

3 - Cuadro y ...
9 - ...

61 (04)

FACULTAD DE QUIMICA BERZELIUS
INCORPORADA A LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ACCION DE LA ENDOTOXINA DE SALMONELLA TYPHI
SOBRE LA TRANSAMINASA GLUTAMICO-OXALACETICA
DEL HIGADO DE RATA**

T E S I S

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Presenta

ANNABELLE AHRENSBURG SAN ROMAN

MEXICO, D. F.

— 1958 —



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.

A MIS PADRES
Con todo mi cariño.

A MIS HERMANOS Y FAMILIARES.

A LEONARDO.

A Dn. LUIS M. VERA

Con gratitud y respeto.

Al Dr. JESUS KUMATE

*Con agradecimiento,
por su dirección en el desarrollo
de este tema.*

*A la Srita. Q. F. B.
MA. ANTONIETA FLORES
Por su cooperación.*

A MIS MAESTROS.

A MIS COMPAÑEROS

*A mi
"UNIVERSIDAD LABASTIDA"
en recuerdo de días inolvidables.*

SUMARIO

- I.—INTRODUCCION.
- II.—MATERIAL Y METODOS.
- III.—RESULTADOS.
- IV.—DISCUSION.
- V.—RESUMEN Y CONCLUSIONES.
- VI.—BIBLIOGRAFIA.

INTRODUCCION

Las reacciones de transaminación desde su descubrimiento en 1937 por Braunstein y Kritzman (1) o su apreciación no organizada por Knoop, Needham y Canzanelli (2), se han considerado como un mecanismo de interconversión metabólico entre aminoácidos y cetoácidos que pueden o no pertenecer al ciclo metabólico común; esta situación "estratégica" de dichas enzimas no fué apreciada en toda su magnitud debido a las limitaciones resultantes de los trabajos de Cohen en 1941 al reportar, mediante el empleo de técnicas más satisfactorias que las originales de Braunstein, que el fenómeno de transaminación estaba reducido a dos sistemas: glutámico — oxalacético y glutámico — pirúvico; el mismo autor en 1951 reconsideró experimentalmente la situación y desde entonces se conocen cada día nuevos sistemas capaces de efectuar dichas interconversiones y en la actualidad son raros los aminoácidos incapaces de transaminar (3).

Por otra parte desde 1948 se sabe por los trabajos de Kun y Miller (4, 5, 6,) que las endotoxinas de enterobacteriáceas y en especial de *Salmonella aertrycke* y *S. typhi - murium* son capaces de interferir la síntesis del glucógeno en ratas y deprimir la actividad de la deshidrogenasa succínica en hígado de ratas con lo que se tiene una situación donde el ciclo del ácido carboxílico se encuentra alterado. Si se recuerda que dos componentes de ese ciclo; el oxalacético y el alfa-cetoglutárico enlazan mediante transaminación con los ácidos aminados aspártico y glutámico; nos pareció de interés el investigar si el equilibrio transaminante del alfa-cetoglutarato (predecesor del succínico cuya deshidrogenación está limita-

da en las toxemias señaladas) estaba modificado de transaminasa glutámico-oxalacética para modificar el equilibrio y forzar la reacción interferida.

Simultáneamente se planteó la posibilidad de que la intoxicación con antígenos crudos de *Salmonella* pudiera resultar en la liberación de transaminasa glutámico-oxalacética (7) de manera que además de las modificaciones bioquímicas de las endotoxinas es necesario considerar el trastorno metabólico de la necrosis durante la cual se ha visto hay salida de numerosos componentes enzimáticos de hígado (8, 9.).

En el trabajo presente se reportan los resultados de la actividad transaminante glutámico-oxalacética en hígado y suero de ratas y conejos sometidos a diversos esquemas de intoxicación por antígenos somáticos de *Salmonella typhi* y *Salmonella typhi-nurium*.

MATERIAL Y METODOS

1.—Ratas; machos albinas de 120 a 250 grs.; alimentadas con leche y pan.

a) Normales. b) Intoxicadas crónicas c) Intoxicadas agudas.

a) Ratas Normales.—Ratas que no han sido sometidas a ninguna manipulación de laboratorio.

b) Ratas intoxicadas crónicas.—Se les inyectó por vía intraperitoneal 2 mgs. de endotoxina de *Salmonella typhi-murium*, suspendida en solución fisiológica (NaCl) al 8.5/lt. Sacrificándose a las 18 ó 24 hs. de haber sido inyectadas.

c) Ratas intoxicadas agudas.—Inyectadas por vía intraperitoneal con 15 mgs. de endotoxina de *Salmonella typhi-murium*. Se sacrificaron a las 3 ó 4 hs. Se toman lotes de ratas normales, crónicas y agudas.

2.—Conejos.—

a) Conejos Normales.—Que no han sido sometidos a experimentación.

b) Conejos Intoxicados Crónicos.—Se pesan, a continuación se les inyecta 0.02 mgs. de endotoxina de *Salmonella typhi-murium*, por vía intravenosa (vena marginal de la oreja), cada tercer día. Se sacrifican cuando el peso final sea un 25% menor del peso inicial.

Todos los animales normales e intoxicados, se sacrifican extra-yéndoseles una fracción de hígado, se pesa, homogeniza con agua bidestilada, de esta mezcla homogénea se toman 2 muestras, a las

cuales se les determina transaminasa glutámico-oxalacética y proteínas respectivamente. Al suero obtenido de la sangre se le determina transaminasa sérica glutámico-oxalacética.

REACTIVOS —

1.—Sacarosa 0.308 M.

S a c a r o s a 105.394 grs.

Se afora a 1,000 c.c. con agua destilada.

2.—Solución de Hidróxido de Sodio al 3%.—

N a O H 3 grs.

Llevándola aun volúmen de 100 c.c. con agua destilada.

3.—Weischelbaum.—

Tartrato de sodio y potasio 9 grs.

Sulfato de cobre 3 grs.

Yoduro de potasio 5 grs.

Se afora a 1,000 c.c. con NaOH 0.2 N libre de carbonatos.

4.—Amortiguador de fosfatos.— pH 7.4 —

Fosfato diácido de potasio 27.8 grs.

Aforar a 1,000 c.c. con agua bidestilada. Solución "A".

Fosfato monoácido de sodio 53.65 grs.

Aforar a 1,000 c.c. con agua bidestilada. Solución "B".

Solución "A" — 19 c.c. + Solución "B" — 81 c.c.

Se guardó en refrigerador.

5.—Acido alfa-cetoglutarico.— pH 7.4 —

Para contener 100 micromoles/ml.

Acido alfa-cetoglutarico 0.7305 grs.

Se aforó a 50 c.c. con fosfato amortiguador y ajustó a un pH de

7.4

Se guardó en congelador.

6.—Acido Aspártico.— pH 7.4 —

Para contener 2.0 micromoles/ml.

Acido d-l Aspártico 0.4235 grs.
Se aforó a 100 c.c. con fosfato amortiguador y se ajustó a un
ph de 7.4.— Se guardó en congelador.

7.—Fosfato de Piridoxal.— pH 7.4 —

Fosfato de Piridoxal 0.003 grs.
Se aforó a 100 c.c. con fosfato amortiguador y se ajustó a un
pH de 7.4.— Se guardó en congelador.

8.—Aspártico/cetoglutárico.— pH 7.4 —

Acido d-l Aspártico 2.66 grs.
Fosfato monopotásico 2.00 grs.
Acido alfa-cetoglutárico 0.60 grs.
Se aforó a 1,000 c.c. con agua bidestilada y ajustó el pH a
7.4.— con KOH.

9.—Citrato de Anilina.—

A n i l i n a 5 c.c.
Acido cítrico 5 grs.
Agua destilada 5 c.c.

10.—Acido Tricloro acético.— al 100%.

11.—2,4; Dinitro-fenil-hidrazina.—

2,4, dinitro-fenil-hidrazina 100 mgs.
Acido clorhídrico concentrado 20 c.c.
Agua destilada 80 c.c.

12.—Solución alcohólica de hidróxido de potasio.—

Hidróxido de potasio 2.5 grs.
Alcohol etílico 100 c.c.

13.—Acido Pirúvico.—

Acido pirúvico 1 gr.
Agua destilada 1000 c.c.

TECNICA.—

Se sacrificó la rata o conejo, ~~previa anestesia clorofórmica~~ mediante la apertura de la cavidad torácica, sangría venosa del seno pulmonar y perfusión del hígado con solución de sacarosa 0.308 M. (con objeto de eliminar la sangre existente en hígado).

Se extrajo una fracción de hígado, se pesó; se colocó la muestra en un homogenizador de cristal tipo Potter Elvehjem con 10 c.c. de agua bidestilada, se machacó lo necesario para disgregarle (2 min. a 2000 rev. por min.) y obtuvo una mezcla homogénea. A continuación se tomó 1 c.c. del homogenizador y se guardó el restante para determinar proteínas, se diluyó con agua bidestilada (dil. 1:10) y se determinó transaminasa glutámica-oxalacética.

Modificación al Método.—(Únicamente en ratas).

Se tomó un lote de ratas. Bajo anestesia etérea se efectuó la apertura de la cavidad abdominal a continuación se le extrajo una pequeña fracción de hígado (aproximadamente 200 mgs.) del lóbulo inferior de éste, procediendo a cerrar cavidad por medio de sutura. La fracción de hígado extraída se pesó, homogenizó y se le determinaron transaminasa glutámica-oxalacética y proteínas.

Terminada la hepatectomía, se esperaron 8 días, hasta el restablecimiento del animal, al cabo del cual, se dividió el lote en dos grupos: a uno de ellos se les inyectaron 2 mgs. de endotoxina de *Salmonella typhi-murium* y sacrificio 2 hs. después. Y a otro 10 mgs. y sacrificio 18 hs. después, o sea, intoxicación crónica y aguda respectivamente.

Se sacrificaron y se les extrajo del seno pulmonar, la mayor cantidad de sangre posible, en la cual se determinó transaminasa sérica glutámico oxalacética, posteriormente se le extrajo una fracción de hígado teniendo en cuenta el peso de la muestra extraída en la rata normal.

DETERMINACION DE PROTEINAS.—

Modificación al Método de Biuret. (10)

Se coloca en un tubo con boca esmerilada.

0.5 c.c. de la mezcla homogénea

4.5 c.c. de NaOH al 3%.

5.0 c.c. de reactivo de Weischelbaum.

~~Se tapa, agita e incuba durante media hora a 37°C., y se hacen las lecturas en un espectrofotómetro Coleman Jr 6-B a 540 mμ.~~

En esta determinación las soluciones coloridas son comparadas en el espectrofotómetro con un standard hecho al mismo tiempo con agua destilada.

TECNICA DE COHEN.—(11).

Medición espectrofotométrica de la formación del Acido Oxalacético.

Este método puede usarse en cualquier sistema de transaminación en el cual uno de los componentes ya sea añadido como un sustrato o bien formado como un producto de la reacción, tiene una absorción característica capaz de ser medida a una longitud de onda adecuada. (180 mμ).

Este método requiere que los otros componentes no tengan absorción que interfiera a la longitud de onda empleada para un compuesto dado. Por lo tanto es necesario disponer de los datos, de las propiedades de absorción de todos los componentes en cualquier sistema dado.

Preparación de la enzima.—

Se toma una fracción de tejido fresco, se coloca en un homogenizador de cristal con 10 c.c. de agua (como ya se indicó), se tritura y filtra por gasa, para evitar los residuos que no han sido triturados. Se diluye con agua bidestilada (1:10).

Si sabemos que: $C_0 = C_1$ (1), entonces tenemos que: $C_1 = C_2$ (2)

De donde: $C_0 = (C_0 - C_1) = (C_2)$ (3)

La densidad óptica de un sistema de transaminación generalizado de tal naturaleza, puede presentarse mediante la ecuación (4).

$$D = k_1 (C_1) + k_2 (C_2) + k_3 (C_3) + k_4 (C_4) + K (C)$$

De donde k_1 , k_2 , k_3 y k_4 , son los coeficientes de extinción de las sustancias cuyos grados de concentración son dados por (C_1) , (C_2) , (C_3) y (C_4) ; representa la suma de las concentraciones de todos los componentes constantes, tales como proteínas, coenzima, iones amortiguadores, y K representa la suma de los coeficientes de eliminación de estas sustancias. Debe tomarse en cuenta que la aparición de un complejo transitorio de sustrato enzimático con un coeficiente de eliminación característico no interferirá este procedimiento, por cuanto los datos cinéticos solo se toman durante el periodo del estado constante, cuando la concentración es una constante. Debido a la concentración de este complejo se mantiene constante durante este periodo puede ser agrupado con el tiempo de la $K (C)$.

Si en la ecuación (4) sustituimos los valores de (C_1) , (C_2) y (C_3) obtenidos de las ecuaciones (2) y (3), se obtendrá una ecuación, en la cual la agrupación y la transposición de los términos se reduce a:

$$(C_4) = \frac{D}{k_1 + k_4 - k_3 - k_2} - \frac{(C_0) k_1 + k_2}{k_1 + k_4 - k_3 - k_2} - \frac{K(C)}{k_1 + k_4 - k_3 - k_2}$$

Al tomar los derivados de esta ecuación con relación al tiempo obtenemos los puntos estos.

$$\frac{d(C_4)}{dt} = \frac{dD}{dt} \times \frac{1}{(k_1 + k_4 - k_3 - k_2)} \quad (6)$$

Los valores de los coeficientes de extinción se leen de la curva de absorción de la sustancia problema y el valor de dD/t se obtiene en la forma descrita antes.

El ácido oxalacético tiene un coeficiente milimolar de extinción (micromolas por ml.) de 0.53 en 0.05 M amortiguador de fosfato a un pH de 7.4.

~~1. = ...~~

~~2. = ...~~

~~3. = ...~~

~~4. = ...~~

~~5. = Acción específica~~

~~6. = Acción sin especificación~~

~~7. = Acción manuscrita~~

~~8. = Acción pintada~~

La cantidad de la fabricación de (12) es multiplicada por
las unidades por el correspondiente precio y dividido por
el valor Q de transacción.

El tratamiento estadístico de los datos experimentales (12) es
descrito por Croxson (12).

$$M = \frac{\sum x}{N} \quad (\text{promedio})$$

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum x^2}{N} - M^2} \quad (\text{desviación standard})$$

$$E. S. = \frac{\delta}{\sqrt{n}} \quad (\text{error standard})$$

$$\text{Indice de significación} = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{\delta_1^2}{N_1} + \frac{\delta_2^2}{N_2}}}$$

Coefficiente de Correlación (r)

$$r = \sqrt{\frac{a\sum y + b\sum XY - \frac{(\sum Y)^2}{N}}{\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{N}}}$$

$$t = \sqrt{\frac{r^2 (N - 2)}{1 - r^2}}$$

p se calculó según las tablas de Croxton. (12).

METODO COLORIMETRICO DE LA TRANSAMINASA GLUTAMICO-OXALACETICA EN SUERO.— (13)

Una vez obtenida la sangre problema, se separa el suero y:

- 1.—Agregar 0.5 c.c. de suero y 0.5 c.c. de agua dest. en dos tubos de ensayo.
- 2.—Al tiempo cero agregar en ambos tubos 0.5 c.c. de reactivos aspártico cetoglutárico (el sustrato de la enzima).
- 3.—Inmediatamente después de la adición del reactivo aspártico cetoglutárico, colocar una gota de solución de ácido tricloro acético al 100% y una gota de citrato de anilina en tubo que sirve de blank.
- 4.—Incubar 20 min. a la temperatura del laboratorio y agregar al final de este lapso, una gota de tricloro acético y una gota de citrato de anilina al tubo donde se medirá la transaminasa sérica glutámico-oxalacética.
- 5.—Agitar los tubos y dejar reposar 20 minutos.
- 6.—Agregar 0.5 c.c. de reactivo de 2,4, dinitro-fenil-hidrazina en ambos tubos, mezclar bien y dejar reposar 5 minutos.
- 7.—Agregar 2 c.c. de tolueno en ambos tubos, agitar vigorosamente y centrifugar 5 min. a 1500 rev. por min.
- 8.—Remover 1 c.c. de tolueno y colocar en cubetas de espectofotómetro.
- 9.—Agregar 3 c.c. de solución alcohólica de KOH a cada tubo y mezclar el contenido.
- 10.—Medir la transmitancia a 490 m μ con el blank ajustado a 100%.
El espectofotómetro se estandariza con soluciones de pirúvico de 1 a 500 μ g.

Una unidad de T.S.G.O. se define como la actividad de 1.0 c.c. de suero que resulta en la formación de material cromogénico equivalente a 1 μ g de piruvato en las condiciones prefijadas (20' a 26'); una unidad colorimétrica es equivalente aproximadamente a una unidad de T.S.G.O., medida espectofotométrica.

Curva de calibración para el pirúvico.

$$V = 5 \text{ c.c.}$$

$$P = 5.54496 \quad D = \frac{P}{V}$$

$$D = 5.54496 \quad D = 1.10899$$

5 c.c.

$$1 \text{ c.c.} = 1.10899$$

$$\text{Sol. St. I} \left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ c.c.} - 100 \text{ c.c. H}_2\text{O} \\ 1.1 \text{ gr.} - 100 \text{ c.c.} \therefore 1 \text{ c.c.} = 0.10 \text{ g} = 1 \text{ mg.} \end{array} \right.$$

$$\text{Sol. St. II} \left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ c.c. I} - 10 \text{ c.c. H}_2\text{O} \\ 11 \text{ mg.} - 10 \text{ c.c. H}_2\text{O} \therefore 1 \text{ c.c.} = 1.1 \text{ mg.} \end{array} \right.$$

$$\text{Sol. St. III} \left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ c.c. II} - 100 \text{ c.c.} \\ 1 \text{ c.c.} = 0.00110 \text{ mg} = 110 \text{ mgr.} \\ \quad .1 \text{ c.c.} = 11 \text{ mgr.} \end{array} \right.$$

PREPARACION DE ENDOTOXINAS (11).

Se utilizó la técnica de Lewis y Thomas en la que efectúa la cosecha de la *Salmonella typhi-murium* cultivada en frascos de gelosa-agar al 2% y después de 3 extracciones acetónicas se deseca al vacío; las dosis utilizadas se refirieron a esa base ponderal.

— CUADRO I —

| NORMALES | AYUNO (18 HORAS) |
|--|--|
| TGO hepática | TGO hepática |
| 50 | 78 |
| 61 | 133 |
| 59 | 168 |
| 79 | 170 |
| 57 | 154 |
| 53 | 149 |
| 65 | 155 |
| 57 | 152 |
| $\Sigma = 522$ $\bar{x} = 58$ $s^2 = 1088$ | $\Sigma = 1219$ $\bar{x} = 135$ $s^2 = 1045$ |

— CUADRO II —

Transaminasa glutámico --- oxalacética.

Sérica (1)

Hepática (2)

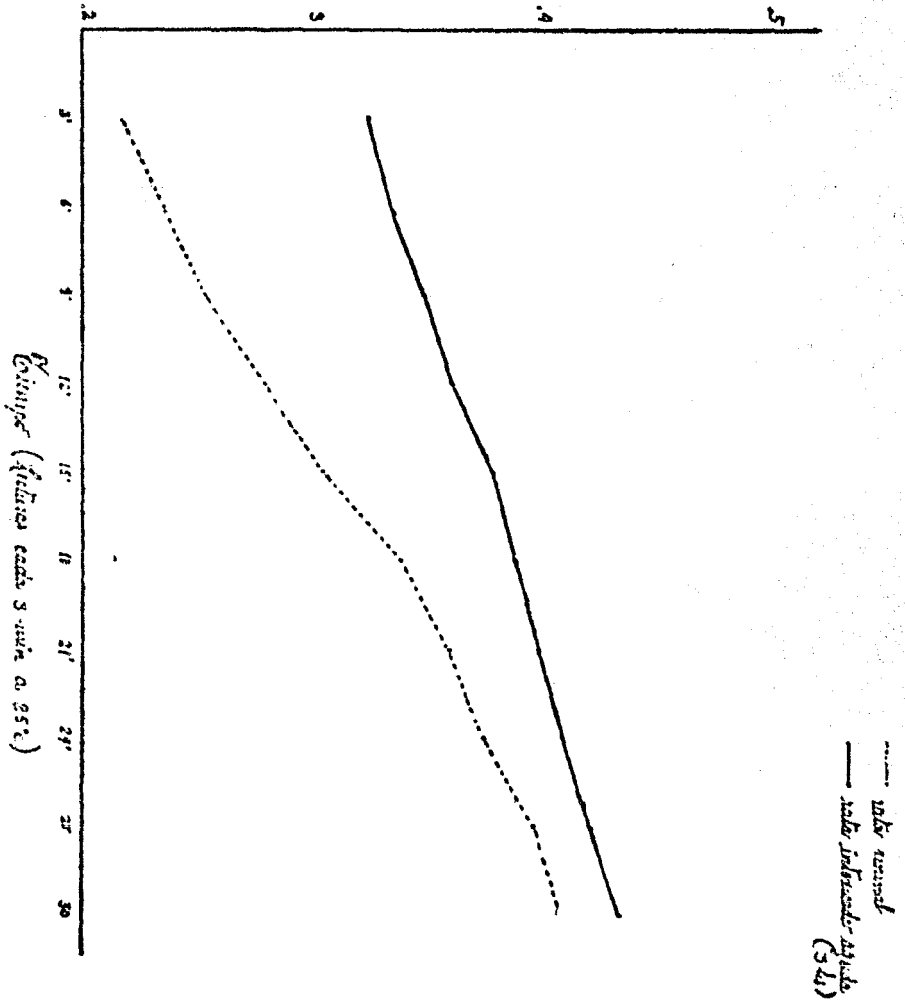
| Ratas | M: | N: | S: | E.S.: | M: | N: | S: | E.S.: |
|-----------------------------|------|----|------|-------|------|----|------|-------|
| Normales | 49.5 | 10 | 10.3 | 10.56 | 26 | 34 | 21.2 | 13.24 |
| aguda (3) | 69.5 | 11 | 18.2 | 30.18 | 26.6 | 13 | 23.3 | 44.80 |
| Intoxicación crónica (4) | 50.0 | 11 | 12.1 | 13.45 | 73.3 | 16 | 19.1 | 22.87 |

- (1) Unidades/ml de suero (Cataud, Leeper y Wroblewska) (12)
- (2) Q Transaminación a 27° C., y muestra con 0.5 mg. de proteínas/ml. (Cohen 11).
- (3) 10 mg. de endotoxina cruda de *Salmonella typhi* - mucosa intra-peritoneal; sacrificio 3 horas después.
- (4) 2 mg. de endotoxina cruda de *Salmonella typhi* - mucosa intra-peritoneal; sacrificio 18 horas después.

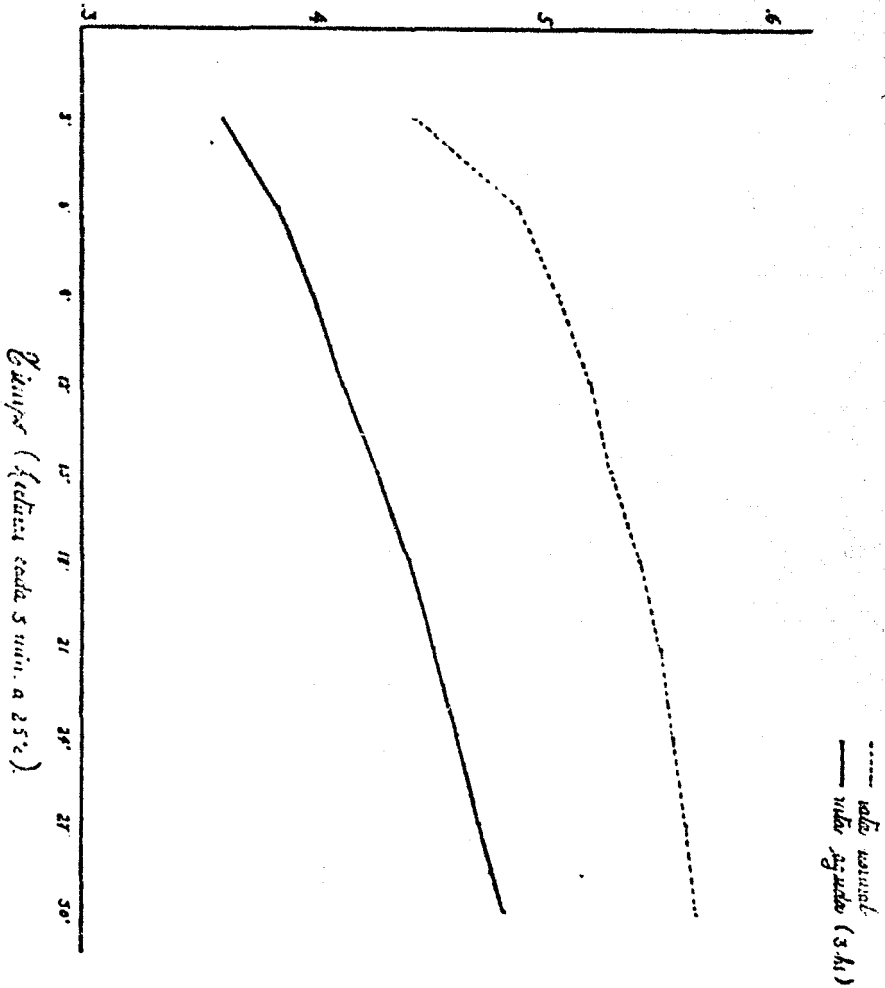
— CUADRO III —

| Normales | | | Agudas | | | Crónicas | | | |
|----------|----------|--------------|-----------------------------|--------------|----------|------------------------------|--------------|--------|----------|
| | | | 10 mg. Sacrificio 3 a 4 hs. | | | 2 mg. Sacrificio 18 a 20 hs. | | | |
| Arginasa | | Transaminasa | Arginasa | Transaminasa | | Arginasa | Transaminasa | | |
| Hepática | Hepática | Sérica | Hepática | Sérica | Hepática | Sérica | Hepática | Sérica | Hepática |
| 0.534 | 65.3 | 2.20 | 0.438 | 61 | 118 | 2.90 | 0.410 | 44 | 57.0 |
| 0.575 | 79.4 | 0.88 | 0.527 | 48 | 97.8 | 2.32 | 0.585 | 42 | 77.6 |
| 0.398 | 87.3 | 3.08 | 0.492 | 44 | 53.1 | 2.50 | 0.515 | 54 | 69.8 |
| 0.377 | 53.0 | 2.65 | 0.399 | 48 | 86.8 | 2.42 | 0.480 | 50 | 50.2 |

Densidad Optica

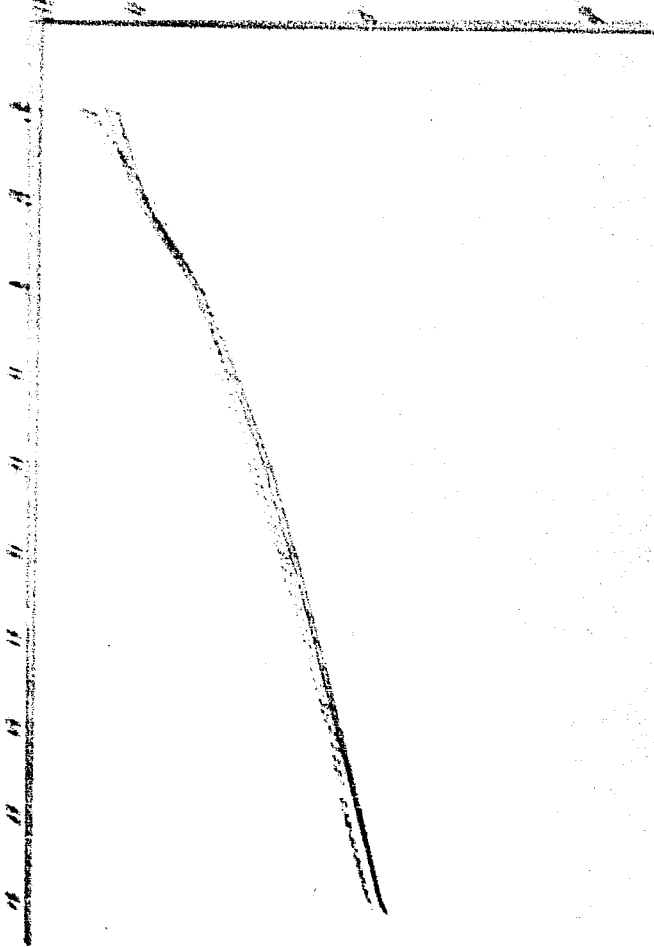


Densidad Óptica



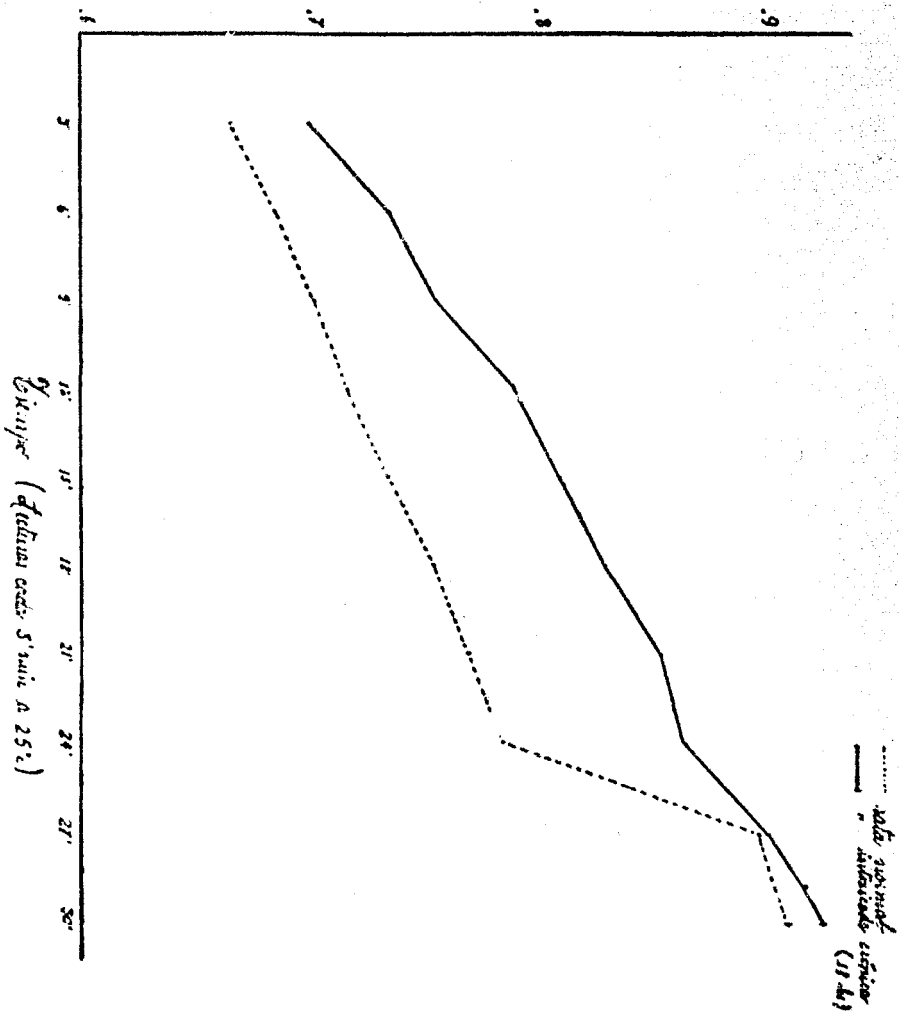
Quemada Extra

Range (fisher side 2000 x 2000)

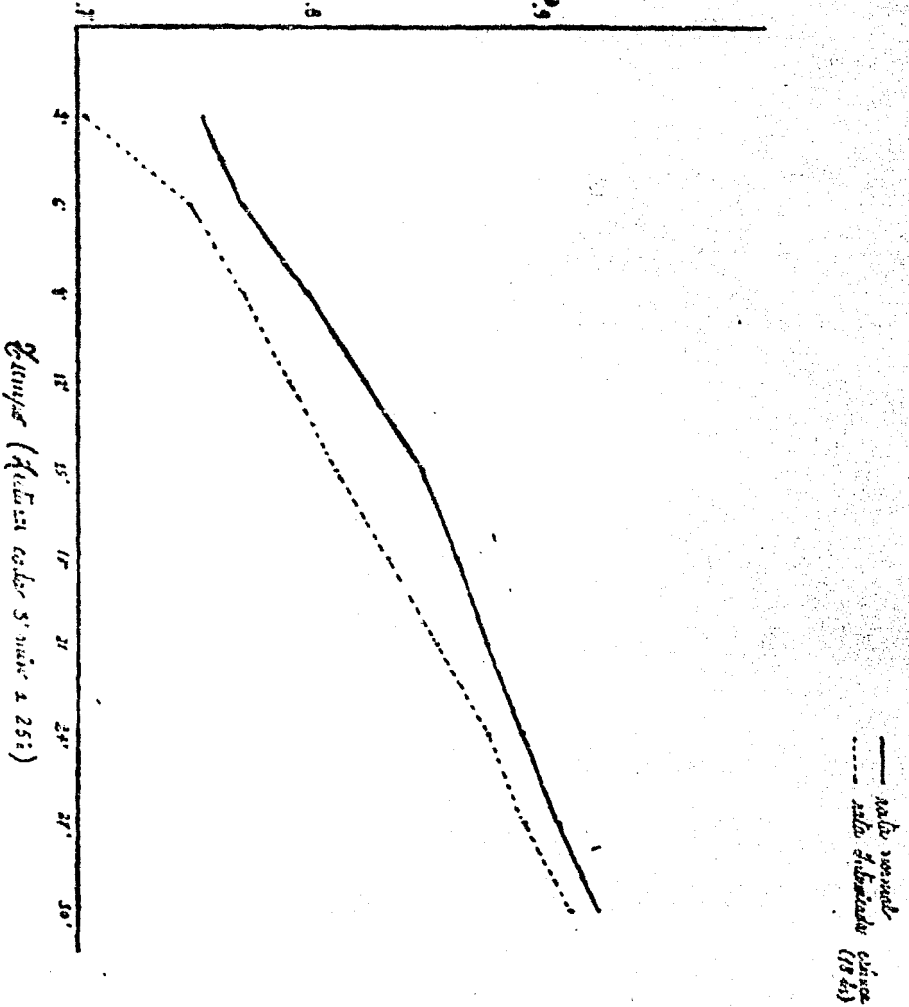


*John ...
...*

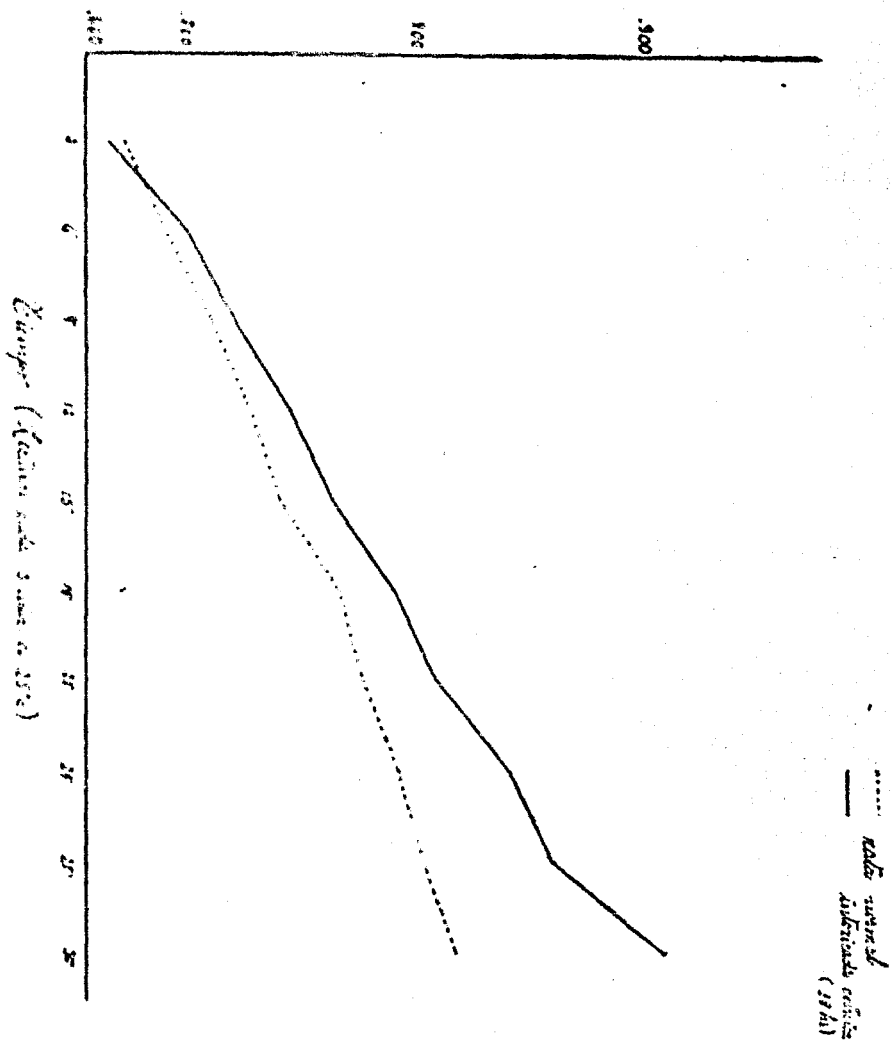
Opicidad



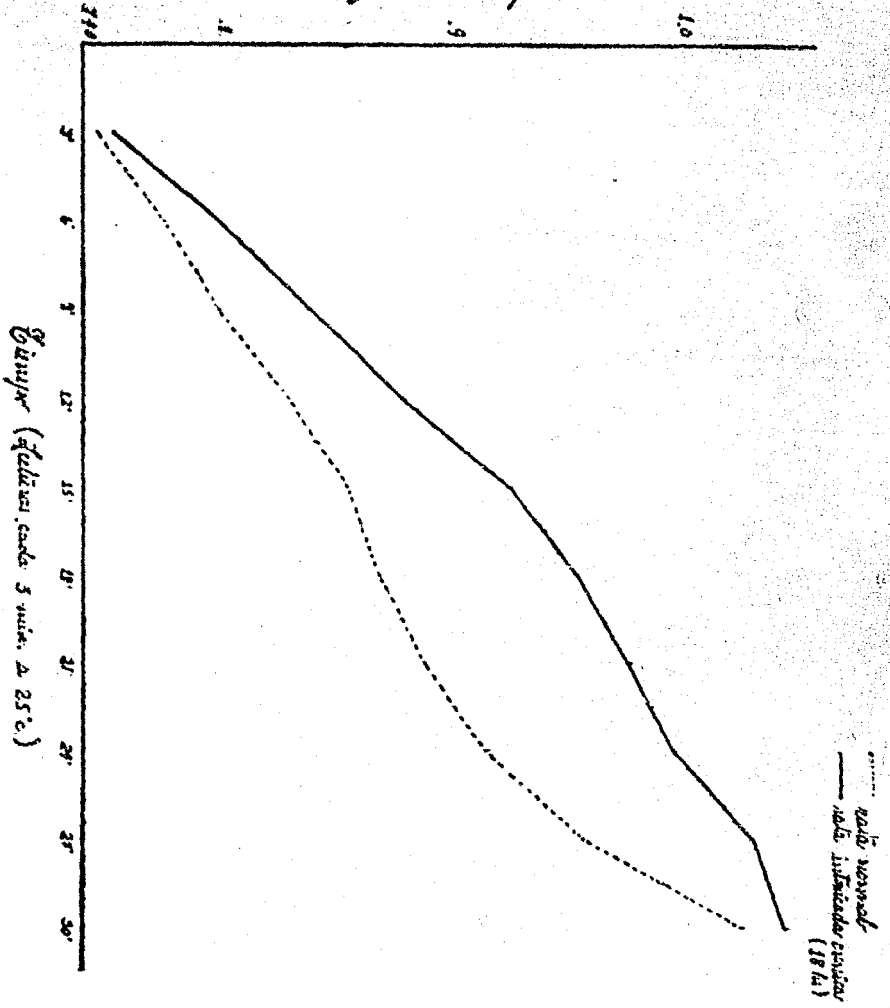
Densidad Esférica.



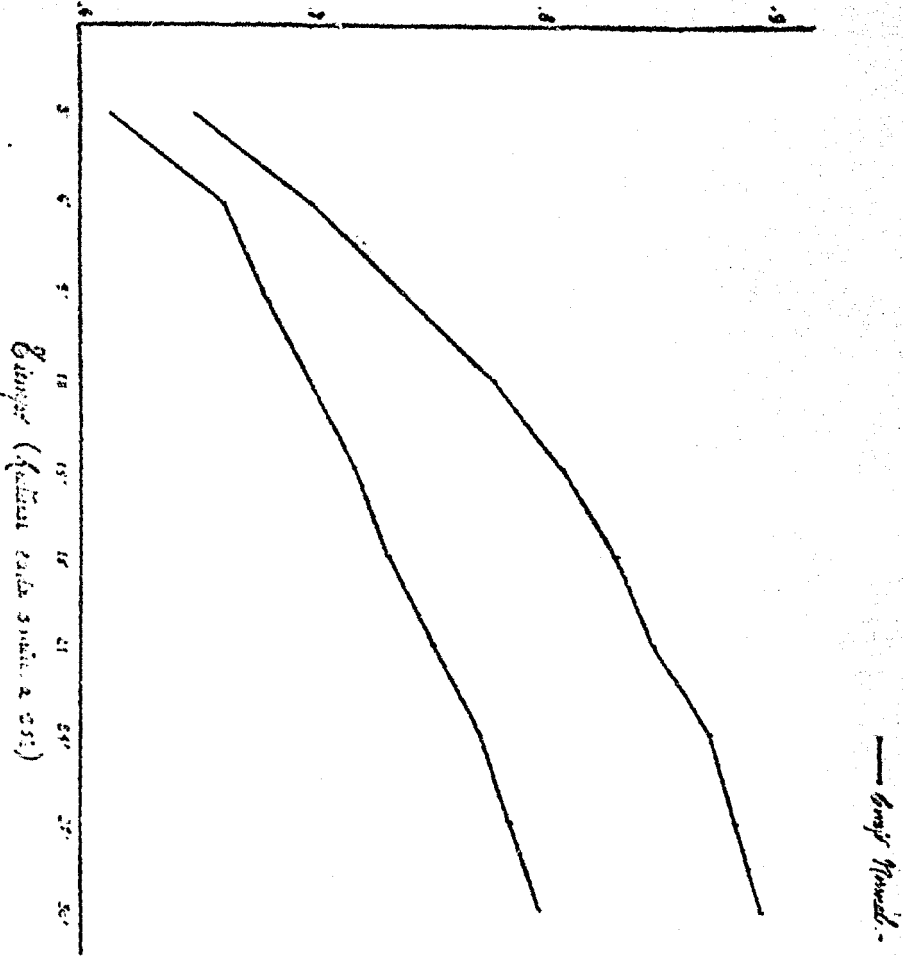
Dental Optics



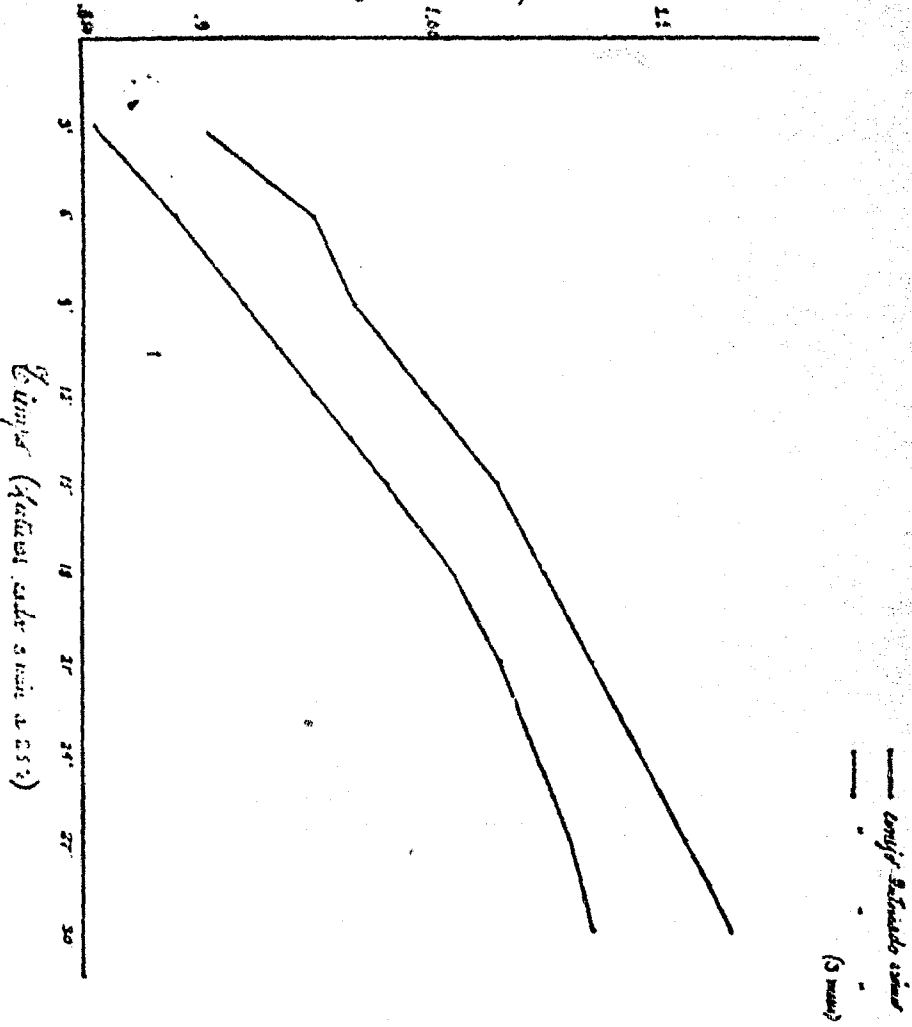
Densidad Óptica



Denitid Optics



Densidad Optica:



— DISCUSION —

Los resultados expresados en las tablas anteriores señalan que la intoxicación de las ratas con antígenos crudos de *Salmonella typhi-murium* produce un aumento de las transaminasas glutámico-oxalacéticas en el suero que se hace manifiesto en las primeras horas de la intoxicación ya que la diferencia de los valores promedio 69.5 unidades colorimétricas en el periodo agudo contra 49.5 en los controles es significativo; la comparación en el periodo crónico revela cifras prácticamente iguales (50 contra 49.5); la naturaleza transitoria de este aumento (menos de 18 horas) está acorde con lo encontrado para arginasa sérica (7) en condiciones similares de toxemia y puede explicarse como índice de una necrosis focal discreta de hígado que rápidamente se controla por los mecanismos de limpieza del retículo endotelio; es preciso tomar en cuenta también que la dosis de ataque en los animales del grupo considerado como intoxicación aguda fué 3 veces mayor que la empleada para el grupo de ataque crónico.

Estudios simultáneos de arginasa y transaminasa han mostrado una asociación directa entre ambos sistemas enzimáticos ante una agresión por endotoxinas lo que señala un origen para ambos; los estudios de distribución enzimática enseñan que la única estructura orgánica que los posee en cantidades apreciables es la célula parenquimatosa del hígado. (15).

Conviene señalar que los aumentos séricos encontrados en plena intoxicación aguda no son de la magnitud relatada en presencia de condiciones de necrosis extensas del hígado; vgr. hepatitis infecciosa

(16) o hepatitis tóxica (17) y está acorde con los reportes patológicos de Goodspasture (18) y otros (19) acerca de la extensión de las necrosis focales hepáticas en tifoidea y otras salmonelosis.

Los hallazgos de la actividad hepática demuestran que no hay alteraciones en las primeras horas de la intoxicación ya que el Q de trasaminación permanece dentro de los límites normales de variación; el estudio en tejido hepático de ratas con 18 horas de intoxicación muestra una disminución significativa con respecto a las normales o a las sacrificadas 3 horas después de su intoxicación.

Estos resultados combinados con los obtenidos en suero pueden integrarse en la secuencia: la agresión de las endotoxinas producen una necrosis focal discreta en parénquima hepática que se manifiesta por la salida inmediata a la circulación sistémica de diversos componentes enzimáticos (transaminasa glutámico-oxalacética entre otros) y su elevación consiguiente en los niveles séricos; sin embargo la magnitud de ese escape no alcanza a manifestarse por una disminución en el contenido enzimático de la célula hepática; si el animal resiste y se recupera de ese "stress" las células del reticulo-endotelio limpian las zonas necróticas se restablece la integridad de las células dañadas y disminuyen hasta normalizarse los niveles séricos de la transaminasa en estudio pero no la fuga continuada de enzimas durante el período previo, probablemente a través de riñón, tal como se ha reportado para desoxiribonucleasas (20) y arginasa (7), llega a disminuir los niveles hepáticos hasta cifras significativas.

Ya que los animales intoxicados no ingieren alimento durante el período posterior a la administración de la endotoxina, analizamos el efecto de un período de ayuno adicional sobre las actividades enzimáticas; el cuadro revela que hay tendencia a elevar la actividad transaminica con respecto al control previo lo que hace más significativa la tendencia a la disminución observada en el período de intoxicación crónica.

La interpretación bioquímica de los hallazgos de intoxicación son exclusivamente de un defecto morfológico de la membrana de los hepatocitos afectados y la tendencia hacia un aumento durante el ayuno indica —probablemente un fenómeno compensatorio del hi-

modo para suplir la deficiencia glicogénica mediante un aumento de los estímulos que pasan anabólicos a catabólicos del ciclo metabólico común, en el caso presente se genera dicho estímulo a partir de angiotensina y la desaparición de glicógeno se compensa por la actividad de la deshidrogenasa glicolítica.

— RESUMEN Y CONCLUSIONES —

- I.—Se estudio la transaminasa glutámico-oxalacética de suero e hígado en ratas normales e intoxicadas con antígenos crudos de *Salmonella typhi-murium*.
- II.—Se encontró un aumento en los niveles séricos durante las fases iniciales de la intoxicación con normalización al cabo de 18 horas.
- III.—La actividad hepática permanece sin alteración en los primeros momentos (3 primeras horas) con tendencia a disminuir al cabo de 18 horas.
- IV.—El ayuno tiene efecto discreto a elevar la actividad transaminante hepática.
- V.—Se sugiere que las alteraciones metabólicas encontradas son el resultado de necrosis celulares hepáticas y mecanismos compensadores para alimentar el ciclo metabólico común.

— R E F E R E N C I A S —

- 1).—Braunstein, A. E., y Kritzman, M. G., *Nature*. **140**: 503 (1937).
- 2).—Melster, A., "Advance in Enzimology", Vol. XVI. Nueva York. Academic Press Inc. 1955.
- 3).—Cohen, P. P., y Cammarata, P. S., *J. Biol. Chem.* **187**: 439 (1950).
- 4).—Kun, E., y Miller, C. P., *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* **67**: 220 (1948).
- 5).—Kun, E., *Ibid.* **68**: 496 (1948).
- 6).—Kun, E., y Abood, L. G., *Ibid.* **71**: 362 (1949).
- 7).—Kumate, J. *Gac. med. México*. **87**: 511 (1957).
- 8).—Bruns, F., y Puls, W. *Klin. Wschr.* **32**: 656 (1954).
- 9).—La Due, J. S., Wroblewski, F., y Karmen, A. *Science*. **120**: 497 (1954).
- 10).—Weichselbaum, T. E., *Am. J. Clin. Path.* **16**: 40 (1946).
- 11).—Cohen, P. P., "Methods in Enzimology". Vol. II. Nueva York. Academic Press Inc. 1955.
- 12).—Croxtton, F. E., "Elementary statistics with applications in Medicine". Nueva York, Prentice - Hall Inc. 1953.
- 13).—Cabaud, P., Leeper, R., y Wroblewski, F., *Am. J. Clin. Path* **26**: 1101 (1956).
- 14).—Thomas, L., y Good, R. A., *J. Exp. Med.* **90**: 605 (1952).
- 15).—Folley, S. J., y Greenbaum, A. L. *Biochem. J.* **40**: 46 (1946).

- 16).—Wroblewski, F., y La Due, J. S. *J. Lab. & Clin. Med.* 44: 958 (1954).
- 17).—Molander, D. W., Wroblewski, F., y La Due, J. S. *J. Lab. & Clin. Med.* 46: 831 (1955).
- 18).—Goodpasture, E. W., *Am. J. Path.* 13: 175 (1937).
- 19).—Fujimaki, S., y Hasekawa, K. *Acta Path. Jap.* 2: 65 (1952).
- 20).—Kowlessar, O. D., Altman, K. I., y Hempelmann, L. H., *Arch. Biochem. & Biophys.* 52: 362 (1955).