

199
Res.



**DETERMINACION DE LOS NIVELES DE AMONIO EN
HEPATOCITOS AISLADOS Y MEDICION DE LOS NIVELES
SERICOS DE ACIDO URICO EN POLLOS CON SIGNOLOGIA
DE SINDROME ASCITICO**

**TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

FALLA DE ORIGEN

**PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
POR
CUAUHTEMOC NAVA CUELLAR**

**ASEORES: M.V.Z. ANTONIO DIAZ CRUZ
M. EN C. RAQUEL GUINZBERG FERRUSQUIA
DR. ENRIQUE PIRA GARZA, M.V.Z. ROBERTO SERAS CUESTA**



MEXICO, D. F.

1995



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 está 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.

Como es tradición dedico este trabajo a :

**Mis padres por el cariño y apoyo que me
han brindado durante veinticinco años**

**Mi hermano Zaid por los consejos que
siempre me ha dado**

Y en forma muy particular a :

**Todos los nobles animales que para mi
formación como medico veterinario y
trabajo de tesis tuvieron que morir.**

Agradezco :

A Antonio por embarcarme en este trabajito

A Raquel por corregir las medidas de pata

A Roberto por aportar el material biológico

A el Dr Píñn por su sabiduría

A Lupita por ser tan linda persona

A Rubén por haberse dejado convencer igual que yo

**A Marco y Gaspar por el transporte, por su amistad y por
acompañarme en las horas perdidas**

A Tony por permitirme invadir su laboratorio con todo y escritorio

A Lucia, Susana, Ileana, Marta, Adriana, Arturo, Magdalena,

**Paquito, Rogelio , Anita y Lulú por ser los amigos en quienes se
se puede confiar en los tiempos difíciles**

A Claudia , Gabriela y Yolanda por enseñarme a amar

A todos los artistas que con su música alegraron mis horas de trabajo.

Y por último pero no por eso menos importante a Alvaro, Joel, Olinka y

**Victor por tantos años de amistad sin la cual no hubiera podido llegar vivo a
mi examen profesional**

CONTENIDO

Página

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	5
RESULTADOS.....	7
DISCUSION.....	8
LITERATURA CITADA.....	10
FIGURAS.....	13
CUADROS.....	14

RESUMEN

NAVA CUELLAR CUAUHTEMOC. Determinación de los niveles de amonio en hepatocitos aislados y medición de los niveles séricos de ácido úrico en pollos con signología de síndrome ascítico (Bajo la dirección del MVZ Antonio Díaz Cruz , M. C. Raquel Guinzberg Perrusquia. DR Enrique Piña Garza. MVZ. Roberto Señas Cuesta).

Como resultado de la patogenia en el síndrome ascítico (SA) surge una alteración cardiopulmonar que repercute en la funcionalidad hepática. En el hígado se realizan los procesos de transaminación y desaminación oxidativa , teniendo como resultado la liberación de amonio, que en las aves se destina para la formación de ácido úrico, que en ellos es la principal forma de eliminación del nitrógeno aminico. Dado lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el estado metabólico del hígado de pollo con signología del SA. usando como parámetros metabólicos la liberación de amonio en hepatocitos aislados, así como los niveles de ácido úrico séricos. Se utilizaron pollos de 6 semanas de edad . Los hepatocitos fueron aislados por el método de Barry y Friend y se incubaron en condiciones óptimas para el ensayo, en presencia de eponefrina 10-6 M, glucagon 10-6 M , adenosina 10-6 M, según el protocolo de cada experimento. El amonio se determinó por el método de Gutman y Bergmeyer. Para la medición de ácido úrico se utilizó un kit comercial. Los resultados indican una mayor liberación basal de amonio en de pollos con signología de SA que en pollos testigos ($P < 0.0001$); las hormonas y el nucleósido ensayados no modificaron los niveles de amonio en ambos grupos experimentales. A nivel sanguíneo no hay diferencias en los niveles de ácido úrico entre pollos con signología de SA y testigos. Estos datos sugieren una alteración en el metabolismo de compuestos nitrogenados a nivel hepático.

INTRODUCCION.

El síndrome ascítico (SA) es una entidad con características epidemiológicas, clínicas y anatomopatológicas (18). Se identifica por afectar al pollo de engorda y a la polla reproductora pesada desde la tercera semana de edad, con una máxima mortalidad a la séptima semana, aunque se ha llegado a encontrar en pollos de un día de edad (18,23). Las estirpes de crecimiento acelerado presentan una mayor mortalidad que las estirpes de crecimiento lento (1,12) y dentro de una misma estirpe, los individuos que ganan peso más rápido son más susceptibles (10,12).

Los signos clínicos del SA son: plumas erizadas, apatía, cianosis de la cabeza y las patas, crecimiento del abdomen, caminar lento con las patas abiertas y disnea (18,19).

La literatura menciona como factores predisponentes los siguientes: genéticos, nutricionales, manejo, medioambientales e infecciosos (4,17,19, 23,24). La importancia de este síndrome radica en las pérdidas económicas ocasionadas por una mortalidad en pleno crecimiento que puede alcanzar un 5.24% en toda la población, por mortalidad en la transportación, por una disminución en la conversión alimenticia, gastos por tratamientos y decomisos en la planta procesadora (1,12,16).

La patogenia del SA inicia con una hipoxia ocasionada por cualquiera de los factores predisponentes, lo que provoca en el animal un aumento en el número de eritrocitos, así como en su tamaño y una disminución en su capacidad de deformación (4,16); esto produce un mayor gasto cardíaco que predispone a una hipertrofia cardíaca derecha y a una elevación de la presión a nivel de la arteria pulmonar (4,15,18). La insuficiencia cardíaca ocasionada por este proceso conduce a una congestión crónica pasiva generalizada, que da lugar a un fenómeno de extravasación con el consecuente hidropericardio y ascitis (10). Las lesiones antes

mencionadas se van a presentar en diferente grado en los pollos con SA, de hecho muchos de estos mueren sin presentar una acumulación moderada o importante de líquido abdominal (17). Esta alteración cardiopulmonar repercute en la funcionalidad hepática (10). El hígado presenta las siguientes lesiones histopatológicas: contracción de los cordones hepáticos, individualización de los hepatocitos, vacuolización del citoplasma de las células hepáticas, fibrosis capsular y depósito de material proteináceo intracelular (14,18,26).

El metabolismo hepático involucra procesos de anabolismo y de catabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas entre otros. Dentro del metabolismo de las proteínas es el hígado el responsable de los procesos de 1) síntesis de sus propias proteínas y de varios componentes proteicos del plasma, así como de la hidrólisis de éstos; 2) la síntesis de varios compuestos que contienen nitrógeno tales como las purinas, las pirimidinas, ácido úrico, ácido nicotínico y creatinina, que tienen funciones importantes en la fisiología celular y algunos de los cuales finalmente aparecen en la orina; 3) la distribución a otros órganos vía sanguínea, de una mezcla equilibrada de aminoácidos disponibles para su uso; 4) síntesis de aminoácidos no esenciales en la medida en que sean necesarios. Dentro del metabolismo intermedio de los aminoácidos llaman la atención los procesos de transaminación y desaminación oxidativa, que son las vías enzimáticas encargadas del intercambio del nitrógeno amínico. El destino final del nitrógeno de los aminoácidos es en parte el ión amonio y en mayor proporción la molécula de urea en los animales ureotélicos como los mamíferos, por ser el amonio altamente tóxico para el animal (9,21,25). Existen reportes en la literatura de que en estas especies el proceso de eliminación del nitrógeno amínico está regulado por la epinefrina, el glucagón y la adenosina (7,11). En los animales uricotélicos como el ave, el nitrógeno amínico se elimina como ácido úrico y como ión amonio (2,22) (Figura 1).

mencionadas se van a presentar en diferente grado en los pollos con SA, de hecho muchos de estos mueren sin presentar una acumulación moderada o importante de líquido abdominal (17). Esta alteración cardiopulmonar repercute en la funcionalidad hepática (10). El hígado presenta las siguientes lesiones histopatológicas: contracción de los cordones hepáticos, individualización de los hepatocitos, vacuolización del citoplasma de las células hepáticas, fibrosis capsular y depósito de material proteináceo intracelular (14,18,26).

El metabolismo hepático involucra procesos de anabolismo y de catabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas entre otros. Dentro del metabolismo de las proteínas es el hígado el responsable de los procesos de 1) síntesis de sus propias proteínas y de varios componentes proteicos del plasma, así como de la hidrólisis de éstos; 2) la síntesis de varios compuestos que contienen nitrógeno tales como las purinas, las pirimidinas, ácido úrico, ácido nicotínico y creatinina, que tienen funciones importantes en la fisiología celular y algunos de los cuales finalmente aparecen en la orina; 3) la distribución a otros órganos vía sanguínea, de una mezcla equilibrada de aminoácidos disponibles para su uso; 4) síntesis de aminoácidos no esenciales en la medida en que sean necesarios. Dentro del metabolismo intermedio de los aminoácidos llaman la atención los procesos de transaminación y desaminación oxidativa, que son las vías enzimáticas encargadas del intercambio del nitrógeno amínico. El destino final del nitrógeno de los aminoácidos es en parte el ión amonio y en mayor proporción la molécula de urea en los animales ureotélicos como los mamíferos, por ser el amonio altamente tóxico para el animal (9,21,25). Existen reportes en la literatura de que en estas especies el proceso de eliminación del nitrógeno amínico está regulado por la epinefrina, el glucagón y la adenosina (7,11). En los animales uricotélicos como el ave, el nitrógeno amínico se elimina como ácido úrico y como ión amonio (2,22) (Figura 1).

Siendo el SA una entidad con repercusiones económicas negativas muy fuertes en la avicultura, que es una fuente generadora de proteína de excelente calidad y de bajo costo para la población humana, se hace necesario el inicio de líneas de investigación enfocadas al estudio de los procesos metabólicos que ayuden a explicar las alteraciones fisiológicas causadas por el SA en el pollo de engorda.

Objetivo.

Evaluar el estado metabólico del hígado de pollo con signología de SA utilizando como indicador metabólico la producción de amonio en hepatocitos y los niveles de ácido úrico en suero .

Hipótesis.

Dado que el hígado es uno de los órganos que se ven afectados en los pollos que presentan SA, dicha afección repercutirá en una modificación en la concentración de amonio hepático , así como en los niveles de ácido úrico séricos.

MATERIAL Y METODOS.

La fase experimental de este trabajo se llevó a cabo en el laboratorio 34 del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M. y en el Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. .

Material biológico: se utilizaron 16 pollos con signología de SA y 18 pollos sin signología (testigos) de la estirpe Arbor Acres, todos con una edad de 6 semanas.

Reactivos : adenosina, glucagon, epinefrina, albúmina sérica bovina (fracción V) , colagenasa y un Kit para determinación de ácido úrico, todos de Sigma Chemical Co. St. Louis Mo. U.S.A. . Además otros reactivos grado analítico de Baker Mex.

Aislamiento de hepatocitos: Las aves antes del sacrificio tuvieron un periodo de ayuno de 24 horas con agua a libre acceso , se anestesiaron con éter etílico , se les expuso el hígado y posteriormente se obtuvieron los hepatocitos mediante el método de Berry y Friend (3) con modificaciones de Guinzberg et al (7), el cual consiste en incertar y fijar una cánula en la vena porta lo más cercano al hilio hepático, a continuación el hígado es extraído de la cavidad y colocado en un aparato de perfusión (Figura 2) , en donde se establece una circulación continua a través de la vena porta con un Krebs - ringer bicarbonato y posteriormente con una solución de colagenasa. Durante la realización del método las aves fueron sacrificadas. Ya aisladas las células se verificó su viabilidad por el método de exclusión de azul de tripán al .02%, (es necesaria una viabilidad mínima de un 90%).

Sistemas de incubación: 500 microlitros de las células se incubaron en una solución de albúmina sérica bovina al 1% disuelta en Krebs ringer-bicarbonato adicionado con cloruro de calcio al 1.2 mM con un pH de 7.4, en una atmósfera saturada de O₂/CO₂ (95%/5%) y en agitación continua, durante 60 minutos a una

temperatura de 37°C . A las células se les adicionó epinefrina 10^{-6} M , glucagon 10^{-6} M y adenosina 10^{-6} M , según el protocolo de cada experimento (cuadro 1). Todos los medios fueron enriquecidos con carbonato de amonio 5 mM y glucosa 10 mM .

Determinación de amonio: Una vez concluido el periodo de incubación las células se colocaron en agua con hielo durante 5 minutos y centrifugaron a 10,000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido fue utilizado para determinar la concentración de amonio mediante la técnica de Gutman y Bergmeyer (8).

Determinación de ácido úrico: Se tomaron muestras de sangre mediante punción en la vena radial para la obtención de suero en donde se midió la concentración de ácido úrico utilizando un Kit para determinación de ácido úrico (Uric Acid 685 de SIGMA).

En el análisis de los resultados se compararon las poblaciones de ascíticos y testigos mediante la prueba estadística de hipótesis de "T" de Student respecto de las medias de los datos independientes .

RESULTADOS

En la figura 3 se muestra la liberación de amonio en hepatocitos aislados de pollos con signología de SA y testigos, los cuáles fueron incubados en presencia de epinefrina, glucagon y adenosina a una concentración de 10^{-6} M cada una. Se observa una mayor liberación de amonio en los pollos con signología de SA, tanto en el estado basal como en los ensayados con las hormonas y el nucleósido en comparación con sus respectivos testigos, esta diferencia es estadísticamente significativa con una $P < 0.001$. Además se aprecia que la epinefrina, el glucagon y la adenosina a las concentraciones ensayadas no ejercen un efecto estimulador sobre la liberación celular de amonio, ya que las diferencias no son significativas respecto al basal, esto sucede tanto en pollos testigos como en aquellos con signología de SA.

En la figura 4 se observan los niveles séricos de ácido úrico en pollos testigos y con signología de SA, en donde éstos últimos presentan un aumento respecto a los testigos, sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa.

DISCUSION

Maxwell et al (13) reporta una ausencia de gránulos de glucógeno hepático en pollos con SA, esto implica una disminución en la disponibilidad de glucosa como sustrato energético para los procesos metabólicos. En este sentido las necesidades energéticas de los tejidos extrahepáticos son satisfechas a través de la gluconeogénesis, proceso enzimático que se lleva a cabo principalmente en el hígado. Bajo éstas condiciones las proteínas se convierten en moléculas generadoras de sustratos gluconeogénicos (aminoácidos) , en donde las cadenas carbonadas que resultan de la desaminación son utilizadas por la célula para la síntesis de glucosa y el grupo funcional amino es liberado como ácido úrico vía síntesis de purinas (2,21,22). El incremento de los niveles de amonio presentes en los resultados de éste trabajo indican un aumento en el catabolismo de los aminoácidos (fig. 1). dada ésta condición se hace limitante la disponibilidad de aminoácidos para la síntesis de proteínas . Cabe señalar que lo anteriormente expuesto podría aclarar el decremento en la concentración de albúmina sérica en pollos sometidos a una elevada altitud simulada reportada por Yersin et al. (27). Ya que la albúmina es una proteína que se sintetiza esencialmente en el hígado y que una de sus funciones es la de mantener la presión coloidosmótica de la sangre (5), la disminución en su síntesis y por lo tanto en la concentración sérica favorece la formación de trasudados en cavidad abdominal (20).

Por otro lado el análisis de los sueros de los pollos empleados en este trabajo muestran que el nivel de ácido úrico en pollos testigos no presenta diferencia al de los pollos con signología de SA (fig.2). Esto manifiesta que las modificaciones en el metabolismo del nitrógeno hepático no se reflejan en el nivel de ácido úrico sérico de los pollos . En pollos sometidos a una baja ventilación mediante una cámara hipobárica los niveles de ácido úrico fueron de 11.9mg/dL y de 6.4mg/dL

en pollos con y sin signología de SA respectivamente (6), esta información no coincide con los valores de ácido úrico obtenidos en éste trabajo . Carecemos de evidencia experimental para argumentar esta diferencia. Sin embargo podría ser explicada por las condiciones particulares en que se realizó cada trabajo.

Es importante señalar que en las aves no se manifestó un efecto estimulador de la epinefrina, el glucagón y la adenosina, de modo distinto a lo reportado en ratas a la misma concentración de las hormonas y el nucleósido (7,11,25).

Ya que no se encontró una relación directa entre la concentración de amonio hepático y los valores séricos de ácido úrico, se proponen para la continuidad de éste trabajo: a) revisar los procesos enzimáticos de síntesis de proteínas y de ácido úrico, así como la concentración hepática de éste último; b) determinar los niveles séricos de amonio; c) ensayar la epinefrina el glucagón y la adenosina en una curva dosis-respuesta para confirmar si éstas moléculas presentan efecto sobre los niveles de amonio o encontrar su concentración adecuada en las aves.

LITERATURA CITADA

- 1.- Arce, M. J. , López, C. C. y Vazquez, P. C. : Análisis de la incidencia del síndrome ascítico en el valle de México. Téc. Pec. Méx., **25**: 338 - 345 (1989).
- 2.- Bell, D. J. y Freeman, B. M. : *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*, tomo 1, Academic Press, Great Britain , 1971 .
- 3.- Berry, M.N. and Friend, J.: Cell. Biol., **43**: 506-520 (1969).
- 4.- Dale, N. and Villacres, M. : Relationship of two-week body weight to the incidence of ascites in broilers. Avian Dis., **32**: 556-560 (1988).
- 5.- Dibner, J. J. and Ivey, F. J.: Hepatic protein and amino - acid metabolism in poultry. Poultry Sci., **69** : 1188-1194 (1990).
- 6.- Enkvetchakul, B. , Bottje, W., Anthony, N. and Moore, R. : Compromised antioxidant status associated with ascites in broiles. Poultry Sci., **72** : 2272-2280. (1993).
- 7.- Guinzberg, P. R., Laguna, I., Zentella, A., Guzman, R. y Piña, E.: Effect of adenosine and inosine on ureagenesis in hepatocytes . Biochem. J., **245**: 371-374 (1987).
- 8.- Gutman, I. y Bergmeyer, H. U. : *In Methods of Enzymatic Analysis* . tomo 4 , Academic Press, New York and London ,1978.
- 9.- Herrera, E. : *Bioquímica*. tomo 1, 2ª ed. Interamericana McGraw-Hill, España, 1991.
- 10.- Julian, R. J. , Friars, G. W. , French, H. and Quinton, M. : The relationship of right ventricular hypertrophy, right ventricular failure, and ascites to weight gain in broiler and roester chickens. Avian Dis., **31**: 130-135 (1986).
- 11.- Laguna, T. I. : Efecto de la denosina sobre la biosíntesis de de urea en el hígado de rata. Tesis de licenciatura . Fac. de Ciencias , Univesidad

Nacional Autónoma de México, México D.F., 1989.

- 12.- López, C. C. : Investigaciones sobre el síndrome ascítico en pollos de engorda: Ciencia Veterinaria ,Editado por: Ricardo Moreno Chan , Vol. V , 13-48. F.M.V.Z. U.N.A.M., México, 1991 .
- 13.- Maxwell, M. H. , Robertson, G. W. and Spence, S. : Studies on an ascitic syndrome in young broilers. Ultrastructure . Avian Pathol., 15 : 525-538 (1986).
- 14.- Maxwell, M. H., Spence, S. , Robertson, G. W. and Mitchell, M. A. : Haematological and morphological responses of broilers chicks to hypoxia. Avian Pathol. , 19: 23-40 (1990) .
- 15.- Maxwell, M. H. y Robertson, G. R. : Hipoxia nivel del mar indicadores ultra citoquímicos en pollos de engorda en iniciación con síndrome ascítico . Memorias del XI ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura, México D.F., 19-36, 1993 (1993) .
- 16.- Mirsalimi, S. M. and Julian, R. J. : Reduced erythrocyte deformability as a possible contributing factor to pulmonary hypertension and ascites in broiler chickens . Avian Dis. , 35: 374-379 (1991) .
- 17.- Odom, T. W. : Relación entre la genética, la incubación y el ambiente después del nacimiento con el desarrollo del síndrome ascítico en el pollo de engorda. Memorias del XI ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura. México D.F., 167-175, 1993 (1993).
- 18.- Paasch, M. L. : Desarrollo de algunas investigaciones sobre el síndrome ascítico en México: Ciencia Veterinaria, Editado por: Ricardo Moreno Chan, Vol V , 1-11; F.M.V.Z. U.N.A.M., México, 1991.
- 19.- Rodríguez, V. M. y Rosiles, M. R. : Concentración de once elementos minerales catiónicos esenciales en pollos de engorda con y sin ascitis. Vet. Méx., 19: 111-115 (1980).

- 20.- Smith, H.A. y Jones, T.C. : **Patología Veterinaria**, 1ª ed. , UTEHA . México 1985.
- 21.- Stryer, L.: **Bioquímica**, tomo I, 3ª ed. Reverte . España , 1990 .
- 22.- Sturkie,P.D. : **Avian Physiology**, 4ª ed. Springer Verlag, U.S.A. , 1986 .
- 23.- Suarez, O.M. y Rubio, R.M. : **Uso de la restricción alimenticia como control parcial del síndrome ascítico**. Vet. Méx. , 20 : 193-195 (1989).
- 24.- Vidyadaran, M. K., King, S. A., and Kassim, H. . Quantitative comparisons of lung structure of adult domestic fowl and red jungle fowl. with reference to broiler ascites. Avian Pathol., 19 : 51-58 (1990).
- 25.- White, A., Handler, P., Smith, E., Hill, P., y Lehman, I. R. **Principios de Bioquímica**, 6ª ed. McGraw -Hill, España, 1982.
- 26.- Wilson, J. B. , Julian, R. J. and Barker, I. K. : Lesions of heart failure and ascites in broilers chickens. Avian Dis., 32: 246-261 . (1988) .
- 27.- Yersin, A. G., Huff, W. E., Kubena, L. F., Elissalde, M. H., Harvey, R. B., Witzel, D. A. and Giroir, L. E. : Changes in hematological, blood gas and serum biochemical variables in broilers during exposure to simulated high altitude. Avian Dis. 36 : 189-196 (1992).



Figura 1.- Eliminación del nitrógeno amínico. I: Transaminación. El destino del grupo a-amino de los aminoácidos se transfiere al α -cetoglutarato para formar glutamato. II: Desaminación. Por desaminación oxidativa del glutamato se forma el ión amonio. III: Formación del ácido úrico. El ión amonio se une al glutamato para formar glutamina, que funciona como vehículo del amonio debido a que este es altamente tóxico. Posteriormente la glutamina reacciona con el 5- fosforibosil-1-pirofosfato para iniciar la síntesis de ácido úrico. los átomos de nitrógeno provienen de la glutamina, la glicina y el aspartato. El primer anillo de purina en formarse es el ácido inosínico.



Figura 1 .- Eliminación del nitrógeno amónico. I: Transaminación. El destino del grupo a-amino de los aminoácidos se transfiere al a-cetoglutarato para formar glutamato. II : Desaminación. Por desaminación oxidativa del glutamato se forma el ión amonio. III : Formación del ácido úrico. El ión amonio se une al glutamato para formar glutamina, que funciona como vehículo del amonio debido a que este es altamente tóxico. Posteriormente la glutamina reacciona con el 5- fosforibosil-1-pirofosfato para iniciar la síntesis de ácido úrico. los átomos de nitrógeno provienen de la glutamina, la glicina y el aspartato. El primer anillo de purina en formarse es el ácido inosínico.

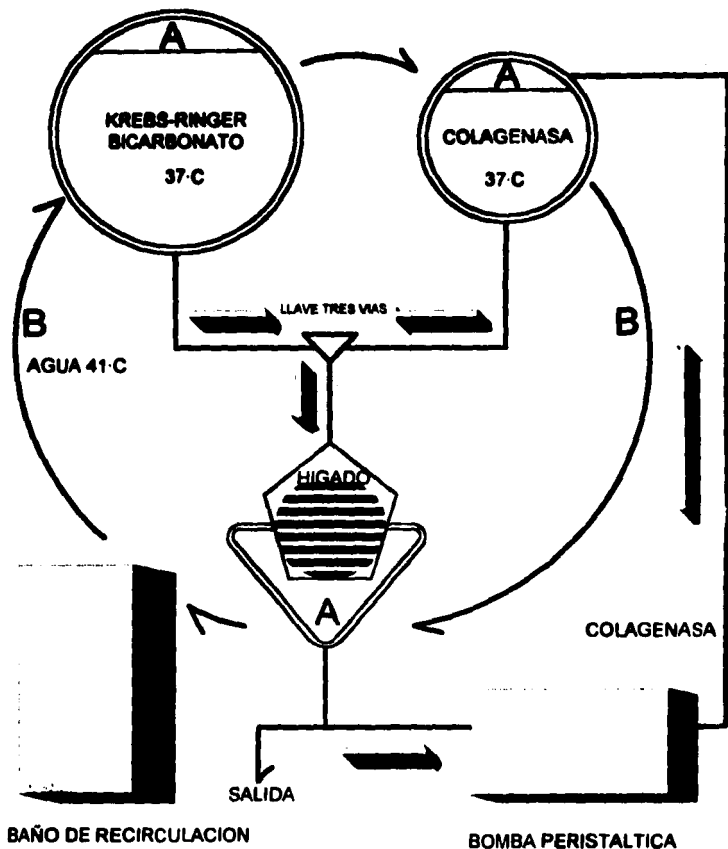


Figura 2.- Aparato de perfusión utilizado para el aislamiento de hepatocitos. Consta de tres piezas de cristal con doble fondo (A) por los cuales circula agua tibia, para mantener una temperatura constante de 37°C en las soluciones que contienen. Una bomba peristáltica para reciclar una solución de colagenasa y un baño de recirculación que moviliza agua a una temperatura de 41°C por un sistema de mangueras (B) a través de las piezas de cristal

LIBERACION DE AMONIO EN HEPATOCITOS AISLADOS DE POLLOS ASCITICOS Y TESTIGOS

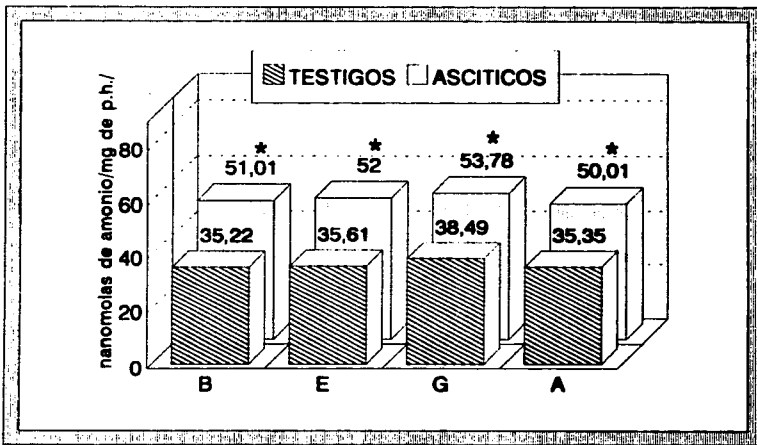


Fig.3.- Las células fueron incubadas con carbonato de amonio 5mM, en presencia de epinefrina 10^{-6} M (E), glucagon 10^{-6} M (G) y adenosina 10^{-6} M (A). Los valores se refieren a la media de los datos independientes. * $P < 0.001$. Testigos $n = 18$, ascíticos $n = 16$.

NIVELES SERICOS DE ACIDO URICO EN POLLOS

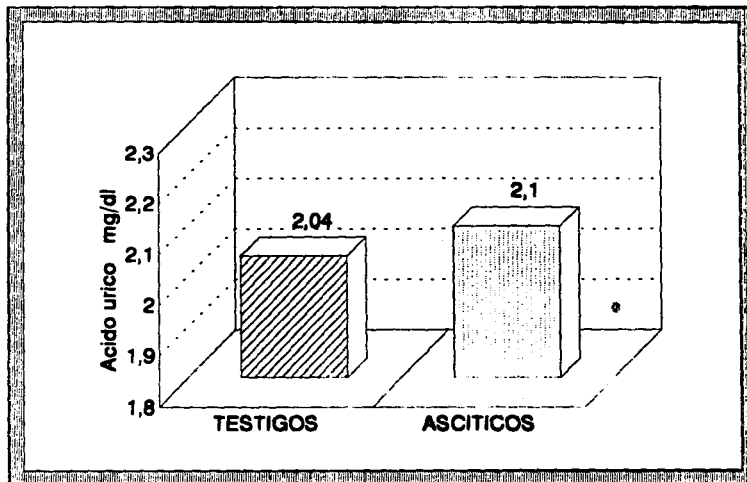


Fig.4.- La determinación se llevó a cabo mediante un kit comercial . Los valores se refieren al promedio de los datos independientes. Testigos n=11 ascíticos n=11 .

TUBOS	1-2	3-4	5-6	7-8
CELULAS	500 μ l	500 μ l	500 μ l	500 μ l
CARB. DE AMONIO 10 mM	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
GLUCOSA 10 mM	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
EPINEFRINA 10^{-6} M		100 μ l		
GLUCAGON 10^{-6} M			100 μ l	
ADENOSINA 10^{-6} M				100 μ l
KREBS - RINGER + ALBUMINA Y CALCIO	300 μ l	200 μ l	200 μ l	200 μ l
MICROLI - TROS TOTALES	1000	1000	1000	1000

Cuadro 1.- Sistemas de incubación para la liberación de amonio.