

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**MODIFICACIONES DE LA ACTIVIDAD CATALASICA
EN MITOCONDRIAS HEPATICAS POR EFECTO DE DOSIS
TOXICAS DE L-3,3,5, TRIIODOTIRONINA
Y POR LA ADMINISTRACION DE 6-PROPII-2-TIOURACILO**

ROBERTO LLAMAS *

Se ha demostrado que la aplicación de rayos X, así como la irradiación con cobalto 60 o la administración de elementos radiactivos con gran afinidad por el hígado como el Au 198, producen daño hepático con elevación de las actividades transaminásicas en el suero sanguíneo, desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial y elevación de la actividad catalásica en la sangre. Las hormonas tiroideas, a dosis tóxicas, ejercen efectos lesivos semejantes, sobre el hígado, que se traducen, a su vez, por aumento de las actividades transaminásicas, desacoplamiento de la fosforilación oxidativa e inhibición de la biosíntesis de proteínas. En el hipertiroidismo humano es común la aparición de manifestaciones bioquímicas y clínicas de insuficiencia hepática. La similitud de estos efectos nos hizo estudiar la acción que las dosis tóxicas de triiodotironina y el propiltiouracilo pudieran ejercer sobre la actividad catalásica de mitocondrias hepáticas del ratón.

La catalasa es una enzima que se encuentra presente en casi todas las células vegetales y animales; sus más importantes

* Académico titular. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.

funciones son las de descomponer el peróxido de hidrógeno, sustancia citotóxica, y la de oxidar diversos sustratos como alcoholes, entre ellos el etílico, ácidos orgánicos y compuestos de naturaleza fenólica.

La administración intraperitoneal de la hormona (500 microgramos) a ratones blancos de 20 a 30 g. de peso, no modificó la actividad catalásica a la hora, dos horas o 24 horas después. Dos y tres dosis de la misma magnitud, una cada 24 horas, abaten la actividad enzimática del 100 al 61 por ciento a las 48 y 72 horas respectivamente de la primera aplicación. Puede aceptarse que las concentraciones tóxicas de L-triiodotironina originan, muy probablemente, algún déficit en las funciones propias de la catalasa hepática. La administración bucal de propiltiouracilo, inhibidor de la síntesis hormonal en la glándula tiroidea, produjo ligero aumento de la actividad de esa enzima.

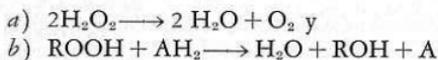
Las hormonas tiroideas, tiroxina y triiodotironina, en concentraciones tóxicas, hacen aparecer, en el animal de experimentación, manifestaciones de sufrimiento hepático y otro tanto acontece en el hipertiroidismo humano: se eleva la actividad de las transaminasas glutámico-oxalacética y glutámico-pirúvica en la sangre,¹ se compromete la normalidad estructural y funcional de las mitocondrias con desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y se inducen acciones de índole catabólica que interfieren con la biosíntesis de proteínas.²

En padecimientos parenquimatosos del hígado y del riñón se eleva la actividad catalásica del suero sanguíneo y esta elevación persiste aún después de que se han normalizado las actividades transaminásicas cuando la enfermedad declina.³ Por lo contrario, la irradiación con rayos X⁴ o con cobalto 60,⁵ así como la administración de radioisótopos con gran afinidad por el hígado, como el Au 198,⁶ hacen descender la actividad catalásica del suero sanguíneo y el descenso se correlaciona con el grado del daño hepático producido

y con las alteraciones en la relación normal albúminas-globulinas del plasma y al mismo tiempo se perturba la fosforilación oxidativa mitocondrial. La disminución de la actividad catalásica producida por las radiaciones se debe al abatimiento en la síntesis de las porfirinas y del hem.⁴

En vista de lo anteriormente señalado, nos ha parecido interesante estudiar el comportamiento de la actividad catalásica en la fracción mitocondrial de homogeneizados de hígado de ratones sometidos a la administración de dosis tóxicas de L-triiodotironina y de otros que recibieron propiltiouracilo por vía bucal.

La catalasa (H_2O_2 oxirreductasa EC 1.11.1.6) es una enzima que se encuentra prácticamente en todas las células vegetales y animales. Cataliza las siguientes reacciones:⁷



Sus funciones son, por lo tanto, las de descomponer el peróxido de hidrógeno, sustancia citotóxica, en agua y oxígeno

molecular dotado de muy poca actividad oxidante, y la de oxidar diversos sustratos (AH_2 a A) como alcoholes, entre ellos el etílico, ácidos orgánicos como el fórmico y cuerpos de estructura fenólica. Se sintetiza en los ribosomas⁸ y es un integrante común de las partículas subcelulares u organelos llamados peroxisomas, en células tanto animales como vegetales.^{9, 10} En los homogeneizados totales de hígado se le encuentra en dos formas, una libre y otra combinada con lípidos.¹¹

La capacidad para formar peróxido de hidrógeno está bien demostrada en los tejidos animales; su formación en los microsomas hepáticos en presencia de un sistema generador de NADP H, ha sido señalado.¹² En la glándula tiroidea se genera peróxido de hidrógeno microsomal.¹³ Por lo que se refiere a la oxidación del etanol a ácido acético, ésta parece proceder a través de la generación tanto de peróxido de hidrógeno como de catalasa en presencia de NADP H y de O_2 .¹⁴ y esta oxidación microsomal se abate considerablemente mediante inhibidores de la actividad catalásica. La oxidación del etanol por la catalasa hepática ha sido llamada, debido a las modalidades que la caracterizan, "peroxidásica".¹⁵

Otra función, al parecer importante, de esta enzima, es la de proteger la actividad de la tirosina hidroxilasa en la medula suprarrenal y favorecer, por lo tanto, la síntesis de catecolaminas.¹⁶

Material y métodos

Se utilizaron ratones blancos machos de 20 a 30 g. de peso, procedentes de la granja del Instituto de Biología (U.N.A.M.). Se les alimentó con purina y agua natural, *ad libitum* y se les dividió en los siguientes

grupos: 1o. Ratones normales a los que se inyectó, por vía intraperitoneal, 0.1 ml. de agua destilada ligeramente alcalinizada con NaOH. Este grupo es el de los animales testigo. 2o. Ratones que recibieron una sola aplicación intraperitoneal de 500 microgramos de L-triiodotironina (Sigma Chem. Co.) disuelta en 0.1 ml. de agua destilada ligeramente alcalinizada con NaOH para facilitar la solubilidad de la hormona y que fueron estudiados una hora más tarde. 3o. Los que recibieron la misma dosis de hormona y fueron estudiados dos horas después. 4o. Ratones estudiados 24 horas después de haber recibido similar aplicación de la hormona. 5o. Ratones que fueron inyectados dos veces, una cada 24 horas, y estudiados 48 horas después de haber recibido la primera inyección. 6o. Ratones inyectados tres veces, una cada 24 horas y estudiados a las 72 horas de haber recibido la primera aplicación. 7o. Ratones alimentados durante 25 días con purina en polvo a la que se mezcló propiltiouracilo (Sigma Chem. Co.) en proporción de un miligramo por gramo de alimento.

La separación de la fracción¹⁷ mitocondrial se hizo por el procedimiento de Schneider y Hogeboom. La determinación de la actividad catalásica, por el descrito por Luck,⁷ que consiste esencialmente en medir la absorbencia, entre 230 y 250 manómetro, de una preparación de peróxido de hidrógeno en buffer de fosfatos a pH neutro, antes y después de agregarle el material enzimático. La disminución de los valores de absorbencia, hasta un límite previamente fijado, dado por la descomposición del peróxido y en relación con el tiempo necesario para que esto ocurra y no más allá de 60 segundos, permite apreciar la actividad enzimática y expresarla

Cuadro 1 Unidades de actividad por miligramo de proteínas mitocondriales

	Animales normales (8)	Una hora después (8)	Animales normales (8)	Dos horas después (8)	Animales normales (8)	Veinticuatro horas después (8)
	3.8	3.8 U	4.2 U	3.9 U	4.0 U	3.8 U
	4.0	3.7	3.8	3.8	3.8	3.8
	4.2	4.8	3.7	3.7	3.9	3.7
	3.7	3.8	3.6	3.7	3.8	3.9
	4.2	4.0	4.2	3.8	4.0	3.8
	3.8	4.2	3.9	3.9	4.2	4.2
	4.2	3.8	4.0	3.9	3.8	3.9
	3.9	4.0	4.2	3.8	4.2	3.8
Promedio	3.98	3.93	3.80	3.80	3.96	3.86
Desv. Est.	± 0.210	± 0.240	± 0.270	± 0.130	± 0.170	± 0.150
Error Est.	± 0.075	± 0.097	± 0.050		± 0.060	± 0.053
Actividad	100%	98.75%	100%	96%	100%	94.47%

de acuerdo con diversos parámetros. En este estudio la actividad se expresa en unidades por miligramos de proteína mitocondrial, determinada por el procedimiento del biuret.¹⁸

Resultados

Los efectos de la aplicación intraperitoneal de 500 microgramos de L-triiodotironina sobre la actividad catalásica de las mitocondrias hepáticas de ratones machos de 20 a 30 g. de peso pueden apreciarse en el cuadro 1.

Puede observarse que la aplicación de 500 microgramos de L-triiodotironina no produjo cambios en la actividad catalásica a la hora, dos horas y veinticuatro horas después de ser inyectada por vía intraperitoneal.

Por lo contrario, dos dosis de la misma magnitud, una cada 24 horas, y tres, una cada 24 horas a su vez, originaron descenso de la actividad enzimática a las 48 y 72 horas después de la primera aplica-

ción, respectivamente, como se nota en el cuadro 2.

La ingestión de propiltiouracilo durante 25 días, mezclado a la purina en proporción de un miligramo de la droga por gramo del nutriente, originó aumento muy moderado de la actividad catalásica, tal como se expresa en el cuadro siguiente.

Discusión

Dosis tóxicas de hormonas tiroideas, tiroxina y triiodotironina, hacen aparecer cambios metabólicos de predominio catabólico en el hígado, entre otros, la elevación de su actividad proteolítica a pH ácido y el abatimiento de la actividad neutra (Llamas y col.)¹⁹ Los efectos catabólicos se acompañan de desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial, al tiempo que aparecen modificaciones estructurales y funcionales de esas partículas subcelulares, cuya turgencia aumenta, y se modifica la permeabilidad de sus membranas. Estas concentraciones tóxicas,

Cuadro 2 Unidades de actividad por miligramo de proteínas mitocondriales

	Animales normales (8)	Dos aplicaciones una cada 24 horas (8)	Animales normales (8)	Tres aplicaciones una cada 24 horas (8)
	4.0 U	2.4 U	3.8 U	2.1 U
	3.9	2.4	3.7	2.4
	4.0	2.8	3.9	2.8
	3.8	2.1	4.2	2.9
	3.8	2.1	4.0	2.4
	3.8	2.3	3.9	2.1
	4.2	2.8	4.2	2.4
	3.9	2.7	3.9	2.3
Promedio	3.92	2.45	3.95	2.42
Desv. Est.	± 0.129	± 0.269	± 0.165	± 0.272
Error Est.	± 0.049	± 0.101	± 0.062	± 0.103
Actividad	100%	62.50%	100%	61.05%

a pesar de sus efectos inhibitorios sobre la biosíntesis de proteínas, elevan la actividad de enzimas relacionadas con la degradación metabólica de los hidratos de carbono^{20, 21, 22} y de los aminoácidos;²³ aumenta, además, la actividad transaminá-

Cuadro 3 Unidades de actividad enzimática por miligramo de proteína mitocondrial

	Animales normales (8)	Tiouracilo (8)
	4.2 U	5.2 U
	3.8	5.2
	4.0	4.20
	3.7	5.0
	4.0	4.8
	4.2	5.0
	4.1	3.9
	3.9	4.8
Promedio	3.99	4.70
Desv. Est.	± 0.180	± 0.474
Error Est.	± 0.064	± 0.170
Actividad	100%	117.80%

sica en el suero sanguíneo, lo que es un índice de sus efectos lesivos sobre el parénquima hepático. Otro tipo de enzimas, no relacionadas con la degradación metabólica de los hidratos de carbono o de las proteínas, disminuyen por lo contrario, y entre ellas se encuentran las llamadas metabolizantes de drogas (Kato y Takahashi).²⁴ Es importante señalar, en relación con este trabajo, que la deshidrogenasa alcohólica del hígado disminuye su actividad en la rata hipertiroidea y se eleva cuando los animales reciben propiltiouracilo al mismo tiempo que se abate la síntesis hormonal en el tiroides.²⁵ Por todo lo anterior, y además por el hecho de que, según Tata,² la actividad de las enzimas relacionadas con la oxidación del NADP aumenta en el hipertiroidismo crónico, se estudió la actividad catalásica en las mitocondrias de tejido hepático de ratones sometidos a la acción de dosis tóxicas de L-triiodotironina y de un inhibidor de la síntesis de las hormonas tiroideas, o sea el propiltiouracilo.

A pesar de que la triiodotironina ejerce sus efectos fisiológicos en forma rápida, cuando se le estudia en otros parámetros, su acción depresora sobre la actividad catalásica se manifiesta hasta las 48 horas de iniciada la aplicación de la hormona, es decir, después de que los animales recibieron dos inyecciones, una cada 24 horas, de 500 microgramos de esta sustancia. El efecto depresor que se apreció igualmente en los ratones que recibieron tres dosis de la hormona, una cada 24 horas y que fueron estudiados 72 horas después de iniciado el tratamiento. Una sola aplicación de 500 microgramos de la hormona, no demostró ejercer modificación alguna sobre la actividad enzimática tanto a la hora como a las dos horas después de efectuada.

Estos resultados permiten aceptar que las concentraciones tóxicas de L-triiodotironina originan algún déficit en las funciones catalásicas, y que tanto la descomposición del peróxido de hidrógeno como la oxidación de sustancias de estructura alcohólica y fenólica, se encuentran comprometidas.

El discreto aumento de la actividad catalásica observado en los animales que recibieron durante 25 días propiltiouracilo por vía bucal, puede interpretarse como la contraprueba del efecto depresor de las concentraciones tóxicas de la hormona, en forma análoga a lo señalado para la deshidrogenasa alcohólica. Otro comportamiento similar es el de la anhidrasa carbónica, cuya actividad disminuye por efecto de las hormonas tiroideas y aumenta por el propiltiouracilo.²⁶

REFERENCIAS

1. Smejkalova-Prazakova, E. y Smejkal, V.: *Die aktivitat der glutaminoxalazetat und glutamin-*

pyruvat transaminasen in serum und in leukoziten von patienten mit hyper und hypothyreosen, sowie die wirkung des thyroxins auf die aktivitat der glutaminoxalazetat transaminase in vitro. Endokrinologie (Praga). 50:62, 1966.

2. Tata, J. R.: *Biological actions of thyroid hormones at the cellular and molecular levels.* En: *Actions of hormones on molecular processes.* Glitwack, A. y Kritchewsky, D. (Eds.). Nueva York, John Wiley and Sons. 1964, p. 58.
3. Giannitsis, D. J.; Panagopoulos, D. A.; Timmerman, A.; Kallistratos, G. y Panagopoulos, K. A.: *Katalas des serums bei verschiedenen pathologischen Zuständen des Menschen.* Enzymologia. 42:335, 1972.
4. Furuya, S. A.: *Studies on the effects of total body irradiation on heme synthesis in the liver cell.* Kitakanto Med. J. 19:281, 1969.
5. Kostromskaya, V. A.: *Radiation induced changes in the oxidative phosphorylation and catalase activity of some invertebrates.* Radiobiologiya. 12:437, 1972.
6. Olinescu, R. y Cotae, M.: *Changes of blood catalase activity following administration of some radioisotopes for diagnostic purposes.* Rev. Roum. Med. Interne. 9:311, 1972.
7. Luck, H.: *Methods of enzymatic analysis.* 2a. ed. Hans-Ulrich Bergmeyer (Ed.). Nueva York, Londres. Academic Press, 1965, pág. 885.
8. Higashi, T.; Kudo, H. y Kashiwagi, K.: *Specific precipitation of catalase-synthesising ribosomes by anticatalase antiserum.* J. Biochem. (Tokio). 71:463, 1972.
9. Reddy, J. y Svodoba, D.: *Microbodies (peroxisomes) in the interstitial cells of rodent testes.* Lab. Invest. 26:657, 1972.
10. Tourte, M.: *Mise en evidence d'une activite catalasique dans les peroxisomes de Micraseria fimbriata (Ralfs).* Planta (Ber) 105: 50, 1972.
11. Davidova, S. Y.; Shapot, V. S. y Drozdova, G. A.: *On the heterogeneity of catalase in rat liver and experimental hepatomas of rats and mice.* Biochem. Biophys. Acta. 220:206, 1970.
12. Thurman, R. G.; Ley, H. G. y Scholz, R.: *Hepatic microsomal ethanol oxidation: hydrogen peroxide formation and the role of catalase.* Eur. J. Biochem. 25:420, 1972.
13. Ohtaki, S.; Mashimo, K. y Yamazaki, I.: *Hydrogen peroxide generation system in bog thyroid microsomes.* Biochem. Biophys. Acta. 292:825, 1973.
14. Carter, E. e Isselbacher, E.: *Hepatic microsomal ethanol oxidation: Mechanism and physiological significance.* Lab. Invest. 27:283, 1972.
15. Oshino, N.; Oshino, R. y Chance, B.: *The characteristics of the "peroxidatic" reaction of catalase in ethanol oxidation.* Biochem. J. 131:555, 1973.

16. Shiman, R.; Akino, M. y Kaufman, S.: *Solubilization and partial purification of tyrosine hydroxylase from bovine adrenal medulla*. J. Biol. Chem. 246:130, 1971.
17. Schneider, W. C. y Hogeboom, G.H.: *Cytochemical studies of mammalian tissues: the isolation of cell components by differential centrifugation*. Cancer Res. 11:1, 1951.
18. Gornall, A. G.; Bardawill, Ch. J. y David, M. M.: *Determination of serum proteins by means of the biuret reaction*. J. Biol. Chem. 177:751, 1949.
19. Llamas, R.; González Cerezo, H. y Laguna, G.: *Cambios en la actividad proteolítica del bígado producidos por la tiroidectomía y por la aplicación de cantidades fisiológicas y tóxicas de L-tiroxina*. GAC. MÉD. MÉX. 100:1027, 1970.
20. Tishler, P. V.: *Effects of thyroxine administration in vitro and in vivo on the succinoxidase and malic dehydrogenase reactions of frog myocardium*. Endocrinology. 72:673, 1963.
21. Kai-Lin, L. y Miller, O. N.: *Induction of mitochondrial L glycerophosphatase dehydrogenase by thyroid hormones. Effects of fasting and refeeding*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 123:679, 1966.
22. Freeland, R. A.: *Effects of thyroid hormones on metabolism. Effect of thyroxine and iodinated casein on liver enzyme activity*. Endocrinology. 79:19, 1965.
23. Rotsche, W.: *Aminotransferasen und thyreohormone*. Acta Biol. Med. Ger. 16:109, 1968.
24. Kato, R. y Takahashi, A.: *Thyroid hormone and activity of drug metabolizing enzymes and electron transport system of rat liver microsomes*. Mol. Pharmacol. 4:109, 1968.
25. Hillbond, M. E. y Pirkaraine, P. H.: *Liver alcohol and sorbitol dehydrogenase activity in hypo and hyperthyroid rats*. Biochem. Pharmacol. 19:2097, 1970.
26. Pinheiro, C. E.; Tarzia, O. y Mikio Taga, E.: *The influence of thyroid gland on carbonic anhydrase activity of mouse submandibular gland*. Rev. Bras. Pesqui. Med. Biol. 51:7, 1972.

DESCRIPCION DE UN PLEVIMETRO INTERNO

La pelvimetría interna instrumental, muy en voga en las épocas de Stein y Madame Bowin, está hoy relegada al olvido y casi no hay partero que la recomiende, y sin embargo, tiene sus aplicaciones netas y precisas.

Sin duda que para averiguar si una pelvis es estrecha ó no, conviene usar la pelvimetría digital interna, poco molesta para las enfermas y cómoda para el práctico, pero mide tan solo el diámetro conjugado inferior, que va del promontorio a la parte inferior de la sínfisis del pubis, cuando el interesante es el que va a la parte superior de la pelvis, o conjugado superior. Para conocer este diámetro se conviene en establecer una relación fija, de 1.5, entre el conjugado inferior y el superior. Desgraciadamente esta cifra es arbitraria y puede engañar.

Conviene por tanto conocer el conjugado inferior, la longitud de la sínfisis y el ángulo que forman entre sí estas dos líneas. Fundado en estas ideas, manifestaba á mis alumnos una figura que podía servir de modelo para la construcción de un plevímetro interno. La Sra. Paz A. de Dávalos recogió estos datos y procedió con la ayuda de su esposo, que es inteligente en esta clase de trabajos, á darle forma y han construido un plevímetro interno, cuyo modelo veis aquí . . . F. Zárraga: *Obstetricia; descripción de un plevímetro interno*. GAC. MÉD. MÉX. 33:8, 1896.