó a cabo igualando el número de ratas, habiéndose observado que la actividad específica de la síntesis de albúmina disminuía, ya que ésta fue de: 1 ± 0.5 .

Las pruebas en ratas normales, en un medio al que se le había añadido progesterona, previamente disuelta en etanol, la actividad específica del aminoácido incorporado a albúmina aumentó ligeramente, aunque no en forma significativa: 2.3 ± 1.1 .

Con el fin de estudiar los efectos de la administración de progesterona in vivo, se inyectó ésta por vía intraperitoneal. Para poder emplear esta vía fue necesario disolver la progesterona en aceite. Por lo que se estudió primero un grupo de ratas normales, tratadas con aceite aplicado por vía intraperitoneal. En estas pruebas los niveles séricos de albúmina fueron de: 2.6 ± 0.1 g./100 ml. Habiéndose observado por lo tanto que el disolvente no tiene efecto sobre la síntesis de albúmina.

La incorporación del aminoácido radioactivo en la prueba no - varió mucho en forma significativa la síntesis de albúmina en - los cortes procedentes de animales normales, siendo la activi- - dad específica de: 1.9 ± 0.3 .

Las cinco ratas que recibieron progesterona disuelta en - aceite por vía peritoneal en número de cinco inyecciones, de- mostraron que no había cambios en los niveles séricos de albú- mina, con respecto a los normales ya que los resultados fueron de: 2.2 ± 0.6 g./100 ml. Observándose también que la sínte- sis de albúmina en estos animales se encontraba ligeramente - aumentada, siendo la actividad específica de: 2.9 ± 1.2 .

D I S C U S I O N E S

Se ha podido demostrar hasta la actualidad que la incubación de rebanadas de tejido hepático (16), en un medio al cual se le agrega un aminoácido marcado, es útil para comparar grados de síntesis entre diferentes proteínas.

Otras ventajas que ofrece este método es que las incubaciones de cortes de un mismo hígado pueden llevarse a cabo por duplicado y suspenderse a diferentes intervalos de tiempo. Asimismo permite tratar previamente a los animales o modificar las condiciones del medio de incubación.

La regulación de la síntesis de proteínas en general puede deberse a un cambio en el número de células del tejido que se encuentran produciendo estas proteínas o bien alternativamente a cambios en la cantidad de proteínas formadas por cada célula. El primero de estos mecanismos es un ejemplo del principio del "todo o nada" expresado por Lane (22), la evidencia a favor de este mecanismo fue obtenida usando una técnica de anticuerpos fluorescentes, sin embargo, como la proteína se secreta a través del retículo-endoplásmico, existe la posibilidad de que el número de células fluorescentes que se ven en determinado momento, únicamente reflejan la frecuencia de llenado y de vaciamiento en estas células. Otro mecanismo que pudiera regular la síntesis de esta proteína probablemente sea por un cambio más o menos uniforme en la rapidez de síntesis de todas las células de tejido, esto se cree que es lo que ocurre en la mayor parte de las situaciones. Cualquier punto en la cadena de eventos que llevan a la formación de la molécula de proteínas puede servir como factor determinante de la cantidad total de proteínas sintetizadas. La proteína puede acarrear más rápidamente debido a que se forma más ARN mensajero que pasa al citoplasma o bien a que el grado de destrucción del ARN mensajero es retardado. También puede deberse a un aumento en el aporte de aminoácido o incluso de una hormona.

C O N C L U S I O N E S

De acuerdo con los resultados obtenidos observamos que:

- I. Cuando se añade progesterona disuelta en etanol, al medio de incubación, la albúmina no se encuentra alterada en forma significativa.
- II. Cuando se agrega etanol solamente en el medio de incubación, observamos que tampoco existen cambios significativos en la síntesis de la albúmina, aunque se presentó una ligera disminución en la incorporación del aminoácido, aunque en forma no significativa.

Apoyando la conclusión de que la progesterona no afecta in vitro la síntesis de albúmina por el hígado.

- III. La progesterona administrada in vivo, provoca un ligero aumento en la incorporación de la lisina H^3 a albúmina; cuando se compara con los valores obtenidos en ratas control, aunque este incremento no sea en forma significativa.
- IV. Respecto al medio en que se emplea para disolver la progesterona, en este caso el aceite de maíz, observamos que no es éste el responsable del aumento de la incorporación de la lisina H^3 , puesto que la incorporación permanecía en niveles semejantes a los descritos en las ratas normales.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Charlwood, P. A.; 1959. "Molecular weights of rat rabbit and guinea pig serum albumins". *Biochim Biophys Acta* 32; 283.
- 2.- Foster, J. D. in F. W. Putnam (Ed) 1960. "The plasma proteins". Academic Press, New York. 1; 179.
- 3.- Schultze, H. E. and Hermans, J. F. 1966. "Molecular Biology of human proteins; Elseviere, 1; - 321.
- 4.- Miller, L. L. Bly., C. G. Watson; W. F. Bale. 1951. - "The dominant role of the liver plasma protein synthesis a direct study of the isolated perfused rat liver with the aid of Lisine - C¹⁴". *J. Exper. Med.* 94; 431.
- 5.- Roviller, C. H. 1963. "The liver Morphology Biochemistry, Physiology". Academic Press New York; 1, 381.
- 6.- Schoenheimer, R.; S. Ratner; D. Rittenberg. 1939. "Studies on protein metabolism, the Metabolic activity of body proteins investigated with L (+) - leucine containing two isotopes". *J. Biol. Chem.* 130; 703.
- 7.- Hoagland, M. B.; P. C. Zamecnik; M. L. Stephenson. - 1957". *Mammalian protein metabolism". - Biochem Biophys. Acta* 24; 215.
- 8.- Dykes, P. W. 1968. "The rates of distribution and cata-

bolism of albumin in normal subjects, and in patients with cirrhosis of the liver". - Clin. Sci. 34; 161.

- 9.- Wetterfors, J. R.; G. Plantin, and B. Olhagen. 1960. "Role of the stomach and small intestine - in albumin breakdown". Acta Me. Scand. 168 ; 343.
- 10.- Gittlin, K.; J. R. Klinenberg; and W. L. Hughes. 1958. "Site of catabolism of serum albumin". Na-
ture, 181; 1064.
- 11.- Gordon, A. H. 1962. "The catabolic rate of albumin -
dibly labeled with ^{131}I and C^{14} in the -
isolated perfused rat liver". Biochem J. -
82 ; 531.
- 12.- Rothschild, M. A. y Col. 1968. "Retain of the Biol. -
fluit". Elcedir Amsterdam, 14 ; 262.
- 13.- Hasch, E.; S. Jarnim, and N. Tygstrup. 1967. "Albumin-
synthesis rate as a measure of liver func--
tion in patients with cirrhosis". Acta Med.
Scand ; 182 ; 83.
- 14.- Haldar, D., and K. B. Freeman. 1969". Importance of -
the osmorarity of the incubation medium -
on amino acid incorporation into protein -
by isolated rat liver mitochondria". Bio--
chem. J., 111; 653.
- 15.- Witaker R. 1964. "Biochem. Biophys. Acta 93 ; 1.
- 16.- Peters, T. and C. B. Anfinsen. 1950. "Radioactive se- -
rum albumin by liver slices". J. Biol. -
Chem. 182 ; 171.

- 17.- Juda, J. D. & M. R. Nicholls; 1971. "Biosynthesis of rat serum albumin". *Biochem. J.* 123 ; 649.
- 18.- Campbell, P. N. & G. R. Lawford. 1968. "In Structure - and function of the endoplasmic reticulum in animal cells". Ed by Gran, F. C. London and New York. Academic Press. Pág. 57.
- 19.- Killander, J. 1964. "Separation of human Heme and hemoglobin Binding plasma proteins, Ceruloplasmin and albumin by gel filtration". - *Biochim. et Biophys. Acta* 93 ; 1.
- 20.- Clarke, H. G. and Freeman. 1966. "Protides of the biological fluids; vol. 14, Brugge Elseviere.
- 21.- Kjeldth, M. and A. Gornall. 1966. "Method for determining albumin concentration in serum". - *Cli. Chemistry* 12 ; 194.
- 22.- Lane, R. S. *J. Brit. Haemat.* 12 ; 249.

TESIS
IMPRESA "RANGEL"
STO. DOMINGO No. 12
Tel 521 67 98.