

Actividad de nucleasas y ATP-asas hepáticas y contenido de potasio y sodio en el organismo de ratas tiroidectomizadas

Por los Dres.:

P. I. TSAPOK, I. F. MESHCHISHEN**

Tsapok, P. I. et al. *Actividad de nucleasas y ATP-asas hepáticas y contenido de potasio y sodio en el organismo de ratas tiroidectomizadas*. Rev Cub Med 15: 1, 1976.

Se estudian los cambios cuantitativos del potasio y el sodio en el organismo de ratas albinas tiroidectomizadas. Paralelamente se investigó en el hígado la actividad de las adenosintrifosfatasa, parnitrofenilfosfatasa, ribonucleasa y 5'-nucleotidasa. Se demuestra que después de la tiroidectomía, en la mayoría de los órganos estudiados, la correlación de los electrólitos se perturba, y aparece una acumulación de sodio, así como también una disminución de potasio, biológicamente más activo. Junto con ello, en el hígado de ratas tiroidectomizadas se eleva la actividad de las ATP-asas, RNA-asa, 5'-nucleotidasa y disminuye la de parnitrofenilfosfatasa.

INTRODUCCION

Durante muchos años clínicos e investigadores han estudiado la relación entre la glándula tiroidea y el metabolismo mineral. Algunos autores^{1,2} han encontrado trastornos del intercambio de las sustancias minerales en las enfermedades del tiroides. *Kovtunyak* y *co.*³ demostraron que el hipotiroidismo producido por el 6-metiluracilo, se acompaña de una disminución del contenido de potasio, y un aumento del nivel de sodio en la mayoría de los órganos y tejidos estudiados. Por otro lado, la tirotoxicosis produce una disminución del sodio en el hígado, el bazo y el cerebro, mientras que el potasio disminuye en sangre, plasma, eritrocitos, corazón, pulmones, cerebro, huesos y se eleva en el hígado, bazo, riñones y músculos. Sin embargo, los mecanismos bioquímicos implicados en estos cambios, aún no han sido completamente estudiados.

Teniendo en cuenta la alta actividad de los electrólitos en la fisiología y patología del sistema endocrino, nos hemos planteado desarrollar un estudio de los cambios cuantitativos de sodio y potasio, en el organismo de las ratas albinas tiroidectomizadas.

Paralelamente se estudia en el hígado la actividad de algunas enzimas, que catalizan los procesos bioenergéticos del transporte de sustancias, a través de las membranas celulares-adenosintrifosfatasa (NE 3.6.1.3) y parnitrofenilfosfatasa (NE 3.1.3.16), y también la actividad de otras enzimas que participan en el metabolismo de los ácidos nucleicos, —ribonucleasa (NE 2. 7.7.16) y 5'nucleotidasa (NE 3.1.3.5).

1 Candidato a doctor en ciencias médicas. Profesor de la cátedra de bioquímica. Instituto de Medicina de Chernovtsi, URSS. Asesor de la cátedra de bioquímica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de Oriente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Como es sabido, el trauma de la operación, la narcosis y el dolor, cambian el contenido de los electrólitos en el organismo, y dan lugar a cambios en la actividad funcional de la glándula tiroides. Además, existen datos referentes a la capacidad de regeneración del tiroides,¹ que podrían alterar los resultados, por eso seleccionamos el 15^o día posterior a la operación, para estudiar la influencia de la tiroidectomía sobre el contenido de sodio y potasio en los órganos y tejidos, y también la actividad de enzimas en el hígado, para de este modo disminuir la influencia de los factores antes citados, que podrían haber falseado los resultados.

El cuadro I muestra que la extirpación de la glándula tiroides se caracteriza por notables cambios cuantitativos de los electrólitos en el organismo de las ratas estudiadas. El nivel de sodio aumenta significativamente en sangre total, eritrocitos, bazo, hígado, riñones, corazón, pulmones, músculos, cerebro, huesos y disminuye en el plasma sanguíneo. El contenido de potasio está disminuido en sangre total, plasma, eritrocitos, riñones, corazón, músculos, cerebro, huesos y elevado en hígado y bazo, sin cambios en los pulmones.

De tal manera, después de la tiroidectomía, en la mayoría de los órganos importantes para la vida de los animales experimentales, la relación de los electrólitos se perturba; aparece una acumulación de sodio y una disminución de potasio, biológicamente más activo.

Los trastornos registrados en el intercambio de los electrólitos, hay que

MATERIAL Y METODO

Los experimentos se realizaron en 60 ratas machos albinas tiroidectomizadas y 20 ratas machos de control, con un peso de 120 a 180 g. La tiroidectomía se efectuó bajo narcosis etérea, según métodos convencionales. A los animales del grupo de control se les realizó sólo incisión del cuello. El sodio y el potasio se determinaron mediante el método de fotometría de llama, en un equipo "Spekol". La determinación de la proteína en el hígado se efectuó, según el método de Lowry y col.⁴ La actividad de ATP-*asas* paranitrofenilfosfatasa, RNA-*asa* y 5'-nucleotidasa, se estudió por el aumento de la cantidad de fosfato inorgánico.

El fósforo se determinó según el método de Fiecke y Subbarow', con la utilización del ácido ascórbico como reductor. Durante el estudio de la actividad de ATP-*asas* la incubación se hizo a 37°C en 30 minutos, en una mezcla que contenía: 30 mM de bufer TRIS-HCL (pH 7,4), 3 mM MgCU, 3 mM de la sal sódica de ATP, 100 mM NaCl y 10 mM KCl. La reacción se interrumpía con ácido tricloracético a concentración final del 5%. La actividad de Na⁺-K⁺-ATP-*asa* se calculó, como la diferencia entre la actividad de Mg⁴⁺-Na⁺-K⁺-ATP-*asa* y de Mg²⁺-ATP-*asa*. La actividad de paranitrofenilfosfatasa se determinó, según el método de Nagai y col.⁰

El medio de incubación contenía: 40 mM de un *buffer* de TRIS-HCl (pH 7,8), 5 mM paranitrofenilfosfato, 5 mM MgCU y 10 mM KCl. La actividad de RNA-*asa* se estudió mediante el método de Kunitz modificado por *Chepinoga* y col.⁷ La actividad de 5'-nucleotidasa se determinó según el método de Weiner y col.⁸ El medio de incubación contenía 50 mM de *buffer* TRIS-HCl (pH 7,4), 100 mM KCl, 10 mM MgCU, 5 mM AMP (adeno- sm-5'-monofosfato). La actividad de esas enzimas se expresó en microgramos de fósforo por mg de proteína, durante 30 minutos de incubación. Los resultados se analizaron estadísticamente de acuerdo al método "t" de Student.

CUADRO I
CONTENIDO DE SODIO Y POTASIO EN LOS ORGANOS Y TEJIDOS DE RATAS
TIROIDECTOMIZADAS
(en mg% de peso seco; $\bar{x} \pm Sx$, n = 10)

Organo o tejido	Control		Tiroidectomía	
	Sodio	Potasio	Sodio	Potasio
Sangre total*	182 ± 4,1	174 ± 3,2	201 ± 6,4 P = 0,01	152 ± 2,6 P < 0,001
Plasma*	345 ± 7,2	20 ± 1,2	317 ± 6,8 P = 0,01	15 ± 1,3 P < 0,01
Eritrocitos*	54 ± 4,2	325 ± 10,2	74 ± 5,9 P < 0,01	282 ± 8,7 P < 0,01
Hígado	252 ± 14,0	1096 ± 21,2	287 ± 8,8 P < 0,001	1316 ± 18,7 P < 0,001
Bazo	310 ± 6,2	1600 ± 25,7	425 ± 9,8 P < 0,001	1750 ± 28,9 P < 0,001
Riñones	650 ± 12,4	1122 ± 17,2	786 ± 15,2 P < 0,001	935 ± 12,4 P = 0,001
Corazón	321 ± 10,2	1157 ± 18,4	423 ± 10,9 P < 0,001	1043 ± 15,7 P < 0,001
Pulmones	631 ± 25,4	1320 ± 27,3	874 ± 30,1 P < 0,001	1287 ± 35,4 P > 0,2
Músculos	312 ± 10,4	1560 ± 22,6	372 ± 11,6 P < 0,01	1345 ± 20,7 P < 0,001
Cerebro	480 ± 19,2	1400 ± 32,4	621 ± 23,4 P < 0,001	1250 ± 22,8 P < 0,001
Huesos	495 ± 4,2	56 ± 2,7	590 ± 16,3 P < 0,001	38 ± 1,7 P < 0,001

relacionarlos con el papel biológico del potasio y el sodio en las vías metabólicas. Se sabe que en animales hipotiroideos disminuye el tamaño de las mitocondrias, y además la intensidad de los procesos de la respiración tisular; lo cual se acompaña, de depresión de los procesos de acumulación de energía en compuestos macroérgicos, y se evidenció, como resultado final, una disminución del metabolismo.¹⁰

Humphray y *Heaton*¹¹ piensan que la influencia de la hormona tiroidea sobre el metabolismo mineral, es secundaria a su acción sobre los procesos anabólicos y catabólicos.

La investigación de la actividad de RNA-asa en el hígado de ratas tiroidectomizadas,

demonstró que la actividad de depolimerasa está elevada en un 55,7%, en relación al control (cuadro II). Paralelamente se eleva también la actividad de 5'-nucleotidasa en un 32,9%. Hay que subrayar, que el contenido de las proteínas totales en el hígado de los animales experimentales, era menor que en las ratas de control. Ya que las actividades elevadas de RNA-asa y 5'-nucleotidasa contribuyen al desdoblamiento de RNA y mononucleótidos; este hallazgo podría interpretarse como resultado de un trastorno de la biosíntesis de proteínas. Nuestros resultados concuerdan con los de otros investigadores,^{12,11} que observaron una disminución del contenido de RNA hepático en el hipotiroidismo.

CUADRO II

ACTIVIDAD DE NUCLEASAS y ATP-ASAS DEL HIGADO DE RATAS TIROIDECTOMIZADAS
(en microgramos de fósforo por mg de proteína en 30 minutos de incubación;
 $X \pm Sx$, n = 10)

Enzima	Control	Tiroidectomía	P
Mg ²⁺ -Na ⁺ -K ⁺ -ATP -asa	5,20 ± 0,27	7,10 ± 0,15	< 0,001
Mg ²⁺ -ATP-asa	4,36 ± 0,22	5,80 ± 0,27	< 0,01
Na ⁺ -K ⁺ -ATP-asa	0,95 ± 0,04	1,27 ± 0,09	< 0,01
paranitrofenilfosfatasa	1,15 ± 0,12	0,68 ± 0,08	< 0,001
RNA-asa	3,52 ± 0,17	5,48 ± 0,31	< 0,001
5'-nucleotidasa	1,82 ± 0,12	2,42 ± 0,18	< 0,01

Junto con los trastornos del intercambio de electrolitos, y la elevación de las actividades de las nucleasas del hígado en los animales experimentales, se observaba también el aumento de las actividades de ATP-asa del homogeneizado del hígado. Así, la actividad de Mg²⁺ -Na⁺ -K⁺ -ATP-asa en las ratas tiroidectomizadas se elevó en un 36,5%, en comparación con el control. Las actividades de Mg²⁺ -ATP-asa y Na⁺-K⁺-ATP-asa se elevaron en un 33,0 y 33,6%, respectivamente. Contradictoriamente, encontramos una disminución en la actividad de paranitrofenilfosfatasa.

Se sabe que Na⁺-K⁺-ATP-asa juega un papel importante en el transporte activo de los cationes monovalentes. El estudio de este mecanismo demostró que la actividad de Na⁺-K⁺-ATP-asa, es el resultado de la fosforilación Na⁺ dependiente de algunas proteínas dentro de la membrana celular, mientras que la defosforilación ulterior es estimulada por iones de potasio.

Por otra parte, Judah y col.^{1*} comunicaron, que la hidrólisis de paranitrofenilfosfato es catalizada por una enzima presente en las fracciones de membrana de varios tejidos, y que es estimulada por iones de potasio. En vista de que el fenilfosfato es un sustrato para algunas fosfatasa (Ne 3.1.3.16), se puede suponer que la acción de la fosfatasa K⁼

dependiente sobre el paranitrofenilfosfato, es un reflejo del proceso de defosforilación en reacciones de Na⁺ K⁺-ATP-asa.

Basados en esas ideas y en los datos obtenidos, se puede concluir que en la tiroidectomía se perturban las reacciones de ATP-asa en el hígado, crece la reacción de fosforilación y disminuye la reacción de defosforilación.

Si recordamos que el ATP es una fuente de energía para el transporte activo de iones, y es además el sustrato de ATP-asa, podemos plantear que una biosíntesis insuficiente del mismo, y los trastornos del intercambio electrolítico que se observan en los tejidos de ratas tiroidectomizadas, pueden contribuir a una depresión ulterior más profunda de los procesos de la respiración tisular y la biosíntesis de proteínas.

El estudio de los mecanismos íntimos del metabolismo nitrogenado ha demostrado un papel importante de los iones de sodio y potasio. Así, los iones de sodio tienen relación inmediata con la distribución de aminoácidos en la célula, y los iones de potasio participan en la unión de aminoácidos con el t-RNA y en el transporte de aminoácidos activados del aminoacil-t-RNA al polipéptido naciente, durante la biosíntesis de proteínas en los ribosomas.¹⁵ Actualmente se conocen alrededor de 100 enzimas,

BIBLIOGRAFIA

1. *Chow, S. Y., D. M. Woodbury.* Correlation of water and electrolyte distribution in the thyroid gland with its functional state in rats and guinea-pigs. *J Endocrinol* 50: 577-588, 1971.
2. *Coleman, E. H., M. M. Reidenberg.* Effect of thyroparathyroidectomy on skeletal sodium metabolism in the rat. *Endocrinology* 85: 175, 1969.
3. *Kovtunyak, N. A. et al.* Actividad de ATP-asa y RNA-asa del hígado y el contenido de sodio y potasio en el organismo de las ratas albinas con la tirototoxicosis experimental. *Probl Endocrinol* 18: 86-89, 6, 1972.
4. *Lowry, O. H. et al.* Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951.
5. *Fiske, C. R., Y. Subbarow.* The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66: 375, 1925.
6. *Nagai, K. et al.* Studies on potassium dependent phosphatase: its distribution and properties. *J Biochem (Tokyo)* 59: 295-303, 1966.
7. *Chepinoga, O. P. et al.* Interrelación entre el metabolismo de los ácidos nucleicos en el hígado y en el sistema nervioso central. *Ukr Blokhim Zh* 24: 177-187, 2, 1952.
8. *Weiner, M. W. et al.* Renal mitochondrial enzymes in potassium depletion. *Am J Physiol* 221: 613-617, 2, 1971.
9. *Kovtunyak, N. A., P. I. Tsapok.* Influencia de la tiroidectomía sobre el nivel de oligoelementos en el páncreas, su morfología y función. *Probl Endocrinol (Mosk)* 17: 101-104, 3, 1971.
10. *Turakulov, Ya. J. et al.* Respiración, fosforilación y la estructura de las mitocondrias del hígado en ratas por acción de la tiroxina in vivo e in vitro. *Biokhimiia* 35: 349-355, 2, 1970.
11. *Humphray, H. P., F. W. Heaton.* Relationship between the thyroid hormone and mineral metabolism in the rat. *J Endocrinol* 53: 113-123, 1, 1972.
12. *Guggenheim, K. et al.* Effect of thyroid hormone on metabolism of pteroylglutamic acid and liver levels of nucleic acid and nitrogen. *Endocrinology* 62: 355-360, 3, 1958.
13. *Kohl, H. H.* Depressed RNA synthesis in the brains and livers of thyroidectomized, normal and hormone injected rats. *Brain Res* 40: 445-458, 1972.
14. *Judah, J. D. et al.* Ion transport and phosphoproteins of human red cells. *Biochim Biophys Acta* 65: 472-480, 1962.
15. *Kovtunyak, N. A., I. F. Meshchishen.* El papel del potasio y sodio en la biosíntesis de proteínas. *Ciencias Biol (Moscú)* 8: 38-44, 1971.
16. *Gómez-Puyou, A. et al.* Effect of Na and K on mitochondrial respiratory control, oxygen uptake, and adenosine triphosphatase activity. *J Biol Chem* 244: 5339-5345, 1969.
17. *Unemoto, T.* Role of cations and anions in metabolic regulation. *Protein Nucleic Acid Enzyme (Tokyo)* 17: 353-369, 1972.

Rev Cub Med 15: 7-12, enero-febrero, 1976