
LOS AMINOACIDOS LIBRES DEL CEREBRO DE LA RATA, DURANTE EL CHOQUE INSULINICO.

RENE O. CRAVIOTO, GUILLERMO
MASSIEU H. y J. JOAQUIN IZQUIERDO.
Departamento de Fisiología de la
Facultad de Medicina de la
Universidad Nacional Autónoma de
México.

Después de la administración de insulina a las ratas, en los extractos de sus cerebros hay ligera disminución del nitrógeno de los aminoácidos libres; más franca (23%) de ácido glutámico libre, y ninguna en los contenidos de glutamina y de amoniaco (6). Tales cambios se deben, según Davvson (6), a oxidación exclusiva del ácido glutámico, pero no de los demás aminoácidos, con formación de amoniaco, que sería metabolizado ulteriormente. Sin embargo, como desde luego se ocurre la posibilidad de que también puedan haber ocurrido cambios en otros aminoácidos, sobre todo en aquellos que es bien sabido que tienen relaciones metabólicas con el ácido glutámico, tales como el ácido aspártico en las reacciones de transaminación (3) y al ácido g-aminobutírico cuya formación en el cerebro recientemente se ha comprobado que puede resultar de la descarboxilación de aquél (2,8), los autores decidieron investigar tales cambios, y de los resultados obtenidos dan cuenta en el presente trabajo.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron 9 lotes de ratas blancas de la cepa de este Departamento, cada uno con 6-8 individuos, con pesos de 100-150 gramos. Las ratas de 7 de estos lotes, estuvieron en ayuno de 24 horas hasta el momento de los experimentos. A la mitad (A) de las de cada lote, se las tomó como testigos, sirviendo la otra (B) para inyectarlas intraperitonealmente, con 350 UI/k, de insulina ordinaria de Lilly. Las ratas de los otros dos lotes, sin previo ayuno, recibieron 60 UI/k de insulina. En todas las ratas se presentó el choque insulínico y algunas murieron a consecuencia del mismo. Unas cuatro horas después de inyectadas las ratas de los lotes 1-7, tanto las que no habían muerto por choque insulínico como las testigo, fueron sacrificadas por dislocación occípitoatloidea. Las ratas de los lotes 8 y 9 fueron sacrificadas dos horas después de inyectadas, o sea, en condiciones similares a las empleadas por Dawson (6).

A cada rata, inmediatamente después de sacrificada, se le extrajo el cerebro, cortándole los pedúnculos al raz del mismo. Los cerebros de las ratas de cada subgrupo, A o B, reunidos y homogeneizados con alcohol etílico al 80% en un mezclador Waring, proporcionaron suspensiones del tejido cerebral que sometidas al método de Awapara (1) dieron, en último término, el extracto de aminoácidos libre de prótidos y lípidos. A algunos de los extractos se les privó además, de sus sales, por electrodiálisis, en un aparato que tenemos construído sobre el principio del descrito por Consden y colaboradores (5).

Los extractos, después de concentrados diez veces por ebullición (con lo cual quedaban con 200-400 microgramos de aminoácidos / 0.01-0.02 ml) sirvieron para "correr", por triplicado, cromatogramas bidimensionales en papel Whatman número 1, usando fenol (80 pc) y butanol-ácido acético-agua (4 :1:1), como solventes, según la técnica de avance descendente, de Consden et al. (4). Una vez desarrollados los cromatogramas e identificadas en ellos las manchas coloridas correspondientes a los ácidos glutámico, aspártico y gamma-amino-butírico y a la glutamina (cuyos *R_f* comprobamos previamente, usando soluciones de ellos, preparadas en el laboratorio), se hacía su determinación cuantitativa, por comparación colorimétrica (7) con soluciones tipo, en un espectrofotómetro Coleman Junior, a una longitud de onda de 570 mm. Para la glutamina se tomó como tipo una solución de ácido glutámico. El nitrógeno total de los aminoácidos en algunos extractos fue determinado, por duplicado, por el método colorimétrico de Sabyun (9).

Con todos los lotes, las manipulaciones de los extractos de sus subgrupos A y B, fueron ejecutadas paralelamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Por inspección del cuadro adjunto, podrá apreciarse cómo, después de la inyección de insulina, el tejido cerebral contiene, por comparación con el de los animales testigos (A), menores concentraciones de ácido glutámico, de ácido g-aminobutírico y de glutamina libres, y en cambio, aumento mucho más marcado (en ocasiones hasta de 400 %) de ácido aspártico. El nitrógeno total de los aminoácidos no varió de manera apreciable.

AMINOÁCIDOS LIBRES, NITRÓGENO TOTAL DE LOS AMINOÁCIDOS Y GLUTAMINA, EN LOS CEREBROS DE LAS RATAS NORMALES Y DE LAS RATAS EN ESTADO DE CHOQUE INSULÍNICO.

Lotes	Horas de ayuno previo	Insulina inyectada U.I/k	Nitrógeno total de los aminoácidos		Acido glutámico		Acido aspártico		Acido g-amino-butírico		Glutami		
			mg/100 g de cerebro										
			A	B	A	B	A	B	A	B		A	
1	24	350	—	—	168.4	127.9	37.0	110.0	29.1	20.6	43.7	2	
2	24	350	—	—	166.6	124.1	52.8	161.7	43.4	32.7	40.5	1	
3	48	350	39.6	33.9	173.1	127.0	40.0	146.3	30.9	17.3	31.6	1	
4	24	350	—	—	166.0	77.0	42.7	84.4	44.8	22.4	33.5		
5	24	350	37.2	29.9	194.7	136.4	44.8	66.0	30.1	22.5	41.4		
6	24	350	45.0	44.8	146.3	88.9	34.3	138.6	31.7	19.5	34.5		
7	24	350	33.0	30.5	188.0	150.7	42.7	55.9	24.7	16.2	—		
8	0	60	31.0	30.5	160.9	147.4	41.6	58.0	38.9	30.6	32.4	1	
9	0	60	30.8	30.1	189.2	166.1	40.1	81.2	41.6	25.0	—		

A, Ratas testigo; B, Ratas en choque insulínico.

Tales resultados en lo general concuerdan y por lo tanto confirman, los de Dawson (6), en lo tocante al ácido glutámico y al nitrógeno total de los aminoácidos, pero amplian las informaciones relativas al problema, con los datos que echamos de menos al principio de este trabajo.

El marcado aumento de ácido aspártico libre, comprobado, parece compensar la baja en el nivel del ácido glutámico, señalada por Dawson (6), y por añadidura, permite explicar la aproximada constancia de la cifra total del nitrógeno de los aminoácidos libres.



Fig. 1

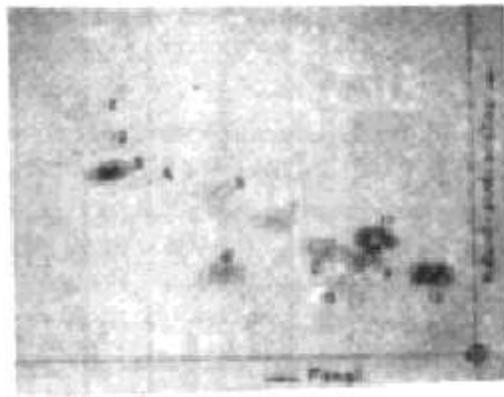


Fig. 2

Figs. 1 y 2. Cromatogramas de extractos de cerebro de ratas, normales (1) y con choque insulínico (2). Los números de las manchas corresponden a los siguientes aminoácidos: 1, Leucina e isoleucina; 2, valina; 3, -aminobutírico; 5, alanina; 7, treonina; 8, glicina; 9, serina; 10, glutámico; 12, aspártico. Los correspondientes a los números 4 y 11 no fueron identificados. La mancha 6 corresponde a glutamina.

Es muy posible que en las condiciones descritas, se formen mayores cantidades de los ácidos aspártico y alfa-ceto glutámico, como resultado de que sea activada la reacción de transaminación en el sistema ácido glutámico-ácido oxal-acético, que Cohen y Hekhuis (3) consideran como el de mayor actividad en el tejido cerebral normal. Es posible que en las condiciones de emergencia funcional producidas por la hipoglicemia, el ácido ceto-glutámico siga el ciclo de los ácidos tricarbóxicos.

El que el amoníaco no varíe (6) es igualmente atribuible a la activación de la reacción de transaminación, que asimismo deja explicada la baja del ácido gamma-amino-butírico y de la glutamina, por disminución del ácido glutámico que les da origen.

BIBLIOGRAFIA

1. AWAPARA, J. *Arch. Biochem*, Vol. 19, p. 172, 1948.
2. AWAPARA, J., A. J. LANDUA, R. FUERST and B. SEALE. *J. Biol. Chem.*, vol. 187, p. 35. 1950.
3. COHEN, P. P. and G. L. HEKHUIS, *J. Biol. Chem.*, vol. 140, P. 711. 1941.
4. CONSDEN, R., A. H. GORDON and J. P. MARTIN., *Biochem. J.*, vol 38, P. 224. 1944.
5. CONSDEN, R.. A. H. GORDON and J. P. MARTIN. *Biochem J.*, vol. 41. P. 590. 1947.
6. DAWSON, R. M. C. *Biochem. J.*, vol. 47, p. 386, 1950.
7. NAFTALIN, L. *Nature*, vol. 161. p. 763, 1948.
8. ROBERTS, E. and S. FRANKEL. *J. Biol Chem.*, vol. 187. p. 55, 1950.
9. SAHYUN, M. *J. Lab. Clin. Med.*, vol. 24, P. 543, 1938-1939.